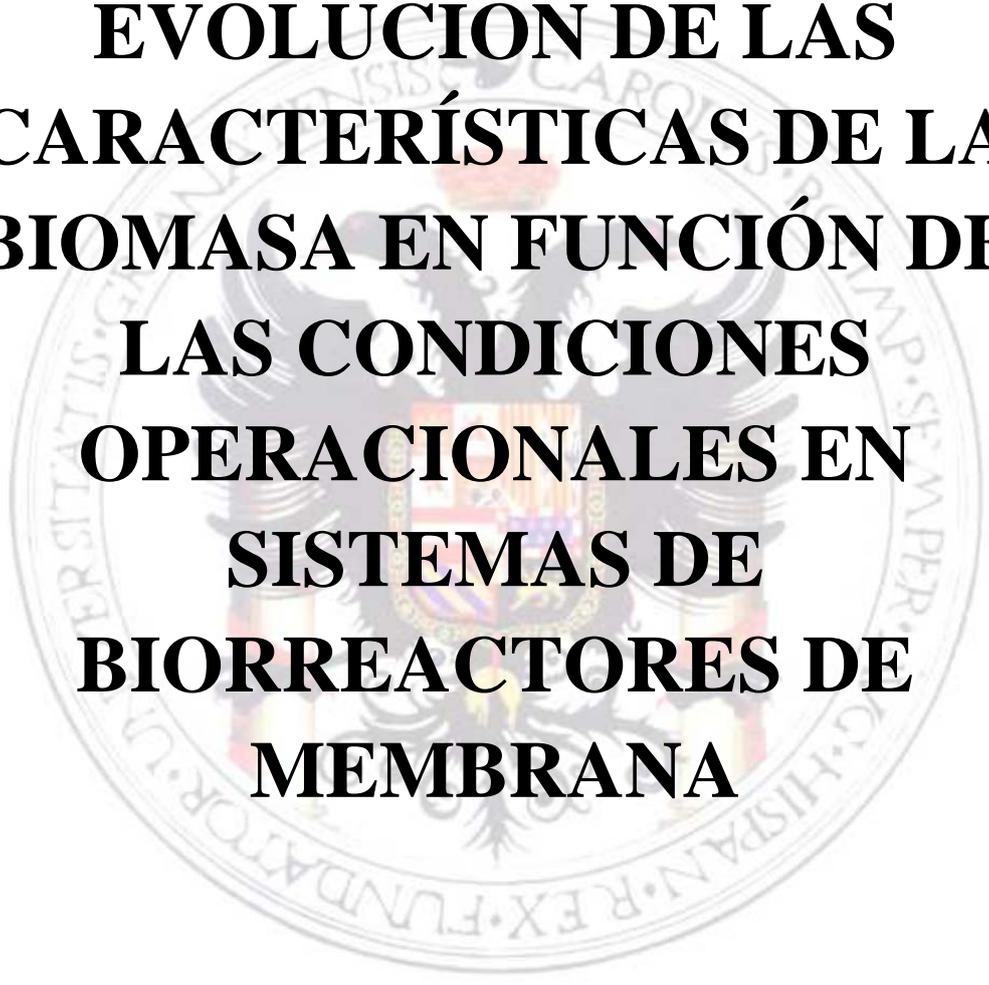


TESIS DOCTORAL

EUGENIO MARÍN MARÍN



**EVOLUCIÓN DE LAS
CARACTERÍSTICAS DE LA
BIOMASA EN FUNCIÓN DE
LAS CONDICIONES
OPERACIONALES EN
SISTEMAS DE
BIORREACTORES DE
MEMBRANA**

UNIVERSIDAD DE GRANADA

2017

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA CIVIL



UNIVERSIDAD DE GRANADA
2017

**EVOLUCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS
DE LA BIOMASA EN FUNCIÓN DE LAS
CONDICIONES OPERACIONALES EN
SISTEMAS DE BIORREACTORES DE
MEMBRANA**

MEMORIA PRESENTADA POR D. EUGENIO MARÍN
MARÍN PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR POR LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

EUGENIO MARÍN MARÍN

DIRECTOR

MIGUEL ÁNGEL GÓMEZ NIETO

Dpto. Ingeniería Civil



Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autor: Eugenio Marín Marín

ISBN: 978-84-9163-669-4

URI: <http://hdl.handle.net/10481/48780>

Este trabajo ha sido realizado dentro del grupo de investigación “Tecnologías para la Gestión y el Tratamiento del Agua”, en el proyecto “Modelización del proceso de depuración biológica de aguas residuales urbanas mediante la tecnología de biorreactores de membrana sumergida” (NET 324936/1) financiado por la Agencia Andaluza del Agua a través de EGMASA, mediante fondos FEDER de la Unión Europea.

Las instalaciones experimentales están instaladas en la EDAR-Sur de Granada, contando con la colaboración de la empresa EMASAGRA.

La parte analítica de la investigación se ha llevado a cabo en los laboratorios del área de Tecnologías del Medio Ambiente, del Departamento de Ingeniería Civil.





El doctorando Eugenio Marín Marín y el director de la tesis D. Miguel Ángel Gómez Nieto, garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorado bajo la dirección del director de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.



Director de Tesis

Doctorando

Firma

Firma





“Lo que sabemos es una gota de agua;
lo que ignoramos es el océano”

Isaac Newton



Conforme va llegando el fin de esta etapa no puedo dejar de acordarme de muchísima gente que me ha ayudado durante este tiempo y que sin ellas habría sido imposible realizar la tesis doctoral.

En primer lugar me gustaría agradecer a D. Miguel Ángel Gómez Nieto la oportunidad de realizar la tesis bajo su dirección, por su dedicación, ayuda y comprensión. También a D. Jorge Ignacio Pérez Pérez, por ayudarme con lo relacionado con la instalación experimental y su funcionamiento. Gracias a vosotros he podido finalizar esta tesis doctoral.

También me gustaría mostrar mi agradecimiento a todos mis compañeros de laboratorio que me han acompañado, ya sea durante el trabajo fin de carrera, trabajo fin de máster o tesis doctoral. Gracias a Juan, Luzmi y Julen por acogerme tan bien al principio y por ayudarme y enseñarme tanto. A Bernabé y Rocío por sus charlas eternas. A Juan Carlos por su ayuda y simpatía. A Cecilia por darme la oportunidad de conocer una pequeña parte de Argentina y a todos los demás compañeros, que de una forma u otra han contribuido a que hoy pueda escribir estas palabras: Dani, Fátima, Gloria, Silvia, Elena, Manolo, Jaime, Cristina, Alejandro y Ángela.

Agradecer también al grupo de investigación “Tecnologías para la Gestión y el Tratamiento del Agua” (TEP 239), al Departamento de Ingeniería Civil y a la Universidad de Granada por proveerme de todo lo necesario para realizar este trabajo.

A mis amigos, a Javi y Alvarito por compartir conmigo el día a día durante tantos años. A Peli, Melero, Anillo, Óscar, Víctor, Lolo, Dani, Enrique, Ilde, Juanlu y Pablo por darme tan buenos momentos durante tanto tiempo. A Pitu por su amistad incondicional. A todos ellos y a los que seguro me estoy olvidando, gracias por su comprensión, apoyo y amistad.

Por supuesto a mi familia, a mis padres Eugenio y Cándida, y mis hermanos Jesús, María y Miguel Ángel. Que haya podido realizar la tesis doctoral ha sido posible gracias a mis padres, los cuales han hecho grandísimos esfuerzos para que, tanto mis hermanos como yo pudiésemos tener y/o hacer todo lo que quisiéramos. Dicen que la familia no se elige, pero si yo pudiese elegir, los elegiría a ellos, sin duda alguna. A todos, gracias por hacer sentirme un “alma afortunada”.

También a mi familia política que me han hecho sentir siempre como uno más. A mis suegros Carmen y Silverio por su preocupación e interés en cada momento. A mi cuñado Silverio, Inma, al abuelo Antonio y a toda la familia de Pedro Alonso. Gracias.

Y por último a la persona más importante de mi vida, la que hace pocos meses se ha convertido en mi esposa y la que hace que me sienta la persona más especial del mundo, Julia. Gracias por compartir conmigo todos los momentos buenos, pero sobre todo, por estar conmigo en los momentos malos, cuidándome, animándome y por supuesto, queriéndome. Te quiero.





A Julia

A mis padres



RESUMEN

La progresiva reducción en el suministro de agua ha provocado la aparición de nuevas técnicas y tecnologías para la reutilización del agua. Una de las nuevas tecnologías utilizadas para la depuración de aguas residuales son los biorreactores de membrana sumergida (MBR).

Los MBR combinan la separación física de la parte líquida de la sólida mediante membranas con la tecnología de fangos activos, en la cual se genera una masa activa de microorganismos que son capaces de estabilizar un residuo orgánico por vía aeróbica.

Desde su aparición, la tecnología MBR ha estado en constante evolución, convirtiéndola en una alternativa ampliamente utilizada en todo el mundo. Aunque es una tecnología que posee grandes ventajas como la elevada calidad del efluente obtenido, posee ciertos problemas operacionales que limitan su expansión a nivel global y a gran escala. El principal inconveniente que posee esta tecnología es el ensuciamiento de la membrana, reduciendo su productividad y aumentando los requerimientos energéticos debido a la aireación y a las limpiezas químicas necesarias para restaurar la permeabilidad.

El proceso de ensuciamiento o atascamiento de la membrana puede ser atribuido a la obstrucción de los poros de la membrana y a la deposición de fango sobre la superficie de la membrana formando una torta.

Los factores que afectan al ensuciamiento de la membrana son muy diversos, pero los principales causantes son los Productos Microbianos Solubles (SMP) y las Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS). Aunque ambos son productos del metabolismo celular, se pueden diferenciar en la posición que ocupan dentro de la matriz de los flóculos microbianos, siendo el SMP la parte que está fuera del flóculo y el EPS la parte que está vinculada a la célula.

En la presente investigación se ha querido conocer las condiciones operacionales que provocan una variación en la presencia de EPS y SMP en el sistema y su efecto sobre los incrementos en la Presión Transmembrana (TMP) y por lo tanto en el ensuciamiento de la membrana.

Para lograr las metas propuestas se trabajó con una instalación experimental diseñada a escala industrial, la cual se alimentaba con agua residual urbana de la ciudad de Granada. La instalación estaba configurada en pre-desnitrificación y poseía membranas planas de microfiltración. Durante el tiempo de la investigación, se evaluaron los cambios producidos en la biomasa según las variaciones en las condiciones operacionales tales como el Tiempo de Retención Celular (SRT), Tiempo de Retención Hidráulico (HRT), temperatura y carga contaminante.

Como análisis previo, se realizó una comparativa de métodos de extracción de EPS para valorar qué método era el más adecuado para aplicar al fango activo generado en la instalación experimental. Para ello se ensayaron 3 métodos físicos, 6 métodos químicos y 4 combinaciones de métodos físicos y químicos. Tras analizar la cantidad de EPS extraída en cada caso, las interferencias existentes al analizar los principales componentes del EPS y la generación de lisis celular, se concluyó que el método de extracción más idóneo era el método con adición de etanol a -20°C .

Los resultados obtenidos mostraron que el SRT es la variable más influyente sobre la generación de biopolímeros en sistemas MBR, cuyo incremento reduce el ratio MLSSV/MLSS y con ello un menor riesgo de atascamiento de membranas, así como mejor calidad del efluente en lo referente a materia orgánica. Además, un aumento en su valor, provoca un descenso en la concentración de SMP y EPS.

La temperatura es una de las variables más influyentes sobre la permeabilidad de las membranas en sistemas MBR ya que tienen efectos directos sobre la viscosidad del fango activo y afecta a la tasa de degradación de la materia orgánica por su efecto sobre el metabolismo microbiano, reduciendo el contenido del SMP y EPS cuando la temperatura se incrementa.

De los componentes del SMP, son los ácidos húmicos los que tienen mayor concentración mientras que el componente mayoritario en el EPS varía según el SRT con el que se está operando, con predominancia de los carbohidratos a SRTs bajos y de proteínas a SRTs mayores.

El SMP tiene mayor influencia que el EPS en el ensuciamiento de la membrana. Sin embargo, es el contenido en carbohidratos en el EPS y SMP el que mayor influencia ejerce sobre el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR. El ensuciamiento por

biopolímeros en sistemas MBR es principalmente reversible ya que es controlable mediante limpiezas químicas.

Dada la relación existente entre el ratio MLSSV/MLSS y la concentración de SMP y sus componentes, este parámetro operacional es un buen indicador del riesgo de atascamiento de membranas por biopolímeros en sistemas MBR.

ABSTRACT

The progressive reduction in water supply has caused the appearance of new techniques and technologies for water reutilisation. One of those new technologies used for waste water treatment are Submerged Membrane Bio Reactors.

MBR combine physical separation of the liquid and solid parts using membranes with the activated sludge technology, in which an active mass of microorganisms capable of stabilize organic residue through the aerobic way.

Since its show up, MBR technology has been in constant evolution, making it an alternative widely used worldwide. Even though it is a technology with great advantages as the great quality of the resulting effluent, it has also some operational problems that limit its global expansion. The main disadvantage of this technology is the membrane fouling, which reduces its productivity and rises the energetic requirements due to aeration, and the chemical washes needed to restore membrane permeability.

The process of fouling or clogging of the membranes may be claimed to the pore obstruction and to the cake deposition in the membrane surface.

The factors affecting membrane fouling are diverse, but the main causes are Soluble Microbial Product (SMP) and Extracellular Polymeric Substances (EPS). Both are products of the cellular metabolism, but they are differentiated by the position they held within the matrix of microbial flocs, being SMP the part that is out of the floc, and the EPS the part that is bounded to the cell.

The present investigation has wanted to know the operational conditions that cause a variation in the EPS and SMP presence in the system, and its effect in the Transmembrane Pressure (TMP) rise, and so, in the membrane fouling.

To achieve the proposed goals, the work was done with an experimental installation design at industrial scale and that fed with real wastewater from Granada city. The plant

was configured in pre-denitrification and has flat sheet microfiltration membranes. During the study, the changes produced in biomass were evaluated, such as Sludge Retention Time (SRT), Hydraulic Retention Time (HRT), temperature and organic load.

As a previous analysis, it was made a comparison of EPS extraction methods, to see which one was the most effective for the activated sludge used. The conclusion was that the most suitable method was adding ethanol at -20°C .

The obtained results showed that SRT is the most important variable to affect the generation of active biomass in MBR systems, causing a rise in SMP and EPS concentration when operating with low SRT.

Temperature is also a variable to keep in mind, because it has direct effects in permeability, affecting the viscosity of the activated sludge used, and it also affects the degradation rate of the organic matter by rising the microbial metabolism, which reduces SMP and EPS content with high temperatures.

OF all SMP contents, humic acids are the ones with most concentration, while the main component in the EPS varies depending on the SRT, with predomination of carbohydrates at low SRTs and of proteins at higher SRTs.

SMP has more influence than EPS in membrane fouling. Nevertheless, it is the carbohydrates content in EPS and SMP, the one that most affects the membrane fouling in MBR systems, because they confer the activated sludge more hydrophilicity. That fouling is mainly reversible as it is erased when chemical cleanings are made using sodium hypochlorite.

It should be pointed out that MBR systems cannot operate with Mixed Liquor Suspended Solids (MLSS) less than 2g/L and neither with an activated sludge that is not biologically established, as the membrane would be exposed to a quick fouling by the clogging of the pores.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. FANGOS ACTIVOS	4
1.1.1. Evolución de los fangos activos	4
1.1.2. Características del proceso de fangos activos	5
1.2. BIORREACTORES DE MEMBRANA (MBR)	7
1.2.1. Evolución histórica y de mercado de la tecnología MBR	7
1.2.2. Generalidades del sistema MBR	12
1.2.2.1. Configuración de la membrana	17
1.2.3. Ventajas e inconvenientes de los MBR	19
1.3. ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA	22
1.3.1. Clasificación del ensuciamiento de membrana	27
1.3.1.1. Reversibilidad	28
1.3.1.2. Naturaleza de los componentes	30
1.4. FACTORES QUE AFECTAN AL ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA	33
1.4.1. Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS)	35
1.4.1.1. Efecto de los EPS en el ensuciamiento de la membrana	37
1.4.2. Producto Microbiano Soluble (SMP)	38
1.4.2.1. Efecto del SMP en el ensuciamiento de la membrana	40
1.4.3. Métodos de extracción de SMP y EPS	42
1.4.3.1.- Método de extracción de SMP	43
1.4.3.2.- Métodos de extracción de EPS	43
1.5. CONTROL DEL ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA	45

1.5.1. Pretratamiento de la alimentación	46
1.5.2. Protocolos de limpiezas físicas y químicas	47
1.5.3. Reducción del flujo	50
1.5.4. Aumento de la aireación	51
1.5.5. Variación química o bioquímica del fango activo	52
2. OBJETIVOS	56
3. MATERIALES Y MÉTODOS	61
3.1. INSTALACIÓN EXPERIMENTAL	63
3.2. INSTRUMENTACIÓN, AUTOMATIZACIÓN Y CONTROL DE PROCESO	72
3.3. FASE EXPERIMENTAL	75
3.3.1. Variables de proceso	76
3.3.1.1. Evolución cíclica del Oxígeno Disuelto (OD)	77
3.3.2 Recogida de muestras	79
3.4. METODOLOGÍA ANALÍTICA	80
3.4.1. Comparativa métodos de extracción EPS	80
3.4.1.1. Extracción por centrifugación	81
3.4.1.2. Extracción por sonicación	83
3.4.1.3. Extracción por calentamiento	83
3.4.1.4. Extracción con EDTA	83
3.4.1.5. Extracción con NaOH	84
3.4.1.6. Extracción con formaldehído	84
3.4.1.7. Extracción con glutaraldehído	85
3.4.1.8. Extracción con etanol a -20° C	85

3.4.2. Extracción de SMP	85
3.4.3. Demanda Química de Oxígeno (DQO)	86
3.4.4. Sólidos en Suspensión Totales (SST)	87
3.4.5. Sólidos en Suspensión Volátiles (SSV)	89
3.4.6. Determinación de proteínas y ácidos húmicos	89
3.4.7. Determinación de carbohidratos	92
3.4.8. Determinación de ADN	92
3.4.9. Hidrofobicidad relativa (HR)	94
3.4.10. Viscosidad	95
3.4.11. Carbono total, orgánico e inorgánico	96
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	97
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	100
4.1. ANÁLISIS PREVIOS	102
4.1.1. Comparativa de métodos de extracción de EPS	102
4.2. EVOLUCIÓN DE LAS VARIABLES OPERACIONALES DE PLANTA	118
4.2.1. Análisis de la evolución de la temperatura	119
4.2.2. Análisis de la evolución del Tiempo de Retención Hidráulico (HRT)	122
4.2.3. Análisis de la evolución del Tiempo de Retención Celular (SRT)	123
4.2.4. Análisis de la evolución de las características del influente	126
4.2.4.1. Análisis de la evolución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en el influente	127
4.2.4.2. Análisis de la evolución de los Sólidos en Suspensión en el influente	131
4.2.4.3. Análisis de la evolución de la HR	134

4.3. EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS OPERACIONALES	136
4.3.1. Evolución de los Sólidos en Suspensión del Licor Mezcla (MLSS) y los Sólidos en Suspensión Volátiles del Licor Mezcla (MLSSV)	136
4.3.2. Evolución de la Presión Transmembrana (TMP)	139
4.3.3. Evolución de la viscosidad en el fango activo	148
4.3.4. Evolución de la HR en el fango activo	157
4.3.5. Evolución de la calidad del efluente	163
4.3.6. Evolución del Producto Microbiano Soluble (SMP) en el fango activo	166
4.3.7. Evolución de las Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS) en el fango activo	177
4.4. ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA	189
4.4.1. Evolución de la Resistencia a la Filtración (Rt)	191
4.4.2. Influencia de los parámetros y variables operacionales en la Rt	198
5. CONCLUSIONES	206
6. LINEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	212
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	216
ANEXO I. FIGURAS	257
ANEXO II. TABLAS	266

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La preocupación por la escasez de agua se ha agravado en los últimos años, llegando incluso a mencionarse conflictos bélicos por querer controlar las reservas acuíferas del planeta.

Aunque a día de hoy no hay escasez de agua mundial como tal, el número de regiones con escasez de agua a nivel planetario va constantemente en aumento. Según el documento “Hacia un futuro con seguridad hídrica y alimentaria” realizado por la FAO y el Consejo Mundial del Agua (CMA), en 2050 habrá agua suficiente para producir los alimentos necesarios para una población mundial que superará los 9 000 millones de personas, pero el consumo excesivo, la degradación de los recursos y el impacto del cambio climático reducirá el suministro de agua en muchas regiones, especialmente en los países en desarrollo.

Como consecuencia a la reducción del suministro de agua ha sido necesario el desarrollo de nuevas técnicas y tecnologías para la reutilización del agua residual. Estas tecnologías están en constante evolución ya que los requerimientos del agua tratada han ido haciéndose cada vez más estrictos.

Una de las nuevas tecnologías utilizada para la depuración de aguas residuales urbanas son los biorreactores de membrana sumergida (MBR). Esta tecnología combina una separación física de la parte líquida y sólida mediante membranas con la tecnología de fangos activos, en la cual se genera una masa activa de microorganismos que son capaces de estabilizar un residuo orgánico por vía aeróbica. Los MBR aún siendo una tecnología en expansión, se caracteriza por la obtención de efluentes de alta calidad.

1.1. FANGOS ACTIVOS

1.1.1. Evolución de los fangos activos

El proceso de fangos activos es el tratamiento más utilizado en las estaciones de depuración de aguas residuales urbanas (EDARs) e industriales de todo el mundo. El primer antecedente de este proceso data del comienzo de la década de los 80 en el siglo XIX en el que el investigador Dr. Angus Smith investigaba la aireación del agua residual en tanques y el aceleramiento en la oxidación de la materia orgánica. A partir de aquí se hicieron numerosas investigaciones con la misma temática. En 1910 Black y Phelps informaron que se producía una reducción considerable en la putrefacción forzando aire en el colector de fango. No es hasta 1912 cuando se da el paso definitivo para la creación del proceso de fangos activados. El Dr. Gilbert J. Fowler de la universidad de Manchester visitó la estación experimental de Lawrence en EEUU y observó experimentos de aireación con aguas residuales y decidió trasladarlos al Reino Unido. El Dr. Gilbert J. Fowler junto con la ayuda de Edward Arden y William Lockett encontraron que el fango jugaba un importante papel en el resultado obtenido por la aireación como así informaban en su artículo en 3 de Mayo de 1914 (Arden and Lockett, 1914). El proceso fue denominado fangos activados por Arden y Lockett debido a que involucraba la producción de una masa activa de microorganismo capaz de estabilizar aeróbicamente la materia orgánica en el agua residual (Metcalf and Eddy, 1930).

Todavía en 1914, el proceso de fangos activados fue probado a gran escala en la planta de tratamiento de aguas residuales de Manchester-Davyhulme en una planta piloto “móvil”. Aunque la mayor parte de la unidad de la planta estaba construida en madera y el chasis estaba colocado en un carruaje, esta instalación ya mostraba las principales características del proceso de fangos activados. Desde el principio se ensayaron ambas disposiciones básicas, es decir, se trabajaba con la disposición de flujo continuo con clarificadores separados y reciclado de fangos y con la disposición de relleno y extracción, hoy en día conocida como reactor discontinuo secuencial (SBR). Los modelos estaban equipados con aireación por difusión pero los difusores de burbujas gruesas fueron rápidamente reemplazados por elementos cerámicos de burbujas finas.

El primer proceso de fangos activados de flujo continuo a gran escala fue puesto en funcionamiento en la ciudad de Worcester en 1916 por la compañía Jones y Attwood. Los difusores utilizados para la aireación sufrieron un rápido taponamiento y se reemplazó la aireación por aire difundido por agitación mecánica utilizando paletas de eje horizontal que giran verticalmente. A partir de aquí este proceso se expande a otros continentes, llegando antes de la 2ª Guerra Mundial a países como EEUU, Australia, India o Sudáfrica.

1.1.2. Características del proceso de fangos activos

El principio básico del proceso de fangos o lodos activos consiste en que las aguas residuales se pongan en contacto con una población microbiana mixta, en forma de suspensión de flóculos en un sistema aireado y agitado (Winkler, 1999) oxidando la materia orgánica biodegradable, que es transformada en biomasa microbiana y CO₂, a la vez que elimina nutrientes como fósforo y nitrógeno, o los convierte en formas menos nocivas (Grady et al., 1999).

Existen diferentes versiones del proceso de fangos activos, lo que se traduce en una gran versatilidad para adaptarse a un amplio espectro de necesidades del tratamiento. Resultan de diferentes combinaciones de formas de operación, regímenes de mezcla, sistemas de aireación y niveles de carga; sin embargo, desde el punto de vista del funcionamiento, las operaciones del tratamiento biológico de aguas residuales mediante el proceso de fangos activos son: una etapa de oxidación biológica, otra de separación sólido/líquido y un sistema de recirculación de fangos. En la Figura 1.1 se puede ver el esquema del proceso. El influente se introduce en el reactor biológico donde se mantiene en suspensión junto a un cultivo bacteriano. La materia en suspensión y coloidal se separan de las aguas residuales por adsorción y aglomeración en los flóculos microbianos; posteriormente, esta materia orgánica y los nutrientes disueltos se descomponen lentamente por acción del metabolismo microbiano. Alcanzado el grado de tratamiento que se desea, la masa microbiana en forma de flóculos se separa del agua residual por sedimentación. El sobrenadante de la separación es el agua residual tratada, virtualmente libre de lodos. La mayor parte del fango sedimentado se recircula al

reactor biológico para mantener la concentración de fangos en el reactor aeróbico al nivel necesario para un tratamiento efectivo mientras que el excedente es purgado del sistema.

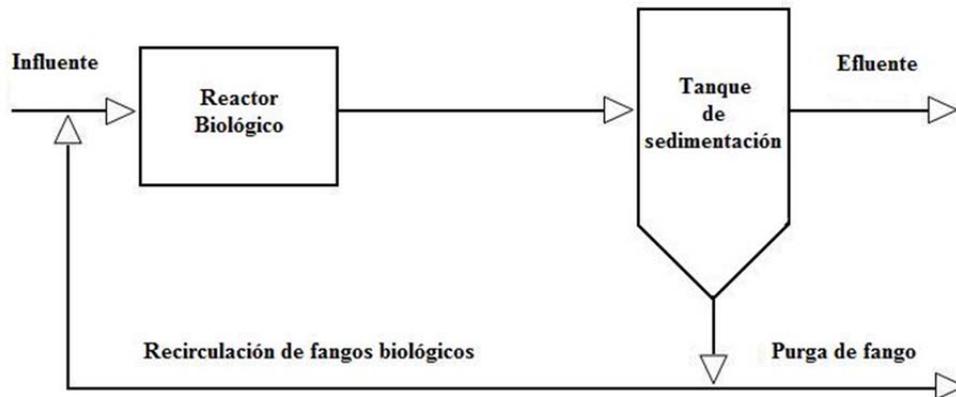


Figura 1.1: Esquema del proceso de fangos activos convencional

Este sistema permite una eliminación de hasta un 90 % de la contaminación orgánica pero tiene algunas desventajas: precisa de una decantación que limita en ocasiones la eficacia de la tecnología debido a problemas como la generación de espumas o a la flotabilidad de fangos (Bitton, 1994), a la vez que se necesitan mayores espacios para la implantación de la tecnología. Por otro lado, cabe destacar la gran generación de fangos que obliga a un purgado y al posterior tratamiento de dichos fangos, lo que puede suponer alrededor del 50 % del total del coste del tratamiento (Defrance and Jaffrin, 1999).

El punto más problemático en el sistema convencional de fangos activos es la decantación. Una mala decantación puede provocar que no se realice una correcta separación de la fase líquida y sólida requerida en el proceso de depuración biológica y por lo tanto disminuir la eficiencia del proceso.

Una solución a este problema es la utilización de sistemas MBR, los cuales emplean una membrana para la separación sólido/líquida en lugar del tanque de sedimentación.

1.2. BIORREACTORES DE MEMBRANA

Según Simon Judd (2011) el proceso MBR aplicado al tratamiento de aguas residuales integra una membrana de permeado selectivo con un proceso biológico, utilizando la membrana como filtro, rechazando el material sólido desarrollado por el proceso biológico y así proporcionando un efluente clarificado y desinfectado.

1.2.1. Evolución histórica y de mercado de la tecnología MBR

Aunque es a mediados del siglo XIX cuando se empieza a investigar en los diferentes tipos de membranas, no es hasta comienzos de la década de los 60 en el siglo XX cuando Loeb y Sourirajan (1961) inventaron una membrana asimétrica de acetato de celulosa para ósmosis inversa. Desde este momento las membranas empezaron a tener diferentes usos para el tratamiento de agua potable y residual, llevando a finales del mismo decenio a Smith et al., (1969) a sustituir por primera vez el decantador por un proceso de ultrafiltración en plantas de fangos activos a escala piloto.

En ese periodo de tiempo también se lanza comercialmente el primer MBR desarrollado por la compañía Dorr-Oliver (Bemberis et al., 1971), el cual combinaba una membrana de ultrafiltración con un proceso convencional de fangos activados con el que se trataban aguas residuales de barcos (Bailey et al., 1971). La denominada “Membrane Sewage Treatment” (MST) por la compañía Dorr-Oliver estaba formada por un biorreactor desde donde se mandaba el agua de alimentación de forma continua a un modulo compuesto por membranas planas de ultrafiltración que operaban a lo que ahora se considera presiones excesivas (3,5 bars) y bajos flujos (17 L/m²·h), produciendo permeabilidades medias de menos de 10 L/m²·h·bar.

Esta tecnología se expande a Japón gracias a un acuerdo entre la compañía Dorr-Oliver y Sanki Engineering que le permite comercializarla con cierto éxito hasta principios de los años 90. A su vez, en Sudáfrica se estaba empezando a comercializar un digestor anaeróbico con tecnología de ultrafiltración por Weir Envig para su uso en instalaciones industriales con aguas residuales de alta resistencia (Botha et al., 1992).

A finales de los años 80 y principios de los 90 otras compañías entran a escena con el desarrollo de sus productos. En gobierno japonés realiza un programa sobre el reciclaje del agua en el cual se impulsó el trabajo pionero de Yamamoto et al. (1989) sobre el desarrollo de un MBR sumergido compuesto por membranas de fibra hueca de ultrafiltración. También se potencia el desarrollo de un sistema MBR sumergido compuesto por membranas planas de microfiltración por la compañía Kubota. Este fortalecimiento se puede ver claramente en los años venideros ya que para el año 1996 había 60 plantas Kubota instaladas en Japón para el tratamiento de aguas residuales domésticas y efluentes industriales, proporcionando 5,5 megalitros por día de capacidad total instalada.

En el mismo espacio de tiempo se desarrollan diversos procesos MBR en diferentes partes del mundo como es el caso del sistema *Sterapore* por la compañía Mitsubishi Rayon (Japón) en 1993, el sistema *Cycle-Let*® por la compañía Thetford System (EEUU) o el sistema *FS Pleiade*® por la compañía Orelis Environment (Japón). Sin embargo cabe destacar la aparición del sistema *ZenoGem*® patentado por la empresa Zenon Environmental (EEUU) en 1990. Este sistema poseía tecnología MBR sumergida con membranas de ultrafiltración de fibra hueca (Tonelli and Canning, 1993; Tonelli and Behmann, 1996). Zenon environmental lanza al mercado en 1993 el primer módulo de ultrafiltración con fibra hueca, el denominado *Zeeweed*®. A la primera versión de este módulo le siguen varias evoluciones que buscaban incrementar la eficiencia global del proceso como son los modelos ZW500 en 1997 o los modelos ZW500 b, c y d en 1999, 2001 y 2003 respectivamente.

A finales de la primera década del siglo XXI había en torno a 7600 plantas de MBR (Judd, 2011) en alrededor de 200 países en el mundo (Icon, 2008). Una revisión realizada por Santos and Judd (2010) desvela que Kubota tiene un mayor número de plantas instaladas a nivel mundial debido a que domina el mercado de las pequeñas

plantas, proporcionando el 20-25 % del total de instalaciones MBR. La compañía Zenon GE, ya que es adquirida en 2006 por la compañía General Electric, posee menos instalaciones pero triplica la cantidad de agua tratada, teniendo una capacidad global instalada para el tratamiento MBR de aproximadamente el 40 %. Mitsubishi Rayon, aunque tiene un número muy similar al de Kubota en instalaciones municipales, limita su actividad al lejano oriente principalmente.

Aunque la mayoría de las instalaciones MBR son acaparadas por estas tres compañías, con un 85-90 % de la totalidad en 2003 (Pearce, 2008), a final del primer decenio del siglo XXI había al menos otros 32 proveedores de membranas para el tratamiento de aguas residuales e industriales. En la figura 1.2 se pueden ver las principales compañías diferenciadas según la configuración de la membrana.

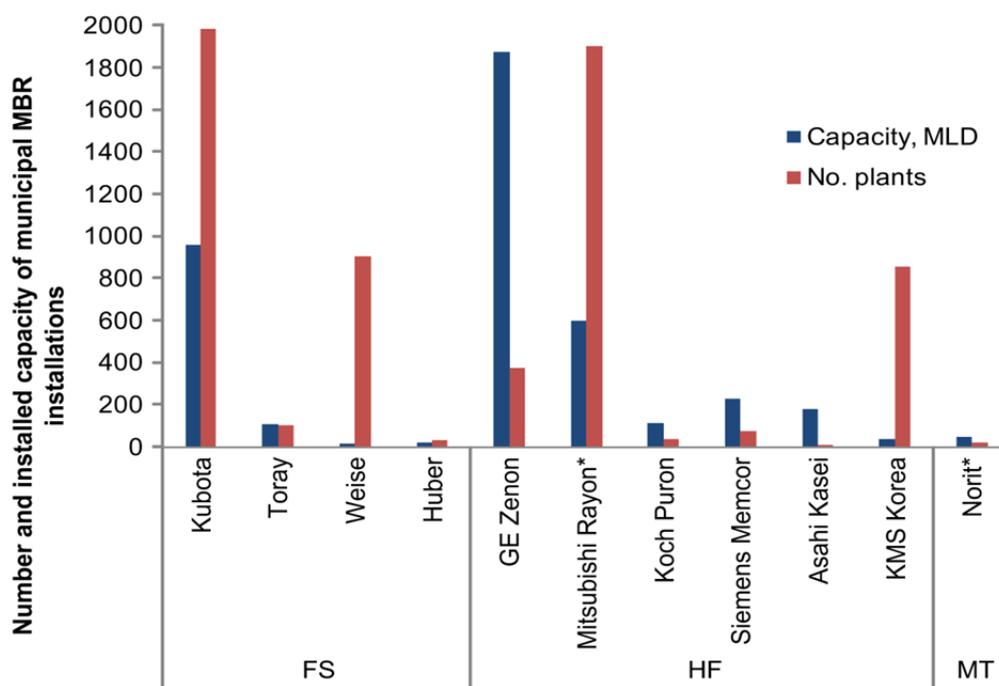


Figura 1.2: Estimación del mercado MBR de plantas municipales a nivel global (Santos and Judd, 2010)

Según las diversas referencias bibliográficas las previsiones del crecimiento del mercado MBR han sido muy dispares. Sin embargo, todas las fuentes coinciden en que ha habido una modificación del mercado debido a la crisis económica. Hay previsiones que pronostican que para el año 2018 habrá un valor de mercado de casi 3500 millones de dólares (WaterWorld, 2012) mientras que otras difieren en ello y prevén que haya un valor de mercado de casi 900 millones de dólares para el año 2017 (GIA, 2011). Según estudios recientes realizados por Simon Judd (2016), el valor total del mercado de la tecnología MBR es aproximadamente 1200 millones de dólares actualmente, con unas tasas de crecimiento del mercado mundial de hasta 15 % (Markets and markets, 2014). Esta evolución se puede observar en la confianza en el proceso ya que está aumentando el número y tamaño de las instalaciones, con alrededor de 40 plantas municipales de más de 100 megalitros/día (MLD) en capacidad (expresado como flujo diario máximo, o PDF) y un total de la capacidad global instalada que probablemente supere los 15.000 MLD. En la Tabla 1.1, además del PDF, también se pueden ver el flujo diario medio (ADF) de las 20 instalaciones MBR más potentes en la actualidad.

La tecnología MBR está en constante mejora desde su aparición y esto es visible en la cantidad de investigaciones que se realizan. Aunque las investigaciones son muy diversas, una gran parte se centra en cómo evitar y controlar el ensuciamiento de la membrana, siendo el principal motivo del presente estudio. En la década pasada las investigaciones se centraban en la caracterización del ensuciamiento de membrana (composición de las impurezas, características e identificación) y las condiciones de operación (Tiempo de Retención Hidráulico (HRT), Tiempo de Retención de Fangos (SRT), flujo y velocidad de burbujeo). A día de hoy las investigaciones se han vuelto más específicas y diversas siendo las de más importancia la comprensión mecánica del ensuciamiento utilizando técnicas avanzadas tales como microscopía confocal de barrido láser (Hwang et al., 2012), microscopía de fuerza atómica (Wang et al., 2013a), microbalanza de cristal de cuarzo con monitoreo de disipación (Miao et al. 2015) y secuenciación de alto rendimiento (Navarro et al., 2016). También se están realizando infinidad de trabajos en los que se tiene en cuenta los métodos emergentes del control del ensuciamiento, como el lavado químico de la aireación (Rosenberger et al., 2016), la limpieza química in situ (Wang et al., 2014), la degradación enzimática y bacteriana de las impurezas (Chen and Columbia 2011; Wang et al., 2013b) y las membranas basadas en nanomateriales (Qu et al., 2013).

Tabla 1.1: Las mayores 20 instalaciones MBR en la actualidad (www.thembrsite.com)

Instalación	Localización	Compañía	Año puesta en marcha	PDF (MLD)	ADF (MLD)
Henriksdal, Sweden	Stockholm, Sweden	GE Water and Process Technologies	2016-2019	864	536
Seine Aval	Acheres, France	GE Water and Process Technologies	2016	357	224
Canton WWTP	Ohio, USA	Ovivo USA/Kubota	2015-2017	333	159
Water Affairs Integrative EPC	Xingyi, Guizhou, China	(Beijing) Origin Water		307	
Euclid, OH, USA	Ohio, USA	GE Water and Process Technologies	2018	250	83
9th and 10th WWTP	Kunming, Yunnan, China	(Beijing) Origin Water	2013	250	
Shunyi	Beijing, China	GE Water and Process Technologies	2016	234	180
Wuhan Sanjintang WWTP	Hubei Province, China	(Beijing) Origin Water	2015	200	
Jilin WWTP (Phase 1, upgrade)	Jilin Province, China	(Beijing) Origin Water	2015	200	
Caotan WWTP PPP project	Xian, Shaanxi, China	(Beijing) Origin Water		200	
Brussels Sud	Brussels, Belgium	GE Water and Process Technologies	2017	190	86
Riverside	California, USA	GE Water and Process Technologies	2014	186	124
Brightwater	Washington, USA	GE Water and Process Technologies	2011	175	122
Visalia	California, USA	GE Water and Process Technologies	2014	171	85
Qinghe WRP (Phase 2)	Beijing, China	(Beijing) Origin Water	2011	150	
Nanjing East City WWTP (Phase 3)	Jiangsu Province, China	(Beijing) Origin Water	2014	150	
Yantai TaoziWan WWTP (Phase 2)	Shandong Province, China	(Beijing) Origin Water	2014	150	
Jilin WWTP (Phase 2)	Jilin Province, China	(Beijing) Origin Water	2014	150	
Qinghe	China	(Beijing) Origin Water/Mitsubishi Rayon Corporation	2011	150	150
Carré de Reunion	Versailles region, France	Koch Membrane Systems	2015	144	42

En la Figura 1.3 se puede ver una revisión muy actual de las tendencias en las investigaciones llevadas a cabo desde comienzos del siglo XXI (Meng et al., 2017) que ha sido llevada a cabo utilizando Scopus.

Esta investigación se centra en el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR, así como en las posibles variaciones para optimizar el proceso. Para ello es necesario conocer a fondo los fundamentos del proceso MBR para posteriormente conocer la naturaleza del ensuciamiento y poder evitarlo o al menos minimizarlo.

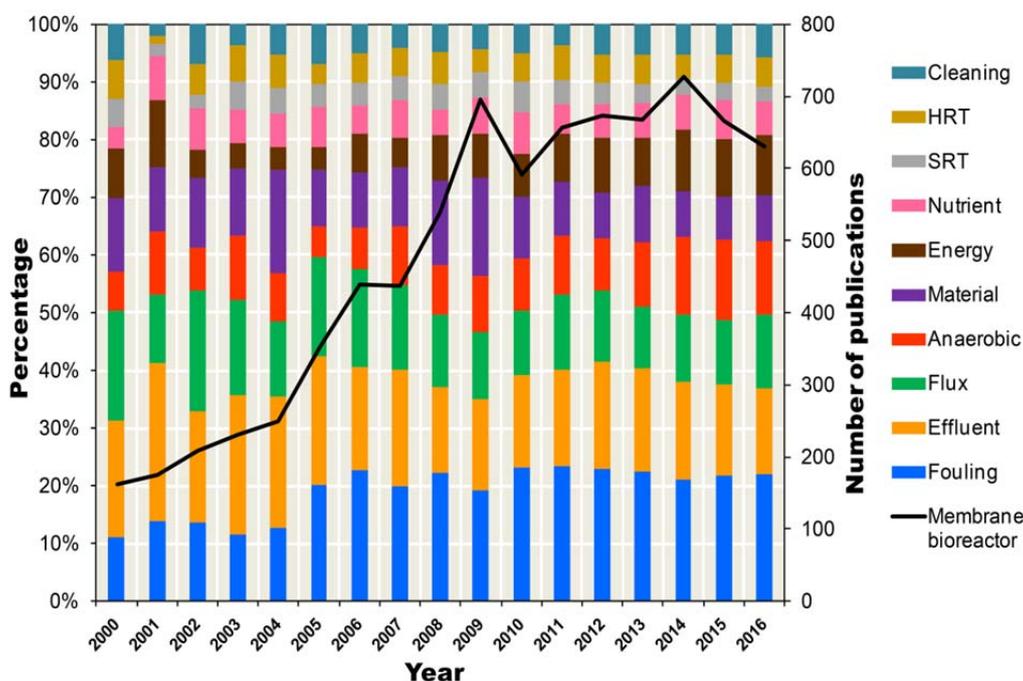


Figura 1.3: Evolución de las tendencias en investigaciones sobre MBR (Meng et al., 2017)

1.2.2. Generalidades del sistema MBR

Las membranas aplicadas al tratamiento de agua residual e industrial pueden definirse como una fina película de un determinado material que separa dos fases y que actúa como barrera selectiva al transporte de la materia, es decir, que dicho material permitirá

que algunos componentes físicos o químicos pasen más fácilmente a través de ella que otros. Los componentes que pasan a través de ella se convertirán en el permeado mientras que los que son retenidos en ella serán el rechazo.

En el caso de los MBR, la membrana actuará como medio por el cual se hace una separación sólido-líquido aplicando un gradiente de presión para vencer la resistencia que opone la membrana al medio, de modo que el 99 % de las partículas quedan retenidas con la membrana (Hasar et al., 2001; Mansell et al., 2004).

El grado de selectividad viene determinado por el tamaño de poro de la membrana. Teniendo en cuenta dicha selectividad en el proceso, se puede encontrar cuatro procesos clave: Ósmosis Inversa (RO), nanofiltración (NF), ultrafiltración (UF) y microfiltración (MF) (Figura 1.4). La medida selectiva de los procesos de membrana se puede expresar tanto en diámetro de poro efectivo, expresado normalmente en μm , y en la masa equivalente de la molécula más pequeña que la membrana es capaz de rechazar en dalton (Da), donde 1 Da representa la masa de un átomo de hidrógeno.

Debido a las características de los sistemas MBR, en el tratamiento de aguas residuales mayoritariamente se emplean la MF y la UF debido a que debemos tener un tamaño de poro determinado para que se produzca una correcta filtración y, a la vez, que no se obstruya excesivamente.

La UF puede emplearse para eliminar esencialmente todas las partículas coloidales y alguno de los contaminantes disueltos más grandes. El tamaño de poro está comprendido, generalmente, entre 0,1 y 0,01 μm , aunque la forma más común de expresar el tamaño de exclusión en ultrafiltración es referir el tamaño al corte molecular, expresado en Da. El tamaño de corte molecular de las membranas de ultrafiltración está comprendido entre valores de 5000 y 100000 Da. Se utiliza la UF cuando deben eliminarse prácticamente todas las partículas coloidales (incluyendo la mayor parte de microorganismos patógenos). Estos sistemas son capaces de eliminar bacterias y virus por lo que son adecuadas para la reutilización posterior del agua. Puesto que los coloides se eliminan, el agua tratada suele tener una turbidez prácticamente nula. La presión de trabajo se mantiene baja (1-10 bars).

μm	0,001	0,01	0,1	1	10	100	1000
A	10	100	1000	10^4	10^5	10^6	10^7
Peso molecular	200	20000	100000	500000			
Tamaños relativos de diferentes partículas	Sales acuosas	Pirógenos	Carbón negro	Virus	Bacterias	Células de lev.	Arena de playa
	Iones metálicos	Sílice coloidal				Polen	
	Azúcares	Proteínas			Harina molida		
Tecnología de Filtración	Ósmosis inversa		Microfiltración				
		Ultrafiltración				Filtración de partículas	

Figura 1.4: Diferentes procesos de separación según la selectividad de las membranas

La MF elimina los sólidos en suspensión de tamaño superior a 0,1–1,0 μm . El tamaño de corte molecular de las membranas tiene un valor de entre 50000 y 500000 Da. Se suele emplear la microfiltración cuando la concentración de sólidos totales disueltos no es problemática, ya que los poros de la membrana son comparativamente grandes para filtrar partículas muy pequeñas. Como ocurre con las membranas de ultrafiltración la presión de trabajo se mantiene baja (2 Bars). En el proceso de funcionamiento de esta tecnología no existen los contralavados debido a que se busca la generación de una torta

de sólidos sobre la superficie de la membrana que incrementa el proceso de filtración, por lo que, en el proceso efectivo, presenta un diámetro de poro menor que el nominal de la membrana, llegando a tamaños del rango de la ultrafiltración (Le-Clech et al., 2006; Pearce, 2008).

El material de la membrana es un aspecto a tener en cuenta en los sistemas MBR (Stephenson et al., 2002). En lo que se refiere a su composición, los diferentes tipos de membranas deben cumplir una serie de requisitos:

- Inertes y no biodegradables.
- Fáciles de limpiar y regenerar.
- Resistentes a los agentes químicos, a las altas presiones y a las elevadas temperaturas.
- Deben de poseer elevada porosidad y uniformidad en la distribución de los poros.
- Deben ser neutras o presentar cargas negativas para evitar la adsorción de los microorganismos.
- Duraderas y fáciles de sustituir.

Son dos los tipos diferentes de materiales que se utilizan en la fabricación de membranas: poliméricos y cerámicos. También existen membranas metálicas pero estas no tienen aplicaciones específicas en sistemas MBR.

Se utilizan varios materiales poliméricos y cerámicos diferentes para fabricar membranas pero casi siempre se componen de una delgada capa superficial con una determinada permeabilidad y una parte interna que actúa como soporte con un tamaño de poro más grueso que proporciona estabilidad mecánica. Las membranas cerámicas suelen dar mayor estabilidad mecánica que las membranas poliméricas. Además, las membranas cerámicas también dan más estabilidad química y térmica. Sin embargo, las membranas cerámicas son mucho más frágiles que las poliméricas, por lo que son estas

últimas las que la mayoría de las empresas comercializan para el tratamiento de aguas residuales.

Teóricamente se pueden utilizar cualquier tipo de polímero para la fabricación de las membranas pero debido a las condiciones que se requieren para los sistemas MBR solo se pueden utilizar unos pocos. Los materiales más adecuados para que se produzca una correcta separación en el proceso son:

- Difloruro de Polivinilideno (PVDF).
- Polietilsufona (PES).
- Polietileno (PE).
- Polipropileno (PP).
- Polisulfona (PS).

La composición más requerida para los sistemas MBR son los polímeros orgánicos PE, PP y PVDF (Judd, 2006). Algunos se mezclan con otros materiales para cambiar su carga superficial o hidrofobicidad (Mulder, 1996) ya que normalmente algunos de estos materiales son hidrofóbicos, como son el PVDF y el PP. De esta forma las membranas se comportan como membranas hidrofílicas y evitan un ensuciamiento rápido.

Atendiendo a la morfología de las membranas, se distinguen las membranas isotrópicas y las anisotrópicas (asimétricas y mixtas) (Figura 1.5). Estas membranas son estructuras laminares o tubulares donde el tamaño de poro, la porosidad o la composición de la membrana cambia a lo largo de su espesor (membranas anisotrópicas) o no (membranas isotrópicas). Están constituidas por una delgada capa activa soportada en otra más gruesa y porosa, de tal forma que la primera es la responsable del proceso de separación y la segunda aporta al sistema resistencia mecánica para soportar las condiciones de trabajo. Dentro de las membranas anisotrópicas podemos distinguir dos tipos de membranas: aquellas que están fabricadas por el mismo material (membranas de Loeb-Sourirajan) o aquellas que están fabricadas con materiales diferentes (membranas tipo composite).

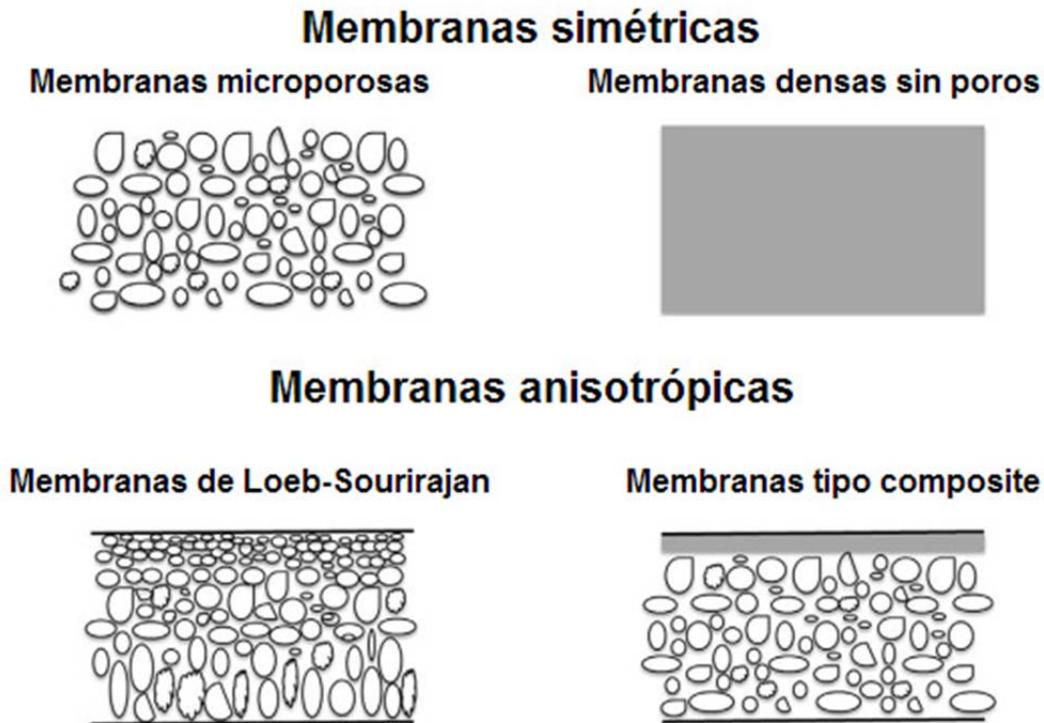


Figura 1.5: Tipos de membrana según su morfología (adaptado de Baker, 2004)

1.2.2.1. Configuración de la membrana

Otro aspecto a tener en cuenta debido a su importancia es la configuración de la membrana, es decir, la geometría y la forma en la que se ha montado y orientado en relación al flujo del agua. Según Stephenson et al. (2000), la membrana debe configurarse de manera que posea:

- Una gran superficie de membrana por unidad de volumen.
- Un alto grado de turbulencia para favorecer la transferencia de masa.
- Un gasto energético bajo por volumen de agua producida.
- Bajo coste por unidad de membrana.
- Diseño que facilite la limpieza.

- Diseño que permita la modularidad.

En la actualidad existen principalmente seis configuraciones utilizadas en sistemas MBR, los cuales tienen tanto beneficios como limitaciones prácticas. Las diferentes configuraciones se basan en geometrías planas o cilíndricas y comprenden:

1. Placa y bastidor.
2. Fibra hueca.
3. Multitubo.
4. Tubos capilares.
5. Filtros de cartucho plegado.
6. Arrollada en espiral.

Todos los diseños de membranas presentan la misma virtud, todos permiten una modularización. Esto permite ajustar los costes de las membranas debido a que la superficie es proporcional al flujo a tratar, es decir, que se puede instalar una mayor o menor superficie de membrana según las necesidades del proceso. Sin embargo, hay otros aspectos en los que hay más limitaciones en lo que se refiere al coste económico ya que es imposible crear un alto grado de turbulencias sin incrementar el gasto energético, que las bajas densidades de empaquetado conllevan a mayores costos unitarios, o que no es posible producir una alta densidad de empaquetado de membrana sin estrechar los canales de flujo del rechazo lo que comprometería la turbulencia y la facilidad de la limpieza (Judd, 2011).

Las turbulencias se producen o al hacer pasar el flujo de alimentación o al hacer pasar una mezcla de agua y aire a lo largo de la membrana, favoreciendo que el permeado la atraviese y reduce el ensuciamiento, por un mecanismo de cizalla (Psoch and Schiewer, 2006). Al aplicar el flujo tangencial sobre la superficie filtrante se provoca una autolimpieza en la superficie de la membrana, disminuyendo la frecuencia y los costes de limpieza. El flujo tangencial es muy usado en el proceso MBR ya que se puede

incrementar fácilmente al incrementar la distancia intersticial, es decir, la separación de las membranas. Sin embargo, el sistema multitubular funciona in-out (de adentro hacia afuera) y los sistemas de fibra hueca y placa bastidor out-in (de fuera hacia adentro) (Figura 1.6), hay que definir mejor la distancia intersticial.

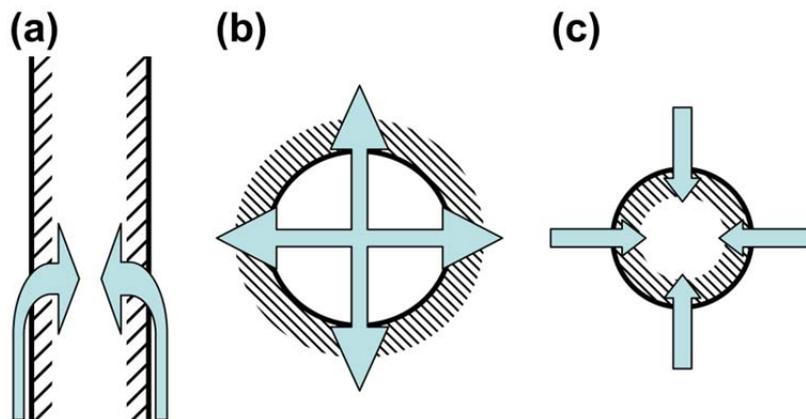


Figura 1.6: Esquema de muestra el flujo a través de la membrana en: (a) placa bastidor, (b) Multitubular y (c) fibra hueca (Judd, 2011)

Buscando obtener estas características en el diseño y fabricación de membranas para MBR se aplican solo tres configuraciones, placa-bastidor, fibra hueca y multitubo (Judd, 2011). Tanto para las membranas planas como para la de fibra hueca, la configuración más habitual es inmersa o sumergida, mientras que en el caso de las membranas multitubulares se suelen emplear la configuración externa. Aunque la configuración sumergida tiene un mayor gasto energético en la aireación, el coste de operación total es menor ya que en la configuración externa hay que bombear el fango activo hasta el módulo de membrana (Gander et al. 2000). Además, la configuración externa es más propensa al ensuciamiento de la membrana y por lo tanto a una menor permeabilidad. Esto se debe a que el fluido se somete a grandes fuerzas en el bombeo, llegando a romper los flóculos y reduciendo por tanto el tamaño de partícula, favoreciendo así el ensuciamiento de la membrana (Wisniewski and Grasmick, 1998; Tardieu et al., 1999).

Debido a las limitaciones expuestas anteriormente y a las características del fango activo, las membranas planas y las de fibra hueca son las más comercializadas para el tratamiento de aguas residuales mediante el uso de tecnología MBR.

Sistemas de membrana de fibra hueca (Hollow-Fiber)

Consisten en fibras que pueden ser presurizadas en el interior. Básicamente existen dos configuraciones atendiendo a que la alimentación circule por el interior (configuración de dentro-fuera) o el exterior de las fibras (configuración exterior-interior) pero como se ha mencionado anteriormente, solo la segunda es aplicada en MBR. Estas membranas son las más susceptibles de ser contaminadas colmatándose rápidamente por los sólidos. Debido a que el diámetro interior de las fibras es muy pequeño (entre 0,5 y 1 mm), las partículas grandes y las altas concentraciones de sólidos no pueden procesarse eficientemente en estas membranas.

El mayor exponente de fabricación de membranas de fibra hueca es la compañía Zenon-GE.

Sistema de membrana placa-bastidor (Plate and Frame) o plana

Se basa en una serie de platos con membranas pegadas a ambos lados del plato. Las membranas utilizadas son membranas planas que ofrecen flexibilidad. El número de platos limita el volumen de flujo que pueda manejar el sistema y la velocidad mínima requerida a través de cada superficie de membrana. La alimentación, impulsada por una bomba, circula por los espacios placa-membrana, concentrándose la materia conforme tiene lugar el flujo de permeado a través de las paredes. En estos sistemas, el ensuciamiento de la superficie de la membrana se previene introduciendo energía mecánica para impedir que las partículas se adhieran a los poros. La utilización de esta configuración tiene ciertas ventajas como son los bajos costes de reemplazo de las

membranas, el fácil desmontaje para permitir el acceso para la limpieza manual y que en algunos de los diseños, el permeado se recolecta de las placas de membranas individualmente, lo que hace que la tarea de detección de las membranas deterioradas sea más sencilla.

Este sistema tiene su mayor comercialización en la compañía Kubota.

1.2.3. Ventajas e inconvenientes de los MBR

Los sistemas MBR tienen muchas ventajas respecto al tratamiento convencional con fangos activos, sin embargo también tienen ciertos inconvenientes que es necesario conocer para optimizar todo lo posible el proceso.

Según Le-Clech (2010), las ventajas de los MBR frente a los sistemas tradicionales son las siguientes:

- Los decantadores secundarios son reemplazados por módulos de membrana más compactos.
- El uso de membranas para el proceso de separación sólido-líquido mejora la calidad del efluente producido. Los MBR permiten la retención física completa de flóculos bacterianos, de la mayoría de los sólidos en suspensión y además, pueden ofrecer una gran capacidad de desinfección.
- La retención de fango activo en el biorreactor permite operar con altas concentraciones de Sólidos en Suspensión del Licor Mezcla (MLSS) y con elevados SRTs, permitiendo el desarrollo de microorganismos de crecimiento lento y la reducción del tamaño del biorreactor.
- Las operaciones con un SRT elevado pueden llevar también a una menor producción de fango.

Como se ha mencionado anteriormente, los sistemas MBR no siempre son ventajosos respecto al proceso convencional. Según Judd (2006) los MBR presentan las siguientes desventajas:

- Mayor complejidad del proceso; la separación sólido-líquido mediante el uso de membranas demanda protocolos operacionales adicionales en relación con el mantenimiento y la limpieza de las membranas.
- Equipos y operaciones con mayor coste; los componentes del sistema MBR acarrearán un coste económico superior al proceso convencional.
- Las altas concentraciones de fango pueden influir de forma negativa en el rendimiento de la membrana, aumentando la Presión Transmembrana (TPM) o disminuyendo el flujo a través de la membrana.

Esta última desventaja de los MBR, que es la razón del presente estudio, es una de las principales limitaciones por las que el sistema no se está comercializando más rápidamente. Aunque los MBRs son actualmente una tecnología madura, el ensuciamiento de la membrana sigue siendo el problema operacional más importante, lo que dificulta su aplicación a nivel global y a gran escala. Las altas concentraciones de fango en MBR pueden producir un mayor y más rápido ensuciamiento de la membrana por lo que la membrana se obstruirá reduciendo su productividad, aumentando los requerimientos energéticos debido a la aireación y requiriendo una limpieza frecuente de la membrana para restaurar su permeabilidad. Este último acorta la vida útil de la membrana y conlleva mayores costos económicos debido a la necesidad de reemplazo de la membrana.

1.3. ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA

Entre todos los temas relacionados con MBRs, "fouling" sigue siendo la palabra clave más frecuente en investigación sobre MBR, con un promedio del 22% en las publicaciones de los últimos cinco años. Además del tema "ensuciamiento", se

realizaron considerables investigaciones sobre el tema "efluentes" (Meng et al., 2017). Debido al papel positivo de las membranas en la mejora de la calidad de los efluentes, a menudo se utilizan MBR para el tratamiento de aguas residuales o la reutilización de agua (Arévalo et al., 2012, Le-Clech 2010, Zanetti et al., 2010).

El ensuciamiento, en su forma estricta, es la cobertura de la superficie de la membrana (externa e interna) por depósitos que se adsorben y precipitan en su superficie, penetrando en su interior o reduciendo el diámetro de paso de los poros (Cho and Fane, 2002; Zhang et al., 2006a). Sin embargo, el término se utiliza a menudo para todos los fenómenos que conducen a una pérdida de permeabilidad (Drews, 2010). Dicha pérdida da como resultado que se tenga que trabajar con superficies de membrana más grandes, con presiones más altas o con mayores velocidades de flujo cruzado que resultan en un mayor gasto de energía. Un aumento progresivo de la TMP, con el fin de mantener el flujo de permeado, acelerará el proceso de ensuciamiento, aumentando la frecuencia de las limpiezas químicas o pudiendo llegar a una situación irreversible de taponamiento de la membrana, lo que haría necesario su sustitución. La pérdida de permeabilidad también puede ser causada por el atascamiento o "clogging" del módulo. Esto se debe a variaciones locales de las condiciones del flujo cruzado y de la posterior deshidratación de la biomasa que deja un depósito bastante sólido en los huecos de los módulos de membranas (Drews, 2010).

El proceso de ensuciamiento o atascamiento de la membrana puede ser atribuido a la obstrucción de los poros de la membrana y a la deposición de tortas de fango (Lee et al., 2001a). En la figura 1.7 se puede ver un esquema del ensuciamiento de la membrana según el tipo de obstrucción de los poros.

Dado que la tasa de incrustación aumenta exponencialmente con el flujo (Le-Clech et al., 2003a; McAdam et al., 2010a, b, y Monclús et al., 2010), el proceso requiere que los MBRs se operen a flujos modestos y preferiblemente por debajo del denominado flujo crítico.

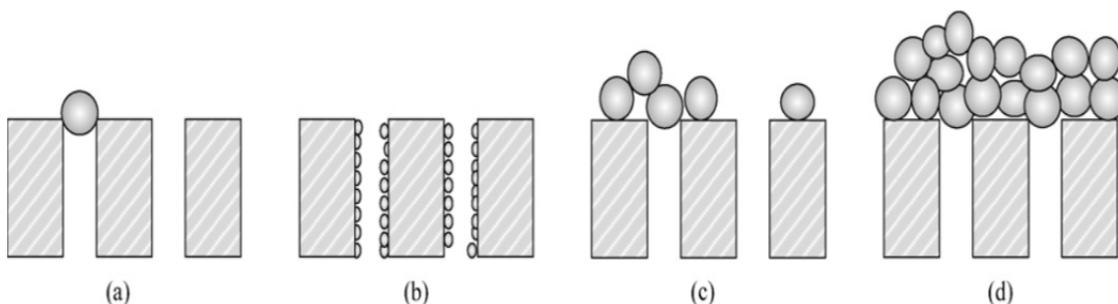


Figura 1.7: (a) Obstrucción completa; (b) Obstrucción estándar; (c) Obstrucción intermedia y (d) formación de torta (Shen et al., 2010).

Generalmente, y como se puede ver en la Figura 1.8, se puede proponer una evolución del ensuciamiento en tres etapas (Cho y Fane, 2002; Zhang et al., 2006a; Judd, 2011):

- Etapa 1 o acondicionamiento del ensuciamiento: Se produce un rápido aumento de la TMP a corto plazo al producirse fuertes interacciones entre la superficie de la membrana y biopolímeros como las Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS) o el Producto Microbiano Soluble (SMP). Ognier et al. (2002) describieron un ensuciamiento irreversible rápido en esta etapa inicial. La adsorción pasiva de coloides y compuestos orgánicos se ha observado incluso trabajando a flujo cero y antes de la deposición de partículas (Zhang et al., 2006a). En estudios realizados con una célula de prueba equipada con observación directa a través de una membrana que funcionaba a flujo transversal y flujo cero, se observó visualmente que el material floculante se depositaba temporalmente en la membrana (Zhang et al., 2006a). Esto se definió como un proceso de interacción aleatoria en lugar de un fenómeno convencional de la formación de torta ya que, aunque se vio que algunos flóculos rodaban y se deslizaban a través de la membrana, los agregados biológicos se separaron y dejaron una huella residual de flóculos más pequeños o de material EPS. La biomasa que se aproximaba a la superficie de la membrana fue entonces capaz de unirse más fácilmente a la superficie para colonizarla y contribuir a la Etapa 2.

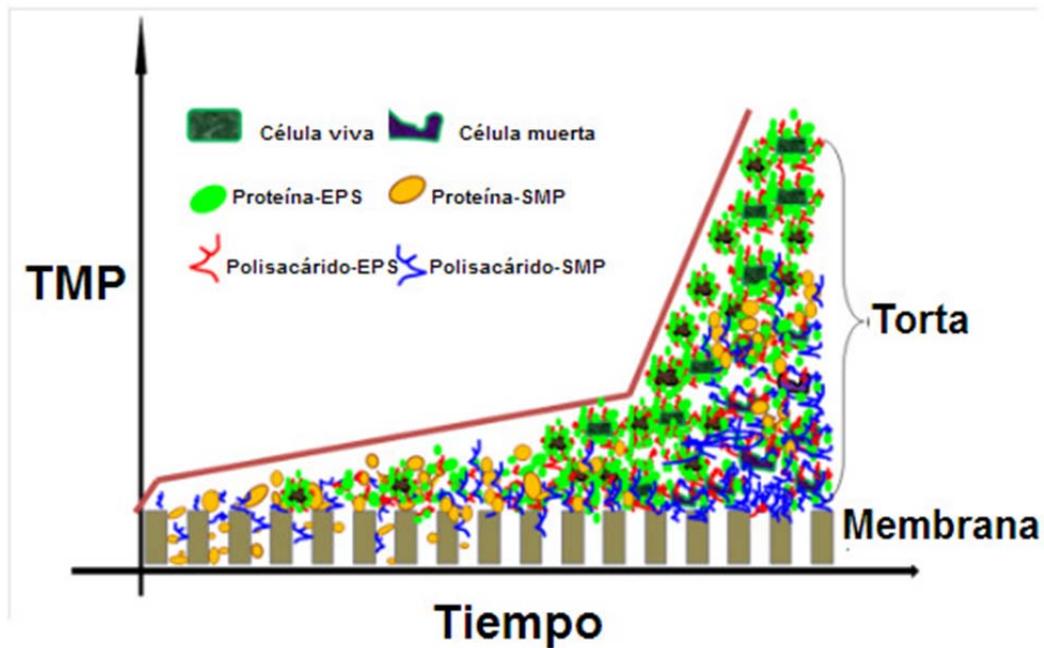


Figura 1.8: Evolución del ensuciamiento de la membrana en MBR según la TMP (Adaptado de Meng et al., 2017)

- Etapa 2 o de ensuciamiento constante: Tras la primera etapa se espera que la superficie de la membrana esté cubierta en su mayor parte por SMP, promoviendo la unión de partículas y coloides. También puede producirse adsorción y deposición adicionales de compuestos orgánicos en esta etapa. Dado que la adsorción puede tener lugar a través de toda la superficie de la membrana, inicialmente esta formación no afecta al flujo. Sin embargo, y con el tiempo, se produce el bloqueo total o parcial de los poros por lo que se espera que la velocidad de deposición de EPS y el aumento de la TMP resultante aumenten con el flujo. Debido al desigual flujo de aire y líquido en MBRs sumergidos, se pueden producir ensuciamientos no homogéneos.
- Etapa 3 o salto de la TMP: Con regiones de la membrana más sucias que otras, la permeabilidad es significativamente menor en esas localizaciones específicas. Como resultado, la filtración no se lleva a cabo en las áreas menos sucias de la membrana, excediendo el flujo crítico en estas localidades. Bajo tales condiciones, la velocidad de incrustación aumenta rápidamente, aproximadamente de forma exponencial con el flujo.

