



**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH**

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

Conceptualització i posada en marxa d'un bioreactor anaerobi per eliminar nitrogen

Treball Final de Grau

Enginyeria de Sistemes Biològics

Autor: Rholand Jordi Navarro Quispe

Tutor extern: Belén Fernández, IRTA

Tutor: Albert Magrí, ESAB-UPC

Resum

L'eliminació biològica del nitrogen (N) amoniacal de les aigües residuals s'ha dut a terme, habitualment, a través de procés combinat de nitrificació-desnitrificació. Amb el descobriment del procés biològic d'oxidació anaeròbia de l'amoni (*anaerobic ammonium oxidation*, anammox) s'han obert noves expectatives per desenvolupar estratègies de tractament més sostenibles i econòmiques. Per tal de portar a terme aquest procés, cal combinar-lo amb una etapa prèvia de nitrificació parcial (NP). El procés combinat NP-anammox, completament autotròfic, pot tenir lloc en un únic reactor amb aeració limitada, o bé, en dos reactors connectats en sèrie.

El present Treball Final de Grau (TFG) s'emmarca dins del projecte de recerca "*Process integration for syntrophic acetate and autotrophic ammonia oxidations in the anaerobic treatment of nitrogen-rich organic wastes for energy recovery (PIONER)*", actualment en execució a l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) situat a Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona). L'objectiu general del TFG és proposar la configuració d'un sistema de tractament biològic per a l'eliminació de N d'un digestat amb un elevat contingut nitrogenat en base al procés combinat NP-anammox, a escala laboratori. El sistema tractarà el sobrenedant d'un digestor anaerobi alimentat amb purins i fangs d'estació depuradora d'aigües residuals.

El primer pas ha estat realitzar una recerca bibliogràfica sobre la temàtica. Després d'analitzar la informació recopilada, s'ha proposat un sistema format per un únic bioreactor de tipus discontinu seqüencial (SBR). La biomassa granular anammox enriquida, necessària per operar el sistema, es preveu que serà cedida més endavant per una instal·lació industrial ja operativa. En aquest sentit, també s'ha proposat en el marc del TFG un segon sistema per al manteniment de l'inòcul de biomassa anammox que no es destini directament a fer experiments. En aquest cas, s'ha escollit un reactor tipus *gas-lift*. Finalment, dins la fase inicial del projecte PIONER, s'ha posat en marxa un digestor anaerobi de tipus mescla completa per a enriquir bacteris sintròfics oxidants de l'acetat (SAO) utilitzant un aliment sintètic. Després d'un període d'adaptació, s'ha aconseguit una producció de metà mitjana de $0,19 \pm 0,10 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4/\text{m}^3\cdot\text{d}$, que representava entre un 60-65% del biogàs produït. La degradació de la matèria orgànica alimentada va ser equivalent a un 63%, aproximadament.

Resumen

La eliminación biológica del nitrógeno (N) amoniacal de las aguas residuales se ha llevado a cabo, habitualmente, a través de procesos combinados de nitrificación-desnitrificación. Con el descubrimiento del proceso biológico de oxidación anaeróbica del amonio (*anaerobic ammonium oxidation*, anammox) se ha logrado abrir nuevas expectativas para desarrollar estrategias de tratamiento más sostenibles y económicas. Para llevar a cabo este proceso, hace falta combinarlo con una etapa previa de nitrificación parcial (NP). El proceso combinado de NP-anammox, completamente autotrófico, puede tener lugar en un único reactor con aeración limitada, o bien, en dos reactores conectados en serie.

El presente Trabajo de Final de Grado (TFG) se enmarca dentro del proyecto de investigación "*Process integration for syntrophic acetate and autotrophic ammonia oxidations in the anaerobic treatment of nitrogen-rich organic wastes for energy recovery (PIONER)*", actualmente en ejecución en el Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) localizado en Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona). El objetivo general del TFG es proponer la configuración del sistema del tratamiento biológico para la eliminación del N de un digerido con un elevado contenido nitrogenado en base al proceso combinado de NP-anammox, a escala laboratorio. El sistema tratará el sobrenadante de un digestor anaeróbico alimentado con purines y fangos de una estación depuradora de aguas residuales.

El primer paso ha sido realizar una búsqueda bibliográfica sobre la temática. Después de analizar la información recopilada, se ha propuesto un sistema formado por un único reactor de tipo discontinuo secuencial (SBR). La biomasa granular anammox enriquecida, necesaria para operar el sistema, se prevé que será cedida más adelante por una instalación industrial ya operativa. En este sentido, también se ha propuesto en el marco del TFG un segundo sistema para el mantenimiento del inóculo de biomasa anammox que no se destine directamente a hacer experimentos. En este caso, se ha escogido un reactor tipo *gas-lift*. Finalmente, dentro de la fase inicial del proyecto PIONER, se ha puesto en marcha un digestor anaerobio de tipo mezcla completa para enriquecer bacterias sintróficas oxidantes del acetato (SAO) utilizando un alimento sintético. Después de un periodo de adaptación, se ha conseguido una producción de metano media de $0,19 \pm 0,10 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$, que representaba entre un 60-65% del biogás producido. La degradación de la materia orgánica alimentada fue equivalente a un 63%, aproximadamente.

Abstract

The biological removal of ammoniacal nitrogen (N) from wastewater has been carried out, usually, through combined nitrification-denitrification processes. With the discovery of the biological process of anaerobic oxidation of ammonium (anammox), new expectations have been opened to develop more sustainable and economical treatment strategies. To carry out this process, it is necessary to combine it with a previous stage of partial nitritation (NP). The combined process of NP-anammox, completely autotrophic, can be implemented in a single reactor with limited aeration, or in two reactors connected in series.

The present Bachelor's Degree Project (TFG) is part of the research project "*Process integration for syntrophic acetate and autotrophic ammonia oxidations in the anaerobic treatment of nitrogen-rich organic wastes for energy recovery (PIONER)*", currently in execution in Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) located in Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona). The general objective of this TFG is to propose the configuration of the biological treatment system for the removal of N from a digested product with a high nitrogenous content based on the combined process NP-anammox, at lab-scale. The system will treat the supernatant of an anaerobic digester fed with slurry and sludge from a sewage treatment plant.

The first step has been to perform a bibliographic research on the subject. After analyzing the information collected, a system consisting of a single sequential batch reactor (SBR) has been proposed. The enriched anammox granular biomass, necessary to operate the system, is expected to be ceded later by an already running industrial facility. In this sense, a second system for the maintenance of the anammox biomass inoculum that is not directly used for experiments has also been proposed in this TFG. In this case, a gas-lift type reactor has been chosen. Finally, within the initial phase of the PIONER project, a perfectly mixed anaerobic digester has been started up to enrich syntrophic acetate oxidizing (SAO) bacteria with a synthetic feed. After a period of adaptation, it was possible to produce methane with average values of $0.19 \pm 0.10 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$, which represented between 60-65% of the biogas produced. The degradation of organic matter fed was equivalent to approximately 63%.

Sumari

ÍNDEX DE FIGURES	7
ÍNDEX DE TAULES	8
SÍMBOLS I ACRÒNIMS	9
AGRAÏMENTS	10
1. INTRODUCCIÓ	11
1.1. El cicle del nitrogen	11
1.2. El procés combinat de nitrificació-desnitrificació (NDN).....	13
1.2.1. Nitrificació autòtrofa	13
1.2.2. Desnitrificació heteròtrofa	14
1.3. El procés de nitritació parcial (NP)	15
1.3.1. Factors que afecten a l'activitat dels bacteris oxidants de l'amoni (AOB).....	15
1.3.1.1. Efecte de la concentració d'amoniac, àcid nítrós i pH	15
1.3.1.2. Efecte de la relació molar entre l'amoni i el bicarbonat	16
1.3.1.3. Efecte de la temperatura i el temps de retenció cel·lular (TRC).....	16
1.3.1.4. Efecte de la concentració d'oxigen dissolt	17
1.4. El procés d'oxidació anaeròbia de l'amoni (anammox)	17
1.4.1. Factors que afecten a la activitat dels bacteris anammox	18
1.4.1.1. Efecte del pH.....	18
1.4.1.2. Efecte de la temperatura.....	18
1.4.1.3. Efecte de la concentració d'oxigen dissolt	19
1.4.1.4. Efecte de la velocitat d'agitació.....	19
1.4.1.5. Efecte del substrat	19
1.4.1.6. Efecte de la matèria orgànica	20
1.4.1.7. Efecte de les sals	20
1.4.1.8. Efecte del fosfat	21
1.4.1.9. Efecte del sulfat	21



1.5.	Comparativa dels processos combinats NDN i NP-anammox.....	21
1.6.	Projecte PIONER.....	22
1.6.1.	Cas d'aplicació: tractament de purins porcins.....	24
2.	OBJECTIUS	26
2.1.	Objectiu general i objectius parcials.....	26
2.2.	Pla d'activitats a l'empresa.....	26
3.	MATERIAL I MÈTODES	27
3.1.	Recerca bibliogràfica.....	27
3.2.	Tècniques analítiques.....	27
3.2.1.	Alcalinitat total i parcial; Relació d'alcalinitats.....	28
3.2.2.	Demanda química d'oxigen (DQO).....	28
3.2.3.	Sòlids totals i volàtils.....	29
3.2.4.	Nitrogen amoniacal total (NAT).....	29
3.2.5.	Composició del biogàs (metà i diòxid de carboni).....	29
3.3.	Descripció del muntatge experimental per biometanització.....	29
3.3.1.	Inòcul.....	29
3.3.2.	Descripció del muntatge.....	30
3.3.3.	Manteniment de l'operació.....	32
3.4.	Càlculs realitzats.....	34
3.4.1.	Cabals i temps de retenció hidràulic (TRH).....	34
3.4.2.	Velocitats de carrega i descarrega orgànica.....	35
3.4.3.	Producció de metà.....	35
3.4.4.	Eficiència de degradació.....	36
4.	RECERCA BIBLIOGRÀFICA: SISTEMES D'ELIMINACIÓ BIOLÒGICA DE NITROGEN NP-ANAMMOX	37
4.1.	Nitritació parcial i anammox en un únic reactor.....	39
4.2.	Nitritació parcial i anammox en dos reactors separats.....	42
4.3.	Comparació de sistemes amb un i dos reactors.....	48
5.	RESULTATS	50
5.1.	Anàlisi i proposta de configuració per al procés combinat NP-anammox i per al reactor anammox secundari.....	50
5.2.	Disseny reactor anammox secundari.....	51

5.2.1.	Inòcul	52
5.2.2.	Descripció del muntatge	52
5.2.3.	Manteniment de l'operació	54
5.3.	Posada en marxa del digestor anaerobi termòfil	55
5.3.1.	Avaluació dels cabals i del TRH	56
5.3.2.	Avaluació de l'eficiència de degradació de la DQO	58
5.3.3.	Avaluació de la producció de metà.....	60
6.	CONCLUSIONS	63
7.	BIBLIOGRAFIA	65
ANNEXOS	73
Annex A.	Microbiologia i bioquímica del procés anammox.....	73
A.1.	Microbiologia.....	73
A.2.	Bioquímica	74
Annex B.	Procés de biometanització	77
B.1.	Efecte del nitrogen amoniacal en la biometanització.....	79
B.2.	Microorganismes sintròfics oxidants de l'acetat (SAO)	79
B.3.	Influència de factors ambientals en bacteris SAO.....	80
B.4.	Condicions d'operació	81
Annex C.	Vista del reactor SAO termòfil	82
Annex D.	Dimensions del reactor CSTR per a l'enriquiment de bacteris SAO	83
Annex E.	Dimensions del reactor UASB usat com a referència del nostre disseny	84
Annex F.	Composició de la solució d'elements traça utilitzada per l'enriquiment de biomassa anammox.....	85

Índex de figures

Figura 1.1. El cicle del nitrogen (Dapena-Mora, 2007). _____	11
Figura 1.2. Relació entre les concentracions de NH_3 i HNO_2 amb la inhibició dels bacteris nitrificants (AOB i NOB) en funció del pH (Anthonisen et al., 1976). _____	15
Figura 1.3. Influència de la temperatura sobre la taxa de creixement dels bacteris AOB i NOB (Dapena-Mora (2007)). _____	16
Figura 1.4. Efectes de diferents concentracions de KCl, NaCl i Na_2SO_4 sobre el % SAA. (Dapena-Mora, 2007). _____	20
Figura 1.5. Esquema global del procés de tractament de residus orgànics del projecte PIONER.	23
Figura 3.1. Esquema de la planta pilot per biometanització. _____	30
Figura 3.2. Fotografia del baló d'efluent. _____	31
Figura 4.1. Esquema del perfil de la concentració d'oxigen i les etapes que tenen lloc en un grànul (adaptat de Zhu et al., 2008). _____	39
Figura 4.2. Esquema bàsic del procés SHARON-anammox en dos reactors (Jetten et al., 2002).	42
Figura 5.1. Bioreactor <i>gas-lift</i> i detall del tub de ventilació. _____	53
Figura 5.2. Evolució dels cabals i del temps de retenció. (a) Cabal de influent (blau) i efluent (taronja). (b) Temps de retenció hidràulic (TRH) experimental i de disseny. _____	56
Figura 5.3. Evolució de la DQO en l'alimentació. _____	57
Figura 5.4. Evolució de la carga i descarrega orgànica. _____	58
Figura 5.5. Evolució de la degradació de matèria orgànica teòrica i experimental. _____	59
Figura 5.6. Resultats de la DQO en diferents dies del buidat del baló. _____	60
Figura 5.7. (a) Producció de metà experimental i teòrica normalitzats a 0°C. (b) Valoració de la producció de metà. _____	61
Figura 5.8. Evolució de la concentració de metà en l'efluent. _____	62

Índex de taules

Taula 1.1. Efecte del pH sobre l'activitat dels bacteris anammox (Egli et al., 2001).	18
Taula 1.2. Relació de concentracions de nitrit que provoca inhibició del procés anammox (López, 2009).	19
Taula 1.3. Comparativa del diferents processos per a l'eliminació biològica de nitrogen (adaptat de Van Hulle et al., 2010; Daigger et al., 2011).	22
Taula 1.4. Variabilitat de la composició dels purins d'origen porcí (Flotats, 2016).	25
Taula 3.1. Comparació de les tècniques d'anàlisi per cada procés.	28
Taula 3.2. Composició de les solucions de macronutrients.	33
Taula 3.3. Composició de la solució de micronutrients.	33
Taula 4.1. Classificació genèrica dels diferents tipus de bioreactors.	38
Taula 4.2. Descripció general de les tecnologies NP-anammox en sistemes d'un reactor.	45
Taula 4.3. Descripció general de les tecnologies per al procés de nitritació parcial.	46
Taula 4.4. Descripció general de les tecnologies per el procés anammox.	47
Taula 4.5. Comparació dels sistemes operacionals (adaptat de Jaroszynski i Oleszkiewicz, 2011).	48
Taula 5.1. Composició del substrat sintètic mare.	54
Taula 5.2. Composició dels compostos nitrogenats adicionats a la solució mare.	54
Taula 5.3. Paràmetres d'operació del reactor SAO.	55

Símbols i acrònims

ANAMMOX	<i>ANAerobic AMMONium OXidation</i>
AOB	<i>Ammonium Oxidizing Bacteria</i>
CANON	<i>Completely Autotrophic Nitrogen-Removal Over Nitrite</i>
CSTR	<i>Continuous Stirred Tank Reactor</i>
DEMON	<i>aerobic-anòxic DEamMONification</i>
DQO	Demanda Química d'Oxigen
EDAR	Estació Depuradora d'Aigües Residuals
EGSB	<i>Expanded Granular Sludge Bed</i>
FB	<i>Fluidized Bed reactor</i>
FP	Flux Pistó
MABR	<i>Membrane Aerated Biofilm Reactor</i>
MBR	<i>Membrane BioReactor</i>
NDN	Nitrificació-DesNitrificació
NLR	<i>Nitrogen Loading Rate</i>
NOB	<i>Nitrite Oxidizing Bacteria</i>
NRR	<i>Nitrogen Removal Rate</i>
NP	Nitritació Parcial
OLAND	<i>Oxygen Limited Autotrophic Nitrification and Desnitrification</i>
RBC	<i>Rotating Biological Contactor</i>
SAO	<i>Syntrophic Acetate Oxidation</i>
SBR	<i>Sequencing Batch Reactor</i>
SHARON	<i>Single reactor High activity Ammonia Removal Over Nitrite</i>
SNAP	<i>Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitrification</i>
TRC	Temps de Retenció Cel·lular
TRH	Temps de Retenció Hidràulic
UASB	<i>Up-flow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UBF	<i>Up-flow BioFilter</i>
μ_{\max}	Taxa màxima específica de creixement

Agraïments

Ha acabat la meua etapa com estudiant universitari, i m'agradaria expressar tot el meu agraïment a totes aquelles persones que d'alguna manera han aportat ajuda per realitzar aquest treball:

A la Belén Fernández, tutora externa d'aquest treball, per tota l'ajuda i explicacions per entendre el món dels bioreactors.

