

## TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL MUNICIPAL CON BIO-REACTORES UASB DE MEMBRANA: EFECTIVIDAD Y TAPONAMIENTO

### **Miguel Herrera Robledo** <sup>(1)</sup>

Químico de Alimentos por la Universidad Nacional Autónoma de México, Estudiante de Maestría en Ciencias Bioquímicas en la misma institución.

### **Juan Manuel Morgan-Sagastume** <sup>(1)</sup>

Doctor en Ingeniería Química por la Universidad Nacional Autónoma de México, Técnico Académico del Instituto de Ingeniería en la misma institución.

### **Sarina J. Ergas**

Investigadora Asociada del Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad de Massachussets en Amherst, Colaboradora, en este proyecto, del Instituto de Ingeniería-UNAM

### **Adalberto Noyola Robles** <sup>(1)</sup>

Doctor en Biotecnología, Investigador Titular del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Dirección <sup>(1)</sup>: Coordinación de Bioprocesos Ambientales, Instituto de Ingeniería, UNAM, Edificio 5, 2do nivel, Cub 319, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, 04510, Coyoacán, México D.F., México.  
Tel: (+52) 55 56233600 ext 8693  
FAX: (+52) 55 616-21-64. E-mail: [jmms@pumas.ii.unam.mx](mailto:jmms@pumas.ii.unam.mx)

## RESUMEN

En una instalación a escala laboratorio se evaluó el efecto del tiempo de retención celular (TRC) sobre la remoción de contaminantes en dos bioreactores UASB acoplados a membranas mediante. Se determinaron parámetros fisicoquímicos, hidráulicos y biológicos. Se encontró que el efluente, cumple con la normatividad mexicana para la reutilización de agua.

El fenómeno de taponamiento fue estudiado en ambos módulos de ultrafiltración encontrándose que el mecanismo de dos etapas típico en experimentos de filtración se repetía de manera periódica, es decir, eventos sucesivos en los que el flux presentaba inicialmente un decremento exponencial seguido de una etapa en la cual se mantenía relativamente constante durante la operación a largo plazo del sistema en estudio. De acuerdo a la teoría, cada etapa estacionaria es referida al desarrollo de una biopelícula por lo que la discusión se encuentra dirigida a la sobreposición de biopelículas. Se realizó asimismo una autopsia de las membranas taponadas que incluye determinaciones de la ultraestructura del biomaterial mediante microscopia electrónica, microanálisis de las superficies por espectroscopia por dispersión de energía (EDS) además de cálculos de poblaciones microbianas a través del aislamiento de ADN asociado a las biopelículas. Los datos obtenidos sugieren que el biomaterial está compuesto por capas superpuestas de biopelículas semipermeables en las que se encuentran mezclados compuestos orgánicos e inorgánicos dentro de la matriz que las constituyen. La organización tridimensional, la presencia de elementos inorgánicos cuya solubilidad es pobre (Ca, Mg), la existencia de microorganismos en el interior de la biopelícula y por lo tanto la presencia de sus metabolitos que funcionan como sillares estructurales además de las condiciones microambientales predominantes dentro de la membrana tubular permitieron fundamentar la propuesta de que el mecanismo de formación de cada biopelícula podría estar relacionado con la teoría de mineralización biológicamente inducida enfocándose la discusión final de este trabajo en las características mecánicas y de cohesión del biomaterial generado en cada membrana.

**Palabras clave:** Agua residual municipal, BRM. membranas, microscopia electrónica, UASB, ultrafiltración.

## INTRODUCCIÓN

La tecnología de bioreactores de membrana (BRM) combina el proceso físico de separación con el tratamiento biológico. Estos sistemas utilizan membranas de micro y/o ultrafiltración que permiten la retención de sólidos coloidales y suspendidos además de que ha demostrado su utilidad en la remoción de microorganismos patógenos, huevos de helminto y de algunas macromoléculas solubles (Barker y Stuckley, 1999). En los últimos años se ha incrementado el interés por el uso de reactores con membranas en proyectos de tratamiento y reutilización de aguas residuales domésticas e industriales que incluyen irrigación agrícola, procedimientos industriales con agua de enfriamiento, agua de parques de recreación y para protección contra incendios (Ogashi et al, 2001) Los bioreactores de membrana tienen el potencial para subsanar las limitaciones que presentan los reactores biológicos convencionales en el tratamiento y reutilización de aguas residuales domésticas ya que a) permiten tiempos largos de residencia de sólidos, b) poseen una alta capacidad para remover microorganismos patógenos, c) permiten separar a la biomasa del licor mezclado sin intervención de la gravedad, d) se obtiene un efluente sin sólidos en suspensión y, e) las moléculas solubles de alto peso molecular son retenidas en la membrana.

Los principales factores que han favorecido la adopción de los sistemas de filtración han sido el rápido descenso en los costos de inversión y operación de estos sistemas tornando a la tecnología de membrana como competencia directa con los sistemas convencionales de tratamiento. Así mismo, los límites máximos permisibles para patógenos y contaminantes químicos en aguas para consumo humano y para la reutilización de efluentes de plantas de tratamiento de agua residual están siendo progresivamente reducidos por la ley. Actualmente cumplir con la normatividad ambiental puede requerir de la adopción de tecnologías complementarias de alto costo por lo que en muchos casos se hace factible la adopción de un sistema de filtración con membranas.

Entre las limitaciones mas importantes asociadas con esta tecnología se encuentran los altos costos de inversión y de operación asociados estos últimos al propio consumo de energía por el bombeo y al problema de taponamiento que sufren las membranas durante su operación. A pesar de ello, la tendencia actual en el mercado de membranas es aumentar la producción y por lo tanto abatir el costo en virtud de la creciente aceptación de estas tecnologías alrededor del mundo (Adham et al, 2001). Las membranas han sido utilizadas básicamente asociadas con reactores de tipo aerobio (Cicek, 2003); los sistemas anaerobios, al ser poco utilizados en los países desarrollados para el tratamiento de efluentes municipales, han sido poco considerados para acoplarlos con membranas.