Se cree que el salto de TMP es la consecuencia de un ensuciamiento severo de la membrana. Cho y Fane (2002) atribuyeron el salto de TMP a los cambios en el flujo local debido al ensuciamiento, el cual causó eventualmente que los flujos locales fueran más altos que el flujo crítico. Zhang et al. (2006a) informaron que el salto repentino fue posiblemente debido al efecto de flujo local y era causado por cambios repentinos de la estructura de la capa de biopelícula. Debido a la limitación de la transferencia de oxígeno, las bacterias en las biopelículas de la parte interna de la membrana tienden a morir y liberan más EPS. Una investigación realizada por Hwang et al. (2008) también confirmó que el salto repentino de TMP estaba estrechamente relacionado con el aumento repentino en la concentración de EPS en el fondo de la capa de torta, lo que podría atribuirse a la muerte de bacterias en su interior.

Tabla 1.2: Factores que influyen sobre el ensuciamiento de la membrana en MBR (Judd, 2006).

Características de la alimentación	Características de la biomasa	Características del módulo y la membrana	Condiciones operacionales
Pretratamiento realizado	Parámetros globales (viscosidad, densidad, oxígeno disuelto)	Tamaño de los poros	SRT
Complejidad del residuo de entrada	Características de los flóculos	Configuración de la membrana	Limpieza de la membrana
Velocidad de carga residual	Presencia y tipos de EPS	Material	Aireación
		Hidrofobicidad de la membrana	Modo de filtración
			Caudal

El ensuciamiento es inevitable pero puede controlarse hasta cierto punto cuando se conocen los mecanismos y las sustancias responsables. Está relacionado por una parte con el tipo, configuración y naturaleza de las membranas, por otra parte con las características del proceso: SRT, concentración de MLSS, configuración hidráulica y sistema de aeración, y por último con determinadas sustancias presentes que son las que físicamente producen el ensuciamiento como son coloides, proteínas y polisacáridos. Estas sustancias en parte proceden directamente del agua residual y en parte son generadas en el proceso como es el caso de los EPS y del SMP. En la Tabla 1.2 se pueden observar los diversos factores que influyen sobre el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR. Su mayor o menor incidencia depende, así mismo, del proceso.

1.3.1. Clasificación del ensuciamiento de membrana

El ensuciamiento de la membrana es un proceso de alta complejidad y que viene determinado por múltiples causas. Los tamaños de las partículas de los flóculos, solutos y coloides que están presentes en el fango activo pueden afectar fuertemente los mecanismos de ensuciamiento en los sistemas MBR. Si las impurezas son pequeñas en relación a los tamaños de poros de la membrana (solutos) o comparables a los poros (coloides), se puede producir la adsorción en la pared de los poros y por lo tanto producirse su bloqueo. Sin embargo, si las impurezas son mucho más grandes que los poros de la membrana, tienden a formar una torta sobre la superficie de la membrana.

Según el mecanismo de ensuciamiento de la membrana, se puede clasificar dicho ensuciamiento según su reversibilidad: reversible o irreversible, y mediante la naturaleza de las sustancias que la provocan: orgánicas, inorgánicas y biológicas.

1.3.1.1. Reversibilidad

En este apartado, y según la literatura existente, hay una gran controversia, ya que los diferentes autores no se ponen de acuerdo en su definición y clasificación. En esta investigación se tiene en cuenta la clasificación realizada por Meng et al. (2009) en el que se diferenciaban tres tipos de ensuciamiento: reversible o eliminable, no eliminable e irreversible o irrecuperable.

El ensuciamiento irreversible es aquel que no puede ser eliminado por ningún método incluyendo la limpieza química. Como se observa en la figura 1.9, el ensuciamiento eliminable puede ser fácilmente eliminado por limpieza física mientras que con el no eliminable se hace indispensable la limpieza química. El eliminable es causado por componentes que están débilmente fijados a la membrana, mientras que el no eliminable es causado por el bloqueo de los poros y componentes que están fuertemente fijados. El ensuciamiento irreversible es permanente y no puede ser eliminado de ninguna manera. En general, el ensuciamiento eliminable es atribuido a la formación de la torta y el no eliminable al bloqueo de los poros (Meng et al., 2009).

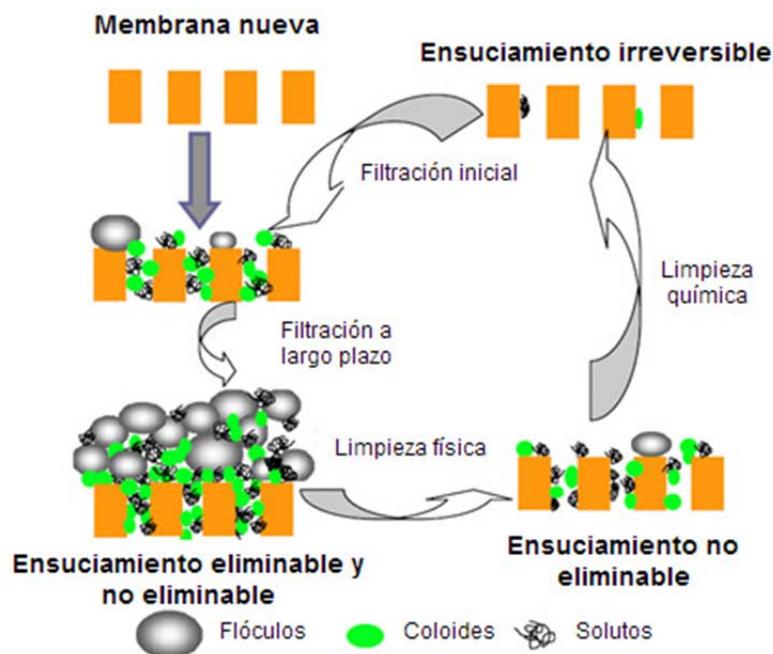


Figura 1.9: Ilustración esquemática de la formación y eliminación del ensuciamiento eliminable y no eliminable en MBR (Adaptado de Meng et al., 2009)

Formación de la torta: La torta o “cake” puede ser descrita como un medio poroso con un sistema complejo de vacíos interparticulares conectados entre sí. En muchos casos, la formación de la torta está relacionada con el ensuciamiento eliminable que es considerado como el mayor contribuidor al ensuciamiento de membrana en MBR. Lee et al. (2001a) mostraron que las resistencias a la filtración incluían: la resistencia de la membrana (12%), la resistencia de la torta (80%) y la resistencia por la obstrucción y el ensuciamiento no eliminable (8%). Teniendo en cuenta estos porcentajes, se puede indicar que la formación de la torta es la principal causa que lleva al ensuciamiento de membrana.

La torta no está distribuida uniformemente sobre toda la superficie de las membranas, sino que la cubre parcialmente. La torta se compone de una parte que es estática, de modo que no puede ser eliminada por la fuerza de cizalla que provoca la aireación y por una parte compuesta por una fina película de lodo que se lava frecuentemente por la turbulencia de la aireación. Los biopolímeros depositados permiten una más fácil y rápida adhesión bacteriana. Además, los EPS retienen a los flóculos más fuertemente sobre la membrana e incrementan la dificultad de la eliminación de la torta mediante la turbulencia de la aireación (Chu and Li, 2005).

Ensuciamiento no eliminable: Aunque la mayoría de las actividades de investigación recientes se centran en el estudio de la torta, la investigación y control del ensuciamiento de membrana no eliminable es de gran importancia para funcionamiento sostenibles y a largo plazo de los sistemas MBR. Durante las filtraciones iniciales, coloides, solutos y células microbianas pasan a través de la membrana y precipitan o se acumulan dentro de los poros de la membrana. Durante las operaciones de MBR a largo plazo, las células depositadas se multiplican y producen EPS, obstruyendo los poros y formando una capa de ensuciamiento que está fuertemente adherida. Al mismo tiempo, algunas sustancias inorgánicas pueden precipitar progresivamente sobre las membranas o dentro de los poros.

Trabajar con un flujo por debajo del flujo crítico, es un acercamiento efectivo para evitar un ensuciamiento severo, incluyendo el ensuciamiento eliminable y el no

eliminable. El concepto de flujo crítico fue introducido por Field et al. (1995). El concepto de operación bajo flujo crítico es denominado flujo sub-crítico u operación de no-ensuciamiento y con ello se espera que no se produzca una gran cantidad de ensuciamiento no eliminable. Para filtraciones de membrana a corto plazo, cuando el flujo de permeado está fijado bajo el flujo crítico, la TMP permanece estable y el ensuciamiento es reversible. En el caso opuesto, y cuando el flujo excede el flujo crítico, la TMP aumenta pudiendo llegar, incluso, a un salto de TMP. De hecho, para operaciones de MBR a largo plazo, el ensuciamiento no eliminable puede darse incluso si se opera por debajo del flujo crítico.

Ya que el ensuciamiento no eliminable juega un papel importante en las operaciones a largo plazo en los procesos MBR, algunas veces se requiere una limpieza química para mantener los MBR operativos. Estas limpiezas químicas deben estar limitadas a una frecuencia mínima ya que hechas repetidamente pueden acortar la vida de la membrana y el desecho de agentes químicos pueden causar severos problemas medioambientales (Yamamura et al., 2007).

Ensuciamiento irreversible: También se conoce como ensuciamiento permanente o ensuciamiento irreversible a largo plazo. Una vez que las membranas se ensucian durante el funcionamiento a largo plazo, la permeabilidad original de la membrana nunca se recupera. Existe una resistencia restante que puede definirse como incrustación irrecuperable, no pudiéndose eliminar fácilmente mediante las limpiezas químicas típicas (Resosudarmo et al., 2013; Judd, 2010). Este ensuciamiento, que se acumula a la largo de los años, puede determinar en última instancia la vida de la membrana (Ayala et al., 2011).

1.3.1.2. Naturaleza de los componentes

El ensuciamiento de membranas puede clasificarse según la naturaleza de los componentes en bioensuciamiento, ensuciamiento orgánico e inorgánico.

Bioensuciamiento: El bioensuciamiento también puede denominarse “biofilm” o “biocake” y se refiere a la deposición, crecimiento y metabolismo de las células bacterianas o flóculos en las membranas (Pang et al., 2005; Wang et al., 2005). La colonización de la superficie de las membranas con microorganismos es uno de los factores importantes en el proceso de bioensuciamiento (Ma et al., 2013; Malaeb et al., 2013). En los MBRs, los flóculos de pequeño tamaño son los principales colonizadores iniciales en las superficies de la membrana debido a la alta concentración de EPS y a la mayor área específica (Lin et al., 2011, Shen et al., 2015) Para las membranas de microfiltración y ultrafiltración utilizadas para el tratamiento de aguas residuales, este ensuciamiento es un gran problema, ya que la mayoría de los compuestos del ensuciamiento (flóculos microbianos) en MBR son mucho más grandes que el tamaño de los poros de la membrana. El atascamiento por ensuciamiento biológico puede comenzar con la deposición de células individuales o una agrupación de ellas sobre la membrana, tras lo cual las células se multiplican formando una biopelícula. En algunas publicaciones, el ensuciamiento biológico se considera no sólo como la deposición de células microbianas sino también por la adsorción de materiales orgánicos producidos por microorganismos (Malaeb et al., 2013). Algunos estudios han relacionado al SMP y al EPS como los principales responsables del ensuciamiento biológico y por lo tanto de la formación de la biopelícula en la superficie de la membrana (Flemming et al., 1997; Liao et al., 2004; Ramesh et al., 2007).

La estructura de la comunidad microbiana en la superficie de la membrana puede ser muy diferente a la estructura de la biomasa suspendida (Zhang et al., 2006b). Según Miura et al. (2007), son un grupo específico de bacterias, las betaproteobacterias, las que probablemente jueguen un papel más importante en el desarrollo en la maduración de las biopelículas, las cuales llevan a un ensuciamiento severo no eliminable de la membrana. Las proteobacterias se adhieren y crecen más selectivamente a la membrana que otros microorganismos, y las células depositadas tienen una más alta superficie de hidrofobicidad que el fango suspendido (Jinhua et al., 2006). La deposición selectiva de las células depende de su afinidad con los diferentes materiales de las membranas.

Ensuciamiento orgánico: El ensuciamiento orgánico se refiere a la deposición de proteínas, polisacáridos, ácidos húmicos y otras sustancias (ya sean solubles o coloidales) que tienen su origen en el agua de alimentación o que han sido originadas por secreción microbiana (Wang et al., 2014). Aunque los componentes del ensuciamiento orgánico son varios, se identifican las proteínas y los polisacárido como los biopolímeros más abundantes (Zhou et al., 2007; Kimura et al., 2005). Debido al pequeño tamaño, los biopolímeros pueden ser depositados sobre la membrana más rápidamente que las partículas más grandes (flóculos del fango y coloides). El SMP y el EPS están considerados como los desencadenantes del ensuciamiento orgánico en sistemas MBR.

Para un conocimiento más detallado de los biopolímeros depositados en MBR, Metzger et al. (2007) fraccionaron la capa de ensuciamiento después de la filtración revelando la distribución espacial de biopolímeros en la superficie de la membrana. Esta capa se divide en 3 subcapas: capa superior, capa intermedia y capa baja. Para ello utilizó lavados, contralavados y limpiezas químicas. La capa de ensuciamiento superior está compuesta por una torta porosa y débilmente retenida con una composición similar a los flóculos del fango, la capa intermedia está constituida por SMP y agregados bacterianos con una alta concentración de polisacáridos, y la capa baja, que representa a la fracción de ensuciamiento no eliminable y dominada por SMP, tiene una concentración relativamente alta de proteínas fijadas.

Ensuciamiento inorgánico: El ensuciamiento inorgánico o incrustación inorgánica en procesos MBR resulta de la precipitación química de cristales inorgánicos y/o de la precipitación biológica de los complejos inorgánicos y orgánicos (Meng et al., 2009; Costa et al., 2006). Los iones metálicos, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} , y aniones tales como CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} y OH^- pueden reaccionar y producir la precipitación química si se excede la concentración de saturación en las superficie de la membrana u otros sitios específicos. Además, las partículas inorgánicas existentes en el proceso también pueden unirse a las superficies de la membrana o bloquear los poros para causar ensuciamiento inorgánico (Zhang et al., 2012).

Hasta ahora, la mayoría de las investigaciones atribuían el ensuciamiento de la membrana a la deposición de células bacterianas y biopolímeros. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el ensuciamiento inorgánico juega un papel muy importante en el ensuciamiento de la membrana. Wang et al. (2008) observaron que la capa de la torta estaba formada por sustancias orgánicas junto con elementos inorgánicos como Mg, Al, Fe, Ca, Si, etc., los cuales favorecían la formación de la torta. Lyko et al. (2007) también encontraron que los elementos metálicos eran un contribuyente más significativo en el ensuciamiento de la membrana que los biopolímeros. Algunas veces el ensuciamiento causado por precipitación química inorgánica no es fácil de eliminar ni siquiera por limpieza química (You et al., 2006).

Como se ha mencionado al comienzo de este apartado, el ensuciamiento inorgánico puede formarse de dos formas diferentes: por precipitación química o biológica. La precipitación química se da cuando las concentraciones de las especies químicas presentes exceden las concentraciones de saturación debido a la polarización de la concentración, lo que conducirá a una mayor concentración de sales retenidas en la superficie de la membrana. La precipitación biológica es producida cuando los grupos ionizables de los biopolímeros (COO^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} y OH^-) capturan los iones metálicos presentes en el fango activo formando complejos y construyendo una densa capa que puede intensificar la declinación del flujo (Costa et al., 2006). Aunque el ensuciamiento inorgánico de la membrana es un fenómeno problemático en MBRs, es posible limitarlo o evitarlo pretratando el agua de alimentación y/o implementando limpiezas químicas.

1.4. FACTORES QUE AFECTAN AL ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA

Como se ha visto en la tabla 1.2, los factores que afectan al ensuciamiento de la membrana son muy diversos, pero los principales causantes del ensuciamiento de la membrana son el SMP y los EPS.

Aunque ambos son producto del metabolismo celular, se pueden diferenciar en la posición que ocupan dentro de la matriz de los flóculos microbianos (Figura 1.10). El

SMP o EPS soluble es la parte soluble que está fuera del flóculo, mientras que el EPS es la parte que está vinculada a la célula. Además, el EPS puede ser subdividido en dos partes: una parte que está fuertemente adherida a la célula y otra que está dentro de la matriz del flóculo pero está esparcida en el medio (Higgins and Novak, 1997).

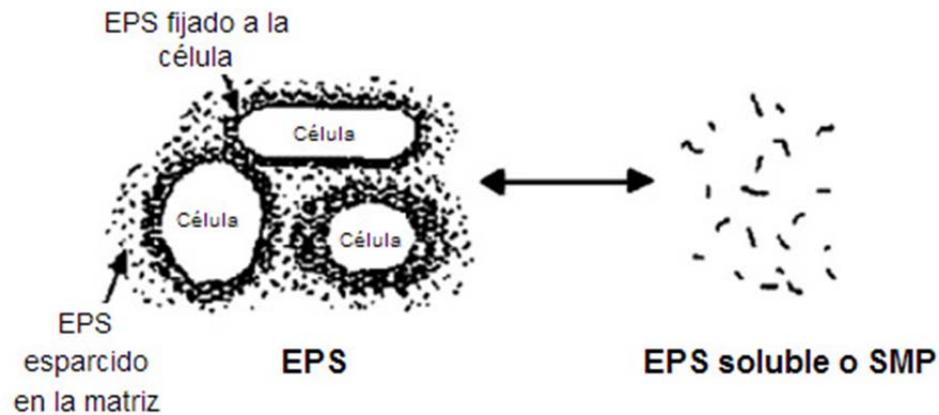


Figura 1.10: Estructura del SMP y EPS dentro del flóculo microbiano (Adaptado de Nielsen and Jahn, 1999)

La composición del SMP y EPS está estrechamente relacionada con el tipo de agua utilizada y de las condiciones de operación de la planta de tratamiento (Sponza, 2003). Ambas sustancias extracelulares están compuestas por numerosas moléculas o compuestos que potencialmente pueden participar en interacciones entre moléculas o entre componentes. Debido a ello, hasta las biomoléculas más pequeñas, tales como las sustancias húmicas, pueden contribuir al ensuciamiento de la membrana a través de la formación de conjuntos biomoleculares con otras especies. Un ejemplo típico es la aparición de grupos de biopolímeros mucho mayores que los SMP en sistemas MBR. Estudios realizados por Sun et al. (2011) y Wang et al. (2011) demuestran que la formación de estos biopolímeros en el fango activo puede conducir a un ensuciamiento grave de la membrana.

1.4.1. Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS)

El término EPS fue propuesto originalmente por Geesey como el acrónimo de “Extracellular Polymeric Substances”, definiéndola como una “sustancia polimérica extracelular de origen biológico que participa en la formación de comunidades microbianas” (Geesey, 1982). Dichas siglas se han usado también para referirse a los términos polisacáridos extracelulares, exopolímeros y exopolisacáridos.

Morgan et al. (1990) definen EPS como los productos metabólicos acumulados en la superficie de la célula. Estos productos metabólicos son capaces de formar una capa protectora para la célula contra los ambientes externos. También pueden ser utilizadas como fuente de carbono y energía por la célula durante periodos en los que los nutrientes son escasos. Los EPS son de gran importancia en la floculación (Frølund et al., 1996) y deshidratación (Nielsen et al., 1999) de los fangos activos, así como de la microestructura de los fangos (Schmidt and Ahring, 1994).

Los EPS están compuestos por una variedad de sustancias orgánicas (Frølund et al., 1996). Los carbohidratos han sido identificados como el constituyente predominante (Cescutti et al., 1999; Sutherland and Kennedy, 1996), mientras que las proteínas se encontraron en cantidades sustanciales en los fangos de muchos reactores de tratamiento de aguas residuales (Fang and Jia, 1996; Veiga et al., 1997), probablemente debido a la gran cantidad de exoenzimas atrapadas en el mismo (Dignac et al., 1998). También se detectaron sustancias húmicas, ácidos urónicos y ácidos desoxirribonucleicos (DNA) (Tsuneda et al., 2001; Zhang et al., 1999), estos últimos aparecen en pequeñas cantidades que son liberadas por las células muertas después de la lisis.

Los hidratos de carbono se pueden encontrar formando homopolisacáridos (compuestos por un solo tipo de azúcar) o heteropolisacáridos (presentan en su estructura de dos a cinco azúcares diferentes), pudiendo llevar sustituyentes orgánicos o inorgánicos. La cantidad de monómeros de azúcar que posea los EPS es importante para sus propiedades de cohesión y para la facilidad de este para formar agregados (Decho, 2000).

La naturaleza polianiónica de los EPS es debida a la presencia de grupos piruvato y ácidos urónicos (Decho, 2000). Algún EPS poseen sulfatos y fosfatos, que contribuyen en su capacidad quelante (Sutherland, 2001).

A modo de resumen podemos definir una serie de funciones que ejercen los EPS como consecuencia de su naturaleza biológica y de sus características físico-químicas:

1. Permitir establecer y mantener asociaciones entre microorganismos y entre éstos y su medio ambiente (Decho, 2000).
2. En la biopelícula la división celular es muy baja, en su lugar el exceso de energía lo emplea en sintetizar EPS, de tal forma que este constituye una fuente de reserva de energía y carbono (Decho, 2000).
3. Protege a las exoenzimas (Hoppe, 1991).
4. En la mayoría de los casos los EPS actúan como protector frente a la desecación dada la capacidad de estos polímeros de retener agua por su carácter hidrófilo (Potts, 1994).
5. Actúa como una esponja donde quedan atrapados y concentrados moléculas orgánicas e iones del medio acuoso. Este proceso favorece la concentración de nutrientes bacterianos en el interior del EPS (Decho, 2000).
6. Juega un papel crucial en la floculación de los fangos activos y en la estructura de los flóculos que lo forman (Frølund et al., 1996; Rudd et al., 1984).
7. Tiene capacidad quelante de metales tóxicos y otros contaminantes (Decho, 2000).
8. Confieren a la célula protección frente a agentes líticos, fagocíticos, ataque de protozoos e incluso frente a los bacteriófagos. Además inhiben la acción de determinados agentes antimicrobianos.

1.4.1.1. Efecto de los EPS en el ensuciamiento de la membrana

Los EPS no solo son el principal componente de los flocúlos de los fangos, manteniendo el flocúlo en una matriz tridimensional, sino que también son participes del ensuciamiento de membrana en los sistemas MBR. Cho et al. (2005) encontraron una estrecha relación entre los EPS y la resistencia específica de la torta y establecieron una ecuación funcional en la que la resistencia específica de la torta es proporcional a la concentración de EPS. Ahmed et al. (2007) también observó que mientras que la concentración de EPS aumentaba, la resistencia específica de la torta aumentaba, y esto consecuentemente resultó en la subida de la TMP. Un estudio reciente realizado por Ji and Zhou (2006) indicó que la composición y la cantidad de EPS en la superficie de la membrana influenciaban su ensuciamiento y que el total de biopolímeros en fangos en suspensión jugaba un papel más importante que los EPS en el ensuciamiento de la membrana. Ramesh et al. (2006) probaron que la resistencia al ensuciamiento estaba principalmente causada por los EPS esparcidos, pero no por las fuertemente fijadas. Los EPS esparcidos estaban correlacionados con los procesos de sedimentación y floculación (Li and Yang, 2007).

Sin embargo, en algunos estudios observaron que los EPS tenían poca correlación con el atascamiento de la membrana. Rosenberger & Kraume (2002) encontraron que, en contra de alguna literatura, no podía observarse impacto de las EPS en la filtrabilidad. En vez de eso, el SMP resultó tener gran impacto en la filtrabilidad del fango. Esto fue confirmado por un trabajo más reciente que no reportaba relación clara entre los EPS y el ensuciamiento de la membrana ya que su concentración era menor de 10 mg/g SS (Yamato et al., 2006).

El fango activo tiene un gran impacto en el ensuciamiento de la membrana (Germain et al., 2005; Fan et al., 2006). Sin embargo, los EPS no pueden ser considerados como únicos causantes del ensuciamiento, aunque tienen gran influencia sobre las características de los fangos relacionadas con el ensuciamiento. Las concentraciones de EPS están estrechamente conectadas a las características de los fangos como el índice volumétrico, floculación, hidrofobicidad, carga de la superficie y la viscosidad.

1.4.2. Producto Microbiano Soluble (SMP)

El SMP fue definido originalmente por Namkung & Rittman (1988) y fue investigado más extensamente por Noguera et al. (1994), Rittmann et al. (1987, 1994) y de Silva and Rittmann (2000). El SMP se ha definido como aquellos componentes celulares solubles que han sido liberados durante la lisis celular, dispersos a través de la membrana de la célula, perdiéndose durante la síntesis o que son excretados con algún propósito. Tienen un peso molecular moderado y son biodegradables.

El SMP es importante en el tratamiento de aguas residuales debido a que están presentes ubicuamente y normalmente forman la mayor parte de la demanda química de oxígeno y de la demanda biológica de oxígeno de los procesos de tratamiento biológico de aguas (de Silva and Rittmann, 2000; Rittmann and McCarty, 2001). El SMP puede ser subdividido en dos categorías: productos de utilización de sustrato asociado (UAP), los cuales son producidos directamente durante el metabolismo del sustrato, y productos de biomasa asociada (BAP), los cuales están formados por biomasa, presumiblemente como parte de la degradación.

El origen del SMP fue descrito por Kuo (1993), citando los factores que causaban su formación:

1. Equilibrio en la concentración: los organismos excretan materiales orgánicos solubles para establecer una concentración en equilibrio a lo largo de la membrana de la célula (Harold, 1972; Christensen, 1975; Painter, 1973).
2. Falta de nutrientes: las bacterias excretan materia orgánica durante la falta de nutrientes debido a que deben obtener energía para mantener la respiración endógena o el metabolismo de los componentes intracelulares cuando el sustrato está esencialmente ausente (Dawes and Ribbins, 1964; Burleigh and Dawes, 1967; Boylen and Ensign, 1970).
3. Presencia de fuente de energía: la presencia de un incremento en la concentración de fuente de energía exógena puede estimular la excreción de SMP (Saier et al., 1975; Neijssel and Tempest, 1976; Thompson, 1976).

4. Muerte acelerada del sustrato: Una repentina adición de una fuente de carbono y energía a bacterias necesitadas de carbono y energía puede acelerar la muerte de algunas bacterias. Los SMP podría ser producidos como resultado de este proceso (Postgate and Hunter, 1964; Dawes and Ribbins, 1964; Strange and Dark, 1965; Pirt, 1975).
5. Disponibilidad de los nutrientes requeridos: si los nutrientes esenciales están presentes en concentraciones muy bajas podría producirse SMP para buscar los nutrientes requeridos (Neilands, 1967, Hunter, 1972; Emery, 1982; Morel, 1983).
6. Aliviar el estrés ambiental: los SMP se producen en respuesta al estrés ambiental, como por ejemplo cambios extremos de temperatura y choque osmótico (Nossal and Heppel, 1966; Heppel, 1967; Smeaton and Elliot, 1967; Rogers, 1968). Kuo (1993) también especula con que los SMP se producen en respuesta a sustancias tóxicas.
7. Normal crecimiento bacteriano y metabolismo: los SMP, como las enzimas exocelulares, son producidos no solo durante condiciones estresantes sino también durante crecimiento y metabolismo normal (Saier et al., 1975; Herbert, 1961; Demain et al., 1965).

En el SMP se han identificado muchos componentes de origen microbiano como ácidos húmicos y fúlvicos, polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos orgánicos, aminoácidos, antibióticos, esteroides, enzimas exocelulares, sideróforos, componentes estructurales de la célula y productos del metabolismo energético. Recientemente, Urbain et al. (1998) dijo que los UAP son principalmente pequeños compuestos de carbono derivados del sustrato original y que los BAP son macromoléculas celulares que contienen carbono y nitrógeno, aunque las pruebas experimentales de esto no son definitivas.

Hejzlar and Chudoba (1986a, b) y Schiener et al. (1998) se concentraron en intentar identificar las fracciones con alto peso molecular presentes en los efluentes. Hejzlar and Chudoba (1986a, b) encontraron que todos los polímeros aislados de reactores de fangos

activados contenían azúcares, amino-azúcares, ácidos urónicos y aminoácidos, indicando su carácter heteropolisacárido. Schiener et al. (1998), llevaron a cabo análisis similares en el material con alto peso molecular de un reactor biológico anaeróbico, identificando las fracciones con alto peso molecular como heteropolisacáridos consistentes en monosacáridos y aminoazúcares, aunque el 9 % de los productos de la hidrólisis permanecieron sin identificar.

En relación al peso molecular, Barker and Stuckey (1999) hacen una revisión de la literatura existente llegando a las siguientes conclusiones:

- Se encuentra mayor cantidad de compuestos con alto peso molecular en efluentes biológicos que en influentes.
- Los efluentes biológicos contienen compuestos con un amplio espectro de peso molecular (desde <0,5 a >50 kDa).
- Los influentes generalmente exhiben distribuciones anormales de peso molecular con una predominancia de las fracciones de peso molecular muy bajo (<0,5 kDa), mientras que los efluentes siguen patrones bimodales.
- La distribución de los pesos moleculares del efluente está significativamente afectada por las condiciones operativas del sistema. A mayores tiempos de retención celular, los materiales tienen un mayor peso molecular.
- La distribución del peso molecular del SMP está afectada por el tipo de sustrato.

1.4.2.1. Efecto del SMP en el ensuciamiento de la membrana

Recientemente, la influencia del SMP en el ensuciamiento de la membrana en MBR ha atraído mucha atención (Rosenberger et al., 2005, 2006; Jeong et al., 2007; Drews et al., 2008; Paul and Hartung, 2008). Debido al rechazo de la membrana, el SMP se acumula

más fácilmente en MBR, lo que conlleva a una pobre filtración del fango suspendido. Geng & Hall (2007) observaron que la distribución del tamaño del floculo y la cantidad de SMP en el fango activo eran las propiedades más importantes que influenciaban significativamente la predisposición al ensuciamiento de la membrana. Además, algunos estudios han mostrado que las sustancias de apariencia polisacárida en SMP contribuyen al ensuciamiento de la membrana más que las sustancias de apariencia proteica (Rosenberger et al., 2006; Geng and Hall, 2007). Se puede deducir que el impacto del SMP en el ensuciamiento de la membrana depende de la concentración de SMP, los materiales de la membrana y el modo de operación (Meng et al., 2009).

Ya que el SMP ha sido reconocido como un factor significativo en el ensuciamiento de la membrana, los estudios científicos sobre los SMP o sobre el sobrenadante de fangos se han convertido en uno de los principales temas de investigación en el ensuciamiento de la membrana. Rosenberger et al. (2006) informó que el SMP del fango (materiales solubles y coloidales) tenía un impacto en el ensuciamiento de la membrana y era la causa de la diferencia en la actuación de la membrana entre dos MBR idénticas. Iritani et al. (2007) demostró que la contribución del sobrenadante al ensuciamiento de la membrana de un fango activo anaeróbico es casi del 100 %, indicando que el SMP es el factor controlador en la microfiltración de fangos activos. Pero, la concentración de coloides y solutos en el sobrenadante no se mencionaba en el estudio. Lyko et al. (2007) analizaron el SMP en el sobrenadante y en el permeado así como en los EPS extraídos de membranas sucias en un MBR a gran escala, encontrando una influencia importante de las sustancias húmicas solubles y los carbohidratos en complejos con cationes metálicos en el ensuciamiento de la membrana. Estas investigaciones sugerían que la presencia de SMP en MBRs impactaba en el ensuciamiento de la membrana significativamente, y que la concentración y composición de SMP determinaría su predisposición al ensuciamiento.

Recientemente se han comenzado a formular diversas hipótesis sobre las interacciones que se establecen entre todas estas sustancias (EPS, SMP, sustancias húmicas, bacterias libres, cationes divalentes, etc.). Una de ellas es la posibilidad de que entre todos estos elementos se genere la formación de una segunda capa que actuaría como una membrana secundaria, incrementando la retención y/o la adsorción de las macromoléculas (Chu and Li, 2005). Estas hipótesis requieren de más estudios y de

nuevas metodologías de medición analítica ya que por los procedimientos actuales no se puede conocer la totalidad de los componentes presentes en los fangos activos y por lo tanto la totalidad de los componentes que intervienen en el ensuciamiento de la membrana.

1.4.3. Métodos de extracción de SMP y EPS

En la literatura se pueden encontrar muchas técnicas de extracción para SMP y EPS pero sus resultados se han visto alterados por el inevitable impacto que las propias técnicas tienen sobre la célula en cuanto a la lisis celular que provocan, lo que afecta a la composición así como a la estructura de las EPS obtenidas, pudiendo, todo ello, inducir a conclusiones erróneas. Para que no se produzcan conclusiones erróneas, el proceso de extracción debe intentar combinar la mayor y más eficiente extracción de estas sustancias, no degradar o alterar a los biopolímeros y causar el mínimo grado de lisis celular.

En este sentido, las diferentes técnicas de extracción obtienen cantidades muy distintas de EPS, incluso para cultivos y condiciones similares, con variaciones de hasta 100 veces en la cantidad de EPS extraídas (Wingender et al., 1999; Liu and Fang, 2002). Asimismo, se han encontrado que los métodos también influyen de modo importante en la composición de los EPS, provocando diferencias significativas en los contenidos relativos de las distintas sustancias poliméricas (Zhang et al., 1999; Comte et al., 2006), en la estructura y grupos funcionales que los constituyen (Comte et al., 2006).

La mejor extracción dependerá del tipo de interacción que mantenga unidas a los EPS con la matriz con la que se encuentren interrelacionadas. Entre las principales fuerzas de unión involucradas entre los EPS y las matrices que las contienen se pueden mencionar: fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y, en algunos casos, enlaces covalentes. Estas fuerzas actúan de forma distinta entre un sistema y otro e, incluso, se pueden presentar distintas combinaciones en una misma matriz.

1.4.3.1.- Métodos de extracción de SMP

A lo largo de la introducción se ha concluido que los SMP son sustancias poliméricas extracelulares solubles por lo que estarán libres en el fango activo. La extracción de estos compuestos se realizará por medio de un proceso físico como es el de centrifugación (Judd, 2006). Es un proceso bastante efectivo ya que el SMP se refiere a la biomasa clarificada. Sin embargo, en influentes más recalcitrantes, la biomasa clarificada estará compuesta por componentes que permanecen sin transformar por el proceso biológico (Judd, 2011) por lo que podrá haber ciertas interferencias en su caracterización.

Para la extracción del EPS soluble o SMP, la centrifugación es el método utilizado en la totalidad de los casos (Nielsen and Jahn, 1997). La diferencia que hay entre las extracciones de SMP de las diferentes investigaciones es la fuerza centrífuga utilizada y el tiempo que se aplica dicha fuerza. Malamis and Andreadakis (2009) utilizaron una fuerza de 3500g durante 10 minutos. Sin embargo, hay otros casos de estudio donde en se usaron tiempos de centrifugación de 15 minutos y una fuerza de 12000g (Jang et al., 2007) y de 30000g (Al-Halbouni et al., 2008). En el caso opuesto esta la investigación realizada por Pan et al. (2010a) donde las muestras de fango activo se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 minutos.

1.4.3.2.- Métodos de extracción de EPS

La mayoría de los métodos recogidos en la literatura se basan en la aplicación de procesos físicos, químicos o una combinación de ambos.

Métodos físicos de extracción de EPS: Los más utilizados se basan en la aplicación de ondas de ultrasonidos (Dignac et al., 1998; Comte et al., 2006; Azeredo et al., 1998), en el calentamiento (Comte et al., 2006; Frølund et al., 1996) o centrifugación (Zhang et

al., 1999; Brown and Lester, 1980), seguidos de una posterior filtración para separar las células de los polímeros liberados.

El principal inconveniente de la centrifugación es saber cuál es la correcta fuerza centrífuga aplicada y el tiempo de aplicación para que no se produzca la lisis celular. En la literatura se han recogido tiempos que van desde los 15 a los 30 minutos y fuerzas centrífugas que van desde 4000 g (Comte et al., 2006) a 33000 g (Liu and Fang, 2003).

En relación al método por calentamiento también se han establecido diferencias significativas entre la literatura existente. Normalmente el calentamiento se realiza a presión atmosférica (1,0 bar), con tiempos comprendidos entre 10 y 30 minutos, y a temperaturas que van desde los 60° C (Li and Yang, 2007) a los 80° C (Zhang et al., 1999). Esta técnica puede inducir una apreciable lisis celular (Nielsen and Jahn, 1999).

El método de aplicación de ultrasonidos puede variar con respecto a la potencia utilizada y al tiempo de exposición. El tiempo de exposición puede variar entre 1 y 2 minutos mientras que la potencia variará entre 300 W (Azeredo et al., 1998) y 37 W (Dignac et al., 1998). Como en el caso del método por calentamiento, la aplicación de este método conlleva a una apreciable lisis celular.

Métodos químicos de extracción de EPS: Los métodos químicos de extracción se basan en la adición de distintos reactivos. Estos reactivos pueden establecer distintas reacciones químicas con los EPS facilitando así su liberación. La literatura recoge diversos reactivos para la precipitación de EPS: EDTA (Brown and Lester, 1980; Sheng et al., 2005; Comte et al., 2006), NaOH (Brown and Lester, 1980; Sheng et al., 2005), Glutaraldehído (Comte et al., 2006; Azeredo et al 1998), formaldehído (Liu and Fang, 2003) y etanol e isopropanol a -80° C (Quesada et al., 1994).

Como pasaba en el caso de los métodos físicos, el principal problema es saber qué cantidad de reactivo utilizar y cuanto tiempo debe actuar cada reactivo para que se produzca la precipitación de los EPS. Un ejemplo puede ser observado entre el método que definen Sheng et al (2005) para el NaOH en el que el reactivo tiene una concentración de 1 M y un periodo de exposición de 3 horas, y el método definido por

Brown y Lester (1980) en el que el reactivo tiene una concentración de 2 M y un tiempo de exposición de 5 horas.

Según algunos autores la combinación de procesos de extracción químicos puede incrementar la cantidad de EPS extraído (formaldehído + NaOH) (Liu and Fang, 2003).

Métodos físico-químicos de extracción de EPS: Una forma de incrementar la eficiencia de la extracción de los EPS es aplicar conjuntamente métodos físicos y químicos. Uno de los casos con más estudios realizados es el de la combinación del uso de resinas de intercambio iónico con o sin agitación (Frølund et al., 1996; Comte et al., 2006; Liu and Fang, 2003). Los cambios en los parámetros más importantes que se recogen en la literatura son el tipo, granulometría y dosis de la resina usada, además de las condiciones de agitación. También son utilizados otros tipos de métodos físico-químicos como son la combinación de formaldehído con ultrasonidos (Liu and Fang, 2003) o resina de intercambio iónico con sonicación (Comte et al., 2006).

1.5. CONTROL DEL ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA

En apartados anteriores se han definido los mecanismos del origen del ensuciamiento de las membranas en sistemas MBR. En este apartado se expondrán los mecanismos que existen para intentar evitar o disminuir dicho ensuciamiento ya que el control y la mitigación del ensuciamiento de la membrana es esencial en los sistemas MBR para asegurar una operación rentable y a largo plazo.

Aunque la comprensión de los fenómenos y mecanismos de ensuciamiento puede ser esclarecedora, el control en la práctica puede ser muy limitado en sistemas MBR y generalmente se lleva a cabo utilizando una o varias de las siguientes estrategias (Judd, 2011):

1. Aplicar un pretratamiento apropiado al agua de alimentación.

2. Emplear apropiados protocolos de limpieza físicos o químicos.
3. Reducir el flujo.
4. Aumentar la aireación.
5. Modificar química o bioquímicamente el fango activo.

1.5.1. Pretratamiento de la alimentación

Tras los años de desarrollo y evolución de los sistemas MBR se ha reconocido el éxito de la adaptación de esta tecnología en sistemas de fangos activos. Los MBR pueden sustituir eficazmente a la sedimentación primaria, el biotratamiento y la separación de sólidos secundarios, así como los tratamientos terciarios. Sin embargo, las rejillas de gruesos utilizadas para los tratamientos convencionales no son suficientes para los MBR. Estas rejillas son demasiado gruesas ya que tienen un tamaño de exclusión de unos 3 mm, aumentando el riesgo de atascamiento de la membrana. Esto es debido generalmente a los pelos que hay presentes en las aguas residuales urbanas que obstruyen tanto los huecos de las membranas como los sistemas de aireación. En el caso de las membranas de ultrafiltración, tienden a formar agregados de pelos y otros desechos que se acumulan en la parte superior de la membrana, pudiéndose quedar entrelazados con los filamentos de la membrana y siendo muy difíciles de eliminar mediante lavados a contracorriente o con limpiezas químicas. La obstrucción de las membranas planas se produce por medio de incrustaciones no homogéneas que causan deshidratación de los fangos localizados en los canales de las membranas. Si la aireación no consigue eliminar esta acumulación, el fango se acumula encima de las incrustaciones, aumentando el área afectada. Las fibras que se acumulan en el sistema de aireación pueden modificar el flujo y el volumen de aire, reduciendo la limpieza de las membranas y promoviendo así el ensuciamiento de la membrana.

Según un estudio realizado por Frechen et al. (2007) la mayoría de las plantas MBR en Europa poseen rejillas horizontales o verticales de entre 0,5 y 1 mm de diámetro y que

la mayoría están protegidas con rejillas de gruesos de entre 3 y 6 mm, independientemente de la configuración de la membrana. En el mismo estudio también se vieron diferentes marcas en el rendimiento de las pantallas de igual valor pero con aberturas diferentes. Se encontró que un tamiz de malla de 0,75 mm eliminaba el 66 % más de sólidos y 2,5 veces más de materia orgánica que un tamiz con el mismo tamaño de exclusión pero con otra configuración.

1.5.2. Protocolos de limpiezas físicas y químicas

En los sistemas MBR, la limpieza física se logra normalmente mediante contralavado, es decir, invirtiendo el flujo de permeado para eliminar las partículas fijadas a la superficie de la membrana, o relajación, que es simplemente cesar la filtración para liberar a la membrana de la presión generada mientras que continúa la turbulencia en la membrana debido a la aireación. Estas dos técnicas pueden usarse combinadas. La limpieza química se lleva a cabo con ácidos minerales u orgánicos, sosa cáustica o, más habitualmente en MBR, hipoclorito sódico. La elección del reactivo, las concentraciones y el tiempo de contacto dependen de la naturaleza del ensuciamiento de la membrana, de la experiencia del operador y de las recomendaciones del fabricante (Yang *et al.*, 2006). Típicamente, la limpieza química se puede clasificar en la limpieza ex situ e in situ (Wang *et al.*, 2014). La limpieza química ex situ sólo se realiza cuando las membranas tienen un ensuciamiento severo. Alternativamente, se puede añadir una concentración más baja de agente de limpieza química al agua de lavado por contralavado para producir un "contralavado mejorado químicamente", realizado solo periódicamente.

La limpieza física es menos dificultosa que la limpieza química debido a que generalmente es un proceso más rápido que la limpieza química, no exige productos químicos, no produce residuos químicos y degrada menos la membrana, aunque es menos eficaz que la limpieza química. La limpieza física elimina los sólidos de mayor tamaño unidos a la superficie de la membrana, o lo que es conocido como ensuciamiento reversible, mientras que la limpieza química elimina los materiales más persistentes a menudo denominado ensuciamiento no eliminable.

Limpieza física → Los parámetros generales para tener en cuenta en las limpiezas físicas son la duración y la frecuencia, ya que estos determinan los tiempos de inactividad del proceso. Si se realizan contralavados, el flujo del contralavado también es de interés. Jiang et al., 2005 comprobaron que cuando los contralavados se hacían con más frecuencia y eran más prolongados (filtración a 600 s / retroceso a 45 s) eran más eficientes que con los contralavados más frecuentes pero más cortos (filtración de 200 s / retroceso de 15 s). En otro estudio, se encontró que la frecuencia de contralavado (entre 8 y 16 min) tenía más efecto sobre la eliminación de incrustaciones que la intensidad de aireación (0,3-0,9 m³/h por m² de superficie de membrana) para un sistema MBR dotado con fibra hueca (Schoeberl et al., 2005). Aunque la limpieza más eficaz se esperaría generalmente al hacer un contralavado más frecuentemente, más fuerte y con más duración, las variaciones posibles necesitan estudiarse ya que se necesitaría reducir la demanda de energía. Esto se ha logrado a través del diseño de un sistema de control genérico que optimizó automáticamente la duración del contralavado de acuerdo con el valor de TMP monitorizado (Smith et al., 2005). Sin embargo, muchos de estos estudios no siempre han tenido en cuenta la pérdida de productividad que resulta del uso del permeado durante el lavado a contracorriente (Judd, 2011).

El contralavado también se puede realizar utilizando aire en vez de agua (Sun et al., 2004) pero se requieren 15 minutos de contralavado por cada 15 minutos de filtración (Visvanathan et al., 1997), lo que provocaría un secado parcial de algunas membranas y por lo tanto problemas de integridad de la membrana debido a su fragilización (Judd, 2011).

Aunque según varias investigaciones, al trabajar con periodos de relajación se favorecen más las incrustaciones en la membranas que al estar trabajando con filtración continua (Chua et al., 2002), al trabajar con periodos de relax se consiguen periodos de tiempo más largos sin tener que hacer limpieza química (Ng et al. 2005). Si se tiene en cuenta los estudios que evalúan los protocolos de mantenimiento, han tendido a combinar la relajación con los contralavados para optimizar el proceso (Vallero et al., 2005).

En la práctica, los protocolos de limpieza física tienden a seguir las recomendaciones de los fabricantes con valores de relajación de 1-2 min cada 8-15 minutos de operación, tanto para las configuraciones planas y de fibra hueca. Si se emplean contralavados en

las configuraciones de fibra hueca, generalmente se aplican flujos de 1-3 veces el flujo de funcionamiento y suele complementar con la relajación en lugar de eliminarla. La operación sin contralavado aumentará el riesgo de una acumulación lenta de impurezas sobre o dentro de la membrana. Sin embargo, preservará en gran medida la biopelícula presente en la membrana, lo que le proporcionará protección. Esta capa es menos permeable y más selectiva que la propia membrana, por lo que puede ser beneficiosa para el proceso siempre que la resistencia total que ofrece no sea excesiva.

Limpieza química → Este tipo de limpieza se utiliza para complementar la limpieza física ya que permite eliminar incrustaciones residuales mediante limpiezas de mantenimiento con concentraciones químicas moderadas, que podrán ser repetidas desde dos veces a la semana a una vez al mes, e incrustaciones irreversibles mediante una limpieza química intensiva o recuperación de la membrana. Normalmente, se aplican cinco tipos de reactivos de limpieza química para los MBR (Liu et al., 2001): desinfectantes u oxidantes (por ejemplo, NaClO o H₂O₂), bases (por ejemplo NaOH), ácidos (por ejemplo, HCl), quelatos y tensioactivos.

La limpieza química de mantenimiento se hace in situ y está diseñada para mantener los valores de permeabilidad de la membrana lo más cercanos posibles a los originales y así reducir la frecuencia de la limpieza intensiva. La limpieza intensiva se lleva a cabo ex situ o en el tanque de membrana drenado para permitir que las membranas se empapen con el reactivo utilizado, realizándose cuando la filtración no es sostenible debido a una permeabilidad reducida. Los proveedores recomiendan una combinación de hipoclorito (0,1 – 0,5 % p/p) para eliminar la materia orgánica y ácido orgánico (cítrico u oxálico suplementado con ácido mineral para obtener un pH=3) para eliminar incrustaciones inorgánicas. El logro de la recuperación de la permeabilidad de la membrana depende principalmente de las reacciones químicas entre los reactivos utilizados y las impurezas depositadas sobre las superficies de la membrana o en los poros.

La limpieza de mantenimiento generalmente toma de 30 a 120 minutos para un ciclo completo y se realiza normalmente cada 3-7 días con concentraciones moderadas de reactivo de 200-500 mg/L de NaOCl para MBRs aeróbicas clásicas. Para el caso de la

limpieza intensa se emplea concentraciones de reactivo bastante más altas (0,2-0,3 % en peso de NaOCl), junto con 0,2-0,3 % en peso de ácido cítrico o 0,5% en peso de ácido oxálico (Judd, 2011).

La limpieza química in situ es una limpieza conveniente y eficiente pero al estar los productos químicos dosificados en contacto directo con el módulo de membrana y el fango activo pueden dañar la integridad de la membrana (Porcelli and Judd, 2010; Zhao and Yu, 2015) y pueden crear efectos adversos en el rendimiento del biorreactor. Un ejemplo del daño producido en la membrana es la ampliación del tamaño de poro y la porosidad superficial de las membranas de PVDF, PES/PVP y PE al estar en contacto con NaClO, NaOH y ácidos, respectivamente (Vanysacker et al., 2014, Wang et al., 2014, Zhou et al., 2014). Además, Etori et al. (2011) informaron que después de la cloración, se aumentó la hidrofobicidad superficial y la densidad de carga negativa de la membrana de poliamida. Aparentemente, estos cambios afectarían a parámetros tales como el flujo, la resistencia a la filtración y las interacciones entre las impurezas y las membranas (Begoin et al., 2006, Puspitasari et al., 2010). Si se tiene en cuenta el rendimiento del biorreactor, se ha informado que las propiedades de los fangos activos pueden cambiar después de estar en contacto con NaOCl y podría agravar el ensuciamiento de la membrana, ya que puede producirse un aumento en la producción de EPS y una disminución en el tamaño de los flocos. (Cai and Liu, 2016; Lee et al., 2013).

1.5.3. Reducción del flujo

Aunque la reducción del flujo siempre reduce el ensuciamiento, hay que tener en cuenta que esto afectará directamente al coste operacional debido a la demanda del área de membranas. Debe de hacerse una diferenciación entre flujo operativo o bruto y flujo neto, que es el flujo basado en el paso entre los ciclos de limpieza. En relación al flujo hay dos modos de operación en los sistemas MBR que determinarán los requisitos de las limpiezas y por lo tanto el flujo neto:

- Modo de operación con permeabilidad sostenible: En este caso se eligen determinadas características (flujo constante con insignificantes subidas de TMP) para un funcionamiento estable durante un tiempo prolongado. La mayoría de los sistemas dotados de membranas planas han funcionado tradicionalmente en operación continua, es decir, sin relajación.
- Modo de operación intermitente: El flujo de operación está por encima de lo que el sistema puede soportar y es necesario emplear medidas correctivas intermitentes. En este modo de operación se utilizan los periodos de relax suplementados con periodos de contralavados y algún tipo de limpieza química de mantenimiento. Todos los sistemas MBR equipados con membranas de fibra hueca funcionan de esta manera.

1.5.4. Aumento de la aireación

La aeración es necesaria en los MBRs aeróbicos (Braak et al., 2011) para proporcionar demanda de oxígeno a los microorganismos, haciendo que los flóculos de los lodos estén en suspensión y se mitigue el ensuciamiento de la membrana. En un estudio reciente realizado por Sun et al. (2016), han determinado que el consumo de energía de la aireación representa aproximadamente la mitad del consumo total de energía en los MBR. Por lo tanto, la optimización de la aireación, incluyendo las tasas de aireación, el tamaño de las burbujas y los modos de aireación, es de gran importancia tanto para el control de incrustaciones como para la disminución del uso de energía

Es conocido que el aumento de la tasa de aireación aumenta el flujo crítico hasta el valor umbral pero normalmente este aumento en la intensidad de la aireación supone un incremento en el consumo energético. En los últimos años se le ha prestado mucha atención a los nuevos sistemas de aireación más eficaces que reducen la demanda específica de aireación (Miyashita et al., 2000). Una distribución eficaz y uniforme de la aireación para suprimir el ensuciamiento es de suma importancia. Estudios realizados por Sofia et al. (2004) han demostrado que el uso de burbujas de aire finas y distribuidas uniformemente a partir de orificios de 0,5 mm proporcionan una mayor elevación y una

menor resistencia en comparación con una aireación de burbuja gruesa con orificios de 2 mm. También ha sido estudiado el uso de una tasa de aireación variable para aumentar el flujo durante los periodos de cargas máximas en un corto espacio de tiempo (Howell et al. 2004) y a gran escala (Stone and Livingston, 2008; Ginzburg et al., 2008). Además, se han realizado varios estudios en los que el flujo se ha correlacionado con la aireación (Monclús et al., 2010) pero generalmente se reconoce que no hay impacto en la permeabilidad de la membrana más allá de cierto valor de aireación umbral.

1.5.5. Variación química o bioquímica del fango activo

La calidad de la biomasa se puede controlar bioquímicamente, ajustando el SRT, o químicamente. Normalmente el valor del SRT no se establece pensando en el control del ensuciamiento de la membrana sino en la calidad del efluente, en la producción de lodos, en la predisposición a la obstrucción del modulo de membrana y / o en la eficiencia de la aireación de la biomasa. Sin embargo, los estudios han demostrado que el ensuciamiento se puede reducir, aunque sea mínimamente, mediante la adición de productos químicos. Los aditivos se pueden insertar en la biomasa con el fin de modificar las características del fango activo, favoreciendo el proceso de filtración y reduciendo el ensuciamiento. Tales sustancias pueden ser coagulantes, polielectrolitos, agentes adsorbentes y mejoradores del rendimiento de las membranas.

Los coagulantes introducen cargas positivas, neutralizando las cargas negativas de la biomasa, mejorando así la floculación (Wu et al., 2006). El cloruro férrico y el sulfato de aluminio (alumbre) han sido evaluados para mejorar la contaminación de las membranas en potabilización, también lo han sido para MBRs (Zhang et al., 2008b). La adición de sulfato de aluminio al reactor redujo significativamente la concentración de los carbohidratos del SMP y mejoró las prestaciones hidráulicas de las membranas (Holbrook et al., 2004). También se ha observado que pequeños coloides biológicos (de 0,1 a 2 mm) coagulan y forman un agregado mayor cuando se añade sulfato de aluminio al fango activo en sistemas MBR (Lee et al., 2001b). La dosificación férrica de MBRs se ha utilizado para mejorar la producción de bacterias oxidantes del hierro responsables de la degradación del H₂S gaseoso (Park et al., 2005). En otro estudio, se demostró que

la dosificación férrica controlaba tanto el ensuciamiento irreversible como la viscosidad en suspensión (Itonaga et al., 2004). El pre-revestimiento de membranas MBR con hidróxido férrico también se ha estudiado como un medio para aumentar la permeabilidad y mejorar la calidad del efluente (Zhang et al., 2004). En este estudio, se añadió cloruro férrico adicional para eliminar las sustancias orgánicas no biodegradables que se acumulaban en el biorreactor.

El uso de agentes adsorbentes, como el carbón activo en polvo (PAC), en sistemas de tratamientos biológicos disminuye el nivel de compuestos orgánicos ya que su dosificación produce carbón activado biológicamente que adsorbe y degrada las sustancias orgánicas solubles tales como los SMP y EPS (Kim and Lee, 2003). Se ha demostrado la disminución del ensuciamiento de membrana en estudios en los que se trataba el sobrenadante con hasta 1 g /L de PAC (Lesage et al., 2005), debido a la reducción de la resistencia específica de la torta (Ng et al., 2006), y el fango activado con una concentración óptima de 1,2 g/L de PAC (Li et al., 2005). En este último estudio se pudo identificar que los parámetros que se vieron influenciados fueron la distribución del tamaño del flóculo y la viscosidad aparente de la biomasa. También se ha utilizado zeolita natural para disminuir la concentración de SMP y reducir así el ensuciamiento (Rezaei and Mehrnia, 2014)

También son utilizados otros tipos de aditivos basados en polímeros catiónicos. El producto MPE50 y el cloruro de poli-aluminio son muy eficaces para disminuir el ensuciamiento de la membrana (Malamis et al., 2014) El MPE50 ha sido probado en varias investigaciones, demostrando que la adición de 1 g/L directamente en el biorreactor reduce el nivel de los carbohidratos del SMP de 41 a 21 mg/L (Yoon et al., 2005). Otros compuestos también han sido estudiados por Iversen et al. (2009). Revelaron una alta eliminación de SMP por el compuesto KD452 y un incremento en el flujo crítico por los reactivos MPE50, KD452 y almidón. Sin embargo, el uso de aditivos generalmente no se practica en MBRs a gran escala, ya que el coste del uso de productos químicos no se puede justificar por la disminución de incrustaciones en la membrana.

Recientemente se ha estado experimentando con un método nuevo para mejorar el rendimiento en sistemas MBR, la modificación química de la superficie de la

membrana. Deowan et al. (2016) aplicaron un nuevo revestimiento anti-incrustante a las membranas de los sistemas comerciales de fibra hueca, que se basó en una técnica de microemulsión bicontinua polimerizable (PBM). Los autores hicieron una comparativa entre el rendimiento de un MBR con el revestimiento aplicado con un MBR convencional y concluyeron que con el revestimiento la membrana exhibía una incrustación mucho menor. De manera similar, Zhao et al. (2014) desarrollaron una membrana de microfiltración compuesta, que se hizo mezclando PVDF con óxido de grafeno hidrófilo (GO). Esta membrana de PVDF / GO se probó en un sistema MBR y se pudo observar que exhibía mayor flujo crítico, menor frecuencia de limpieza y menor resistencia de la membrana que una membrana PVDF convencional.

2. OBJETIVOS

2. OJETIVOS

Los MBRs se han convertido en una alternativa viable a los sistemas convencionales de fangos activos para el tratamiento de aguas residuales, tanto urbanas como industriales, ya que son instalaciones compactas que permiten obtener un efluente de alta calidad, con una baja producción de biomasa. Esta tecnología, aunque a día de hoy cuenta con más de 8000 instalaciones en todo el mundo, sigue estando en desarrollo. Aunque la expansión de los sistemas MBR es visible, para poder optimizar todo lo posible las condiciones operacionales, es necesario realizar estudios en los que se tenga en cuenta el diseño de la instalación, las características del agua a tratar y las de la membrana a utilizar, además de propiciar unas condiciones operacionales adecuadas.

El ensuciamiento de la membrana es el principal y mayor problema que puede producirse en un sistema MBR ya que puede condicionar las operaciones y el mantenimiento de estos sistemas, limitando su vida útil y aumentando los costes operacionales. En este sentido las sustancias poliméricas extracelulares, como los EPS y el SMP, son los principales causantes del ensuciamiento de la membrana, debido a la naturaleza de sus compuestos, que favorecen su deposición en los poros o la superficie de la membrana.

Según el método utilizado para la extracción de EPS se conseguirá extraer más o menos cantidad, lo cual afectará al conocimiento sobre la composición real. Debido a esto, en el presente estudio se propone una serie de métodos de extracción de EPS para conocer cuál es el más eficiente en relación a la cantidad extraída y que más se aproxima a la cantidad real que hay en el fango activo. Una vez establecido el método más eficiente se estudiará más a fondo cómo afecta la cantidad de EPS y SMP, así como sus componentes, al ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR.

En base a lo expuesto anteriormente, se ha realizado la presente investigación denominada *evolución de las características de la biomasa en función de las condiciones operacionales en sistemas MBR* cuyo objetivo principal es **conocer cómo afectan las variables y parámetros operacionales de los sistemas MBR en la concentración y composición de EPS y SMP, y su influencia sobre la operatividad**

del sistema y calidad del efluente. Conociendo en base a que se producen las variaciones en la concentración y composición de estos compuestos extracelulares, se podrán definir las condiciones operacionales que limitan su proliferación en sistemas MBR y por lo tanto controlar los problemas operacionales relacionados con el aumento en la TMP por ensuciamiento de la membrana, así como los que afectan a la calidad del efluente. De este modo se producirá una optimización del proceso que aumentará la vida útil de la membrana y aumentará la calidad del efluente.

Para el correcto desarrollo del objetivo principal propuesto es necesario plantearse una serie de objetivos secundarios que ayudarán a entender las variaciones de la biomasa, en especial de los SMP y EPS, en sistemas MBR:

1. Seleccionar un método idóneo de extracción de EPS de fangos activos, adaptado a las condiciones operacionales en sistemas MBR, que permita conocer con mayor precisión la cantidad real de sustancias exopoliméricas presentes en el medio.
2. Analizar la evolución de SMP y EPS, así como sus principales componentes (carbohidratos, proteínas y ácidos húmicos), en sistemas MBR según las variables operacionales, tales como temperatura, SRT, HRT y carga contaminante.
3. Analizar la relación existente entre las principales características del fango activo: MLSS, MLSSv, viscosidad e hidrofobicidad relativa y las SMP, EPS y sus principales componentes.
4. Valorar el efecto potencial de SMP y EPS sobre el ensuciamiento de membranas y concretamente sobre el incremento de TMP.

Para alcanzar estos objetivos con éxito es fundamental trabajar con sistemas MBR a escala real, alimentados constantemente con agua residual urbana real, con un exhaustivo control de las condiciones operacionales y con una adecuada automatización y monitorización del proceso. Debido a ello, se podrán simular situaciones reales de operación, obteniendo resultados útiles que se podrán extrapolar a situaciones en las que se trabaja con instalaciones MBR aplicadas al tratamiento de aguas residuales urbana.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. INSTALACIÓN EXPERIMENTAL

Para alcanzar los objetivos establecidos se ha trabajado con una instalación experimental con tecnología MBR. La planta estaba configurada en pre-desnitrificación y estaba dotada con membranas planas de microfiltración (Kubota Corporation).

Para la puesta en marcha se realizó el llenado de los biorreactores con agua residual urbana real procedente de la ciudad de Granada.

La planta a estudio se encuentra situada en la estación depuradora de aguas residuales de Granada Sur (EDAR Sur) (Figura 3.1). El agua residual utilizada en la investigación es pre-tratada en la EDAR Sur y posteriormente es bombeada desde la salida del desarenador-desengrasador hacia la instalación experimental. El agua de entrada, por lo tanto, está libre de arenas, grasas, residuos sólidos urbanos y partículas de tamaño superior a 3 mm, tamaño de exclusión del tamiz ubicado en la EDAR Sur.



Figura 3.1: EDAR Sur Granada con ubicación de la planta experimental (izquierda) y detalle de la planta experimental (derecha)

El agua residual pretratada es bombeada desde el canal de entrada a los sedimentadores primarios de la EDAR sur (Figura 3.2) a la planta experimental. Para ello se utiliza la bomba de alimentación (P-00), la cual es una bomba sumergible capaz de bombear 16,8 m³/h de agua residual. El agua es conducida mediante tuberías de polietilentereftalato (PET) enterradas para evitar grandes variaciones en la temperatura del agua residual de alimentación, hasta un tamiz rotatorio de 4 cepillos, que posee una malla de 1 mm de luz de paso (Figura 3.2). Tras pasar por el tamiz, el agua es acumulada en un depósito con una capacidad máxima de 1 m³, desde el que se bombea el influente al biorreactor anóxico de la instalación experimental.



Figura 3.2: A la izquierda, canal de entrada a decantadores desde donde se bombea el agua, y a la derecha, tamiz rotatorio y depósito de acumulación de la planta experimental

Para el correcto funcionamiento de la parte experimental del estudio fue necesario dotar a la estación experimental de un almacén de reactivos y repuestos, y de un canal para la recogida de derrames, reboses y baldeos que eran conducidos a una arqueta donde había instalada una bomba de 20 m³/h de capacidad, la cual bombeaba todos los vertidos hasta el canal de entrada de la EDAR Sur.

La instalación MBR (Figura 3.3) consta de tres reactores biológicos: un reactor anóxico donde se lleva a cabo el proceso de desnitrificación, un biorreactor aireado en el que tiene lugar el proceso de nitrificación y la transformación de la materia orgánica y un

reactor donde se encuentra sumergida la membrana y en el cual se realiza la separación física de la parte sólida de la líquida.



Figura 3.3: Instalación experimental con tecnología de microfiltración FS50 Kubota

Las membranas, denominadas FS50, están fabricadas en polietileno clorado y tienen un tamaño de poro nominal de $0,4 \mu\text{m}$. La naturaleza de las membranas poliméricas es a menudo hidrofóbica, lo que significa que su estructura repele el agua por medio de superficies no polares, obstaculizando el proceso de filtración. En el caso de las membranas Kubota, se obtiene la afinidad con el agua durante el proceso de fabricación, cuando se aplican ciertos tensioactivos a la superficie externa de la lámina de membrana. Este proceso dota a las membranas de propiedades hidrofílicas que evitan la rápida colmatación por coloides y sustancias orgánicas, disminuyendo así su tendencia al ensuciamiento (Pearce, 2007; Judd, 2011).

Las membranas se disponen en cassettes o módulos de piso sencillo, cuyas características técnicas se pueden observar en la Tabla 3.1. Bajo los cassettes se dispone una parrilla de difusores que, mediante un flujo turbulento, evitan la deposición de

fangos sobre las placas. El patrón de flujo sobre la membrana es del tipo flujo cruzado y fuera-dentro por lo que el fango activo se filtra a través de las láminas de membrana y los espaciadores internos por efecto de succión. Los sólidos son retenidos en su superficie y el permeado sale a través de los conductos superiores, con valores de TMP de entre 0,05-0,15 bar. No precisan contralavados, ya que la formación de la torta sobre la superficie de la membrana contribuye a mejorar el proceso de filtración, alcanzando diámetros de poro efectivo equivalentes a la ultrafiltración (Le-Clech et al., 2006; Pearce, 2008), por el cual no solo los sólidos en suspensión sino también los coliformes y virus pueden ser retenidos. Las placas son de fácil reposición y alta durabilidad (unos 10 años en condiciones de trabajo adecuadas), no existiendo fricción entre las membranas.