A Albert Magrí, tutor del treball, per la seva ajuda per elaborar aquest treball. I per oferir-me l'oportunitat de col·laborar en aquest projecte.

A tot el personal de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), per l'aprenentatge aportat, per tot el temps dedicat a ajudar-me i transmetrem bona energia.

A Marco Ortiz, que em va ensenyar sobre biometanització i em va donar ànims.

A la meua família, que m'han suportat durant tota la carrera moments d'estrès i dies de mal humor, però sobretot per donar-me un suport constant i creure en mi .

A tots els meus amics, que m'han donat forces i ànims constants, que han compres que a vegades no sempre es pot estar amb ells.

A la meua Rut, per la seva paciència i comprensió, però sobretot per estar al meu costat i alimentar la meua curiositat.

A tots moltes gracies!

1. Introducció

1.1. El cicle del nitrogen

El nitrogen (N) és un element químic present a la natura en forma orgànica i inorgànica. És essencial per la vida ja que forma part de les proteïnes i àcids nucleics. A l'atmosfera terrestre el podem trobar en forma diatòmica (N_2), ocupant aproximadament un 78% (v/v) del volum. Per tant, és necessari que aquest nitrogen atmosfèric sigui fixat i assimilat pels éssers vius mitjançant processos biològics (Figura 1.1).

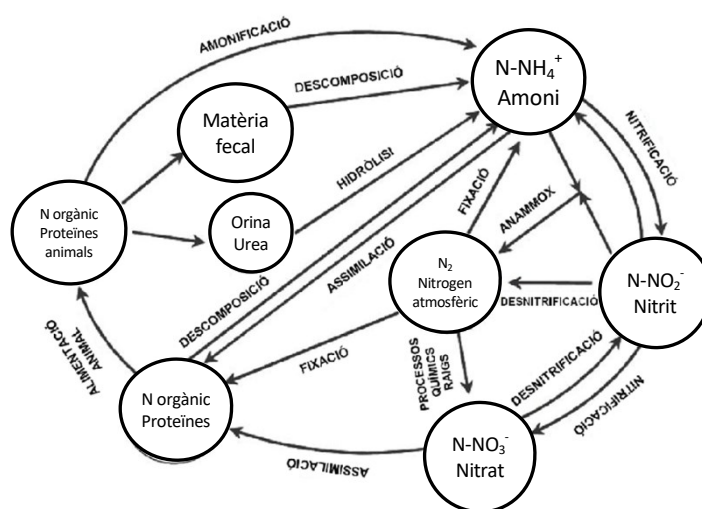


Figura 1.1. El cicle del nitrogen (Dapena-Mora, 2007).

En el procés de fixació l'enllaç de la molècula de nitrogen gas es trenca i el N es transforma majoritàriament en amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-), ions que són susceptibles per ser absorbits pels organismes vius. Aquest procés es dut a terme per cianobacteris i bacteris del gènere *Rhizobium*, ubicades en arrels de les plantes tipus lleguminoses. Després els organismes autòtrofs transformen aquestes formes solubles en nitrogen orgànic per mitja del seu metabolisme (proteïnes, àcids nucleics i resta d'espècies nitrogenades que es troben en els éssers vius), d'aquesta manera s'insereix N a la cadena tròfica. En la descomposició es mineralitza la matèria orgànica produint amoni, causada per bacteris descomponedors, fongs i flora bacteriana. També trobem organismes que realitzen la nitrificació i la desnitrificació biològica, i recentment s'ha descobert un nou grup de microorganismes que realitzen l'oxidació anòxica de l'amoni, conegut com procés anammox (*Anaerobic Ammonium Oxidation*).

Durant l'últim segle XX, l'acció de l'home ha desestabilitzat l'equilibri que mantenia aquest cicle, després de la revolució industrial, l'augment de N en el medi és degut principalment a la producció de fertilitzants, la generació de combustibles fòssils i l'increment del cultiu de lleguminoses.

Una manera de contribuir a disminuir aquest desequilibri és amb el tractament dels efluents amb elevada carga amoniacal, com per exemple els sobrenedants de digestors anaerobis, lixiviat de deixalleries, aigües residuals i purins de porc. Podem trobar nitrogen en diferents formes i en concentracions variables, sent la forma orgànica i amoniacal les que predominen en la majoria de casos. La suma de nitrogen associat als compostos orgànics i que es troba en forma amoniacal es denomina N-Kjeldahl, i les formes de nitrit i nitrat se'ls coneix com a N-Nítric.

L'eliminació del nitrogen s'ha convertit en una part important dels processos de tractament per tal d'evitar els problemes associats a l'abocament de les aigües contaminades amb aquest component. Alguns d'aquests problemes són (Wiesmann et al., 2007):

- Eutrofització. Es tracta d'un fenomen pel qual es produeix un creixement d'algues i d'altres plantes aquàtiques molt ràpid degut a l'excés de nutrients al medi. Aquest creixement desmesurat provoca una disminució de la penetració de la llum a l'aigua i un esgotament dels nutrients, de manera que acaba duent a la mort massiva de la biomassa formada, que en descompondre's en condicions aeròbies provoca la disminució de l'oxigen dissolt a l'aigua i, quan la concentració d'oxigen és escassa, es descompon anaeròbiament donant lloc a un excés de matèria orgànica al medi i a una disminució de la qualitat de l'aigua.
- Disminució de la concentració d'oxigen dissolt degut a l'oxidació de l'amoní a nitrit i nitrat que, com en el cas de l'eutrofització, pot comportar la mort de molts organismes aquàtics que necessiten l'oxigen per sobreviure, com els peixos. Aquest procés de nitrificació pot causar, a la vegada, una disminució del pH en el medi receptor.
- En cas que tingués lloc un augment de temperatura i de pH es trencaria l'equilibri químic existent entre l'amoníac (NH_3) i l'amoní NH_4^+ , augmentant considerablement la producció d'amoníac, el qual és tòxic per als peixos.
- Elevades concentracions de nitrits i nitrats a l'aigua potable poden causar metahemoglobinèmia (disminució de la capacitat de transportar oxigen per part de l'hemoglobina) i promoure la formació de compostos carcinogènics, formats a partir de la reacció dels nitrits i nitrats amb altres compostos com les amines i amides.



- En les capes de sòl sense oxigen, la desnitrificació pot comportar un augment dels fangs i una descomposició anaeròbica, la qual dóna lloc a la generació de metà, que és un dels principals gasos amb efecte hivernacle.

Existeix una varietat de tecnologies per l'eliminació del nitrogen que impliquen processos físics i químics. Però degut al seu elevat cost, problemes d'explotació i manteniment, l'aplicació d'aquest tipus de tecnologies es centren en situacions concretes on la seva baixa biodegradació i/o toxicitat fan inviables l'ús de processos biològics. També existeix tecnologies que fomenten la recuperació del nitrogen com és el cas de la precipitació en forma d'estruvita ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$), on també fomenta la recuperació de fòsfor, per portar a terme aquest procés es requereix alts valors de pH i ratis equimolars entre amoni, fòsfor i magnesi.

El coneixement cada vegada més ampli dels microorganismes involucrats en el procés d'eliminació del nitrogen ha portat una varietat d'opcions de tractament en els últims anys, les principals estratègies són: nitrificació i desnitrificació via nitrat (NDN), nitrificació i desnitrificació via nitrit (NDN via nitrit), i la nitrificació parcial i oxidació anaeròbia de l'amoni (NP-anammox).

1.2. El procés combinat de nitrificació-desnitrificació (NDN)

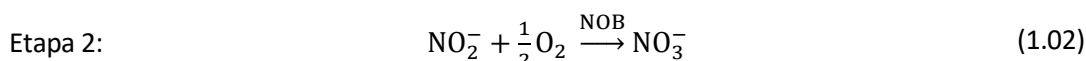
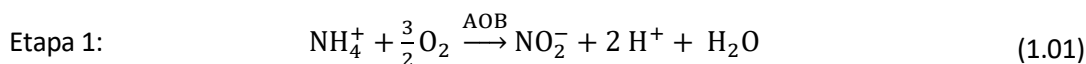
El procés NDN és el mètode d'eliminació biològica més habitual per eliminar els compostos de nitrogen presents a les aigües residuals, amb el que s'oxida l'amoni a nitrit i nitrat, i posteriorment és reduït a nitrogen gas.

1.2.1. Nitrificació autòtrofa

La nitrificació és un procés aerobi que es realitza mitjançant microorganismes quimiolitotàutòtrofs, els quals obtenen l'energia de l'oxidació de compostos inorgànics (en aquest cas l'amoniàc) i la seva font de carboni és el diòxid de carboni, aquest procés es dona en dues etapes.

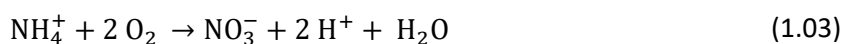
En la primera etapa (equació 1.01) transformen l'amoni en hidroxilamina (NH_2OH) per mitja de l'enzim *amoni mono-oxigenasa*, i després converteixen la hidroxilamina en nitrit, amb la intervenció dels bacteris autòtrofs amoni oxidants (Ammonium-Oxidizing Bacteria, AOB). Els més comuns són del gènere *Nitrosomonas*.

En la segona etapa (equació 1.02) o procés de nitratació, els bacteris nitritoxidants (Nitrite-Oxidizing Bacteria, NOB), mitjançant l'enzim *nitrit oxido-reductasa* oxiden el nitrit en nitrat, els més habituals són del gènere *Nitrobacter*. Les equacions corresponents a aquest procés són:

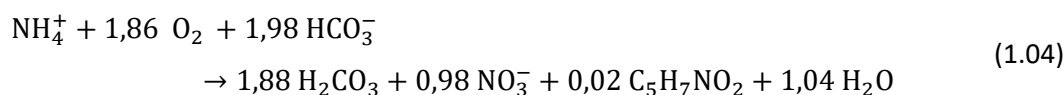


En general, dintre del procés global de nitrificació, l'etapa limitant és la nitritació, ja que les *Nitrosomonas* tenen una velocitat de creixement menor que els *Nitrobacter*. La taxa màxima específica de creixement (μ_{max}) dels bacteris NOB és $1,08 \text{ d}^{-1}$ i la dels bacteris AOB és $0,77 \text{ d}^{-1}$, però en els següents apartats podem veure com modificant certs paràmetres invertim aquest fet.

S'observa que en la primera etapa es consumeix $3,43 \text{ g O}_2$ per g de N-NH_4^+ oxidat i en la segona etapa $1,14 \text{ g O}_2$ per g de N-NO_2^- oxidat, amb un total de $4,57 \text{ g d'oxigen}$ consumit durant tot el procés de nitrificació. En la reacció global del procés, sense considerar la síntesis cel·lular (equació 1.03), es produeixen 2 mols de protons (H^+) per cada mol d'amoni oxidat, i és per aquest motiu que l'alcalinitat present ha de ser suficient per mantenir el pH en un rang entre 7,0–8,0 per tal que pugui tenir lloc la nitrificació en condicions òptimes.



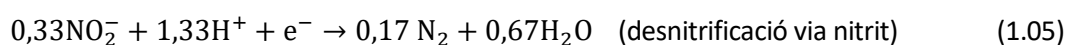
En la reacció global (equació 1.04) observem que els bacteris nitrificants obtenen el carboni del CO_2 , que està en equilibri amb el HCO_3^- , i que donada la poca energia obtinguda amb l'oxidació de l'amoni i el nitrit, els bacteris nitrificants es caracteritzen per baixes velocitats de creixement i baixes produccions de biomassa (Magrí, 2007).



1.2.2. Desnitrificació heteròtrofa

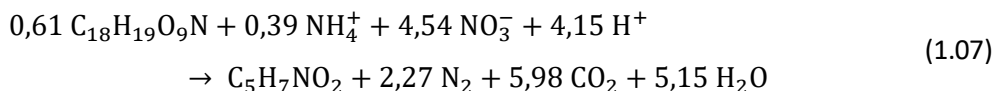
La desnitrificació heterotròfica és un procés anòxic en què els nitrits i nitrats són reduïts a nitrogen gas (N_2) mitjançant microorganismes heteròtrofs, els quals obtenen l'energia de l'oxidació dels compostos orgànics. És a dir, es necessita matèria orgànica com a font de carboni, que s'expressa en unitats de demanda química d'oxigen (DQO), de manera que si l'efluent a tractar no conté prou DQO se n'haurà d'afegir per tal que tingui lloc el procés de desnitrificació, però s'ha de tenir en compte que la DQO representa l'objectiu principal del que es vol eliminar amb el procés NDN.

Els microorganismes responsables són principalment aerobis facultatiu, en condicions anòxiques utilitzen el nitrit o nitrat com aceptor final d'electrons, tal com mostra les següents equacions:





Si considerem el substrat orgànic el del propi efluent ($\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{N}$), el procés de reducció del nitrat i la síntesis de la biomassa, es pot expressar de la següent manera:



De les equacions 1.05 i 1.06 es dedueix que la desnitrificació està associat a una producció d'alcalinitat, en quant a requeriments de matèria orgànica, de l'equació 1.07, són de 5,35 g de DQO per cada gram de nitrit reduït (Magrí, 2007).

1.3. El procés de nitrificació parcial (NP)

En el procés de nitrificació parcial es pretén aconseguir que una part de l'amoni, al voltant del 50% s'oxidi a nitrit, que generalment és una etapa que precedeix el posterior procés anammox. Per portar a terme la producció de nitrit via nitrificació parcial, s'han d'aplicar unes condicions d'operació que eviten el desenvolupament dels NOB.