El efluente de los sistemas anaerobios usados en el tratamiento de agua residual no cumple con lo especificado en la normatividad para reúso (NOM-003-SEMARNAT-1997) debido principalmente a la elevada  $DBO_5$ , SST y a la presencia de contaminantes biológicos. El uso de barreras físicas de ultrafiltración acopladas a estos sistemas podría solucionar esta problemática.

Este trabajo persigue dar respuesta a los siguientes cuestionamientos: a) ¿Es posible obtener un efluente que cumpla con lo especificado en la norma NOM-003-SEMARNAT-1997 para reúso en cuanto a huevos de helminto, microorganismos patógenos y  $DBO$  utilizando reactores biológicos anaerobios con membrana? y b) ¿En que medida el taponamiento de la membrana es dependiente de la biomasa y no de sustancias inorgánicas?

## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se instalaron dos sistemas a nivel laboratorio que constan, cada uno, de un tanque de suministro de agua residual, de un reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés), de un tanque de igualación de flujo, de una unidad de membrana y de las respectivas unidades de bombeo (Figura 1). Se trató agua residual de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria considerada como agua municipal. Ambos sistemas fueron operados en paralelo durante 103 días bajo distintos TRC.

El tanque de alimentación de agua residual tuvo un volumen de 19 L (diámetro de 0.26 m, altura de 0.39 m) el cual fue alimentado a diario en forma manual. Dos bombas peristálticas tipo masterflex

cabezal 18 de Cole Parmer alimentaron con agua residual a los reactores anaerobios tipo UASB. Estos reactores fueron construidos de vidrio con un volumen neto de 1.0 L (diámetro sección de lodo 0.102 m, altura sección de lodo 0.20 m). El efluente de cada reactor fue colectado en un tanque de equalización de flujo de 2.5 l netos (Diámetro 0.20m, altura 0.45m) equipado con sensores de nivel de agua (CEYSA, 0.75 HP, México) para controlar el arranque y paro de la bomba de desplazamiento positivo (Moyno, EUA, serie 33201) que alimenta de agua a la membrana de ultrafiltración (UF). Esta membrana fue extraída de un módulo de membranas (Membrana tubular de 40 KDa de polietersulfona, Resistencia ( $R_t$ ) de  $10^{-07} \text{ m}^{-1}$ , suministrada por Aquatech, Corea del Sur) de tal forma que se tuvo un área de filtrado de  $7.2 \times 10^{-3} \text{ m}^2$  (largo 0.29 m, diámetro 8.9 mm). La presión transmembrana fue medida con un manómetro (0-14 kPa, De Walt, México) y fue controlada mediante la velocidad de rotación de la bomba de desplazamiento positivo y una válvula de compuerta ubicada en la descarga de la membrana. El efluente del módulo de la membrana fue retornado al tanque de equalización de flujo.

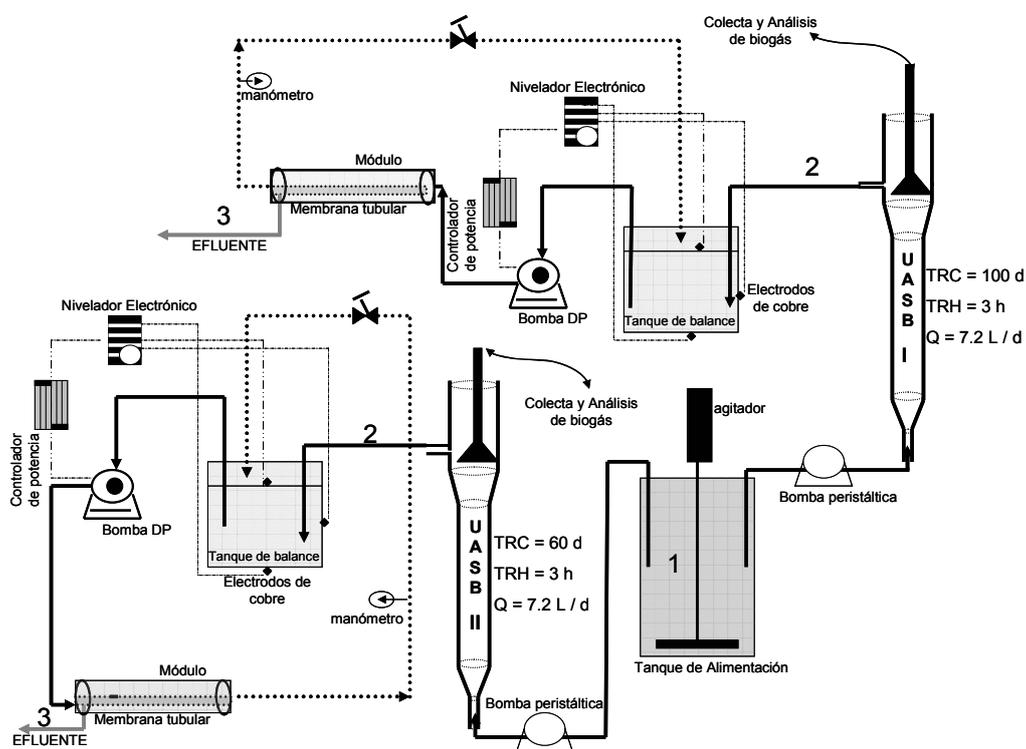


Figura 1. Esquema del Modelo experimental .

La velocidad tangencial en el módulo de membrana fue de 2.0 m/s. Los sistemas fueron operados con un flujo de 7.2 l/d cada uno, lo que implicó un tiempo de retención hidráulica en los reactores UASB de 3 horas; el sistema I trabajó con un tiempo de retención celular de 100 d mientras que el sistema II lo hizo con 60 d para lo cual se efectuó una purga de 5 ml de lodo/d. Los reactores UASB fueron inoculados cada uno con 333 ml de lodo granular proveniente de un digester anaerobio que depura residuos de la industria procesadora de jarabe de maíz (Actividad metanogénica=0.53 gCH<sub>4</sub>-DQO/g SSV d ; Índice volumétrico de lodos=27 ml /g SSV).