Tabla 3.1: Características técnicas de la membrana plana de microfiltración

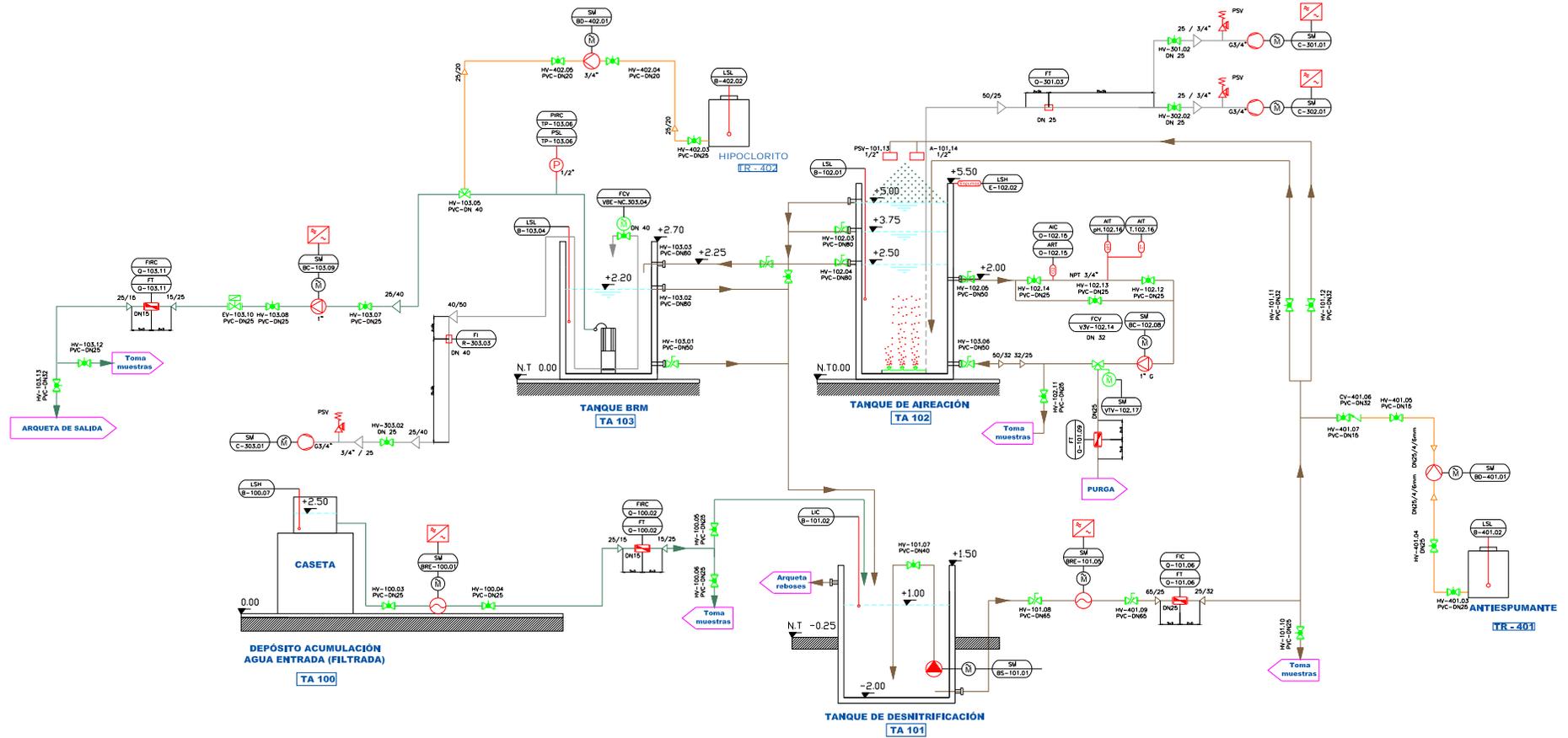
Fabricante de las membranas	KUBOTA
Número de cartuchos por módulo	50
Superficie de filtración por cartucho	0,8 m ²
Superficie total de membrana por módulo	40 m ²
Caudal medio teórico de filtración por superficie de membrana	0,6 m ³ /m ² día (a 20°C)
Caudal medio de permeado diario (por módulo)	24 m ³ /d
Caudal máximo teórico de filtración por superficie de membrana	1,2 m ³ /m ² día (a 20°C)
Caudal máximo de permeado diario (por módulo)	48 m ³ /d
Depresión de operación	20 kPa
Temperatura máxima	40 °C
pH de operación	3 – 11
Material de la membrana	Polietileno Clorado
Dimensiones por módulo (Ancho x Largo x Alto)	880 x 3100 x 3580 mm

Como puede verse en el diagrama del proceso (Figura 3.4), tras pasar por el tamiz, el agua de alimentación es bombeada desde el tanque de acumulación hasta el reactor anóxico mediante una bomba de tornillo excéntrico (BRE-100.01) con una capacidad máxima de 3 m³/h.

El biorreactor anóxico tiene una capacidad máxima de 4 m^3 y está fabricado en plástico reforzado con fibra de vidrio (PRFV). El tanque está semienterrado para facilitar el proceso y contiene en su interior una bomba agitadora (BS-101.01) cuya capacidad máxima es de $20 \text{ m}^3/\text{h}$ y que funciona intermitentemente, favoreciendo la mezcla del influente con el fango e impidiendo que los flóculos sedimenten al tenerlos en suspensión. También posee un sensor de altura para controlar la entrada de influente y el volumen de fango presente en él.

El fango activo es bombeado desde el tanque anóxico al tanque aireado mediante una bomba de tornillo (BRE-101.05) de $8 \text{ m}^3/\text{h}$ de capacidad máxima. Este bombeo puede realizarse de dos formas diferentes, una de ellas mediante un sistema de aspersión compuesto de boquillas de cono lleno y aspersión cónica (Spraying system) instalado en la parte superior del reactor y otra que inyecta el fango, o bien por la parte más baja del reactor biológico aireado, o a una altura de 2 m aproximadamente. El sistema de pulverización también puede ser utilizado para la dosificación de antiespumante (Foamtrol AF 1440E) y controlar así la generación de espumas que se pueda producir en determinados episodios. Este reactivo se prepara diluido al 50% en agua en un tanque de polietileno blanco con un volumen máximo de $0,25 \text{ m}^3$ y se dosifica mediante una bomba de pistón (BD-401.01) capaz de aportar un caudal máximo de 10 L/h.

El tanque aireado tiene una capacidad máxima de 20 m^3 y está fabricado en PRFV. La aireación en el biorreactor se consigue gracias a dos soplantes (B-401.01 y B-401.02) (Figura 3.5) que insuflan aire uniformemente en el tanque mediante una parrilla de difusores de membrana ITT Sanitaire de 9 pulgadas (Figura 3.5) situados en la parte inferior del biorreactor, que aportan burbuja fina y manteniendo a la vez el fango en mezcla perfecta. Los difusores están fabricados en una mezcla de caucho de etileno propileno dieno (EPDM) y tienen un rango de entre 0,8 y $7 \text{ Nm}^3/\text{h}$ por disco. La capacidad máxima de aireación es de $25 \text{ Nm}^3/\text{h}$ de aire cada soplante, pudiendo ser reguladas mediante variadores de frecuencia en el panel local de control (PLC), garantizando así una determinada concentración de OD en el tanque.



Nombre del proceso	Bomba de entrada BS-100.01	Bomba sumergible BS-101.01	Bomba de recirc/purga BRE-101.05	Bomba dosificadora BD-401.01	Compresor preaireación C-301.01	Compresor presión C-302.01	Compresor BRM C-303.01	Bomba Dosificadora BD-402.01	Bomba permeado BC-103.09	Bomba centrífuga BC-101.08
Nombre	Agua Residual	Fango	Fango	Antiespumante	Aire	Aire	Aire	HIPOCLORITO SODICO	Permeado	Fango
Caudal	1,2	8	3,2	7-10 l/min	25	25	42,5	1000 l/h	0,5-2	2-7
Altura	30	4	30	1-12 bar	1 bar	1 bar	1 bar	3	15-3	2-12
Potencia del motor	0,75	0,37	1,5	23,9 W	1,3	1,3	2,2	100	0,55	0,37
Revoluciones	n=1/min	426	2.900	276	1.500	1.500	1.500	2.850	1395	2900
Voltaje	V	400	400	400	100-240	400	400	220	400	400
Frecuencia	Hz	50	50	50	30-60	30-60	30-60	50	50	50
Fabricante	MEDIFANG	BLOCK	MEDIFANG	SEVO	BECKER	BECKER	BECKER	TORRES	KSB	BLOCH
Modelo	EG 210 C/PS	DGRUESOM	LG 400 C/PR	TEKNA EVO AKL 800	DT 4.25K	DT 4.25K	DT 4.40K	HCM-75LX	EZ-2/1	SIL 25 K5 1
Impulsor	HUSILLO EXCENTRICO	-	-	-	Rotativo de paletas	Rotativo de paletas	Rotativo de paletas	-	Anillo liquido	Turbina abierta
Otro	Variador de Frecuencia	-	Variador de Frecuencia	-	Variador de Frecuencia	Variador de Frecuencia	Variador de Frecuencia	-	Variador de Frecuencia	-

Figura 3.4: Diagrama del proceso de la planta experimental de microfiltración

Conectada al tanque aireado hay una conducción que hace circular el fango a través de un circuito donde hay incorporados sensores que toman medidas en continuo del pH y el oxígeno disuelto. La circulación del fango por este circuito se consigue gracias al bombeo del fango activo del tanque aireado mediante una bomba centrífuga (DC-102.08) con un caudal máximo de 6,6 m³/h. A través de este circuito también se realizan las purgas programadas. La purga de fango se produce cuando una válvula de tres vías abre la salida del fango, durante un tiempo programado, al exterior. El fango es canalizado hasta un depósito aforado de 1 m³ de capacidad máxima para controlar el volumen de purga realizado. El depósito es vaciado diariamente en el canal que recoge los vertidos.



Figura 3.5: Difusor de aire ubicado en el reactor aireado (izquierda) y soplante utilizada en el proceso biológico (derecha)

Dependiendo de la necesidad, se puede extraer el fango activo del reactor desde tres alturas diferentes: 2,5, 3,75 y 5 m. Además, consta de un aliviadero de seguridad en la parte superior del tanque. Desde una de estas alturas, el fango activo pasa por gravedad al reactor donde se encuentra sumergida la membrana. El tanque de membrana tiene una capacidad máxima de 3,9 m³ y está fabricado en PRFV, contando en el interior con un módulo de membrana (Figura 3.6). Cada membrana posee su propio colector en la parte superior que confluye en una tubería general que conduce el permeado al canal de salida de la EDAR Sur. La tubería general cuenta con un transmisor que mide la depresión generada para forzar el paso de agua a través de las membranas, valor a partir del cual el

sistema calcula la TMP y dando a conocer así el grado de ensuciamiento de la membrana en cada momento.



Figura 3.6: Módulo de membranas de microfiltración de la casa comercial KUBOTA

La filtración se realiza al ejercer una fuerza de succión mediante una bomba centrífuga (BC-103.09) autoaspirante con capacidad de entre 0,8 y 1,5 m³/h. Al producirse la fuerza de succión, la parte líquida es capaz de atravesar las membranas al crear la depresión necesaria para el paso de agua tratada. El permeado producido es evacuado de la instalación al canal de salida de la EDAR Sur mientras que el fango concentrado es recirculado por gravedad mediante rebose al reactor anóxico, completándose el proceso de desnitrificación. Según las recomendaciones del fabricante, se ha considerado un caudal de recirculación mínimo de 4 veces el caudal de influente con el fin de prevenir una acumulación de sólidos excesiva en el tanque de membranas que conlleve a una rápida colmatación de las mismas. Por ello, durante la presente investigación se ha trabajado con un caudal de recirculación de 4Q, es decir, cuatro veces mayor que el caudal de entrada de influente.

Para evitar la excesiva deposición de sólidos en la superficie de las membranas, el biorreactor de membranas dispone de un sistema de producción de aire mediante una turbina de canal lateral de 40 Nm³/h de capacidad máxima (C-303.01), que funciona siempre que la bomba autoaspirante esté trabajando. De esta forma se consigue una corriente de aire ascendente que facilita el proceso de filtración al limpiar la superficie de las membranas.

Aún teniendo la aireación, la membrana sufre la deposición de fango en su superficie. Aunque, para el caso de la microfiltración, esta deposición es beneficiosa ya que disminuye el tamaño del poro medio de la membrana, hay que realizar una serie de sistemas de limpieza para evitar una acumulación excesiva en la superficie de la membrana que llevaría a un mal funcionamiento del sistema. Uno de estos sistemas consiste en periodos de relax en los que se mantiene parada la succión mientras que se suministra aire en la base de las membranas para eliminar los excesos de fango. Puede llegar el caso que la TMP haya aumentando demasiado y con los periodos de relax no se consiga revertir la situación. En estos casos es necesaria realizar limpiezas químicas en las que la solución del reactivo es introducida dentro de los cartuchos de membrana mediante los recolectores de cada membrana, empapando los paneles desde el interior para limpiar la superficie de esta (Le-Clech et al., 2006; Judd, 2011). El reactivo utilizado es el hipoclorito sódico al 0,5 % el cual es introducido al interior de las membranas mediante una bomba centrífuga (BD-402.01) de 3,7 m³/h de capacidad máxima, que bombea el hipoclorito sódico desde un tanque de polietileno blanco de 0,25 m³ de volumen máximo. La frecuencia de las limpiezas químicas viene determinada por la evolución del proceso. Si la depresión generada por la bomba de succión supera los 0,15 bar se activa una señal de alarma que indica la necesidad de la limpieza química. Si no se realiza, la depresión generada aumentaría hasta el valor de 0,25 bar y entonces se activaría una señal de alarma que hará parar el proceso de filtración.

3.2. INSTRUMENTACIÓN, AUTOMATIZACIÓN Y CONTROL DEL PROCESO

La instalación experimental está dotada de una serie de sensores y medidores de flujo que permiten llevar un control en continuo del proceso. En concreto cuenta con sensores de nivel de lámina de agua, pH, OD, temperatura, TMP, detección de espumas y caudalímetros de aire, agua y fango. La Tabla 3.2 resume la instrumentación instalada en la planta experimental. El sistema se puede operar con flexibilidad ya que muchos de estos instrumentos generan señales de entrada a lazos de control. Con ellos se puede llevar un riguroso control de algunas de las principales variables operacionales que puede afectar al proceso biológico, tales como temperatura, pH, concentración de OD, SRT y HRT.

Todas estas bombas y equipos están dotados de variadores de frecuencia que permiten modular el funcionamiento de los equipos buscando sus consignas.

Todos los sensores y medidores de flujo registran datos continuamente que son emitidos cada segundo, obteniendo un total de 86400 datos diarios de cada instrumento de medida. Los datos recogidos son almacenados en una base de datos para su posterior supervisión.

La instalación experimental está permanentemente controlada y automatizada mediante un PLC de la marca SIEMENS, que está conectado por Ethernet con un sistema de supervisión basado en el SCADA “Intouch 10.0 3k p con I/O server Runtime” (Wonderware Historian personal 100 tags v.9), el cual es un generador de aplicaciones HMI (Interfaz hombre/máquina) destinadas a la automatización industrial, control de procesos y supervisión. A su vez, el sistema SCADA instalado incluye las herramientas de bases de datos INSQL (SQL adaptado industrial) y “Active Factory per named user ver 9.2” para la elaboración de informes y gestión de datos en entornos web.

Tabla 3.2: Instrumentación instalada en la instalación experimental

INSTRUMENTO	MODELO	OBJETIVO
Boyas de nivel máx. y mín. en el tanque del tamiz		Controla la bomba sumergible que aporta el agua de alimentación a la instalación
Caudalímetro de agua de entrada	Electromagnético Endress & Hauser, mod. Promag 50P	
Sensor de nivel biorreactor anóxico	Sumergible piezorresistivo Endress & Hauser, mod. Waterpilot FMX167	Proporciona la señal del lazo de control que actúa sobre la bomba de entrada de agua
Caudalímetro de fango anóxico-aeróbico	Electromagnético Endress & Hauser, mod. Promag 50W	
Medidor de espumas en el biorreactor aireado	Capacitivo Endress & Hauser, mod. Liquicap M FTI	
Caudalímetro de aire en tanque aireado	Vortex, Endress & Hauser, mod. Proline Prowirl 72	
Sensor de pH circuito de recirculación/purga	Endress & Hauser	
Transmisor recogida datos pH	Endress & Hauser, mod. Liquisys M COM223/253	Permite la comunicación digital necesaria para la recogida en continuo de las medidas tomadas por el sensor de pH
Sensor de temperatura circuito de recirculación/purga	Endress & Hauser	
Transmisor recogida datos temperatura	Endress & Hauser, mod. Liquisys M COM223/253	Permite la comunicación digital necesaria para la recogida en continuo de las medidas tomadas por el sensor de temperatura
Sensor de OD circuito de recirculación/purga	Endress & Hauser	Controla el funcionamiento de las soplantes que aportan aire
Transmisor recogida datos OD	Endress & Hauser, mod. Liquisys M COM223/253	Permite la comunicación digital necesaria para la recogida en continuo de las medidas tomadas por el sensor de OD
Válvula de tres vías en el circuito de recirculación/purga	Eléctrica	Programada para activarse a determinadas horas del día y purgar el volumen de fango deseado
Caudalímetro de purga	Electromagnético Endress & Hauser, mod. Promag 50W	
Sensor de nivel MBR	Endress & Hauser	Controla la bomba que aporta fango al MBR o para la filtración cuando el nivel es inferior al programado
Caudalímetro de aire MBR	Rotámetro Stübbe (0-60 Nm ³ /h)	
Medidor de temperatura del aire de entrada	Endress & Hauser, mod. Omnigrad M TR10	
Medidor de TMP	Piezoeléctrico Endress & Hauser, mod. Cerabar M	Protege a las membranas de presiones demasiado altas
Caudalímetro de efluente	Electromagnético Endress & Hauser, mod. Promag 50P	

Diariamente se recogen datos cada segundo de todos los sensores: OD, temperatura, pH, TMP y niveles de lámina de agua, y de todos los medidores de flujo, ya sean de agua, fango o aire. Debido a ello, es necesario la gestión de los datos ya que es una cantidad de datos diaria muy elevada. En la presente investigación se ha utilizado el software específico de gestión de datos “Active Factory” que permite trabajar más fácilmente con los datos adquiridos, facilitando la generación de gráficas y su tratamiento estadístico, la discusión de los resultados y la obtención de conclusiones.

Determinados parámetros de operación, tales como el caudal de las bombas de permeado, los tiempos de filtración, de relax de las membranas o de contralavados, se pueden definir y controlar a través del SCADA. También se pueden programar dos consignas de OD en el biorreactor aireado, estableciéndose una concentración máxima y una mínima. De esta forma, cuando se alcance la concentración mínima establecida de OD, la soplante encargada de suministrar aire se pondrá en funcionamiento hasta alcanzar la concentración máxima definida. A diferencia de la configuración de esta soplante, la encargada de suministrar aire a las membranas está configurada para trabajar en espacios de tiempo establecidos.

El sistema de automatización está basado en puntos de consigna que regulan el funcionamiento de la mayoría de los equipos, los cuales pueden funcionar tanto de manera automática como manual y sus puntos de consigna pueden ser establecidos, en cada caso, según requerimientos del estudio. Como medida de seguridad del proceso en general, si la instalación experimenta algún tipo de problema que afecte a su correcto funcionamiento y que no pueda corregirse mediante los lazos de control, el sistema entra en modo de funcionamiento “stand –by”, que consiste en la parada de la filtración y mantenimiento de las recirculaciones de fango y soplantes en continuo. Con esta medida se consigue que los procesos biológicos permanezcan activos y que las membranas estén protegidas hasta que se resuelva el problema y la instalación esté nuevamente operativa con total normalidad.

El SCADA es capaz de definir también la posición de la válvula de tres vías presente en el circuito de recirculación. En su posición normal, el fango tras pasar por el circuito de sensores será conducido de nuevo al biorreactor aireado. Con el SCADA se puede controlar la válvula para llevar a cabo la purga del fango activo (manual o automática)

del sistema por este circuito, seleccionando no sólo la cantidad diaria de fango activo que se desea purgar para determinar el SRT, sino también la hora y el número de veces al día que debe cambiar su posición.

3.3. FASE EXPERIMENTAL

3.3.1 Variables de proceso

La instalación experimental ha estado en funcionamiento continuo durante 900 días aproximadamente para llevar a cabo la fase experimental del presente estudio. Durante este tiempo la planta ha operado bajo distintas condiciones operacionales para ver cómo influían estas variables del proceso biológico en el sistema MBR. Para ello se han tenido en cuenta las variables modificables como el SRT y HRT, y las variables no modificables como la temperatura y la carga contaminante.

- SRT: Es un variable operacional fundamental en el proceso MBR. Consiste en el tiempo que los microorganismos responsables del proceso depurador son retenidos como biomasa en el interior de los reactores biológicos. Su valor viene determinado por el cociente entre el volumen total de los reactores biológicos y el caudal de purga. El caudal de purga se fija mediante una consigna de volumen al caudalímetro de la bomba de purga. Los datos son recogidos y enviados al SCADA donde son almacenados para por ser gestionados según las peticiones del usuario.

Se ha estudiado la influencia del SRT en las características de la biomasa por lo que se ha ido variando a lo largo de toda la fase de experimentación. Se empezó a trabajar con agua bruta y se mantuvo parada la purga hasta alcanzar un SRT de 10 días. A partir de aquí se fijaron valores de SRT de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 días con grandes intervalos de tiempo

- HRT: Es el tiempo que se tiene retenido el influente en el interior de la instalación. El HRT puede modificar la capacidad de depuración de las

instalaciones. Su resultado viene definido por el cociente del volumen total de los reactores biológicos entre el caudal del influente. El caudal de permeado producido se fija al establecer una consigna de caudal que es controlada por un caudalímetro. Los datos se almacenan y se procesan en el SCADA quedando disponibles para su visualización.

El caudal influente y el volumen total del sistema se fijó previamente en 0,45 m³/h y en 10,5 m³ respectivamente, por lo que se ha trabajado durante todo el periodo de estudio con un HRT de 23 h aproximadamente.

- OD: El oxígeno disuelto tiene un comportamiento cíclico que viene determinado por consigna con un valor mínimo de 0,5 mg O₂/L y un máximo de 2,0 mg O₂/L.
- Altura de la lámina de agua: Es la altura de agua con la que se trabaja en el tanque aireado. Esta variable influye en la tasa de transferencia de oxígeno. Aunque el reactor aireado está preparado para trabajar con tres alturas diferentes, durante todo el periodo de estudio la altura de la lámina de agua ha estado fijada en 2,5 m.
- Temperatura: La temperatura del fango activo está sujeta a los cambios climáticos y estacionales ya que la instalación experimental se encuentra a la intemperie por lo que se ha trabajado con rangos de temperaturas del fango activado que van desde los 8° C a los 32° C.
- Carga contaminante: La carga contaminante viene determinada por las oscilaciones en la concentración del agua residual urbana. Las características del agua de alimentación depende de su variabilidad en la concentración y en el volumen que se genera, tanto a nivel horario, diario y estacional. Para tener bajo control esta variable se han realizado medidas analíticas diarias de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) del influente. A lo largo de la fase de experimentación se ha trabajado con unos valores de DQO para el influente de entre 125 y 2050 mg O₂/L.

3.3.1.1 Evolución cíclica del Oxígeno Disuelto (OD)

El oxígeno disuelto en la estación experimental varía según los parámetros de consigna establecidos. Esto quiere decir que se asigna un mínimo y un máximo de oxígeno disuelto en el tanque aireado por lo que en la planta se activará o parará la aireación respectivamente cuando se alcancen estos valores. Los valores de consigna están establecidos entre 0,6 y 2,0 mg O₂/L. En la Figura 4.6 se puede ver las variaciones de oxígeno disuelto que se producen en los reactores biológicos, las cuales se repiten a lo largo del tiempo de forma constante.

En la Figura 3.7 se aprecia que los ciclos de OD no son simétricos, es decir, que no tarda lo mismo en transferirse el oxígeno al fango activo que en ser consumido por la biomasa activa presente en el fango. El nivel de OD máximo se alcanza tras aproximadamente 200 segundos de funcionamiento de las soplantes mientras que el consumo de oxígeno hasta el valor mínimo establecido se logra a los 450 segundos aproximadamente. De esta forma la duración total de los ciclos completos de aireación será de alrededor a 10 minutos.

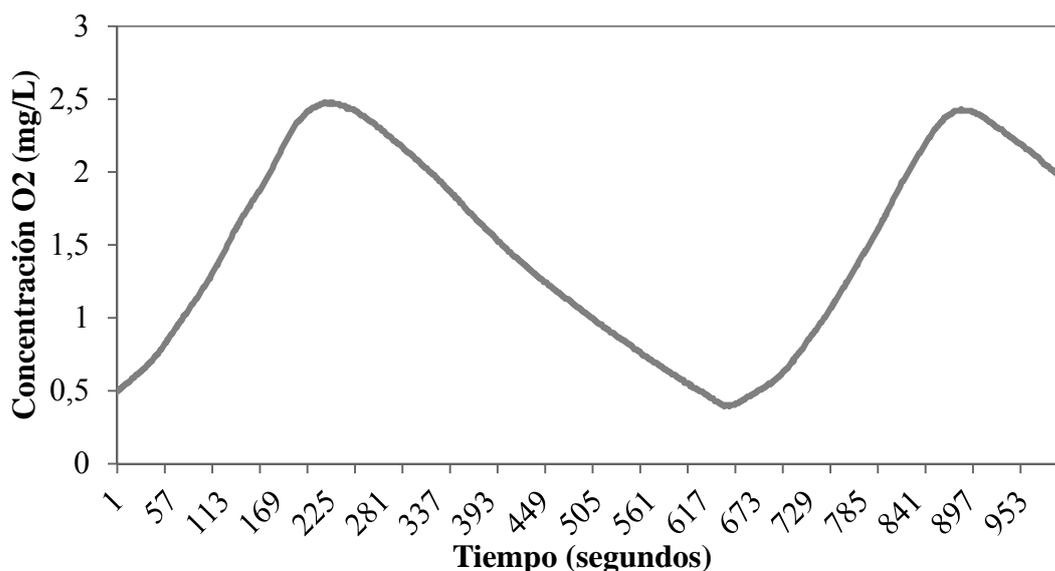


Figura 3.7: Evolución cíclica del Oxígeno Disuelto en el sistema

Aunque la consigna se estableció con valores mínimos y máximos de 0,6 y 2,0 mg O₂/L respectivamente, los valores reales rebasan a los valores teóricos debido al tiempo de respuesta del sistema. Se obtienen unos valores mínimos de 0,5 mg O₂/L y máximos de 2,5 mg O₂/L aproximadamente.

3.3.2. Recogida de muestras

Para la presente investigación se han tomado muestras de la instalación experimental diariamente. Más concretamente, se han recogido muestras de fango activo, tanto del reactor aireado como del los reactor anóxico y de membrana, de efluente y de influente. La recogida de muestras precisa de un proceso de recolección, conservación y transporte que mantengan sus condiciones sin ser alteradas hasta su análisis en el laboratorio. De esta forma se recogen las siguientes muestras:

- 100 mL influente.
- 100 mL de fango del tanque anóxico.
- 100 mL de fango del tanque aireado.
- 100 mL de fango del tanque de membrana.
- 100 mL de efluente.

Todas estas muestras son recogidas en botes estándar de plástico estériles de 100 mL, evitando la contaminación de las muestras desde su recogida en la planta experimental hasta el laboratorio. Para su traslado, las muestras son transportadas en una nevera portátil para mantener la temperatura baja (4° C) e impedir que evolucionen en el transporte.

A modo de resumen, en la Tabla 3.3 se puede ver los análisis realizados en la fase experimental con las diferentes muestras.

El efluente es tomado como una muestra compuesta, es decir, se toma de forma que representen las 24 horas del día. Su toma se hace mediante la desviación de parte del agua de permeado a un bote de vidrio de 1 L de capacidad. La recogida se realiza a través de una manguera de polietileno que posee en su extremo una válvula manual que puede regular el goteo continuo permitiendo su acumulación y conservación en un frigorífico a una temperatura constante de 4° C, con el fin de evitar su evolución, y en ausencia de luz.

Tabla 3.3: Análisis realizados con las muestras recogidas

	Efluente	Influente	Fango T. Anóx.	Fango T. Air.	Fango T. Memb.
DQO	✓	✓			
Sólidos en Suspensión Totales		✓	✓	✓	✓
Sólidos en Suspensión Volátiles		✓	✓	✓	✓
Viscosidad	✓		✓	✓	✓
SMP				✓	
EPS				✓	
Proteínas				✓	
Carbohidratos				✓	
Ácidos húmicos				✓	
ADN				✓	
Carbono orgánico				✓	
Carbono inorgánico				✓	
Hidrofobicidad relativa		✓	✓	✓	✓

La muestra de influente es también compuesta y se recolecta de manera continua mediante una electroválvula dotada con un temporizador que se abre 3 segundos cada 30 minutos en un bote de vidrio de 5 L de volumen máximo. La muestra es recogida a la

salida del tamiz de 1 mm y es conservada en el frigorífico a una temperatura continua de 4° C y en la oscuridad.

Las muestras de fango son tomadas de forma puntual. La muestra de fango del tanque anóxico se recoge en un punto de tomamuestras en la tubería de bombeo entre el tanque anóxico y el aireado. La toma de la muestra del fango del tanque aireado se hace mediante un tomamuestras situado en el circuito de sensores y purga de fango. Por último, la muestra de fango del reactor de membrana se recoge mediante un tomamuestras ubicado en el circuito de recirculación de fangos entre el tanque de membranas y el tanque anóxico. En la Figura 3.8 puede verse representado un diagrama en el que se sitúan los puntos de recogida de muestras en la planta experimental.

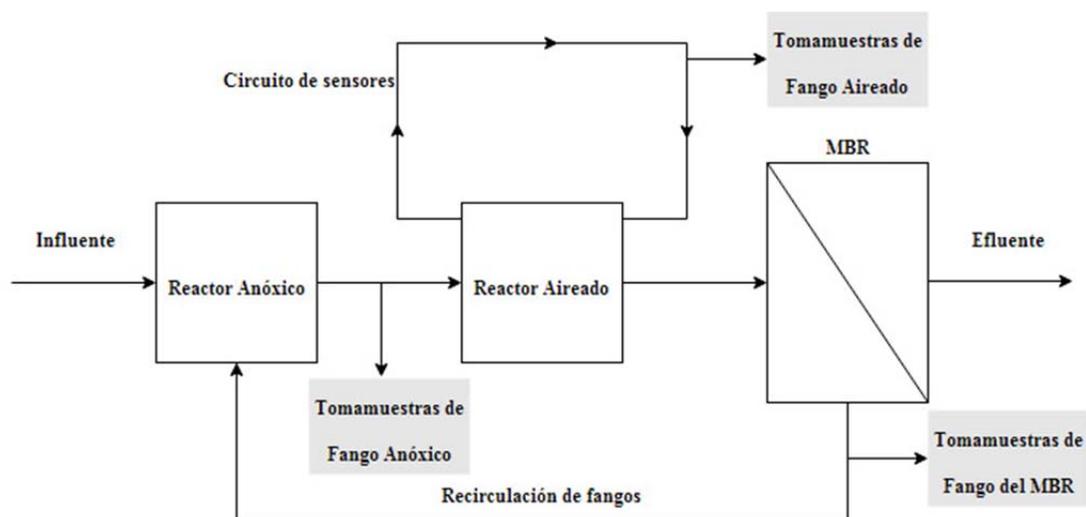


Figura 3.8: Diagrama de los puntos de recogida de muestras de los diferentes fangos

3.4. METODOLOGÍA ANALÍTICA

3.4.1. Comparativa métodos de extracción de EPS

Un aspecto que ha dificultado el estudio de los EPS en los fangos activos ha sido las técnicas de extracción de los mismos. Aunque hay diferentes técnicas de extracción, los

resultados obtenidos se han visto alterados por el propio impacto que produce la extracción en la muestra, obteniendo variaciones de la cantidad de EPS extraída de hasta cien veces (Wingender et al., 1999; Liu and Fang, 2002; Yu et al., 2006). Para ello se ha realizado un estudio comparativo de los métodos de extracción más usados según las revisiones bibliográficas.

La selección del método de extracción más adecuado para la extracción de EPS presente en fangos activos aireados se ha realizado a partir de 13 métodos diferentes. Dichos métodos han sido seleccionados del estudio bibliográfico realizado en el apartado 1.4 del presente estudio. Se han desarrollado 3 métodos físicos (centrifugación, sonicación y calentamiento), 5 métodos químicos (ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), NaOH, formaldehído, glutaraldehído y etanol a -20°C) y 5 métodos con combinaciones de métodos físicos y químicos (Formaldehído + NaOH, formaldehído + calentamiento, formaldehído + sonicación, NaOH + calentamiento y NaOH + sonicación). Los métodos de extracción de EPS que se van a describir a continuación han sido resumidos esquemáticamente en la Figura 3.9.

3.4.1.1 Extracción por centrifugación

Esta técnica se utilizó como medio de control, es decir, con el fin de disponer de una cantidad extraída de biopolímeros de cada muestra. Está basado en la aplicación de fuerzas centrífugas que actúan sobre las células o un agregado bacteriano. Específicamente, consiste en someter a la muestra a la acción de fuerzas de corte mediante la rotación y que actúan sobre las paredes de las células provocando la separación del EPS de la célula.

El método de extracción se realizó mediante una modificación del método descrito por Liu and Fang (2002). Muestras de 10 mL de fango activo se centrifugan a 15.000g durante 1 hora en una centrifuga Eppendorf modelo 5804. A continuación, el sedimento obtenido es descartado y el sobrenadante es filtrado mediante un filtro Millipore de $0,22\ \mu\text{m}$. La disolución de EPS resultante fue almacenada a 4°C hasta la realización del análisis químico de sus componentes.

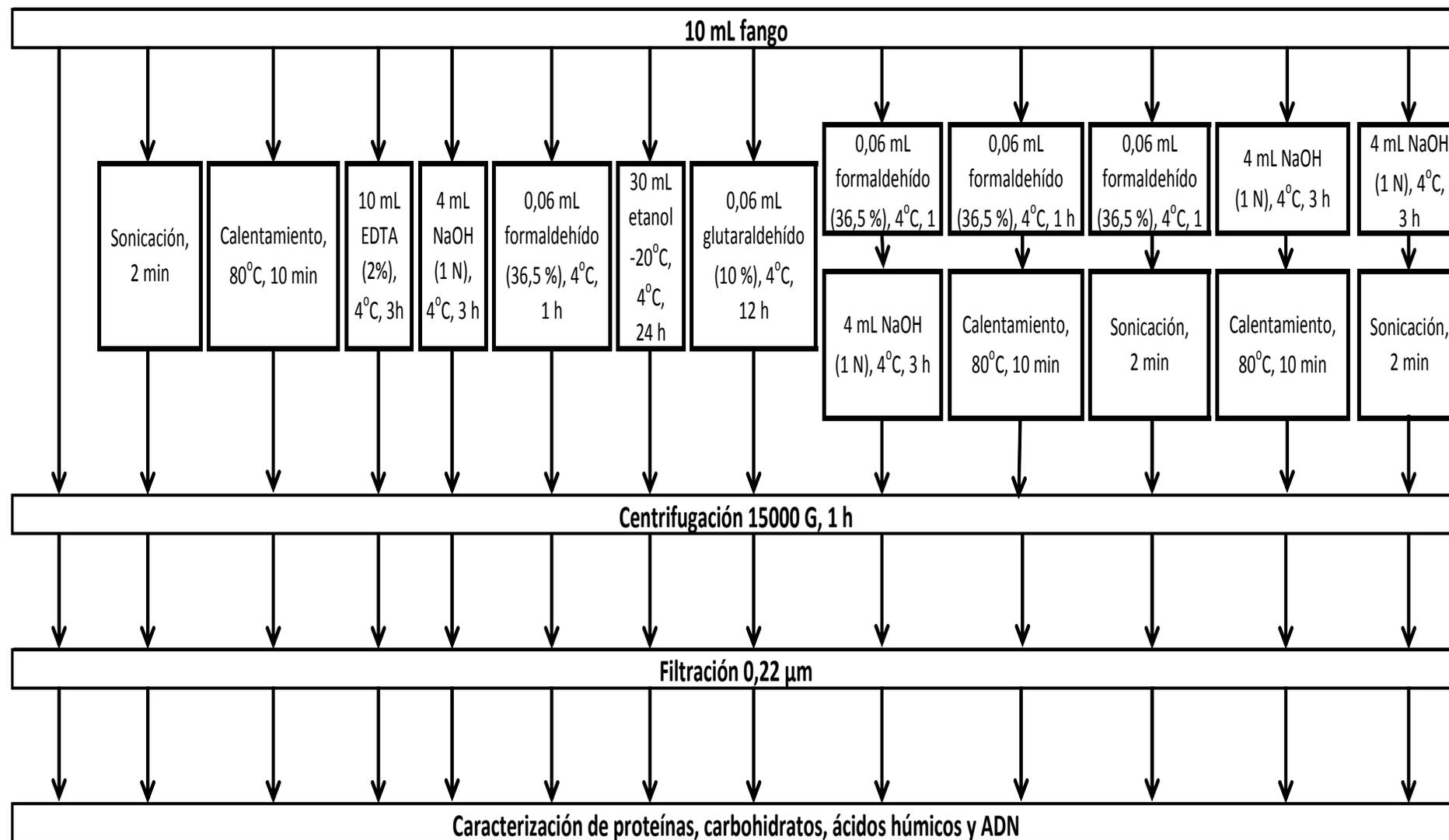


Figura 3.9: Comparativa métodos de extracción de EPS en fangos activos

3.4.1.2. Extracción por sonicación

Una muestra de 10 mL de fango activo es sometida a sonicación (Selecta Ultrasons) durante 2 minutos según una modificación del método descrito por Comte et al. (2006). Tras el proceso de sonicación, el fango es centrifugado a 15.000g durante 1 hora (Eppendorf centrifuge 5804). Se descarta el sedimento y el sobrenadante se filtra mediante filtros Millipore de 0,22 μm de tamaño de poro. La disolución de EPS es conservada a 4° C hasta su caracterización química.

3.4.1.3. Extracción por calentamiento

El método de extracción de EPS por calentamiento está basado en el método descrito por Dignac et al. (1998). Se someten 10 mL de fango a un baño térmico (Bunsen Franke en-631 1/3) con una temperatura de 80° C. Posteriormente se centrifuga la muestra a 15.000g durante una hora mediante una centrifuga Eppendorf modelo 5804. El sobrenadante es filtrado mediante filtros Millipore de 0,22 μm y el sedimento es descartado. La disolución de EPS es almacenada a 4° C mientras que se realiza la caracterización química de sus componentes.

3.4.1.4. Extracción con EDTA

Mediante la utilización de EDTA para la extracción de EPS de fangos activos se provoca la repulsión de los componentes de la matriz de EPS. Este reactivo ayuda a la eliminación de cationes importantes para la estructura de la matriz tales como el Ca^{2+} y el Mg^{2+} lo que provoca la desintegración de dicha matriz.

La extracción con EDTA se realizó según una modificación del proceso descrito por Liu and Fang (2002). Se añaden 10 mL de sal disódica de EDTA al 2 % p/v a 10 mL de muestra de fango activo y se deja reaccionar durante 3 horas a 4° C. Al cabo del periodo

de reacción, la disolución resultante se centrifugó y filtró en las mismas condiciones indicadas en los apartados anteriores.

3.4.1.5. Extracción con NaOH

La extracción de EPS de fangos activos con NaOH se basa en la ionización de los grupos tales como el grupo carboxílico en proteínas y polisacáridos. Esto provoca una fuerte repulsión de los EPS en su propia matriz, induciéndolos a una mayor solubilidad.

Este método fue muy similar al anterior ya que en la práctica consistió en dejar interaccionar a 10 mL de fango activo con una disolución de NaOH 1 N durante 3 horas a una temperatura de 4° C. El método utilizado fue una modificación del método descrito por Liu and Fang (2002). Transcurrido el tiempo indicado, la disolución final fue centrifugada y filtrada, siguiendo también el procedimiento comentado anteriormente.

3.4.1.6. Extracción con formaldehído

Al ser un método de extracción químico, este método es muy similar a los métodos de extracción con NaOH y EDTA. Se toman 10 mL de muestra y se le añaden 0,06 mL de formaldehído al 37,5 % v/v y se deja reaccionar durante 1 hora a 4° C. Tras el periodo de actuación del formaldehído, la muestra es sometida a centrifugación, filtrada y caracterizada químicamente. El método utilizado es una variación del método descrito por Liu and Fang (2002).

3.4.1.7. Extracción con glutaraldehído

Como los anteriores métodos de extracción química de EPS, el método de extracción mediante el uso de glutaraldehído se basa en la desestabilización de la matriz de EPS. Para ello se toman 10 mL de muestra y se le añaden 0,06 mL de glutaraldehído al 10 % v/v y se deja reaccionar durante 12 hora a una temperatura continua de 4° C según el método descrito por Comte e al. (2006). Tras el periodo de actuación, la muestra se le realiza el mismo procedimiento que a los demás métodos de extracción: centrifugación, filtrado y caracterización química de sus componentes.

3.4.1.8. Extracción con etanol a -20°C

El método utilizado para la extracción de EPS mediante etanol ha sido una modificación del método descrito por Quesada et al. (1994). A 10 mL de muestra se le han añadido 30 mL de etanol, previamente conservado a -20° C, y se ha dejado reaccionar durante 24 horas a 4° C. Tras el periodo de actuación del agente químico, la muestra es centrifugada a 15.000 G durante 1 hora mediante una centrifuga Eppendorf modelo 5804. El sobrenadante es filtrado mediante filtros Millipore de 0,22 µm y el sedimento es descartado. La disolución de EPS obtenida es caracterizada químicamente.

3.4.2. Extracción de SMP

Para la extracción de SMP del fango activo se ha seguido el procedimiento descrito por Judd (2006). Para ello se ha sometido a 10 mL de muestra a una centrifugación a 5000g (Eppendorf centrifuge 5804) durante 10 minutos. Posteriormente, el sobrenadante fue filtrado mediante filtros Millipore de 0,22 µm y el sedimento fue reservado para la extracción de EPS. La disolución de SMP obtenida fue caracterizada en carbohidratos, proteínas, ácidos húmicos, carbono orgánico y carbono

inorgánico. En la Figura 3.10 se puede visualizar un esquema del proceso utilizado para la extracción de SMP.

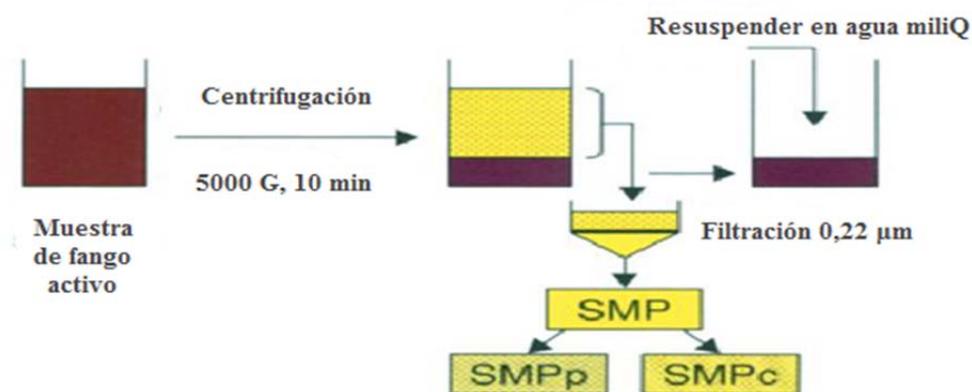


Figura 3.10: Esquema extracción SMP (Adaptado de Judd, 2006)

3.4.3. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Se puede considerar la DQO como una forma de estimar la materia orgánica presente en una determinada muestra, a través de la determinación por vía química de la cantidad de oxígeno necesario para oxidarla.

El proceso se basa en una oxidación de la materia orgánica, empleando para ello un oxidante fuerte como el dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) en medio ácido fuerte (exceso de H_2SO_4). El método utilizado según APHA (2012) es a reflujo cerrado y determinado espectrofotométricamente en comparación con una disolución madre de Ftalato ácido de potasio ($HOCC_6H_4COOK$).

Reactivos:

- Solución ácida: En 500 ml de ácido sulfúrico se adicionaron 6,6 g de Ag_2SO_4 . Se mantiene en agitación hasta disolución y se enrasa hasta 1 L de H_2SO_4 (98% v/v).

- Solución oxidante: Adición de 40 g/L de sulfato de mercurio (HgSO_4) en una solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,0167 M.
- Solución madre: Se adicionan 850,34 mg de Ftalato ácido de potasio en 500 ml de agua destilada. Se agita hasta la completa disolución y se enrasa hasta 1 L con agua destilada. Teniendo en cuenta la relación de oxidación del ftalato (1 g de ftalato: 1,176 g de O_2) la solución madre preparada tendrá una relación de oxidación de 1 mg O_2 /mL.

Para la metodología de flujo cerrado debemos añadir 3 mL de muestra, 2 mL de solución oxidante y 4 mL de solución ácida en tubos de oxidación de vidrio. Se cierran los tubos, se agitan y se colocan en un bloque térmico precalentado a 150° C durante 2 horas.

Una vez oxidada la muestra, para la valoración final se empleó el método espectrofotométrico en el que se compara la absorbancia del cromo (III) obtenido con una curva patrón expresada en mg O_2 /L de DQO. La absorbancia se determina a una longitud de onda de 600 nm en el espectrofotómetro (Helios γ), obteniendo el dato de DQO al extrapolar en la ecuación de la recta obtenida mediante el patrón.

La curva patrón para la calibración se realizó a partir de la solución madre de ftalato, mediante diluciones seriadas en matraces aforados de 100 mL. Las diluciones seriadas tuvieron una concentración de entre 0,001 y 1 mg/L. Se despreciaron aquellas regresiones cuyo coeficiente de correlación resultó ser inferior a $r^2 = 0,999$.

3.4.4. Sólidos en Suspensión Totales (SST)

Para determinar la concentración de sólidos en suspensión totales en las muestras, se ha empleado el método descrito por APHA (2012) de filtración-secado-pesada. Se trata de un proceso de separación sólido-líquido mediante evaporación, separando los sólidos de la fase acuosa mediante filtración, con filtros de 0,45 μm de tamaño de poro y fabricados en fibra de vidrio.

Una vez filtrada la muestra, los filtros son introducidos en la estufa a 105°C durante una hora para eliminar el agua retenida. Una vez transcurrido el tiempo de evaporación, los filtros son llevados a un desecador y una vez enfriados se determina el peso del filtro con los sólidos secos retenidos. Introducimos nuevamente el filtro en la estufa durante 15 minutos, se vuelve a enfriar en el desecador y se pesa. Se debe repetir la operación de pesado hasta obtener un peso constante. La medida se expresa en mg/L mediante la siguiente expresión:

$$SSt (mg/L) = \frac{Pf - Pi}{Vol}$$

Donde:

- Pi: Peso tara del filtro (mg).
- Pf: Peso final tras la desecación (mg).
- Vol: Volumen de muestra (L).

Previamente a la determinación de los sólidos totales en suspensión del agua, se deberá condicionar los filtros para su posterior uso, es decir, se deben limpiar con el objetivo de eliminar fibras sueltas y estabilizar su peso. Para ello se hace pasar a través de ellos tres volúmenes de agua y posteriormente se ponen a secar una hora en la estufa a 105° C. Transcurrido el tiempo, se enfrían los filtros en un desecador, se pesan y se vuelven a meter en la estufa a 105° C. Se vuelven a enfriar en el desecador y se hacen repeticiones de pesado hasta que el peso se mantenga estable. El mismo proceso debe hacerse también tras meter los filtros 20 minutos en la mufla a 550° C, necesario para la determinación simultánea de SSV.

3.4.5. Sólidos en Suspensión Volátiles (SSV)

Este parámetro también ha sido analizado mediante el método de filtración-secado-pesada descrito en el apartado anterior añadiendo una fase más de incineración en horno mufla (APHA, 2012).

Se basa en la pérdida de peso de una muestra de sólidos por su incineración, introduciendo los filtros secos en una mufla a 550° C durante 20 minutos. De esta forma los compuestos inorgánicos se volatilizan tras su combustión, pasando a CO₂ y H₂O, quedando la materia inorgánica como materia fija. Para conocer los valores de los SSV se aplica la siguiente expresión:

$$SSv (mg/L) = \frac{P_{ai} - P_{ti}}{Vol}$$

Donde:

- P_{ti}: Peso tras la incineración (mg).
- P_{ai}: Peso antes de la incineración (mg).
- Vol: Volumen de muestra (L).

3.4.6. Determinación de proteínas y ácidos húmicos

Las concentraciones de proteínas y sustancias húmicas se realizó de forma simultánea utilizando el método de Lowry (Lowry, 1951) modificado por Frølund (Frølund, 1995). El método de Lowry se basa en la reacción de las proteínas con el reactivo de Folin Ciocalteu dando un complejo coloreado. Este reactivo es una disolución de tungstato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y ácido clorhídrico. El mecanismo del proceso es el siguiente: el Cu²⁺, en medio alcalino, forma un complejo con los enlaces peptídicos de las proteínas reduciéndose a Cu⁺. Este ion, así como los grupos R de los

residuos de tirosina y triptófano de las proteínas, reaccionan con el reactivo de Folin, produciendo inicialmente un producto inestable, que se reduce para formar un compuesto coloreado. La valoración espectrofotométrica se mide a una longitud de onda de 750 nm. La intensidad del color depende de la cantidad presente en las proteínas de estos aminoácidos aromáticos y será proporcional a la concentración de proteínas en la disolución.

El método de Lowry presenta interferencia con las sustancias húmicas, por lo que Frølund et al. (1995), modificaron el procedimiento inicial, tomando en cuenta las sustancias húmicas durante la medición de las proteínas. La modificación introducida por Frølund se basa en la medición del desarrollo del color en presencia y ausencia del CuSO_4 . En presencia del CuSO_4 tanto las proteínas como las sustancias húmicas son medidas. En ausencia de CuSO_4 , el desarrollo del color es debido a los compuestos húmicos y a los ácidos aminocromogénicos, mientras que la coloración producida por las proteínas se reduce en un 20%. Las disoluciones preparadas y el procedimiento analítico llevado a cabo para la medición simultánea de proteínas y sustancias húmicas se muestran a continuación.

Disoluciones preparadas:

(A) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1% m/v).

(B) Tartrato doble de sodio y potasio $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2% m/v).

(C) NaOH (0.2M).

(D) Carbonato de sodio (4% m/v).

(E) Reactivo de Folin-Ciocalteu (2N).

(F) 49 mL (D) + 49 mL (C) + 1 mL (A) + 1 mL (B).

(G) Disolución (E) diluida dos veces con agua destilada.

(H) 49 mL (D) + 49 mL (C) + 1 mL agua destilada + 1 mL (B).

Procedimiento analítico:

1. De cada muestra a analizar se deben preparar dos tubos de vidrio en paralelo.
2. 5 mL de (F) + 1 mL de muestra en el tubo 1 y 5 mL de (H) + 1 mL de muestra en el tubo 2.
3. Homogenizar en un vortex.
4. Reposo durante 10 minutos a temperatura ambiente.
5. Adicionar a ambos tubos 0.5 mL de (G).
6. Homogenizar en un vortex.
7. Reposo durante 15 min en la oscuridad.
8. Homogenizar en un vortex.
9. Reposo durante 15 min en la oscuridad.
10. Lectura a 750 nm contra un blanco reactivo (agua destilada) de las muestras presentes en ambos tubos (presencia y ausencia de CuSO₄).

Las concentraciones de las proteínas y las sustancias húmicas se calcularon a partir de curvas patrón realizadas con albumina sérica bovina (BSA) (Panreac) y de ácidos húmicos (Sigma Aldrich) y se expresaron en mg/L equivalentes de la sustancia patrón. A partir de las lecturas de absorbancia (Abs), se estimó por separado la absorbancia de las proteínas y de las sustancias húmicas mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Abs Proteínas} = 1,25 (\text{Abs Total con CuSO}_4 - \text{Abs Total sin CuSO}_4)$$

$$\text{Abs Sustancias húmicas} = \text{Abs Total sin CuSO}_4 - 0,2 \text{ Abs proteínas}$$

3.4.7. Determinación de carbohidratos

Para la determinación de los carbohidratos presentes en las muestras se ha utilizado el método de fenol-sulfúrico desarrollado por Dubois et al. (1956). El método se fundamenta en que los carbohidratos son particularmente sensibles a ácidos fuertes. Bajo estas condiciones, una serie de reacciones complejas toman lugar empezando con una deshidratación simple, si se continúa la catálisis ácida se producen varios derivados del furano que condensan consigo mismos y con otros subproductos para producir compuestos coloridos producto de la condensación de compuestos fenólicos.

Todos los azúcares como oligosacáridos y polisacáridos pueden ser determinados, recordando que éstos bajo hidrólisis ácida producen monosacáridos.

Para la determinación de carbohidratos se ha tomado 1 mL de muestra a la cual se le añadido 0,6 mL de fenol al 5 % (v/v) y posteriormente 3,6 mL de ácido sulfúrico al 98 % (v/v). La adición de ácido sulfúrico ha de ser de forma brusca, creando una reacción muy exotérmica. Tras 30 minutos de reposo el color se estabiliza y la muestra se valora espectrofotométricamente a una longitud de onda de 480 nm.

La forma en la que se produce la reacción no es estequiométrica ya que depende de la estructura del azúcar, por lo tanto se realiza una curva patrón. (Nielsen, and Jahn, 1999). Dicha curva patrón se ha realizado con D-glucosa (Panreac) por lo que los datos obtenidos serán expresados como mg D-Glucosa/L.

3.4.8. Determinación de ADN

La concentración de ADN en la muestra se puede estimar con la reacción de la difenilamina (Burton, 1956). Este colorante reacciona selectivamente con 2-deoxipentosas. En disolución ácida la deoxipentosa se convierte en el altamente reactivo β -hidroxilevulín aldehído que reacciona con la difenilamina para dar un compuesto azul. Una curva patrón de concentraciones conocidas de DNA permitirá determinar el

contenido en DNA del problema por interpolación sobre la recta patrón de las densidades ópticas de la disolución problema.

Reactivos:

- Ácido perclórico (PCA) al 10% y 20%.
- Difenilamina (DFA) al 4% en ácido acético glacial.
- Acetaldehído 0.8% v/v en agua MilliQ (mantener en frío).
- ADN patrón (esperma de salmón) 1mg/mL.

Procedimiento analítico:

1. Preparación de la curva patrón. Dilución $\frac{1}{2}$ del ADN patrón: en un eppendorf de 2 mL poner 1 mL de ADN patrón y 1 mL de PCA al 20%. Concentración de ADN patrón 500 $\mu\text{g/mL}$.
2. Poner todos los tubos tapados con tapón de plástico a hidrolizar en baño a 90° C durante 30 min.
3. Poner los tubos en hielo. Cuando estén fríos añadir a todos los tubos 4 mL de disolución de difenilamina y agitar en vortex.
4. Añadir 50 μL de disolución de acetaldehído y agitar. Mantener en frío porque el acetaldehído es muy volátil. Mantener siempre los tubos cerrados.
5. Dejar los tubos cerrados a 30° C toda la noche.
6. Medir la absorbancia a 595 nm.

Este procedimiento solo se ha utilizado en la comparativa de métodos de extracción de EPS. Con los resultados obtenidos se puede llegar a conocer el grado de lisis celular

producido por las técnicas utilizadas para la extracción ya que al producirse la lisis se liberaría el material genético y por lo tanto se produciría un aumento en su medida.

3.4.9. Hidrofobicidad relativa

La hidrofobicidad de la superficie celular es uno de los factores más importantes en la determinación de la adhesión de las bacterias a las superficies biológicas y no biológicas o interfaces (Rosenberg et al., 1980; Van Loosdrecht et al., 1987a). El fango activado consiste en comunidades microbianas y su hidrofobicidad superficial afecta en gran medida a las características de los EPS (Liu and Fang, 2003; Zou et al., 2009).

El método utilizado para determinar la hidrofobicidad relativa fue el método BATH descrito por Rosenberg (1980). En él se utiliza la hidrofobicidad relativa como el porcentaje de células bacterianas adheridas a la fase hidrófoba en un sistema de dos fases. En este método, se mezcla vigorosamente un hidrocarburo (n-hexadecano, n-octano o p-xileno) con una suspensión acuosa bacteriana y se determina el cambio de absorbancia en la fase acuosa antes y después de la mezcla.

El método ha sido optimizado por Liu et al. (2010) y acondicionado según las posibilidades del estudio siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Las muestras de fango activado se centrifugan a 1760 x g durante 10 minutos.
2. Se descarta el sobrenadante y los gránulos de fango se resuspenden al volumen original con tampón Fosfato-Urea-Magnesio (PUM). Se repite dos veces este proceso.
3. El fango lavado se sónica durante 2 minutos en un baño con ultrasonidos (Selecta ultrasounds).
4. La muestra se resuspende en tampón PUM para que tenga una absorbancia inicial de aproximadamente 0,200 a 600 nm (Absi).

5. Se le añade n-octano a la suspensión a una relación H/A de 1/5.
6. La mezcla se agita en el vortex durante 2 minutos.
7. La absorbancia (Abse) de la fase acuosa se mide después de reposar durante 20 minutos.

Finalmente, la hidrofobicidad relativa (HR) se puede determinar mediante la siguiente ecuación:

$$RH = (1 - Abse / Absi) \times 100\%$$

Para la elaboración del tampón PUM se han utilizado los siguientes reactivos:

- 22,2 g $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$.
- 7,26 g KH_2PO_4 .
- 1,8 g urea.
- 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.
- 1 L H_2O .

3.4.10. Viscosidad

De las propiedades reológicas del fango activo la más importante es la viscosidad, que viene determinada por la resistencia a que tiene el fango a las deformaciones graduales producidas por tensiones cortantes o tensiones de tracción. La viscosidad depende no solo de la composición del fango sino también del tamaño de partículas, el grado de dispersión, el contenido en sólidos y la afinidad química con las partículas de la fase dispersa.

Para la medida de la viscosidad se ha utilizado un viscosímetro rotacional (Fungilab Alpha series) equipado con un baño térmico (Fungilab eagles) que permite realizar medidas en un rango de temperatura con un valor máximo de 50° C.

En el presente caso de estudio se han realizado medidas de viscosidad para fangos activados a diferentes temperatura (15°, 20°, 25°, 30° y 35° C) y para el efluente a una temperatura de 20° C.

3.4.11. Carbono total, orgánico e inorgánico

El carbono orgánico total (COT) se mide mediante la oxidación de la materia orgánica, mediante calor y oxígeno, o mediante oxidantes químicos y se detecta mediante el análisis infrarrojo de la producción de CO₂.

En la fase de experimentación se ha obtenido medidas de carbono total y carbono inorgánico mediante un analizador TOC (Microbeam Skalar) y por ende de carbono orgánico. El proceso que realiza el analizador es el siguiente:

- Para determinar el carbono total el aparato oxida todo el carbono presente en la muestra a CO₂ mediante combustión en el pirotubo donde se alcanzan temperaturas de 950° C. La muestra pasa por un espectrofotómetro donde se determina el contenido en CO₂ por infrarrojo y por consiguiente el carbono total en mg/L. Para la obtención de la recta de calibración en la determinación de carbono total se utiliza una disolución de ftalato ácido de potasio (KC₈H₅O₄) de 1mg/mL de carbono, que se prepara disolviendo 2,1254 g de ftalato en 1 L de agua.
- Para obtener como resultado el carbono inorgánico, la muestra se acidifica pasándola por H₃PO₄, donde solo el carbono inorgánico reacciona con el ácido y pasa a CO₂. Mediante espectrofotometría por infrarrojos se determina la cantidad de CO₂ y por lo tanto el contenido en carbono inorgánico, en mg/L. Para la obtención de la recta de calibración en la determinación de carbono

inorgánico se utiliza una disolución de Na_2CO_3 y NaHCO_3 de 1mg/mL de carbono, disolviendo 4,4122 g de Na_2CO_3 y 3,497 g NaHCO_3 , respectivamente.

- Por diferencia entre el carbono total y el carbono inorgánico se obtiene el carbono orgánico.

Para la acidificación de la muestra se utiliza ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85% en peso. Se disuelven 23,5 mL de H_3PO_4 al 85% en 1L de agua destilada.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos por mediciones continuas fueron tratados con el software específico Active Factory 9.2 (Wanderware) para eliminar errores durante la medición y obtener valores medios diarios. Los datos registrados durante la fase experimental se han sometido a diversos estudios estadísticos mediante el uso del programa estadístico Statgraphics Plus.

Tanto las variables modificables como las no modificables han sido comparadas con los parámetros analizados durante la investigación. Como se han realizado análisis de los parámetros de los diferentes fangos activos en cada reactor biológico, se han realizado análisis de varianza (ANOVA) de una vía mediante Statgraphics, siendo la variable dependiente el parámetro a estudiar y el factor los diferentes reactores. De esta forma se determina la presencia de diferencias significativas entre fangos activos de los diferentes reactores biológicos. Mediante el mismo paquete estadístico también se han realizado comparaciones estadísticas de múltiples muestras según el método de diferencias significativas mínimas de Fisher (LSD) para buscar diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes métodos de extracción de EPS y agruparlos según homogeneidad.

Los coeficientes de correlación de Pearson han sido determinados entre las variables operacionales: HRT, SRT, carga de DQO, carga de SS y temperatura, y los parámetros operacionales: MLSS, MLVSS, TMP, Resistencia a la filtración, Viscosidad,

Hidrofobicidad, DQO del efluente, SMP y EPS, así como por los biopolímeros que componen a las sustancias extracelulares. Estos análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico Statgraphics Plus.

Las correlaciones lineales simples se han realizado utilizando la aplicación de hojas de cálculo de Microsoft Office 2010 (Excel) por el que se han obtenido los coeficientes de determinación (R^2).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS PREVIOS

4.1.1. Comparativa de métodos de extracción de EPS

Previamente a la realización de los análisis experimentales se realizó una comparativa de métodos de extracción de EPS para determinar qué método era el más adecuado para el caso de estudio ya que la cuantificación del EPS está fuertemente relacionada con el tipo de método de extracción (Wingender et al., 1999). Los métodos utilizados en las diferentes investigaciones van desde los métodos más avanzados como son las resinas de intercambio catiónico hasta los más simples como es el calentamiento. Según el estado de la literatura sobre métodos de extracción de EPS, hay una gran controversia con el método más idóneo para extraer el EPS de una muestra. Según una comparativa realizada por Liu and Fang (2002) el método más fiable para la extracción del EPS es el del formaldehído y NaOH. Sin embargo, hay otros autores que utilizan las resinas de intercambio catiónico (Malamis and Andreadakis, 2009; Frølund et al. 1996), el NaOH (Zhang et al., 2008a) o el método por calentamiento (Wang et al., 2009a; Judd, 2006 y 2010; Ramesh et al. 2007).

Para una mejor comprensión de la influencia de los EPS en el sistema estudiado, se realizó una comparativa de métodos de extracción de EPS a partir del fango activo aireado de la instalación experimental en la que se utilizaron 3 métodos físicos: centrifugación (blanco), calentamiento y sonicación; 6 métodos químicos: NaOH, formaldehído, glutaraldehído, EDTA, etanol -20° C y formaldehído + NaOH; y 4 métodos físico-químicos: formaldehído + calentamiento, formaldehído + sonicación, NaOH + calentamiento y NaOH + sonicación. Los resultados de los análisis de carbohidratos, proteínas, ácidos húmicos y ADN obtenidos para cada método de extracción se pueden visualizar desde la Tabla 4.1 a la Tabla 4.13. De la misma forma, y a modo de resumen, en la Tabla 4.14 también se pueden observar los datos obtenidos.

Tabla 4.1: Composición del EPS extraído mediante el método de centrifugación (mg/g SSv)

Centrifugación (Blanco)					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	0,3976	0,4198	0,6944	0,1008
Ácidos húmicos	6	2,4097	1,5704	4,8023	0,4006
Carbohidratos	6	0,9181	0,4950	1,3725	0,1450
ADN	3	1,0413	0,3075	1,3482	0,7331

Tabla 4.2: Composición del EPS extraído mediante el método de calentamiento (mg/g SSv)

Calentamiento					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	22,954	8,680	35,222	12,702
Ácidos húmicos	6	26,500	12,451	44,753	12,019
Carbohidratos	6	11,304	1,863	13,920	9,328
ADN	6	2,107	1,854	5,366	0,168

Tabla 4.3: Composición del EPS extraído mediante el método de sonicación (mg/g SSv)

Sonicación					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	5	3,588	-	3,588	3,588
Ácidos húmicos	5	3,029	1,742	5,508	0,965
Carbohidratos	6	1,871	1,567	4,569	0,323
ADN	5	0,870	0,642	1,733	0,146

Si se tiene en cuenta los métodos físicos de extracción de EPS, se puede observar que los componentes mayoritarios han sido los ácidos húmicos para las extracciones con centrifugación (Tabla 1.1) y calentamiento (Tabla 1.2), y las proteínas en la extracción con sonicación (Tabla 1.3). El método mediante centrifugación se ha tomado como blanco, es decir, se han contabilizado todos los valores de las diferentes extracciones a partir de sus valores. El calentamiento como método de extracción provoca más lisis celular que el método de sonicación ya que se ha obtenido mayor concentración de ácidos nucleicos en la muestra.

Tabla 4.4: Composición del EPS extraído mediante el método de NaOH (mg/g SSV)

NaOH					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	249,680	40,443	312,553	202,060
Ácidos húmicos	6	130,382	20,546	159,108	100,938
Carbohidratos	6	38,963	7,188	45,975	25,914
ADN	6	7,595	6,491	18,606	2,593

Tabla 4.5: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído (mg/g SSV)

Formaldehído					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	5,232	6,071	17,299	0,143
Ácidos húmicos	6	4,490	1,911	7,898	2,548
Carbohidratos	6	6,472	2,017	3,597	8,784
ADN	6	145,709	110,881	371,290	87,620

Tabla 4.6: Composición del EPS extraído mediante el método de EDTA (mg/g SSv)

EDTA					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	80,147	56,176	119,869	40,424
Ácidos húmicos	6	1093,442	430,039	1495,480	470,486
Carbohidratos	6	5,402	2,740	8,791	2,834
ADN	5	2,495	3,054	7,867	0,631

Tabla 4.7: Composición del EPS extraído mediante el método de etanol -20° C (mg/g SSv)

Etanol -20° C					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	24,566	19,154	56,144	6,452
Ácidos húmicos	6	15,283	8,292	23,226	3,672
Carbohidratos	6	19,038	3,382	24,276	15,367
ADN	6	10,270	5,701	17,720	4,106

Tabla 4.8: Composición del EPS extraído mediante el método de glutaraldehído (mg/g SSv)

Glutaraldehído					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	10,457	7,244	20,979	4,445
Ácidos húmicos	6	32,833	18,517	68,159	15,701
Carbohidratos	6	78,139	17,059	98,703	51,853
ADN	6	6,010	3,437	11,265	0,777

Tabla 4.9: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído + NaOH (mg/g SSV)

Formaldehído + NaOH					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	139,796	30,633	175,515	91,397
Ácidos húmicos	6	119,033	21,605	159,953	99,634
Carbohidratos	6	45,529	6,219	55,476	38,402
ADN	6	111,768	149,508	416,155	37,035

Según las extracciones de EPS mediante reactivos químicos, el componente que está presente en mayor cantidad son las proteínas en el método de extracción de la NaOH (Tabla 4.4), el ADN en el método con formaldehído (Tabla 4.5), los ácidos húmicos en el método mediante EDTA (Tabla 4.6), las proteínas en el método de extracción que se utiliza etanol -20° C (Tabla 4.7), los carbohidratos en el método de extracción con glutaraldehído (Tabla 4.8) y las proteínas en el método conjunto con formaldehído y NaOH (Tabla 4.9). Al centrarse en la cantidad de ácidos nucleicos analizados, se puede ver como los métodos químicos de extracción poseen una mayor cantidad de ADN, esto indica que los tratamientos son más agresivos y que provocan mayor daño a la célula. En los dos métodos en los que se ha utilizado el formaldehído se ha registrado mayor concentración de ADN en la muestra, superando los 100 mg/g SSV. Este resultado es muy superior al que encontraron Liu and Fang (2002) en su investigación ya que fue solamente para los métodos con formaldehído y formaldehído + NaOH encontraron unas concentraciones de ADN de $0,07 \pm 0,01$ mg/g SSV y $0,35 \pm 0,05$ mg/g SSV respectivamente.

Es de especial interés la concentración de ácidos húmicos registrados mediante el método de extracción de EDTA ya que según lo obtenido hay una mayor cantidad de este biopolímero que de SSV, lo que obviamente es un error. Por ello, es necesario realizar más análisis para ver que interferencia ha podido haber en su caracterización.

Tabla 4.10: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído + calentamiento (mg/g SSv)

Formaldehído + calentamiento					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	19,207	5,500	28,212	13,945
Ácidos húmicos	6	25,380	5,188	34,507	18,517
Carbohidratos	6	13,884	3,471	18,779	8,504
ADN	6	216,017	195,647	612,645	103,931

Tabla 4.11: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído + sonicación (mg/g SSv)

Formaldehído + sonicación					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	7,218	3,116	9,966	3,737
Ácidos húmicos	6	5,952	1,859	8,833	3,397
Carbohidratos	6	7,579	3,198	12,367	3,422
ADN	6	178,534	125,658	432,856	96,827

Tabla 4.12: Composición del EPS extraído mediante el método de NaOH + calentamiento (mg/g SSv)

NaOH + calentamiento					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	5	338,267	50,206	395,975	264,850
Ácidos húmicos	5	365,517	25,597	401,717	336,674
Carbohidratos	5	71,430	4,831	77,767	66,448
ADN	5	12,475	11,032	31,671	3,490

Tabla 4.13: Composición del EPS extraído mediante el método de NaOH + sonicación (mg/g SSv)

NaOH + sonicación					
	Nº repeticiones	Media	Desviación	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteínas	6	291,723	35,321	331,089	231,092
Ácidos húmicos	6	188,576	24,062	222,489	155,167
Carbohidratos	6	47,096	5,339	55,616	39,823
ADN	6	6,394	5,403	16,940	2,669

Las caracterizaciones de las extracciones mediante métodos físico-químicos han demostrado que el componente mayoritario han sido el ADN en ambos métodos con formaldehído (Tabla 4.10 y Tabla 4.11), los ácidos húmicos en el método con NaOH + calentamiento (Tabla 4.12) y las proteínas en el método que se ha utilizado conjuntamente NaOH + sonicación (Tabla 4.13). Al igual que pasara con el formaldehído en los métodos químicos de extracción, el ADN en los métodos físico-químicos vuelve a tener una gran concentración, esta vez superando los 200 mg/g SSv. Es necesario realizar análisis complementarios para ver si se ha podido generar alguna interferencia en el método y por lo tanto se ha producido una sobreestimación de sus valores.