1.3.1. Factors que afecten a l'activitat dels bacteris oxidants de l'amoni (AOB)

1.3.1.1. Efecte de la concentració d'amoniac, àcid nítrós i pH

Un estudi (Anthonisen et al., 1976; Magrí et al., 2012a) va determinar els efectes d'inhibició de la nitrificació en relació a diferents concentracions d'amoniac i d'àcid nítrós en dependència del pH.

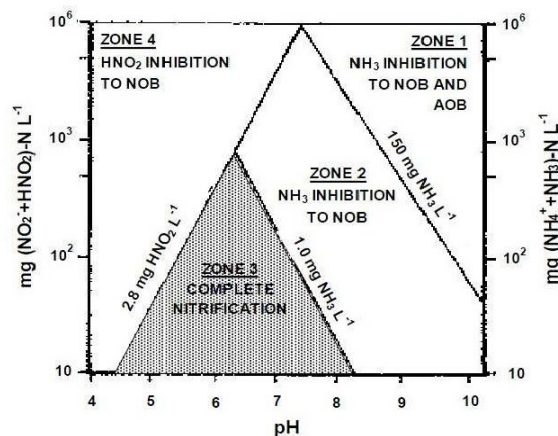


Figura 1.2. Relació entre les concentracions de NH_3 i HNO_2 amb la inhibició dels bacteris nitrificants (AOB i NOB) en funció del pH (Anthonisen et al., 1976).

A partir de la Figura 1.2 es pot determinar que l'amoniac és el principal inhibidor de la nitrificació completa a un pH més gran de 8, mentre que l'àcid nítrós ho és a un pH inferior a 7,5

aproximadament. Per tant, per a dur a terme l'etapa de nitrificació parcial tenint en compte les concentracions d'aquests compostos, caldria situar-se dins les zones 2 o 4.

1.3.1.2. Efecte de la relació molar entre l'amoni i el bicarbonat

La relació molar amoni-bicarbonat és un dels principals paràmetres que cal controlar per tal de convertir parcialment l'amoni a nitrit, duent a terme així el procés de nitrificació parcial desitjat.



Tal i com s'observa en l'equació 1.08, per tal d'obtenir un 50% de conversió d'amoni a nitrit és necessari un mol de bicarbonat per cada mol d'amoni oxidat (1 mol HCO_3^- /1 mol NH_4^+ eliminat). Malgrat això, tenint en compte que per al procés anammox són necessaris 1,32 mols de NO_2^- per cada mol d' NH_4^+ , cal ajustar la quantitat d' HCO_3^- a 1,14 mol /1 mol NH_4^+ eliminat (Ganigué et al., 2008).

1.3.1.3. Efecte de la temperatura i el temps de retenció cel·lular (TRC)

Els experiments duts a terme per Grunditz i Dalhammar (2001) amb cultius purs de *Nitrosomonas* i *Nitrobacter* van determinar una temperatura òptima de 35°C i 38°C respectivament. Van Hulle et al. (2007) van demostrar que temperatures dins del rang 35°C i 45°C són òptimes per a dur a terme el procés de nitrificació parcial, tot i que només es van investigar efectes a curt termini.

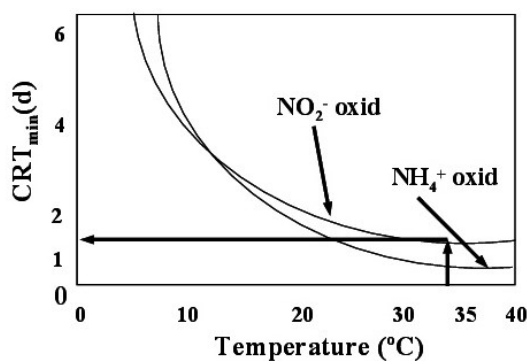


Figura 1.3. Influència de la temperatura sobre la taxa de creixement dels bacteris AOB i NOB (Dapena-Mora (2007)).

En la Figura 1.3 es pot observar que a partir de 15°C aproximadament, la taxa de creixement dels bacteris AOB és major que la dels NOB, i és per aquest motiu que mantenint un TRC mínim és possible afavorir l'eliminació dels NOB, tal i com interessa per al procés de nitrificació parcial.

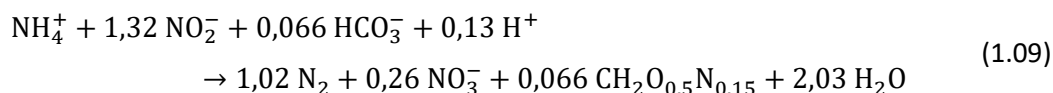
Concretament, a una temperatura de 35°C la taxa màxima de creixement dels AOB ($\mu_{\max} = 1 \text{ d}^{-1}$) és el doble que els dels NOB ($\mu_{\max} = 0,5 \text{ d}^{-1}$).

1.3.1.4. Efecte de la concentració d'oxigen dissolt.

Els experiments duts a terme per Hanaki et al. (1990) van determinar que nivells baixos d'oxigen dissolt duplicaven el rendiment dels AOB respecte els de NOB. Concretament, l'oxidació del nitrit era fortament inhibida a partir d'una concentració de 0,5 mg O₂/L. Per tant, treballar en condicions limitats d'oxigen permet reduir la capacitat de nitratació de sistema.

1.4. El procés d'oxidació anaeròbia de l'amoni (anammox)

En aquest procés els bacteris anammox oxiden l'amoni sota condicions anaeròbiques, utilitzant el nitrit com acceptor d'electrons per produir nitrogen gas. La primera vegada que es va observar aquesta reacció va ser a l'any 1994 per Mulder et al. (1995), on a través d'un reactor de llit fluiditzat es produïa l'eliminació simultània d'amoni i nitrit en condicions anòxiques, donant lloc a la producció de nitrogen gas. Anys més tard, després de varis estudis sobre el procés anammox en un reactor de tipus Sequencing Batch Reactor (SBR), Strous et al. (1998) van proposar la següent estequiometria per el procés incloent el procés de creixement bacterià:



Els bacteris anammox són quimiolitotrofs, és a dir que en aquest cas l'amoni és la font inorgànica d'electrons i el bicarbonat és l'única font de carboni (necessari pel seu creixement cel·lular), això vol dir que no necessita matèria orgànica biodegradable per desnitrificar. A més, el metabolisme de les bactèries és anòxic, al utilitzar el nitrit com acceptador final d'electrons. Tal com es pot observar en l'equació 1.09, la relació molar nitrit/amoni ha de ser 1.32 mols NO₂⁻/mol NH₄⁺ per a que pugui tenir lloc la reacció i obtenir com a principal producte el N₂. Podem observar que aquest procés no elimina completament el nitrogen, ja que a part del nitrogen gas generat s'obté una petita quantitat de nitrat, 0,26 mols NO₃⁻/mol NH₄⁺ eliminat. També s'observa, segons l'estequiometria de la reacció, que es produeix un consum de protons (H⁺) el qual provoca un augment del pH, que s'ha de controlar.

En resum, per tal de dur a terme el procés anammox és necessari disposar d'un efluent que contingui principalment amoni i nitrit, per tant si tenim un efluent amb un alta càrrega

amoniacal on no existeix una relació òptima de forma natural, serà necessari fer una etapa prèvia on s'oxidi parcialment l'amoni a nitrit, és a dir un procés de nitritació parcial.

D'altra banda, el creixement de la biomassa anammox és molt lent, té un temps de duplicació (t_d) de 2 a 11 dies (Strous et al., 1998), i conseqüentment una velocitat específica de creixement màxim (μ_{max}) molt baixa, de $0,334 \text{ d}^{-1}$ a $0,065 \text{ d}^{-1}$ ($\mu_{max} = \ln 2 / t_d$). Sens dubte, aquest és un punt crític per enriquir els microorganismes anammox i poder aplicar el procés a escala industrial. (Per a més informació sobre l'espècie anammox mirar annex A)

1.4.1. Factors que afecten a la activitat dels bacteris anammox

1.4.1.1. Efecte del pH

L'activitat dels bacteris anammox es pot veure afectat pel pH, el rang de pH per dur a terme el procés anammox està entre 6,7 i 8,3 (Jetten et al., 1999), amb un pH òptim de 8 per a la majoria de casos. Un exemple és per a l'espècie *Ca. B. anammoxidans*, on s'obté una major taxa d'eliminació d'amoni i nitrit a un pH de 8. A la Taula 1.1 es presenta un exemple de l'activitat de la biomassa anammox, *Ca. K. stuttgartiensis*, obtinguda a partir d'assajos en *batch* realitzats a 37°C utilitzant l'amoni i el nitrit com a substrat.

Taula 1.1. Efecte del pH sobre l'activitat dels bacteris anammox (Egli et al., 2001).

Valor pH	Activitat biomassa anammox	nanomols N_2 / mg proteïna·min
6,0	Nul·la	0
6,5	Nul·la	0
7,0	Mitja	14,8
7,5	Màxima	24
8,0	Màxima	26,5
8,5	Observada	No determinat
9,0	Observada	No determinat

1.4.1.2. Efecte de la temperatura

El rang de temperatura òptim per als bacteris anammox és de 30-40°C (Strous et al., 1999, Egli et al., 2001) amb un òptim de 37°C. Tot i que s'ha treballat a 20°C, afectant al rendiment del procés (Cema et al., 2007). Un estudi que es va realitzar en *batch* a diferents temperatures, entre 10 i 45°C, es va trobar la màxima activitat a 37°C, per altre costat a una temperatura de 45°C o inferior a 10°C no es va observar activitat anammox, causant un decreixement irreversible del procés degut a la lisis de la biomassa (Bertino, 2010).

1.4.1.3. Efecte de la concentració d'oxigen dissolt

Es va determinar, a través d'assajos en *batch* (Strous et al., 1998; Egli et al., 2001), que a concentracions superiors al 0,25% d'oxigen dissolt de saturació la biomassa anammox era inhibida. L'activitat de les bacteris podia ser recuperada quan es restablí les condicions anaeròbies en el interior del reactor, aportant argó o CO₂ al sistema. De la mateixa manera es va determinar una activitat nul·la i irreversible a concentracions entre el 0,25-2 % d'oxigen dissolt de saturació.

1.4.1.4. Efecte de la velocitat d'agitació

Les forces hidrodinàmiques influeixen sobre la formació i estructura de biofilms i grànuls, així que la velocitat d'agitació és un paràmetre en tenir en compte (Arrojo et al. 2006), es va determinar l'efecte de l'estrès mecànic causat per la velocitat d'agitació en la biomassa granular anammox enriquida en un SBR. Entre 60 i 180 revolucions per minut (rpm) no es va observar la inhibició del procés anammox, en canvi a velocitats superiors a 250 rpm, la velocitat específica de creixement de la biomassa anammox decreixia un 40% degut a la desestabilització del sistema provocat per la mort cel·lular i la ruptura del grànuls.

1.4.1.5. Efecte del substrat

El nitrit es utilitza com aceptor final d'electrons, però a determinades concentracions pot inhibir l'activitat de les bacteris. Strous et al. (1999) va determinar que la presència de nitrats a concentracions entre els 70-180 mg N-NO₂⁻/L, el procés anammox era inhibit.

Taula 1.2. Relació de concentracions de nitrit que provoca inhibició del procés anammox (López, 2009).

Gènere	NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ /L)
<i>Ca. Brocadia</i>	70
	100
	140
<i>Ca. Kuenenia</i>	60
	60
	180
	180
<i>Ca. Scalindua</i>	100-140

Segons els estudis realitzats trobem la Taula 1.2 on analitzant les concentracions de nitrit que inhibeixen el procés anammox es dedueix que els gèneres *Ca. Kuenenia* i *Ca. Scalindua* tenen

una tolerància més elevada al nitrit que el gènere *Ca. Brocadia*. No obstant, com més elevada es la concentració de biomassa anammox, major degradació de nitrit i per tant una menor acumulació i inhibició del procés. En quant a les concentracions màximes d'amoni a la qual es detecta activitat és molt més gran, al voltant d'1 g N/L (Strous et al. 1999). Per aquest motiu, normalment les concentracions d'amoni no són considerades com inhibidors.

1.4.1.6. Efecte de la matèria orgànica

La matèria orgànica biodegradable no té un efecte directe sobre els microorganismes anammox, però pot induir al creixement de bacteris heterotròfics en el reactor. En condicions anòxiques i en presència de nitrit i nitrat, la matèria orgànica biodegradable es consumida per els microorganismes desnitrificants heterotròfics per produir nitrogen gas. Els microorganismes anammox són poc competitius per el substrat, mentre que els organismes heterotròfics tenen una elevada afinitat (Chamchoi et al. 2008), d'aquesta manera hi ha una competència per el nitrit entre els microorganismes anammox i el heterotròfics desnitrificants en presència de matèria orgànica.

1.4.1.7. Efecte de les sals

Dapena Mora (2007) va avaluar l'efecte de diferents concentracions de sals sobre l'activitat específica de l'anammox (SAA). Com podem veure en la Figura 1.4 concentracions de NaCl per sota de 150 mM no tenen un efecte sobre l'activitat anammox, mentre que concentracions de KCl i Na₂SO₄ per sobre de 100 i 50 mM, respectivament, causen una disminució de l'activitat específica.

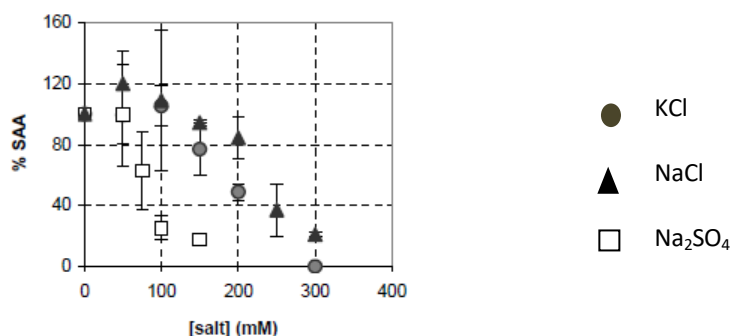


Figura 1.4. Efectes de diferents concentracions de KCl, NaCl i Na₂SO₄ sobre el % SAA. (Dapena-Mora, 2007).

L'efecte alt de Na_2SO_4 podria estar relacionat amb les concentracions de sodi lliure (Na^+) en el medi. Els efectes negatius del sodi van ser observats per Soto et al., (1993) en un tractament anaeròbic d'aigües residuals procedents d'una indústria de musclo. També és probable que la disminució de l'activitat en presència de sals sigui degut al increment de la pressió osmòtica, afectant així al sistema de transport a través de la membrana.

1.4.1.8. Efecte del fosfat

De la mateixa forma que passa amb el nitrit, la tolerància a altes concentracions de fosfat (P) depèn de la espècie. Per exemple, Van de Graff et al. (1996) van detectar la disminució de l'activitat per sobre de 155 mg P/L per l'espècie *Ca. B. anammoxidans*, Egli et al. (2001) van detectar inhibició a partir de 620 mg P/L per l'espècie *Ca. K. stuttgartiensis*.

1.4.1.9. Efecte del sulfat

El límit de tolerància al sulfur (S) no queda del tot clar. Dapena-Mora (2007) va comprovar l'efecte inhibitor del sulfur sobre el procés anammox, detectant així una inhibició del 50% a la velocitat específica de creixement, a una concentració de 9,6 mg S/L, mentre que Van der Graaf no va observar efectes inhibidors fins a 64 mg S/L.