El comportamiento de los bioreactores fue evaluado de manera periódica en los puntos 1, 2 y 3 (Figura 1) de acuerdo a los *Métodos Estándar* (APHA, AWWA, WPCF ,1999), además de los propuestos por la norma Mexicana NMX-113-SCFI-1999. La frecuencia de estos análisis así como las técnicas utilizadas se resumen en la Tabla 1:

**Tabla 1 Parámetros Evaluados para el Control del Sistema y su Frecuencia**

Parámetro	Técnica	Frecuencia de medición y comentarios
pH	Potenciómetro	Diario
Alcalinidad	APHA, AWWA, WPCF (1999)	3 / semana
Sólidos suspendidos totales, volátiles y fijos	APHA, AWWA, WPCF (1999)	3 / semana
Composición de biogás	Cromatografía de gas	Diario
DQO (soluble)	APHA, AWWA, WPCF (1999)	3/semana
DBO5	APHA, AWWA, WPCF (1999)	Semanal
Coliformes fecales	APHA, AWWA, WPCF (1999)	Determinaciones semanales en el efluente UASB y en el permeado de membrana. En el lodo de los reactores UASB al final de la experimentación.
Huevos de helminto	NMX-113-SCFI-1999	
Flujo crítico en la membrana	Field et al., (1995)	Una vez al inicio.
Determinación de material orgánico, inorgánico y humedad en la membrana	APHA, AWWA, WPCF (1999)	Una vez al final del experimento.
Cuantificación de microorganismos	<b>Aislamiento ADN (Mo Bio ultraclean soil DNA kit) – Determinaciones Espectroscópicas (Biophotometer, Eppendorf) – Relaciones ADN:Biomasa celular</b>	Una vez al final de la operación a largo plazo. Un centímetro de longitud de cada membrana fue sometido al proceso extracción sin remover la biopelícula cuantificándose posteriormente mediante espectrofotometría (Biophotometer, Eppendorf); a través de relaciones ADN/biomasa, se calcula de manera indirecta la cantidad en masa de microorganismos y posteriormente el número de células.

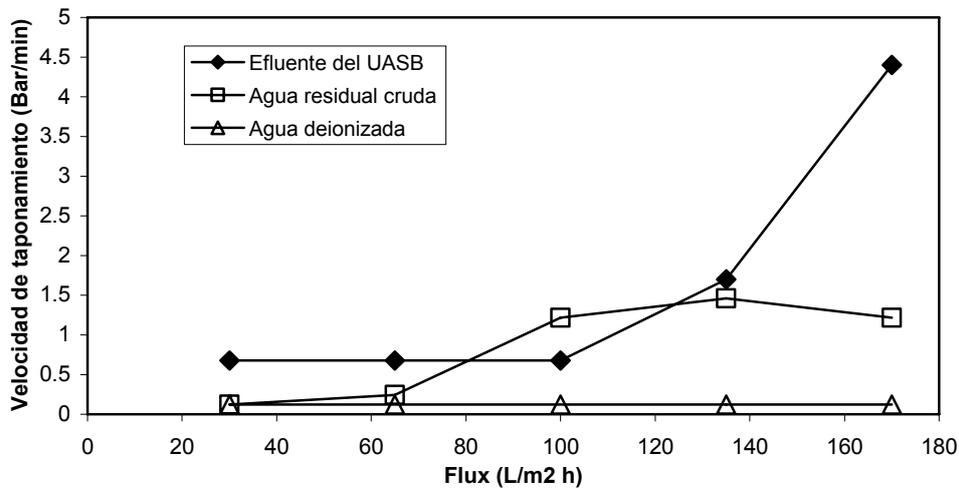
Con el fin de incrementar el contenido de huevos de helminto en el agua residual cruda, se procedió a inocular el agua de alimentación con organismos maduros de *Ascaris suum*. Estos fueron obtenidos de las instalaciones del rastro municipal de Tlalnepantla, Estado de México. La colecta se realizó después de la matanza del ganado porcino ya que estos organismos se desarrollan dentro del intestino del hospedero. Se recolectaron los huevos del parásitos y se almacenaron en una solución salina fisiológica para conservarse en refrigeración. La disección se efectuó según Capizzi et al., (2004). Se realizaron cinco conteos de 100µl de la solución de huevos de *A. suum* mediante microscopía óptica utilizando una celda de conteo Duncaster y un microscopio óptico (Zeigen X52-G7). La muestra debe homogeneizarse mediante el uso intensivo del vórtex durante los 30 s posteriores a la toma de la alícuota para su conteo. Posterior al conteo se determinó la media aritmética de las cinco determinaciones obteniéndose en promedio 10HH/ µl. Se adicionó al tanque de alimentación (19L de capacidad) el volumen necesario para mantener constante la concentración de 25 HH/L en el influente a los reactores UASB

La estructura de la biopelícula desarrollada fue estudiada mediante el microscopio Cambridge/Leica modelo *Stereoscan 440* y las micrografías fueron analizadas mediante el software del equipo. Se realizó asimismo el microanálisis sobre superficies regulares de biopelícula (150 x 150 µm) mediante Espectroscopia por Dispersión de Energía (EDS) acoplada a un microscopio electrónico de barrido (MEB) a través de un detector de estado sólido (Si/Li) marca Oxford, modelo *Pentafet* y analizadas con el software ISIS Link versión 1.04a.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