La extracción por centrifugación se realiza para establecer un valor de referencia de la concentración de ADN en el EPS. A partir de este valor, se puede conocer el grado de lisis celular debido a que si aumenta la concentración de ADN en la muestra significará que se ha producido lisis en la célula ya que el EPS del fango activo debe contener sólo pequeñas cantidades de ácidos nucleicos extracelulares (Nielsen et al., 1997). Altos niveles de ADN en EPS puede indicar la contaminación por los materiales intracelulares resultantes de la ruptura celular durante el proceso de extracción (Zhang et al., 1999).

Antes de someterse cada muestra a la extracción de EPS, se le ha extraído el SMP quedando las muestras libres de los biopolímeros que están esparcidos naturalmente en

el exterior ya que el SMP comprende componentes celulares solubles liberados durante la lisis celular, los cuales luego se difunden a través de la membrana celular y se pierden durante la síntesis o se excretan para algún propósito (Laspidou and Rittmann, 2002; Li et al., 2005). Otro motivo por el cual es importante realizar previamente la extracción de SMP, es porque el SMP puede contener también componentes recalcitrantes del influente que permanecen sin transformar por el proceso biológico (Judd, 2011) y que pueden interferir en los métodos de extracción.

Se han identificado dos tipos de EPS según la posición que ocupan en la matriz del flóculo, el EPS que está fuertemente ligado a la célula y el que está débilmente ligado a la célula (Higgins and Novak, 1997). Si se tienen en cuenta los resultados obtenidos en el método de extracción por centrifugación (blanco), dichos resultados pertenecen al EPS débilmente ligado a la célula. Este resultado viene respaldado por las técnicas de extracción de diversos autores que realizan la extracción de los dos tipos de EPS de manera independiente, la débilmente fijada a la célula por centrifugación, sonicación o combinación de ambas, y la fuertemente fijada a la célula por cualquiera de los métodos de extracción estudiados en el presente estudio (Wang et al., 2009a; Al-Halbouni et al., 2008).

Como se puede ver en la Tabla 4.14, hay una gran diferencia entre los resultados obtenidos para cada método de extracción de EPS utilizado tal y como establecen Zhang et al. (1999) y Comte et al. (2006). Si se tiene en cuenta la concentración de los biopolímeros extraídos y analizados, se puede observar como los métodos por los que se ha extraído más cantidad de carbohidratos, proteínas, ácidos húmicos y ADN ha sido el método del glutaraldehído, del NaOH + calentamiento, del EDTA y del formaldehído + calentamiento con respectivamente. Los métodos por los que se han extraído más EPS han sido el método mediante EDTA con $1052,311 \pm 404,163$ mg/g SSv y los métodos con NaOH, NaOH + sonicación y NaOH + calentamiento con $426,621 \pm 54,811$ mg /g SSv, $533,788 \pm 37,549$ mg/g SSv y $787,690 \pm 33,328$ mg /g SSv respectivamente. En base a esto, estos serían los métodos más adecuados a priori para su uso en la extracción del EPS a partir del fangos activo aireado utilizado en el estudio.

Tabla 4.14: Comparativa métodos de extracción de EPS (mg/g SSV)

	Carbohidratos	Proteínas	Ácidos húmicos	ADN	Total EPS
Centrifugación	0,918 ± 0,495	0,398 ± 0,420	2,410 ± 1,570	1,041 ± 0,308	5,783 ± 1,739
Calentamiento	11,304 ± 1,863	22,954 ± 8,680	26,500 ± 12,451	2,107 ± 1,854	62,865 ± 21,439
Sonicación	1,871 ± 1,567	3,588	3,029 ± 1,742	0,870 ± 0,642	5,522 ± 3,068
NaOH	38,963 ± 7,188	249,680 ± 40,443	130,382 ± 20,546	7,595 ± 6,491	426,621 ± 54,811
Formaldehído	6,472 ± 2,017	5,232 ± 6,071	4,490 ± 1,911	145,709 ± 110,881	161,903 ± 106,270
Etanol -20° C	19,037 ± 3,382	24,566 ± 19,154	15,283 ± 8,292	10,270 ± 5,701	64,061 ± 21,615
Glutaraldehído	78,139 ± 17,059	10,457 ± 7,244	32,833 ± 18,517	6,010 ± 3,437	123,954 ± 31,357
EDTA	5,402 ± 2,740	80,147 ± 56,176	1093,442 ± 430,039	2,495 ± 3,054	1052,311 ± 404,163
Formaldehído + NaOH	45,529 ± 6,219	139,796 ± 30,633	119,033 ± 21,605	111,768 ± 149,508	416,127 ± 169,909
Formaldehído + calentamiento	13,884 ± 3,471	19,207 ± 5,500	25,380 ± 5,188	216,017 ± 195,657	274,488 ± 189,510
Formaldehído + sonicación	7,579 ± 3,198	7,218 ± 3,116	5,952 ± 1,859	178,534 ± 125,658	198,080 ± 120,983
NaOH + calentamiento	71,430 ± 4,831	338,267 ± 50,206	365,517 ± 25,597	12,475 ± 11,032	787,690 ± 33,328
NaOH + sonicación	47,095 ± 5,339	291,723 ± 35,321	188,576 ± 24,062	6,394 ± 5,403	533,788 ± 37,549

Los diferentes métodos de extracción de EPS deben intentar combinar la mayor y más eficiente extracción de estas sustancias, no degradar o alterar a los biopolímeros y causar el mínimo grado de lisis celular (Frølund et al., 1996). Si se tiene en cuenta la primera premisa, y como se puede visualizar en la Tabla 4.15, el método por el que se obtiene mayor cantidad de EPS extraído es el método del EDTA con aproximadamente 1180 mg EPS/g SSv y por el que se obtiene menor cantidad es utilizando la sonicación con 9,357 mg EPS/g SSv. Como es lógico, el valor obtenido en la extracción mediante la adición de EDTA es erróneo por lo que fue necesario realizar un estudio de cómo podían afectar los reactivos químicos de los métodos de extracción al análisis de los biopolímeros (Figura 4.1) y así cumplir con la segunda premisa de la extracción de EPS idónea.

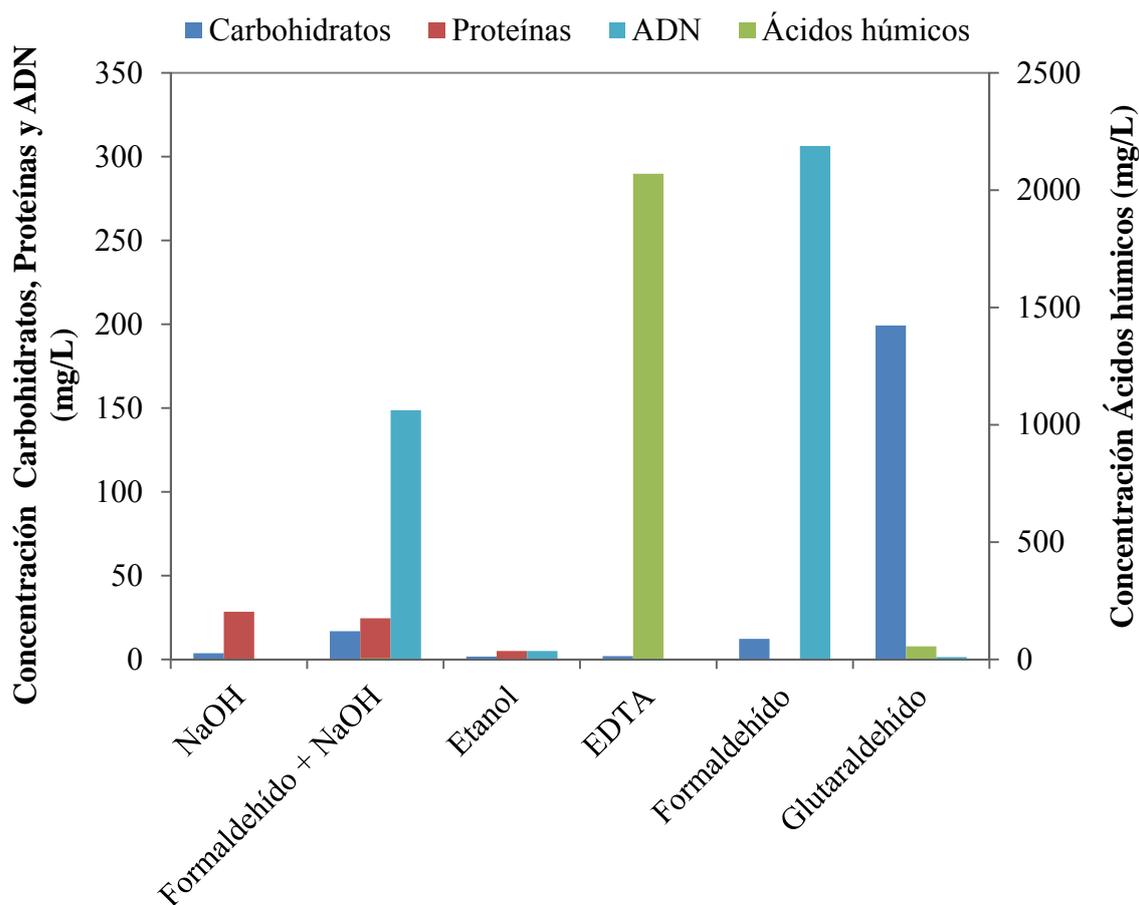


Figura 4.1: Interferencia reactivos químicos utilizados en la extracción de EPS en los métodos colorimétricos utilizados

El estudio de la influencia de los reactivos químicos en las extracciones de EPS se realizó siguiendo los procedimientos comunes de cada extracción química pero sustituyendo la muestra del fango activo aireado por agua ultrapura (MilliQ), la cual está exenta de los biopolímeros caracterizados en el EPS. De esta forma se puede conocer cómo afecta cada reactivo químico a los métodos colorimétricos utilizados para determinar la concentración de los biopolímeros presentes en el EPS.

Como es visible en la Figura 4.1, hay reactivos químicos utilizados en la extracción de EPS que interfieren en los métodos colorimétricos de caracterización de los biopolímeros. El EDTA interfiere especialmente en el método de Lowry modificado por Frølund para el análisis de proteínas y ácidos húmicos ya que se obtiene un error de más de 2000 mg/L, confirmando así los resultados erróneos anteriormente observados. Este resultado es respaldado por la investigación realizada por Comte et al. (2006). En esta investigación concluyeron que el método EDTA tiene una alta eficiencia de extracción y provoca un bajo grado de lisis celular pero el EDTA residual podría contaminar la extracción de EPS y luego interferir con la determinación de proteínas en el método de Lowry. Aunque en menor medida, el formaldehído también produce un gran error en la lectura de la concentración de ADN con un valor de más de 300 mg/L por lo que no se podrá realizar una medida certera de la lisis celular que se ha producido en las extracciones de EPS mediante su utilización. El análisis de carbohidratos en presencia de glutaraldehído también se ve comprometido por una interferencia en el método de extracción ya que se produce un error de lectura que sobrepasa los 200 mg/L. El NaOH, aunque en menor medida que los anteriores, también tiene una interferencia en el método colorimétrico de análisis de proteínas. A partir de estos resultados se puede definir el método de extracción de EPS mediante la adición de etanol a -20° C como el método químico más adecuado para el estudio de los EPS presentes en el fango activo aireado utilizado en la presente investigación ya que es el que menos interfiere en el análisis de los biopolímeros que componen el EPS.

Se realizó una comparación estadística de múltiples muestras según el método de diferencias significativas mínimas de Fisher (LSD). Mediante este estudio (Figura 4.2) se ha podido comprobar que hay diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tipos de métodos de extracción de EPS utilizados (p -valor = 0,0001). Sin

embargo, también se ha podido comprobar que hay algunas similitudes entre varios de los métodos, por lo que se han agrupado según su homogeneidad (Tabla 4.15).

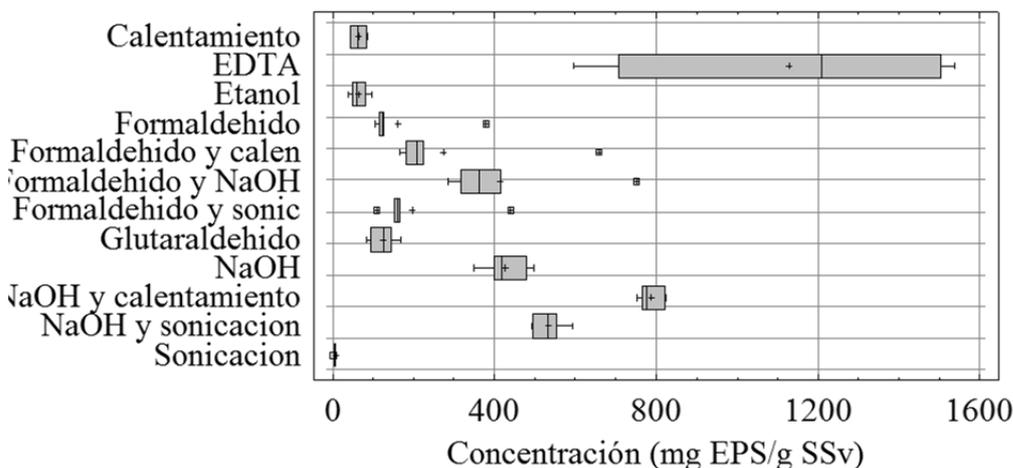


Figura 4.2: Diagrama de cajas y bigotes del total de EPS extraído mediante los diferentes métodos

Tabla 4.15: Distribución de los grupos homogéneos según el EPS total extraído

	EPS total (mg/g SSV)	Grupos homogéneos
Centrifugación	4,767	-
Calentamiento	62,865	A B
Sonicación	9,357	A
NaOH	426,621	D E
Formaldehído	161,903	A B C
Etanol -20° C	69,156	A B
Glutaraldehído	127,440	A B C
EDTA	1181,485	G
Formaldehído + NaOH	416,127	D E
Formaldehído + calentamiento	274,488	C D
Formaldehído + sonicación	199,283	B C
NaOH + calentamiento	787,690	F
NaOH + sonicación	533,788	E

Según los grupos homogéneos de la Tabla 4.15 y el diagrama de cajas y bigotes de la Figura 4.2, puede observarse que el uso de EDTA provoca un gran error en la extracción ya que se obtienen valores de EPS mayores a la cantidad de SSV de la muestra por lo que se puede descartar dicho método. Tras el método de extracción de EDTA se encuentra el método con NaOH y calentamiento que es independiente a todos los demás métodos y por el que se extrae una cantidad de EPS cercana a los 800 mg/g SSV. Si se continúa descendiendo en la cantidad de EPS extraído se puede ver cómo se va produciendo homogeneidad entre varios métodos de extracción siendo el grupo homogéneo con más representatividad aquel que está compuesto por los métodos de sonicación, calentamiento, formaldehído, etanol -20°C y glutaraldehído. Liu and Fang (2002) realizaron un estudio bibliográfico y recogieron que diferentes autores obtuvieron un máximo de EPS extraído a partir de fango activo aireado de: 165 mg/g SSV con el método de formaldehído + NaOH (Liu and Fang, 2002), 109 mg/g SSV con una resina de intercambio catiónico (Rudd et al., 1984) y 58 mg/g SSV con el método de calentamiento a 80° C (Liu et al., 2001). Estudios realizados por Frølund et al. (1996) indicaron que el EPS suponía al menos el 20-25% del fango activo o el 33-42% de la parte orgánica. Según los resultados de los diferentes autores, la cantidad extraída en la presente investigación es muy elevada por lo que habría que investigar si se ha producido lisis en la célula y los resultados obtenidos son erróneos al medir también el material intracelular.

Una vez comprobado qué método es el por el cual se extrae mayor cantidad de EPS y cuál es el método que menos afecta al análisis de los biopolímeros, es necesario conocer qué método es el que provoca menos lisis celular y así cumplir la tercera premisa para la idónea extracción de EPS. Hay que hacer hincapié en que el método de cuantificación de ADN se ha utilizado exclusivamente para realizar la medida de lisis celular provocada por los diferentes métodos de extracción de EPS. Una vez conocido su valor en la comparativa de métodos de extracción, su medida no se realizará a lo largo de la fase experimental.

Para conocer si hay diferencias significativas entre la cantidad de ADN cuantificado de cada extracción de EPS se ha realizado una comparación estadística de múltiples muestras según el método LSD. Los resultados se pueden ver representados mediante un diagrama de cajas y bigotes (Figura 4.3) o por la distribución de grupos homogéneos

(Tabla 4.16). Los métodos que pertenezcan al mismo grupo, no tienen diferencias significativas entre sí respecto a la cantidad de ADN cuantificada.

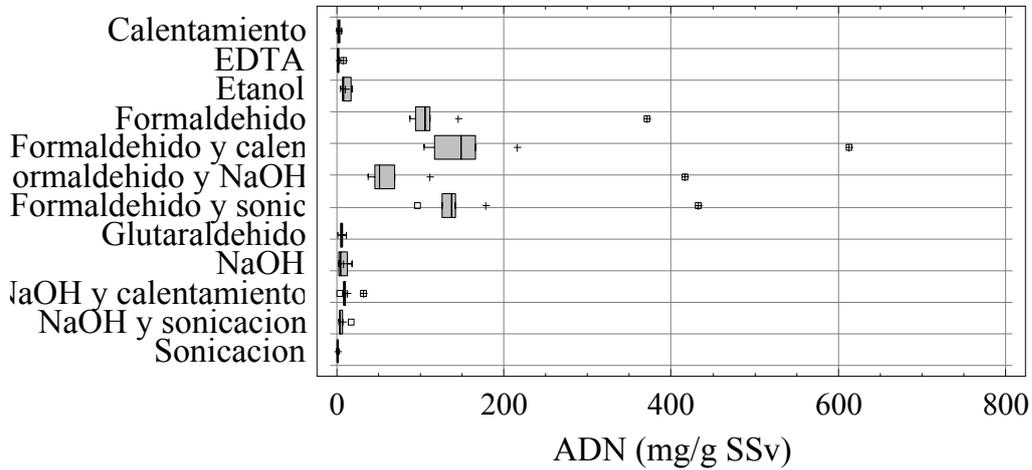


Figura 4.3: Diagrama de cajas y bigotes de la concentración de ADN en los diferentes métodos de extracción de EPS

Tabla 4.16: Grupos homogéneos en la cuantificación de ADN

	Grupos homogéneos
Calentamiento	A
Sonicación	A
NaOH	A
Formaldehído	C D
Etanol -20° C	A B
Glutaraldehído	A
EDTA	A
Formaldehído + NaOH	B C
Formaldehído + calentamiento	D
Formaldehído + sonicación	C D
NaOH + calentamiento	A B
NaOH + sonicación	A

Como se ha mencionado anteriormente, el formaldehído tiene una enorme interferencia en el método de cuantificación de ADN y se puede ver reflejado en los resultados obtenidos mediante el estudio estadístico en los que se ve claramente como las extracciones mediante el uso de formaldehído son independientes al resto de métodos de extracción de EPS. Según este estudio, y en relación a la tercera premisa de la extracción idónea de EPS, los métodos que provocan menos lisis en las células son los pertenecientes al grupo uno por lo que todos serían viables para su uso en la extracción de EPS a partir del fango activo aireado en el estudio.

Al englobar las tres premisas de la correcta extracción de EPS, se puede identificar un método como el más adecuado para su uso con los fangos utilizados en la investigación. El método elegido es el método de extracción mediante la adición de etanol a -20° C ya que está presente en el grupo de métodos de extracción con menor lisis celular, es el único método químico de extracción que no tiene una interferencia significativa en los métodos colorimétricos de análisis de carbohidratos, proteínas, ácidos húmicos y AND, y por él se extrae una mayor cantidad de EPS. El resultado obtenido está sustentado por la comparativa de métodos de extracción realizada por Quesada et al. (1994) en la que concluyeron que el método de extracción con etanol era el más adecuado para la extracción de EPS a partir de cultivos puros. El método de extracción mediante calentamiento está muy cerca del método elegido pero se ha descartado debido a que hay autores que indican que somete a la célula a una mayor lisis celular. Es el caso de la investigación realizada por Antonelli et al. (2011) en la que concluían que el método mediante calentamiento influía significativamente en la integridad de la membrana de la célula, dañándose el 75-90 % de las células inicialmente viables durante esta fase.

En este estudio previo se ha querido conocer la influencia del formaldehído en la prevención contra la lisis celular. Según diversos autores la extracción de EPS con un tratamiento previo con formaldehído es la forma más eficiente para la extracción de EPS de fangos activos debido a que el tratamiento con formaldehído podría fijar las células, previendo así la lisis celular, por la reacción con grupos de las proteínas y ácidos nucleicos de las membranas de las células (Liu and Fang, 2002; Comte et al., 2005). Sin embargo, debido a la influencia que tiene el formaldehído en el método colorimétrico de cuantificación de ADN no se ha podido realizar un estudio exhaustivo y por lo tanto no se ha podido confirmar los resultados obtenidos por los autores anteriormente citados.

Independientemente de definir el método más adecuado para la extracción de EPS a partir de fangos activos aireados, también se ha realizado un estudio para comprobar cómo afecta al resultado final el uso de métodos químicos y físicos de extracción de EPS conjuntamente. Mediante una comparación estadística de múltiples muestras según el método LSD, se ha realizado un estudio para comprobar si hay diferencias estadísticamente significativas entre los métodos utilizados, encontrando un p -valor=0,0001. Los resultados obtenidos han sido representados en la Tabla 4.17 y en la Figura 4.4 en los cuales se puede ver una agrupación de métodos en los que no hay diferencias significativas entre ellos y un diagrama de cajas y bigotes con los datos de las extracciones de EPS respectivamente.

Tabla 4.17: Grupos homogéneos en la combinación de métodos de extracción de EPS

Grupos homogéneos	
NaOH	A
Formaldehído	B
Formaldehído + calentamiento	B
Formaldehído + sonicación	B
NaOH + calentamiento	C
NaOH + sonicación	A

Al tener en cuenta los resultados obtenidos, se puede observar que en todos los casos que se han utilizado varios métodos conjuntamente se ha aumentado la concentración de EPS extraída. Sin embargo, si se tiene en cuenta los datos logrados al realizar el estudio estadístico, se puede decir que dependiendo de la combinación de los métodos de extracción de EPS habrá diferencias estadísticamente significativas entre ellos y por lo tanto será una combinación satisfactoria. En el caso del formaldehído no se puede establecer la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre el método simple y los métodos en los que se ha combinado con calentamiento o sonicación. Por otro lado se puede considerar que el método de extracción con NaOH no se ha diferenciado con el método de NaOH suplementado con sonicación pero sí con el

método de extracción mediante la combinación con calentamiento ya que son estadísticamente independientes. Debido a ello, se puede considerar que la combinación entre métodos de extracción de EPS físicos y químicos es beneficiosa en todos los casos pero solo hay diferencias significativas cuando se ha utilizado la combinación fisico-química con NaOH y calentamiento.

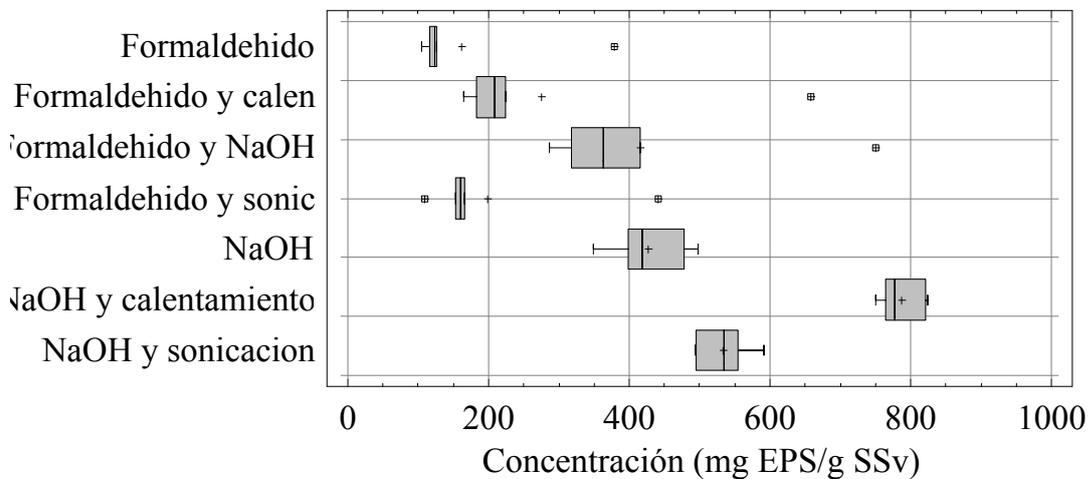


Figura 4.4: Diagrama de cajas y bigotes de la extracción total de EPS en la combinación de métodos

4.2. EVOLUCIÓN DE LAS VARIABLES OPERACIONALES DE PLANTA

Desde el comienzo de los análisis el día 4 de Febrero del 2013, se ha trabajado continuamente con excepción de dos paradas de larga duración, que coinciden con los dos periodos de estiaje, debido a problemas técnicos y una pequeña parada en las que se cambiaron las membranas planas de microfiltración debido a su ensuciamiento crítico. Es por ello que se ha trabajado con dos juegos diferentes de membranas: el primero, con un total de 740 días de operación, desde el 4 de Febrero de 2013 hasta el 13 de Febrero de 2015 y el segundo con un total de 152 días, desde el 14 de Febrero de 2015 hasta el final del periodo analítico el 15 de Julio de 2015. Teniendo en cuenta el cómputo global, se ha trabajado durante 892 días en los que han modificado diferentes variables

operacionales, pudiendo conocer así como afectan las variaciones de dichas variables al comportamiento del sistema.

A lo largo de la fase experimental, se han fijado ciertas variables que han podido ser modificadas en el sistema, tales como el SRT y HRT. También se ha tenido en cuenta las variables operacionales no modificables como la temperatura y la carga contaminante.

Aunque ha tenido ligeras variaciones durante el periodo de estudio, el HRT se ha mantenido constante en el tiempo. Para los valores de SRT se programó una subida paulatina de sus valores a lo largo del tiempo pero los valores se han visto condicionados por pérdidas de fango no forzadas que ha sufrido el sistema a lo largo de la fase de estudio.

4.2.1. Análisis de la evolución de la temperatura

La temperatura media ambiental ha sido recogida por la estación meteorológica de aeropuerto de Granada que, junto a la temperatura del fango registrada, se pueden ver en la Figura 4.5. La instalación experimental se encuentra a la intemperie por lo que tanto la temperatura media ambiental como la temperatura del fango activado siguen la evolución normal de la meteorología según las estaciones del año, teniendo una temperatura elevada en los meses de verano y una temperatura baja en los meses que se corresponden con la estación invernal. Aunque la evolución de las dos temperaturas es la misma durante el tiempo, se puede ver una diferencia clara entre las dos, sobre todo en los periodos donde las temperaturas son más bajas. Esto se debe en gran medida al alto calor específico que posee el agua y que la convierte en un excepcional amortiguador y regulador de los cambios térmicos. A ello hay que sumarle la generación de calor debido a la aireación inyectada en el tanque de membrana y aireado, y a las reacciones químicas y biológicas que se producen en el sistema. De esta forma las temperaturas del fango rara vez descienden de los 10° C mientras que la temperatura media ambiental pueda llegar a marcar valores de menos de 0° C. Sin embargo, si se tienen en cuenta las temperaturas en los meses estivales, puede verse que las

temperaturas prácticamente se igualan ya que al cambio térmico producido por el ambiente hay que sumarle todos los procesos que generan calor dentro del sistema MBR.

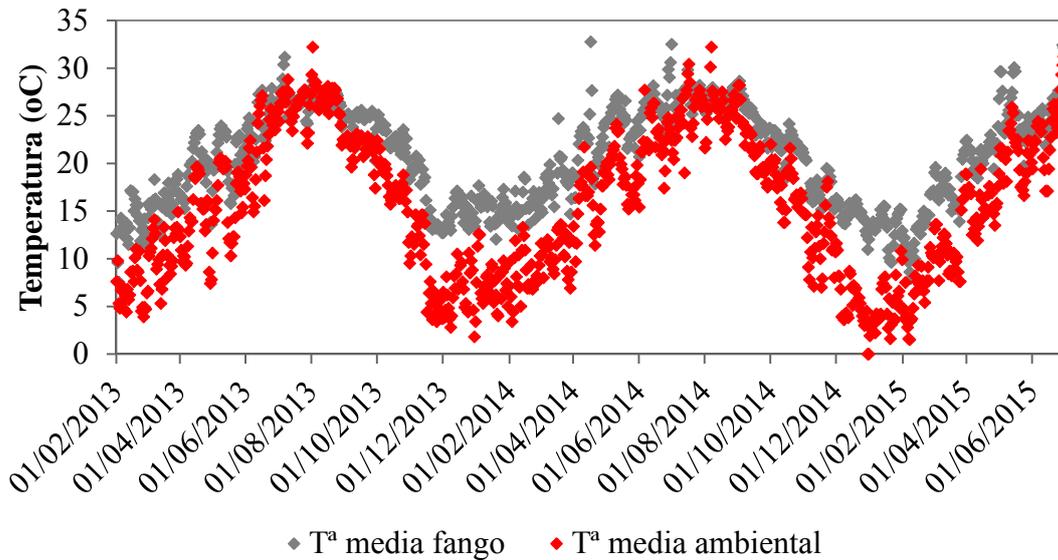


Figura 4.5: Evolución de la temperatura media ambiental y del fango activo

Si se tienen en cuenta las temperaturas máximas y mínimas del fango activo registradas (Figura 4.6), se puede percibir que no hay una gran diferencia térmica entre los dos extremos de temperaturas. Sin embargo, durante la fase experimental se ha alcanzado una temperatura máxima de $34,43^{\circ}\text{C}$ y una mínima de $5,59^{\circ}\text{C}$, lo que implica un rango de temperatura de aproximadamente 30°C . Estas variaciones de temperatura a la largo del periodo de experimentación provocan modificaciones en las características de la biomasa, como es la variación en la concentración de los EPS y SMP. Según diversos autores la temperatura tiene un impacto negativo en la concentración de EPS ya que una disminución de la temperatura aumenta su concentración, pudiendo inducir un ensuciamiento severo de la membrana en los MBR sumergidos (Wang et al., 2009a; Lyko et al., 2007; Rosenberger et al., 2006). Drews et al. (2007) también observaron que un cambio brusco en la temperatura del fango activo podría provocar la liberación espontánea de SMP y aumentar los problemas de ensuciamiento. Abdullah et al. (2010)

concluyeron que cuando la temperatura se aumentaba de 25° C a 45° C el EPS disminuía pero el SMP aumentaba. Zhang et al. (2006c) encontraron el mismo comportamiento en la evolución del SMP y explicaban que el incremento de la concentración de SMP había sido atribuido al incremento de la actividad metabólica de los microorganismos a altas temperaturas.

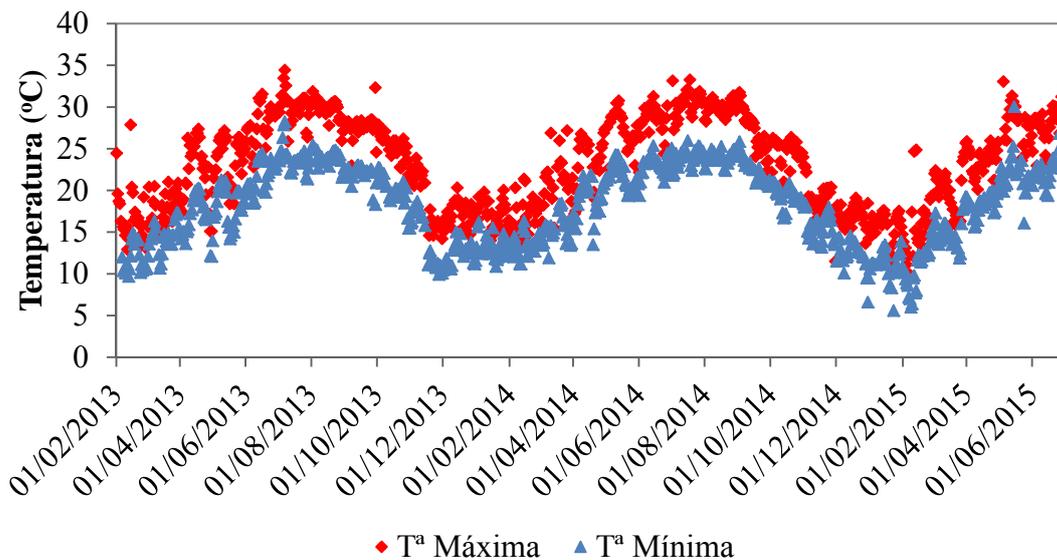


Figura 4.6: Evolución de las temperaturas máximas y mínimas del fango activo

La mayor concentración de EPS a menor temperatura podría explicarse por una mayor producción de sustancias orgánicas solubles (Barker y Stuckey, 1999), probablemente por un cambio en las poblaciones microbianas debido al estrés en microorganismos a bajas temperaturas (Al-Halbouni et al. 2008) y por una reducción de la degradación de estas sustancias debido a consideraciones cinéticas.

La temperatura también influye directamente a la viscosidad del fango activo utilizado en el presente estudio. Una disminución en el valor de la temperatura provoca un aumento en la viscosidad del fango activo y viceversa. Nagaoka (1999) concluye que la viscosidad tiene un gran impacto en la resistencia a la filtración por lo que el aumento

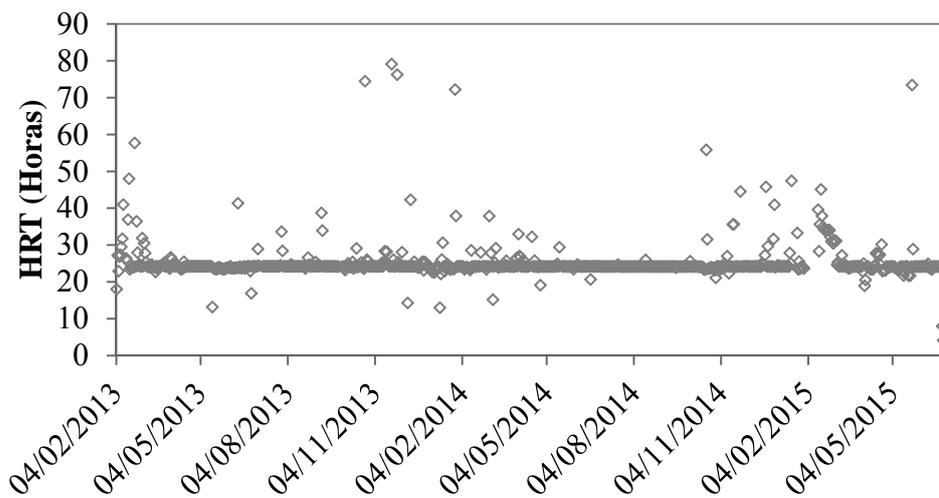
de la TMP es debido, en mayor o menor medida, a la disminución producida en la temperatura.

4.2.2. Análisis de la evolución del Tiempo de Retención Hidráulico (HRT)

El HRT indica la duración que el influente permanece en el sistema MBR antes de permearse por lo que es una variable operacional muy importante en MBRs (Le-Clech et al., 2006; Meng et al. 2009). Esta variable depende del volumen total del sistema y del caudal de entrada a planta. Debido a ello se pueden producir variaciones no controladas que provocan cambios en sus valores. Las fluctuaciones puntuales fueron causadas principalmente por problemas técnicos en el sistema, pérdidas de fango y por el arrastre de aire en la succión del permeado que causaban la modificación del caudal influente. El HRT es una de las variables que puede afectar a la capacidad de depuración de los sistemas MBR por lo que es necesario el constante registro de sus valores para ver cómo evoluciona el sistema con sus fluctuaciones ya que según Brown et al. (2013) y Khan et al. (2013), una disminución en el HRT favorece el crecimiento de la biomasa al producirse un incremento de la carga orgánica disponible.

El HRT también tiene un efecto indirecto sobre el ensuciamiento de la membrana, ya que determina, junto a otros parámetros operativos, las características del fango activo. Multitud de investigaciones coinciden que al disminuir el HRT la tasa de atascamiento de membrana aumenta (Fallah et al., 2010; Shariati et al., 2011) debido a un aumento de la viscosidad del fango activo y de las concentraciones de EPS (Meng et al., 2009). La disminución del HRT estimula la liberación de EPS de las células bacterianas, causa el crecimiento masivo de bacterias filamentosas y la formación de flóculos de gran tamaño e irregulares. Además, la disminución del HRT también provoca un aumento en la concentración de MLSS (Guo et al., 2012; Meng and Yang, 2007). Un estudio realizado por Isma et al. (2014) demostraron que el EPS aumentaba cuando se disminuía el HRT de 20 a 14 días, provocando graves atascamientos en la membrana. Por otro lado se encuentra la investigación realizada por Tay et al. (2003) en el que encontraron que el HRT adecuado para optimizar el rendimiento del sistema MBR era de 12 horas.

Aunque hay fluctuaciones puntuales en los valores de HRT (Figura 4.7), su valor permanece constante en el tiempo con un valor en torno a 24 horas. Las fluctuaciones más representativas tienen lugar en los primeros días del periodo de estudio y en febrero del 2015. Ambos sucesos están identificados por problemas de la rápida colmatación de la membrana. En el primer periodo, se empieza a trabajar con agua bruta lo que provoca un rápido ensuciamiento de la membrana que es solucionado con la disminución del caudal influente. En el segundo periodo se produce la reposición de las membranas y se decide bajar el caudal influente hasta la formación de la torta sobre la membrana. Al bajar el caudal del influente, se reduce automáticamente el caudal permeado por lo que la membrana pasó a trabajar a TMP más bajas. Independientemente de las fluctuaciones en el HRT, este se puede considerar constante durante todo el periodo de investigación, por lo que los resultados obtenidos están condicionados por el alto valor del HRT.



Figura

4.7: Evolución del HRT

4.2.3. Análisis de la evolución del Tiempo de Retención Celular (SRT)

El SRT es una de las variables operacionales más importante en el desarrollo de los sistemas de fangos activos ya que controla en última instancia las características de la

biomasa. Al venir determinado por el volumen total del sistema y el volumen de fango purgado es muy fácil que se produzcan fluctuaciones en su valor debido a pérdidas incontroladas de biomasa. Las pérdidas incontroladas de fango activo provocarán que se pierdan MLSS y que la ratio Alimento / Microorganismos (F/M) se modifique, variando las características de la biomasa. Concretamente, las pérdidas de fango aumentan la ratio F/M ya que hay más disponibilidad de alimento en el sistema. Valores altos de la ratio F/M puede aumentar la concentración de EPS debido a la utilización de los alimentos por los microorganismos (Meng et al., 2007), lo que provocaría un aumento en el ensuciamiento de la membrana (Trussell et al., 2006). Por ello, es de vital importancia controlar las pérdidas de fango y así mantener un ratio F/M en valores bajos.

Las variaciones que se producen en el SRT son muy importantes ya que pueden afectar al ensuciamiento de membrana (Water Environment Federation, 2011). La mayoría de los estudios realizados indican que un aumento en el SRT provoca una disminución en la concentración de EPS ya que la biomasa permanece más tiempo en el sistema (Ahmed et al., 2007; Pan et al., 2010b), provocando condiciones de ausencia de alimento y creando un entorno propicio para la baja formación de EPS (Judd, 2006). Sin embargo, altos valores de SRT no son propicios para el proceso debido a que aumentan el valor de los MLSS y la viscosidad, generando un aumento en el ensuciamiento de la membrana (Jiang et al., 2008). El valor del SRT ha de ser especialmente calculado ya que hay estudios en los que se indica que trabajar a valores de más de 50 días favorece el ensuciamiento (Water Environment Federation, 2011) pero trabajar con valores muy bajos también aumenta significativamente el ensuciamiento de la membrana (Le-Clech et al., 2006). Los bajos SRT aumentan tanto los EPS como los SMP (Meng et al., 2009) y reducen el rendimiento del sistema debido a la baja concentración de biomasa (Meng et al., 2007)

Los problemas operativos que dificultan el control del SRT se trataron de solucionar realizando inicialmente un balance de caudales en la instalación, lo cual permitió conocer el volumen de purga real, el cual fue considerado como una media arrastrada a lo largo de todos los días de operación de la planta con realización de purga. Para los periodos en los que la instalación no realizó purga, el valor de SRT se consideró coincidente con los días de operación transcurridos.

En la Figura 4.8 puede verse la evolución del SRT a lo largo de la fase experimental. Se ve claramente una evolución irregular producida por múltiples pérdidas de fango incontroladas que provocaban la disminución de su valor constantemente lo que alteró los valores que se habían fijado previamente en el estudio. Durante la fase de estudio se ha podido trabajar con un rango de SRT que va desde 1 día al comienzo de la fase experimental, ya que se empezó a operar con agua bruta, hasta 26,1 días que corresponde con un periodo donde se suprimieron las purgas para aumentar la concentración de MLSS rápidamente. En algunos casos las pérdidas de biomasa han sido muy grandes, produciéndose un enorme descenso en los valores de SRT. Son de especial interés 3 sucesos: el primero en Noviembre de 2013 en el que el SRT desciende de 21,5 a 4,5 días, el segundo en Septiembre de 2014 descendiendo el SRT de 25,3 a 3,9 días, y el tercero en Febrero de 2015 en el que el SRT disminuye de 26,1 a 7,6 días.

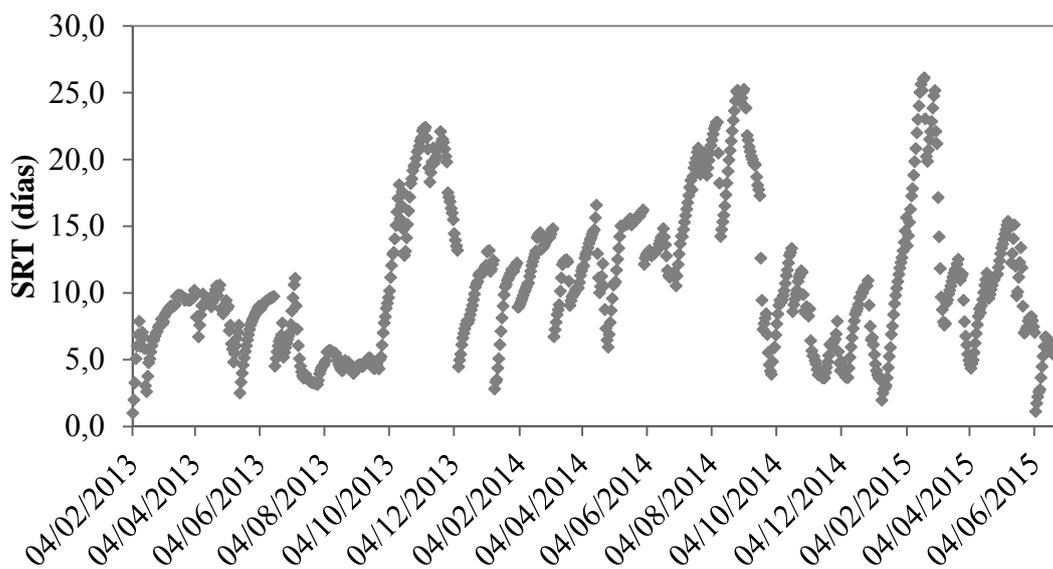


Figura 4.8: Evolución del SRT

Tras el incremento del SRT tras la puesta en marcha se puede observar un periodo más o menos estable con valores próximos a 10 días. También es visible otro periodo entre Agosto y Octubre de 2013 en el que el SRT permanece estable a un valor cercano a 5 días. Estos periodos son muy importantes ya que al tener un valor estable, se puede

estudiar la influencia de las demás variables en las características de la biomasa sin tener en cuenta las variaciones de SRT.

En determinadas ocasiones fue necesario eliminar la purga diaria y poder así aumentar la edad del fango más rápidamente y con ello la concentración de MLSS. Esta medida fue necesaria ya que en determinados momentos se trabajaba a unos niveles de MLSS por debajo de los recomendados por el fabricante de membranas. Los periodos en los que no se han establecido purgas diarias han sido dos: el primero desde finales del mes de Septiembre hasta principios de Noviembre del 2013, y el segundo va desde finales del mes de enero hasta finales del mes de Febrero del 2015. El último periodo coincide con grandes pérdidas de fango que conllevaron a la inutilización de las membranas, teniendo que ser reemplazadas el día 13 de Febrero del 2015.

4.2.4. Análisis de la evolución de las características del influente

Las aguas residuales urbanas (ARU) se caracterizan por tener una gran variabilidad en cuanto a la concentración y al volumen generado. La composición y volumen de las ARU varía tanto a lo largo del día, como semanal o estacionalmente, lo que conlleva a que el influente presente características muy variables en base a la carga contaminante. Las características de las ARU dependerán de las actividades llevadas a cabo de la ciudad de la que se recoge el agua, de las características ambientales, de las redes de saneamiento utilizadas, de las variaciones de consumo de agua y de la infiltración o exfiltración de agua en conducción, etc (Henze et al., 2008).

La correcta caracterización del agua de entrada es de vital importancia ya que es un parámetro que va a condicionar el funcionamiento del sistema. Es por ello que durante toda la investigación se han realizado análisis diarios de muestras compuestas de influente de DQO, sólidos en suspensión e hidrofobicidad relativa.

4.2.4.1. Análisis de la evolución de la DQO en el influente

En la figura 4.9 se puede ver la evolución de la concentración de DQO total y soluble del influente. En ella se aprecia que hay una gran variabilidad de los valores registrados durante toda la fase experimental, presentando un valor medio de DQO total de $917,72 \pm 348,04$ mg O₂/L y de DQO soluble de $133,57 \pm 94,76$ mg O₂/L. La variabilidad en la carga contaminante puede ser debida a que en el pozo de entrada de la EDAR Sur de la ciudad de Granada recibe los reboses de diferentes procesos unitarios de la estación depuradora tales como espesado, digestión anaeróbica y secado. A parte también recibe vertidos externos traídos a la EDAR mediante camiones cisterna que corresponden a fosas sépticas, lixiviados y de aguas residuales procedentes de limpiezas de sistemas públicos de saneamiento. Todos estos vertidos hacen que la carga contaminante del agua residual empleada en la fase experimental pueda tener determinadas fluctuaciones debido a que son flujos que presentan grandes cargas contaminantes en muchos de sus componentes, como por ejemplo en la DQO, en la que en los lixiviados pueden llegar a alcanzar los 16000 mgO₂/L, en el fango de fosas sépticas los 90000 mgO₂/L, en los sobrenadantes anaeróbicos los 9000 mgO₂/L o en el agua de secado de fango los 4000 mgO₂/L. Éstas contaminaciones se repiten de forma análoga para características como la DBO₅ y los sólidos en suspensión (Henze et al., 2001; Henze et al., 2008). Debido a ello, la carga contaminante aumentará significativamente cuando se produzcan estos vertidos y provocarán grandes fluctuaciones en sus registros.

Además de la amplia variabilidad en la carga contaminante, los valores son bastante más elevados en comparación con los habituales para aguas residuales urbanas ya que estas tienen unas concentraciones normales en torno a 500 – 600 mg O₂/L (Ronzano y Dapena, 1995), Según Henze et al. (2008), la carga contaminante registrada podría clasificarse como una contaminación media-alta para un agua residual urbana. En algunos muestreos se recogen valores muy cercanos a las concentraciones normales pero hay otros en los que su valor se duplica, o incluso se triplica. Durante los meses anteriores y posteriores a las paradas de verano fue cuando se registraron valores más altos de DQO total con registros superiores a 1500 mg O₂/L. Según Ronzano y Dapena, (1995), Orhon et al. (1997) y Henze et al. (2008) estos valores podrían ser consecuencia de alguna de las siguientes causas:

- Consumo bajo de agua en la ciudad que provoca una menor dilución en zonas con poco aporte de agua de lluvia.
- Pérdidas de parte del agua en las conducciones que se vierten en el terreno.
- Posibles vertidos industriales con actividades que generan altos grados de contaminación a la red urbana de saneamiento, bien por descargas puntuales o por vertidos continuos.

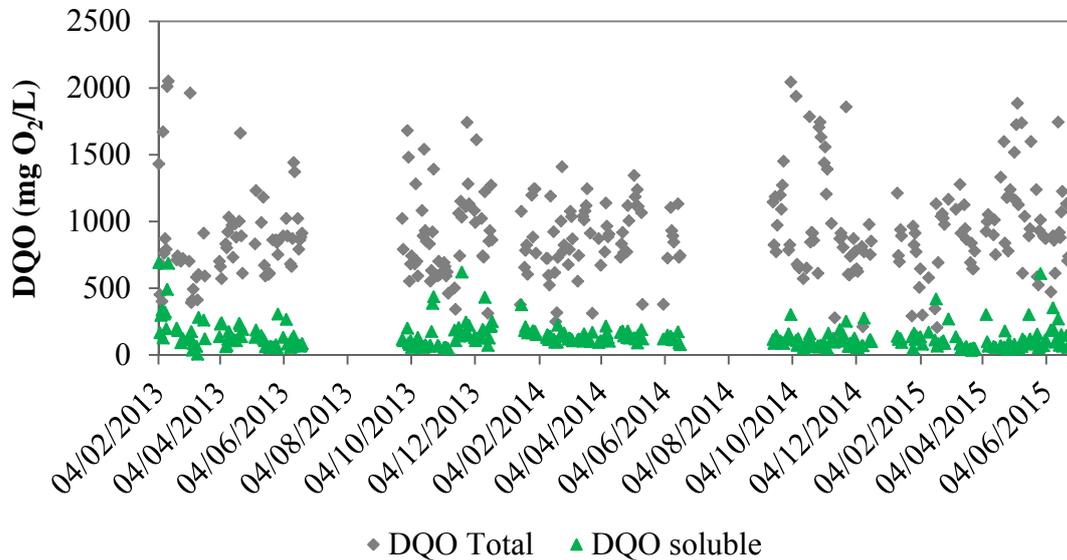


Figura 4.9: Evolución de la concentración de DQO total y soluble del influente

Al contrario de la DQO total, la DQO soluble se mantiene sin variaciones bruscas a lo largo de toda la fase experimental. Es por ello que se puede deducir que las fluctuaciones producidas en la DQO del influente se deben en su mayoría a variaciones de la fracción particulada.

El porcentaje de DQO soluble y particulada están representados en la Figura 4.10. A lo largo del periodo de análisis se han registrado unos valores medios para la DQO soluble de $16,20 \pm 11,69$ % y de $83,80 \pm 11,69$ % para la DQO particulada, con porcentajes máximos de 83,58 y 98,54 y mínimos de 1,46 y 16,42 respectivamente. Los valores

obtenidos no están entre los valores habituales de un agua residual tipo ya que según Ronzano and Dapena (1995) esta tiene unos valores de DQO particulada y DQO soluble de 37,1 y 62,9 % respectivamente.

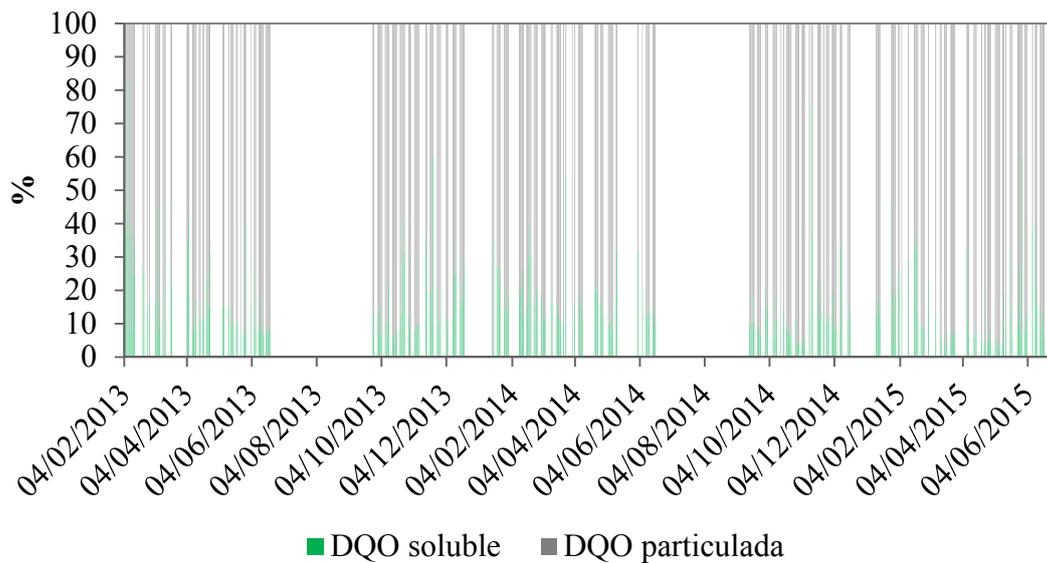


Figura 4.10: Evolución del porcentaje de DQO soluble y particulada

Con los porcentajes obtenidos se puede conocer el porcentaje de partículas que entran el sistema con un tamaño determinado. Como para medir la DQO soluble se ha filtrado la muestra por un filtro de $0,45 \mu\text{m}$, todas las partículas analizadas en esta muestra serán menores a $0,45 \mu\text{m}$ mientras que para las de la DQO particulada serán mayores a $0,45 \mu\text{m}$. Según Rudolfs and Balmat (1952) las partículas en aguas naturales y aguas residuales se pueden clasificar en:

- Sólidos sedimentables: $> 100 \mu\text{m}$.
- Sólidos supra-coloidales: de $1 \mu\text{m}$ a $100 \mu\text{m}$.
- Sólidos coloidales: de $0,001 \mu\text{m}$ (10 \AA) a $1 \mu\text{m}$.
- Sólidos disueltos: $<10 \text{ \AA}$

Esto nos indica que hay una menor aportación de partículas coloidales o disueltas que tienen un tamaño muy próximo al tamaño de exclusión de la membrana utilizada. En términos de mecanismos de ensuciamiento, los materiales solubles y coloidales son responsables del bloqueo de los poros de la membrana, mientras que los sólidos en suspensión representan principalmente la resistencia de la capa de torta (Itonaga et al., 2004). Es por ello que el influente utilizado favorecerá más al desarrollo de sólidos en suspensión en el sistema y por lo tanto a la formación de la torta. La contribución al sobrenadante de la biomasa (solubles y coloides, generalmente definidos como SMP) será menor por lo que habrá un menor aporte de sustancias que favorezcan al ensuciamiento de la membrana. Teniendo en cuenta que esta fracción influye entre un 17 % (Bae and Tak, 2005) y un 81 % (Itonaga et al., 2004) en el ensuciamiento de la membrana, se considera el influente utilizado como menos perjudicial que el influente estándar definido por Ronzano and Dapena (1995).

Como el caudal de entrada a planta se mantuvo constante a lo largo del periodo de análisis, fue necesario evaluar las características del influente mediante el análisis de la carga orgánica volumétrica (COV). Los valores de carga contaminante se han definido como carga orgánica volumétrica, expresada en Kg DQO/d m³ y cuyos resultados están representados en la Figura 4.11. Hay una gran variabilidad de COV a lo largo del periodo de estudio pero se observa que los valores más bajos pertenecen a los análisis realizados en los meses que corresponden a la estación invernal y los más altos a los realizados tras ambos parones estivales.

La COV es uno de los parámetros más importantes que afectan al funcionamiento de los sistemas biológicos de tratamientos de aguas residuales (Tay et al., 2009). Zhang et al (2010) investigaron el efecto que tenía el COV variable sobre el ensuciamiento de la membrana. Para ello utilizaron dos MBR idénticas, una con COV constante y otra con COV variable. Informaron que el ensuciamiento de la membrana durante el periodo de arranque en el MBR alimentado con COV variable fue más significativo que el MBR alimentado con COV constante. Sin embargo, cuando se estabilizaban ambos MBR, la tendencia al ensuciamiento se invirtió claramente, produciendo menos ensuciamiento el MBR con COV variable. Otro estudio realizado por Johir et al. (2012) se centró en investigar el efecto que tiene la subida del COV de 0,5 a 3,0 Kg COD/m³ día sobre el

ensuciamiento de la membrana, concluyendo que las mayores tasas de incrustaciones se producían a COV más altas, en las que había mayor cantidad de sustancias hidrófilas.

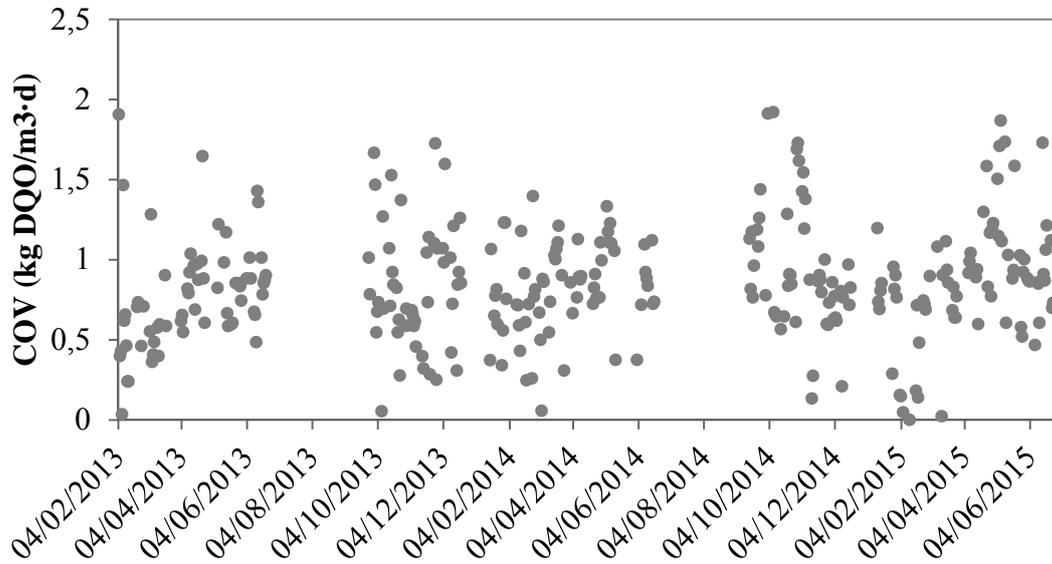


Figura 4.11: Evolución de la Carga Orgánica Volumétrica por DQO

4.2.4.2. Análisis de la evolución de los Sólidos en Suspensión en el influente

Otra de las características más significativas del ARU es la concentración de sólidos en suspensión ya que puede afectar considerablemente al proceso biológico y al rendimiento del sistema MBR.

En la Figura 4.12 se ha representado la evolución de los SST y de los SSV del influente. Estos valores han seguido la misma evolución que la DQO, es decir, se producen fluctuaciones a lo largo del periodo de estudio pero los registros más altos se han producido en los meses previos o anteriores a la estación estival. Los resultados medios obtenidos para los TSS y los VSS durante todo el periodo de estudio fueron de $1228,67 \pm 605,37$ mg/L y $978,77 \pm 452,86$ mg/L respectivamente. Se obtuvieron unos valores máximos de TSS de 3980 mg/L y de VSS de 3280 mg/L, y unos mínimos de 100 mg/L para TSS y de 80 mg/L para VSS. Según la composición típica de ARU de Metcalf and

Eddy (1995), tanto los valores obtenidos para TSS como para VSS superan los valores altos de un ARU tipo. La diferencia entre valores máximos y mínimos demuestra una vez más la gran variabilidad del influente con el que se ha trabajado.

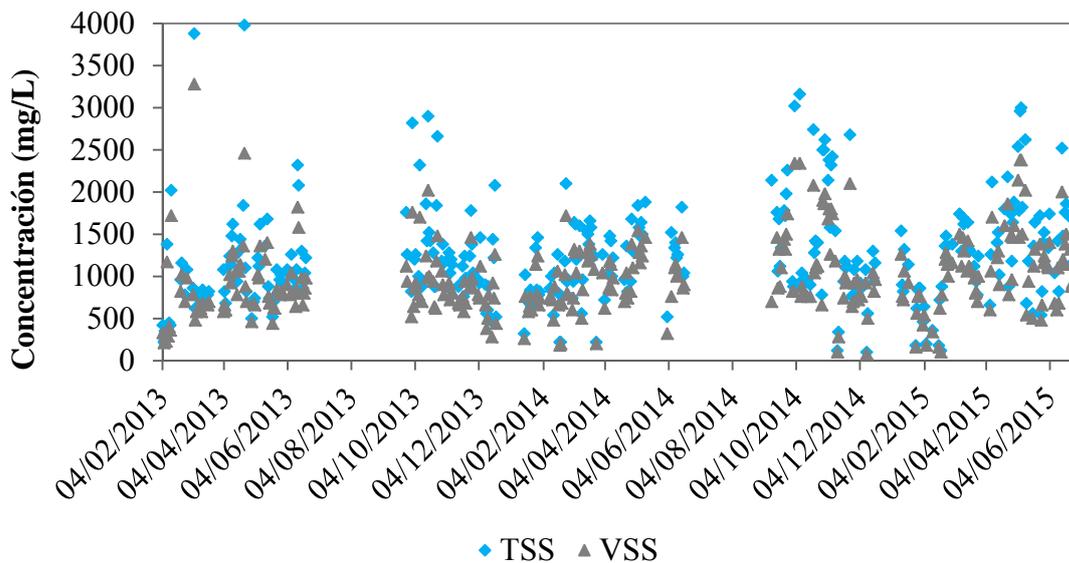


Figura 4.12: Evolución de los sólidos en suspensión en el influente

Las características del fango activo, en lo que se refiere al ratio SSV/SST, vienen determinadas por el patrón que presenta las características del influente que llega a la instalación (Arévalo, 2011), ya que cuando el influente posee concentraciones de materia orgánica más elevadas el porcentaje de sustancias volátiles del fango activo también será más elevado (Kneer et al., 2011) y viceversa (Huang et al., 2001). Debido a ello, se ha realizado una representación de la evolución de los porcentajes de sustancias volátiles del influente utilizado a lo largo del tiempo (Figura 4.13). Se ha obtenido un valor medio de la fracción orgánica del influente de $81,12 \pm 7,75$ %. Este valor se ha mantenido más o menos constante a lo largo de casi todo el periodo de estudio, a excepción del periodo que va desde Septiembre de 2013 hasta Diciembre del mismo año donde los valores descendieron a valores en torno 60 – 70 %.

Según lo expuesto anteriormente, el fango activo utilizado en la fase de análisis tendrá una relación directa con el influente ya sea en la fracción volátil o en la fracción particulada (Munz et al., 2008). Esta relación refleja la importancia de trabajar con ARU reales en la investigación ya que las aguas residuales sintéticas no representan las variaciones producidas por las anteriores (Van Nieuwenhuijzen et al., 2008) y por lo tanto no se podrán observar sus efectos en el sistema.

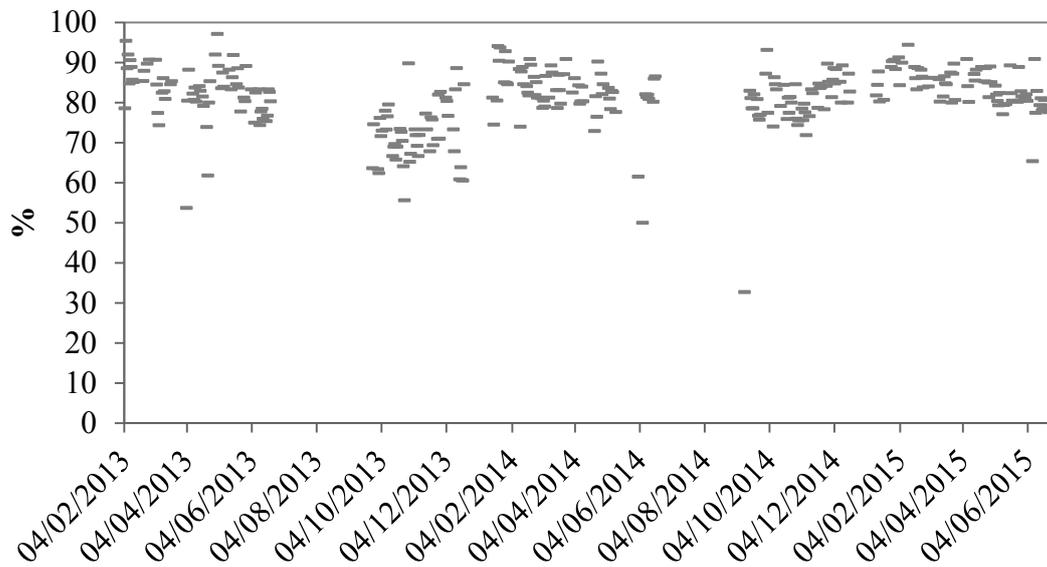


Figura 4.13: Evolución del porcentaje de VSS en el influente

Como en el caso de la DQO, se ha seguido la evolución de la carga orgánica volumétrica en función de los SSV del influente (Figura 4.14). Al igual que en la evolución de los SSV, los valores fluctúan a lo largo del periodo de análisis, situándose los valores máximos en los registros cercanos a los meses de verano. Se obtiene un valor medio de $0,92 \pm 0,45$ Kg VSS/m³·d y un valor máximo y mínimo de 2,44 y 0,2 Kg VSS/m³·d respectivamente.

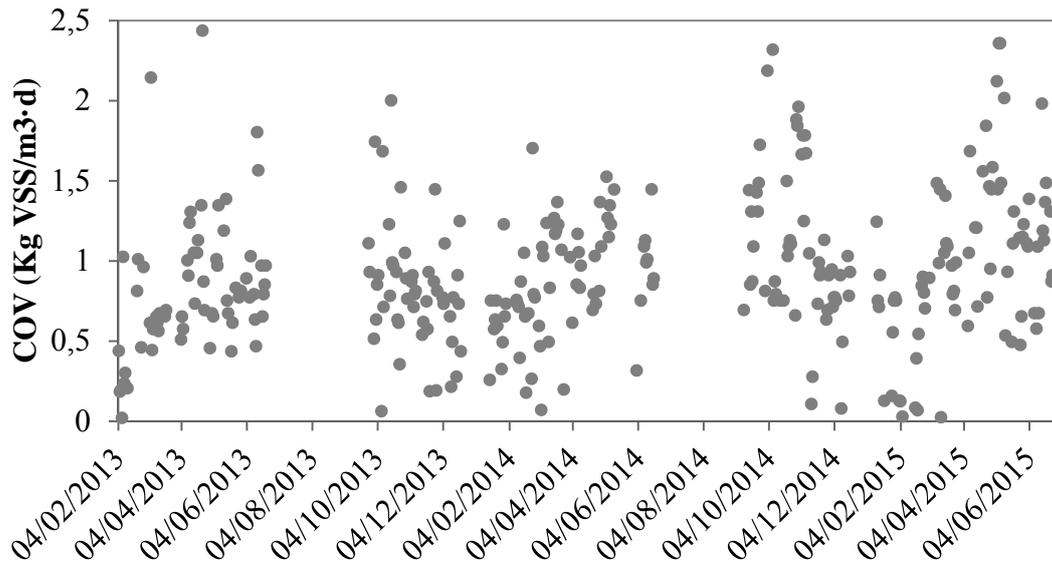


Figura 4.14: Evolución de la Carga Orgánica Volumétrica por VSS

El contenido en compuestos orgánicos del influente es muy influyente en las características de la biomasa del fango activo ya que se produce una acumulación de materias volátiles en la misma proporción en la que están en el influente (Huang et al., 2001; Knerr et al., 2011). Según un estudio realizado por Liu and Fang (2002) mediante microscopía confocal de barrido láser (CLSM), en 1 g SSV había 536 mg de EPS, lo que indica que más de la mitad de las sustancias orgánicas son EPS. En base a esto, el contenido en compuestos orgánicos en el agua bruta es muy importante ya que definirá la composición de EPS del fango activo y por lo tanto la tendencia al ensuciamiento de membrana.