1.5. Comparativa dels processos combinats NDN i NP-anammox

En el present apartat (Taula 1.5) es realitza una comparativa dels diferents processos estudiats, NDN i NP-anammox. Fux i Siegrist (2004) han realitzat una comparativa ambiental i econòmica de l'aplicació d'aquests processos a les aigües procedents de la deshidratació dels fangs digerits (inclòs el procés de nitrificació-desnitrificació). Ambientalment parlant l'eliminació autòtrofa del nitrogen mitjançant la NP-anammox (ja sigui amb un o dos reactors) és més sostenible que el procés convencional de nitrificació-desnitrificació, permet estalviar més del 50-60% d'oxigen i no requereix d'una font externa de carboni orgànic. A més, tenint en compte que el rendiment de la biomassa dels organismes autòtrofs és molt baix, la producció de fangs disminueix considerablement, reduint així els costos associats al seu tractament.

Cal destacar també que per al creixement de la biomassa autòtrofa es consumeix diòxid de carboni (CO_2), mentre que en l'etapa de desnitrificació heteròtrofa més de la meitat del carboni orgànic afegit és oxidat a CO_2 . A més, que generalment s'assumeix que el producte final d'ambdues aplicacions és el N_2 . No obstant, durant la reducció del nitrit i nitrat en la

desnitrificació heteròtrofa es produeixen com a subproductes una petita quantitat de monòxid de nitrogen i d'òxid nítrós, els quals són problemàtics especialment per a la disminució de la capa d'ozó i per ser un gas amb efecte hivernacle, respectivament. En canvi, en el procés NP-anammox aquests compostos són emesos principalment durant l'etapa aeròbia (Campos et al., 2016).

Taula 1.3. Comparativa del diferents processos per a l'eliminació biològica de nitrogen (adaptat de Van Hulle et al., 2010; Daigger et al., 2011).

	NDN	NP-anammox
Consum d'oxigen (g O₂/g N-NH₄⁺ eliminat)	3,4-4,6	1,7-1,9
Necessitat de DQO (g DQO/g N) *	2,4-4,0	0
Producció de fangs (g SST/ g N-NH₄⁺ eliminat)	0,5-0,7	0,1
Emissions gasoses	CO ₂ , NO i N ₂ O	NO i N ₂ O
Eficiència en l'eliminació de N (%)	60-70	87-95
Taxa d'eliminació de N (Kg N/m³·d)	0,075-0,25	0,075-1,5
Temperatura òptima d'operació (°C)	12-35	25-40

*Inclou assimilació cel·lular.

Per tant, tenint en compte els requeriments de recursos i els subproductes generats, l'eliminació autòtrofa del nitrogen via NP-anammox és clarament preferible respecte el procés convencional de nitrificació-desnitrificació des d'un punt de vista ambiental. A nivell econòmic és difícil dur a terme un anàlisi dels costos associats a cada procés ja que hi intervenen una gran quantitat de factors. Per tant, tot i que la posada en marxa del procés anammox és encara llarga i la seva aplicació en plantes reals és limitada, els avantatges que ofereix són clars:

- La demanda d'oxigen per a l'oxidació parcial de l'amoni a nitrit és molt menor que per a una nitrificació completa.
- No és necessària l'addició d'una font externa de carboni orgànic.
- La producció de fangs és menor.
- Les emissions de CO₂, NO i N₂O poden veure's reduïdes.
- Els costos d'operació són menors.

1.6. Projecte PIONER

L'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) executa el projecte de recerca PIONER "Process Integration for syntrophic acetate and autotrophic ammonia Oxidations in the anaerobic treatment of Nitrogen-rich organic wastes for Energy Recovery", dirigit al tractament i valorització



de subproductes i residus agroalimentaris, en aquest cas al tractament de purins porcíns. Aquest treball de final de grau (TFG) s'emmarca en la posada en marxa del procés de tractament de residus d'alta carga de nitrogen, en el que s'ha optat pel procés combinat NP-anammox. El sistema integrat de tractament aplicat en el projecte PIONER consta de tres passos principals, tal i com mostra la Figura 1.5.

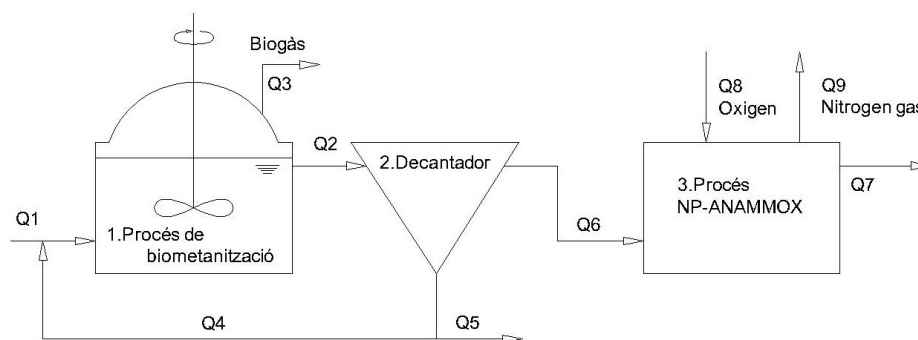


Figura 1.5. Esqema global del procés de tractament de residus orgànics del projecte PIONER.

Les tres etapes principals de què consta el procés són les següents:

- Procés de digestió anaeròbia: durant aquest procés es degrada tota la matèria orgànica i com a resultat s'obté un cabal de biogàs i un altre de digerit. El bioreactor serà del tipus CSTR amb recirculació, amb l'objectiu de fer créixer bacteris SAO termòfils (per a més informació sobre la digestió anaeròbia veure l'annex B).
- Decantació: un cop degradada la matèria orgànica per digestió anaeròbia, es farà un procés de separació líquid-sòlid per decantació, obtenint d'aquesta manera dos cabals, un cabal clarificat (Q6) i un altre de sòlids. Aquest últim cabal es dividirà en dos. Un serà extret del sistema per realitzar la purga de fangs (Q5) i l'altre es considerarà per a la recirculació dels fangs dins el digestor (Q4). El cabal clarificat (Q6) serà un efluente ric en amoni i pobre en matèria orgànica, característiques ideals per poder alimentar el procés NP-anammox.
- Procés NP-anammox: en aquest procés es pretén eliminar el nitrogen amoniacal de la forma més eficient possible. Caldrà doncs escollir la configuració i el tipus de bioreactor més idonis. La configuració del sistema NP-anammox d'aquest projecte és un dels objectius d'aquest TFG.

1.6.1. Cas d'aplicació: tractament de purins porcins

La millora de la gestió de les dejeccions ramaderes (fems i purins) és una temàtica d'interès per a la Unió Europea (UE). La quantitat de fems i purins produïts, i potencialment disponibles per a ser processats, s'estima al voltant de 1400 milions de tones, trobant les majors produccions a França i Alemanya. En total, un 7,8% d'aquesta producció es processa mitjançant diferents tecnologies.

Els purins de porc són el resultat dels sistemes de manipulació dels excrements animals adoptats a les explotacions porcines per agilitzar la neteja de les instal·lacions davant l'increment del número de bestiar. Aquest augment del cens de porcs és conseqüència de la creixent demanda de productes derivats de la carn d'aquest animal. Catalunya produeix el 27,2% de carn de porc d'Espanya (Informes Pimec, 2014). Això significa 7 milions de porcs i la generació d'aproximadament 12 milions de tones de purins a l'any. Aquest material està format per més d'un 90% d'aigua, degut a la neteja de les instal·lacions, però també d'elevades concentracions de nitrogen. S'ha proposat diverses alternatives, entre les quals la separació de la fracció sòlida per tal de reduir els costos de transport i ser utilitzada per a compostatge o diferents tractaments tèrmics. La fracció líquida, però, encara conserva una alta concentració de nitrogen. Aquesta fracció habitualment es queda a la granja, i cal trobar-li una sortida adequada. En cas de fer una digestió anaeròbia prèvia de les dejeccions, és possible obtenir beneficis extra per tal d'aprofitar-los i produir un gas combustible molt ric en metà (biogàs) i millorar la qualitat del material per a la seva aplicació com a fertilitzant orgànic o per a reg, ja que en redueix el contingut en matèria orgànica fàcilment biodegradable.

Donat que els purins presenten un elevat contingut de nitrogen, durant el procés de digestió anaeròbia, la concentració d'amoniac pot augmentar per sobre dels llindars d'inhibició del procés convencional. En aquest context, afavorir el creixement dels bacteris sintròfics oxidants de l'acetat (Syntrophic Acetate Oxidizers, organismes SAO), els quals poden créixer amb normalitat sota concentracions molt elevades d'amoniac, pot suposar un avantatge competitiu. Les característiques i composició dels purins són funció de diversos factors (Brooks et al., 2014):

- Temps transcorregut des de la seva generació
- Composició de la dieta (tipus d'alimentació i antibiòtics)
- Sistema de maneig i tipus d'explotacions
- Sistema de maneig dels purins (gestió de l'aigua, emmagatzematge i llit)
- Bestiar (estat fisiològic, mida, sexe i raça)
- Factors ambientals (època de l'any, temperatura i humitat)



- Tècniques d'alimentació i tipus d'abeuradors
- Disseny de les granges

Tot i així a la Taula 1.4 es mostra un rang de valors típics per a la composició de purins de porc:

Taula 1.4. Variabilitat de la composició dels purins d'origen porcí (Flotats, 2016).

	Mínim	Màxim	Mitjana
pH	6,56	8,70	7,68
Alcalinitat total (g CaCO ₃ /kg)	5,08	59,25	21,47
Sòlids totals (g/kg)	13,68	169,00	62,16
Sòlids volàtils (g/kg)	6,45	121,34	42,33
DQO (g O ₂ /kg)	8,15	191,23	73,02
Nitrogen total Kjeldahl (g N/kg)	2,03	10,24	5,98
Nitrogen amoniacal (g N/kg)	1,65	7,99	4,54
Fòsfor (g P/kg)	0,09	6,57	1,38
Potassi (g K/kg)	1,61	7,82	4,83
Coure (mg Cu/kg)	9	192	40
Zinc (mg Zn/kg)	7	131	66

2. Objectius

2.1. Objectiu general i objectius parcials

Aquest TFG s'ha realitzat en el marc del projecte de recerca PIONER, actualment en execució a l'IRTA. El projecte preveu la integració, a escala laboratori, i operant en continu, d'un digester anaerobi amb activitat SAO, una separació sòlid-líquid, i el procés d'eliminació autotròfica de N basat en NP-anammox. Està previst que aquest sistema tracti purins d'origen porcí.

L'objectiu del TFG és proposar la configuració més adient per al sistema combinat NP-anammox i la posada en marxa del digester anaerobi. Els objectius parcials plantejats són els següents:

- Donat que el procés combinat NP-anammox pot operar-se sota diferents configuracions de reactors, en primer lloc es realitzarà una revisió bibliogràfica exhaustiva per tal de proposar, a partir de l'anàlisi de la informació recopilada, la configuració més adient en aquest cas particular i d'acord amb les condicions experimentals amb que es preveu treballar.
- La biomassa anammox es preveu obtenir ja enriquida d'una EDAR municipal. Per tal de preservar aquesta biomassa en condicions idònies mentre no s'executin els experiments principals al laboratori, es dimensionarà un reactor secundari de manteniment, es descriuran els principals elements del muntatge i es donaran algunes recomanacions per a la seva operació.
- Posada en marxa del procés anaerobi per a la producció de biogàs.

2.2. Pla d'activitats a l'empresa

El TFG s'ha realitzat a les instal·lacions que l'IRTA té a Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona). El pla de treball incloïa: la recopilació d'informació bibliogràfica, l'anàlisi detallat d'aquesta informació, la participació en la presa de decisió sobre la configuració a implementar al laboratori per fer efectiu el tractament i el seguiment del procés de compra i muntatge de tot l'equipament. Així mateix, també s'ha participat en la posada en marxa al laboratori del digester anaerobi per a la producció de biogàs en règim termòfil que es desitja albergui activitat SAO. El procés de seguiment del bioreactor incloïa la seva supervisió i el mostreig periòdic per tal de mesurar l'evolució de la degradació de la DQO i la producció de biogàs. Durant l'estada a l'IRTA s'han fet reunions periòdiques de coordinació per tal d'avaluar els resultats parcials obtinguts, prendre decisions, i planificar actuacions futures.

3. Material i mètodes

3.1. Recerca bibliogràfica

Per començar les tasques de recerca, s'han buscat TFG, treballs finals de màster (TFM) o tesis doctorals relacionats amb el tema anammox a les pàgines webs <http://cataleg.upc.edu/#> i <https://www.tesisenred.net/>. La selecció dels treballs s'ha fet per criteri propi. El propòsit era recopilar treballs experimentals previs en què s'hagi fet recerca utilitzant una planta pilot a escala laboratori.

Un cop feta aquesta cerca, s'ha mirat en la llista de referències bibliogràfiques proporcionada en aquests treballs i s'ha anat identificant articles potencialment interessants. Per a la localització d'aquests articles s'han utilitzat les següents pàgines web: <https://www.sciencedirect.com/> , <https://www.researchgate.net/> , <https://www.mendeley.com> i <https://www.jstor.org/> . A més a més, s'ha ampliat la recerca a la web en vistes a treballs experimentals amb bioreactors anammox. Les paraules clau utilitzades per fer aquestes recerques han estat: “posada en marxa d'un procés anammox”, “procés CANON”, “OLAND”, “SNAP”, “desnitrificació autotròfica” i “anammox”. Aquesta recerca s'ha fet primerament en català i castellà, però després es va observar que es desponia de més informació en anglès, sent aquest últim l'idioma de recerca més utilitzat.

Els tutors d'aquest TFG també han contribuït a la recerca, i tots hem compartit la informació en una carpeta localitzada al Dropbox.

La selecció final dels articles més interessants s'ha fet després de la seva lectura, descartant aquelles referències més antigues, que compartien un mateix objectiu experimental, o bé que havien considerat una tecnologia semblant per tal d'efectuar els experiments.

3.2. Tècniques analítiques

En aquest TFG, només s'han aplicat tècniques analítiques per caracteritzar els treballs relatius a la biometanització (o digestió anaeròbia). Tot i així, s'ha construït una taula (Taula 3.1) amb totes les tècniques que serien aplicables per a cada procés (biometanització, anammox-inòcul i NP-anammox). L'objectiu d'aquesta taula és poder comparar les diferents tècniques i servir de guia durant els treballs a desenvolupar en el marc del projecte PIONER. S'observa que quasi totes les tècniques apreses per realitzar el control de biometanització seran també aplicades als processos



d'eliminació de nitrogen, excepte la cromatografia de gasos, que serà utilitzada només per a analitzar la composició de biogàs.

Taula 3.1. Comparació de les tècniques d'anàlisi per cada procés.