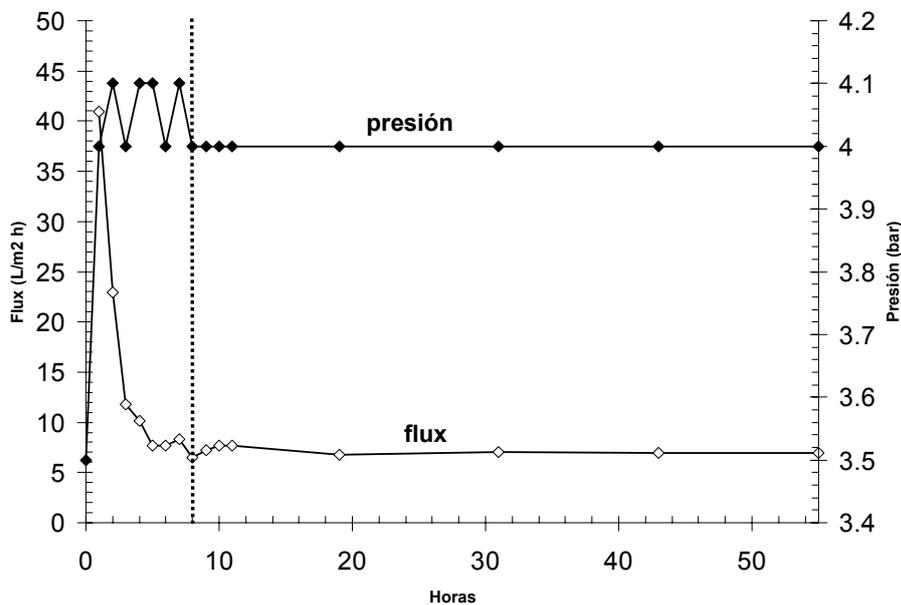
### Flujo crítico y velocidad de taponamiento

Se determinó el flujo crítico en las membranas de UF que se utilizaron en el experimento, siguiendo la metodología propuesta por Field et al. (1995). Se trabajó con tres diferentes fluidos: agua destilada, agua residual cruda y efluente del UASB (Figura 2). Con base en análisis de los resultados, se decidió trabajar en condiciones subcríticas (flux teórico de 127 L/m<sup>2</sup>h correspondientes a 3.5 Bar de presión transmembrana, siguiendo la ley de Darcy) para que el taponamiento se llevara a cabo a tasas reducidas.



**Figura 2. Determinación del flujo crítico para el efluente UASB (138 L/m<sup>2</sup>h), para agua residual cruda (75 L/m<sup>2</sup>h).**

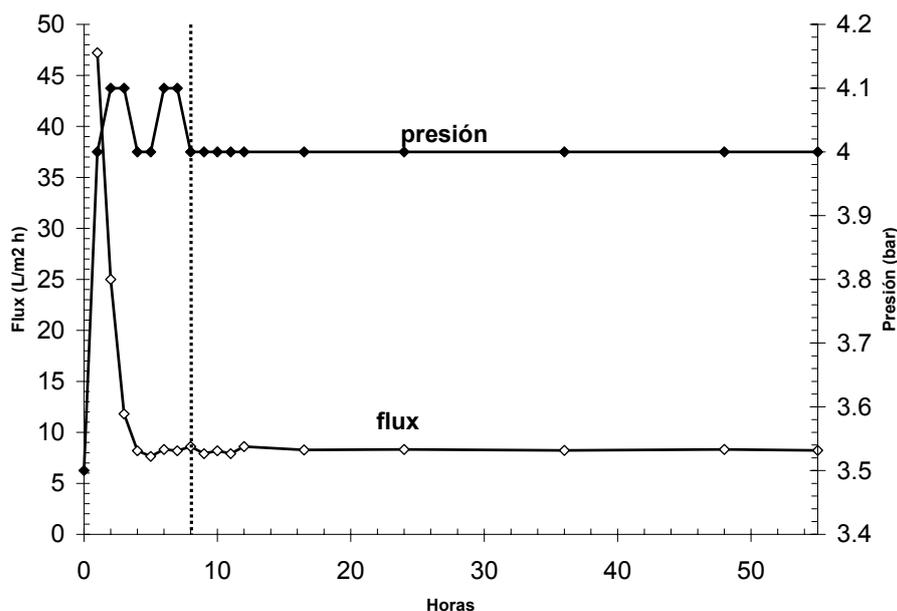
En las Figuras 3 y 4 se muestra el flux contra el tiempo de operación de la membrana. En ella se identifican dos etapas: la primera, que ocurría durante las primeras cinco horas de filtración, corresponde a la etapa de taponamiento inicial rápido y una segunda etapa de gran amplitud que corresponde a la fase de taponamiento progresivo.



**Figura 3. Comportamiento de filtración/taponamiento del sistema I. La línea discontinua indicaría el comienzo del desarrollo de la biopelícula asociada a comunidades bacterianas.**

Al aparecer no existe relación entre la velocidad de taponamiento y los tiempos de retención celular (TRC) a los que operaron los reactores de membrana durante las primeras 55 horas de filtración, ya que las curvas de filtración son prácticamente iguales y las velocidades de taponamiento son del mismo orden (Sistema I = 14.5 y Sistema II = 17.7 L/m<sup>2</sup>h/h). Al cabo de 55 horas de operación, los sistemas I y II presentan fluxes de 6.9 y 8.2 L/m<sup>2</sup>h que al compararse con el flux inicial de 48.1 L/m<sup>2</sup>h muestran una reducción entre el 83 y el 86%.

La existencia de un flujo por debajo del cual no existe taponamiento (flujo subcrítico) no corresponde con lo encontrado en estos experimentos ya que, aún trabajando en condiciones subcríticas, se llevó a cabo el taponamiento de la superficie de filtración presentando ello un comportamiento típicamente logarítmico. Otros autores (Cho y Fane, 2002; Brookes et al., 2003; Judd, 2005) han refutado la hipótesis del flujo subcrítico presentada por Field et al. (1995) afirmando que es un concepto limitado a sistemas que operan con bajas presiones y con agua residual muy diluida. La caída del flux en forma logarítmica durante las primeras cinco horas de operación se ha explicado por medio del fenómeno de concentración-polarización en medio acuoso (Schneider y Tomoyuki, 2001; Shaw, 1975) donde el taponamiento es inducido básicamente por atracción electrostática.