4.2.4.3. Análisis de la evolución de la Hidrofobicidad Relativa (HR) en el influente

El análisis de la HR es muy importante en los sistemas MBR ya que las interacciones hidrofóbicas que ocurren entre los solutos, las células microbianas y el material de membrana pueden afectar a las membranas, siendo más severo en las membranas hidrófobas que en las hidrófilas (Madaeni et al 1999, Yu et al., 2005; Chang and Lee, 1998). Esto se debe a que cuanto más hidrófilo el material de la membrana, menor es la

adsorción de macromoléculas que existen en las aguas residuales, tales como proteínas. Los materiales hidrófobos, por otro lado, tienden a adsorber sustancias hidrofóbicas en las aguas residuales, dando como resultado incrustaciones (Iorhemen et al., 2016). Según Judd (2011), aunque el efecto directo de la hidrofobicidad del fango sobre el ensuciamiento de membrana es difícil de evaluar, su relación ha sido puesta de manifiesto por Jang et al. (2005a, b, 2006).

Dada la importancia de este parámetro, se ha realizado una representación de la evolución de la hidrofobicidad relativa del agua de alimentación (Figura 4.15) ya que el fango activo con el que se ha trabajado dependerá en gran medida de ella, obteniéndose un valor medio del periodo de estudio de $35,30 \pm 9,29$ % por lo que el influente tiene una composición de sustancias mayoritariamente hidrofílicas. Los resultados han fluctuado durante toda la investigación, registrándose un valor máximo de 59,78 % y un valor mínimo de 9,80 %. A partir del mes Abril de 2013 puede verse una evolución que se repite a lo largo del periodo de análisis, con porcentajes altos en los meses más calurosos y más bajos en los meses con temperaturas más bajas.

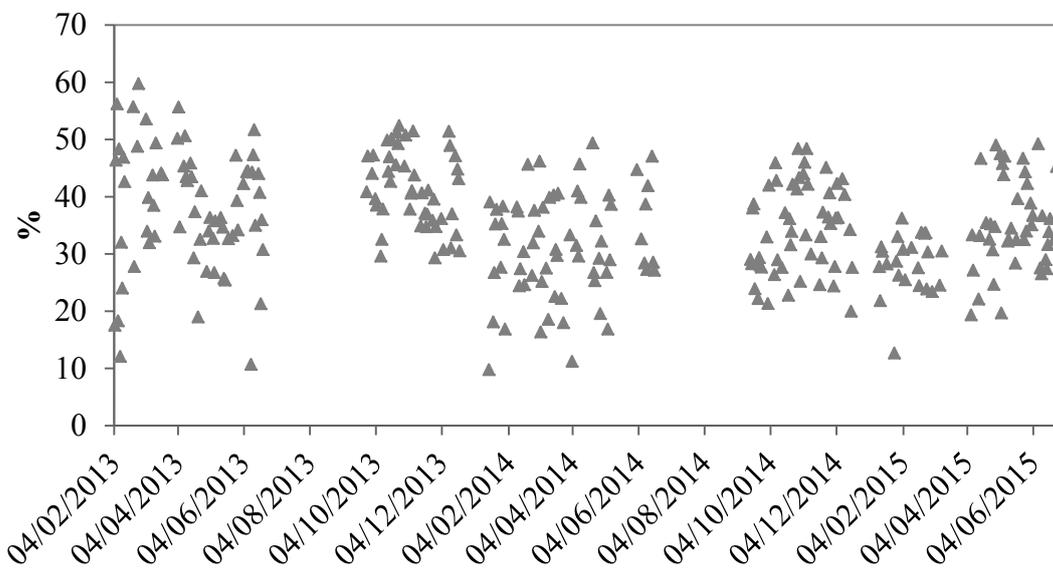


Figura 4.15: Evolución de la hidrofobicidad relativa del influente

Para un mejor conocimiento de este parámetro se ha realizado su correlación con el porcentaje de las diferentes fracciones estudiadas para el influente. Se ha utilizado la DQO soluble para la fracción soluble, la DQO particulada para la fracción particulada, los SSV para la fracción orgánica y la diferencia entre SST y SSV, es decir la parte inerte, como la fracción inorgánica. Como se puede observar en la Figura 4.16, no hay ningún tipo de relación entre la hidrofobicidad relativa con la fracción soluble, particulada y orgánica. Sin embargo, aunque no hay una correlación significativa ($R^2 = 0,0623$), sí se puede observar una tendencia positiva entre la hidrofobicidad relativa y la fracción inorgánica del influente ya que se produce un aumento en la hidrofobicidad a medida que aumenta la fracción inorgánica. Según estos resultados la fracción inorgánica es la que confiere hidrofobicidad a la muestra por lo que esta fracción es la que aportará hidrofobicidad al fango activo. La presencia de sustancias inorgánicas (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , OH^- , etc.) en el fango activo puede dar lugar a precipitaciones sobre la membrana provocando su ensuciamiento (Wang et al., 2008, 2014). Sin embargo hay sustancias, como es el caso del ión metálico Ca^{2+} , que en cantidades moderadas (hasta 280 mg/L) pueden ser beneficiosas para controlar y mejorar el bioensuciamiento debido a la unión y puenteo con el EPS, mejorando la biofloculación (Arabi and Nakhla, 2008). En un estudio realizado por Kim and Jang (2006) se demostró que bajo concentraciones óptimas de Ca^{2+} la resistencia debida al bloqueo de poros de la membrana se redujo al disminuir la hidrofobicidad del SMP. Es por ello que es necesario contrastar este resultado con los análisis de hidrofobicidad relativa realizados en el fango activo usado en la fase experimental.

4.3. EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS OPERACIONALES

4.3.1. Evolución de los MLSS y MLSSV

Los valores tanto de MLSS como de MLSSV sufrieron variaciones a lo largo de periodo experimental. Principalmente fueron motivadas por la variabilidad de la COV del caudal influente y por las pérdidas incontroladas de fango, por las que sus concentraciones se veían reducidas.

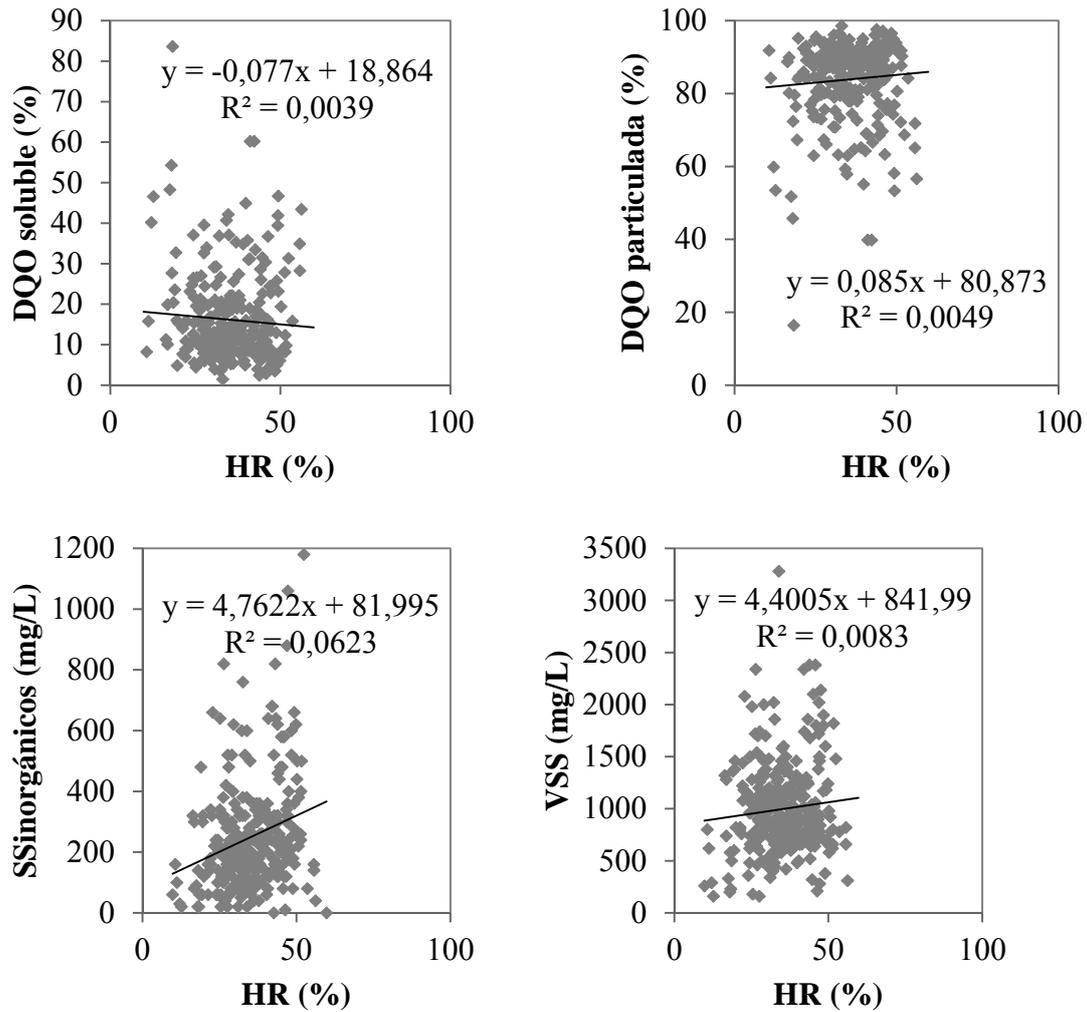


Figura 4.16: Correlaciones entre HR fracción soluble (arriba a la izquierda), HR y fracción particulada (arriba a la derecha), HR y fracción inorgánica (debajo a la izquierda), y HR y fracción orgánica (debajo a la derecha)

En la Figura 4.17 se representa la evolución de MLSS y MLSSV. Puede verse que hay fluctuaciones, siendo la más representativa el aumento producido en Octubre de 2013 debido a que se perdió una gran cantidad de fango activo y se paró la purga para que aumentaran los MLSS rápidamente. Durante el periodo de estudio, se trabajó con una concentración media de MLSS de $3,96 \pm 2,00$ g/L y de MLSSV de $2,97 \pm 1,40$ g/L. Los MLSS tuvieron una concentración máxima y mínima de 10,00 g/L y 0,35 g/L respectivamente, mientras que los MLSSV tuvieron unos picos máximo y mínimo de 6,57 g/L y 0,30 g/L respectivamente.

Si se tiene en cuenta el porcentaje de sustancias volátiles presentes en el fango, se ha trabajado con un porcentaje medio de $76,28 \pm 5,18 \%$, con un porcentaje máximo de $92,10 \%$ y un porcentaje mínimo de $41,74 \%$. Según los datos obtenidos, mas de 3/4 partes del fango son de origen orgánico por lo que habrá una cantidad de EPS en el medio, ya que según Liu and Fang (2002) más de la mitad de la fracción orgánica en el fango activo está compuesta por EPS.

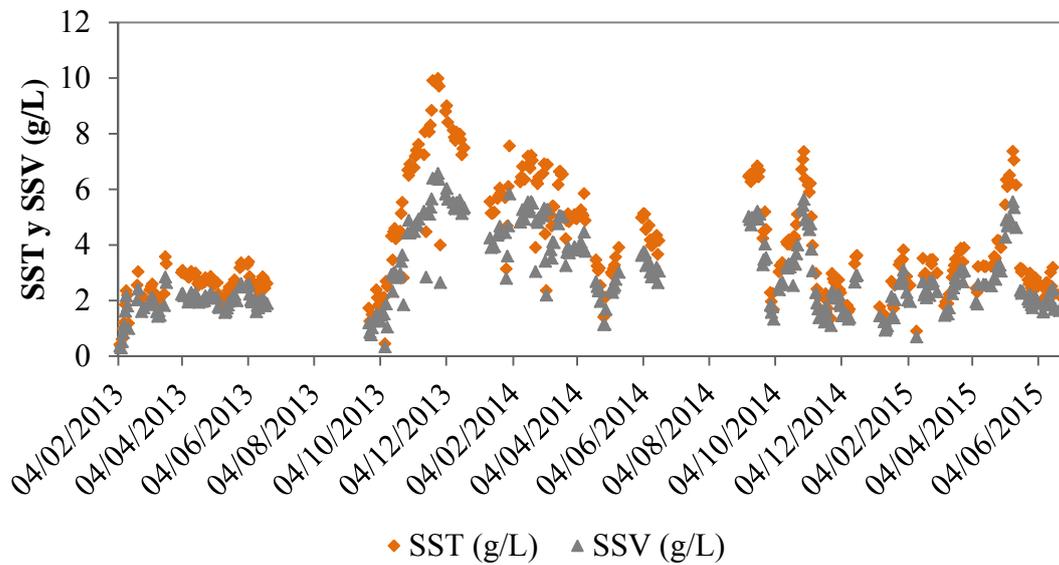


Figura 4.17: Evolución de los MLSS y MLSSV

La concentración de MLSS tiene una relación directa con el SRT, aumentando la concentración de MLSS conforme se aumenta el SRT (Hait and Tare, 2011; Huang et al., 2001). Dado que los aumentos de SRT suponen un descenso en el volumen de fango activo purgado, a una menor purga habrá una mayor acumulación de sólidos en los reactores. Como se observa en la Figura 4.18 la evolución de MLSS y SRT es prácticamente similar a excepción del periodo en el que se cambiaron las membranas (13 Febrero del 2015) en el que hay un aumento del SRT pero no hay aumento de los MLSS. Esto se debe a que en ese periodo se modificó el HRT con el que se estaba trabajando, aumentando su valor. Wen et al. (1999) desarrollaron una ecuación afectada por el HRT y SRT para definir la concentración de MLSS, de modo que a mayor HRT,

menor MLSS y a mayor SRT mayor MLSS. En este periodo hay un aumento del HRT y del SRT por lo que el MLSS solo sufre un pequeño aumento en su concentración.

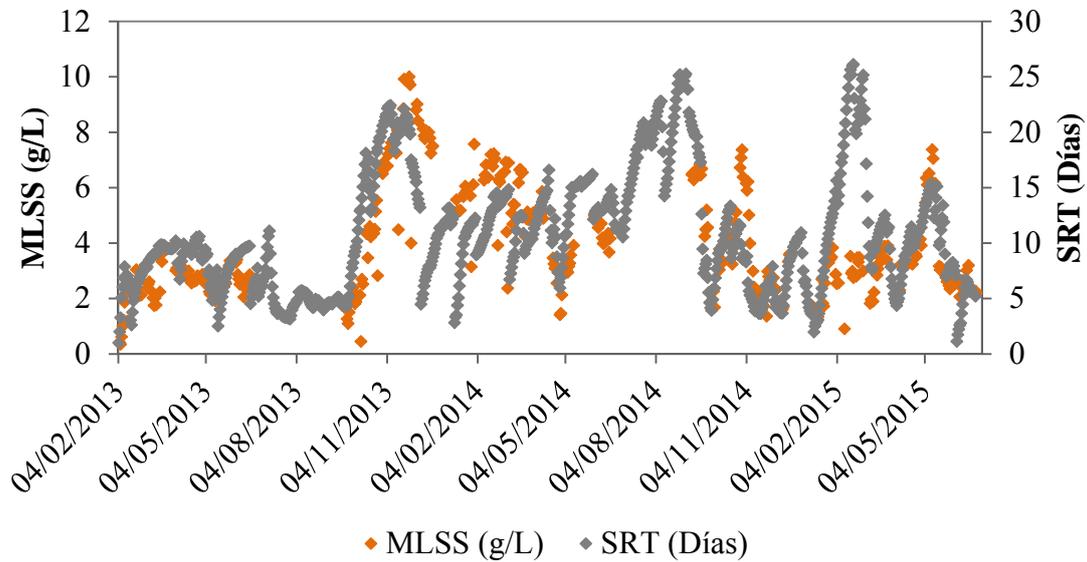


Figura 4.18: Evolución conjunta de los MLSS y SRT

Para comprobar la relación existente entre los MLSS y el SRT se ha realizado un estudio de correlación entre ambos parámetros, obteniendo un valor de $R^2 = 0,2878$ (Figura 4.19). Aunque no es un valor muy alto, teniendo en cuenta que la gran cantidad de muestras es muy representativa, se puede establecer una relación directa entre MLSS y SRT ya que al aumentar los valores de SRT los valores de MLSS aumentan y viceversa.

4.3.2. Evolución de la Presión Transmembrana (TMP)

La TMP se define como la diferencia de presión entre los dos lados de una membrana. Es una medida valiosa porque describe la cantidad de fuerza que se necesita para hacer pasar el fango a través de la membrana. Una TMP baja es propia de una membrana

limpia y que funciona correctamente. Por otro lado, una TMP alta podría indicar que la membrana esta sucia y tendrá la capacidad de filtrado reducida.

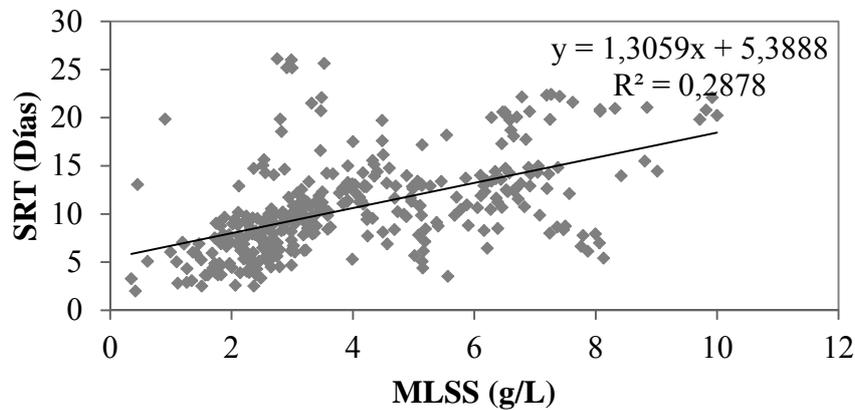


Figura 4.19: Correlación entre MLSS y SRT

A lo largo de la investigación se han registrado los valores de la TMP para determinar su evolución y ver cómo las diferentes condiciones de trabajo afectan en sus valores. Se ha trabajado con flujos hidráulicos bajos, manteniendo un valor medio de operación en torno a $9 \text{ L/m}^2\cdot\text{h}$ y no sobrepasando nunca los $13 \text{ L/m}^2\cdot\text{h}$. Estos valores han sido inferiores al valor nominal marcado por el fabricante por lo que no se ha forzado la membrana. Al operar a flujos hidráulicos bajos se evita que los resultados obtenidos se vean influenciados por la membrana ya que al trabajar con valores bajos se consigue un menor grado de ensuciamiento (Le-Clech et al., 2006).

Se ha trabajado con ciclos de nueve minutos, ocho minutos en producción y uno en relax. Como puede verse en la Figura 4.20 la TMP comienza desde presiones bajas cuando la membrana está en relax y va subiendo ligeramente hasta alcanzar un valor medio. Tras el tiempo de filtración se produce una nueva parada de un minuto de duración en el que la TMP desciende a los valores que determina la presión ejercida por la altura de la lámina de agua en el reactor de membranas. La instalación experimental no realiza contralavados, lo que permite generar una capa de depósitos que ayudará al

proceso de filtración realizado por la membrana al no dejar expuestos los poros de la membrana.

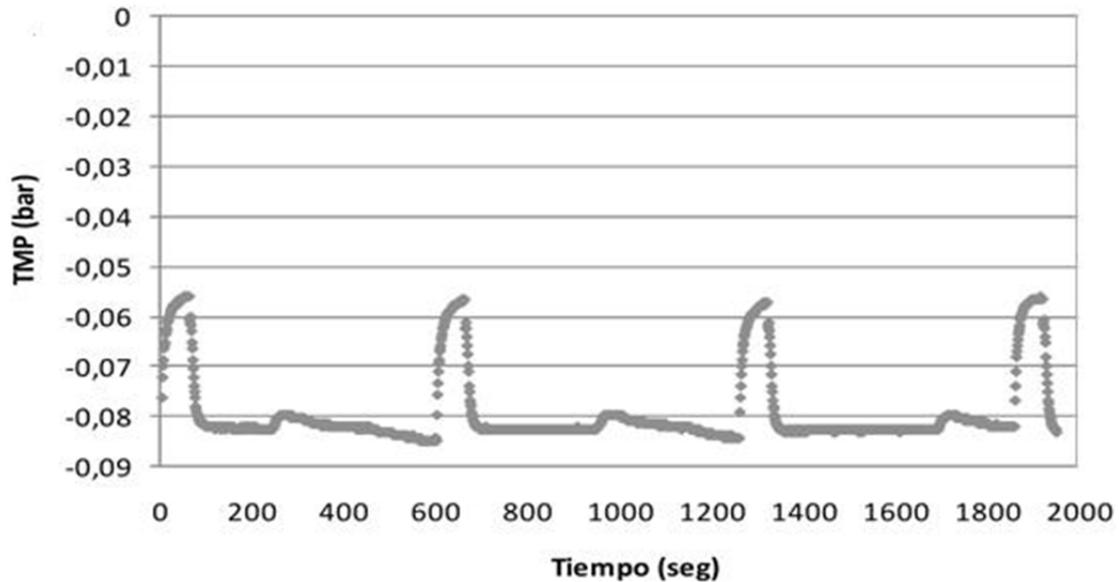


Figura 4.20: Evolución de la TMP durante los ciclos de filtración

Los datos de TMP se registran mediante el medidor de TMP instalado que envía los datos al SCADA constantemente, por el cual se puede obtener un dato mínimo, medio y máximo diario. De esta manera se puede representar la evolución de la TMP máxima y mínima (Figura 4.21), y la evolución de la TMP media (Figura 4.22) a lo largo del tiempo y hacer un estudio de las variaciones producidas por la modificación de las variables operacionales en sus valores.

La Figura 4.21 representa la evolución de la TMP mínima y máxima que se han registrado durante la fase de experimentación. En ella se puede observar como la TMP mínima se mantiene casi constante en el tiempo a un valor de -0,05 bar, siendo este el valor en periodo de relax de las membranas. Se han registrado fluctuaciones en su valor debido a problemas técnicos en los que la filtración se para, como los ocurridos a final del periodo de estudio en los que el nivel del tanque de membrana estaba por debajo del mínimo establecido. La TMP máxima registra diversas variaciones a lo largo del

periodo experimental. Los valores máximos están muy cerca de los -0,25 bar debido a que éste es el valor crítico de TMP establecido en el sistema. Cuando se llega a este valor umbral, la planta para la filtración automáticamente quedando el sistema en parada de protección.

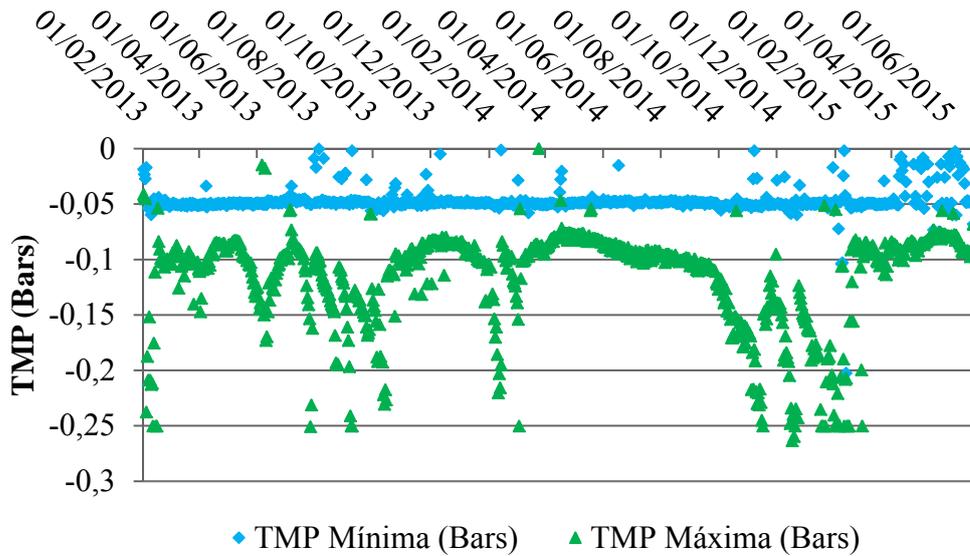


Figura 4.21: Evolución de la TMP mínima y máxima

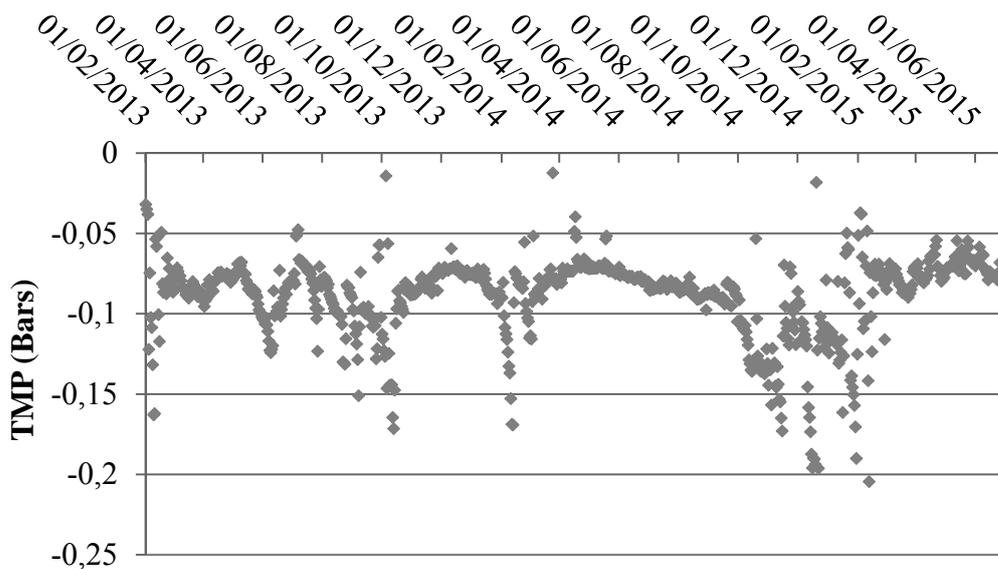


Figura 4.22: Evolución de la TMP media

Como se puede observar en la Figura 4.22 hay una evolución irregular en los valores de la TMP media a lo largo de la fase de estudio. Durante todo el periodo en el que se han registrados valores de TMP, se han producido varias pérdidas de biomasa en el sistema lo que provocaba que se trabajara a SRT muy bajos y por lo tanto con unos niveles de MLSS por debajo de los establecidos por el fabricante. A excepción de la primera subida de TMP a los 10 días de comenzar la fase experimental, siempre que se ha superado el umbral de alarma de la TMP (-0,15 bars) ha sido necesario realizar una limpieza química con hipoclorito sódico. Es de especial interés el periodo de estudio que va desde Octubre del año 2014 a Febrero de 2015. En este periodo hubo varias pérdidas de biomasa muy seguidas que provocaron un descenso en el SRT, pudiendo afectar al ensuciamiento de la membrana. Se intentó realizar varias limpiezas de membrana con hipoclorito sódico sin éxito. También se realizaron dos limpiezas externas de las membranas, la primera de ellas dejando las membranas en remojo in situ durante 4 horas con hipoclorito sódico y la segunda dejando las membranas en remojo in situ durante toda la noche con hipoclorito sódico y NaOH. A pesar de los intentos realizados por recuperar las membranas, el día 13 de Febrero de 2015 se tuvieron que reemplazar debido a su severo ensuciamiento. En la Figura 4.23 es posible ver el estado de las membranas que se habían cambiado. A partir de la reposición de las membranas se puede observar como la TMP permaneció más o menos estable.



Figura 4.23: A la izquierda: membrana plana de microfiltración cambiada por ensuciamiento irreversible, a la derecha: membrana plana de microfiltración nueva

En la Figura 4.24 se ha representado conjuntamente la evolución de la concentración de MLSS con la evolución de la TMP. Puede observarse que en los periodos donde hay una concentración de MLSS menor a 2 g/L se produce un aumento en el valor de la TMP hasta valores por encima del nivel de alarma, llegando en alguna ocasión a valores de TMP medios cercanos a -0,20. En los periodos donde la TMP media ha superado el umbral de alarma, la TMP máxima diaria ha alcanzado el umbral crítico fijado en el que la planta automáticamente para la filtración (-0,25 bars).

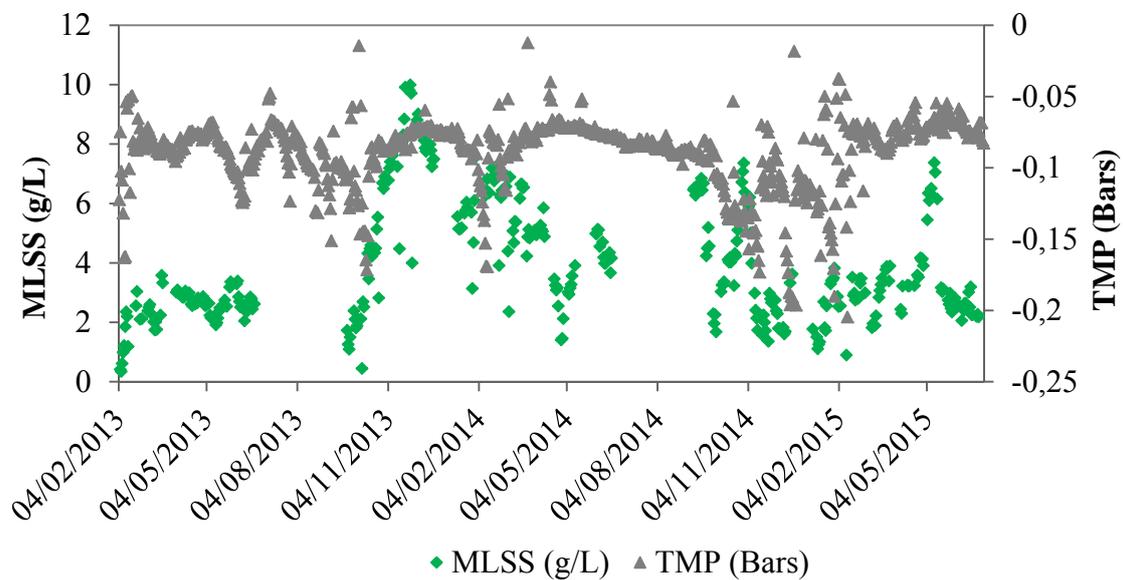


Figura 4.24: Evolución de los MLSS y TMP media

La influencia que tiene los MLSS en la TMP ha creado una gran controversia entre los investigadores ya que su interacción con el ensuciamiento de la membrana es bastante compleja. Normalmente se considera que el aumento de la concentración de MLSS influye negativamente en la TMP (Cicek et al., 1999; Chang and Kim, 2005). Sin embargo existen otros autores que, o no han encontrado ningún tipo de influencia de los MLSS en el ensuciamiento (Hong et al., 2002; Lesjean et al., 2005) o incluso encuentran influencias positivas respecto a la TMP (Brookes et al., 2006; Arévalo, 2011), es decir, que la TMP disminuye cuando los MLSS aumentan.

La concentración de MLSS tiene un efecto en el ensuciamiento de la membrana y ha sido considerada frecuentemente como el principal componente de las impurezas (Le Clech, 2006). La mayoría de los estudios afirman que un aumento de la concentración de MLSS tiene un impacto negativo (mayor TMP o menor flujo hidráulico) en las prestaciones hidráulicas del MBR (Chang and Kim, 2005; Cicek et al., 1999). Wu y Huang (2009) observaron que al operar a concentraciones de MLSS por encima de 10 g/L aumentó considerablemente la viscosidad, lo que a su vez afectó a la filtrabilidad. En el presente estudio no se ha podido demostrar que los MLSS tengan una relación con la TMP y por lo tanto con el ensuciamiento, ya que se ha realizado un estudio de su relación lineal, obteniendo un valor de correlación entre ellos de 0,0083 (Figura 4.25). El resultado obtenido es respaldado por las investigaciones realizadas por Le-Clech et al. (2003b), Hong et al. (2002) y Lesjean et al. (2005), en las que observaron un impacto insignificante. Autores como Arévalo et al. (2011) también observaron que existía un impacto positivo entre MLSS y TMP, es decir, que el incremento de MLSS disminuía la TMP y por lo tanto el ensuciamiento de la membrana. En el presente estudio se ha trabajado como máximo a una concentración de MLSS de 10 g/L por lo que no se ha superado el umbral de 30 g/L, por encima del cual la concentración de MLSS tiene una influencia negativa (Lubbecke et al., 1995). Rosenberger et al. (2005) describieron más específicamente la tendencia al ensuciamiento por MLSS, estableciendo en su estudio que a concentraciones menores de 6 g/L, un aumento en su valor reduce el ensuciamiento mientras que subidas en concentraciones superiores a 15 g/L se provocaba un mayor ensuciamiento. En base a esto, se pueden encontrar similitudes con el presente estudio ya que los valores de TMP más altos se han registrado principalmente para valores bajos de MLSS (< 2g/L). También se puede observar que cuando se ha operado con valores altos de MLSS (entre 7 y 10 g/L) la TMP permanece prácticamente estable con valores cercanos a -0,08 bars. Esta tendencia se puede justificar con las investigaciones de algunos autores que establecían rangos de MLSS que no tenían influencia sobre el ensuciamiento: Rosenberger et al. (2006) estableció un rango de MLSS de 9 a 14 g/L sin efecto, Le-Clech et al. (2003b) concluyeron que no había impacto en concentraciones de MLSS entre 4,4 y 11,6 g/L, y Brookes et al. (2006) indicaron que el rango de MLSS entre 6 y 18 g/L no había efectos en la membrana.

Debido al extenso debate creado por la interpretación de los datos de los MLSS conforme a la evolución de la TMP, se considera que la concentración de MLSS es un

indicador de pobre eficacia en el ensuciamiento de la membrana ya que los factores que se han demostrado clave en este proceso, y aún más si se trabaja con flujos bajos, son los productos microbianos, como son el EPS y el SMP (Nagaoka et al., 1996; Le-Clech et al., 2006).

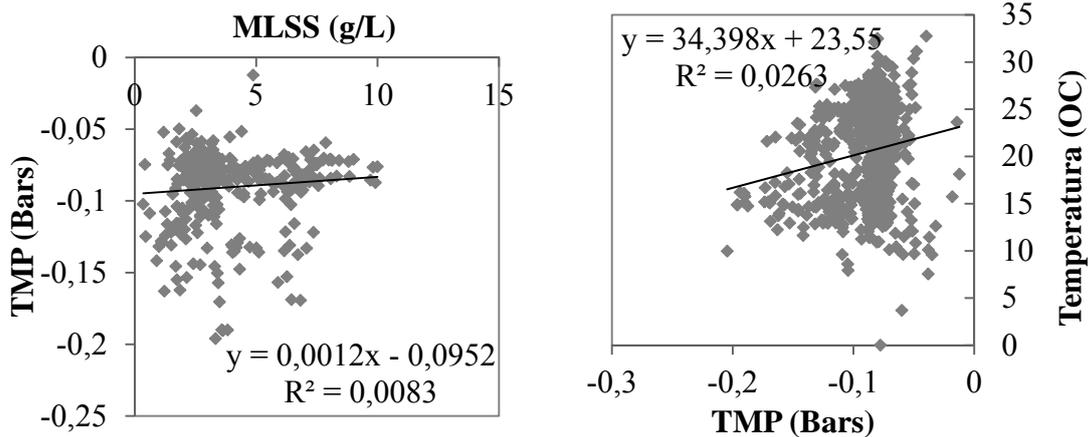


Figura 4.25: Correlaciones entre MLSS y TMP (izquierda) y entre temperatura y TMP (derecha)

Con objeto de valorar el efecto de otras variables sobre la TMP, también se ha realizado una correlación entre los valores de esta y la temperatura del fango activo que se ha registrado durante la fase de estudio. Como se puede ver en la Figura 4.25 el factor de correlación no es muy significativo ($R^2 = 0,0263$) pero se observa que hay una tendencia a disminuir la TMP conforme se aumenta la temperatura del fango. Los efectos de la temperatura en la filtración de membrana se deben a la influencia que tiene esta sobre la viscosidad del fluido permeado (Mulder, 2000). Aunque el efecto de la temperatura en la TMP en el presente estudio no es muy significativo, esta puede tener efectos indirectos en el ensuciamiento de la membrana. Se sabe que la temperatura influye a la tasa de biodegradación por lo que en MBR podría afectar al ensuciamiento de la membrana debido a que altera las características de los MLSS. Las bajas temperaturas provocan mayor presencia de bacterias filamentosas en el MLSS (Parada-Albarracín et al., 2012) que producen más SMP, provocando un mayor aumento del ensuciamiento (Guo et al., 2012). Ma et al. (2013) también observaron que la baja

temperatura provoca un aumento en la presencia de EPS en los MLSS. A parte de la influencia de la temperatura en la biodegradabilidad, también se ha demostrado que tiene influencia sobre la desfloculación, la difusibilidad y la adsorción en los MBR (Drews et al., 2010).

En última estancia, se ha realizado de un estudio para ver cómo evoluciona la TMP según la variación en el flujo hidráulico. En la Figura 4.26 puede verse representada la evolución conjunta del flujo hidráulico y la TMP. En ella se observa una evolución casi constante del flujo con un valor muy próximo a $10 \text{ L/m}^2 \text{ h}$. Durante la fase experimental se han producido también variaciones en su valor debido principalmente a las pérdidas de biomasa que modificaban los parámetros operacionales. El episodio ocurrido en el periodo que se reemplazan las membranas (13 de Febrero del 2015) es singular ya que se producen grandes fluctuaciones en su valor. En este periodo la planta llegó varias veces al umbral de TMP máximo por lo que flujo se vio interferido por las constantes paradas del sistema.

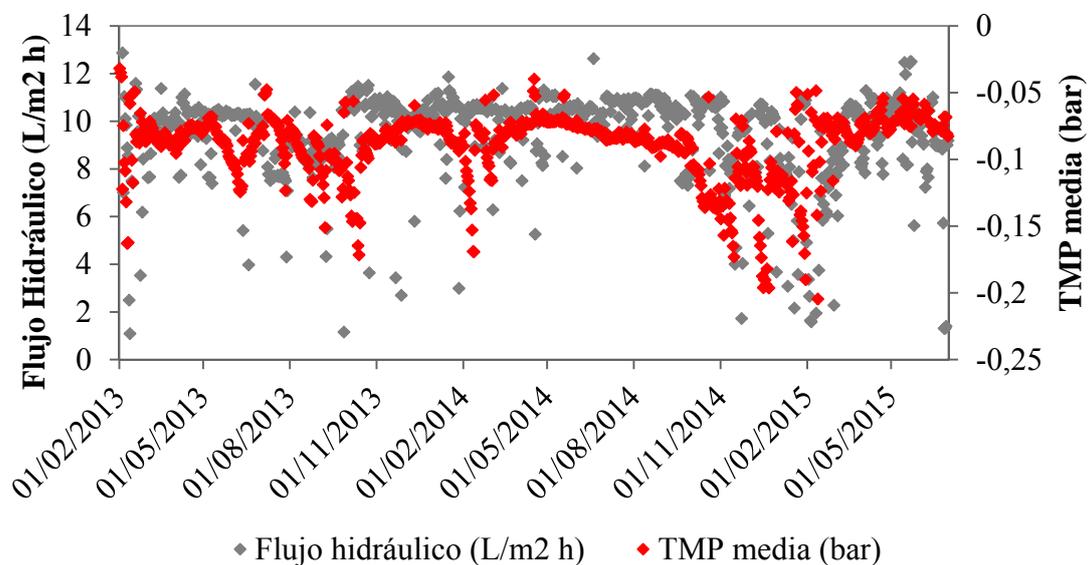


Figura 4.26: Evolución Flujo hidráulico y TMP media

Para conocer mejor la relación, se ha realizado un estudio de la correlación lineal entre ambos parámetros. En la Figura 4.27, en la que se representa la correlación lineal, se puede observar que aunque no tenga un coeficiente de correlación significativo ($R^2 = 0,0112$), hay una tendencia positiva en sus valores. Según esta tendencia y la ecuación de Darcy (Ec. 1), la TMP aumenta conforme aumenta el flujo hidráulico. Según esta ecuación, el flujo hidráulico también dependerá de la resistencia a la filtración (R_t).

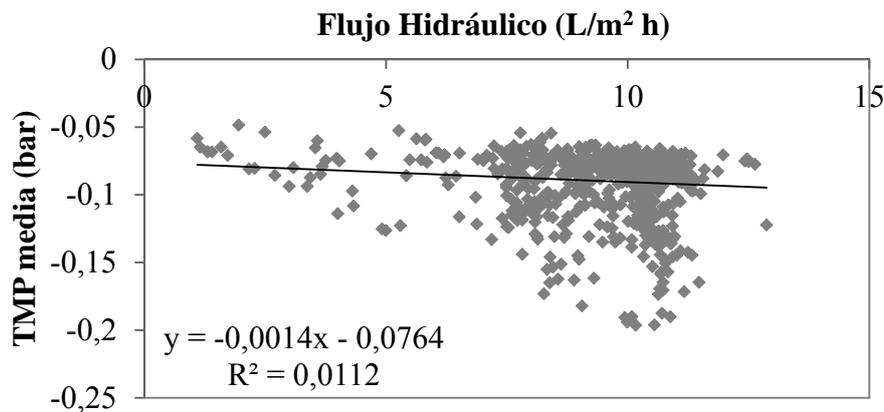


Figura 4.27: Correlación entre TMP y flujo hidráulico

4.3.3. Evolución de la viscosidad en el fango activo

La viscosidad es un parámetro muy importante en los sistemas MBR ya que puede interferir en la filtración y en el suministro de oxígeno a los microorganismos. Un fango más viscoso opondrá más resistencia a la filtración por lo que para mantener el mismo flujo de permeado se tendrá que suministrar más presión de succión, aumentando los costes operacionales del proceso. Según Hasar et al. (2004), las suspensiones con mayor viscosidad requieren mayores velocidades de flujo cruzado para crear regímenes turbulentos. Si el flujo cruzado no es suficiente para separar los sólidos de la membrana, es razonable que la capa de incrustación se acumule más rápidamente sobre la superficie de la membrana. En el caso opuesto, si la viscosidad del fango activo es más baja, se requerirán velocidades de cizallamiento más bajas para obtener la misma tensión de

cizalla (Jeison and van Lier, 2006). Debido a la mayor permeabilidad de la membrana, se puede lograr el mismo volumen de agua a una TMP más baja (Smith et al., 2012).

La medida de la viscosidad se ha realizado tanto para el fango presente en el reactor de membrana como para el presente en los reactores anóxico y aireado. Las medidas se realizaron a 15, 20, 25, 30 y 35° C, viendo una disminución en sus valores conforme se iba aumentando la temperatura según la dinámica de fluidos no newtonianos en la que los fluidos no tienen un valor de viscosidad definido y constante. También se ha realizado la medida de la viscosidad del efluente pero en este caso solo se han registrado valores a 20° C de temperatura.

Las registros de las medidas de los reactores aireado, anóxico y de membrana pueden verse en las Figuras 4.28, 4.29 y 4.30 respectivamente, pudiéndose observar que todas las representaciones de viscosidad en los diferentes reactores y a diferentes temperaturas siguen el mismo patrón. En sus evoluciones se ve como hay tres subidas bastante visibles las cuales son debidas a paradas en el volumen de fango purgado por lo que los MLSS aumentan y por lo tanto la viscosidad del fango.

A modo de resumen se ha realizado la Tabla 4.18 donde se puede ver el valor medio, máximo y mínimo de todo el periodo de estudio para cada valor de temperatura y cada reactor biológico. En cada reactor se ve una evolución clara de la viscosidad media y máxima conforme la temperatura va aumentando. El valor mínimo es el que se mantiene más constante a lo largo del estudio, variando pocas décimas entre la menor y mayor temperatura en cada reactor. Si se comparan los valores obtenidos para cada reactor se observa también una evolución en el sistema, siendo el fango activo el menos viscoso, el fango anóxico el intermedio y el fango del MBR el más viscoso. La mayor diferencia entre viscosidades de diferentes reactores se encuentra en el valor máximo ya que el fango activo anóxico y el de membrana casi duplica y triplica el valor del fango aireado respectivamente. La diferencia se ve reducida en el caso del valor medio de la viscosidad, habiendo como máximo 1,35 Cp de diferencia entre el fango más viscoso y el menos viscoso.

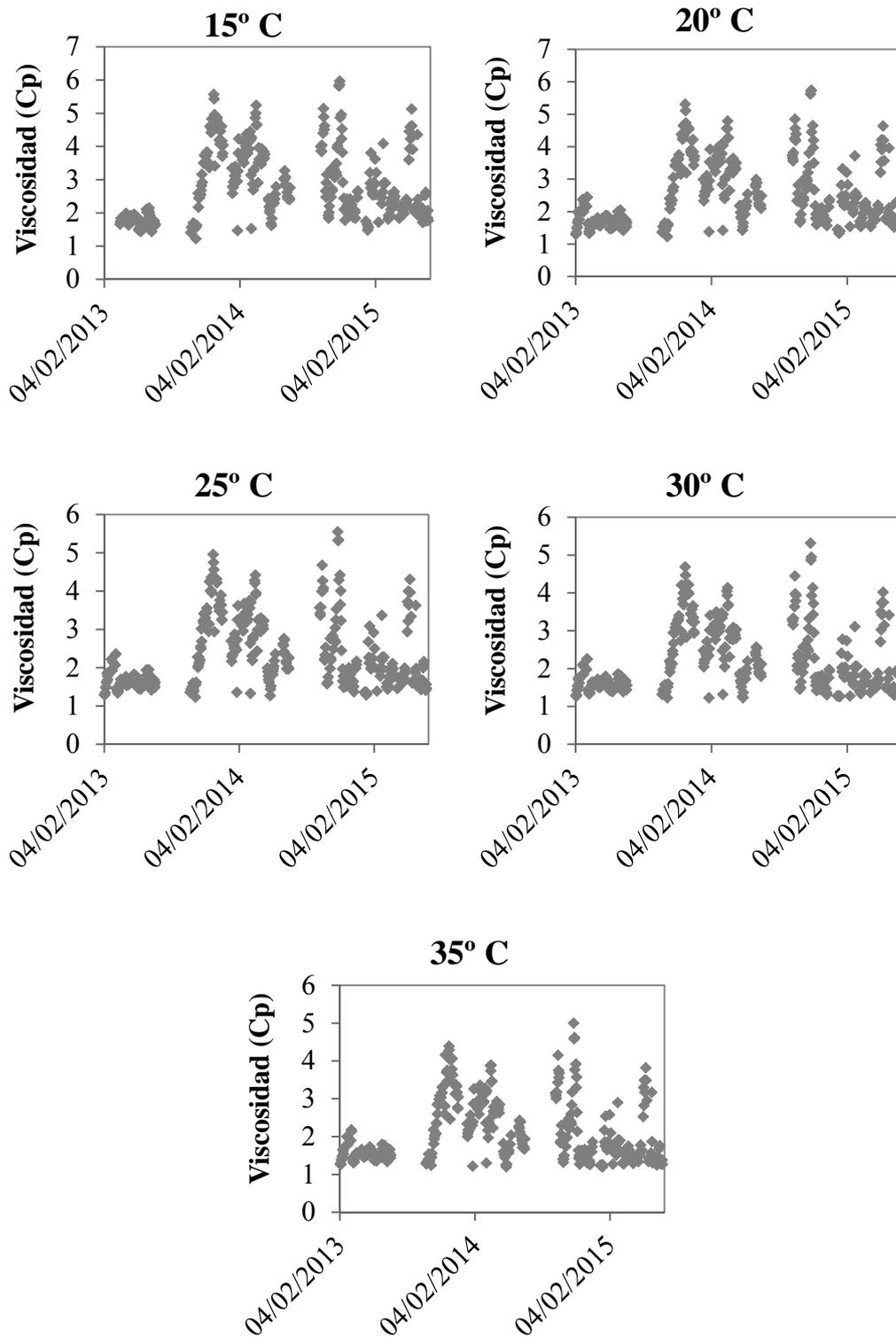


Figura 4.28: Evolución de la viscosidad del reactor aireado

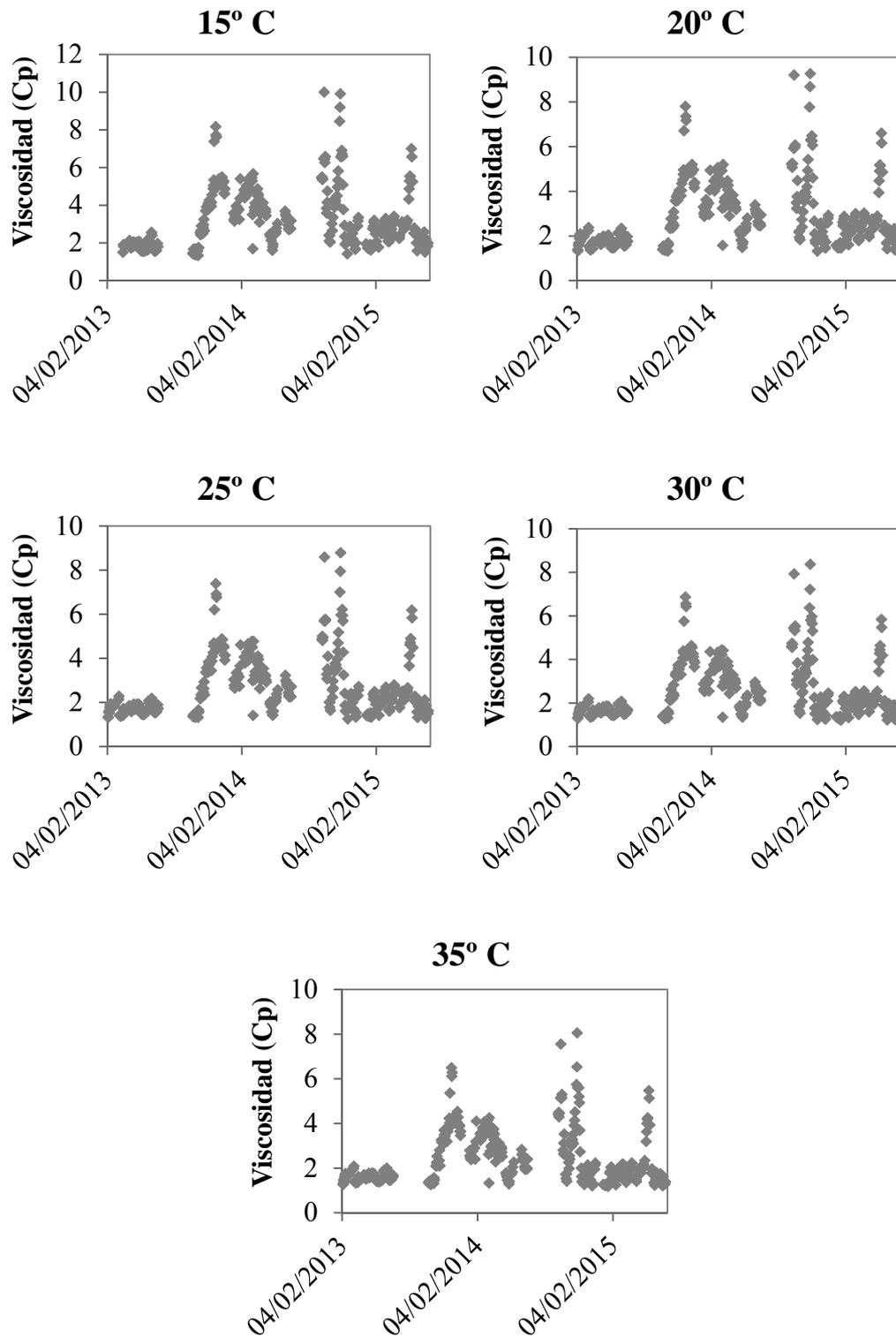


Figura 4.29: Evolución de la viscosidad del reactor activo anóxico

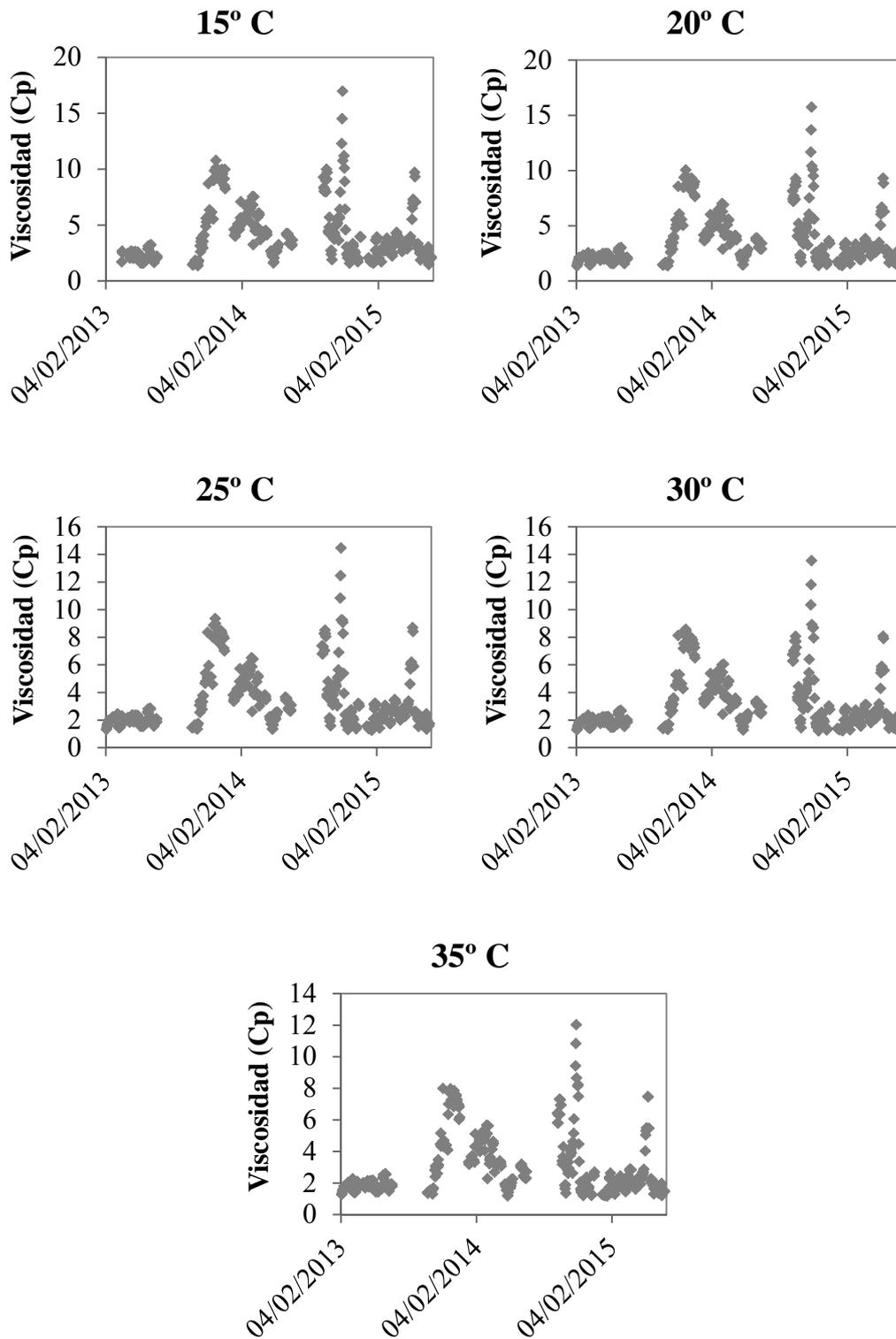


Figura 4.30: Evolución de la viscosidad en el reactor de membrana

Tabla 4.18: Resumen medidas viscosidad fango activado

	Reactor Aireado				Reactor Anóxico				Reactor de Membrana			
	Media	D.E.	Máx.	Mín.	Media	D.E.	Máx.	Mín.	Media	D.E.	Máx.	Mín.
15° C	2,81	1,05	5,97	1,22	3,26	1,56	10,00	1,33	4,16	2,54	16,97	1,37
20° C	2,52	0,99	5,74	1,23	2,94	1,45	9,26	1,32	3,72	2,36	15,74	1,37
25° C	2,36	0,92	5,55	1,23	2,74	1,36	8,79	1,26	3,46	2,19	14,47	1,27
30° C	2,21	0,86	5,32	1,23	2,57	1,27	8,37	1,22	3,24	2,06	13,55	1,23
35° C	2,09	0,81	5,00	1,20	2,42	1,20	8,05	1,18	3,04	1,92	12,03	1,19

La mayor viscosidad del reactor de membrana se debe a la acumulación de la fracción particulada tras ser rechazada en la filtración. Esto hace que se acumulen los MLSS en el tanque de membrana, los cuales tienen un impacto directo en la viscosidad (Hasar et al., 2004; Rosenberger et al., 2002), aumentando la viscosidad del fango. Hay que recordar que en el sistema MBR utilizado para el estudio hay una recirculación del fango desde el tanque de membrana hacia el tanque anóxico por lo que se producirá un aporte de fango viscoso en el tanque anóxico que hará aumentar la viscosidad en él.

Para conocer la relación existente entre los diferentes fangos estudiados se ha realizado un análisis de la varianza (ANOVA) a una temperatura de 20° C. Se ha podido comprobar que hay diferencias significativas entre el fango aireado y el anóxico ($p=0,0001$) y entre el fango aireado y el del tanque de membrana ($p=0,0001$). Sin embargo, si se tiene en cuenta el fango anóxico y el del tanque de membrana se puede decir que no hay diferencias estadísticas entre ellos ya que se obtiene un p-valor de 0,4360. En la Figura 4.31 se representa las medias obtenidas según el método de la diferencia significativa mínima de Fischer (LSD) con un nivel de confianza del 95 %. En él se observa que hay homogeneidad entre el fango activo anóxico y el del tanque de membrana y que el fango aireado es estadísticamente diferente.

Para un mejor entendimiento del sistema en términos globales, se ha establecido un valor de fango mediante la ponderación de los valores obtenidos según el volumen del tanque en el que se encuentran. Los datos obtenidos se pueden ver representados en la Figura 4.32. La evolución sigue el mismo patrón que las medidas registradas para los

diferentes tanques pero en este caso los valores máximos y mínimos han sido más suavizados, siendo sus valores de 10,86 y 1,20 Cp respectivamente.

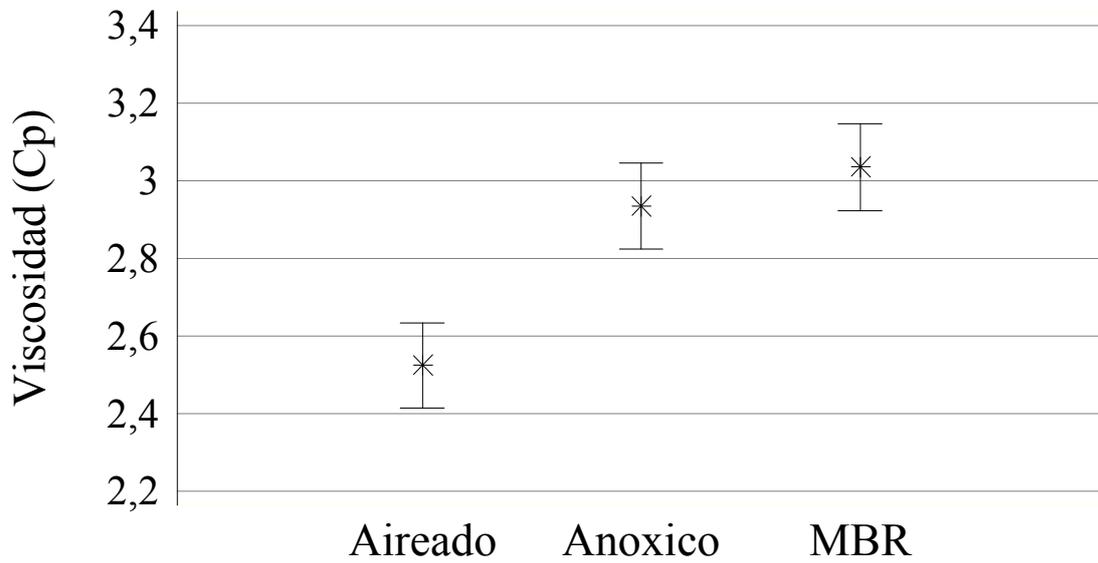


Figura 4.31: Análisis LSD de la viscosidad con un nivel de confianza del 95 %

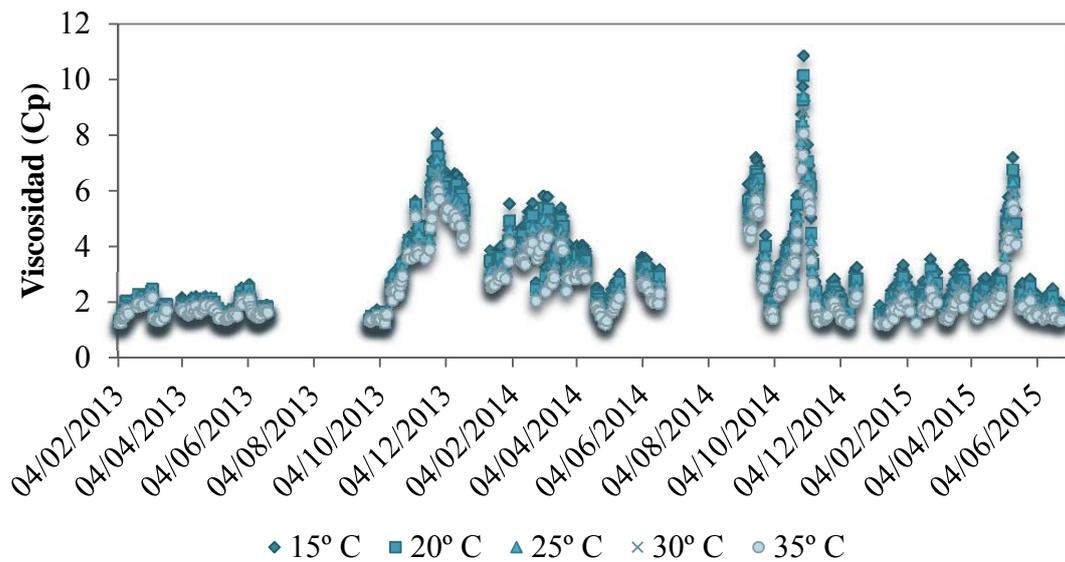


Figura 4.32: Evolución de la viscosidad global del fango activo

Anteriormente se ha hecho mención a la relación que tiene la viscosidad con los MLSS. Es por ello que en la Figura 4.33 se ha realizado una representación gráfica de la evolución de la viscosidad a una temperatura de 20° C y de los MLSS de forma conjunta. Se ve claramente como la viscosidad depende de la concentración de los MLSS del sistema ya que la evolución que sigue ambas representaciones es prácticamente similar. Ahondando más en la relación entre estos dos parámetros, se ha estudiado la correlación lineal entre ambos (Figura 4.34), obteniéndose una alta correlación lineal ya que se ha obtenido un coeficiente de determinación de 0,8272. De esta forma se corrobora las investigaciones realizados por Manem and Sanderson (1996) y Rosenberger et al. (1999) en la que se concluía que la viscosidad aumenta de forma lineal con el aumento de la concentración de MLSS.

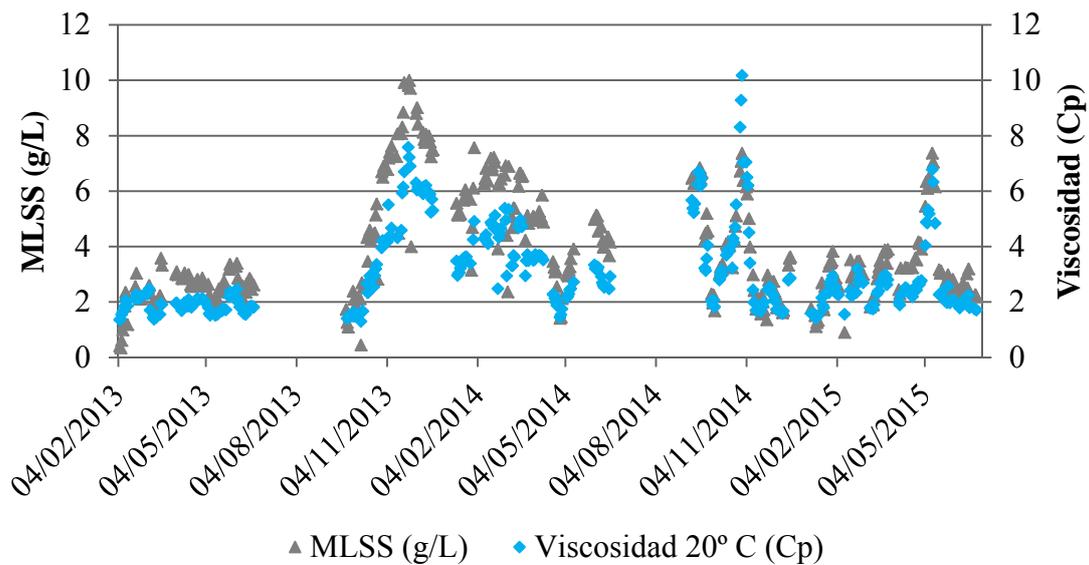


Figura 4.33: Evolución conjunta de los MLSS y viscosidad fango a 20° C

El aumento de los MLSS, y por lo tanto de la viscosidad, tiene consecuencias en el sistema ya que disminuye la eficiencia de la transferencia de oxígeno (Krampe and Krauth, 2003; Germain et al., 2007). Se ha demostrado que la naturaleza pseudoplástica no newtoniana del fango activo influye negativamente sobre el coeficiente de transferencia de oxígeno (Koide et al., 1992; García-Ochoa et al., 2000; Jin et al., 2001;

Badino et al., 2001; Özbek and Gayik, 2001). Esto se ha atribuido a los efectos de coalescencia y solubilidad de la burbuja ya que a mayor viscosidad se forman burbujas más grandes (Özbek and Gayik, 2001) y hay una mayor resistencia a la transferencia de masa registrada (Badino et al., 2001). A viscosidades altas también se produce una peor distribución del aire por lo que las burbujas más pequeñas quedan atrapadas en el reactor (Jin et al., 2001). Debido a que el sistema exige la disolución del oxígeno en la biomasa para permitir la degradación aeróbica de los contaminantes, una baja transferencia de oxígeno requiere una tasa de aireación más alta y por lo tanto la energía suministrada tendrá que ser mayor, aumentando los costes operacionales.

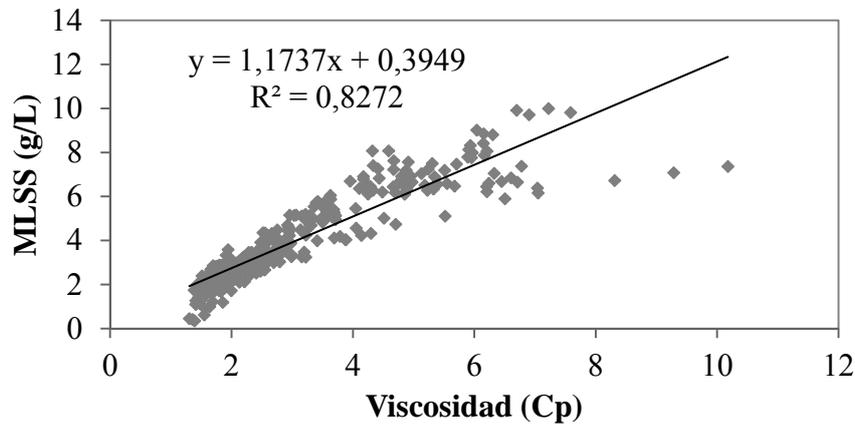


Figura 4.34: Correlación MLSS-viscosidad fango activo

Para ver la influencia que tiene sobre el sistema, se ha estudiado la relación que tiene la viscosidad a 20° C con la TMP media y máxima (Figura 4.35). Se puede observar que no hay ningún tipo de relación entre la viscosidad y la TMP ya que se obtiene un $R^2 = 0,0012$ con la TMP media y un $R^2 = 0,0042$ con la TMP máxima. Debido a ello, la viscosidad per se no tiene un impacto directo sobre la TMP en el estudio realizado. Sin embargo, hay estudios que han confirmado la existencia de una relación ya que al aumentar la viscosidad disminuye la permeabilidad (Li et al. 2007) y aumenta la resistencia de la membrana (Chae et al., 2006). Hay que tener en cuenta que el aumento de la viscosidad puede venir afectado por el aumento de otro parámetro que puede tener

influencia sobre la TMP. Un ejemplo de ello es el aumento de viscosidad producido por el aumento de EPS y especialmente por el aumento de la concentración de los carbohidratos que lo componen (Meng et al., 2006, 2009; Zhang et al., 2008a).