Paràmetre	Biometanització	Anammox inòcul	NP-anammox
DQO	Tècniques de colorimetria		
Alcalinitat	Tècniques volumètriques		
Biogàs	Cromatografia de gasos	-	
ST /SV i SST/SSV	Tècniques gravimètriques		
N-NH ₄ ⁺	Tècniques per destil·lació		
N-NO ₂ ⁻		Tècniques espectrofotomètriques	
N-NO ₃ ⁻	-	Tires reactives i tècniques espectrofotomètriques	

3.2.1. Alcalinitat total i parcial; Relació d'alcalinitats

La mesura de l'alcalinitat informa sobre la capacitat tampó del medi i, per tant, sobre la resistència del pH a variar en funció dels canvis introduïts al sistema. És per aquest motiu que s'ha establert com un dels paràmetres de control dels reactors anaerobis. S'ha utilitzat el mètode IRTA IT-MA-005. Consisteix en la valoració de la mostra amb un àcid fort, àcid sulfúric 0,5 N, fins a pH 5,75 i 4,3. Prenent aquests dos punts finals de pH es defineixen tres paràmetres de mesura de l'alcalinitat: alcalinitat total (AT) mesurada al punt de pH 4,3; alcalinitat parcial (AP) associada a l'alcalinitat al bicarbonat mesurada al punt de pH 5,75 i alcalinitat intermitja (AI) associada a la concentració d'àcids grassos volàtils (AGV) i estimada com la diferència entre ambdues. La relació d'alcalinitats RA es defineix com la fracció d'alcalinitat deguda als AGV (AI) respecte de l'alcalinitat total (AT).

3.2.2. Demanda química d'oxigen (DQO)

La demanda química d'oxigen (DQO) es una estimació de la matèria orgànica oxidable a partir de la quantitat d'oxigen requerit per oxidar-lo, sota condicions específiques d'agents oxidants, temps i temperatura. No es directament assimilable a la matèria orgànica total (COT). S'ha utilitzat el mètode IRTA IT-MA-013. Consisteix en l'oxidació de substàncies orgàniques i inorgàniques present en la mostra, mitjançant sulfat de plata al 1% en àcid sulfúric amb un excés conegut de dicromat

potassi. Es realitza digestió de la mostra durant dos hores a 150°C. L'excés de dicromat es valora mitjançant una tècnica de colorimetria amb l'espectrofotòmetre.

3.2.3. Sòlids totals i volàtils

La determinació de sòlids totals i volàtils es fa pel mètode IRTA IT-MA-001. Una mostra ben homogeneïtzada es pesa en un recipient prèviament tarat. S'asseca durant 24 hores en una estufa a 105°C, obtenint d'aquesta manera els sòlids total (ST). Seguidament es calcina la mostra durant 3,5 hores a 550°C i es pesa. La diferència de pes entre els ST i les cendres és el pes degut als sòlids volàtils (SV).

3.2.4. Nitrogen amoniacal total (NAT)

Per la determinació de nitrogen amoniacal (N-NH_4^+) es fa per destil·lació, arrossegament per vapor, i posterior valoració. El mètode utilitzat és IRTA IT-MA-010. L'anàlisi es fonamenta en la transformació, en medi líquid, de l'ió amoni en amoníac en presència d'una base com l'hidròxid de sodi al 49% p/v. L'amoníac es destil·lat recollint-se novament com amoni en un volum conegut en excés, d'àcid bòric al 2% p/v, formant-se borat amoníac. La valoració de l'io borat mitjançant un àcid clorhídric (sol. 0,1 mol/L) permetrà quantificar el nitrogen amoniacal present inicialment en la mostra.

3.2.5. Composició del biogàs (metà i diòxid de carboni)

El mètode utilitzat és IRTA IT-MA-008. Es basa en la separació cromatogràfica dels diferents compostos de la mostra gasosa per afinitat i detecció mitjançant un detector de conductivitat tèrmica (TCD).

3.3. Descripció del muntatge experimental per biometanització

3.3.1. Inòcul

L'inòcul prové de la *Planta de Biometanització de Can Barba*, situada a Terrassa (Barcelona), dedicada al tractament de la fracció orgànica de residus sòlids urbans mitjançant digestió anaeròbia termòfila i compostatge. En aquesta planta, el digester anaerobi treballa entre 45-50 °C i amb un TRH de 38 dies aproximadament. L'inòcul es va tamisar abans d'introduir-lo al bioreactor, per tal d'eliminar partícules (palla, pedretes, etc.) les quals tendeixen a crear problemes operacionals als bioreactors a escala de laboratori, com obstruir els tubs d'entrada i

sortida del reactor o malmetent el sistema de bombeig. Un cop tamisat, es va realitzar una anàlisi de les concentracions de sòlids totals (ST), sòlids volàtils (SV) i de nitrogen amoniacal total (NAT): ST 8,08 % pes; SV 3,11 % pes; 2.533 mg NAT/L.

Des del mostreig de l'inòcul fins a la inoculació del reactor al laboratori (24/01/2018) van passar aproximadament 3 mesos, durant els quals, l'inòcul tamisat va ser conservat en una cambra tèrmica a 55°C. Per tal de mantenir el substrat en unes condicions estables, es va addicionar una solució sintètica d'AGV (DQO de 44,72 g O₂/L) una vegada al mes. El volum d'inòcul tamisat utilitzar és igual al volum útil del bioreactor, és a dir, 1,8 L.

3.3.2. Descripció del muntatge

Per portar a terme el procés de degradació de la matèria orgànica s'utilitza un reactor tipus CSTR, la Figura 3.1 és un esquema d'aquest muntatge (en l'annex C podem veure una fotografia).

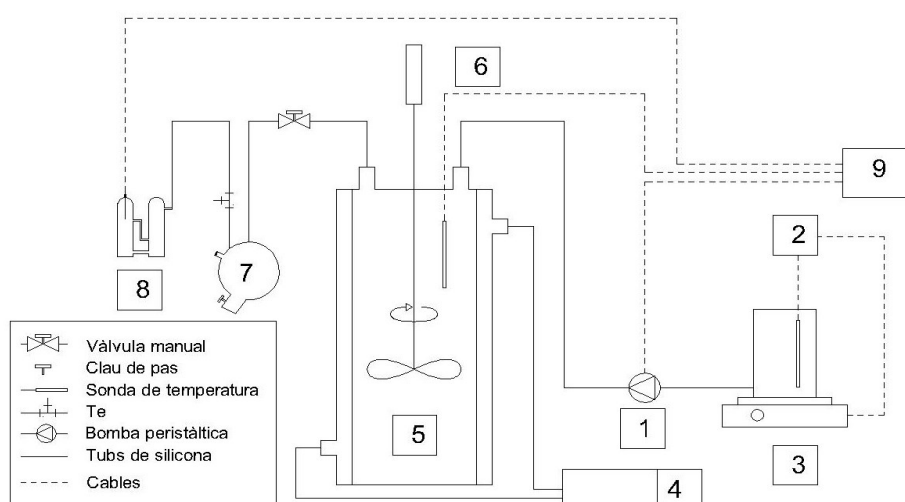


Figura 3.1. Esquema de la planta pilot per biometanització. Components: (1) Bomba d'impulsió per l'alimentació. (2) Sonda de temperatura per control de l'aliment. (3) Escalfador tèrmic. (4) Bany termòstat. (5) Bioreactor tipus CSTR. (6) Sonda de temperatura per el control del bioreactor. (7) Baló amb sortides per l'efluent de la fase líquida i gasosa. (8) Mariotte amb elèctrodes. (9) Panell de control.

Les conduccions que connectant el dipòsit d'alimentació amb el reactor a través de la bomba, són de silicona. Les unions són desmuntables per facilitar operacions de neteja i manteniment.

El bioreactor CSTR **(5)** és de vidre i de forma cilíndrica, amb un volum total de 2 L, de la qual 1.8 L és el volum útil. Per mantenir les condicions anaeròbies, es manté completament tancat i segellat per evitar l'entrada d'oxigen. Està formada per dues peces: un cilindre amb una altura total de 30 cm i un diàmetre de 10 cm, i un tap amb 4 orificis. També té una vàlvula de purga que es troba a la part inferior del reactor (per més detall del disseny anar a l'annex D). Per obtenir una distribució uniforme dins del bioreactor s'ha utilitzat un agitador del tipus mecànic, d'hèlix amb segell hidràulic a l'eix d'agitació. Aquest agitador de 50 Hz permet regular la velocitat de gir entre 35 i 2200 rpm. L'influent entra per la part superior del bioreactor, impulsat amb una bomba peristàtica graduable **(1)**. L'aliment es troba en una ampolla d' 1 litre de capacitat, connectat amb el conducte de l'influent per la part inferior; disposa de un sistema d'agitació magnètica i un escalfador tèrmic **(3)**. Aquest escalfador tèrmic està connectat amb una sonda **(2)** que controla la temperatura de l'aliment, de tal manera que si supera una determinada temperatura (51°C), s'apaga.

L'efluent surt del reactor per nivell, a mesura que entra l'alimentació, cap al baló de vidre o baló d'efluent **(7)**, junt amb el biogàs generat. En aquest dipòsit es separa el líquid del biogàs i aquest últim va al equip de mesura de la producció de biogàs.

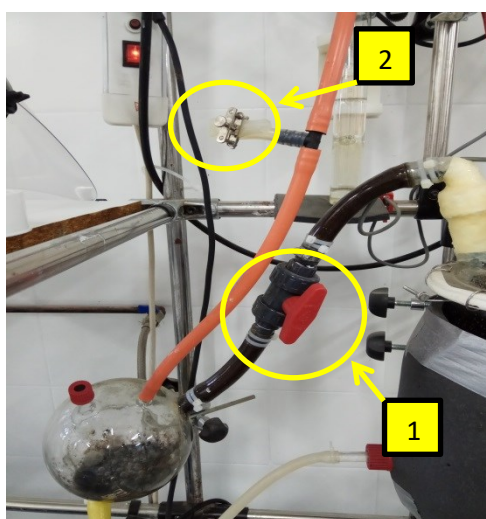


Figura 3.2. Fotografia del baló d'efluent. Components: (1) Vàlvula de connexió reactor-baló. (2) Obertura lateral T.

El baló d'efluent és de 2 L de capacitat amb una obertura inferior per al buidat de l'efluent, mitjançant una vàlvula manual, i una obertura superior que es connecta amb el sistema de mesura del biogàs. També disposa d'una altra obertura a 20° de la superior vertical per si es vol extreure mostra de la fase gas a través d'un septe. Entre el bioreactor i el dipòsit d'efluent existeix

una vàlvula manual que permet aïllar el reactor i impedir l'entrada d'oxigen en el moment del buidat o recollida de l'efluent.

Per buidar el baló, primer cal tancar la vàlvula de connexió reactor-baló d'efluent, i després s'obre l'obertura lateral de la T que hi ha entre el baló i el Mariotte per impedir depressions que afectin al sistema de mesura del biogàs (Figura 3.2). I per últim s'obre la vàlvula inferior del baló d'efluent i es recull aquest en una proveta. Un cop fet tot el buidat es tanca totes les vàlvules: la vàlvula inferior del baló, l'obertura lateral de la T i la que connecta entre baló i efluent del bioreactor.

Dins del bioreactor, per aconseguir una distribució uniforme i no pertorbar la biomassa, s'utilitza un agitador mecànic d'hèlix de manera continua en la funció mínima, a unes 35 rpm aproximadament. Per quantificar la producció de biogàs s'utilitza un comptador volumètric tipus Mariotte **(8)**, aquest és un comptador volumètric de gas humit que consta de dos tubs comunicats per la seva base, que contenen aigua destil·lada en el seu interior. Amb un sensor capacitiu o sensor de nivell, detecta la presència del nivell d'aigua i envia un senyal elèctric al comptador o panell de control, quan el nivell d'aigua arriba al seu punt màxim es reequilibren les pressions i es recupera el nivell inicial, començant un nou cicle.

El muntatge té un panell de control **(9)** on està connectada la bomba d'alimentació, per tal de temporitzar l'encesa de la bomba i per consegüent controlar el volum d'alimentació diari. La temperatura dins el reactor es controla amb una sonda Pt 100 **(6)**, introduïda per un dels orificis de la tapa i connectada també ha aquest panell de control, d'aquesta manera ens mostra la temperatura actual dins del bioreactor. El bioreactor es manté a 55°C mitjançant un circuit de calefacció: es circula aigua calenta per la camisa del reactor després de passar per un bany termostàtic **(4)**.

3.3.3. Manteniment de l'operació

El bioreactor ha estat inoculat amb 1,8 L d'inòcul tamisat, és a dir, el volum d'inòcul tamisat és igual al volum útil del reactor. Per l'enriquiment de la biomassa SAO, es va utilitzar un aliment que es compon per una solució sintètica de glicerol ($C_3H_8O_3$, riquesa 99,5%; proveïdor Scharlau) i gelatina bacteriològica (proveïdor CONDA-PRONADISA), amb una concentració de DQO de 1.428 i 1.239 g O₂/L respectivament.

Varies solucions de macronutrients i micronutrients van ser addicionades (Taula 3.2 i 3.3), per tal de mantenir les condicions adequades per al manteniment dels bacteris SAO. La solució sintètica es prepara en 1 L d'aigua desionitzada on s'afegeix 20 g de glucosa, 20 g de glicerol, 1 mL de cada

solució de macronutrients i 160 µL de micronutrients. Seguidament, tot l'aliment es posa a escalfar en un sistema agitat. Un cop tot preparat, es guarda a la nevera a 4°C.

Taula 3.2. Composició de les solucions de macronutrients.

Macronutrients		Conc. Solució (g/L)
Solució 1	NH ₄ Cl	17,00
Solució 2	K ₂ HPO ₄	3,70
Solució 3	MgSO ₄	0,56
Solució 4	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,80

Taula 3.3. Composició de la solució de micronutrients.

Micronutrients		Conc. Solució (g/L)
Solució 5	FeCl ₂ ·4H ₂ O	2,00
	H ₃ BO ₃	0,05
	ZnSO ₄ ·H ₂ O	0,07
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,04
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,05
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ ·4H ₂ O	0,05
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,05
	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,09
	EDTA	0,50
	HCl 36%	1 mL/L
	Na ₂ SeO ₃	0,07
	Resarzurina	0,50

El bioreactor SAO opera amb un TRH de 36 dies (volum útil de 1,8 L), amb un cabal d'influent de 50 mL/d. Per tal de programar l'entrada d'influent, es calibra la bomba amb la solució sintètica o aliment, tenint en compte els temps d'encesa i apagat del temporitzador. Per tant, es va establir que la bomba alimentava 50 mL una vegada al dia durant 36 segons; un cop finalitzat el funcionament de la bomba, aquesta s'apagava fins a les 24 hores següents, i així repetidament. S'opera amb un temperatura de 55 ± 0,3 °C. El circuit de calefacció es programa amb el bany termostàtic a 1,2 °C per sobre de la temperatura d'operació del bioreactor. Per tant, el bany es programa a 56,2 °C com a límit d'escalfament. També s'ha de fer un control diari de l'aigua per a que es mantingui a un cert nivell, ja que, a l'estar a una temperatura elevada, les pèrdues per escalfament són més notables, i si es perd molta aigua, la temperatura del bioreactor descendeix considerablement.

Per al control del biogàs s'utilitza un comptador volumètric tipus Mariotte (Figura 3.3). Aquest consta de dos tubs comunicats per la part inferior, que contenen aigua destil·lada, 100 mL aproximadament. Amb un sensor capacitiu detecta la presència del nivell d'aigua i envia una

senyal elèctrica al comptador. Per el manteniment correcte d'aquest comptador, cal vigilar l'aigua que amb el temps s'evapora: a mesura que varia el nivell de l'aigua, el calibratge deixa de ser vàlid ja que el volum de gas necessari perquè s'igualin les pressions dels dos tubs connectats varia. Per aquest motiu es calibra amb un valor de 70 mL biogàs/volta cada 3 mesos.