**Figura 4. Comportamiento de filtración/taponamiento del sistema II. La línea discontinua indicaría el comienzo del desarrollo de la biopelícula asociada a comunidades bacterianas.**

### Remoción de contaminantes

La depuración de contaminantes en los sistemas estudiados fue efectiva en lo que respecta a contaminación biológica: El nemátodo *Ascaris suum*, parásito del ganado porcino, presenta una morfología similar a la de *A. lumbricoides*, parásito habitual del ser humano, tan común que, algunos autores (Tay, 1990), afirman que se encuentra presente en el 91% de la población rural de México. Por tal razón, como ya fue mencionado, se decidió trabajar con huevos de *A. suum* para aumentar su contenido en el agua alimentada a los reactores del presente trabajo. En ambos sistemas se logró la completa retención de huevos de *A. suum*, además de la remoción de coliformes fecales (Tabla 2) hasta niveles que permiten el cumplimiento de la normatividad mexicana para reúso indirecto de agua tratada (NOM-003-SEMARNAT-1997). En cuanto a la remoción de huevos de helminto, debe destacarse el papel del reactor UASB, ya que en ambos reactores se llevó a cabo la retención de más del 60% de los huevos adicionados. Después de la operación a largo plazo (100 d), el lodo de cada reactor fue analizado obteniendo que el reactor del sistema I presentó una concentración de 27 HH/g lodo seco mientras que el del sistema II tuvo 16 HH/g lodo seco. La remoción de DQO fue la esperada en ambos sistemas (alrededor del 50%) considerando que el tiempo de retención hidráulica (TRH) de los reactores UASB fue bajo (3 h). Aún considerando esto, el efluente de la membrana de ultrafiltración logró alcanzar una concentración de DBO y SST que permitió alcanzar los límites máximos permisibles de la norma antes referida.

**Tabla 2. Evaluación de parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y eficiencia de remoción de los sistemas experimentales.**

<b>Sistema I</b>	agua cruda ( $\sigma$ )	UASB ( $\sigma$ )	UF ( $\sigma$ )	% remoción global
DQOt <i>mg O<sub>2</sub>/L</i>	646 (103)	300 (69.1)	104 (11.6)	87
DQOs <i>mg O<sub>2</sub>/L</i>	385(63.2)	198 (55.2)	No determinado	--
DBO <sub>5</sub> <i>mg O<sub>2</sub>/L</i>	No determinado	No determinado	32 (5.1)	--
STT <i>mg/L</i>	681 (75.5)	612 (76.1)	318 (124)	54
STF <i>mg/L</i>	404 (37.9)	387 (66.1)	141 (109.7)	65
STV <i>mg/L</i>	277 (42.5)	225 (22.8)	177 (49)	35
SST <i>mg/L</i>	140 (17.9)	77 (17.2)	<1	100
SSF <i>mg/L</i>	20 (6.8)	8 (2.8)	<1	100
SSV <i>mg/L</i>	120 (13)	69 (15)	<1	100
HH <i>HH/L</i>	25 (0)	10 (3.5)	0 (0.85)	100
CF (NMP/100ml)	10 <sup>4</sup>	No determinado	100	2 log

<b>Sistema II</b>	Agua cruda ( $\sigma$ )	UASB ( $\sigma$ )	UF ( $\sigma$ )	% remoción global
DQOt <i>mg O<sub>2</sub>/L</i>	646 (103.7)	318 (41.4)	106 (13.9)	86
DQOs <i>mg O<sub>2</sub>/L</i>	385(63.2)	226 (39.8)	No determinado	--
DBO <sub>5</sub> <i>mg O<sub>2</sub>/L</i>	No determinado	No determinado	31 (6.3)	--
STT <i>mg/L</i>	681 (75.5)	601 (68.1)	296 (161.1)	56
STF <i>mg/L</i>	404 (37.9)	400 (61.9)	142 (109.7)	65
STV <i>mg/L</i>	277 (42.5)	201 (91)	154 (44.9)	44
SST <i>mg/L</i>	140 (17.9)	68 (12.7)	<1	100
SSF <i>mg/L</i>	20 (6.8)	10 (2.6)	<1	100
SSV <i>mg/L</i>	120 (13)	58 (10.6)	<1	100
HH <i>HH/L</i>	25 (0)	10 (1.67)	0 (0.6)	100
CF (NMP/100ml)	10 <sup>4</sup>	No determinado	100	2 log

Algunos autores han reportado que los pesos moleculares de los metabolitos anaerobios varían desde 0.5 a 200 kDa (Barber y Stuckley, 1998). La membrana de ultrafiltración utilizada no alcanzó a retener la totalidad de las sustancias solubles reteniendo únicamente las sustancias cuyo peso molecular es mayor a 40 kDa (por ejemplo ácidos fúlvicos y húmicos). La diferencia entre la DQO del efluente UASB y el permeado indicaría que la membrana logra retener moléculas solubles orgánicas, presumiblemente de tamaño superior a los 40 kDa, corte molecular de la membrana. Un estudio posterior deberá definir el perfil molecular de las sustancias orgánicas en el permeado para comprobar esta hipótesis.

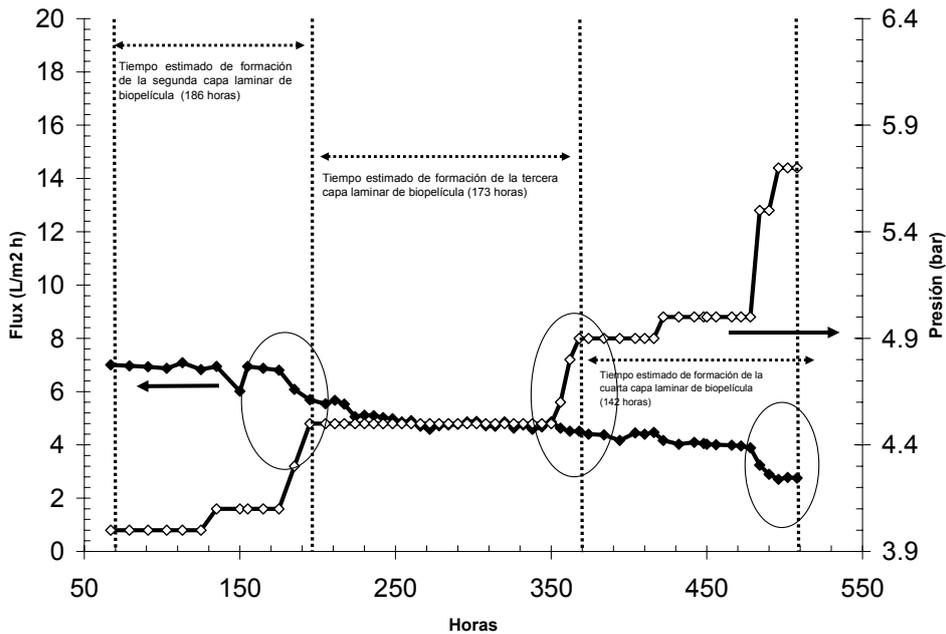
#### **Formación y superposición de biopelículas durante la filtración a largo plazo.**