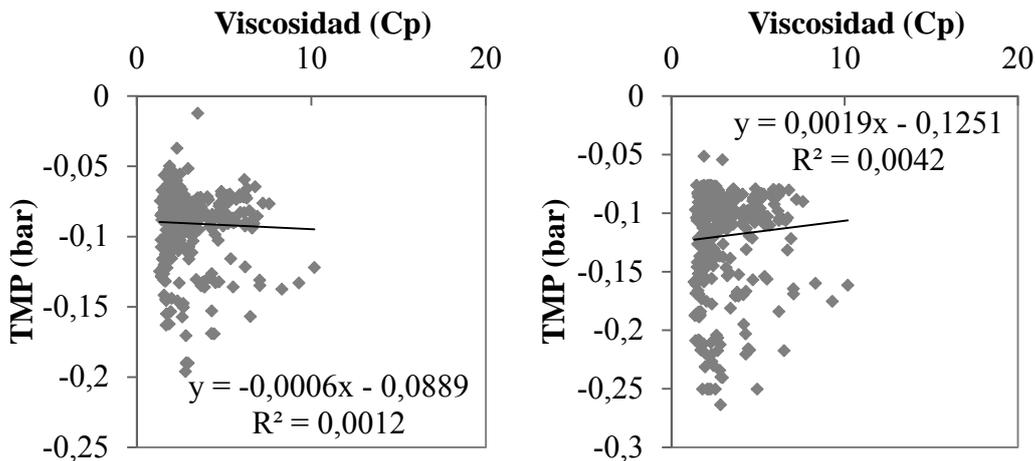


Figura 4.35: Correlación lineal entre TMP media y viscosidad a 20° C del MBR (izquierda) y correlación lineal entre TMP máxima y viscosidad a 20° C del MBR (derecha)

4.3.4. Evolución de la HR en el fango activo

La hidrofobicidad se considera generalmente como la tendencia que tienen las moléculas no polares para formar agregados con el fin de disminuir la superficie de contacto con las moléculas de agua, mientras que la hidrofiliidad es el concepto opuesto a la hidrofobicidad (Meyer et al., 2006). Una investigación realizada por van Loosdrecht et al. (1987a) informó que la fijación de los flóculos del fango aumentaba a medida que aumentaba su hidrofobicidad. Una mayor hidrofobicidad de los flóculos presentes en el fango activo podría adherir más fuertemente las partículas de los flóculos entre sí, así como sobre la superficie de la membrana, aumentando con ello el ensuciamiento de la membrana (Chang and Lee, 1998). Dewanti and Wong (1995) y Emanuelson et al. (2003) demostraron que los flocos microbianos con mayor HR

podrían depositarse más fácilmente sobre la superficie de la membrana ya que las bacterias que forman flóculos son más hidrofóbicas que las que están suspendidas en el fango. Con el fin de investigar la influencia de la hidrofobicidad relativa en el ensuciamiento de la membrana, se ha evaluado la HR del tanque aireado, anóxico y de membrana. Como se vio en el apartado de caracterización del influente, también se ha realizado el seguimiento de la HR del influente.

En la Figura 4.36 la evolución de la HR ha sido muy similar tanto entre los diferentes tanques como en el influente, teniendo sus mayores registros en los meses próximos a la estación estival y los menores en la invernal. Claramente hay una acumulación de sustancias hidrofóbicas en el fango ya que su valor de HR es mayor que en el influente. En la Tabla 4.19 se ha resumido los valores obtenidos de HR a lo largo de la fase experimental. En ella se puede ver como hay un aumento entre las medias de cada tanque y el influente, produciéndose un aumento de más del 20 % de sustancias hidrofóbicas en el fango respecto al influente. La diferencia también es visible en los valores máximos y mínimos con una desigualdad de aproximadamente el 20 % en cada caso. Si se tiene en cuenta los diferentes reactores del sistema, se contempla un leve aumento en el valor medio de HR en cada reactor. El fango menos hidrofóbico es el aireado con un valor medio de $56,64 \pm 10,36$ %, seguido del fango anóxico con una media de $56,91 \pm 9,23$ % y posteriormente del fango del reactor de membrana con un porcentaje medio de $58,01 \pm 9,47$ %. Todos los reactores están dentro de los valores normales según un estudio realizado por Chang et al. (2001) en el que encontraban un valor medio de HR del fango del 57 %.

Tabla 4.19: Resumen valores registrados HR

	Aireado (%)	Anóxico (%)	MBR (%)	Influente (%)
Media	56,64	56,91	58,01	35,30
Desviación	10,36	9,23	9,47	9,29
Máximo	77,24	76,80	76,79	59,78
Mínimo	20,00	28,05	28,04	9,80

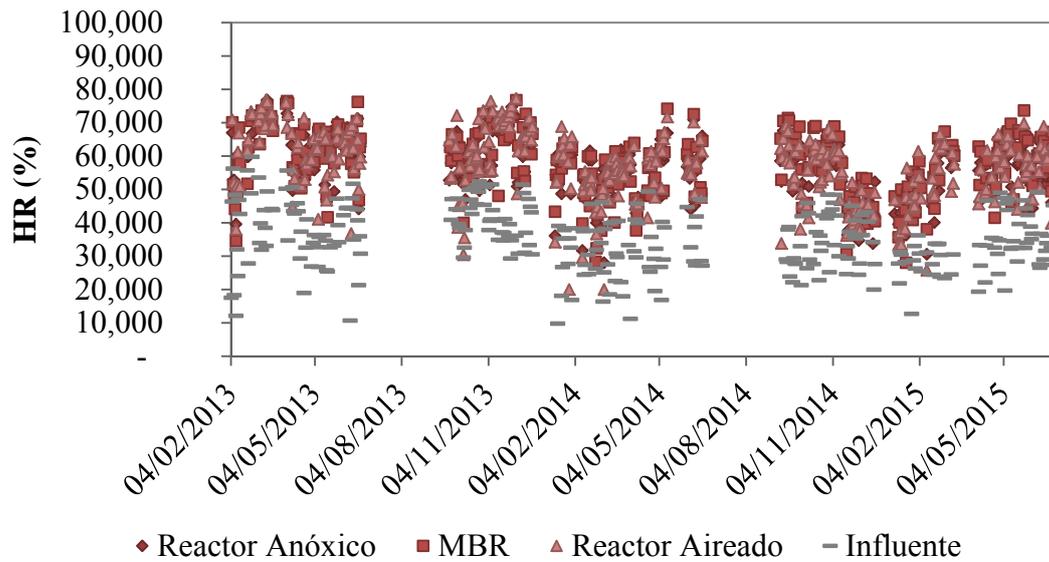


Figura 4.36: Evolución de la HR en los diferentes reactores e influente

La diferencia entre las medias del reactor con más hidrofobicidad y el reactor con menos hidrofobicidad es de apenas el 1,5 %, es por ello que se ha realizado un ANOVA para ver si hay diferencias estadísticamente significativas entre los reactores. En la Tabla 4.20 y la Figura 4.37 se puede observar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tanques ya que se obtienen unos p-valor superiores a 0,05. Si se tiene en cuenta la relación entre los diferentes reactores y el influente, se ve que en este caso sí hay diferencias estadísticamente significativas al obtener un p-valor = 0,0001 en todos los casos estudiados. En relación al diagrama de cajas y bigotes representado en la Figura 4.37, se observa que el influente está fuera del rango de concentración de los reactores por lo que es estadísticamente diferente y se agrupa de manera independiente.

La hidrofobicidad tiene influencia sobre los flóculos bacterianos presentes en el fango activo por lo que habrá una tendencia de los flóculos a repeler el agua. Se ha observado que la fijación de los flóculos de lodo aumentará a medida que aumenta su hidrofobicidad (van Loosdrecht et al., 1987b). Con el fin de investigar la influencia de la hidrofobicidad del fango activo sobre la TMP, se evaluó la HR registrada durante la fase de experimentación (Figura 4.38).

Tabla 4.20: ANOVA de la HR entre diferentes reactores e influente

	Reactor Aireado	Reactor Anóxico	MBR	Influente
Reactor Aireado	—	p = 0,6266	p = 0,0725	p = 0,0001
Reactor Anóxico	p = 0,6266	—	p = 0,1690	p = 0,0001
MBR	p = 0,0725	p = 0,1690	—	p = 0,0001
Influente	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	—

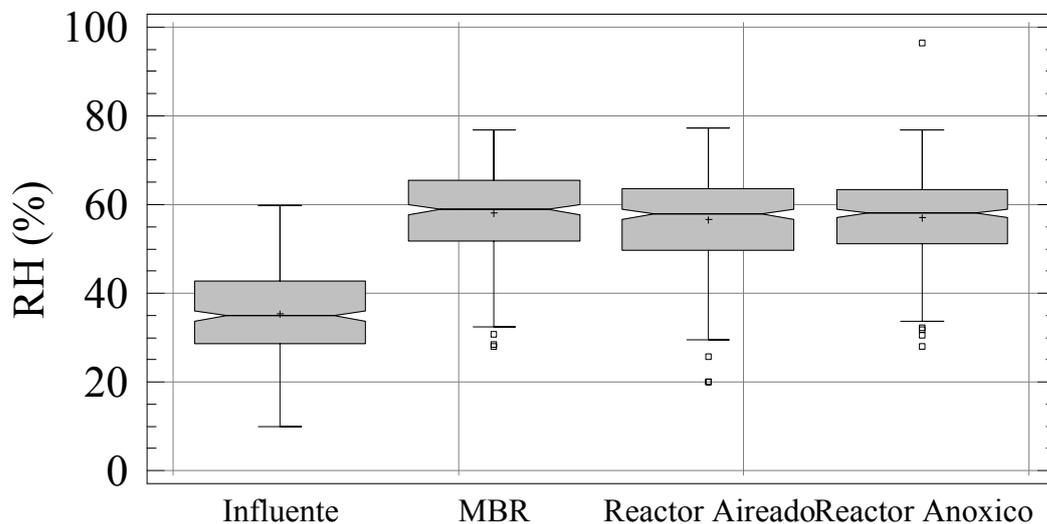


Figura 4.37: Diagrama cajas y bigotes del porcentaje de HR en los diferentes reactores

En la Figura 4.38 se observa que no hay una correlación lineal significativa entre la HR y la TMP, obteniendo un coeficiente de correlación muy bajo ($R^2 = 0,059$). Aunque dicho coeficiente es muy bajo, puede verse una leve tendencia a aumentar la TMP conforme la muestra es más hidrofílica, es decir, la HR es más baja. Aunque el efecto directo de la HR sobre el ensuciamiento del MBR es difícil de evaluar, la medición de la hidrofobicidad de fangos activos reveló que la disminución de la HR en los EPS puede causar el deterioro de los flóculos, aumentando la resistencia a la filtración de la torta

(Jang et al., 2005a, b). En sentido opuesto, Chen et al. (1997) encontraron que una mayor hidrofobicidad de los flocúlos del fango activo podría tener una adherencia más fuerte sobre las partículas de los flocúlos, así como la superficie de la membrana, aumentando la TMP y por lo tanto el ensuciamiento de la membrana. Resultados similares encontraron Meng et al. (2006) demostraron estadísticamente que un aumento en la HR de diferentes fangos activos aumentaba la resistencia al ensuciamiento, por lo que los flocúlos microbianos con mayor HR podrían depositarse en la superficie de la membrana mucho más fácilmente. En el mismo estudio, Meng et al. (2006) demostraron que la HR tiene una fuerte correlación con la cantidad de EPS total. Lee et al. (2001a) demostraron que las proteínas en el EPS tuvieron una fuerte influencia positiva sobre la HR de los flocúlos microbianos. Esta influencia viene determinada por los aminoácidos hidrofóbicos que componen las proteínas del EPS (Jorand et al., 1998).

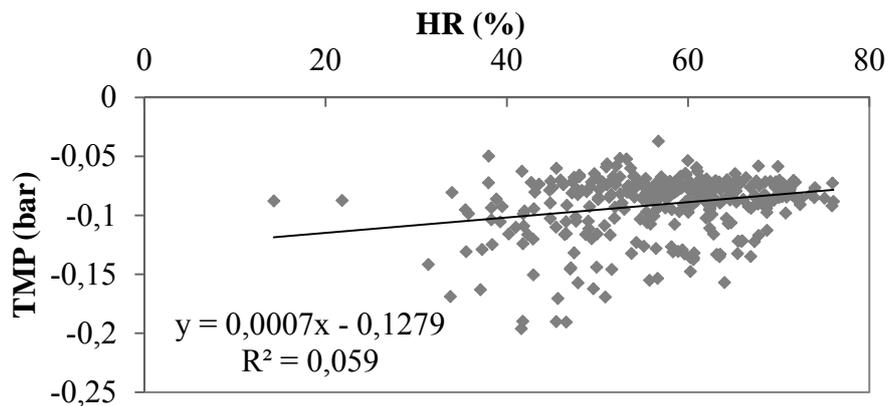


Figura 4.38: Correlación entre HR de fango activo y TMP media

La naturaleza de las membranas poliméricas es a menudo hidrofóbica, lo que significa que su estructura repele el agua por medio de superficies no polares, obstaculizando el proceso de filtración. En el caso de las membranas utilizadas en el estudio, se obtiene la afinidad con el agua durante el proceso de fabricación, cuando se aplican ciertos tensioactivos a la superficie externa de la lámina de membrana. Este proceso dota a las membranas de propiedades hidrofílicas que evitan la rápida colmatación por coloides y sustancias orgánicas, disminuyendo así su tendencia al ensuciamiento (Pearce, 2007;

Judd, 2011). Según el fabricante, hay procesos que pueden afectar al proceso de hidrofiliación de las membranas, provocando cambios estructurales en su superficie. Muchas investigaciones informaron que el cambio en la hidrofobicidad de la membrana a menudo ocurre con otras modificaciones de la membrana tales como tamaño de poro y morfología, lo que hace más difícil la correlación entre la hidrofobicidad de la membrana y el ensuciamiento (Le-Clech et al., 2006). El efecto de la hidrofobicidad de la membrana en un MBR aerobio, a partir de una comparación de dos membranas de UF de características similares, reveló un mayor rechazo y ensuciamiento del soluto y mayor resistencia a la torta para la membrana hidrófoba (Chang et al 2001). En contraposición, Fang and Shi (2005) indicaron que las membranas de mayor hidrofiliación tienden a ser más vulnerables a la deposición de impurezas de naturaleza hidrófila. Sin embargo, en este estudio, la membrana más hidrófila también presentó más poros abiertos, lo que podría ser otra razón para graves ensuciamiento. La vulnerabilidad por las deposiciones hidrofílicas puede explicarse porque en los MBR los lodos activados contienen cantidades sustanciales de EPS hidrofílico, que se ha identificado como una importante impureza (Le-Clech, 2006).

En el apartado 4.2.4.3 se analizó la relación que tenía la HR con las diferentes fracciones de sólidos en suspensión del influente. En la Figura 4.39 se ha representado la correlación entre la HR del fango y la fracción orgánica y la fracción inerte de los MLSS.

En la representación de la correlación entre la HR y las diferentes fracciones del fango activo se puede observar que los coeficientes de correlación son bajos, con unos valores de $R^2 = 0,0477$ para la fracción orgánica y $R^2 = 0,0939$ para la fracción inerte. Sin embargo, existe una tendencia positiva en ambas fracciones, sobre todo en la fracción inerte, confirmándose el resultado obtenido en la caracterización del influente. La fracción orgánica está compuesta mayoritariamente por EPS (Liu and Fang, 2002) producido por el metabolismo celular. Es de especial interés el contenido en proteínas ya que los aminoácidos presentes en el EPS tienen características hidrófobas (Jorand et al., 1998). Debido a ello, es necesario el estudio de los EPS ya que según numerosos autores son los principales componentes que afectan al ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR (Nagaoka et al., 1996,1998; Chang and Lee, 1998; Cho and Fane,

2002; Rosenberger and Kraume, 2002; Chang et al., 2002; Sun et al., 2011; Wang et al., 2011).

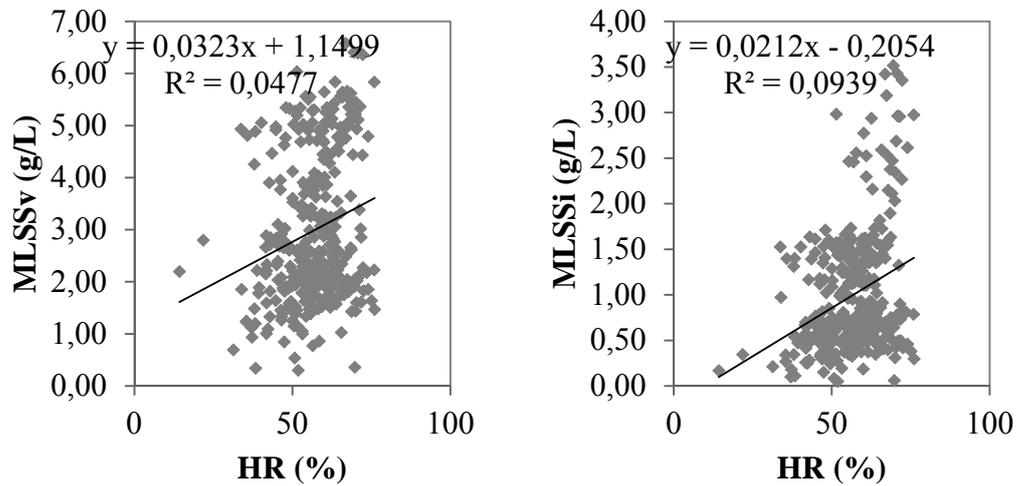


Figura 4.39: Correlación entre HR y la fracción orgánica del fango activo (izquierda) y entre HR y la fracción inerte del fango activo (derecha)

4.3.5. Evolución de la calidad del efluente

Los sistemas MBR se caracterizan por la obtención de un efluente de alta calidad, teniendo el agua tratada gran diversidad en su posible consumo, por lo que la mayoría de estos sistemas están asociados a la reutilización del agua.

Para la caracterización del efluente se ha medido la DQO del agua tratada a lo largo de la fase experimental, obteniendo una evolución que puede ser observada en la Figura 4.40.

A lo largo de la investigación el efluente ha tenido una DQO con un valor medio de $21,93 \pm 15,69$ mg O₂/L y unos valores máximos y mínimos de 81 y 0,5 mg O₂/L respectivamente. Durante este tiempo, ha sufrido varias fluctuaciones, siendo las más importantes las producidas al comienzo del estudio y durante los meses de Enero a

Mayo de 2014 en las que se obtienen unos efluentes con unos valores de DQO muy superiores a la media. Son destacables también las fluctuaciones producidas en el periodo donde se produce el reemplazo de las membranas debido a las pérdidas de fango activo por lo que se puede entender que este periodo fue perjudicial tanto para la membrana como para la calidad del efluente.

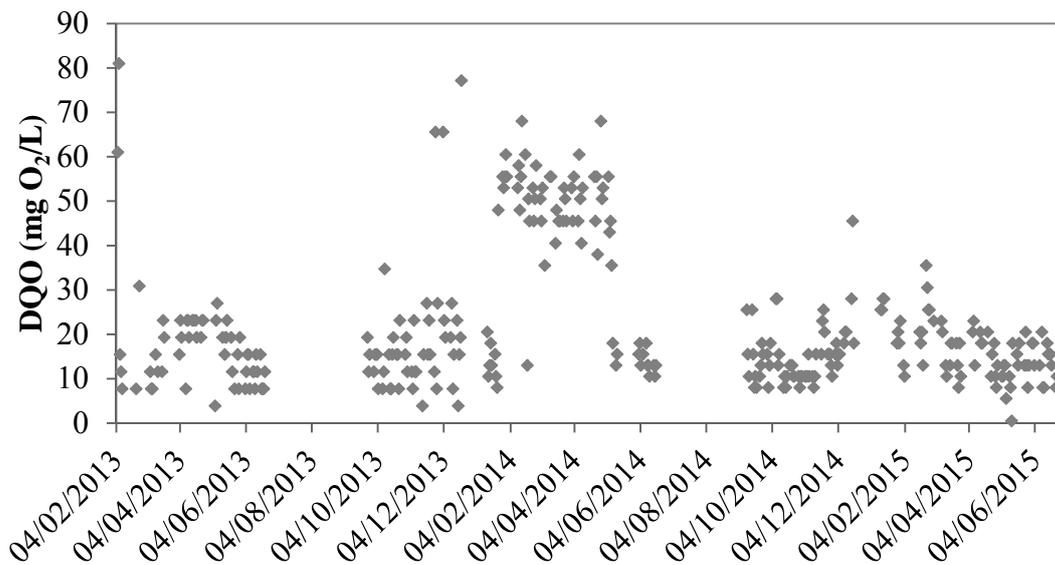


Figura 4.40: Evolución de la DQO del efluente

Para conocer el motivo de las fluctuaciones en la calidad del efluente se han realizado correlaciones con las principales variables operacionales, las cuales se muestran en la Figura 4.41.

Aunque no hay una fuerte correlación entre temperatura y calidad del efluente, sí se puede observar una tendencia negativa. La temperatura es la variable operativa que más afectó a la calidad del efluente, de tal manera que cuanto más altas eran las temperaturas, menos DQO había en el efluente. El efecto de la temperatura sobre la actividad biológica es responsable de esta correlación negativa. Según Arévalo et al. (2014) las bajas temperaturas aumentan la concentración de DQO sobrenadante en el

fango activo, lo que indica que las reducciones de temperatura tuvieron un impacto significativo en la eliminación de la DQO por biodegradación.

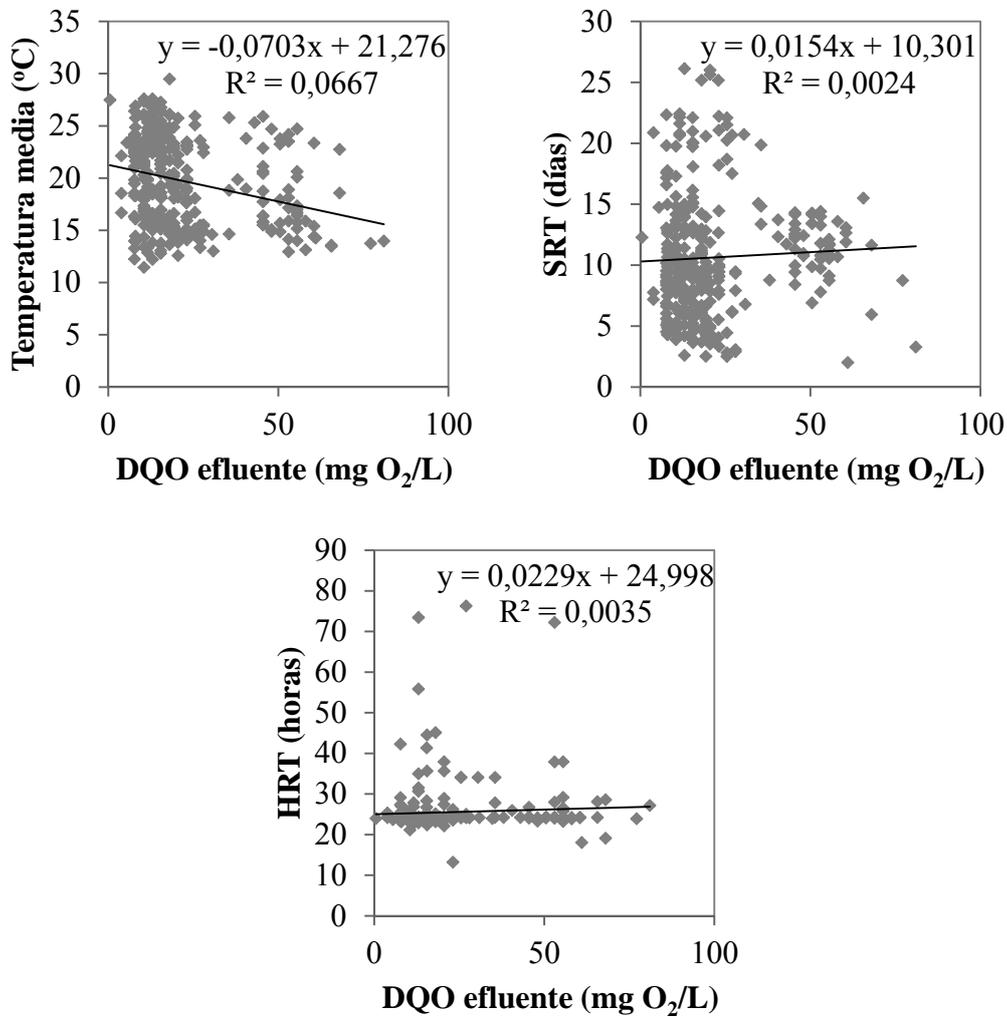


Figura 4.41: Correlación DQOef - T^a media (arriba a la izquierda), correlación DQOef - SRT (arriba a la derecha), y correlación DQOef - HRT (abajo)

En la correlación DQO del efluente y SRT también se puede apreciar una tendencia, de manera que un SRT más largo proporciona una mejor calidad de efluente. Según Barreto et al. (2017), las tasas de absorción de oxígeno aumentan en el sistema MBR siguiendo una tendencia similar a la observada con el aumento de la concentración de

MLSS cuando hay suficiente OD disponible en el biorreactor aerobio. Una mayor concentración de MLSS implica una mayor concentración de biomasa activa, lo que resulta en una menor relación F/M. En estas condiciones, el sistema se encuentra en un estado de endogénesis y la metabolización de la materia orgánica biodegradable es más rápida (Arévalo et al., 2014).

4.3.6. Evolución del SMP en el fango activo

El SMP ha sido extraído del fango activo aireado durante el periodo de experimentación. La extracción se ha efectuado mediante el método descrito por Judd et al. (2006) por triplicado, desechando los valores que se salían del intervalo de confianza.

Durante la fase de estudio, las muestras de SMP han sido caracterizadas en proteínas, ácidos húmicos y carbohidratos. Sin embargo, al principio de la fase de análisis se utilizó el método de Lowry et al. (1951) que medían conjuntamente el contenido en proteínas y ácidos húmicos. Las extracciones de SMP también han sido caracterizadas en Carbono Orgánico Total (TOC), Carbono Inorgánico (CI) y Carbono Orgánico (CO).

En la Figura 4.42 puede verse representado la evolución en el tiempo de los biopolímeros que forman el SMP. Se comienza a trabajar con una concentración muy alta de proteínas + ácidos húmicos y carbohidratos debido a que se empieza a trabajar directamente con agua bruta, la cual tiene una proporción mayor de SMP que el fango activo en relación con los sólidos en suspensión volátiles. A medida que el fango se estabiliza, la proporción de los biopolímeros se reduce hasta llegar a valores más o menos estables de 10 mg/g SSV en proteínas + ácidos húmicos y 2 mg/g SSV en carbohidratos. A partir del mes de Junio del 2013 se empieza a caracterizar las proteínas y los ácidos húmicos por separado utilizando el método de Lowry et al. (1951) modificado por Frølund et al. (1995). Tras el primer parón estival se observa cómo se reducen la concentración de ácidos húmicos, proteínas y carbohidratos debido a pérdidas de fango activo en el sistema que provocaron un descenso en los niveles de MLSS, causando un aumento en la proporción de SMP en el fango. Una vez

estabilizado sus valores, permanecen constantes hasta el segundo parón. A partir de aquí se produce una serie de pérdidas de fango en el sistema que hacen que vuelvan a aumentarse la proporción en el fango activo. En este periodo es donde se han registrado los valores más altos para proteínas, carbohidratos y ácidos húmicos, con un valor que corresponde al 11 de Febrero del 2015 de 38,64 mg/g SSV, 42,48 mg/g SSV y 92,98 mg/g SSV respectivamente. El día 13 de Febrero del 2015 el proceso es detenido para intercambiar las membranas debido a la su colmatación. De esta fecha en adelante se produce un leve descenso en sus valores debido a la estabilización del fango. En el último mes de operación el SRT se estableció en 5 días por lo que los biopolímeros tienden a subir su proporción en los MLSSV.

Durante todo el periodo de análisis se ha trabajado con un valor medio de proteínas, ácidos húmicos y carbohidratos de $2,51 \pm 3,85$ mg/g SSV, $8,20 \pm 8,79$ mg/g SSV y $2,60 \pm 3,43$ mg/g SSV respectivamente. Los carbohidratos tuvieron un valor máximo de 42,48 mg/g SSV y un mínimo de 0,19 mg/g SSV, mientras que las proteínas y ácidos húmicos tuvieron unos valores máximos y mínimos de 38,64 mg/g SSV y 0,11 mg/g SSV, y de 92,98 mg/g SSV y 0,02 mg/g SSV respectivamente. Los datos obtenidos muestran que los componentes mayoritarios del SMP son los ácidos húmicos, con una concentración media casi 4 veces mayor que la concentración de proteínas o carbohidratos. Generalmente se ha aceptado que los componentes mayoritarios del SMP han sido las proteínas y los carbohidratos. Hay numerosas investigaciones en las que solo se cuantificaron las proteínas y carbohidratos, siendo el caso los estudios realizados por: Evenblij and van der Graaf (2004) en el que encontraron 23 y 7 mg/L de proteínas y carbohidratos respectivamente, Grelier et al. (2005) en el que cuantificaron de 10-34 mg/L de proteínas y entre 5-33 mg/L de carbohidratos, y Ji and Zhou (2006) con una concentración de proteínas de entre 4,5 y 6 mg/L y de carbohidratos de entre 3,7 y 4,5 mg/L trabajando con agua sintética. En algunas investigaciones solo se ha detectado la presencia de carbohidratos en el SMP, teniendo una concentración de entre 3 y 14 mg/L (Rosenberger et al., 2006). Sin embargo, hay algunos autores que han definido la concentración de ácidos húmicos presentes en el SMP y han encontrado que es el componente mayoritario, al igual que en el presente estudio. Cabassud et al. (2004) encontraron que el principal componente del SMP eran los ácidos húmicos con una concentración de 36 mg/L, seguido de los carbohidratos con una concentración de 25 mg/L y de las proteínas con una concentración de 8 mg/L. La relevancia de cada

componente y su concentración varían de un estudio a otro debido a que la formación y composición del SMP se ven afectadas por diversas variables operacionales tales como: la carga orgánica, el SRT, la concentración de la biomasa o las características del influente (Sponza, 2003).

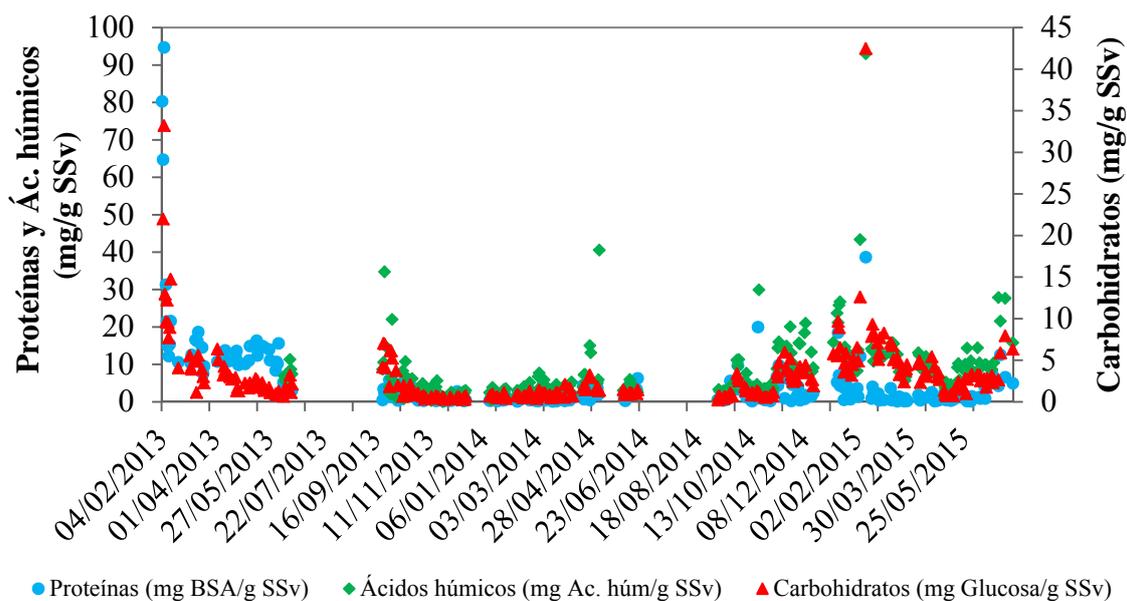


Figura 4.42: Evolución de los biopolímeros presentes en el SMP

En la Figura 4.43 se representa la evolución de los porcentajes de los biopolímeros en relación al valor de SMP total que viene definido por el sumatorio de carbohidratos, proteínas y ácidos húmicos. Se ve claramente que al principio del estudio, el porcentaje máximo correspondía a las proteínas ya que estas se medían conjuntamente con los ácidos húmicos, con un porcentaje medio de $80,08 \pm 9,90$ % y con valores máximos y mínimos de 93 y 59,40 % respectivamente. Al comenzar a caracterizar a los ácidos húmicos, son estos los que ocupan un mayor porcentaje del SMP con una media de $64,04 \pm 17,71$ %, seguido de los carbohidratos con $19,73 \pm 9,04$ % y de las proteínas con $17,68 \pm 18,52$ %.

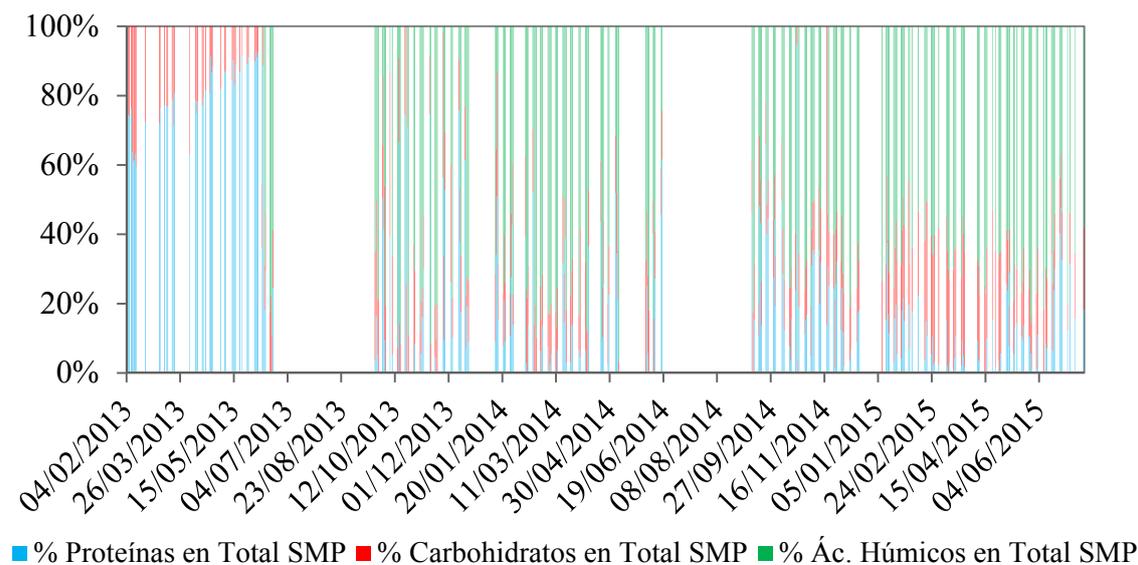


Figura 4.43: Evolución del porcentaje de los biopolímeros respecto al total de SMP

El SMP también ha sido caracterizado en su composición de CO, CI y CT. En la Tabla 4.21 se representan los datos estadísticos de cada uno de los componentes. En ella se observa que la fracción inorgánica del SMP es mayor, teniendo la fracción inorgánica un valor de $26,73 \pm 15,05$ mg/L y la orgánica un valor de $22,25 \pm 21,44$ mg/L. Esto indica que hay aproximadamente un 55 % de componentes inorgánicos y un 45 % de compuestos orgánicos en las extracciones de SMP realizadas. La presencia de sustancias inorgánicas es debido a que la extracción de estos compuestos se realiza por mediante un proceso físico como es el de centrifugación (Judd, 2006), por el que se obtiene una muestra clarificada. Puede ocurrir que en influentes más recalcitrantes, la biomasa clarificada esté compuesta por componentes que permanecen sin transformar por el proceso biológico (Judd, 2011) por lo que podrá haber ciertas interferencias en el SMP. Para investigaciones futuras será necesario evaluar el tiempo y la fuerza gravitacional utilizada para la extracción de SMP para así poder hacer una extracción lo más óptima posible.

En base al contenido de SMP, puede verse como su concentración es mayor a la concentración de carbono orgánico registrado, el cual tiene una concentración de $22,25 \pm 21,44$ mg/L frente a los $30,05 \pm 19,29$ mg/L del SMP. De este dato se puede obtener que los carbohidratos, proteínas y ácidos húmicos conformen casi la totalidad del SMP

extraído del fango activo aireado y que se haya producido una sobreestimación en el valor de alguno o algunos biopolímeros. Una posible causa es el error en la media conjunta de proteínas y ácidos húmicos mediante el método colorimétrico de Frølund et al. (1995) ya que se obtienen absorbancias muy bajas, obteniendo una gran diferencia de concentración entre un valor de absorbancia de 0,001 y 0,002.

Tabla 4.21: Resultados estadísticos de la evolución de CO, CI, CT y SMP en mg/L

	CI	CO	CT	SMP
Nº de Análisis	217	214	246	287
Media	26,73	22,25	48,23	30,05
Desviación	15,05	21,44	30,53	19,29
Mínimo	0,00	0,81	3,44	1,59
Máximo	63,89	125,56	173,39	163,34
Mediana	25,58	20,04	44,97	27,13
Varianza	226,52	459,62	931,97	371,93

La covarianza de las muestras demuestra que el CI es la fracción que ha variado menos a lo largo del estudio mientras que el CT es el que más ha variado. La evolución de estos componentes se puede ver más claramente en la Figura 4.44, en la que se representa su evolución en el tiempo. En dicha figura, se puede observar como el contenido en CI es el que ha sufrido menos fluctuaciones a lo largo del periodo de estudio. Aunque con grandes fluctuaciones en varios registros, el SMP se ha mantenido estable con una concentración de entre 20 y 40 mg/L. El contenido en CO es el que más ha variado a lo largo del periodo de estudio, sobre todo en la parte final de la fase de experimentación donde se registran valores desde 20 mg/L hasta 120 mg/L. Al igual que en la Figura 4.42, es visible un aumento de las concentraciones en CO, CI y SMP en el periodo donde se tuvo que reemplazar las membranas debido a su baja

permeabilidad. Debido a ello, es necesario estudiar la influencia que tienen las variables y parámetros operacionales para conocer el porqué de su variación y ver cómo afecta al ensuciamiento de la membrana.

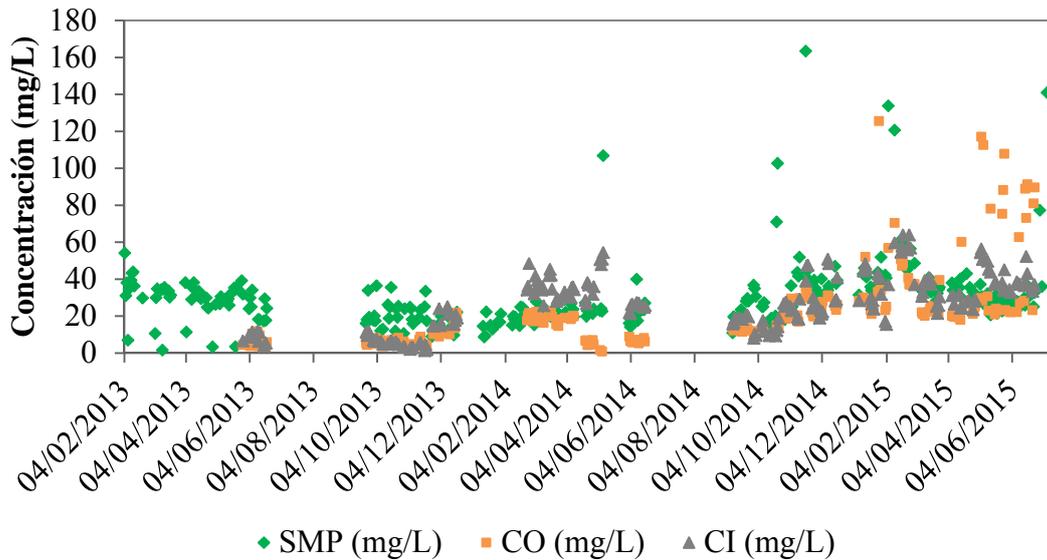


Figura 4.44: Evolución en la concentración de CO, CI y SMP

La relación entre las variables operacionales, los parámetros operacionales, el SMP y sus componentes ha sido estudiada estadísticamente mediante los coeficientes de Pearson. En la Tabla 4.22 se ha representado los coeficientes de Pearson entre variables operacionales y la concentración de SMP y sus componentes. Por otra parte, se ha representado los coeficientes de Pearson entre parámetros operacionales y la concentración de SMP y sus componentes (Tabla 4.23).

A excepción del HRT, todas las variables operacionales tienen una influencia negativa sobre la concentración de SMP, siendo las más representativas el SRT (coeficiente de Pearson de -0,2138 y p-valor < 0,01) y la temperatura media del fango (coeficiente de Pearson de -0,2061 y p-valor < 0,01).

La relación de la temperatura con SMP está en disputa ya que existen diferentes modelos que muestran tendencias divergentes (Janus and Ulanicki, 2010). Sin embargo, si se tiene en cuenta que una temperatura más alta implica un aumento del metabolismo microbiano (Wang et al 2009b; Zhang et al., 2006d) y consecuentemente un mayor consumo de compuestos metabolizables como el SMP, se puede explicar la correlación negativa entre temperatura y los carbohidratos del SMP (SMPc), el componente más biodegradable. En el caso opuesto se encontrarían las proteínas (SMPp) ya que, de los componentes caracterizados, son los menos biodegradables.

Tabla 4.22: Coeficientes de Pearson entre variables operacionales y concentración de SMP y componentes

	SMP Total	SMPp	SMPc	SMPac
HRT	-0,0380	-0,0629	0,0542	-0,0234
SRT	-0,2138**	-0,1084	-0,0100	-0,1502*
COVd_{qo}	-0,1695**	-0,1364	-0,2570**	-0,2197**
COVs_{st}	-0,1837**	0,0008	-0,1684*	-0,0952
T^a Mínima	-0,1933**	-0,0261	-0,2910**	-0,1635*
T^a Media	-0,2061**	-0,0132	-0,2385**	-0,1154
T^a Máxima	-0,1886**	-0,0674	-0,2820**	-0,1798**

**Correlación significativa con p-valor < 0,01

*Correlación significativa con p-valor < 0,005

En los sistemas de fangos activos, el SRT es una de las variables operativas más importantes que afectan a las concentraciones de SMP y EPS, por lo que un aumento en SRT significa una menor concentración de SMP y EPS en el lodo activado (Meng et al., 2009; Malamis and Andreadakis, 2009). Un aumento en el SRT resulta en una mayor concentración de microorganismos en el fango activo que se alimentan de los compuestos fácilmente metabolizables, que causan una disminución de sus concentraciones (Laspidou and Rittmann, 2002) y, en consecuencia, disminuye la concentración de SMP (Lee et al., 2001a; Drews et al., 2008).

Ambas cargas orgánicas estudiadas (COV_{dqo} y COV_{sst}) tienen una influencia en el SMP Total por lo que, cuanto menos concentrado sea el influente más cantidad de SMP habrá en el fango activo. Para entender esta relación es necesario recordar que la DQO soluble del influente estudiado se mantiene sin variaciones bruscas a lo largo de toda la fase experimental, deduciendo que las fluctuaciones producidas en la DQO del influente se deben en su mayoría a variaciones de la fracción particulada. En base a esto, se puede decir que a mayor COV_{dqo} habrá mayor concentración de componentes de la fracción particulada y menor proporción de componentes solubles que son los formadores del SMP. En el mismo caso de relación negativa se encontrarían el SMP_c y el SMP_{ac} con un coeficiente de Pearson de 0,2570 y un p-valor < 0,01, y con un coeficiente de Pearson de 0,2197 y un p-valor < 0,01 respectivamente.

La Tabla 4.23 muestra como el SMP al formar parte de la biomasa de fangos activos, existe una alta correlación entre estos y el contenido MLSS y MLVSS con un coeficiente de Pearson de -0,5283 y un p-valor < 0,01, y un coeficiente de Pearson de 0,5409 y un p-valor < 0,01 respectivamente. Esta correlación se relaciona con el SRT, de modo que a mayores SRTs habrá mayor retención de biomasa y por lo tanto las concentraciones de MLSS y MLVSS serán mayores. Por el contrario, cuanto más grande es el SRT, mayor es la degradación de los compuestos orgánicos y, por tanto, menores son las concentraciones de SMP y EPS. Los biopolímeros que componen el SMP tienen también una gran correlación, siendo los de menor correlación el SMP_p ya que tiene un coeficiente de Pearson de 0,3577 con p-valor < 0,01 para los MLSS y un coeficiente de Pearson de 0,3750 con p-valor < 0,01 para los MLSSV. La menor correlación es debida a la baja biodegradabilidad que poseen las proteínas en comparación con los ácidos húmicos y los carbohidratos.

Es de esperar la correlación entre la relación MLSSV/MLSS y el SMP dado su carácter orgánico. Los componentes que tiene más correlación con dicha relación son los SMP_{ac} con un coeficiente de Pearson de 0,1961 y un p-valor < 0,05. Debido a ello se puede considerar la relación MLSSV/MLSS como un factor importante para medir la presencia de SMP en el fango activo.

La viscosidad, al ser un parámetro que está altamente correlacionado con la concentración de MLSS y MLSSV, también tiene una alta correlación con el contenido

de SMP y sus compuestos ya que va a depender directamente de las variaciones de sólidos en suspensión que se produzcan en el fango activo.

Tabla 4.23: Coeficientes de Pearson entre parámetros operacionales y concentración de SMP y componentes

	SMP TOTAL	SMPp	SMPc	SMPac
Hidrofobicidad	-0,2208**	-0,2490**	-0,2897**	-0,3049**
MLSS	-0,5283**	-0,3577**	-0,5088**	-0,5482**
MLSSV	-0,5409**	-0,3750**	-0,5197**	-0,5601**
MLSSV/MLSS	0,1702*	0,0708	0,1686*	0,1961*
TMP Máxima	-0,0858	-0,1757*	-0,2010**	-0,1807**
TMP Media	-0,1521*	-0,2227**	-0,1118	-0,1471*
TMP Mínima	-0,0791	-0,2398**	-0,2767**	-0,2492**
Viscosidad	-0,4080**	-0,2793**	-0,4151**	-0,4410**
DQOef	-0,1562	-0,0792	-0,1300	-0,1577

**Correlación significativa con p-valor < 0,01

*Correlación significativa con p-valor < 0,005

La HR también tiene una influencia negativa sobre la concentración de SMP y sus componentes. Hay que recordar que el estudio realizado en apartado correspondiente a la HR del influente y del fango activo, se encontró una tendencia positiva de la parte inerte de los sólidos en suspensión con esta. Debido a ello, el aumento en la hidrofobicidad vendrá determinado principalmente por los componentes inorgánicos. En el caso opuesto se encuentra el SMP y sus componentes, ya que al tener una correlación negativa, se puede afirmar que el SMP otorga al fango activo hidrofiliidad, demostrando los estudios realizados por Le-Clech et al. (2006) en el que demostraban que en sistemas MBR, los fangos activos contienen cantidades sustanciales de EPS hidrofílico.

Aunque las proteínas, carbohidratos y ácidos húmicos son unos de los compuestos orgánicos que aparecen en el efluente de los sistemas MBR (Kent et al., 2011), en el presente estudio no se ha podido encontrar una relación estadísticamente significativa entre estos compuestos y la calidad del efluente.

De los diferentes registros de TMP estudiados, solo la TMP media tiene una leve correlación con el SMP Total (coeficiente de Pearson $-0,1521$ y p -valor $< 0,05$). En cambio, tanto la TMP media como la mínima y la máxima presentan correlaciones con los biopolímeros que componen el SMP. La TMP máxima y mínima son las que presentan mayores correlaciones, siendo la más representativa la del SMPc en cada caso con un coeficiente de Pearson de $-0,2767$ y p -valor $< 0,01$ para la TMP mínima y un coeficiente de Pearson de $-0,2010$ y un p -valor $< 0,01$ para la TMP máxima. Tanto la TMP media como las TMP máxima experimentaron un aumento pronunciado (presión negativa) después de las pérdidas de biomasa con la consecuente disminución de SRT. Xu et al. (2015) observaron que durante las situaciones de estrés, los microorganismos excretan más SMP, lo que puede significar un problema significativo en la membrana, resultando en mayores valores de TMP en los sistemas MBR. Después de que el sistema analizado alcanzó las condiciones de estado estacionario, ocurrieron varios problemas accidentales de pérdidas de biomasa. Estos problemas representan una disminución periódica en SRT y un aumento en la relación F/M debido a una presencia menor de microorganismos activos con respecto al sustrato. Los fangos activos con altos valores de SRT funcionarán bajo condiciones endógenas, lo que hace que los diferentes componentes del SMP (carbohidratos, proteínas, ácidos húmicos, etc.) sean degradados por microorganismos y, por consiguiente, cuanto mayor es el SRT, menor será la concentración de SMP (Meng et al., 2009). Lo contrario se puede esperar después de una fuerte caída en SRT, con un probable aumento en la concentración de SMP, que a su vez puede afectar a la TMP. Esto es consistente con la tendencia del sistema estudiado, en el que se encontró una correlación inversa entre SMP y SRT. Además, se observó que un aumento en los compuestos de SMP al aumentar la TMP máxima, una correlación que es más acentuada para el SMPc y SMPac.

El aumento de TMP máxima conforme aumentan los compuestos del SMP puede verse más claramente representado en la Figura 4.45. Se observa que en todos los periodos en los que se produce un aumento de la concentración de los compuestos del SMP,

especialmente la de carbohidratos y ácidos húmicos, se produce un aumento en la TMP máxima, llegando en ocasiones al umbral crítico (-0,25 bar). Es de especial interés el comienzo de la fase de experimentación en el que se produjo un aumento de la TMP debido a la alta concentración de los compuestos del SMP. Esto fue debido a que la puesta en marcha de la instalación experimental se inició sin inoculación previa, la cual fue muy negativa para la membrana, con alteraciones continuas de la TMP y paradas en la filtración, siendo necesario aplicar varias limpiezas químicas para recuperar la TMP. Durante esta fase de puesta en marcha, el proceso microbiológico aún no se había establecido y no se podía considerar que el establecimiento se encontraba en condiciones de estado estacionario. Bajo estas condiciones operativas, la membrana fue expuesta a un taponamiento o bloqueo de poros debido a que la torta sobre la superficie de la membrana no se desarrolló, quedando los poros de la membrana expuestos (Le-Clech et al., 2010; Malamis and Andreadakis, 2009). Estos hechos subrayan la necesidad de iniciar la filtración de membrana en MBR con un proceso biológico establecido.

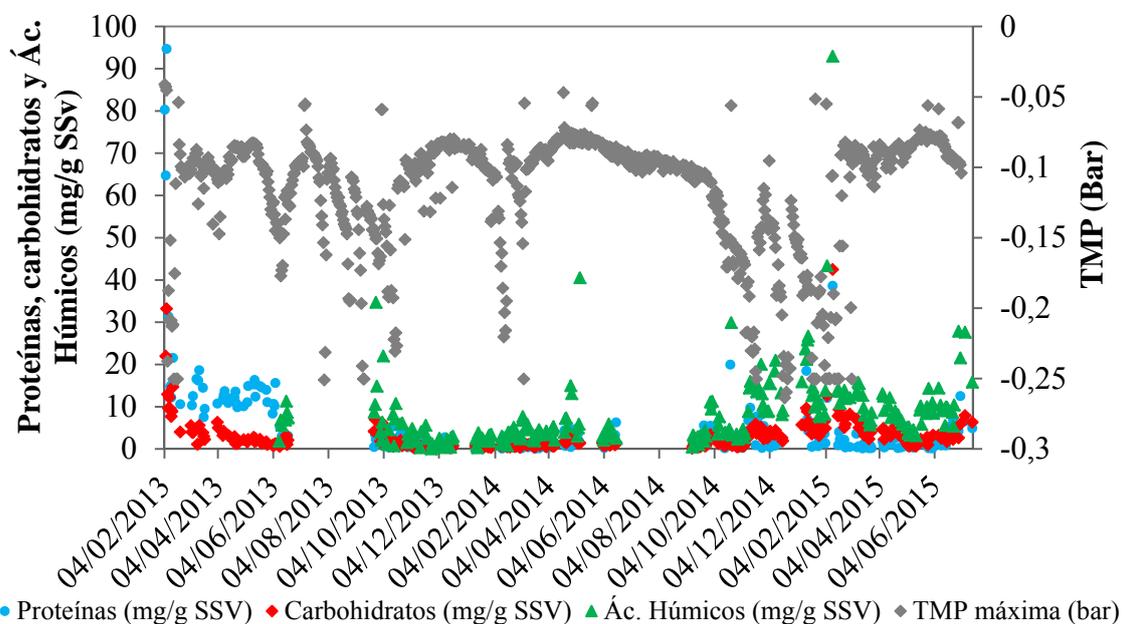


Figura 4.45: Evolución conjunta TMP máxima y componentes del SMP

También son llamativas las fluctuaciones producidas a finales del año 2014 y comienzos del 2015, periodo en el cual se tuvieron que realizar numerosas limpiezas químicas y por el cual se tuvieron que reemplazar las membranas debido al severo ensuciamiento producido.

La influencia del SMP en el ensuciamiento de membranas ha atraído considerable atención. Un estudio realizado por Rosenberger et al. (2006) en el que trabajaron con sistemas MBR de microfiltración, demostró que la concentración de la fracción de carbohidratos del SMP correspondió a altas tasas de incrustación y su concentración fue influenciada por la temperatura y situaciones de estrés para los microorganismos. En contraposición, la correlación entre la concentración de carbohidratos y el ensuciamiento de la membrana no fue observada por Drews et al. (2008) que trabajan con sistemas de MBR de ultrafiltración, aunque estos estudios reflejaron que el SMP podría influir en la obstrucción de la membrana por el taponamiento de los poros, especialmente a valores bajos de SRT. Sin embargo, estudios realizados por Lyko et al. (2007) y Al-Halbouni et al. (2008) demostraron que los ácidos húmicos también pueden afectar al ensuciamiento de la membrana, teniendo más influencia estos que los carbohidratos (Al-Halbouni et al., 2008). Por lo tanto, se pudo ver cómo el bajo SRT aumentó la concentración de SMP, principalmente del SMP_c y SMP_{ac}, los cuales afectan a la TMP y por lo tanto, fueron un factor de riesgo para el proceso.

Los carbohidratos tienen más propensión al ensuciamiento de la membrana que las proteínas ya que los carbohidratos tienen naturaleza hidrofílica mientras que las proteínas tienen carácter hidrofóbico (Yigit et al, 2008; Li et al., 2012). Al ser las membranas utilizadas hidrofílicas rechazarán las sustancias hidrofóbicas y atraerán a las sustancias hidrofílicas, produciendo una mayor acumulación de estas sustancias en la membrana.

4.3.7. Evolución del EPS en el fango activo

Tras la comparativa de métodos de extracción a partir de fango activo aireado, se definió el método de extracción con etanol -20° C (Quesada et al., 1994) como el más

adecuado para el fango activo que se utilizó en la fase de estudio. Las extracciones de EPS se realizaron cada día por triplicado, descartando los valores que se salían del intervalo de confianza en su caracterización. A partir del EPS extraído se realizaron análisis de proteínas, ácidos húmicos y carbohidratos según los métodos descritos en el apartado de materiales y métodos. Durante el estudio se produjo un cambio en el método de caracterización de proteínas, sustituyendo el método descrito por Lowry et al (1951) por su modificación descrita por Frølund et al. (1995) en la que media por separado los ácidos húmicos y las proteínas.

La evolución de las concentraciones de los compuestos del EPS se ve representada en la Figura 4.46. El periodo de experimentación comienza con valores altos de proteínas + ácidos húmicos y carbohidratos en relación a los MLSSV debido a que se comenzó a trabajar con agua bruta. A medida que el sistema va alcanzando las condiciones de estado estacionario, la concentración de los componentes del EPS va disminuyendo hasta alcanzar unos valores más o menos constantes hasta el primer parón por problemas operacionales producido en los meses de verano. Durante este periodo se mantienen valor de carbohidratos próximos a 20-30 mg/g SSV y de proteínas + ácidos húmicos de 40-60 mg/g SSV. Tras el parón estival, y analizando por separado las proteínas y los ácidos húmicos, se empieza a operar con concentraciones altas de carbohidratos y ácidos húmicos debido a pérdidas de biomasa en el sistema. Tras la pérdida de fango activo, el sistema va recuperando el estado estacionario, manteniendo los valores de carbohidratos, proteínas y ácidos húmicos constantes en el tiempo, con valores de 10-20 mg/g SSV, 5-25 mg/g SSV y 5-25 mg/g SSV respectivamente. El segundo parón fue debido a que la instalación experimental sufrió un problema operativo, el cual necesitó de un período de parada para regularizar de nuevo la operación. Una vez recuperado el sistema, se producen grandes fluctuaciones de los componentes del EPS hasta el final del periodo de análisis. Los biopolímeros sufren un aumento de su concentración, llegando a una concentración máxima de carbohidratos de 34,14 mg/g SSV, de proteínas de 30,05 mg/g SSV y de ácidos húmicos de 27,67 mg/g SSV. Una vez más, este aumento en la concentración de los compuestos del EPS es debido a varias pérdidas de biomasa en el sistema. El día 13 de Febrero, tras varias limpiezas químicas sin éxito, se decide reemplazar las membranas utilizadas debido al ensuciamiento irreversible producido en la membrana. Tras ello, el sistema va logrando el estado estacionario hasta que al final del periodo, reduciendo la concentración de los

biopolímeros estudiados. En el último periodo de la fase experimental se decide cambiar el SRT a 5 días, produciéndose grandes purgas de fango. La reducción del SRT provocó una relación MLSSV/MLSS mayor en el lodo activo, provocando una mayor disponibilidad de sustrato frente a la presencia de microorganismos (mayores relaciones F/M). Al haber gran cantidad de alimento, los microorganismos producen más cantidad de EPS, aumentando las reservas acumuladas y aumentando la presencia de MLSSV frente a MLSS.

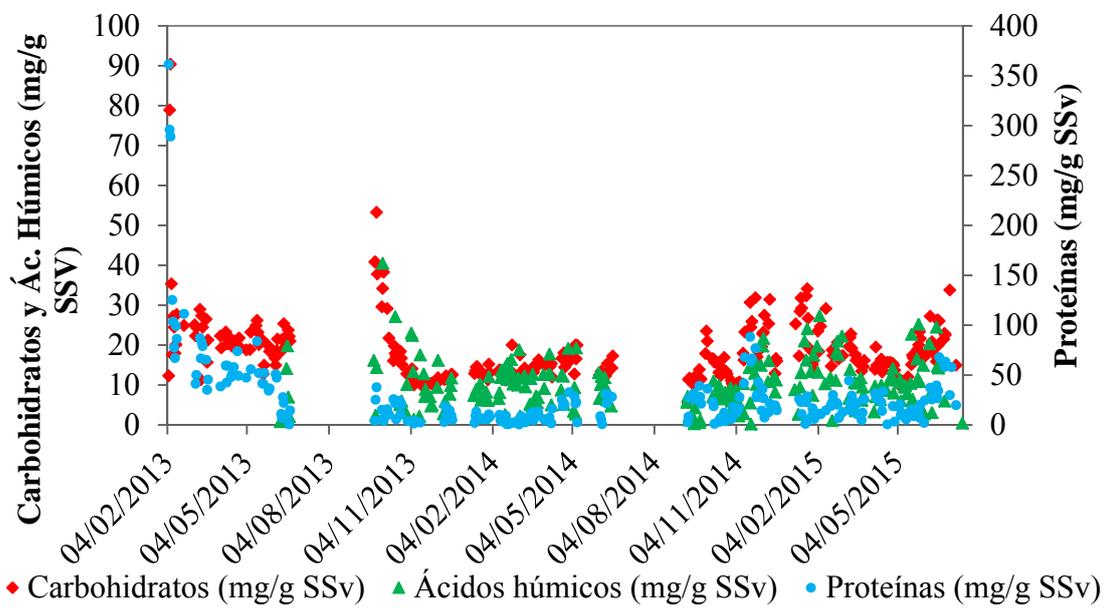


Figura 4.46: Evolución de los biopolímeros presentes en el EPS

Teniendo en cuenta el periodo donde se han realizado independientemente la caracterización de proteínas y ácidos húmicos, se obtienen unos valores medios de proteínas, carbohidratos y ácidos húmicos de $17,84 \pm 15,32$ mg/g SSV, $17,19 \pm 6,68$ mg/g SSV y $10,20 \pm 6,11$ mg/g SSV respectivamente. La concentración de proteínas ha tenido un valor máximo de $88,38$ mg/g SSV y un valor mínimo de $0,59$ mg/g SSV, la de carbohidratos un valor máximo de $53,32$ mg/g SSV y un valor mínimo de $5,67$ mg/g SSV y la de ácidos húmicos ha tenido unos valores máximos y mínimos de $40,49$ y $0,24$ mg/g SSV respectivamente.

Los datos obtenidos presentan que los componentes mayoritarios de los EPS son las proteínas pero con valores prácticamente iguales a los carbohidratos. La composición del EPS extraído depende de muchos factores, entre los que se encuentra el tipo de reactor, los parámetros del proceso y el método de extracción utilizado (Nielsen and Jahn, 1999). Debido a ello hay una gran controversia en la composición del EPS. Aunque al principio se consideraban a los carbohidratos como el principal componente de los EPS (Costerton et al., 1981), investigaciones más recientes han demostrado que son las proteínas los componentes mayoritarios en el EPS procedentes de fangos activos (Dignac et al., 1998). Resultados similares encontraron Cabassud et al. (2004) ya que definieron como el componente mayoritario del EPS a las proteínas, con unos concentraciones de 25-30 mg/g SSV. En la misma investigación, se encontró que los ácidos húmicos tenían una concentración de 12-13 mg/g SSV, mientras que los carbohidratos estaban en concentraciones de 7-8 mg/g SSV. Estudios realizados con agua sintética, también han demostrado que las proteínas son el mayor componente del EPS extraído (Le-Clech et al., 2003a; Gao et al., 2004; Ji and Zhou, 2006). En el caso contrario, y también utilizando agua sintética, se encuentra el estudio realizado por Ahn et al. (2005), en el que encontraban una mayor composición en carbohidratos que en proteínas, teniendo unos valores de 36 y 29 mg/g SSV respectivamente.

Al expresar los resultados obtenidos en términos de porcentaje (Figura 4.47), se observa como el porcentaje medio mayor a lo largo del periodo de análisis lo tienen los carbohidratos con un valor medio de $43,36 \pm 11,91$ %. El porcentaje medio de las proteínas es de $36,55 \pm 19,46$ % y el de los ácidos húmicos de $27,37 \pm 14,50$ %. Los valores máximos y mínimos obtenidos en proteínas, carbohidratos y ácidos húmicos han sido 74,37 y 2,00 %, 85,41 y 22,22 %, y 64,92 y 0,26 % respectivamente.

Para complementar este estudio, se ha realizado la evolución conjunta de la concentración de los componentes del EPS junto al SRT, viendo cómo ha influenciado la edad del fango en la composición del EPS. En la Figura 4.48 se observa como cuando hay periodos en los que el SRT es bajo, la predominancia la tienen los carbohidratos. Esto es debido a que se produce una acumulación, habiendo una mayor relación F/M, por lo que los microorganismos producen más cantidad de EPS y aumentan las reservas acumuladas. En el caso opuesto, cuando el SRT es mayor, hay una mayor concentración de microorganismos en el fango activo que se alimentan de los compuestos fácilmente

metabolizables, que causan una disminución de sus concentraciones (Laspidou and Rittmann, 2002). En base a esto, los carbohidratos serán consumidos por los microorganismos antes que las proteínas ya que son más fáciles de metabolizar, disminuyendo su valor y por lo tanto quedando las proteínas como el componente mayoritario del EPS a SRT mayores. La reducción de carbohidratos es visible claramente en Octubre de 2013, donde la ausencia de purga hizo aumentar rápidamente al SRT, disminuyendo rápidamente la composición de los carbohidratos.

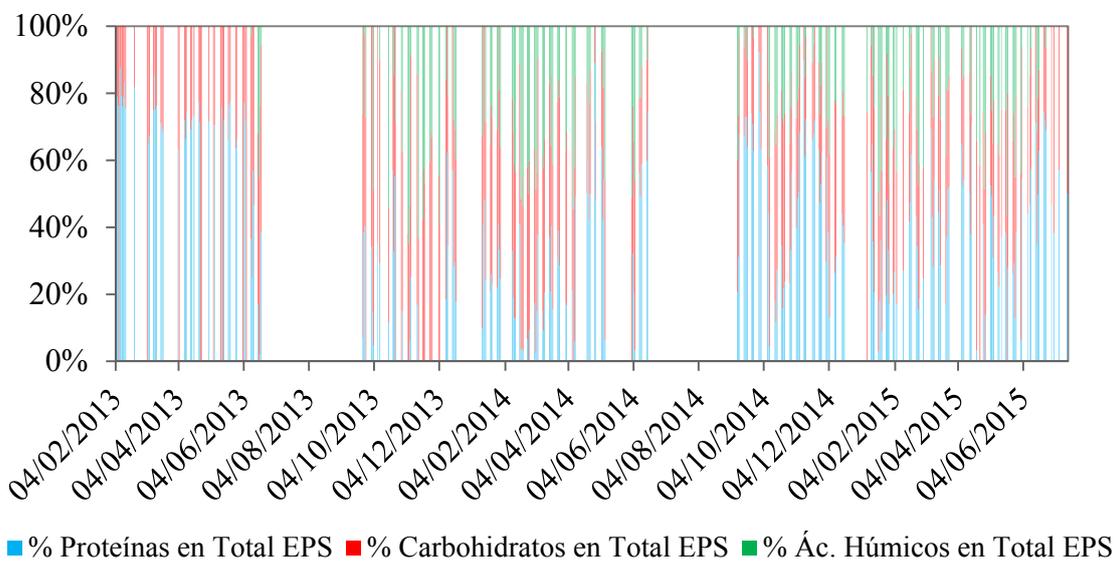


Figura 4.47: Evolución del porcentaje de los biopolímeros respecto al total de EPS

Al igual que para el SMP, el EPS y sus componentes, los variables operacionales y los parámetros operacionales han sido estudiados estadísticamente. Se ha analizado la relación entre ellos mediante los coeficientes de Pearson. En la Tabla 4.24 se ha representado los coeficientes de Pearson entre variables operacionales y la concentración de EPS y sus componentes y en la Tabla 4.25 se ha representado los coeficientes de Pearson entre parámetros operacionales y la concentración de SMP y sus componentes.