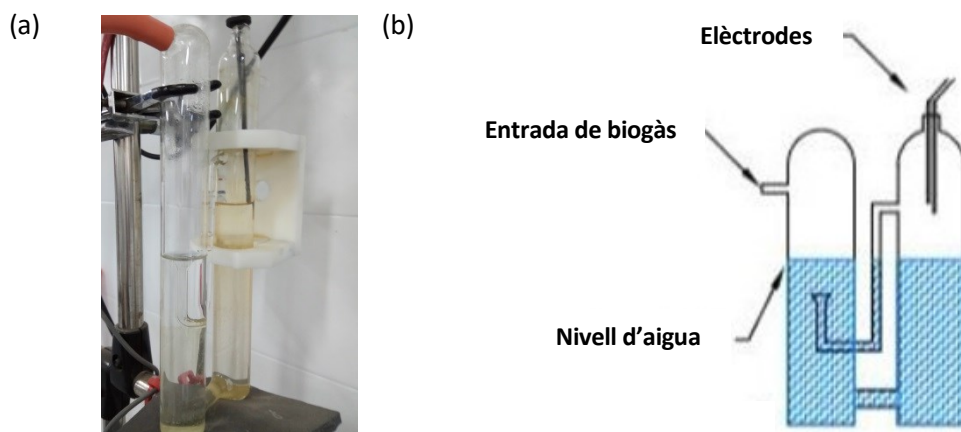


Figura 3.3. (a) Fotografia del Mariotte utilitzat per el control de biogàs. (b) Esquema del Mariotte.

Dins del protocol de manteniment i mostreig, es registra els nivells inicials i finals de l'ampolla d'influent, el volum recollit d'efluent, la data de preparació de l'alimentació, la temperatura, els cicles realitzats per el Mariotte, la temperatura del bioreactor, la toma de mostres i/o incidències en una llibreta de control del bioreactor.

L'influent es caracteritza cada cop que es prepara nou aliment (cada 2 setmanes aproximadament) i comprendrà la determinació de la concentració de ST, SV, NAT i DQO. L'efluent es recollirà un cop a la setmana i la caracterització d'aquest comprendrà ST, SV, NAT, DQO, alcalinitat total i parcial. La composició del biogàs es determina un cop a la setmana.

3.4. Càlculs realitzats

3.4.1. Cabals i temps de retenció hidràulic (TRH).

Tant el cabal d'entrada com el de sortida, per el seu càlcul s'ha anat apuntat els mil·lilitres que tenien en aquell moment de fer la seva valoració. Per el cabal d'entrada (Q_{in}) es valora amb l'ampolla d'alimentació, als laterals té marques on et diu el mil·lilitres que té en aquell moment, com en una proveta. Per valorar el cabal de sortida (Q_{out}), cada vegada que es buida el baló es fa una mesura en proveta del volum que conte. D'aquesta manera i amb els dies transcorreguts per cada valoració, es podent fer una estimació dels cabals amb la qual està operant en aquell

moment, tal com mostra l'equació 3.01. Tot i que l'efluent surt per nivell a mesura que entre l'alimentació, factors com l'evaporació poden fer que trobem diferències. Per això el TRH s'ha calculat amb l'equació 3.02.

$$Q = \frac{V_i - V_f}{t_f - t_i} \quad (3.01)$$

$$\text{TRH} = \frac{V}{\left(\frac{Q_{\text{in}} + Q_{\text{out}}}{2}\right)} \quad (3.02)$$

On:

V_i , volum inicial (L); V_f , volum final (L); V , volum bioreactor (L);

t_f , dia de valoració del volum final (dies); t_i , dia de valoració del volum inicial (dies);

Q , cabal d'entrada o sortida (L/d).

3.4.2. Velocitats de carrega i descarrega orgànica

Per els càlculs de la velocitat de carrega (VCO_{in}) i descarrega orgànica (VCO_{out}) es van fer amb les equacions 3.03 i 3.04, i que s'expressen en kg DQO/m³·d. Es va decidir calcular les carregues i descarregues orgàniques en funció del cabal, degut a que poden tenir moltes fluctuacions en aquests cabals.

$$VCO_{\text{in}} = \frac{DQO_{\text{in}}}{V} \cdot Q_{\text{in}} \quad (3.03)$$

$$VCO_{\text{out}} = \frac{DQO_{\text{out}}}{V} \cdot Q_{\text{out}} \quad (3.04)$$

On:

DQO_{in} , DQO en l'influent (kg DQO/m³); DQO_{out} , DQO en l'efluent (kg DQO/m³);

Q_{in} , cabal d'entrada (m³/d); Q_{out} , cabal de sortida (m³/d); V , volum bioreactor (m³).

3.4.3. Producció de metà

Per la producció de metà s'ha avaluat de dues formes diferents, una de forma directe i l'altre a partir de la degradació de DQO. Per el càlcul de producció de metà de forma directe o experimental ($P_{V_{\text{CH}_4 \text{ exp}}}$), s'ha realitzat a partir dels mil·lilitres de biogàs que produeix diàriament i de la composició de metà. Aquesta producció experimental s'expressa en kg DQO/m³·d i es calcula amb la equació 3.05. El cabal de metà en condicions normals (QN_{CH_4}) s'ha calculat tenint en compte el mil·lilitres produïts de biogàs en un interval de temps determinat, expressat en L N CH₄/d amb la equació 3.06. En canvi per la producció de metà indirecte o teòric ($P_{V_{\text{CH}_4 \text{ teò}}}$), s'ha

tingut en compte la llei de conservació de la massa, on la DQO produïda per el metà és igual a la diferència de DQO entre l'entrada i la sortida, tal com mostra l'equació 3.07.

$$Pv_{CH_4 \text{ exp}} = \frac{QN_{CH_4}}{V} \cdot \frac{10^{-3} \text{ kg DQO}}{0.35 \text{ L N CH}_4} \quad (3.05)$$

$$QN_{CH_4} = \frac{V_{\text{biogàs}}}{t_f - t_i} \cdot \frac{273}{(273 + T^a)} \cdot P \cdot \%_{CH_4 / \text{biogàs}} \quad (3.06)$$

$$Pv_{CH_4 \text{ teo}} = VCO_{\text{in}} - VCO_{\text{out}} \quad (3.07)$$

On:

V, volum útil del reactor (m^3); $V_{\text{biogàs}}$, volum de biogàs mesurat (L); P, pressió (atm); $\%_{CH_4 / \text{biogàs}}$, percentatge de metà en el biogàs; t_f , t_i , dies de valoració de biogàs (dies); VCO_{in} , VCO_{out} , velocitats de carrega i descarrega orgànica ($\text{kg DQO}/m^3 \cdot d$).

3.4.4. Eficiència de degradació

Per la valoració de l'eficiència de degradació es va fer de dues formes, una de forma directa i un altre de indirecta. Per la valoració de forma directa o experimental ($\% \text{ deg}_{\text{exp}}$) es va fer amb l'equació 3.08. En canvi per la degradació de forma indirecta o teòrica ($\% \text{ deg}_{\text{teo}}$) es va usar l'equació 3.09.

$$\% \text{ deg}_{\text{exp}} = \frac{Pv_{CH_4 \text{ exp}}}{VCO_{\text{in}}} \quad (3.08)$$

$$\% \text{ deg}_{\text{teo}} = \frac{Pv_{CH_4 \text{ teo}}}{VCO_{\text{in}}} = \frac{VCO_{\text{in}} - VCO_{\text{out}}}{VCO_{\text{in}}} \quad (3.09)$$

On:

($Pv_{CH_4 \text{ exp}}$), producció de metà de forma directe o experimental ($\text{kg DQO}/m^3 \cdot d$); ($Pv_{CH_4 \text{ teo}}$), producció de metà indirecte o teòric ($\text{kg DQO}/m^3 \cdot d$); VCO_{in} , VCO_{out} , velocitats de carrega i descarrega orgànica ($\text{kg DQO}/m^3 \cdot d$).

4. Recerca bibliogràfica: sistemes d'eliminació biològica de nitrogen NP-anammox

La conceptualització del muntatge experimental es realitzarà d'acord amb una recerca bibliogràfica sobre experiències ja descrites. Tal com ha estat descrit en l'apartat 1.4, el procés anammox necessita nitrit com a acceptor final d'electrons, i aquest nitrit és obtingut mitjançant una nitrificació parcial.

Degut al lent creixement dels bacteris anammox, les tecnologies que s'utilitzen es caracteritzen per tenir una bona capacitat per a la retenció de biomassa. En aquest sentit, les tecnologies disponibles es poden dividir en sistemes de biomassa fixada o de biomassa en suspensió.

Un tipus de biomassa en suspensió és la granular, que generalment succeeix sota certes condicions ambientals. Tot i així, la granulació dels bacteris anammox tendeixen a ocórrer de forma natural. Els grànuls són més fàcils de retenir dins del reactor que les cèl·lules disperses. Es pot utilitzar diferents tipus de bioreactors quan es treballa amb biomassa granular: "*Sequencing Batch Reactor*" (SBR), "*Up-flow Anaerobic Sludge Blanket*" (UASB), "*Expanded Granular Sludge Bed*" (EGSB), bioreactor *gas-lift*, així com reactors que combinen grànuls i biopel·lícules (híbrids). Els paràmetres per controlar la granulació són la salinitat (Dapena Mora et al., 2010), la tensió induïda per la mescla completa, la velocitat del gas o flux ascendent del líquid. La flotació de grànuls degut a la producció de gas és un risc per al rentat de biomassa, i consegüentment, pel deteriorament del procés. La pèrdua de biomassa es pot prevenir mitjançant un apropiat disseny del sistema o la utilització d'una estratègia d'alimentació basada en la presència de substrat limitant.

Com a sistemes de biomassa fixada trobem els biofilms o biopel·lícules, que són una alternativa per evitar el rentat de biomassa. Aquestes biopel·lícules poden ser induïdes utilitzant paràmetres operacionals apropiats i treballant amb llits bacterians. En el cas de reactors amb llit mòbil, existeixen diferents materials i formes:

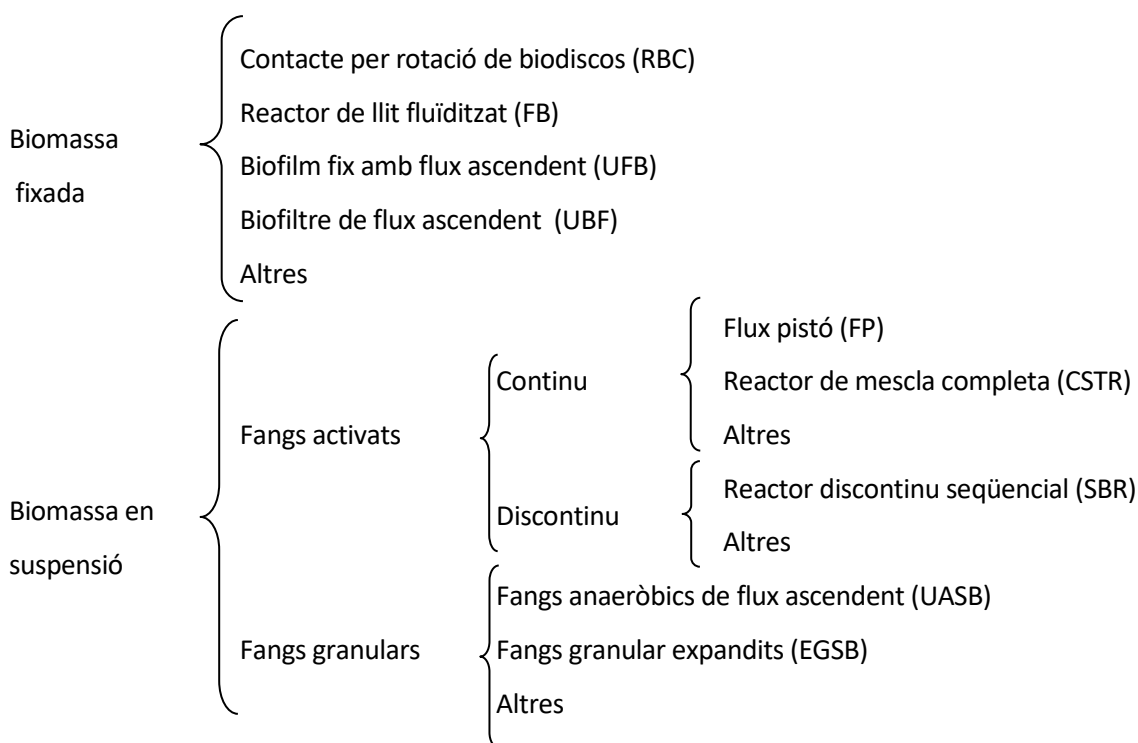
- Partícules naturals: un exemple és la zeolita que pot mesurar de 0,5-1 mm (Fernández et al., 2008).
- Partícules de plàstic: com els anells Kaldness, suports en forma de corda o PVA (polivinil alcohol) (Magrí et al., 2012b).

El llits mòbils permeten completar la mescla del reactor degut al seu moviment intrínsec. En canvi els reactors que utilitzen llits fixos, consisteix en fer passar un flux, ascendent o descendent, per una columna de polièster porós on es faran créixer la nostra població bacteriana. La utilització de polímer sintètics com PVA i PEG (polietilenoglicol) per la retenció de biomassa anammox és avantatjós, ja que permet un disseny tancat, no tòxic, amb una resistència mecànica i una llarga vida útil dels gels.

Com alternativa a les tècniques d'immobilització de biomassa, el rentat de les bactèries anammox es pot prevenir amb una configuració apropiada, a part d'una decantació eficient, l'ús de membranes ha demostrat una estratègia efectiva. Així que bactèries anammox lliures es poden cultivar i retenir en "*Membrane Bioreactor*" (MBR), fent que les bactèries pugin créixer en suspensió. Tot i així, el ràpid creixement, baixos nivells de calci i magnesi, i el baix estrès per la posada en marxa del reactor, son factors clau per obtenir bactèries anammox en suspensió (Van Der Star et al., 2008).

En resum podem dir que els reactors biològics es poden classificar en dos grans grups (Taula 4.1), segons si la biomassa es troba en suspensió (grànuls, floculs o agregats) o be fixats (biofilms), tot i encara que podem trobar una combinació d'ambdues (híbrids).

Taula 4.1. Classificació genèrica dels diferents tipus de bioreactors.



A part del tipus de bioreactor existeixen dues alternatives per poder combinar el procés de nitrificació parcial i anammox. Un és poder fer tot el procés NP-anammox íntegrament en un mateix tanc, i l'altre opció és realitzar el procés NP en un tanc diferent que el procés anammox (Magrí et al., 2013).

4.1. Nitrificació parcial i anammox en un únic reactor

S'utilitzen diferents nom per descriure el procés en sistemes d'1 reactor: "*Oxygen Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification*" (OLAND), "*Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite*" (CANON), "*aeròbic-anòxic DEamMONification*" (DEMON) i "*Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitrification*" (SNAP). Les diferències són que en el procés OLAND i DEMON, els microorganismes nitrificants realitzaven l'oxidació de l'amoni sota certes condicions micròaeròbiques, donant com producte nitrogen gas. En canvi, en el procés CANON i SNAP, s'assumeix que les bacteries anammox són les responsables. Estudis (Helmer et al., 2002) amb l'anàlisi FISH van confirmar que l'oxidació anaeròbica del amoni en tots el reactors eren realitzats per els anammox.