Se estudió el fenómeno de taponamiento para lo cual las membranas utilizadas no fueron sometidas a limpieza química durante su operación (510 horas). En la Tabla 3 se presenta el análisis de material volátil y fijo en las películas acumuladas en sistemas I y II. Se observa que en ambas membranas taponadas existen incrementos en la material volátil así como acumulación de sales inorgánicas. Como es posible observar, la película está constituida básicamente por material orgánico volátil en un 85%. Algunos autores han discutido la estructura de biopelículas generadas en tratamiento de agua residual revelando que las sustancias poliméricas extracelulares (SPE), secretadas por microorganismos en condiciones de estrés biológico y/o mecánico (Yun et al., 2006), son determinantes en la conformación y propiedades de las biopelículas (Curt-Flemming , 2001).

**Tabla 3. Determinaciones gravimétricas en las membranas taponadas (510 horas).**

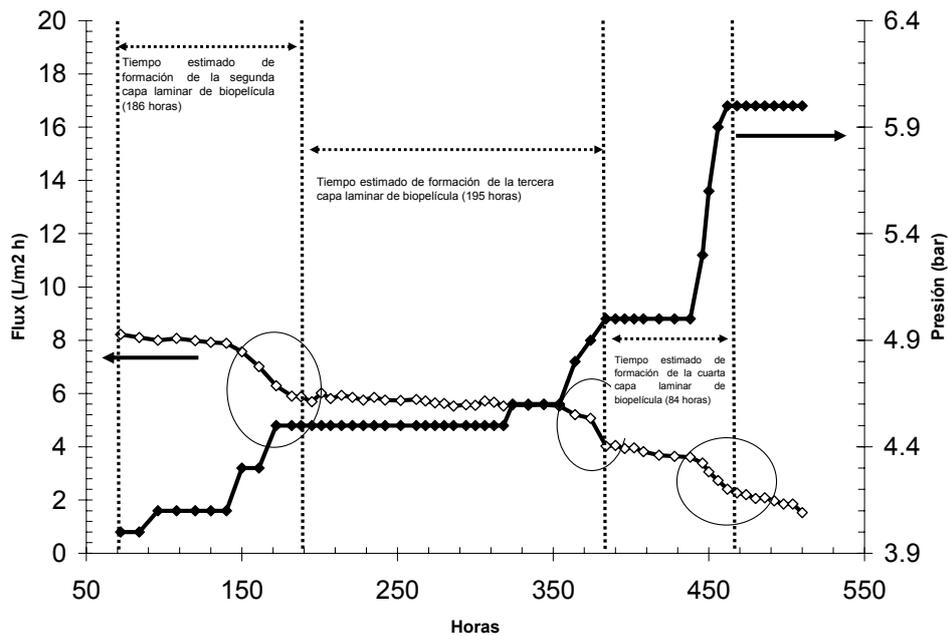
	<i>Base seca (ST)</i>	<i>Material orgánico (SV)</i>	<i>Material inorgánico (SF)</i>	<i>Incremento de ST</i>	<i>Incremento de SV</i>	<i>Incremento de SF</i>
	<i>mg/cm<sup>2</sup></i>	<i>mg/cm<sup>2</sup></i>	<i>mg/cm<sup>2</sup></i>	<i>mg/cm<sup>2</sup></i>	<i>mg/cm<sup>2</sup></i>	<i>mg/cm<sup>2</sup></i>
<b>Membrana limpia</b>	33.6	31.6	2	---	---	---
<b>Sistema I</b>	36.4	33.9	2.5	2.8	2.3	0.5
<b>Sistema II</b>	36.2	33.8	2.4	2.6	2.2	0.4

En las Figuras 5 y 6, se presentan las curvas de presión y flux contra tiempo en donde es posible identificar puntos de inflexión. El sistema I presentó, después de la caída logarítmica del flux en las primeras 55 horas relacionada con el desarrollo de una biopelícula, tres comportamientos que bien podrían relacionarse con la formación de tres capas de biopelícula en tiempos de filtración elevados (más de cien horas). Los tiempos de formación de cada capa fueron cada vez menores, por lo que puede ser válido establecer que después de la formación de la primera capa taponante, la acumulación de una biopelícula sobre la otra se ve favorecida en cuanto a su formación. El mismo comportamiento se presentó para el sistema II en donde únicamente varían los tiempos de formación de las capas subsiguientes.