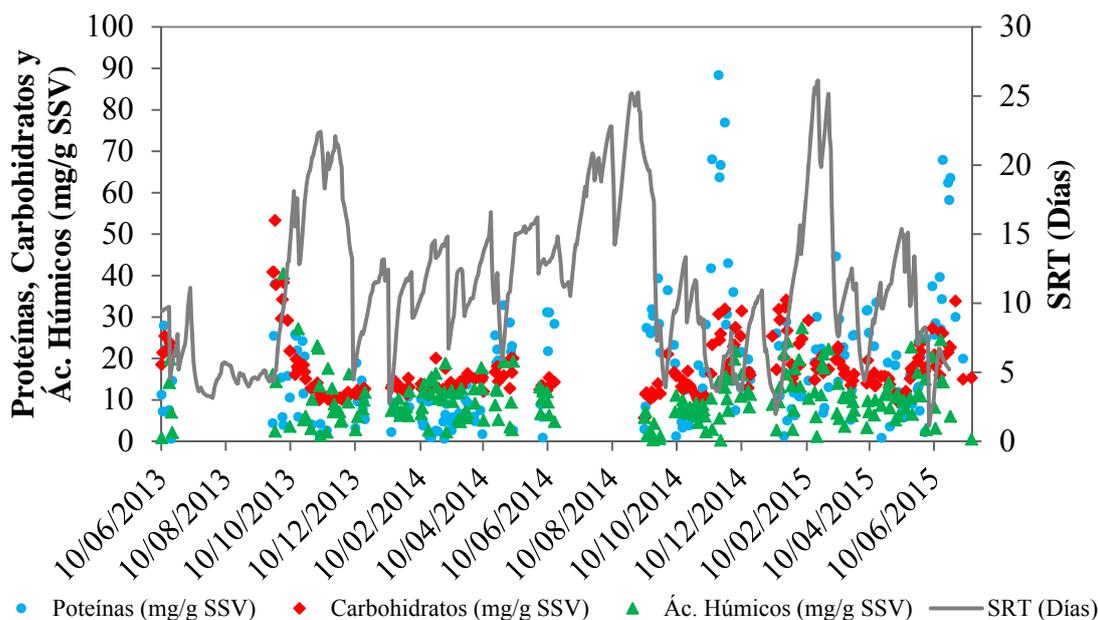


Figura 4:48: Evolución conjunta del SRT y los biopolímeros presentes en el EPS

La variable operacional que ha afectado más a los EPS ha sido el SRT, obteniéndose un coeficiente de Pearson de $-0,3750$ y un p -valor $< 0,01$. En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que el EPS aumenta conforme el SRT disminuye, siendo más remarcable en el caso de los carbohidratos del EPS (EPS_c), con un coeficiente de Pearson de $-0,4248$ y un p -valor $< 0,01$. Al disminuir el SRT, aumenta la relación F/M, habiendo más cantidad de alimento disponible para los microorganismos. En periodos de abundancia, los microorganismos tienden a acumular sustancias de reserva por lo que el EPS, y los carbohidratos en especial, aumentarán.

El efecto del SRT en la producción de EPS ha sido muy debatido entre los diversos investigadores que lo han estudiado. Badireddy et al. (2010) observaron mayores concentraciones de EPS en SRTs más altos, lo que implica que los microorganismos produjeron más EPS bajo metabolismo endógeno. Sin embargo, la mayoría de los investigadores (Malamis and Andreadakis, 2009; Janus and Ulanicki, 2010; Ahmed et al., 2007; Masse et al., 2006) han encontrado menor concentración de EPS en SRTs más altos. Otros estudios han demostrado que el EPS total fue independiente del SRT, aunque se observó un fuerte efecto en su composición (Liao et al., 2001). Varios factores, ya sean solos o combinados, juegan un papel importante en la formación de

EPS. El HRT puede influir tanto en la relación F / M del biorreactor como en la concentración de MLSS, la cual está afectando y a su vez relacionada con la producción de EPS (Meng e al., 2009).

Liao et al. (2001) observaron que los incrementos del SRT de 4 a 12 días disminuyeron el contenido de EPS_c y aumentaron el de las proteínas del EPS (EPS_p), confirmando los resultados obtenidos en la presente investigación.

Tabla 4.24: Coeficientes de Pearson entre variables operacionales y concentración de EPS y componentes

	EPS Total	EPS_p	EPS_c	EPS_{ac}
HRT	-0,0768	-0,0339	-0,0549	-0,0023
SRT	-0,3750**	-0,3104**	-0,4248**	-0,0078
COV_{dqo}	-0,0439	0,0952	-0,2130**	-0,2378**
COV_{sst}	-0,1666**	0,1328	-0,1379	-0,2038**
T^a Mínima	-0,0255	0,1754*	0,0380	-0,1304
T^a Media	-0,1458*	0,1610*	0,0780	-0,1173
T^a Máxima	-0,0515	0,1374	0,0440	-0,1353

**Correlación significativa con p-valor < 0,01

*Correlación significativa con p-valor < 0,005

El efecto de la temperatura del fango activo no tiene una gran correlación con los EPS. Solo en el caso de la temperatura media se puede encontrar una leve correlación con el EPS Total (coeficiente de Pearson -0,1458 y p-valor < 0,05). Según diversos autores, la temperatura influencia a los MLSS y MLSSV, disminuyendo su valor conforme la temperatura aumenta (Ruiz et al., 2011; Arévalo et al., 2014; Janus and Ulanicki, 2010). Cabe señalar que el coeficiente de rendimiento heterotrófico (YH) y el coeficiente de desintegración (bH) del fango activo aumentan con la temperatura, teniendo bH una relación lineal y YH alcanzando un valor máximo. El hecho de que la actividad microbiana aumente con la temperatura explica la disminución de la relación VSS / TSS cuando la temperatura aumentó debido a los mayores valores de bH y la reducción en la

producción neta de fangos a temperaturas más altas (Arévalo et al., 2014). Al reducirse la concentración en VSS, la concentración de EPS también disminuirá, por lo que se entiende que un aumento en la temperatura media provocará un descenso en el EPS Total. Este patrón también se observó en los modelos matemáticos de Janus y Ulanicki (2010), basado en el modelo ASM3 de lodo activo en el que la relación entre la concentración de EPS y la temperatura fue controlada por un coeficiente de hidrólisis de EPS, cuya tendencia fue similar al coeficiente de hidrólisis de la fracción particulada biodegradable de la materia orgánica.

Las EPS_p también tienen una correlación leve con las temperaturas media y mínima, obteniendo unos coeficientes de Pearson de 0,1610 (p-valor < 0,005) y 0,1754 (p-valor < 0,05). Como se ha visto en los coeficientes de Pearson, en este caso la correlación es positiva, aumentando la concentración de EPS_p conforme aumenta la temperatura. Esta relación es consistente con los resultados obtenidos en la evolución de EPS, donde las EPS_p aumentan cuando aumenta la actividad microbiana (disminución de SRT) pero al no ser consumidas, debido a su baja metabolización por parte de los microorganismos, se van acumulando en el sistema.

De las cargas orgánicas estudiadas solo COV_{sst} tienen una influencia en el EPS Total con un coeficiente de Pearson de -0,1666 y un p-valor < 0,01. Según el resultado obtenido se puede entender que a menor carga orgánica habrá una mayor cantidad de EPS Total en el fango activo. Esta relación se hace más fuerte en el contenido de ácidos húmicos del EPS (EPS_{ac}) con un coeficiente de Pearson de -0,2038 (p-valor < 0,01). Este parámetro va a influir directamente a los MLSS por lo que habrá mayor cantidad de MLSS cuanto mayor sea la COV_{sst}. Al haber mayor cantidad de MLSS habrá también una mayor cantidad de microorganismos que aumentarán a su vez su actividad metabólica. Si la relación F/M es baja, el sistema entrará en un ciclo de endogénesis, es decir, los microorganismos se alimentarán de las sustancias de reserva presentes en el fango activo, reduciendo el valor del EPS Total y de sus componentes. En el mismo caso estarían los EPS_c y EPS_{ac} que tienen una relación negativa con la COV_{dqo} (Coeficientes de Pearson de -0,2130 con p-valor < 0,01 y -0,2378 con p-valor < 0,01 respectivamente), ya que los MLSS también se verán afectados por las variaciones de la COV_{dqo}.

En la Tabla 4.25 se muestra, mediante los coeficientes de Pearson, como los parámetros más relacionados con el EPS Total y sus componentes son los MLSS y MLSSV. Esto se debe a que tanto los EPS como sus componentes forman parte de la biomasa del fango activo por lo que habrá una gran relación entre ellos, con unos coeficientes de Pearson de entre -0,2017 y -0,7696 y con un p-valor $< 0,01$ en todos los casos.

Según lo establecido en los apartados anteriores y los estudios realizados por Rosenberger et al. (1999), la viscosidad tiene una correlación muy importante con los MLSS, con un $R^2 = 0,8272$ en el presente caso de estudio. Debido a ello se obtiene una correlación muy fuerte entre la viscosidad y el EPS Total y sus componentes, siendo la mayor correlación la obtenida con los EPS_c (coeficiente de Pearson de -0,6714 y p-valor $< 0,01$).

Tabla 4.25: Coeficientes de Pearson entre parámetros operacionales y concentración de EPS y componentes

	EPS Total	EPS_p	EPS_c	EPS_{ac}
Hidrofobicidad	-0,0090	-0,0638	-0,2423**	-0,0695
MLSS	-0,5182**	-0,4466**	-0,7350**	-0,2017**
MLSSV	-0,5298**	-0,4531**	-0,7696**	-0,2246**
MLSSV/MLSS	0,1886*	0,1531	0,0961	0,1168
TMP Máxima	0,0177	-0,1019	-0,2689**	-0,0927
TMP Media	-0,0371	0,0180	-0,0707	0,1324
TMP Mínima	0,2031**	0,0792	-0,0922	0,0187
Viscosidad	-0,4132**	-0,3360**	-0,6714**	-0,2289**
DQO_{ef}	-0,1415	-0,1842*	-0,0671	0,0930

**Correlación significativa con p-valor $< 0,01$

*Correlación significativa con p-valor $< 0,005$

Los EPS_c son los únicos componentes que poseen correlación con la hidrofobicidad. Se ha obtenido una correlación negativa con un coeficiente de Pearson de -0,2424 y un p-

valor $< 0,01$. Los resultados obtenidos indican que al aumentar la concentración de EPSc disminuye la hidrofobicidad por lo que se entiende que los EPSc tienen carácter hidrofílico. El resultado obtenido es apoyado por los resultados obtenidos por Liu and Fang (2003) que demostraban una tendencia hidrofílica en los carbohidratos y una tendencia hidrofóbica en las proteínas.

El contenido en EPS hidrofílico ha sido identificado como un importante causante del ensuciamiento de membrana (Le-Clech, 2006). Fang and Shi (2005) encontraron que las membranas más hidrofílicas eran más vulnerables al ensuciamiento por sustancias hidrofílicas como es el caso del presente estudio, ya que la membrana utilizada tiene un tratamiento hidrofílico. Sin embargo, en el mismo estudio, la membrana más hidrófila también presentó más poros abiertos, lo que podría ser otra razón para producirse un ensuciamiento importante. A pesar de la importancia de la hidrofobicidad de la membrana en la etapa temprana de la formación de incrustaciones, se espera que este parámetro desempeñe un papel menos importante durante los períodos prolongados de filtración. Una vez ensuciada la membrana inicialmente (es decir, acondicionadas), las características químicas de la membrana serán secundarias en relación a las de los componentes del fango activo que cubren la superficie de la membrana (Le-Clech, 2006).

A diferencia de lo ocurrido para los compuestos del SMP, el EPSp tiene una leve correlación significativa con la calidad del efluente (coeficiente de Pearson de $-0,1842$ y p -valor $< 0,05$), disminuyendo la concentración de la DQO del efluente cuando disminuye la concentración del EPSp. Los EPS retienen a los flóculos más fuertemente sobre la membrana e incrementan la dificultad de la eliminación de la torta (Chu and Li, 2005). Debido a ello, esta relación puede ser explicada de manera que una mayor cantidad de EPSp ayudará a la formación de la capa de la torta, produciéndose una disminución en el tamaño de los poros de la membrana. Con un menor tamaño de poro, la filtración será más efectiva por lo que el efluente será de mayor calidad.

A excepción de los EPSc con la TMP máxima (coeficiente de Pearson de $-0,2689$ y p -valor $< 0,01$), ninguno de los componentes de los EPS tiene una correlación significativa con las diferentes TMP medidas. Después de las pérdidas de biomasa durante la fase de experimentación, la TMP máxima sufrió grandes aumentos a

consecuencia de la disminución de SRT y de los MLSS. Tras las pérdidas incontroladas de fango activo, el sistema se recuperaba y alcanzaba las condiciones de estado estacionario. Debido a las variaciones producidas en la concentración de la biomasa, la relación F/M sufrió grandes variaciones, provocando que se pasara rápidamente de condiciones endógenas (baja relación F/M) a condiciones de acumulación (alta relación F/M). Estas variaciones se pueden apreciar en la Figura 4.49, en la que se representa conjuntamente las variaciones producidas en los EPSc y las de la TMP máxima a lo largo del periodo de estudio.

Como es visible en la evolución de la TMP máxima, cada vez que se ha producido un aumento en la concentración de EPSc, se ha producido un ascenso en su valor. En el comienzo de la etapa de experimentación se produjo un aumento de los EPSc hasta un valor máximo cercano a 90 mg/g SSV, produciendo un aumento rápido en la TMP máxima hasta llegar a los valores límites de operación (-0,25 bar) y siendo necesario realizar una limpieza química para poder recuperar los valores de TMP adecuados. También se pueden observar dos procesos similares con idéntico final, uno en Octubre del 2013 y otro en Febrero del 2015. En este último, la realización de limpiezas químicas no fue suficiente para eliminar el ensuciamiento y se tuvieron que cambiar las membranas por lo que se entiende que el tipo de ensuciamiento era irreversible.

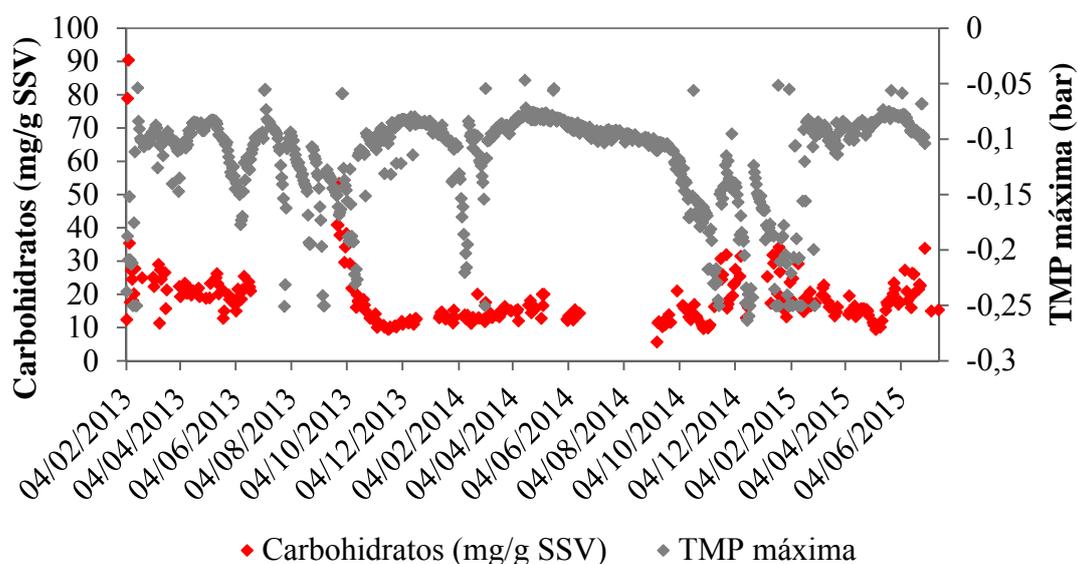


Figura 4.49: Evolución de la TMP máxima y los EPSc

Es llamativa la subida de TMP máxima en el mes de Febrero del 2014 ya que no se produce un incremento en la concentración de EPS_c. Esta variación se debió a problemas con las soplantes que ejercen la turbulencia necesaria para que la deposición de sustancias sobre la membrana sea baja, lo que provocó un mayor ensuciamiento en su superficie.

Yigit et al. (2008) caracterizaron la biomasa de un MBR a escala piloto y encontraron que tanto los carbohidratos del SMP como los del EPS contribuían más al ensuciamiento de la membrana que las proteínas. Esta conclusión es consistente con la tendencia del sistema estudiado, en el que se encontró una correlación inversa entre EPS_c y la TMP máxima, por lo que los carbohidratos son un componente importante a la hora de abordar el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR.

Para conocer su comportamiento, se ha estudiado la relación existente entre los SMP Totales, los EPS Totales y sus componentes. Las interrelaciones entre EPS y SMP son muy complejas ya que el EPS puede estar relacionado con la utilización del sustrato y la biomasa activa, mientras que el SMP puede estar relacionado con la utilización del sustrato, así como con la descomposición de la biomasa (Laspidou and Rittmann, 2002).

En la Tabla 4.26 se puede visualizar los coeficientes de Pearson mientras que en la Figura 4.50 se ha representado las correlaciones lineales existentes entre los EPS, SMP y sus componentes. Como se puede apreciar, el EPS Total y el SMP Total tiene una gran correlación entre ellos, con un coeficiente de Pearson de 0,6470 y un p-valor < 0,01, por lo que se puede definir una evolución conjunta, habiendo mayor cantidad de SMP cuanto mayor sea la concentración de EPS ya que ambos son productos del metabolismo celular. En relación a los componentes de los EPS y SMP, se observa una correlación positiva entre los EPS_p, EPS_c, SMP_p y SMP_c. Sin embargo, los EPS_a solo tienen correlación significativa con los SMP_a. Hay que recordar que los EPS_a y SMP_a tenían una correlación significativa con la COV_{dqo} y COV_{sst}, por lo que la concentración de este compuesto puede venir definida por la composición del influente, confirmando los resultados obtenidos por Sponza (2003) en los que informaba que la composición del SMP y EPS estaba relacionada con el tipo de agua utilizada.

Los mismos compuestos en EPS y SMP tienen en todos los casos una correlación positiva. Para las proteínas se ha encontrado un coeficiente de Pearson de 0,2989 con un

p-valor < 0,01, mientras que para los carbohidratos y ácidos húmicos se han encontrado un coeficiente de Pearson de 0,4670 y 0,2480 respectivamente con un p-valor < 0,01 en ambos casos. Nuevamente se demuestra que tanto los EPS y SMP, así como sus componentes son dependientes unos de otros.

Tabla 4.26: Coeficientes de Pearson entre EPS, SMP y sus componentes

	EPS Total	EPSp	EPSc	EPSac
SMP Total	0,6470**	0,2167**	0,4958**	0,1641*
SMPp	0,3268**	0,2989**	0,3014**	-0,0360
SMPc	0,3649**	0,1708*	0,4670**	0,1444*
SMPac	0,4576**	0,1863**	0,5357**	0,2480**

**Correlación significativa con p-valor < 0,01

*Correlación significativa con p-valor < 0,005

4.4. ENSUCIAMIENTO DE LA MEMBRANA

El ensuciamiento de la membrana ha sido considerado una gran desventaja y limitación en los procesos MBR, siendo investigado desde su aparición hasta hoy en día ya que sigue siendo uno de los mayores problemas que existen para su desarrollo (Yang et al., 2006). En ensuciamiento está asociado a la obstaculización del flujo hidráulico de permeado producto de la filtración, lo que se puede medir como una resistencia al flujo hidráulico a través de la membrana (Bae et al. 2003; Fang y Shi 2005). En base a esto, si se conoce la evolución de la resistencia producida en el flujo hidráulico, se podrá conocer la evolución del ensuciamiento y determinar qué factores han intervenido en su acumulación en la membrana.

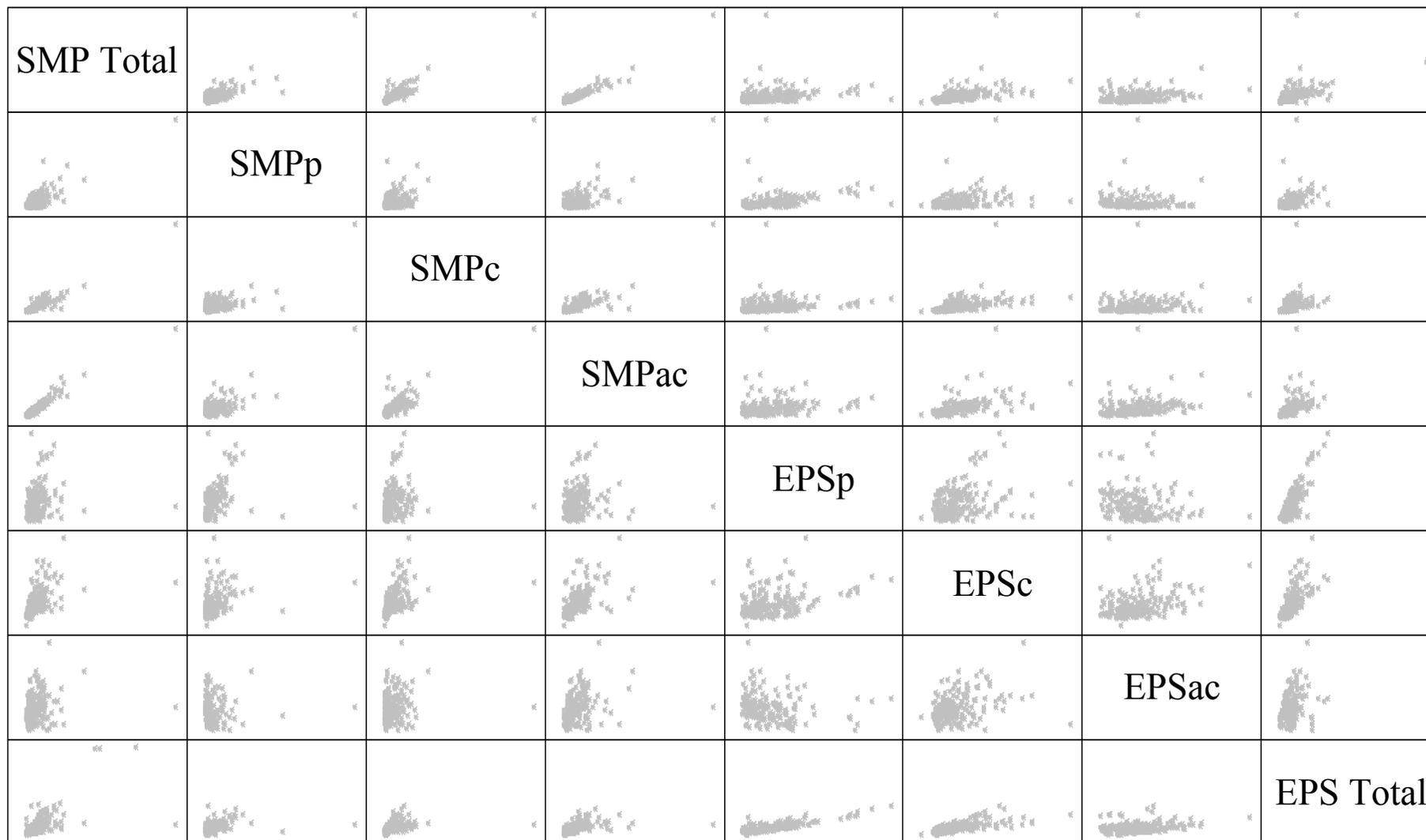


Figura 4.50: Matriz de correlaciones entre EPS, SMP y sus componentes

4.4.1. Evolución de la Resistencia a la Filtración

La resistencia a la filtración viene originada por la resistencia que provocan las suspensiones celulares, que contienen materias tanto disueltas como en suspensión, a la filtración. Este parámetro ha sido objeto de numerosos proyectos de investigación ya que a través de su análisis es posible describir el fenómeno de ensuciamiento de la membrana.

Se han desarrollado numerosos modelos empíricos y teóricos para describir este parámetro. El modelo de las resistencias en serie es el modelo más simple descrito (Field et al., 1995; Lee et al., 2001a), el cual se basa en la ecuación de Darcy (Ec. 1), en la cual el flujo hidráulico es función de la TMP y la resistencia total (R_t).

$$J = \frac{TMP}{\mu \cdot R_t} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

J es la densidad de flujo de permeado ($\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{s}$).

TMP es la presión transmembrana (Pa).

μ es la viscosidad del permeado ($\text{Pa} \cdot \text{s}$).

R_t es la resistencia a la filtración (m^{-1}).

Según este modelo, el flujo es inversamente proporcional a la resistencia total, siendo esta última la suma de resistencias individuales. Bae and Tak (2005) proponen una expresión para el cálculo de la resistencia total (Ec. 2), la cual se expresa como la suma de diferentes resistencias en serie.

$$R_t = R_m + R_f + R_c \quad \text{Ec.2}$$

Donde:

R_m es la resistencia intrínseca de la membrana (m^{-1}).

R_f la resistencia debida al ensuciamiento irreversible (m^{-1}).

R_c es la resistencia debida a la capa de la torta formada sobre la membrana que genera resistencia reversible (m^{-1}).

Hay que tener en cuenta que R_m es la resistencia a la filtración que ofrece la membrana limpia y que en el presente estudio la ha suministrado la casa comercial, siendo su valor de $0,05 \times 10^{12} m^{-1}$.

Al haberse producido la reposición de los cartuchos de membranas, se han graficado independientemente los diferentes juegos de membrana. La Figura 4.51 corresponde al periodo desde el comienzo del estudio hasta el día 13 de Febrero de 2015, día que se cambian las membranas, y la Figura 4.50 corresponde al periodo desde el día siguiente del cambio de membranas hasta el final de la fase experimental.

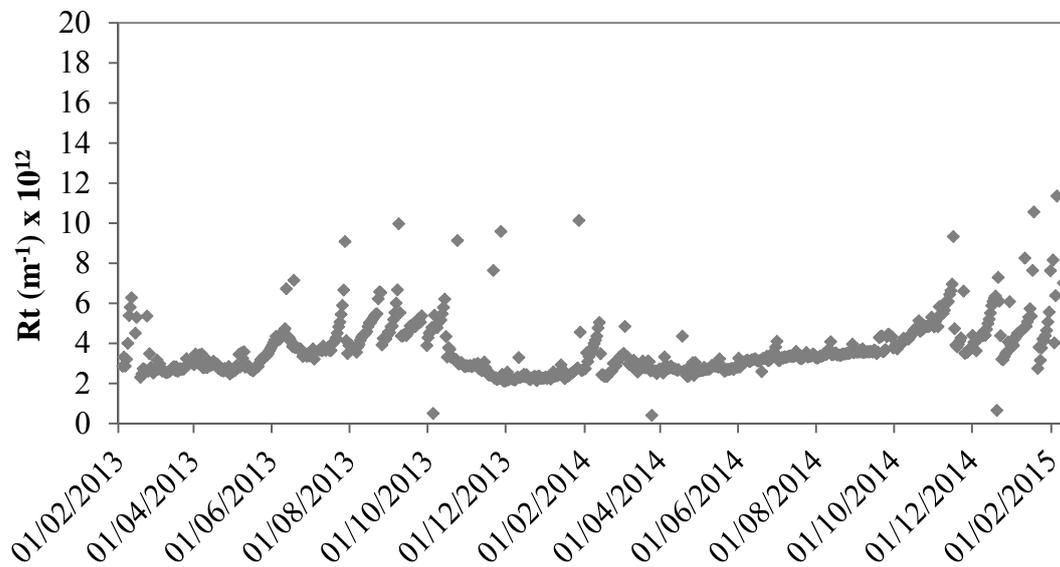


Figura 4.51: Evolución R_t con el primer juego de membranas

A lo largo del periodo de estudio con el primer juego de membranas, se ha trabajado con una resistencia hidráulica a la filtración media de $3,6 \pm 1,26 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ y con unos valores mínimos y máximos de $0,41$ y $11,36 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$. El valor registrado es muy próximo al observado por Deng et al. (2015) ya que trabajaron con $4,05 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ en un MBR común, y con $3,54 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ en un MBR con adición de un polímero catiónico (MPE o MPE50). Según Lee et al. (2001a) la resistencia a la filtración venía definida por la resistencia de la membrana (12%), la resistencia al ensuciamiento reversible (80 %) y la resistencia del ensuciamiento irreversible (8 %). Como se puede ver en la Figura 4.51 hay varios valores que se salen de la evolución que ha tenido la resistencia a la filtración de la membrana durante el periodo de estudio. Esto se debe a problemas técnicos que modificaron el flujo hidráulico y por lo tanto la Rt.

La estación experimental se comenzó a operar sin inoculación previa, lo que provocó diversas alteraciones en la Rt y pausas en el permeado, siendo necesario aplicar varias limpiezas químicas para recupera TMP. Durante esta fase de puesta en marcha, el proceso microbiológico aún no se había establecido y no se podía considerar que el sistema estuviese operando bajo condiciones de estado estacionario. Estas condiciones operativas fueron muy negativas para la membrana ya que fue expuesta a un taponamiento o bloqueo de poros debido a que la torta sobre la superficie de la membrana no se pudo desarrollar (Le-Clech, 2010; Malamis and Andreadakis, 2007).

A medida que se iba consiguiendo el estado estacionario, y como se ve en la evolución de la resistencia total a la filtración, el valor de Rt fue creciendo paulatinamente hasta que se realiza una limpieza química con hipoclorito sódico el día 16 de Octubre de 2013. Según el estudio realizado por Sarioglu et al. (2012), la resistencia de la torta antes de realizar la limpieza química es el principal componente que afecta a la resistencia hidráulica a la filtración, por lo que en ese momento la membrana está libre del ensuciamiento reversible lo que provocó una disminución en su valor. La contribución de la resistencia de la torta a la resistencia total tiene un rango de 52.97% a 79.40% (Meng et al., 2008). La evolución de este episodio ocurre varias veces más a lo largo del periodo de estudio, teniendo que realizar en todos una limpieza química para reducir los valores de la resistencia total de la membrana a la filtración. Concretamente, las posteriores limpiezas químicas se realizaron el 14 de Febrero de 2014, el 18 de Noviembre de 2014, el 5 de Febrero de 2015 y el 9 de Febrero de 2015. En todos los

casos, la resistencia a la filtración redujo su valor tras las limpiezas químicas por lo que se puede establecer que los problemas de ensuciamiento eran de tipo reversible. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la recuperación de la R_t no es total, ya que los valores no alcanzan sus valores mínimos iniciales. En base a esto, las limpiezas químicas no fueron efectivas al 100 %, quedando algunas sustancias resistentes a las limpiezas químicas que influían en el de ensuciamiento en la membrana. Sarioglu et al. (2012) concluyó que aunque tras realizar la limpieza química no hay resistencia específica a la torta, hay otros componentes que afectan al bloqueo de los poros de la membrana, siendo estos los principales componentes de la resistencia a la filtración que conducen al ensuciamiento. La presencia de este ensuciamiento indica un ensuciamiento permanente, el cual irá en aumento. Debido a su masiva presencia, las últimas limpiezas químicas no fueron útiles y se decidió reemplazar las membranas.

El segundo periodo de estudio en la resistencia a la filtración (Figura 4.52) se trabajó con unos valores medios de $3,00 \pm 0,51 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ y con unos valores mínimos y máximos de $2,38$ y $5,65 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$, trabajando por debajo de los valores con los que trabajaron Deng et al. (2015). También se comenzó a operar con valores de R_t anormalmente altos ya que las membranas planas de microfiltración se estaban utilizando por primera vez y al no tener formada la torta de protección las membranas se ensuciaron rápidamente. Esto obligó a tener que reducir el caudal de permeado hasta que la membrana permitiera volver al valor con el que se había trabajado normalmente para que no se produjera un ensuciamiento de la membrana irreparable. Pasado el periodo de aclimatación, se puede observar como el valor de R_t permanece más o menos estable con pequeñas fluctuaciones hasta el final de la fase experimental.

Según Mulder et al. (2000), Jenkins et al. (2004), Jiang et al. (2005) y Pan et al. (2010a) el aumento de la resistencia a la filtración puede estar motivado principalmente por cuatro fenómenos:

- La temperatura presenta influencia sobre la TMP a través de la viscosidad del fluido, de forma que al descender la temperatura el fango aumenta su viscosidad y su resistencia hidráulica al filtrado. La viscosidad del fango se ve aumentada hasta en un 10%, dificultando la filtración y reduciendo la tensión de corte del flujo de burbuja gruesa que peina la superficie de membrana.

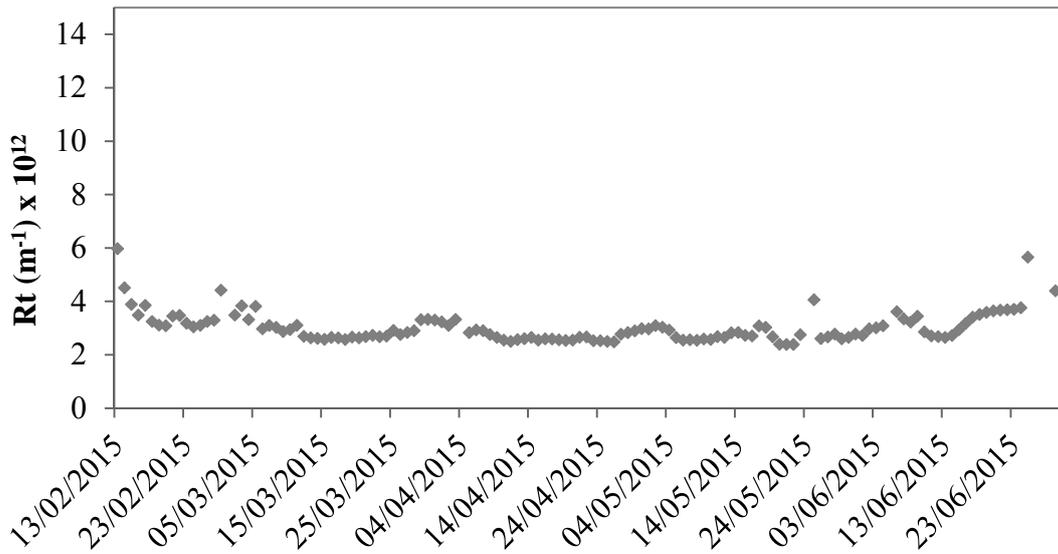


Figura 4.52: Evolución Rt con el segundo juego de membranas

- El proceso de defloculación se ve incrementado a bajas temperaturas, aumentando la cantidad de bacterias filamentosas, reduciendo el tamaño de floculos de la biomasa y aumentando la liberación de productos celulares al medio, como SMP y EPS, que presentan una gran influencia sobre el ensuciamiento de membrana.
- La velocidad de transporte de las partículas, calculada mediante el coeficiente de difusión Browniano está linealmente relacionada con la temperatura, disminuyendo al disminuir esta.
- La degradación de los compuestos de DQO se reduce al disminuir la temperatura, resultando una mayor concentración de materia soluble y particulada de DQO en el reactor.

Además de los fenómenos citados, la TMP y por lo tanto la resistencia de la membrana a la filtración, se ven afectados por la aireación de la membranas y las limpiezas químicas realizadas. La aireación de las membranas es necesaria para evitar la elevada deposición de sólidos en suspensión en la superficie de estas. Las soplantes utilizadas durante la fase de experimentación para airear las membranas son soplantes de “palas”

que se van desgastando debido al funcionamiento y progresivamente va disminuyendo el caudal que son capaces de suministrar. Este suceso provocó que a mitad del mes de Febrero de 2014 el flujo de aire suministrado fuese insuficiente para arrastrar los excesos de fango adheridos a la superficie de la membrana y provocó un aumento de la resistencia a la filtración y de la TMP. Tras sustituir las piezas se apreció un descenso en los valores de TMP y Rt por lo que es necesario un estricto control operativo sobre estos procesos para evitar un aumento en el ensuciamiento y alargar el tiempo de operación ya que el flujo de burbujas sobre las membranas presenta un gran efecto sobre el ensuciamiento (Delrue et al., 2011).

Como se ha visto en el apartado de introducción, las limpiezas químicas son tratamientos agresivos sobre la superficie de la membrana que pueden modificar las propiedades físicas de estas (Arkhangelsky et al., 2007b; Wang et al., 2010) por lo que solo deben utilizarse cuando sea estrictamente necesario. Mediante la aplicación de reactivos se puede eliminar eficazmente el ensuciamiento de la membrana, recuperando su permeabilidad y disminuyendo la resistencia a la filtración. Es un proceso que produce un gran desgaste en las membranas ya que se pueden modificar las características químicas de las membranas (Kuzmenko et al., 2005; Arkhangelsky et al., 2007a; Wang et al., 2010) y reducir su resistencia mecánica al deteriorarse los materiales (Arkhangelsky et al., 2007b).

A lo largo de la fase de estudio se han realizado las siguientes limpiezas químicas de las membranas:

- Limpieza química de mantenimiento con hipoclorito sódico el día 16 de Octubre de 2013.
- Limpieza química de mantenimiento con hipoclorito sódico el día 14 de Febrero de 2014.
- Limpieza química de mantenimiento con hipoclorito sódico el día 18 de Noviembre de 2014.
- Limpieza química intensiva con hipoclorito sódico el día 5 de Febrero de 2015.

- Limpieza química intensiva con hipoclorito sódico y NaOH el día 9 de Febrero de 2015.

Teniendo en cuenta las limpiezas químicas realizadas y la Ec. 2 donde la resistencia total se expresaba como la sumatoria de diferentes resistencias se puede establecer que la resistencia generada por la formación de la capa de la torta es nula en el momento que se realiza la limpieza química al ser ensuciamiento reversible. Por lo tanto se puede definir una nueva ecuación para estos momentos (Ec. 3).

$$R_t = R_m + R_f \quad \text{Ec. 3}$$

Mediante la Ec. 3 y la ecuación de Darcy (Ec. 1), se puede establecer una ecuación para el ensuciamiento irreversible tras la realización una limpieza química (Ec. 4).

$$R_f = \frac{TMP}{\mu \cdot J} - R_m \quad \text{Ec.4}$$

De esta manera se puede controlar la evolución del ensuciamiento irreversible en la membrana (Figura 4.53), el cual viene provocado por la adsorción pasiva de coloides y el bloqueo de los poros de la membrana (Meng et al., 2009; Le-Clech et al., 2006). Como se han realizado cinco limpiezas químicas de membrana, se han calculado cinco valores de R_f durante la fase de estudio. Se ve como en los dos primeros valores la subida es muy pequeña pero a partir de ahí hay un incremento más intenso, duplicando los valores iniciales hasta llegar a un valor de $6,96 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ el día 9 de Febrero de 2015. La contribución del ensuciamiento de poros a la resistencia general oscila entre el 5% (Defrance et al., 2000) y el 52% (Wisniewski and Grasmick, 1998). La diferencia en estos valores puede estar en los diferentes tipos de membrana que se utilizaron en estos estudios (Hwang and Lin, 2002). El ensuciamiento irreversible puede acumularse gradualmente en la membrana, reduciendo su permeabilidad (Lee et al., 2001a). Tras el aumento de R_f se decidió cambiar las membranas ya que no se podía operar correctamente con dichas membranas debido a que el ensuciamiento irreversible era demasiado severo.

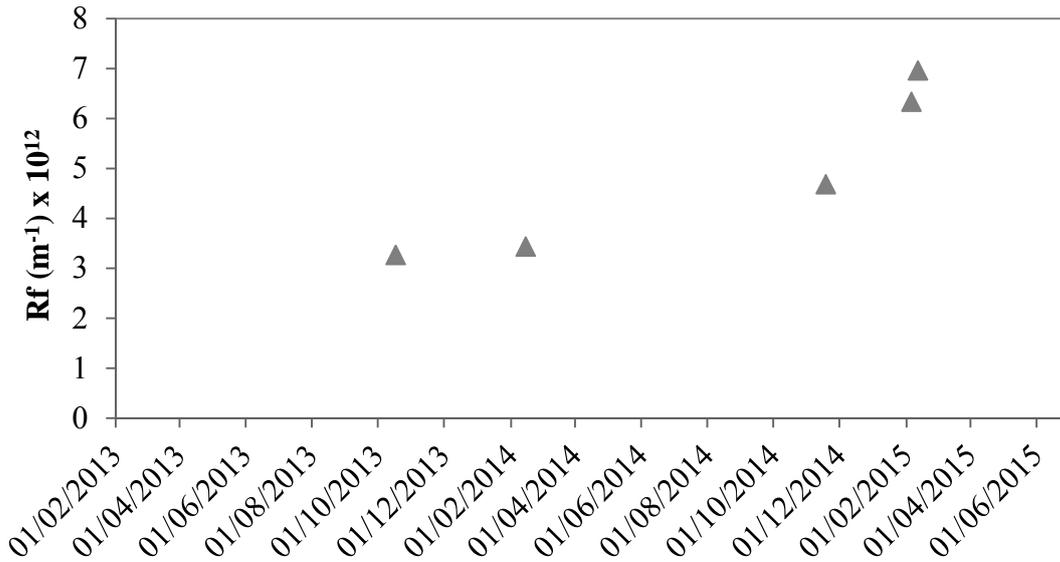


Figura 4.53: Evolución del ensuciamiento irreversible en la membrana

4.4.2. Influencia de los parámetros y variables operacionales en la resistencia a la filtración

A lo largo del apartado de materiales y métodos, se ha estudiado la relación que tenían las variables y parámetros operacionales con la TMP para conocer cómo la evolución de las características de la biomasa afectaba a la filtración. En este apartado se quiere dar a conocer qué componentes o sustancias son las que tienen una mayor influencia sobre la R_t , y por lo tanto son las causantes del ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR. Para ello se han estudiado las correlaciones existentes, mediante los coeficientes de Pearson, de las variables y parámetros operacionales con las que se ha trabajado durante la fase de análisis. Como la temperatura, la TMP y la viscosidad son parámetros que determinan la R_t , no se han tenido en cuenta en el estudio estadístico.

En la Tabla 4.27 y Figura 4.54 se aprecian los coeficientes de Pearson y las correlaciones lineales obtenidos respectivamente. De todas las variables operacionales, solo el SRT tiene una relación directa con el ensuciamiento de la membrana, con un coeficiente de Pearson de -0,1752 y un p-valor $< 0,01$. Esta tendencia muestra que un aumento en el SRT provoca una disminución de la R_t . Varios investigadores han

relacionado esta tendencia a un mejor control del ensuciamiento de la membrana cuando el SRT aumentaba (Lee et al. 2001a; Drews et al., 2008; Malamis and Andreadakis, 2009), causando estabilidad en la TMP y por lo tanto en la Rt. Cuanto más alto es el SRT habrá un mayor aumento en la concentración de MLSS pero se reducirá la relación VSS / TSS, ya que la mayor concentración de MLSS encontrada como consecuencia de trabajar con SRTs largas requiere altas tasas de aireación para proporcionar un suministro de oxígeno adecuado a la biomasa. Por otra parte, es más difícil conseguir un lavado eficaz de la membrana debido a una mayor viscosidad de fangos activos. Por lo tanto, operar a elevados SRTs aumenta el uso de energía externa. Los mayores SRT resultan en contenidos más bajos de sustancias volátiles, lo que puede atribuirse a una mejor degradación e hidrólisis de macromoléculas trabajando con altos SRTs (Duan et al., 2014). Como efecto positivo, los SRTs más altos, muestran menos ensuciamiento de la membrana por compuestos orgánicos, especialmente debido a un mejor control de los compuestos coloidales (Ahmed et al., 2007). Este menor ensuciamiento facilita el trabajo a valores más altos de SRT, prolongando la vida de las membranas, por lo que ofrece grandes ventajas económicas.

Tabla 4.27: Coeficientes de Pearson entre variables y parámetros operacionales y Rt

	Rt		Rt
SMP Total	0,3812**	HRT	0,0138
SMPp	0,3877**	SRT	-0,1752**
SMPc	0,3477**	COVd_{qo}	-0,0474
SMPac	0,3834**	COVs_{st}	-0,0519
EPS Total	0,2165**	Hidrofobicidad	-0,2289**
EPSp	0,2590**	MLSS	-0,2484**
EPSc	0,4439**	MLSSV	-0,2390**
EPSac	0,0935	MLSSV/MLSS	0,1256*

**Correlación significativa con p-valor < 0,01

*Correlación significativa con p-valor < 0,005

Aunque todos los parámetros estudiados a lo largo de la fase de experimentación presentan influencia sobre el ensuciamiento de la membrana, es el SMP Total el que tiene mayor influencia en el ensuciamiento con un coeficiente de Pearson de 0,3812 y p-valor $< 0,01$. Teniendo en cuenta a los componentes del SMP, también se pueden apreciar unos altos coeficientes de Pearson con un p-valor $< 0,01$ en todos los casos. Sin embargo, dentro del SMP, es el SMPac el que tiene mayor influencia en el ensuciamiento, seguido muy de cerca por SMPp y SMPc con resultados casi similares. Estudios realizados por Sun et al. (2011) y Wang et al. (2011) han demostrado que la formación de conjuntos biomoleculares de biomoléculas más pequeñas, tales como las sustancias húmicas, y otras especies, pueden formar grupos de biopolímeros mucho mayores que los SMP en sistemas MBR, provocando un ensuciamiento grave de la membrana.

Recientemente, la influencia del SMP en el ensuciamiento de la membrana en MBR ha atraído la atención considerablemente (Rosenberger et al., 2005, 2006; Jeong et al., 2007; Drews et al., 2008; Paul and Hartung, 2008). Huang et al. (2000) y Chang et al. (1998) han demostrado que el SMP tiene una influencia considerable en la resistencia de la membrana al ensuciamiento y que un aumento de este produce un aumento en la TMP. En contra posición se encuentran los estudios realizados por Lee et al. (2003) y Cho and Fane (2002), en los que se observa que los SMP no tienen ninguna influencia en el ensuciamiento de la membrana.

Algunos autores se centran en la composición química del SMP para justificar el ensuciamiento de la membrana en MBR. Rosenberger et al. (2006) y Yigit et al. (2008) han demostrado en sus estudios que los carbohidratos contribuyen más al ensuciamiento de la membrana que las proteínas. Sin embargo, otros autores han demostrado que las proteínas juegan un papel más importante que los carbohidratos en el ensuciamiento de la membrana (Meng et al. 2006). Según los datos obtenidos, todos los compuestos del SMP presentan una influencia positiva en el ensuciamiento de la membrana casi por igual, ya que tienen unos coeficientes de Pearson muy similares, por lo todos serán factores de riesgo a evaluar para reducir el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR.

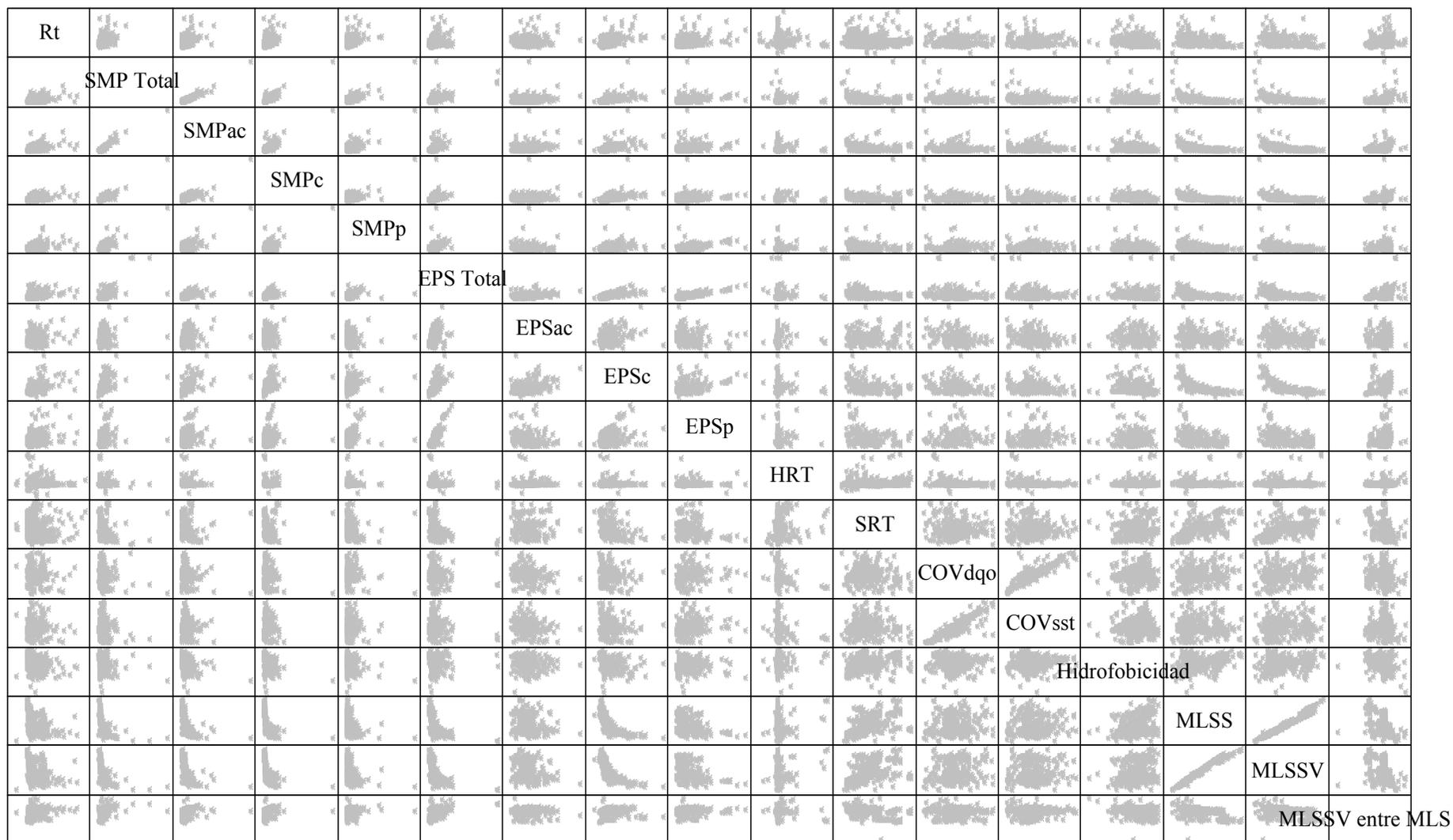


Figura 4.54: Matriz de correlaciones entre variables, parámetros operacionales y Rt

En relación a la evolución en la cantidad de EPS extraído durante la fase de experimentación se puede decir que existe una relación directa entre la R_t y la cantidad de EPS Total (coeficiente de Pearson de 0,2165 y p-valor $< 0,01$). Numerosos autores han recogido que el EPS es el principal causante del ensuciamiento de membrana (Ramesh et al., 2006; Ji and Zhou, 2006; Cho et al. 2005). Sin embargo, hay otros autores, como Rosenberger and Kraume (2003), que observaron que el EPS no tiene ningún impacto en la filtrabilidad, encontrando al SMP como responsable en la reducción de la filtrabilidad.

En lo referente a los resultados obtenidos en el análisis de correlación entre R_t y la composición del EPS, se aprecia como el EPS_c es el compuesto, de todos los estudiados, que mayor influencia tiene en el ensuciamiento de la membrana con un coeficiente de Pearson de 0,4439 y un p-valor $< 0,01$. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Yigit et al. (2008) en los que se demuestra que los carbohidratos son los principales componentes que provocan incrustaciones en la membrana. Aunque menor, las EPS_p tienen influencia en el ensuciamiento de la membrana con un coeficiente de Pearson de 0,2590 y un p-valor $< 0,01$, mientras que los EPS_ac no muestran ningún tipo de relación con la R_t .

Para tener un mejor entendimiento de las características del fango y sus efectos en el ensuciamiento de la membrana han sido realizadas numerosas investigaciones (Germain et al., 2005; Fan et al., 2006). Meng et al. (2009) han demostrado que el fango activado tiene un impacto muy complejo en el proceso de ensuciamiento de membrana. El EPS y SMP no pueden ser considerados como la única causa del ensuciamiento de membrana, aunque tienen gran efecto en las características del fango y el ensuciamiento de membrana. Aunque los resultados obtenidos en las investigaciones son diferentes unos de otros, debe decirse que las concentraciones de EPS y SMP están estrechamente conectadas a las características del fango como el índice de volumen, la capacidad de floculación, hidrofobicidad, carga superficial y viscosidad del fango, las cuales afectan a la permeabilidad.

La influencia de los MLSS y MLSSV en la TMP y por lo tanto en la R_t , ha sido muy discutida por diversos autores, dada su compleja interacción con el ensuciamiento de la membrana. Generalmente se considera que un aumento de la concentración de MLSS

presenta influencias negativas en la TMP (Cicek et al., 1999; Chang and Kim, 2005. Chang et al. (2002) consideran que esta relación directa con el ensuciamiento de la membrana es debido a que influyen en la resistencia de la torta. Sin embargo, según Defrance et al. (2000) y Le- Clech et al. (2003) el ensuciamiento de la membrana es independiente a la concentración de sólidos en suspensión. Otros investigadores, no solo no han encontrado influencias directas de los MLSS en la TMP (Hong et al., 2002; Lesjean et al., 2005) sino que han detectado influencias positivas en la filtración (Brookes et al., 2006) sin que se pueda realizar una relación directa entre el aumento de los MLSS y el incremento del ensuciamiento en las membranas.

Tras realizar el estudio estadístico se ha comprobado que tanto los MLSS como los MLSSV tienen influencias negativas con el ensuciamiento de la membrana con unos coeficientes de Pearson de -0,2484 y -0,2390 respectivamente y con p-valor $< 0,01$ en ambos casos. Esta relación indica que hay mayor ensuciamiento de membrana cuando los valores de MLSS y MLSSV son más bajos. El descenso de los MLSS y MLSSV viene normalmente determinado por una bajada en el SRT. Esto provoca que haya mayor cantidad de alimento disponible para el metabolismo de los microorganismos lo que hace que la relación F/M aumente, resultando en una mayor generación de SMP y EPS por parte de los microorganismos y por lo tanto aumentando la concentración de sustancias que, como se ha visto anteriormente, afectan al ensuciamiento de la membrana. Estos resultados son apoyados por el estudio realizado por Malamis and Andreadakis (2009) en el que se concluye que un incremento en el SRT de 10 a 20 días resultaba en un descenso del 80 % del ensuciamiento de la membrana debido a una reducción significativa en las proteínas y carbohidratos de los SMP y EPS.

La hidrofobicidad también presenta una correlación con la R_t , obteniendo un coeficiente de Pearson de -0,2289 y un p-valor $< 0,01$. Los resultados indican que se producirá un mayor ensuciamiento cuando las sustancias que componen el fango activo sean más hidrofílicas. Anteriormente se observó que los EPS_c eran los únicos componentes que poseían correlación con la hidrofobicidad. Teniendo en cuenta que se ha demostrado que los EPS_c son las sustancias que tienen también más relación con el ensuciamiento de la membrana, se puede decir que el carácter hidrofílico de los carbohidratos (Liu and Fang, 2003) juega un papel muy importante en el ensuciamiento de la membrana. Le-Clech et al. (2006) informó que el contenido en EPS hidrofílico había sido identificado

como un importante factor en el ensuciamiento de la membrana. En base a esto se puede concluir que la hidrofobicidad es un parámetro muy a tener en cuenta para minimizar el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR.

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

Toda la fase experimental se ha realizado con instalaciones a escala real, alimentada con agua residual urbana pretratada en continuo, por lo que los resultados obtenidos pueden ser extrapolados a plantas de tratamiento reales.

Hay que tener en cuenta que cada agua residual es diferente una de otra y que el agua residual urbana utilizada para alimentar el proceso tiene una composición específica que se caracteriza por una alta carga orgánica contaminante con significativas fluctuaciones temporales.

A pesar de observarse fluctuaciones significativas en el HRT, debidas principalmente a problemas operacionales, todas las condiciones de ensayo pueden considerarse como de elevado HRT (en torno a 25 d), lo cual afecta a todas las conclusiones obtenidas.

Según estas premisas y en base a los objetivos establecidos, los resultados obtenidos y los antecedentes bibliográficos sobre la materia, se han establecido las siguientes conclusiones.

- En sistemas MBR empleados para el tratamiento del agua residual urbana, es imprescindible iniciar la filtración a través de la membrana con el proceso biológico establecido, facilitando la formación de una capa de depósitos de origen biológico sobre la membrana que protegerá los poros, evitando problemas de oclusión y rápido ensuciamiento. De lo contrario se limitará significativamente la vida media de la membrana.
- De los métodos de extracción de EPS comparados, el más adecuado para aplicar al fango activo desarrollado en el sistema MBR estudiado, es el método de extracción mediante etanol a -20° C. Usando este método, las interferencias con los métodos colorimétricos son despreciables, el grado de lisis celular es muy bajo y se extrae una cantidad aceptable de EPS.
- El SRT es la variable más influyente sobre la generación de biopolímeros en sistemas MBR, cuyo incremento reduce el ratio MLSSV/MLSS y produce un

menor riesgo de atascamiento de membranas, así como mejor calidad del efluente en lo referente a materia orgánica.

- La temperatura es una de las variables más influyentes sobre la permeabilidad de las membranas en sistemas MBR ya que tienen efectos directos sobre la viscosidad del fango activo y en la reducción del contenido en SMP y EPS cuando la temperatura se incrementa.
- Mediante la extracción de SMP utilizando la centrifugación se obtiene un 45 % de compuestos orgánicos, siendo los ácidos húmicos los componentes mayoritarios.
- Los componentes mayoritarios detectados en el EPS del fango activo desarrollado en el sistema MBR estudiado, utilizando la extracción mediante adición de etanol a -20°C , son los carbohidratos, cuando se opera a SRTs bajos y las proteínas cuando el SRT es mayor.
- La concentración de SMP y EPS se ve afectada por los cambios de SRT en sistemas MBR, teniendo mayor concentración a SRTs bajos debido a que la relación F/M es mayor. Los biopolímeros más afectados por la variación de SRT son los carbohidratos presentes en el EPS.
- La carga orgánica del influente afecta a la composición del SMP y EPS en sistemas MBR, destacando de forma más significativa en la concentración de carbohidratos y ácidos húmicos.
- Los componentes que más hidrofiliidad aportan al fango activo en el sistema MBR utilizado para la experimentación, son los carbohidratos, mostrando una relación tanto en contenido en el SMP como en el EPS.
- Tanto el SMP como el EPS se correlacionan negativamente con la concentración de MLSS y MLSSV, obteniéndose mayor cantidad de estos compuestos cuando los valores de MLSS y MLSSV son más bajos, debido a la mayor relación F/M existente en estas circunstancias de operación.

- Al ser ambos, componentes del metabolismo celular, la concentración de SMP y EPS dependen una de la otra. La concentración de los mismos biopolímeros en cada componente extracelular también tiene dependencia una sobre otra, produciendo una subida o bajada de manera simultánea.
- El ensuciamiento de la membrana por biopolímeros en sistemas MBR es principalmente reversible ya que es controlable mediante limpiezas químicas.
- El SMP tiene mayor influencia que el EPS en el ensuciamiento de la membrana. Sin embargo, es el contenido en carbohidratos en el SMP y principalmente en el EPS el que mayor influencia ejerce sobre el ensuciamiento de la membrana en sistemas MBR.
- Dada la relación existente entre el ratio $MLSSV/MLSS$ y la concentración de SMP y sus componentes, este parámetro operacional es un buen indicador del riesgo de atascamiento de membranas por biopolímeros en sistemas MBR.

6. LINEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

6. LINEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

A raíz de las conclusiones de esta investigación, se abren nuevas posibilidades para el mejor conocimiento de las características de la biomasa así como su influencia en la operatividad de los sistemas MBR. En base a esto, se han propuesto varias líneas futuras de investigación en las que profundizar.

1. Operar el sistema MBR manteniendo el SRT y la temperatura con valores constantes, viendo así la influencia que tienen otros parámetros en la composición de la biomasa.
2. Evaluar la relación existente entre las constantes cinéticas y estequiométricas del fango activo de los sistemas MBR con el contenido y composición de SMP y EPS y valorar su posible influencia con el atascamiento de la membrana.
3. Fraccionamiento de los componentes del SMP y EPS según su peso molecular para valorar la influencia del tamaño molecular en el comportamiento del sistema MBR.
4. Combinar los análisis de composición del SMP y EPS en el fango activo de sistemas MBR con la evolución de los depósitos sobre la membrana antes y después de aplicar limpiezas químicas.
5. Correlacionar la concentración y composición del SMP y EPS en el fango activo de sistemas MBR con diversas comunidades protozoarias y bacterias filamentosas, analizando su posible papel indicador sobre el atascamiento de membranas.
6. Profundizar en la composición química, a nivel molecular, de los principales componentes del SMP y EPS bajo diferentes condiciones operacionales de sistemas MBR y valorar su posible influencia en el atascamiento de las membranas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, A., Mohd, R.S. and Azmi, A., (2010). The effect of different temperatures and fluxes on the performance of membrane bioreactor treating synthetic-municipal wastewater. *Desalination* **259** (1-3), 111-119.
- Ahmed, Z., Cho, J., Lim, B.R., Song, K.G. and Ahn, K.H., (2007). Effects of sludge retention time on membrane fouling and microbial community structure in a membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science* **287** (2), 211–218.
- Ahn, Y.T., Kang, S.T., Chae, S.R., Lim, J.L., Lee, S.H. and Shin, H.S., (2005). Effect of internal recycle rate on the high-strength nitrogenwastewater treatment in the combined UBF/MBR system. *Water Sci. Technol.* **51**, 241–247.
- Al-Halbouni, D., Traber, J., Lyko, S., Wintgens, T., Melin, T., Tacke, D., Janot, A., Dott, W. and Hollender, J., (2008). Correlation of EPS content in activated sludge at different sludge retention times with membrane fouling phenomena. *Water Research* **42**, 1475-1488.
- Antonelli, M., Bialek, K., Teli, A., Citterio, S. and Malpei, F., (2011). Influence of thermal extraction of extracellular polymeric substances on cell integrity in activated sludge and membrane bioreactor samples. *Water Environ. Res.* **83** (2), 100-1006.
- APHA, AWWA and WEF, (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- Arabi, S. and Nakhla, G., (2008). Impact of calcium on the membrane fouling in membrane bioreactors. *J. Membr. Sci.* **314**, 134–142.
- Ardern, E. and Lockett, W.T., (1914). Experiments in the oxidation of sewage without the aid of filters. *Journal of the Society of the Chemical Industry* **33**, 524.

- Arévalo, J., (2011). Aplicación de biorreactores de membrana al agua residual urbana: consideraciones para la modificación de los parámetros de proceso. PHD Thesis. Universidad de Granada.
- Arévalo, J., Ruiz, L.M., Parada-Albarracín, J.A., González-Pérez, D.M., Pérez, J., Moreno, B. and Gómez, M.A. (2012). Wastewater reuse after treatment by MBR. Microfiltration or ultrafiltration? *Desalination* **1589** (299), 22-27.
- Arévalo, J., Ruiz, L.M., Pérez, J.I. and Gómez, M.A., (2014). Effect of temperature on membrane bioreactor performance working with high hydraulic and sludge retention time. *Biochem. Eng. J.* **88**, 42-49.
- Arkhangelsky, E., Kuzmenko, D. and Gitis, V., (2007a). Impact of chemical cleaning on properties and functioning of polyethersulfone membranes. *Journal of Membrane Science* **305**, 176-184.
- Arkhangelsky, E., Kuzmenko, D., Gitis, N.V., Vinogradov, M., Kuiry, S. and Gitis, V., (2007b). Hypochlorite cleaning causes degradation of polymer membranes. *Tribology Letters* **28**, 109–116.
- Ayala, D.F., Ferre, V. and Judd S., (2011). Membrane life estimation in full-scale immersed membrane bioreactors. *J. Membr. Sci.* **378**, 95–100.
- Azeredo, J., Oliveira, R. and Lazarova, V., (1998). A new method for extraction of exopolymers from activated sludges. *Water Sci Technol* **37**, 367-370.
- Badino, J.A.C., Facciotti, M.C.R. and Schmidell, W., (2001). Volumetric oxygen transfer coefficients (kLa) in batch cultivations involving non-Newtonian broths. *Biochemical Engineering Journal* **8**, 111-119.
- Badireddy, A.R., Chellam, S., Gassman, P.L., Engelhard, M.H., Lea, A.S. and Rosso, K.M., (2010). Role of extracellular polymeric substances in biofloculation of activated sludge microorganisms under glucose-controlled conditions. *Water Res.* **44** (15), 4505-4516.

- Bae, T.H., Han, S.S. and Tak, T.M., (2003). Membrane sequencing batch reactor system for the treatment of dairy industry wastewater. *Process Biochemistry* **39**, 221-231.
- Bae, T.H. and Tak, T.M., (2005). Interpretation of fouling characteristics of ultrafiltration membranes during the filtration of membrane bioreactor mixed liquor. *Journal of Membrane Science* **264**, 151–160.
- Bailey, J. Bemberis, I. and Presti, J., (1971). Phase I final report- Shipboard sewage treatment system, General Dynamics Electric Boat Division, November 1971. NTIS.
- Baker, R.W., (2004). Membrane technology and applications (2nd ed.). New York: Wiley.
- Barreto, C.M., García H.A., Hooijmans, C.M., Herrera, A. and Brdjanovic, D., (2017). Assessing the performance of an MBR operated at high biomass concentrations. *Int. Biodeter. Biodegr.* **119**, 528-537.
- Barker, D.J. and Stuckey, D.C., (1999). A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems. *Water Research* **33** (14), 3063-3082.
- Begoin, L., Rabiller-Baudry, M., Chaufer, B., Hautbois, M.C. and Doneva, T., (2006). Ageing of PES industrial spiral-wound membranes in acid whey ultrafiltration. *Desalination* **192** (1-3), 25-39.
- Bemberis, I., Hubbard, P.J. And Leonard, F.B., (1971). Membrane sewage treatment systems potential for complete wastewater treatment. American Society of Agricultural Engineers Winter Meeting 71-878, 1-28.
- Bitton, G., (1994). *Wastewater Microbiology*, Wiley-Liss. New York
- Botha, G.R., Sanderson, R.D., and Buckley, C.A., (1992). Brief historical review of membrane development and membrane applications in wastewater treatment in Southern Africa. *Water Science and Technology* **25** (10), 1-4.

- Boylen, C.W. and Ensign, J.C., (1970). Intracellular substrates for endogenous metabolism during long-term starvation of rod and spherical cells of *arthrobacter crustallopoides*. *J. Bact.* **103**, 578-587.
- Braak, E., Alliet, M., Schetrite, S. and Albasi, C., (2011). Aeration and hydrodynamics in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science* **379** (1-2), 1-18.
- Brookes, A., Jefferson, B., Guglielmi, G. and Judd, S.J., (2006). Sustainable flux fouling in a membrane bioreactor: impact of flux and MLSS. *Separation Science Technology* **41**, 1279-1291.
- Brown, M.J. and Lester, J.N., (1980). Comparison of bacterial extracellular polymer extraction methods. *Appl. Environ. Microbiol.* **40**, 107-185.
- Brown, K., Ghoshdastidar, A.J., Hanmore, J., Frazee, J. and Tong, A.Z., (2013). Membrane bioreactor technology: A novel approach to the treatment of compost leachate. *Waste Management* **33** (11), 2188-2194.
- Burleigh, I.G. and Dawes, E.A., (1967). Studies on the endogenous metabolism and senescence of starved *sarcin lutea*. *Biochem. J.* **102**, 236-250.
- Burton, K., (1956). A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* **62** (2), 315–323.
- Cabassud, C., Massé, A., Espinosa-Bouchot, M. and Spérandio, M., (2004). Submerged membrane bioreactors: interactions between membrane filtration and biological activity, in: Proceedings of the Water Environment-Membrane Technology Conference, Seoul, Korea.
- Cai, W. and Liu, Y., (2016). Enhanced membrane biofouling potential by on-line chemical cleaning in membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science* **511**, 84-91.

- Cescutti, P., Toffanin, R., Pollesello, P. and Sutherland, J.W., (1999). Structural determination of the acidic exopolysaccharide produced by a *Pseudomonas* sp. Strain 1.15. *Carbohydr. Res.* **315**, 159-168.
- Chae, S.R., Ahn, Y.T., Kang, S.T. and Shin, H.S., (2006). Mitigated membrane fouling in a vertical submerged membrane bioreactor (VSMBR). *Journal of Membrane Science* **280** (1-2), 572-581.
- Chang, I.S. and Lee, C.H., (1998). Membrane filtration characteristics in membrane-coupled activated sludge system—the effect of physiological states of activated sludge on membrane fouling. *Desalination* **120**, 221-233.
- Chang, I.S., Bag, S.O. and Lee, C.H., (2001). Effects of membrane fouling on solute rejection during membrane filtration of activated sludge. *Proc. Biochem.* **36**, 855-860.
- Chang, I.S., Le-Clech, P., Jefferson, B. and Judd, S., (2002). Membrane fouling in membrane bioreactors for wastewater treatment. *J. Environ. Eng. ASCE* **128**, 1018–1029.
- Chang, I.S. and Kim, N.S., (2005). Wastewater Treatment using membrane filtration - effect on biosolids concentration on cake resistance. *Process Biochemistry* **40**, 1307-1314.
- Chen, V., Fane, A.G., Madaeni, S. and Wenten, I.G., (1997). Particle deposition during membrane filtration of colloids: transition between concentration polarization and cake formation. *J. Membr. Sci.* **125**, 109–122.
- Chen, D. and Columbia, M., (2011). Enzymatic control of alginate fouling of dead-end MF and UF ceramic membranes. *Journal of Membrane Science* **381** (1-2), 118-125.
- Cho, B.D. and Fane, A.G., (2002). Fouling transients in nominally subcritical flux operation of a membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science* **209** (2), 391-403.