Ja sigui el procés OLAND, CANON, DEMON o SNAP, tots ells integren els processos de nitrificació parcial i anammox en un únic reactor basat en la formació de biopel·lícules o grànul, en condicions microaeròbies, proporcionant als bacteris anammox un entorn on estiguin protegits de l'oxigen, d'aquesta manera poder combinar bacteris AOB i anammox. Els AOB oxiden parcialment l'amoni a nitrit en la capa externa, en condicions d'oxigen limitats i consumint així la quantitat d'oxigen present, i els bacteris anammox converteixen l'amoni a nitrogen gas amb el nitrit com a acceptor d'electrons a la part interna en condicions anaeròbies.

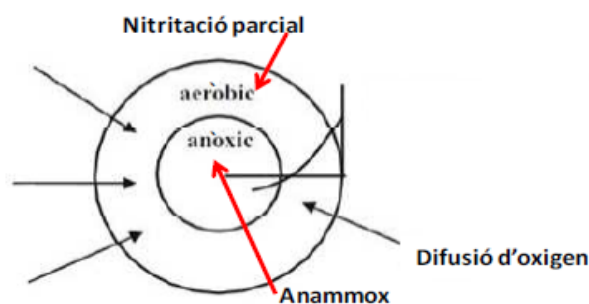
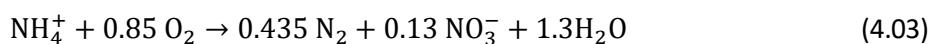
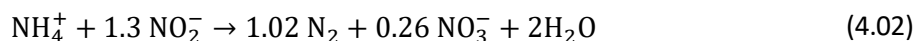
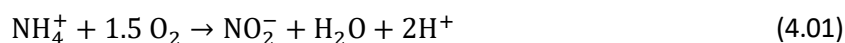


Figura 4.1. Esquema del perfil de la concentració d'oxigen i les etapes que tenen lloc en un grànul (adaptat de Zhu et al., 2008).

La Figura 4.1 mostra un esquema del perfil de la concentració d'oxigen i les etapes que tenen lloc en un grànul. Quan s'utilitzen biopel·lícules i grànuls, la resistència de la transferència de massa sol ser la fase limitant. Mentre a fora de la biopel·lícula la concentració d'amoni sigui més alta que la concentració d'oxigen i nitrit, la difusió d'amoni en el biofilm no limitarà la velocitat del procés. Si el nitrit de la capa externa no es consumeix, l'oxigen serà el principal factor limitant que controla la taxa. Aquesta limitació d'oxigen es pot atribuir a la lenta difusió, cap a la biopel·lícula o grànul, o d'una transferència gas-líquid no eficient. Concentracions altes de nitrit tenen un efecte inhibidor sobre el procés anammox, però si es consumeix a la mateixa velocitat a la qual es produeix, aquest efecte d'inhibició no és significativa (Vázquez-Padín et al., 2009a). El procés resultant, combinació de les equacions 4.01 i 4.02 dona lloc a l'eliminació del nitrogen d'acord amb l'equació 4.03.



En condicions normals d'operació, els bacteris NOB que pugui haver-hi al sistema experimenten una doble limitació per el nitrit i per l'oxigen. Aquests competeixen amb els AOB per l'oxigen i amb els bacteris anammox pel nitrit. En canvi, els AOB i els anammox experimenten una única limitació cadascun: els AOB es troben limitats per el subministrament d'oxigen, mentre que els anammox ho fan pel subministrament de nitrit. Sempre que cada una d'aquestes limitacions dels dos grups de bacteris es puguin evitar (en condicions no limitants d'amoni), el sistema en un reactor pot funcionar eficientment, deixant els NOB sense participar en el procés.

Concretament, s'ha demostrat (Third et al., 2001) que la limitació d'amoni en el sistema, causada per períodes de baixa càrrega de nitrogen en l'influent, provoqui que la quantitat d'amoni sigui insuficient per a consumir tot l'oxigen disponible per part dels AOB. D'aquesta manera, l'oxigen que roman al sistema inhibeix els bacteris anammox, produint una acumulació temporal de nitrit. Així, la presència simultània d'un excés de nitrit i d'oxigen pot provocar l'aparició de bacteris NOB, que oxidaran el nitrit present al sistema a nitrat, podent fer baixar l'eficiència de l'eliminació del nitrogen. L'acumulació de nitrit pot ser molt crític, ja que una acumulació de 80 mg de N-NO₂/L pot desestabilitzar el sistema durant una setmana i causar un posterior dany irreversible. El augment de nitrit en el sistema pot ser causat per molts casos, com un augment de la concentració d'oxigen dissolt o una petita desestabilització del pH.

Cal destacar que la presència de compostos no ionitzades com l'amoni lliure i l'àcid nítrós no provoquen una desestabilització important, però un canvi de temperatura pot alentir el procés. En quant al TRC podem dir que es relativament alt, entre 20 i 30 dies, sent un alt potencial per a l'acumulació de sòlids inerts, poden requerir un tanc de presedimentació.

No està demostrat que l'eficiència global del sistema variï d'un tipus de reactor a un altre, sempre que es pugui controlar la concentració d'oxigen dissolt a una concentració màxima d'aproximadament 1 mg O₂/l, tot i que en alguns casos s'han dut a terme experiments amb un concentració de 0,02 mg O₂/l (Sliekers et al., 2002). D'altra banda, cal remarcar que la majoria d'experiments realitzats s'han portat a terme a una temperatura de treball de 30-35°C, aconseguint així una taxa d'eliminació de nitrogen (NRR) de 0,075-1,5 kg N/m³·dia (Sliekers et al., 2002).

Com podem veure en la Taula 4.2 existeixen diferents tipus de bioreactors que són utilitzats per obtenir les condicions microaeròbies adequades per fer el procés en un reactor. Trobem que una variació del biofilm clàssic és el reactor "*Membrane Aerated Biofilm Reactor*" (MABR), on s'utilitzen sistemes hidrofòbiques amb una membrana permeable als gasos, fent que es transfereixi l'oxigen sense formar bombolles. En la regió a prop de la membrana és ric en oxigen, transformant l'amoni en nitrit, mentre que en la regió ric en amoni, en la fase aquosa, els microorganismes anammox es troben actius. Augusto et al. (2018) van utilitzar aquest tipus de bioreactor (MABR), obtenint una eficiència d'eliminació del nitrogen del 87%, amb un NRR de 0,08 kg N/m³·dia, on la limitació d'aquest tractament està en la transferència d'oxigen d'aquesta membrana. Pynaert et al. (2004) van construir, operar i caracteritzar un sistema "*Rotating Biological Contactor*" (RBC) amb aliment sintètic, amb una concentració d'oxigen fix. Al cap de 100 dies d'inoculació, van aconseguir un NRR de 1,80 kg N/m³·d. Una vegada estabilitzat el sistema RBC, es va provar per tractaments d'aigües d'EDAR deshidratat, obtenint una eficiència del 42 % amb un NRR 4,3 vegades menor, es creu que la causa d'això va ser degut a l'acumulació de NO₂⁻ o per la baixa temperatura d'operació, però tot i així va demostrar que aquest tipus de sistema era capaç de treballar sota condicions de temperatura ambient. Li et al., (2015) van operar en un sistema UASB amb grànuls, obtenint una eficiència d'eliminació del 88% amb un NRR de 0.15 kg N/m³·d. En canvi Figueroa et al. (2012) i Vázquez-Padín et al., (2009c) van preferir operar amb un sistema SBR tractant fangs d'EDAR i purins digerits respectivament, obtenint així eficiències d'eliminació a prop del 80% amb un NRR de 0,45 kg N/m³·d aproximadament.

La posada en marxa dels sistema d'una sola etapa es pot realitzar de dues formes diferents:

- Inoculant biomassa nitrificant: llavors en el bioreactor que operarà el procés anammox, haurà d'establir de manera progressiva condicions aeròbies.
- Operar un reactor nitrificant: que sota condicions limitant d'oxigen, obtenir una relació molar amoni/nitrit desitjada en el sistema i a continuació inocular la biomassa anammox.

4.2. Nitritació parcial i anammox en dos reactors separats

Un sistema basat en dos reactors pot consistir en que el primer reactor sigui per a la nitritació parcial del tipus quimiòstat, és a dir, que el temps de retenció hidràulic (TRH) sigui igual al temps de retenció cel·lular (TRC), com és el cas del bioreactor "Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite" (SHARON). El segon reactor pot ser un reactor flux ascendent per anammox, on TRC són més elevats que els TRH.

El procés SHARON és el procés més usat per a dur a terme l'etapa de nitritació parcial, la qual permet obtenir un efluent idoni per al reactor anammox. En un reactor SHARON la nitritació parcial s'aconsegueix a través del control de la temperatura i d'un TRC apropiat per tal que es produeixi el rentat dels bacteris NOB però no dels AOB ja que el creixement dels primers és molt més lent que els segons a una temperatura de 30-40°C i un pH al voltant de 7 (Volcke, 2006)

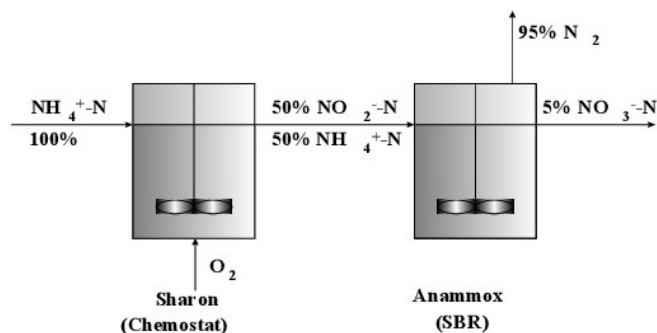


Figura 4.2. Esquema bàsic del procés SHARON-anammox en dos reactors (Jetten et al., 2002).

La Figura 4.2 mostra l'esquema del procés SHARON-anammox, el qual té lloc en dos reactors separats, on aquest cas l'anammox es fa en un SBR. En casos d'afluents amb temperatures baixes, per tal d'aconseguir la nitritació parcial a temperatures per sota dels 25°C aproximadament, és necessari aplicar altres estratègies, com ara la inhibició dels NOB mitjançant les concentracions adequades d'amoniac i d'àcid nítrós o bé operar amb concentracions d'oxigen dissolt molt baixes. Cal destacar que el manteniment d'una temperatura elevada (generalment per sobre dels 30°C)

pot suposar elevats costos energètics i econòmics. No obstant, aquest fet no és considerat un desavantatge en el cas del tractament d'afluent de deshidratació de fangs digerits, en què la temperatura ja és l'adequada per a dur a terme el procés. A més, és important controlar la concentració d'oxigen residual en l'efluent de la nitrificació parcial per tal que no inhibeixi el procés anammox ja que, com ja s'ha explicat, aquest és altament sensible a baixes concentracions d'oxigen. L'acumulació de nitrit no és un problema per la nitrificació parcial, a no ser que un canvi del pH pugui produir un desequilibri augmentant àcid nítric en el medi, produint l'inhibició del procés.

En la Taula 4.3 podem veure un exemple de les tecnologies aplicades per realitzar la nitrificació parcial. Un dels reptes per realitzar un procés NP-anammox en un sistema de 2 reactors, és realitzar un efluent adequat per al segon reactor, és a dir que tingui una relació molar nitrit/amoni de 1,32, que és l'alimentació idoni per el bacteris anammox segons l'estequiometria de Strous et al., [1998]. Els diferents experiments descrits es van provar diferents condicions per tal d'afavorir el creixement dels AOB. De tot ells en resum, se'n poden descriure quatre principis bàsics:

- El funcionament del reactor a baixes concentracions d'oxigen dissolt: $< 0,5 \text{ mg O}_2/\text{L}$.
- El funcionament del reactor a pH alt: 7,5-8,5, augmentant la disponibilitat d'amoni i disminuint la d'àcid nítric.
- Operació del reactor a altes temperatures: $>25^\circ\text{C}$.
- Presència de bicarbonat per delimitar l'oxidació completa de l'amoni abans del seu esgotament (mantenir una relació molar amoni-bicarbonat proper a 1).

En la Taula 4.4 s'observa tecnologies per l'aplicació del procés anammox. Tot i estar en un bioreactor exclusivament per el seu desenvolupament, encara està limitat per els seus llargs períodes de posada en marxa, podem trobar fins a 1 any per la baixa taxa de creixement i el baix rendiment cel·lular d'aquests bacteris, per això és essencial utilitzar bioreactors amb un TRC elevats. Els cultius de microorganismes amb una velocitat específica de creixement lent es basen principalment en la capacitat dels bacteris en formar biofilms, flocs o grànuls (Van der Star et al., 2008). Existeix diferents tipus de bioreactors per l'enriquiment de bacteris anammox: de llit fix (biofilm), llit fluïditzat, UASB, SBR o *gas-lift* (Wyffels, et al., 2004a).

A partir dels estudis descrits, es pot observar que per obtenir una bona taxa d'eliminació del nitrogen es té que tenir una bona disponibilitat de substrats, la qual cosa en afluent reals a tractar (no sintètiques) és limitat. Isaka et al. (2006) va afirmar que l'eficiència de retenció de

biomassa és un factor important en el disseny de bioreactors per el procés anammox, excepte en els bioreactors de biofilm que estarà limitada per el flux del nitrit per dintre d'aquest biofilm.

La concentració de nitrit en la posada en marxa és important per el creixement dels bacteris anammox, ja que una concentració baixa genera una limitació del substrat i per consegüent un creixement més lent, mentre que una concentració alta pot conduir a l'inhibició (tal com hem vist en l'apartat 1.4, la seva acumulació pot causar danys severos entre 70-180 mg N-NO₂/L). La posada en marxa dels bioreactors per el procés anammox es realitza sovint, amb un increment gradual de les concentracions de nitrit en l'influent, fins que s'obté una relació nitrit/amoni d'1, i per tal de garantir un procés estable s'utilitza un excés d'amoni. Atès a que el procés anammox és anaerobi, l'absència d'oxigen és un pas essencial. D'aquesta manera Dapena Mora et al. (2004) van aconseguir, tant en un SBR com en un sistema *gas-lift*, bones eficiències d'eliminació de nitrogen, destacant una millor eficiència i un millor NRR en el sistema *gas-lift*. Una alternativa per la retenció de biomassa podria ser l'ús de bioreactors de membrana (MBR), que a diferencia dels reactors de biomassa granular, permet una retenció de biomassa sense una selecció sobre la capacitat de sedimentació. Trigo et al. (2006) va combinar el sistema SBR amb una membrana (MBR), aconseguint un elevat percentatge d'eliminació del nitrogen al voltant del 73,6 %. Qiao et al. (2010) va aconseguir operar amb un reactor tipus CSTR, obtenint així una eficiència d'eliminació del 77% amb un NRR de 2,6 kg N/m³·d, on la clau va ser obtenir una nitrificació parcial ideal i estable. En canvi Tsushima et al. (2007), a traves d'un sistema "*Up-flow BioFilter*" (UFB) van arribar a un NRR de 26 kg N/m³·d amb una eficiència del 64%, aquesta taxa d'eliminació tan altes es va atribuir a l'alta densitat de les bactèries anammox, al voltant de 16 g SSV/L, més del 70% de la població bacteriana era anammox, així com també l'alta taxa de carga de nitrogen (NLR).