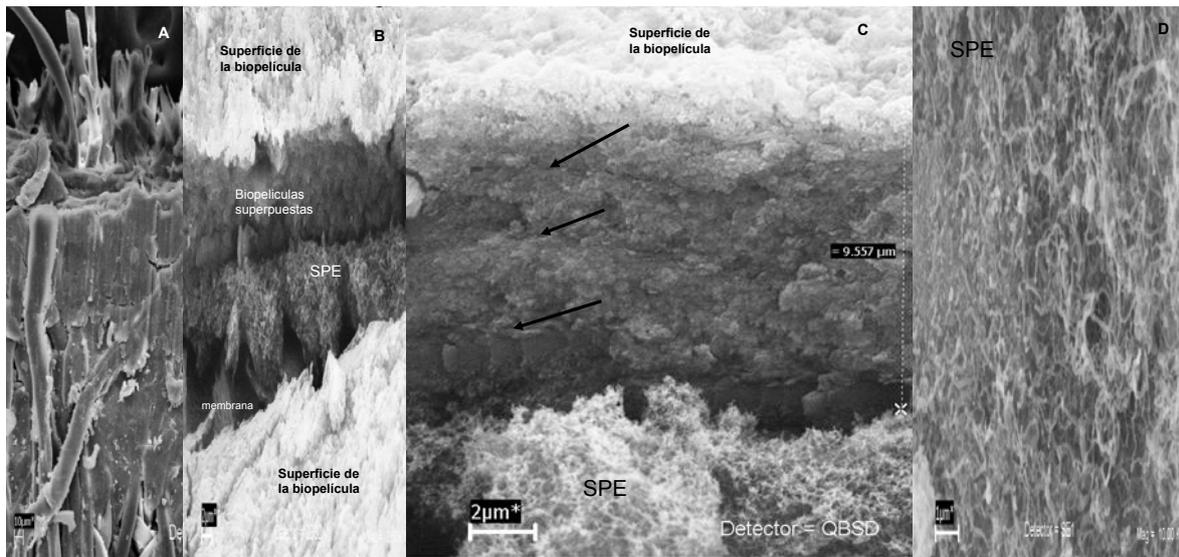


**Figura 5. Taponamiento progresivo en las membranas del sistema I. Las líneas puntadas indican los periodos en que las capas de biopelícula se superponen.**

En la Figura 7 se muestra una serie de micrografías de la biopelícula formada sobre la superficie de las membranas. En ellas se presumen las regiones de la biopelícula formadas por SPE así como las capas de biopelícula formadas en el tiempo.



**Figura 6. Taponamiento progresivo en las membranas del sistema II. Las líneas punteadas indican los periodos en que las capas de biopelícula se superponen.**



**Figura 7. Imágenes de microscopio electrónico de barrido. A) Detalle transversal de la membrana limpia con 250x ; B) Corte transversal a 2500x de la biopelícula del sistema II donde se aprecia la base de la membrana y la biopelícula formada sobre ella así como los SPE generados; C) corte transversal a 5000x de la biopelícula del sistema I donde se aprecian capas superpuestas de biopelícula señaladas con las flechas negras de espesor aproximado de 2 a 4 micrómetros y D) Matriz de SPE 10000x.**

Aunque el flux disminuye en función del tiempo por la acumulación de biopelículas, éste nunca cesó en los tiempos de estudio de ambos sistemas. Curt Flemming et al. (2001) aseguran que en biopelículas multicapa, como las desarrolladas en los sistemas aquí analizados, las sustancias poliméricas extracelulares (SPE) actúan como barrera de difusión para moléculas de mayor tamaño. Ello lleva a pensar que dentro de la estructura de la biopelícula existe una red irregular de canales de flujo, formados por SPE, células, sales minerales etcétera y que las condiciones de filtración (alta presión, flujo turbulento, variación en la concentración de nutrientes y minerales)

favorecen que la formación de la biopelícula sea una consecuencia de un proceso de mineralización biológicamente inducida (MBI) mencionado por Mann (2001). De acuerdo con este autor, ciertos compuestos (en este caso carbonatos, hidróxidos, fosfatos, de Mg, Ca, o Fe presentes en las biopelículas según análisis de espectroscopia de dispersión de energía EDS, además de Si y Na) son depositados sobre la matriz de SPE mediante precipitación, lo cual aumenta las interacciones entre varios procesos metabólicos y el medio ambiente circundante.

La intrincada red de polímeros extracelulares es secretada como estrategia de los microorganismos para captar nutrientes en condiciones de estrés (Yun et al, 2006) mientras que por sus propiedades fisicoquímicas (distribución de carga eléctrica, por ejemplo) provee de numerosos sitios de inicio de mineralización denominados sitios de epitaxia. Textos recientes sobre biopelículas (Curt-Flemming et al., 2001) afirman que las SPE son el esqueleto de la arquitectura de las biopelículas y que en función de sus características fisicoquímicas (interacciones de van der Waals, electroestáticas y puentes de hidrógeno) influyen las propiedades mecánicas y de cohesión en las mismas. Por otra parte, y en apoyo a la idea anterior, Sylin-Roberts y Sharp (1986) mencionan que las proteínas de una matriz biológica pueden influenciar las propiedades mecánicas de un material cristalino mediante la construcción de una intrincada red fibrosa similar a la de un esqueleto de acero en concreto reforzado; las biopelículas desarrolladas serían biomateriales dirigidos, aunque no de manera ordenada, por un esqueleto de SPE que funcionaría como soporte estructural para su crecimiento. La estabilidad de los agregados celulares comprimidos en las biopelículas se ve favorecida por la presencia de iones divalentes como calcio, magnesio o hierro los cuales pueden formar puentes de enlace entre cadenas de polisacáridos posibilitando la formación de una matriz gelatinosa, medio biogénico por excelencia. Es allí dentro de la matriz gelatinosa en donde comienza la biomineralización que se ve favorecida por las condiciones microambientales de alta presión, presencia de nutrientes y micronutrientes además del estrés osmótico y mecánico asociado a condiciones hidrodinámicas turbulentas.

Los cambios discontinuos de presión observados en las Figuras 5 y 6, relacionados con el cambio discontinuo de flux en función del tiempo de operación, y mediante la evidencia que otorgan las micrografías (Figura 7) pueden ser explicados mediante una hipótesis de colapso y compresión de la estructura biomineralizada antes mencionada que se propone en este trabajo. Ella consiste en suponer que la biopelícula crece en forma continua hasta un punto, donde, debido al crecimiento de la intrincada red de canales de flujo producto del proceso continuo de biomineralización, el proceso de filtración se hace más eficaz y llega a retener partículas que antes fluían con mayor libertad, provocando su taponamiento súbito y, debido a la alta presión soportada en la biopelícula, provoca a la vez su colapso y compresión. Ello tiene como consecuencia la disminución e incremento súbito del flux y de la presión respectivamente y, así mismo, da origen a un nuevo proceso de formación de la biopelícula repitiendo el proceso una vez más. Ello genera la delimitación entre una capa de biopelícula y otra observada en las micrografías (Figura 7).