- Cho, J., Song, K.G., Yun, H., Ahn, K.H., Kim, J.Y. and Chung, T.H., (2005). Quantitative analysis of biological effect on membrane fouling in submerged membrane bioreactor. *Water Science and Technology* **51** (6–7), 9–18.
- Christensen, H.N., (1975). *Biological Transport*, 2nd ed. W.A. Benjamin, Reading, MA.
- Chu, H.P. and Li, X.Y., (2005). Membrane fouling in a membrane bioreactor (MBR): sludge cake formation and fouling characteristics. *Biotechnology and Bioengineering* **90** (3), 323-331.
- Chua, H.C., Arnot, T.C. and Howell, J.A., (2002). Controlling fouling in membrane bioreactors operated with a variable throughput. *Desalination* **149**, 225-229.
- Cicek, N., Franco, J.P., Suidan, M.T., Urbain V. and Manem, J., (1999). Characterization and comparison of a membrane bioreactor and a conventional activated sludge system in the treatment of wastewater containing high-molecular weight compounds. *Water Environmental Research* **71**, 64–70.
- Comte, S., Guibaud, G. and Baudu, M., (2006). Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and EPS complexation properties Part I. Comparison of the efficiency of eight EPS extraction methods. *Enzyme and Microbial Technology* **38**, 237–245
- Costa, A.R., dePinho, M.N. and Elimelech, M., (2006) Mechanisms of colloidal natural organic matter fouling in ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* **281**, 716–725.
- Costerton, J.W., Irvin, RT. and Cheng K.J., (1981). The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.* **35**, 299–324.
- Dawes, E.A. and Ribbins, D.W., (1964). Some aspects of the endogenous metabolism of bacteria. *Bact. Rev.* **28**, 126-149.
- Decho, A.W., (2000). Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Continental Shelf Research* **20**, 1257-1273.

- Defrance, L. and Jaffrin, M.Y., (1999). Comparison between filtrations at fixed transmembrana pressure and fixed permeate flux: application to a membrane bioreactor used for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science* **152**, 203-210.
- Defrance, L., Jaffrin, M.Y., Gupta, B., Paullier, P. and Geaugey, V., (2000). Contribution of various constituents of activated sludge to membrane bioreactor fouling. *Bioresour. Technol.* **73**, 105–112.
- Delrue, F., Stricker, A.E., Mietton-Peuchot, M. and Racault, Y., (2011). Relationships between mixed liquor properties, operating conditions and fouling on two full-scale MBR plants. *Desalination* **272**, 9–19.
- Demain, A.L., Burg, R.W., and Hendlin, D., (1965). Excretion and degradation of ribonucleic acids by *Bacillus subtilis*. *J. Bact.* **89**, 640-646.
- Deng, L., Guo, W., Ngo, H.H., Zuthi, F.R., Zhang, J., Liang, S., Li, J., Wang, J. and Zhang, X., (2015). Membrane fouling reduction and improvement of sludge characteristics by bioflocculant addition in submerged membrane bioreactor. *Separation and Purification Technology* **156** (2), 450-458.
- Deowan, S.A., Galiano, F., Hoinkis, J., Johnson, D., Altinkaya, S.A., Gabriel, B., Hilal, N., Drioli, E. and Figoli, A., (2016). Novel low-fouling membrane bioreactor (MBR) for industrial wastewater treatment. *J. Membr. Sci.* **510**, 524–532.
- de Silva, D.G.V. and Rittmann, B.E., (2000). Interpreting the response to loading changes in a mixed-culture completely stirred tank reactor. *Water Environ Res* **72** (5), 566–73.
- Dewanti, R. and Wong, A.C.L., (1995). Influence of culture conditions on biofilm formation by *Escherishia coli* O157: H7. *Int. J. Food Microbiol.* **26**, 147–164.

- Dignac, M.F., Urbain, V., Rybacki, D., Bruchet, A., Snidaro, D. and Scribe, P., (1998). Chemical description of extracellular polymers: implication on activated sludge floc structure. *Water Sci. Tech.* **38** (8/9), 45–53.
- Drews, A., Mante, J., Iversen, V., Vocks, M., Lesjean, B. and Kraume, M., (2007). Impact of ambient conditions on SMP elimination and rejection in MBRs. *Water Research* **41** (17), 3850–3858.
- Drews, A., Vocks, M., Bracklow, U., Iversen, V. and Kraume, M., (2008). Does fouling in MBRs depend on SMP? *Desalination* **231** (1–3), 141–149.
- Drews, A., (2010). Membrane fouling in membrane bioreactors- Characterization, contradictions, cause and cures. *Journal of Membrane Science* **363** (1–2), 1-28.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**, 350–356.
- Duan, L., Song, Y., Yu, H., Xia, S., and Hermanowicz, S.W., (2014). The effect of solid retention times on the characterization of extracellular polymeric substances and soluble microbial products in a submerged membrane bioreactor. *Bioresour. Technol.* **163**, 395-398.
- Emanuelsson, E.A.C., Arcangeli, J.P., and Livingston, A.G., (2003). The anoxic extractive membrane bioreactor. *Water Res.* **37**, 1231–1238.
- Emery, T., (1982). Iron metabolism in humans and plants. *Am. Sci.* **70**, 626-632.
- Etori, A., Gaudichet-Maurin, E., Schrotter, J.C., Aimar, P. and Causserand, C., (2011). Permeability and chemical analysis of aromatic polyamide based membranes exposed to sodium hypochlorite. *Journal of Membrane Science* **375** (1-2), 220-230.

- Evenblij, H. and van der Graaf, J., (2004). Occurrence of EPS in activated sludge from a membrane bioreactor treating municipal wastewater. *Water Sci. Technol.* **50**, 293–300.
- Fallah, N., Bonakdarpour, B., Nasernejad, B. and Alavi Moghadam, M.R., (2010). Long-term operation of submerged MBR for the treatment of synthetic wastewater containing styrene as volatile organic compound (VOC): Effect of HRT. *J. Hazard. Mater.* **178**, 718–724
- Fan, F., Zhou, H. and Husain, H., (2006). Identification of wastewater sludge characteristics to predict critical flux for membrane bioreactor processes. *Water Research* **40** (2), 205–212.
- Fang, H.H.P. and Jia, X.S., (1996). Extraction of extracellular polymer from anaerobic sludges. *Biotechnol. Tech.* **10** (11), 803–808.
- Fang, H.H.P. and Shi, X., (2005). Pore fouling of microfiltration membranes by activated sludge, *J. Membr. Sci.* **264**, 161–166.
- Field, R.W., Wu, D. and Howell, J.A., (1995). Critical flux concept for microfiltration fouling. *Journal of Membrane Science* **100**, 259–272.
- Flemming, H.C., Schaule, G., Griebe, T., Schmitt, J. and Tamachkiarowa, A., (1997). Biofouling – the Achilles heel of membrane processes. *Desalination* **113** (2–3), 215-225.
- Frechen, F.-B., Schier, W. and Linden, C. (2007). Pre-treatment of municipal MBR applications. In: Proceedings of the fourth IWA international membranes conference membranes for water and wastewater treatment, Harrogate, May 15-17.
- Frølund, B., Griebe, T. and Nielsen, P.H., (1995). Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**, 755–761.

- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K. and Nielsen, P.H., (1996). Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res.* **30**, 1749–1758.
- Gander, M., Jefferson, B. and Judd, S. (2000) Aerobic MBRs for domestic wastewater treatment: a review with cost considerations. *Separation and Purification Technology* **18**, 119-130.
- Gao, M., Yang, M., Li, H., Yang, Q. and Zhang, Y., (2004). Comparison between a submerged membrane bioreactor and a conventional activated sludge system on treating ammonia-bearing inorganic wastewater. *J. Biotechnol.* **108**, 265–269.
- Garcia-Ochoa, F., Castro, E.G. and Santos, V.E., (2000). Oxygen transfer and uptake rates during xanthan gum production. *Enzyme and Microbial Technology* **27**, 680-690.
- Geesey, G.G., (1982). Microbial exopolymers: ecological and economic considerations. *ASM News* **48**, 9–14.
- Geng, Z. and Hall, E.R., (2007). A comparative study of fouling-related properties of sludge from conventional and membrane enhanced biological phosphorus removal processes. *Water Research* **41** (19), 4329–4338.
- Germain, E., Stephenson, T. and Pearce, P., (2005). Biomass characteristics and membrane aeration: toward a better understanding of membrane fouling in submerged membrane bioreactors (MBRs). *Biotechnology and Bioengineering* **90** (3), 316–322.
- Germain, E., Nelles, F., Drews, A., Pearce, P., Kraume, M. and Reid, E., (2007). Biomass effects on oxygen transfer in membrane bioreactors. *Water Research* **41** (5), 10381044.
- GIA, (2011). Membrane bioreactors - a global strategic business report. Global Industry Analysts, Inc

- Ginzburg, B., Peeters, J. and Pawloski J., (2008). On-line fouling control for energy reduction in membrane bioreactors. In: WEF membrane technology conference, Alexandria (VA), Jan 27-30.
- Grady, C.P.L.J, Daigger, G.T. and Lim, H.C., (1999). Biological Wastewater Treatment. New York, NY, Marcel Dekker.
- Grelier, P. Rosenberger, S. and Tazi-Pain, A., (2005). Influence of sludge retention time on membrane bioreactor hydraulic performance, in: Proceedings of the International Congress on Membranes and Membrane Processes (ICOM), Seoul, Korea.
- Guo, W., Ngo, H.H. and Li, J., (2012). A mini-review on membrane fouling. *Bioresour. Technol.* **122**, 27–34.
- Hait, S. and Tare, V., (2011). Wastewater treatment by high-growth birreactor integrated with settlingcum-membrane separation. *Desalination* **270**, 233-240.
- Harold, F.M., (1972). Conservation and transformation of energy by bacterial membranes. *Bact. Rev.* **36**, 172-230.
- Hasar, H., Kmaci, C., Ünlü, A. and Ipek, U., (2001). Role of intermittent aeration in domestic wastewater treatment by Sumerged membrane activated sluge system. *Desalination* **142**, 287-293.
- Hasar, H., Kinaci, C., Ünlü, A., Togrul, H. and Ipek, U., (2004). Rheological properties of activated sludge in a sMBR. *Biochemical Engineering Journal* **20**, 1-6.
- Hejzlar, J. and Chudoba, J., (1986a). Microbial polymers in the aquatic environment: I. Production by activated sludge microorganisms under different conditions. *Water. Res.* **20** (10), 1209-1216.
- Hejzlar, J. and Chudoba J., (1986b). Microbial polymers in the aquatic environment: II. Isolation from biologically non-purified and purified municipal waste water analysis. *Water Res.* **20** (10), 1217-1221.

- Henze, M., Harremöes, P., la Cour Jansen, J. and Arvin E., (2001). Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes. 3rd Edition, Springer-Verlag, Berlin.
- Henze, M., van Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.E. and Brdjanovic, D., (2008). Biological Wastewater Treatment. IWA Publishing, London.
- Heppel, L., (1967). Selective release of enzymes from bacteria. *Science* **156**, 1451-1455.
- Herbert, H., (1961). The chemical composition of microorganisms as a function of their environment. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* **11**, 391-416.
- Higgins, M.J. and Novak, J.T., (1997). Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation. *J. Environ. Eng.* **123**, 479–85.
- Holbrook, R.D., Higgins, M.J., Murthy, S.N., Fonseca, A.D., Fleischer, E.J. and Daigger, G.T., (2004). Effect of alum addition on the performance of submerged membranes for wastewater treatment. *Water Environment Research* **76**, 2699-2702.
- Hong, S.P., Bae, T.H., Tak, T.M., Hong, S. and Randall, A., (2002). Fouling control in activated sludge submerged hollow fiber membrane bioreactors. *Desalination* **143**, 219–228.
- Hoppe, H.G., (1991). Microbial extracellular enzyme activity: a new key parameter in aquatic ecology. In: Chrost, R.J., Editor. *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*, 60–83.
- Howell, J.A., Chua, H.C. and Arnot, T.C., (2004). In situ manipulation of critical flux in a submerged membrane bioreactor using variable aeration rates, and effects of membrane history. *Journal of Membrane Science* **242**, 13-19.
- Huang, X., Liu, R. and Qian, Y., (2000). Behaviour of soluble microbial products in a membrane bioreactor. *Process Biochem.* **36**, 401–406.

- Huang, X. Gui, P. and Qian, Y., (2001). Effect of sludge retention time on microbial behaviour in a submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry* **36** (10), 1001-1006.
- Hunter, S. H., (1972). Inorganic nutrition. *Ann. Rev. Microbiol.* **26**, 313-346.
- Hwang, K.J. and Lin, T.T., (2002). Effect of morphology of polymeric membrane on the performance of cross-flow microfiltration. *J. Membr. Sci.* **199**, 41–52.
- Hwang, B.K., Lee, W.N., Yeon, K.M., Park, P.K., Lee, C.H., Chang, I.S., Drews, A. and Kraume M., (2008). Correlating TMP increases with microbial characteristics in the bio-cake on the membrane surface in a membrane biorreactor. *Environmental Science and Technology* **42**, 3963-3968.
- Hwang, B.K., Lee, C.H., Chang, I.S., Drews, A. and Field, R., (2012). Membrane bioreactor: TMP rise and characterization of bio-cake structure using CLSM-image analysis. *Journal of Membrane Science* **419-420**, 33-41.
- Icon, (2008). The 2009-2014 world outlook for membrane bioreactor (MBR) systems for wastewater treatment. Icon Group Publications.
- Iorhemen, O.T, Hamza, R.A. and Tay, J.H., (2016). Membrane Bioreactor (MBR) Technology for Wastewater Treatment and Reclamation: Membrane Fouling. *Membranes* **6**, 33.
- Itonaga, T., Kimura, K. and Watanabe, Y., (2004). Influence of suspension viscosity and colloidal particles on permeability of membrane used in membrane bioreactor (MBR). *Water Science and Technology* **50**, 301-309.
- Iritani, E., Katagiri, N., Sengoku, T., Yoo, K.M., Kawasaki, K. and Matsuda, A., (2007). Flux decline behaviors in dead-end microfiltration of activated sludge and its supernatant. *Journal of Membrane Science* **300**, 36–44.

- Isma, M.I.A., Idris, A., Omar, R. and Razreena, A.R.P., (2014). Effects of SRT and HRT on treatment performance of MBR and membrane fouling. *Int. J. Chem. Mol. Nucl. Mater. Metall. Eng.* **8**, 485–489.
- Iversen, V., Mehrez, R., Horng, R.Y., Chen, C.H., Meng, F. and Drews, A., (2009). Fouling mitigation through flocculants and adsorbents addition in membrane bioreactors: comparing lab and pilot studies. *Journal of Membrane Science* **345** (1-2), 21-30.
- Jang, N., Ren, X., Choi, K. and Kim, I.S., (2005a). Comparison of membrane biofouling in nitrification and denitrification for the membrane bio-reactor (MBR). In: Proceedings of the IWA on Aspire, Singapore, 2005.
- Jang, N.J., Trussell, R.S., Merlo, R.P., Jenkins, D., Hermanowicz, S.W. and Kim, I.S., (2005b). Exocellular polymeric substances molecular weight distribution and filtration resistance as a function of food to microorganism ratio in the submerged membrane bioreactor. In: Proceedings of the International Congress on Membranes and Membrane Processes (ICOM), Seoul, Korea, 2005.
- Jang, N., Ren, X., Kim, G. and Ahn, C., (2007). Characteristics of soluble microbial products and extracellular polymeric substances in the membrane bioreactor for water reuse. *Desalination* **202**, 90–98.
- Janus, T. and Ulanicki, B., (2010). Modelling SMP and EPS formation and degradation kinetics with an extended ASM3 model. *Desalination* **261**, 117-125.
- Jeison, D. and van Lier, J.B., (2006). Cake layer formation in anaerobic submerged membrane bioreactors (AnSMBR) for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science* **284**, 227-236.
- Jenkins, D., Richard, M.G. and Daigger, G.T., (2004). Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking, Foaming, and Other Solids Separation Problems. 3rd ed. IWA Publishing.

- Jeong, T.Y., Cha, G.C., Yoo, I.K. and Kim, D.J., (2007). Characteristics of biofouling in a submerged MBR. *Desalination* **207** (1–3), 107–113.
- Ji, L. and Zhou, J., (2006). Influence of aeration on microbial polymers and membrane fouling in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science* **276** (1–2), 168–177.
- Jin, B., Yu, Q., Yan, X.Q. and van Leeuwen, J.H., (2001). Characterization and improvement of oxygen transfer in pilot plant external air-lift bioreactor for mycelial biomass production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **17**, 265-272.
- Jiang, T., Kennedy, M.D., Guinzbourg, B.F., Vanrolleghem, P.A. and Schippers, J.C., (2005). Optimising the operation of a MBR pilot plant by quantitative analysis of the membrane fouling mechanism. *Water Science and Technology* **51**, 19-25.
- Jiang, T., Myngheer, S., De Pauw, D.J.W., Spanjers, H., Nopens, I., Kennedy, M.D., Amy, G. and Vanrolleghem, P.A., (2008). Modelling the production and degradation of soluble microbial products (SMP) in membrane bioreactors (MBR). *Water Res.* **42**, 4955–4964.
- Jinhua, P., Fukushi, K. and Yamamoto, K., (2006). Bacterial community structure on membrane surface and characteristics of strains isolated from membrane surface in submerged membrane bioreactor. *Separation Science and Technology* **41** (7), 1527–1549.
- Jahir, M.A.H., Vigneswaran, S., Sathasivan, A., Kandasamy, J. and Chang, C.Y., (2012). Effect of organic loading rate on organic matter and foulant characteristics in membrane bio-reactor. *Bioresour. Technol.* **113**, 154–160.
- Jorand, F.J., Boue-Bigne, F.P., Block, J.C. and Urbain, V., (1998). Hydrophobic/hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances. *Water Sci. Technol.* **37**, 307–315.

- Judd, S., (2006). *The MBR book. Principles and applications of membrane bioreactors in water and wastewater treatment.* Elsevier Ltd. Oxford.
- Judd, S. and Judd, C., (2011). *The MBR book. Principles and applications of membrane bioreactors in water and wastewater treatment.* Elsevier Ltd. Oxford. 2nd Edition.
- Judd, S.J., (2016). The status of industrial and municipal effluent treatment with membrane bioreactor technology. *Chemical Engineering Journal* **305**, 37-45.
- Kent, F.C., Citulski, J. and Farahbakhsh, K., (2011). Water reclamation using membranes: Permeate water quality comparison of MBR and tertiary membrane filtration. *Desalination*. **274**, 237-245.
- Kim, J.S. and Lee, C.H., (2003). Effect of powdered activated carbon on the performance of an aerobic membrane bioreactor: comparison between cross-flow and submerged membrane systems. *Water Environment Research* **75**, 300-307.
- Kim, S. and Jang, N., (2006). The effect of calcium on the membrane biofouling in the membrane bioreactor (MBR). *Water Research* **40** (14), 2756-2764.
- Kimura, K., Yamato, N., Yamamura, H. and Watanabe, Y., (2005). Membrane fouling in pilot-scale membrane bioreactors (MBRs) treating municipal wastewater. *Environmental Science and Technology* **39** (16), 6293–6299.
- Khan, S.J., Parveen, F., Ahmad, A., Hashmi, I. and Hankins, N., (2013). Performance evaluation and bacterial characterization of membrane bioreactors. *Bioresource Technology* **141**, 2-7.
- Knerr, H., Rechenburg, A., Kistemann, T. and Schmitt, T.G., (2011). Performance of a MBR for the treatment of backwater. *Water Science and Technology* **63** (6), 1247-1254.
- Koide, K., Shibata, K., Ito, H., Kim, S.Y. and Ohtaguchi, K., (1992). Gas holdup and volumetric liquid-phase mass transfer coefficient in a gel-particle suspended

bubble column with draught tube. *Journal of Chemical Engineering of Japan* **25**, 11-16.

- Krampe, J. and Krauth, K., (2003) Oxygen transfer into activated sludge with high MLSS concentrations. *Water Sci. Technol.* 47, 297–303.
- Kuo, W. C., (1993). Production of soluble microbial chelators and their impact on anaerobic treatment. Ph.D. thesis, University of Iowa, Iowa City.
- Kuzmenko, D., Arkhangelsky, E., Belfer, S., Freger, V. and Gitis, V., (2005). Chemical cleaning of UF membranes fouled by BSA. *Desalination* **179**, 323-333.
- Lapidou, C.S. and Rittmann, B.E., (2002). A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Res.* **36** (11), 2711-2710.
- Le-Clech, P., Jefferson, B., Chang, I.S., and Judd, S.J., (2003a). Critical flux determination by the flux-step method in a submerged membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science* **227**, 81-93.
- Le-Clech, P., Jefferson, B., and Judd, S.J., (2003b) Impact of aeration, solids concentration and membrane characteristics on the hydraulic performance of a membrane bioreactor. *J. Membr. Sci.* **218**, 117–129.
- Le-Clech, P., Chen, V. and Fane T.A.G., (2006). Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of Membrane Science* **284**, 17-53.
- Le-Clech, P., (2010). Membrane biorreactors and their uses in wastewater treatments. *Applied Microbiology and Biotechnology* **88**, 1253-1260.
- Lee, J., Ahn, W.Y. and Lee, C.H., (2001a). Comparison of the filtration characteristics between attached and suspended growth microorganisms in submerged membrane bioreactor. *Water Research* **35** (10), 2435–2445.

- Lee, J.C., Kim, J.S., Kang, I.J., Cho, M.H., Park, P.K., and Lee, C.H., (2001b). Potential and limitations of alum or zeolite addition to improve the performance of a submerged membrane bioreactor. *Water Science and Technology* **43**, 59-66.
- Lee, W., Kang, S. and Shin, H., (2003). Sludge characteristics and their contribution to microfiltration in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science* **216**, 217-227.
- Lee, E.J., Kwon, J.S., Park, H.S., Ji, W.H., Kim, H.S. and Jang, A., (2013). Influence of sodium hypochlorite used for chemical enhanced backwashing on biophysical treatment in MBR. *Desalination* **316**, 104-109.
- Lesage, N., Sperandio, M., and Cabassud, C., (2005). Performances of a hybrid adsorption / submerged membrane biological process for toxic waste removal. *Water Science and Technology* **51**, 173-180.
- Lesjean, B., Rosenberger, S., Laabs, C., Jekel, M., Gnirss, R. and Amy, G., (2005). Correlation between membrane fouling and soluble/colloidal organic substances in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment, in: WEMT 2004, Seoul, 525-532.
- Li, Y.Z., He, Y.L., Liu, Y.H., Yang, S.C., and Zhang, G.J., (2005). Comparison of the filtration characteristics between biological powdered activated carbon sludge and activated sludge in submerged membrane bioreactors. *Desalination* **174**, 305-314.
- Li, X.Y. and Yang, S.F., (2007). Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. *Water Research* **41** (5), 1022–1030.
- Li, J., Yang, F., Liu, Y., Song, H., Li, D. and Cheng, F., (2012). Microbial community and biomass characteristics associated severe membrane fouling during start-up of a hybrid anoxic–oxic membrane bioreactor. *Bioresour. Technol.* **103**, 43–47.

- Liao, B.Q., Bagley, D.M., Kraemer, H.E., Leppard, G.G. and Liss, S.N., (2004). A review of biofouling and its control in membrane separation bioreactors. *Water Environment Research* **76** (5), 425–436.
- Lin, H.J., Gao, W.J., Leung, K.T., Liao, B.Q. and Lin, H.J., (2011). Characteristics of different fractions of microbial flocs and their role in membrane fouling. *Water Science and Technology* **63** (2), 262-269.
- Liu, C., Caothien, S., Hayes, J. and Caothuy, T., (2001). Membrane chemical cleaning: from art to science. Proc. AWWA 2000 Water Quality Technology Conference, Denver Co.
- Liu, H. and Fang, H., (2002). Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *J. Biotechnol.* **95**, 249–256.
- Liu, Y. and Fang, H., (2003). Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on flocculation, settling and dewatering of activated sludge. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **33**, 237–273.
- Liu, X., Liu, Y., Huang, Y. and Chen, J., (2010). Evaluating standard conditions for measuring the hydrophobicity of activated sludge by bacterial adhesion to hydrocarbons (BATH). *Fresenius Environmental Bulletin* **19** (10), 2159 – 2163.
- Loeb, S. and Sourirajan, S., (1961). Sea water demineralization by means of a semipermeable membrane. *Dept. Eng, UCLA, Los Angeles, CA, USA, Report No.* 60-60.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Fan, A. and Randall, R., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265–275.
- Lubbecke, S., Vogelpohl, A. and Dewjanin, W., (1995). Wastewater treatment in a biological high-performance system with high biomass concentration. *Water Res.* **29**, 793–802.
- Lyko, S., Al-Halbouni, D., Wintgens, T., Janot, A., Hollender, J., Dott, W. and Melin, T., (2007). Polymeric compounds in activated sludge supernatant –

characterization and retention mechanisms at a full-scale municipal membrane bioreactor. *Water Research* **41** (17), 3894–3902.

- Ma, J., Wangz, Z., Yang, Y., Mei, X. and Wu, Z., (2013). Correlating microbial community structure and composition with aeration intensity in submerged membrane bioreactors by high-through put pyrosequencing. *Water Research* **47**, 859–869.
- Madaeni, S.S., Fane, A.G. and Wiley, D.E., (1999). Factors influencing critical flux in membrane filtration of activated sludge. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **74**, 539–543.
- Malaeb, L., Le-Clech, P., Vrouwenvelder, J.S., Ayoub, G.M. and Saikaly, P.E., (2013). Do biological based strategies hold promise to biofouling control in MBRs? *Water Research* **47**, 5447–5463.
- Malamis, S. and Andreadakis, A., (2009). Fractionation of proteins and carbohydrates of extracellular polymeric substances in a membrane bioreactor system. *Bioresource Technology* **100**, 3350-3357.
- Malamis, S., Andreadakis, A., Mamais, D. and Noutsopoulos, C., (2014). Comparison of alternative additives employed for membrane fouling mitigation in membrane bioreactors. *Desalination Water Treat.* **52**, 5740–5747.
- Manem, J. and Sanderson, R., (1996). Membrane bioreactors. In J. Mallevialle, P.E. Odendaal and M.R. Wiesner (Eds.). *Water Treatment Membrane Processes* **17**, 1-31. New York: McGraw Hill.
- Mansell, B., Kuo, J., Tang, C., Thompson, S., Jackson, J., García, A., Gabrielian, E. Horvath, R. and Stahl, J., (2004). Comparison of two membrane bioreactors and activated sludge plant with dual-media filtration: nutrient and priority pollutants removals. *Conference Proceeding, Annual Technical Exhibition & conference, 77th*, New Orleans, LA, United States, Oct. 2-6, 608-620.

- Markets and Markets, Membrane Bioreactor Systems Market by Application (Municipal Wastewater Treatment and Industrial Wastewater Treatment), by Type (Hollow Fiber, Flat Sheet, and Multi Tubular), by Configuration (Internal/Submerged and External/Side stream), and by Region – Trends & Forecasts to 2019, Report CH 2651, August 2014.
- Masse, A., Spérandio, M. and Cabassud, C., (2006). Comparison of sludge characteristics and performance of a sludge process at high solids retention time. *Water Res.* **40** (12), 2405-2415.
- McAdam, E.J., Pawlett, M. and Judd, S.J., (2010a). Fate and impact of organics in an immersed membrane bioreactor applied to brine denitrification and ion exchange regeneration. *Water Research* **44** (1), 69-76.
- McAdam, E.J., Eusebi, A.L. and Judd, S.J., (2010b). Evaluation of intermittent air sparging in an anoxic denitrification membrane bioreactor. *Water Science and Technology* **69** (1), 2219-2225.
- Meng, F., Zhang, H., Yang, F., Zhang, S., Li, Y. and Zhang, X., (2006). Identification of activated sludge properties affecting membrane fouling in submerged membrane bioreactors. *Sep. Purif. Technol.* **51**, 95–103.
- Meng, F. and Yang, F., (2007). Fouling mechanisms of deflocculated sludge, normal sludge; bulking sludge in membrane bioreactor. *J. Membr. Sci.* **305**, 48–56.
- Meng, F., Yang, F., Shi, B. and Zhang, H., (2008). A comprehensive study on membrane fouling in submerged membrane bioreactors operated under different aeration intensities. *Separation and Purification Technology* **59**, 81-100.
- Meng, F., So-Ryong, C., Anja, D., Matthias K., Hang-Sik S. and Fenglin Y., (2009). Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water research* **43**, 1489–1512.

- Meng, F., Shaoqing, Z., Yoontaek, O., Zohongbo, Z., Hang-Sik, S. and So-Ryong, C., (2017). Fouling in membrane bioreactors: An updated review. *Water research* **114**, 151-180.
- Metcalf, L. and Eddy, H.P., (1930). Sewerage and sewage disposal, a textbook. McGraw-Hill, New York.
- Metcalf and Eddy, (1995). Ingeniería de aguas residuales: redes de alcantarillado y bombeo McGraw-Hill. Madrid.
- Metzger, U., Le-Clech, P., Stuetz, R.M., Frimmel, F.H. and Chen, V., (2007). Characterisation of polymeric fouling in membrane bioreactors and the effect of different filtration modes. *Journal of Membrane Science* **301** (1–2), 180–189.
- Meyer, E.E., Rosenberg, K.J. and Israelachvili, J., (2006). Recent progress in understanding hydrophobic interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **103**, 15739-15746.
- Miao, R., Wang, L., Mi, N., Gao, Z., Liu, T.T., Lv, Y.T., Wang, X.D., Meng, X.R. and Yang, Y.Z., (2015). Enhancement and Mitigation Mechanisms of Protein Fouling of Ultrafiltration Membranes under Different Ionic Strengths. *Environmental Science & Technology* **49** (11), 6574-6580.
- Miura, Y., Watanabe, Y. and Okabe, S., (2007). Membrane biofouling in pilot-scale membrane bioreactors (MBRs) treating municipal wastewater: impact of biofilm formation. *Environmental Science & Technology* **41** (2), 632–638.
- Miyashita, S., Honjyo, K., Kato, O., Watari, K., Takashima, T., Itakura, M., Inoue, N., (2000). Gas diffuser for aeration vessel of membrane assembly, US Patent 6,328,886.
- Monclús, H., Zacharias, S., Pidou, M., Santos, A. and Judd, S., (2010). Criticality of flux and aeration for a hollow fiber membrane bioreactor. *Separation Science and Technology* **45** (7), 956-961.

- Morel, F.M.M., (1983). Principles of Aquatic Chemistry. John Wiley Interscience, New York.
- Morgan, J.W., Forster, C.F. and Evison, L., (1990). A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludges. *Water Res.* **1** (24), 743–753.
- Mulder, M., (1996). Basic principles of membrane technology (2nd ed.). Boston: Kluwer Academic. ISBN: 0-7923-4248.
- Mulder, M., (2000). Basic Principles of Membrane Technology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Munz, G., Gori, R., Ammili, L. and Lubello, C., (2008). Characterization of tannery wastewater and biomass in a membrane bioreactor using respirometric analysis. *Bioresource Technology* **99**, 8612-8618.
- Nagaoka, H., Ueda, S. and Miya, A., (1996). Influence of bacterial extracellular polymers on the membrane separation activated sludge process. *Water Science and Technology* **34**, 165-172.
- Nagaoka, H., Yamanishi, S. and Miya, A., (1998). Modeling of biofouling by extracellular polymers in a membrane separation activated sludge system. *Water Science and Technology* **38**, 497-504.
- Namkung, E. and Rittmann, B.E., (1988). Effects of SMP on biofilmreactor performance. *J Environ Eng (ASCE)* **114**, 199–210.
- Navarro, R.R., Hori, T., Inaba, T., Matsuo, K., Habe, H. and Ogata, A., (2016). High-resolution phylogenetic analysis of residual bacterial species of fouled membranes after NaOCl cleaning. *Water Research* **94**, 166-175.
- Neijssel, O.M. and Tempest, D.W., (1976). The role of energy-spilling reactions in the growth of *Klebsiella Aerogenes* NCTC 418 in aerobic chemostat culture. *Arch. Microbiol.* **110**, 305-311.

- Neilands, J. B., (1967). Hydroxamic acids in nature. *Science* **156**, 1443-1447.
- Ng, H.Y., Tan, T.W., Ong, S.L., Toh, C. A., and Loo, Z.P., (2006). Effects of solid retention time on the performance of submerged anoxic/oxic membrane bioreactor. *Water Science and Technology*, **53** (6), 7-13.
- Nielsen, P.H., Jahn, A. and Palmgren, R., (1997). Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. *Water Sci. Technol.*, **36**, 11–9.
- Nielsen, P.H. and Jahn, A., (1999). Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 49–72. Chapter 3.
- Noguera, D.R., Araki, N. and Rittmann, B.E., (1994). Soluble microbial products in anaerobic chemostats. *Biotechnol. Bioeng.* **44**, 1040–1047.
- Nossal, N.G. and Heppel, L.A., (1966). The release of enzymes by osmotic shock from *E. coli* in exponential phase. *J. Biol. Chem.* **241** (13), 3055-3062.
- Ognier, S., Wisniewski, C., and Grasmick, A., (2002). Influence of macromolecule adsorption during filtration of a membrane bioreactor mixed liquor suspension. *Journal of Membrane Science* **209**, 27-37.
- Orhon, D., Ates, E., Sözen, S. and Çokgör E.U., (1997). Characterization and COD fractionation of domestic wastewaters. *Environmental Pollution* **95**, 191-204.
- Özbek, B. and Gayik, S., (2001). The studies on the oxygen mass transfer coefficient in a bioreactor. *Process Biochemistry* **36**, 729-741.
- Painter, H.A., (1973). Organic compounds in solution in sewage effluents. *Chem. Ind.* September, 818-822.

- Pan, J.R., Su, Y.C., Huang, C. and Lee, H.C., (2010a). Effect of sludge characteristics on membrane fouling in membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science* **349**, 287-294.
- Pan, J.R., Su, Y. and Huang, C., (2010b). Characteristics of soluble microbial products in membrane bioreactor and its effect on membrane fouling. *Desalination* **250**, 778–780.
- Pang, C.M., Hong, P., Guo, H., Liu, W.T., (2005). Biofilm formation characteristics of bacterial isolates retrieved from a reverse osmosis membrane. *Environmental Science and Technology* **39** (19), 7541–7550.
- Parada-Albarracín, J.A., Marín, E., Pérez, J.I., Moreno, B. and Gómez, M.A., (2012). Evolution of filamentous bacteria during urban wastewater treatment by MBR. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **47**, 863-872.
- Park, D., Lee, D.S., and Park, J.M., (2005). Continuous biological ferrous iron oxidation in a submerged membrane bioreactor. *Water Science and Technology* **51**, 59-68.
- Paul, P. and Hartung, C., (2008). Modelling of biological fouling propensity by inference in a side stream membrane bioreactor. *Desalination* **224** (1–3), 154-159.
- Pearce, G., (2007). Introduction to membranes: Membrane selection. *Filtration & Separation* **44**, 35-37.
- Pearce, G., (2008). Introduction to membranes e MBRs: Manufacturers' comparison: part 1. *Filtration and Separation* March, 28.
- Pirt, S.J., (1975). Principles of Microbe and Cell Cultivation. Blackwell Scientific, Oxford.
- Porcelli, N. and Judd, S., (2010). Chemical cleaning of potable water membranes: A review. *Separation and Purification Technology* **71** (2), 137-143.

- Postgate, J.R. and Hunter J.R., (1964). Accelerated death of *Aerobacter aerogenes* starved in the presence of growth-limiting substrates. *J. Gen. Microbiol.* **34**, 459-473.
- Potts, M., (1994). Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiology Reviews* **58**, 755–805.
- Psoch, C. and Schiewer, S., (2006). Anti-fouling application of air sparging and backflushing for MBR. *Journal of Membrane Science* **283**, 273–280.
- Puspitasari, V., Granville, A., Le-Clech, P. and Chen, V., (2010). Cleaning and ageing effect of sodium hypochlorite on polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane. *Separation and Purification Technology* **72** (3), 301-308.
- Qu, X.L., Álvarez, P.J.J. and Li, Q.L., (2013). Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. *Water Research* **47** (12), 3931-3946.
- Quesada, E., del Moral, A. and Bejar, V., (1994). Comparative methods for isolation of *Volcaniellia eurihalina* exopolysaccharide, *Biotechnology Techniques* **8** (10), 701-706
- Ramesh, A., Lee, D.J., Wang, M.L., Hsu, J.P., Juang, R.S., Hwang, K.J., Liu, J.C. and Tseng, S.J., (2006). Biofouling in membrane bioreactor. *Separation Science and Technology* **41** (7), 1345–1370.
- Ramesh, A., Lee, D.J. and Lai, J.Y., (2007). Membrane biofouling by extracellular polymeric substances or soluble microbial products from membrane bioreactor sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology* **74**, 699–707.
- Resosudarmo, A.Y., Le-Clech, P. and Chen, V., (2013). Analysis of UF membrane fouling mechanisms caused by organic interactions in seawater. *Water Research* **47**, 911–921.

- Rezaei, M. and Mehrnia, M.R., (2014). The influence of zeolite (clinoptilolite) on the performance of a hybrid membrane bioreactor. *Biores. Technol.* **158**, 25–31.
- Rittmann, B.E., Bae, W., Namkung, E. and Lu, C.J., (1987). A critical evaluation of microbial product formation in biological processes. *Water Sci. Technol.* **19**, 517–528.
- Rittmann, B.E., Regan, J.M. and Stahl, D.A., (1994). Nitrification as a source of soluble organic substrate in biological treatment. *Water Sci. Technol.* **30** (6), 1–8.
- Rittmann, B.E. and McCarty, P.L., (2001). *Environmental biotechnology: principles and applications*. New York, NY: Mc- Graw Hill.
- Rogers, D., (1968). Osmotic pools in *Escherichia coli*. *Science* **159**, 531-532.
- Ronzano, E. and Dapena, J.L., (1995). *Tratamiento biológico de las aguas residuales*. Editorial Díaz de Santos. Madrid.
- Rosenberg, M., Gutnick, D. and Rosenberg, E., (1980). Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol. Lett.* **9**, 29-33.
- Rosenberger, S., Kraume, M. and Szewzyk, U., (1999). Operation of different membrane bioreactors experimental results and physiological state of the microorganisms. In: *Proceedings IWA conference membrane technology in environmental management*, Tokyo, 310-316.
- Rosenberger, S., Kruger, U., Witzig, R., Manz, W., Szewyk, U. and Kraume, M., (2002). Performance of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal waste water. *Water Research* **36**, 413-420.
- Rosenberger, S. and Kraume, M., (2002). Filterability of activated sludge in membrane bioreactors. *Desalination* **151**, 195-200.

- Rosenberger, S., Evenblij, H., te Poele, S., Wintgens, T. and Laabs, C., (2005). The importance of liquid phase analyses to understand fouling in membrane assisted activated sludge processes – six case studies of different European research groups. *Journal of Membrane Science* **263** (1–2), 113–126.
- Rosenberger, S., Laabs, C., Lesjean, B., Gnirss, R., Amy, G., Jekel, M. and Schrotter, J.C., (2006). Impact of colloidal and soluble organic material on membrane performance in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Water Research* **40** (4), 710–720.
- Rosenberger, S., Helmus, F.P. and Drews, A., (2016). Addition of Particles for Fouling Minimization in Membrane Bioreactors - Permeability Performance, Fluid Dynamics, and Rheology. *Chemie Ingenieur Technik* **88** (1-2), 29-38.
- Rudd, T., Sterrit, R.M. and Lester, J.N., (1984). Complexation of heavy metals by extracellular polymers in the activated sludge process. *J. Water Poll. Control Fed.* **56** (12), 1260–1268.
- Rudolfs, W. and Balmat, J.L., (1952). Colloids in sewage. I. Separation of sewage colloids with the aid of the electron microscope. *Sewage and Industrial Waste* **24**, 247–256.
- Ruiz, L.M., Arévalo, J., Parada, J., González, D., Moreno, B., Pérez, J. and Gómez, M.A., (2011). Respiriometric assays of two different MBR (microfiltration and ultrafiltration) to obtain kinetic and stoichiometric parameters. *Water Sci. Technol.* **63**, 2478-2485.
- Saier, M.H., Feucht, B.U. and McCaman, M.T., (1975). Regulation of intracellular adenosine cyclic 3':5'-mono-phosphate levels in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* **250** (19), 7593-7601.
- Santos, A., and Judd, S.J., (2010). The fate of metals in wastewater treated by the activated sludge process and membrane bioreactors: a brief review. *Journal of Environmental Monitoring* **12**, 110-118.

- Sarioglu, M., Insel, G. and Orhon, D., (2012). Dynamic in-series resistance modeling and analysis of a submerged membrane bioreactor using a novel filtration mode. *Desalination* **285**, 285-294.
- Schiener, P., Nachaiyasit, S. and Stuckey, D. C., (1998). Production of soluble microbial products (SMP) in an anaerobic bed reactor: composition, biodegradability and the effect of process parameters. *Environ. Technol.* **19**, 391- 400.
- Schmidt, J. and Ahring, B., (1994). Extracellular polymers in granular sludge from different upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Applied Microbiology and Biotechnology* **42**, 457-462.
- Schoeberl, P., Brik, M., Bertoni, M., Braun, R., and Fuchs, W., (2005). Optimization of operational parameters for a submerged membrane bioreactor treating dyehouse wastewater. *Separation and Purification Technology* **44**, 61-68.
- Shariati, S.R., Bonakdarpour, B., Zare, N. and Ashtiani F.Z., (2011). The effect of HRT on the performance and fouling characteristics of membrane sequencing batch reactors used for the treatment of synthetic petroleum refinery wastewater. *Bioresour. Technol.* **102**, 7692–7699
- Shen, Y., Zhao, W., Xiao, K. and 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**, 187–193.
- Shen, L.G., Lei, Q., Chen, J.R., Hong, H.C., He, Y.M. and Lin, H.J., (2015). Membrane fouling in a submerged membrane bioreactor: Impacts of floc size. *Chem. Eng. J.* **269**, 328-334
- Sheng, G.P., Yu, H.Q., and Yu, Z., (2005). Extraction of the extracellular polymeric substances from a photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas acidophila*. *Appl. Microbiol. Biotechnology* **67**, 125–130.

- Smeaton, J.R. and Elliot, W.H., (1967). Selective release of ribonuclease inhibitor from *B. subtilis* cells by cold shock treatment. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **26** (1), 75-81.
- Smith, C.V., Gregorio, D.O. and Talcott, R.M., (1969). The use of ultrafiltration membranes for activated sludge separation. Proc 24th Ind. Waste Conf., Purdue University, Ann Arbor, USA, 1300-1310.
- Smith, P.J., Vigneswaran, S., Ngo, H.H., Ben-Aim, R. and Nguyen, H., (2005). Design of a generic control system for optimising back flush durations in a submerged membrane hybrid reactor. *Journal of Membrane Science* **255**, 99-106.
- Smith, A.L., Stadler, L.B., Love, N.G., Skerlos, S.J., and Raskin, L., (2012). Perspectives on anaerobic membrane bioreactor treatment of domestic wastewater: A critical review. *Bioresource Technology* **122**, 149-159.
- Sofia, A., Ng, W.J. and Ong, S.L., (2004). Engineering design approaches for minimum fouling in submerged MBR. *Desalination* **160**, 67-74.
- Sponza, D.T., (2003). Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme Microb. Technol.* **32**, 375–385.
- Stephenson, T., Judd, S., Jefferson, B. and Brindle, K., (2000). Membrane bioreactor for wastewater treatment. IWA Publishing, London, UK.
- Stone, M. and Livingston, D., (2008). Flat plate MBR energy consumption e village of Dundee, MI. In: Membrane technology 2008 conference proceedings of the water environment federation, Alexandria (VA), Jan 27-30.
- Strange, R.E. and Dark, F.A., (1965). Substrate-accelerated death of *Aerobacter aerogenes*. *J. Gen. Microbiol.* **39**, 215-228.
- Sun, Y., Huang, X., Chen, F. and Wen, X., (2004). A dual functional filtration/aeration membrane bioreactor for domestic wastewater treatment. In:

Proceedings of water environment e membrane technology conference, Seoul, Korea, June 7-10.

- Sun, F.Y., Wang, X.M. and Li, X.Y., (2011). Effect of biopolymer clusters on the fouling property of sludge from a membrane bioreactor (MBR) and its control by ozonation. *Process Biochemistry* **46** (1), 162-167.
- Sun, J., Liang, P., Yan, X., Zuo, K., Xiao, K., Xia, J., Qiu, Y., Wu, Q., Wu, S., Huang, X., Qi, M. and Wen, X., (2016) Reducing aeration energy consumption in a large-scale membrane bioreactor: Process simulation and engineering application. *Water Research* **93**, 205-213.
- Sutherland, I.W. and Kennedy, L., (1996). Polysaccharide lyases from gellan producing *Sphingomonas* spp. *Microbiology* **142**, 867–872.
- Sutherland, I.W., (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology-SGM* **147**, 3–9.
- Tardieu E., Grasmick A., Geaugey V. and Manem J., (1999). Influence of hydrodynamics on fouling velocity in a recirculated MBR for wastewater treatment. *J. Membrane Sci.* **156**, 131-140.
- Tay, J.H., Luhai Zeng, J. and Sun, D.D., (2003). Effects of hydraulic retention time on system performance of a submerged membrane bioreactor. *Separation Science and Tchnology* **38** (4), 851-868.
- Tay, J.H., Liu, Y., Tay, S.L. and Hung, Y.T., (2009). Aerobic granulation technology. In *Advanced Biological Treatment Processes*; Wang, L.K., Shammam, N.K., Hung, Y.-T., Eds.; Humana Press: New York, NY, USA, 109–128.
- Thompson, J., (1976). Characteristics and energy requirements of an A aminoisobutyric acid transport system in *Streptococcus lactis*. *J. Bact.* **127** (2), 719-730.

- Tonelli, F.A. and Behmann, H., (1996). Aerated membrane bioreactor process for treating recalcitrant compounds. US Pat: 410730.
- Tonelli, F.A. and Canning, R.P., (1993). Membrane bioreactor system for treating synthetic metalworking fluids and oil based products. USA Pat: 5204001.
- Trussell, R.S., Merlo, R.P., Hermanowicz, S.W. and Jenkins, D., (2006). The effect of organic loading on process performance and membrane fouling in a submerged MBR treating municipal wastewater. *Water Res.* **40**, 2675–2683.
- Tsuneda, S., Park, S., Hayashi, H., Jung, J. and Hirate, A., (2001). Enhancement of nitrifying biofilm formation using selected EPS produced by heterotrophic bacteria. *Water Sci. Tech.* **43** (6), 197–204.
- Urbain, V., Mobarry, B., de Silva, V., Stahl, D.A., Rittmann, B.E. and Manem, J., (1998). Integration of performance, molecular biology and modeling to describe the activated sludge process. *Water Sci. Technol.* **37**, 223-229.
- Vallero, M.V.G., Lettinga, G. and Lens, P.N.L., (2005). High rate sulfate reduction in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBAR) at high salinity. *Journal of Membrane Science* **253**, 217-232.
- Van Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G. and Zehnder, A.J.B., (1987a). The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 1893-1897.
- Van Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G. and Zehnder, A.J.B., (1987b). Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 1898–1901.
- Van Nieuwenhuijzen, A.F., Evenblij, H., Uijterlinde, C.A. and Schulting, F.L., (2008). Review on the state of science on membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Water Science and Technology* **57** (7), 979-986.

- Vanysacker, L., Bernshtein, R. and Vankelecom, I.F.J., (2014). Effect of chemical cleaning and membrane aging on membrane biofouling using model organisms with increasing complexity. *J.Membr.Sci.* **457**, 19-28.
- Veiga, M.C., Mahendra, K.J., Wu, W.M., Hollingsworth, R.I. and Zeikus, J.G., (1997). Composition and role of extracellular polymers in methanogenic granules. *Appl. Environ. Microbiol.* **63** (2), 403-407.
- Visvanathan, C., Yang, B.S., Muttamara, S., and Maythanukhrav, R., (1997). Application of air backflushing technique in membrane bioreactor. *Water Science and Technology* **36**, 259-266.
- Wang, S., Guillen, G. and Hoek, E.M.V., (2005). Direct observation of microbial adhesion to membranes. *Environmental Science and Technology* **39** (17), 6461-6469.
- Wang, Z., Wu, Z., Yin, X. and Tian, L., (2008). Membrane fouling in a submerged membrane bioreactor (MBR) under sub-critical flux operation: membrane foulant and gel layer characterization. *Journal of Membrane Science* **325** (1), 238-244.
- Wang, Z., Wu, Z. and Tang, S., (2009a). Extracellular polymeric substances (EPS) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor. *Water research* **43**, 2504-2512.
- Wang, Z., Wu, Z. and Tang, S., (2009b). Characterization of dissolved organic matter in a submerged membrane bioreactor by using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectrtrtscopy. *Water Res.* **43**, 1533-1540.
- Wang, P., Wang, Z., Wu, Z., Zhou, Q. and Yang D., (2010). Effect of hypochlorite cleaning on the physiochemical characteristics of polyvinylidene fluoride membranes. *Chemical Engineering Journal* **162**, 1050-1056.

- Wang, X.M., Sun, F.Y. and Li, X.Y., (2011). Investigation of the role of biopolymer clusters in MBR membrane fouling using flash freezing and environmental scanning electron microscopy. *Chemosphere* **85** (7), 1154-1159.
- Wang, L., Miao, R., Wang, X., Lv, Y., Meng, X., Yang, Y., Huang, D., Feng, L., Liu, Z. and Ju, K., (2013a). Fouling behavior of typical organic foulants in polyvinylidene fluoride ultrafiltration membranes: characterization from microforces. *Environmental Science & Technology* **47** (8), 3708-3714.
- Wang, Y.K., Li, W.W., Sheng, G.P., Shi, B.J. and Yu, H.Q., (2013b). In-situ utilization of generated electricity in an electrochemical membrane bioreactor to mitigate membrane fouling. *Water Research* **47** (15), 5794-5800.
- Wang, Z., Ma, J., Tang, C.Y., Kimura, K., Wang, Q. and Han, X., (2014). Membrane cleaning in membrane bioreactors: A review. *Journal of Membrane Science* **468**, 276-307.
- Water Environment Federation, (2011). Membrane Bioreactors: Water Environment Federation (WEF), Manual of Practice No. 36. McGraw-Hill: New York, NY, USA.
- WaterWorld. (2012). Membrane multiplier: MBR set for global growth e water world.
- Wen, X., Wing, C. and Qian, Y., (1999). A kinetic model for the prediction of sludge formation in a membrane bioreactor. *Process Biochemistry* **35**, 249-254.
- Wingender, J., Neu, T.R. and Flemming, H.C., (1999). Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function. Berlin, Springer.
- Winkler, M.A., (1999). *Tratamiento Biológico de Aguas de Desecho*, 87-93. Limusa, Madrid, España.
- Wisniewski, C. and Grasmick, A., (1998). Floc size distribution in a membrane bioreactor and consequences for membrane fouling. *Colloid Surface A: Physicochem Eng. Aspect.* **138**, 403-411.

- Wu, J., Chen, F., Huang, X., Geng, W. and Wen, X., (2006). Using inorganic coagulants to control membrane fouling in a submerged membrane bioreactor. *Desalination* **197**, 124-136.
- Wu, J. and Huang, X., (2009). Effect of mixed liquor properties on fouling propensity in membrane bioreactors. *J. Membr. Sci.* **342**, 88-96.
- www.thembrsite.com/about-mbrs/largest-mbr-plants/
- Xu, Q., Ye, Y., Chen, V. and Xianghua, W., (2015). Evaluation of fouling formation and evolution on hollow fiber membrane: Effects of ageing and chemical exposure on biofoulant. *Water Res.* **68**, 182-193.
- Yamamura, H., Kimura, K. and Watanbe, Y., (2007). Mechanism involved in the evolution of physically irreversible fouling in microfiltration and ultrafiltration membranes used for drinking water treatment. *Environmental Science and Technology* **41** (19), 6789-6794.
- Yamamoto, K., Hiasa, M., Mahmood, T. and Matsuo, T., (1989). Direct solid-liquid separation using hollow fiber membrane in an activated sludge aeration tank. *Water Science and Technology* **21** (10), 43-54.
- Yamato, N., Kimura, K., Miyoshi, T. and Watanabe, Y., (2006). Difference in membrane fouling in membrane bioreactors (MBRs) caused by membrane polymer materials. *Journal of Membrane Science* **280** (1-2), 911-919.
- Yang, W., Cicek, N. and Ilg, J., (2006). State-of-the-art of membrane bioreactors: Worldwide research and commercial applications in North America. *Journal of Membrane Science* **270**. Pp 201-211.
- Yigit, N.O., Harman, I., Civelekoglu, G., Koseoglu, H., Cicek, N. and Kitis, M., (2008). Membrane fouling in a pilot-scale submerged membrane bioreactor operated under various conditions. *Desalination* **231**, 124-132.

- Yoon, S.H., Collins, J.H., Musale, D., Sundararajan, S., Tsai, S.P. and Hallsby, G.A., (2005). Effects of flux enhancing polymer on the characteristics of sludge in membrane bioreactor process. *Water Science and Technology* **51**, 151-157.
- You, H.S., Huang, C.P., Pan, J.R., Chang, S.C., (2006). Behavior of membrane scaling during crossflow filtration in the anaerobic MBR system. *Separation Science and Technology* **41** (7), 1265–1278.
- Yu, H.Y., Hu, M.X., Xu, Z.K., Wang, J.L. and Wang, S.Y. (2005). Surface modification of polypropylene microporous membranes to improve their antifouling property in MBR: NH₃ plasma treatment. *Separation and Purification Technology* **45**. Pp 8-15.
- Yu, T., Lei, Z. and Sun, D.Z., (2006). Functions and behaviors of activated sludge extracellular polymeric substances (EPS): a promising environmental interest. *J. Environ. Sci.* **18**, 420-427.
- Zanetti, F., De Luca, G. and Sacchetti, R., (2010). Performance of a full-scale membrane bioreactor system in treating municipal wastewater for reuse purposes. *Bioresource Technology* **101** (10), 3768-3771.
- Zhang, X.Q., Bishop, P.L. and Kinkle, B.K., (1999). Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms. *Water Sci. Tech.* **39** (7), 211-218.
- Zhang, Y., Bu, D., Liu, C.G., Luo, X. and Gu, P., (2004). Study on retarding membrane fouling by ferric salts dosing in membrane bioreactors. In: Proceedings of water environment e membrane technology conference, Seoul, Korea, June 7-10.
- Zhang, J., Chua, H.C., Zhou, J., Fane and A.G., (2006a). Factors affecting the membrane performance in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science* **284** (1-2), 54-66.

- Zhang, K., Choi, H., Dionysiou, D.D., Sorial, G.A. and Oerther, D.B., (2006b). Identifying pioneer bacterial species responsible for biofouling membrane bioreactors. *Environmental Microbiology* **8** (3), 433–440.
- Zhang, S., Yang, F., Liu, Y., Zhang, X., Yamada, Y. and Furukawa K., (2006c). Performance of a metallic membrane bioreactor treating simulated distillery wastewater at temperatures of 30 to 45 °C. *Environ. Biol. Sci. Technol.* **194**, 146–155.
- Zhang, S., Yang, F., Liu, Y., Zhang, X., Yamada, Y., and Furukawa, K., (2006d). Performance of a metallic membrane bioreactor treating simulated distillery wastewater at temperatures of 30 to 45 °C. *Environ. Biol. Sci. Technol.* **194**, 146-155.
- Zhang, B., Sun, B.S., Jin, M., Gong, T. and Gao, Z.H., (2008a). Extraction and analysis of extracellular polymeric substances in membrane fouling in submerged MBR. *Desalination* **227**, 286-294.
- Zhang, H.F., Sun, B.S., Zhao, X.H. and Gao, Z.H., (2008b). Effect of ferric chloride on fouling in membrane bioreactor. *Separation and Purification Technology* **63** (2), 341-347.
- Zhang, J., Zhou, J., Liu, Y. and Fane, A.G., (2010). Comparison of membrane fouling under constant and variable organic loadings in submerged membrane bioreactors. *Water Res.* **44**, 5407-5413.
- Zhang, J., Loong, W.L.C., Chou, S., Tang, C., Wang, R. and Fane, A.G., (2012). Membrane biofouling and scaling in forward osmosis membrane bioreactor. *J. Membr. Sci.* **403**, 8-14.
- Zhao, C., Xu, X., Chen, J., Wang, G. and Yang, F., (2014). Highly effective antifouling performance of PVDF/graphene oxide composite membrane in membrane bioreactor (MBR) system. *Desalination* **340**, 59-66.

- Zhao, D. and Yu, S., (2015). A review of recent advance in fouling mitigation of NF/RO membranes in water treatment: pretreatment, membrane modification, and chemical cleaning. *Desalination and Water Treatment* **55** (4), 870-891
- Zhou, J., Yang, F.L., Meng, F.G., An, P. and Wang, D., (2007). Comparison of membrane fouling during short-term filtration of aerobic granular sludge and activated sludge. *Journal of Environmental Sciences* **19** (11), 1281-1286.
- Zhou, Z.B., Meng, F.G., Lu, H., Li, Y., Jia, X.S. and He, X., (2014). Simultaneous alkali supplementation and fouling mitigation in membrane bioreactors by on-line NaOH backwashing. *Journal of Membrane Science* **457**, 120-127.
- Zou, X.L., Xu, K., Ding, L.L. and Ren, H.Q., (2009). Effect of salinity on extracellular polymeric substances (EPS) and soluble microbial products (SMP) in anaerobic sludge systems. *Fresen. Environ. Bull.* **18**, 1456-1461.

ANEXO I: FIGURAS

ANEXO I: FIGURAS

Figura 1.1: Esquema del proceso de fangos activos convencional	6
Figura 1.2: Estimación del mercado MBR de plantas municipales a nivel global	9
Figura 1.3: Evolución de las tendencias en investigaciones sobre MBR	12
Figura 1.4: Diferentes procesos de separación según la selectividad de las membranas	14
Figura 1.5: Tipos de membrana según su morfología	17
Figura 1.6: Esquema de muestra el flujo a través de la membrana en: (a) placa bastidor, (b) Multitubular y (c) fibra hueca	19
Figura 1.7: (a) Obstrucción completa; (b) Obstrucción estándar; (c) Obstrucción intermedia y (d) formación de torta	24
Figura 1.8: Evolución del ensuciamiento de la membrana en MBR según la TMP	25
Figura 1.9: Ilustración esquemática de la formación y eliminación del ensuciamiento eliminable y no eliminable en MBR	28
Figura 1.10: Estructura del SMP y EPS dentro del flóculo microbiano	34
Figura 3.1: EDAR Sur Granada con ubicación de la planta experimental (izquierda) y detalle de la planta experimental (derecha)	63
Figura 3.2: A la izquierda, canal de entrada a decantadores desde donde se bombea el agua, y a la derecha, tamiz rotario y depósito de acumulación de la planta experimental	64

Figura 3.3: Instalación experimental con tecnología de microfiltración FS50 Kubota	65
Figura 3.4: Diagrama del proceso de la planta experimental de microfiltración	68
Figura 3.5: Difusor de aire ubicado en el reactor aireado (izquierda) y soplante utilizada en el proceso biológico (derecha)	69
Figura 3.6: Módulo de membranas de microfiltración de la casa comercial KUBOTA	70
Figura 3.7: Evolución cíclica del Oxígeno Disuelto en el sistema	77
Figura 3.8: Diagrama de los puntos de recogida de muestras de los diferentes fangos	80
Figura 3.9: Comparativa métodos de extracción de EPS en fangos activos	82
Figura 3.10: Esquema extracción SMP	86
Figura 4.1: Interferencia reactivos químicos utilizados en la extracción de EPS en los métodos colorimétricos utilizados	111
Figura 4.2: Diagrama de cajas y bigotes del total de EPS extraído mediante los diferentes métodos	113
Figura 4.3: Diagrama de cajas y bigotes de la concentración de ADN en los diferentes métodos de extracción de EPS	115
Figura 4.4: Diagrama de cajas y bigotes de la extracción total de EPS en la combinación de métodos	118
Figura 4.5: Evolución de la temperatura ambiental y del fango activo	120
Figura 4.6: Evolución de las temperaturas máximas y mínimas del fango activo	121

Figura 4.7: Evolución del HRT	123
Figura 4.8: Evolución del SRT	125
Figura 4.9: Evolución de la concentración de DQO total y soluble del influente	128
Figura 4.10: Evolución del porcentaje de DQO soluble y particulada	129
Figura 4.11: Evolución de la Carga Orgánica Volumétrica por DQO	131
Figura 4.12: Evolución de los sólidos en suspensión en el influente	132
Figura 4.13: Evolución del porcentaje de VSS en el influente	133
Figura 4.14: Evolución de la Carga Orgánica Volumétrica por VSS	134
Figura 4.15: Evolución de la hidrofobicidad relativa del influente	135
Figura 4.16: Correlaciones entre HR fracción soluble (arriba a la izquierda), HR y fracción particulada (arriba a la derecha), HR y fracción inorgánica (debajo a la izquierda), y HR y fracción orgánica (debajo a la derecha)	137
Figura 4.17: Evolución de los MLSS y MLSSV	138
Figura 4.18: Evolución conjunta de los MLSS y SRT	139
Figura 4.19: Correlación entre MLSS y SRT	140
Figura 4.20: Evolución de la TMP durante tres ciclos de filtración	141
Figura 4.21: Evolución de la TMP mínima y máxima	142
Figura 4.22: Evolución de la TMP media	142

Figura 4.23: A la izquierda: membrana plana de microfiltración cambiada por ensuciamiento irreversible, a la derecha: membrana plana de microfiltración nueva	143
Figura 4.24: Evolución de los MLSS y TMP media	144
Figura 4.25: Correlaciones entre MLSS y TMP (izquierda) y entre temperatura y TMP (derecha)	146
Figura 4.26: Evolución Flujo hidráulico y TMP media	147
Figura 4.27: Correlación entre TMP y flujo hidráulico	148
Figura 4.28: Evolución de la viscosidad del fango activo aireado	150
Figura 4.29: Evolución de la viscosidad del fango activo anóxico	151
Figura 4.30: Evolución de la viscosidad del fango activo en el MBR	152
Figura 4.31: Análisis LSD de la viscosidad con un nivel de confianza del 95%	154
Figura 4.32: Evolución de la viscosidad global del fango activo	154
Figura 4.33: Evolución conjunta de los MLSS y viscosidad fango a 20° C	155
Figura 4.34: Correlación MLSS-viscosidad fango activo	156
Figura 4.35: Correlación lineal entre TMP media y viscosidad a 20° C del MBR (izquierda) y correlación lineal entre TMP máxima y viscosidad a 20° C del MBR (derecha)	157
Figura 4.36: Evolución de la HR en los diferentes reactores e influente	159
Figura 4.37: Diagrama cajas y bigotes del porcentaje de HR en los diferentes reactores	160
Figura 4.38: Correlación entre HR de fango activo y TMP media	161

Figura 4.39: Correlación entre HR y la fracción orgánica del fango activo (izquierda) y entre HR y la fracción inerte del fango activo (derecha)	163
Figura 4.40: Evolución de la DQO del efluente	164
Figura 4.41: Correlación DQOef - T^a media (arriba a la izquierda), correlación DQOef - SRT (arriba a la derecha), y correlación DQOef – HRT (abajo)	165
Figura 4.42: Evolución de los biopolímeros presentes en el SMP	168
Figura 4.43: Evolución del porcentaje de los biopolímeros respecto al total de SMP	169
Figura 4.44: Evolución en la concentración de CO, CI y SMP	171
Figura 4.45: Evolución conjunta TMP máxima y componentes del SMP	176
Figura 4.46: Evolución de los biopolímeros presentes en el EPS	179
Figura 4.47: Evolución del porcentaje de los biopolímeros respecto al total de EPS	181
Figura 4.48: Evolución conjunta del SRT y los biopolímeros presentes en el EPS	182
Figura 4.49: Evolución de la TMP máxima y los EPS _c	187
Figura 4.50: Matriz de correlaciones entre EPS, SMP y sus componentes	190
Figura 4.51: Evolución R_t con el primer juego de membranas	192
Figura 4.52: Evolución R_t con el segundo juego de membranas	195
Figura 4.53: Evolución del ensuciamiento irreversible en la membrana	198

Figura 4.54: Matriz de correlaciones entre variables, parámetros operacionales y Rt

201

ANEXO II: TABLAS

ANEXO II: TABLAS

Tabla 1.1: Las mayores 20 instalaciones MBR en la actualidad	11
Tabla 1.2: Factores que influyen sobre el ensuciamiento de la membrana en MBR	26
Tabla 3.1: Características técnicas de la membrana plana de microfiltración	66
Tabla 3.2: Instrumentación instalada en la instalación experimental	73
Tabla 3.3: Análisis realizados con las muestras recogidas	79
Tabla 4.1: Composición del EPS extraído mediante el método de centrifugación (mg/g SSv)	103
Tabla 4.2: Composición del EPS extraído mediante el método de calentamiento (mg/g SSv)	103
Tabla 4.3: Composición del EPS extraído mediante el método de sonicación (mg/g SSv)	103
Tabla 4.4: Composición del EPS extraído mediante el método de NaOH (mg/g SSv)	104
Tabla 4.5: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído (mg/g SSv)	104
Tabla 4.6: Composición del EPS extraído mediante el método de EDTA (mg/g SSv)	105
Tabla 4.7: Composición del EPS extraído mediante el método de etanol -20° C (mg/g SSv)	105
Tabla 4.8: Composición del EPS extraído mediante el método de glutaraldehído (mg/g SSv)	105

Tabla 4.9: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído + NaOH (mg/g SSv)	106
Tabla 4.10: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído + calentamiento (mg/g SSv)	107
Tabla 4.11: Composición del EPS extraído mediante el método de formaldehído + sonicación (mg/g SSv)	107
Tabla 4.12: Composición del EPS extraído mediante el método de NaOH + calentamiento (mg/g SSv)	107
Tabla 4.13: Composición del EPS extraído mediante el método de NaOH + sonicación (mg/g SSv)	108
Tabla 4.14: Comparativa métodos de extracción de EPS (mg/g SSv)	110
Tabla 4.15: Distribución de los grupos homogéneos según el EPS total extraído	113
Tabla 4.16: Grupos homogéneos en la cuantificación de ADN	115
Tabla 4.17: Grupos homogéneos en la combinación de métodos de extracción de EPS	117
Tabla 4.18: Resumen medidas viscosidad fango activado	153
Tabla 4.19: Resumen valores registrados HR	158
Tabla 4.20: ANOVA de la HR entre diferentes reactores e influente	160
Tabla 4.21: Resultados estadísticos de la evolución de CO, CI, CT y SMP en mg/L	170
Tabla 4.22: Coeficientes de Pearson entre variables operacionales y concentración de SMP y componentes	172

Tabla 4.23: Coeficientes de Pearson entre parámetros operacionales y concentración de SMP y componentes	174
Tabla 4.24: Coeficientes de Pearson entre variables operacionales y concentración de EPS y componentes	183
Tabla 4.25: Coeficientes de Pearson entre parámetros operacionales y concentración de EPS y componentes	185
Tabla 4.26: Coeficientes de Pearson entre EPS, SMP y sus componentes	189
Tabla 4.27: Coeficientes de Pearson entre variables y parámetros operacionales y Rt	199