### **Cuantificación de Microorganismos asociados a la biopelícula**

Debido a la complejidad de las biopelículas se eligió un método indirecto para estimar la concentración de microorganismos dentro de ellas. El extracto se cuantificó mediante espectroscopia observándose una concentración similar en ambas membranas ( $5.488 \mu\text{g ADN /cm}^2$  para Sistema I y  $5.722 \mu\text{g ADN /cm}^2$  para el Sistema II) y se evaluó la integridad del ADN mediante electroforesis. Curt-Flemming, (2001) propuso una relación para estimar la cantidad de microorganismos en biopelículas referida a *Pseudomonas putida* ( $\mu\text{g ADN} \times 16.6 = \mu\text{g de biomasa celular}$ ) por lo que, haciendo válida esta relación, se estima que hay  $91 \mu\text{g}$  de biomasa celular por  $\text{cm}^2$  en la membrana del sistema I mientras que para el Sistema II es de  $95 \mu\text{g}$ . Con ello, y comparando con los SV reportados en la Tabla 3, es posible concluir que la biopelícula formada en los sistemas I y II está constituida básicamente por biomasa acelular de origen microbiano (SPE por ejemplo) y la presencia de minerales como Ca, Mg, Si, y Fe sugieren la presencia de sales inorgánicas como carbonatos e hidróxidos. Los microorganismos como tales representan menos del 5% de la biopelícula por lo queda demostrado el papel de los SPE como parte fundamental de la estructura de las biopelículas.

## CONCLUSIONES

Se demostró que el sistema de reactores anaerobios con membrana, bajo las condiciones de operación de este experimento, fue eficaz en la remoción de huevos de helmintos, coliformes fecales, DQO, DBO y SST. Con ello es posible cumplir con la NOM-003-SEMARNAT-1997 para reúso de agua tratada con contacto indirecto.

Pese a que se decidió trabajar en un flujo subcrítico para minimizar el taponamiento, este fenómeno se presentó desde las primeras horas refutando con esto la propuesta de Field et al. (1995) respecto al concepto de flujo subcrítico.

Determinaciones gravimétricas y de cuantificación de microorganismos a partir del aislamiento de ADN confirmaron que las biopelículas se encuentran compuestas por una matriz híbrida constituida por 85% de material orgánico y 15% de material inorgánico. Los microorganismos representan menos del 5% de la película.

Debido a la predominancia de material orgánico, se concluye que la biopelícula se forma mayormente como consecuencia de productos microbianos (formación de nichos celulares + secreción de metabolitos) que por deposiciones inorgánicas y que las secreciones celulares (SPE por ejemplo) son el constituyente de mayor presencia en la biopelícula generada en los sistemas estudiados.

**Agradecimientos.** Se reconoce la colaboración de Margarita Cisneros Ortiz por la gestión administrativa y logística de este proyecto, así como a la Dra Natalie Cabirol y M en B Edgar Sierra por su asistencia en la cuantificación de ADN. El CONACYT proporcionó el apoyo económico en el marco del convenio NSF-CONACYT 2003-CO3-42441 *Anaerobic Membrane Bioreactors for Treatment and reclamation of domestic wastewater.*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. ADHAM, S., P. GAGLIARDO, L. BOULOS, J. OPPENHEIMER, y R. TRUSSELL (2001) Feasibility of the membrane bioreactor process for water reclamation. *Water Science & Technology*, 43(10):203-209.
2. APHA, AWWA, WEF (1999) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 20th Edition, American Public Health Association, Washington, DC.
3. BARBER, W.P. y STUCKEY, D.C. (1999) The use of the anaerobic baffled reactor (ABR) for wastewater treatment: A review. *Water Research* 33:1559-1578.
4. BARKER, D.J., y STUCKEY, D.C. (1999) A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems, *Water Research*, 33(14):3063-3082
5. BROOKES F.R. (2003), The fate of organics during treatment of produced water MBR. En: *Proceedings of the 5<sup>th</sup> IMSTEC*, Universidad de Nueva Gales del Sur, Australia, 10-14 noviembre 2003.
6. CHO K. H y FANE A.G. (2002), Fouling Transients in nominal sub-critical flux operation of a Membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science* 209:391-403.
7. CAPIZZI S. y J. SCHWARTZBROD (2001) Surface properties of *Ascaris suum* eggs: hydrophobic potential and Lewis acid-base interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Volume 22, Issue 2, pp 99-105.
8. CICEK N. (2003), A review of membrane bioreactors and their potential application in the treatment of agricultural wastewater, *CANADIAN BIOSYSTEMS ENGINEERING* 45:6-19
9. FIELD, WU, HOWELL y GRUPTA (1995), Critical Flux Concept for microfiltration fouling, *Journal of membrane Science*, 100:259-272.
10. CURT-FLEMMING H. (Ed) (2001), *Biofilms: Investigative Methods and Applications*, Technomic Publishers, Lancaster PA.
11. JUDD, S. (2005), Fouling Control in submerged membrane bioreactors, *Water Science and Technology*, 51 (6-7):27-34.

12. MANN, S. (2001), *Biom mineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, Reino Unido.
13. Norma Oficial Mexicana: NMX-113-SCFI-1999, NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997. Página web: <http://www.economia-noms.gob.mx/>
14. OGOSHI, Y. SUZUKI y T. ASANO (2001), Water reuse in Japan, *Water Science and Technology* 43(10): 17–23
15. SCHNEIDER, R. P. y TOMOYUKI-TSUTIYA M. (2001), *Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso*. 1ª edición ABES, São Paulo, Brasil.
16. SHAW, D,J, (1975), *Introducción a la química de los coloides y superficies*, Editorial Edgar Blücher, 185pp (en Portugués).
17. SYLIN-ROBERTS H. y R. SHARP (1986), *Avian Eggshell Biomineralization Proc. R. Soc. Lond. B.* 225-445.
18. TAY, S, D. (1990), *Parasitología Médica*, Editorial Prensa Médica, México.
19. YUN, M, A, KYUNG-MIN Y, JONG-SANG P, CHUNG-HAK L, JONGSIK C, DONG JOON L, (2006), Characterization of biofilm structure and its effect on membrane permeability in MBR for dye wastewater treatment, *Water Research* **40** 45 – 52.