Taula 4.2. Descripció general de les tecnologies NP-anammox en sistemes d'un reactor.

Tipus de reactor	Tipus d'influent	Inòcul	Condicions d'operació						NRR [kg N/m ³ ·d]	Nitrogen eliminat [%]	Referencia
			Volum [L]	TRH [d]	TRC [d]	OD [mg O ₂ /L]	pH	Temperatura [°C]			
EGSB	Sintètic	Biofilm mòbils	1	9	-	0,6	-	25	0,33-0,49	42-62	[Chini et al., 2016]
RBC	Sintètic	Biofilm-RBC	50	1	-	0,3	7,85	30	1,80	88	[Pynaert et al., 2004]
	Fangs d'EDAR deshidratat		50	1	-	1	7,85	14	0,42	42	
SBR	Fangs d'EDAR digerits	Grànuls	1,5	0,5	30-110	0,5	7,5-7,9	21	0,5	78	[Vázquez-Padín et al., 2009a]
UASB	Sintètic	Grànuls	5	1.5	-	0,5	7-8	35	0,15	88	[Li et al., 2015]
MABR	Fangs d'EDAR digerits	Fangs activats	3.2	1	-	0,4-0,5	-	31,3	0,08	84	[Augusto et al., 2018]
SBR	Fangs d'EDAR digerits	Fang granular nitrificant	1,5	-		0,5		18-24	0,45	85	[Vázquez-Padín et al., 2009c]
SBR	Purins digerits	Grànuls	1.5	0.5	15-40	0,2-0.4	7.7	18-24	0,46	75	[Figueroa et al., 2012]

Taula 4.3. Descripció general de les tecnologies per al procés de nitrificació parcial.

Tipus de reactor	Tipus d'influent	Inòcul	Condicions d'operació						NLR [kg N/ m ³ · d]	Relació NO ₂ ⁻ : NH ₄ ⁺	Referencia
			Volum [L]	TRH [d]	TRC [d]	OD [mg/L]	pH	Temperatura [°C]			
CSTR	Sobrenedant de fangs deshidratat	Fangs actius	7	3,5	1,05-1,18	3,5	7.6-7,8	35	0,35	1	[Claros et al., 2012]
	Sintètic	Fangs actius	2	1,54	1-1,5	-	7,1	35	1,5	1	[Van Hulle et al., 2005]
	Efluent digerit d' indústria de peix	Fangs actius	3,2	1	1	2	7,5	35	0,1	1	[Mosquera et al., 2005]
SBR	Lixiviats d'abocador	Fangs actius	20	1,5	3-7	2	6,8-7,1	36	1,5	0,6-1,5	[Ganigue et al., 2007]
UFB	Pre-filtrat de purins	Biofilm	11	Variant	-	0,8-2,3	8,4	30	0,27-1,2	1,17	[Liang et al., 2008]
MBR	Digerit d'EDAR	Fangs activitat	1,5	0,58-1	Variant	<0,2	7,9	30	1,13	1,13	[Wyffels et al., 2004b]



Taula 4.4. Descripció general de les tecnologies per el procés anammox.

Tipus de reactor	Tipus d'influent	Inòcul	Condicions d'operació					NRR [kg N/ m ³ ·d]	N eliminat [%]	Referencia
			Volum [L]	TRH [d]	TRC [d]	pH	Temperatura [°C]			
SBR	Sobrenedant de fang digerit	Fangs activitats	1	1	-	7,5	19-21	0,08	69	[Vázquez-Padín et al., 2009b]
	Sintètic	Grànuls	1	0,625	-	7,8-8	35	0,7	78	[Dapena-Mora et al., 2004]
	Efluent d'una indústria de peix	Fang activat	3	1.8	-	7,5-8,2	35	0,3	40-80	[Vázquez-Padín et al., 2009a]
<i>Gas-lift</i>	Sintètic	Granuls	10	1	-	7,9-8,1	30	2	88	[Dapena-Mora et al., 2004]
MBR	Sintètic	Grànuls	5	1	-	8	35	0,71	73,6	[Trigo et al., 2006]
CSTR	Líquid digerit d'una licorera	Grànuls	0,73	0,2	-	7,5	30	2,6	77	[Qiao et al., 2010]
UFB	Fang d'EDAR	Fang activat	0,8	0,01-0,03	-	7-7,5	37	26	64	[Tsushima et al., 2007]
UASB	Purins	Grànuls	1	5	-	8,2-8,5	35	0,59	82	[Ahn et al., 2004]

4.3. Comparació de sistemes amb un i dos reactors

El principal avantatge del procés en un reactor respecte el de dos reactors és que la conversió de l'amoni a nitrogen gas es realitza amb la mínima aeració ($<0,5 \text{ mg O}_2/\text{L}$), disminuint així els requeriments d'espai i energia. En aquest cas, no és necessària l'addició de nitrit en el sistema d'un reactor, sinó que el sistema pot ser alimentat directament amb les aigües residuals riques en amoni. En canvi, les principals limitacions del sistema es deuen a la relació estable que existeix entre els dos grups de bacteris que hi intervenen, és a dir, els AOB i els bacteris anammox. Si aquest balanç és pertorbat per certes condicions com ara l'aparició d'altres grups de bacteris com els NOB, l'eficiència en l'eliminació del nitrogen pot disminuir considerablement (Sliemers et al., 2002). En tot cas existeixen poques pautes de disseny per qualsevol sistema.

El sistema en un reactor pot requerir més quantitat d'inòcul per la posada en marxa i un temps més llarg de recuperació després d'una desestabilització del sistema, ja que la taxa de generació de biomassa és menor que un sistema de dos reactors (Jaroszynski i Oleszkiewicz, 2011). El procés en un reactor pot utilitzar el pH com paràmetre control clau per la aeració, al ser un indicador simple i fiable del grau de producció de nitrit. Ja que el control d'oxigen dissolt és un punt crític per aquest sistema, una sobre-aeració pot provocar una nitrificació completa, o també pot provocar un augment de la taxa de nitrificació parcial i l'oxigen dissolt, que per consegüent una falla del sistema per toxicitat d'aquest dos fenòmens. El procés en un reactor té cert problemes amb la nitrificació estable.

En canvi, en el sistema de dos reactors, el procés SHARON només requereix un sistema de disseny TRH/TRC adequat amb una aeració fixa. El microorganismes anammox requereixen de nitrit, i la tecnologia SHARON proporciona una nitrificació parcial fiable. Després el procés anammox rep aquest efluent, on la configuració d'aquest sistema es basarà en elevats TRC.

Taula 4.5. Comparació dels sistemes operacionals (adaptat de Jaroszynski i Oleszkiewicz, 2011).

Paràmetre	Sistema d'un reactor	Sistema de dos reactors
Potencial de toxicitat de l'amoni lliure	Baix	Alt
Potencial de toxicitat de l'àcid nítrós	Baix	Alt
Potencial de formació dels NOB	Alt	Moderat
Sensibilitat al pH	Alt	Moderat
Sensibilitat a la temperatura	Alt	Moderat
Capacitat per regenerar la biomassa	Mitjà	Alt
Complexitat de la composició de la biomassa	Alt	Baix
Complexitat de la configuració	Baix	Moderat
Complexitat de la operació	Mitjà	Baix



En la Taula 4.5 es mostra una comparació dels dos sistemes de la vulnerabilitat de les condicions operacionals. Els dissenys d'un i dos reactors, mostren que la configuració en un reactor és més compacta, mentre que la configuració en dos reactors és més complexa, ambdues sistemes mostren avantatges i desavantatges un respecte l'altre. Els sistemes en dos etapes tenen un alt potencial de recuperació després de possible pertorbacions, però amb un disseny més estricte a complir. El sistema en un reactor és probablement la millor opció per altes carregues, inestables e incertes, ja que es té més flexibilitat durant l'oxidació de l'amoni i la reacció anammox. Però s'ha d'implementar un sistema de control de procés avançat per proporcionar aeració intermitent.

5. Resultats

5.1. Anàlisi i proposta de configuració per al procés combinat NP-anammox i per al reactor anammox secundari

El sistema de dos reactors, degut a les altes concentracions de nitrogen, pot assolir condicions d'instabilitat més fàcilment, però la seva capacitat de recuperació és més ràpida. Aquest sistema té un potencial més elevat per a l'optimització i la intensificació del procés, ja que pot proporcionar condicions òptimes per a cadascun dels dos processos de forma independent.

El sistema d'un reactor és de configuració simple, però està limitat per una interacció complexa entre AOB, NOB i els bacteris anammox, per això requereix un control més precís de l'oxigen i pH. En canvi, el sistema de dos reactors té una configuració més complexa que pot permetre un sistema d'operació més senzill, que porti a una millor eficiència i fiabilitat.

Quant a les eficiències d'eliminació del nitrogen, sembla ser que els processos en un sol reactor donen millor resultat, la càrrega de nitrogen capaç de suportar és semblant a la dels sistemes de dos reactors, tot i que tendeix a la instabilitat a l'hora de fer la posada en marxa. Cal tenir en compte que a l'hora d'utilitzar els sistemes d'un sol reactor cal tenir més cura amb els paràmetres de control, ja que un petit desajust podria comportar des de la mort dels bacteris anammox a l'aparició de bactèries NOB o/i desnitrificants heteròtrofs. Per tant, un element clau a l'hora de l'aplicació exitosa del sistema serà tenir un control en línia per tal de corregir qualsevol desequilibri entre poblacions AOB i anammox, així com detectar la més mínima pertorbació. Tot i així, sembla ser que el avantatge en quant a la complexitat de la configuració fa que els costos d'inversió siguin menors. A l'IRTA es va fer una comparativa dels costos d'experimentació en un i en dos reactors, i la conclusió va ser que era millor treballar amb només un reactor, ja que en dos reactors implicava més paràmetres de control, i per tant, més despeses.

En quan a la tecnologia del sistema, sembla ser que els reactors de tipus CSTR no són els més indicats, doncs les baixes taxes de creixement exigeixen TRC molt elevats. Per aquest tipus de reactors, doncs, caldrien volums molt grans. També, donat que volem enriquir bacteris anammox en forma granular, el sistema d'agitació mecànica els podria perjudicar. Basant-nos principalment en el criteri del TRC, els sistemes més adients són els reactors de flux pistó o SBR. Des d'un punt de vista tècnic, el reactor de flux pistó és més senzill en comparació a altres com els SBR. Des d'un punt de vista teòric, el flux pistó també aportaria un gradient de consum de l'oxigen, fent que a l'entrada la concentració d'oxigen dissolt fos l'adequada per a fer créixer els AOB i a mesura que el

flux avança aconseguir condicions anòxiques, idònies per a fer créixer la biomassa anammox. Ara bé, degut a que caldria introduir oxigen dins el reactor, provocaríem certa turbulència dins el reactor de flux pistó i que aquest tendís a comportar-se com un CSTR, creant un sistema sense diferencia de gradients, és a dir, un sistema amb concentracions homogènies (llavors, aquest bioreactor seria de tipus *gas-lift*). Cal dir que, de la teoria a la pràctica, els reactors flux pistó no sempre es comporten de forma ideal, i en aquest sentit, és difícil aconseguir un gradient de concentracions d'oxigen.

Llavors, entre totes les configuracions possibles, els SBR són els més acceptats per un TRC eficient, una bona homogeneïtat dins el bioreactor, la fiabilitat durant un llarg període en funcionament, l'estabilitat sota condicions límits de substrat i per les altes taxes d'oxidació d'amoni que es poden aconseguir. Amb els SBR s'ha reportat una retenció de la biomassa del 90%, 1,4 vegades més gran que en un bioreactor de llit fluiditzat. S'ha provat el procés anammox sobre bioreactors de biopel·lícula i de llit fluiditzat (amb partícules de vidre i sorra), però tot i així no va poder evitar la pèrdua de biomassa flotant atrapades en les bombolles de gas. Dapena-Mora (2007) va afirmar que l'agitació mecànica en un reactor tipus SBR podria ser més eficaç per tal d'eliminar el gas atrapat en els grànuls, en comparació amb un reactor *gas-lift*.

Tot indica doncs que, en els sistemes d'un sol reactor per a realitzar el procés NP-anammox, per tal de garantir elevats temps de retenció cel·lular, és millor utilitzar la tecnologia SBR. En canvi, per mantenir l'inòcul anammox, és millor un reactor tipus UASB *gas-lift*, per la seva simplicitat i degut a què només necessitem les condicions necessàries per mantenir un tipus de biomassa (bacteris anammox en forma de grànul).

5.2. Disseny reactor anammox secundari

En aquest apartat es pretén descriure els principals elements del muntatge i es donaran algunes recomanacions per el manteniment de la biomassa anammox, així com exposar l'origen de la biomassa anammox amb la qual s'utilitzarà en el projecte PIONER.

5.2.1. Inòcul

Està previst que l'inòcul anammox provingui d'un bioreactor d'Eliminació Autotròfica del Nitrogen (ELAN)¹, després d'una etapa d'espessament. Aquest reactor està situat a l'estació depuradora d'aigües residuals urbanes de Guillarei (Tui, Vigo) (Morales et al., 2015). El bioreactor és del tipus seqüencial (SBR) amb biomassa granular, similar al descrit per Vázquez-Padín et al. (2014). El TRH del reactor oscil·la entre 0,8 i 1,5 dies, i és operat a una temperatura de 18-25 °C. No està previst cap tipus de condicionament del fang, que és granular i ja està espessit.

5.2.2. Descripció del muntatge

La Figura 5.1 mostra un esquema del reactor per preservar l'inocul anammox. Es tracta d'un bioreactor de tipus *gas-lift*, agitat pneumàticament (Guieysse et al., 2011). El seu disseny s'ha basat en un altre reactor tipus flux pistó (UASB; veure annex D)² i té un volum útil de 2 L. En total el bioreactor constarà de 4 peces principals: tapa superior **(1)**, tapa inferior **(2)**, el cos o tub cilíndric de vidre de 50 cm d'altura, amb dos diàmetres interns diferents (en la part inferior serà de 8 cm) **(3)**, i un tub de ventilació **(4)**, per on circularà el nitrogen gas junt amb l'influent. Amb aquest disseny aconseguim retenir lo màxim possible la sortida de grànuls en l'efluent i així aconseguir TRCs superiors als TRHs.

El tub de ventilació pretén aconseguir una distribució uniforme dels grànuls dins del bioreactor, aconseguint un regim de turbulència tal que permeti circular grànuls tant per dins d'aquest com pels laterals. Per això, es va decidir que tingués un diàmetre interior d'1,3 cm i una altura de 30,5 cm, on la part inferior serà d'uns 8 cm d'amplada i 0,30 cm de gruix. Per fer encaixar amb els cos del bioreactor i tenir subjecció, tindrà dos anells de suport fets de metacrilat **(8)**, amb juntes de silicona antilliscants per estabilitzar el tub de ventilació. Per la part inferior, es connectarà al sistema d'injecció de nitrogen gas (ampolla de gas sintètic amb manòmetre i cabalímetre).

Aquest bioreactor consta d'un circuit de recirculació d'aigua que passa per la doble camisa del reactor. La temperatura d'aquesta aigua està controlada per un bany termostàtic **(5)**, per tal de mantenir la temperatura a 28°C.

¹ El reactor ELAN està registrat como propietat de la empresa FCC Aqualia (<http://www.aqualia.com>).

² A data 10/07/2018, encara s'estan fabricant les peces de vidre.

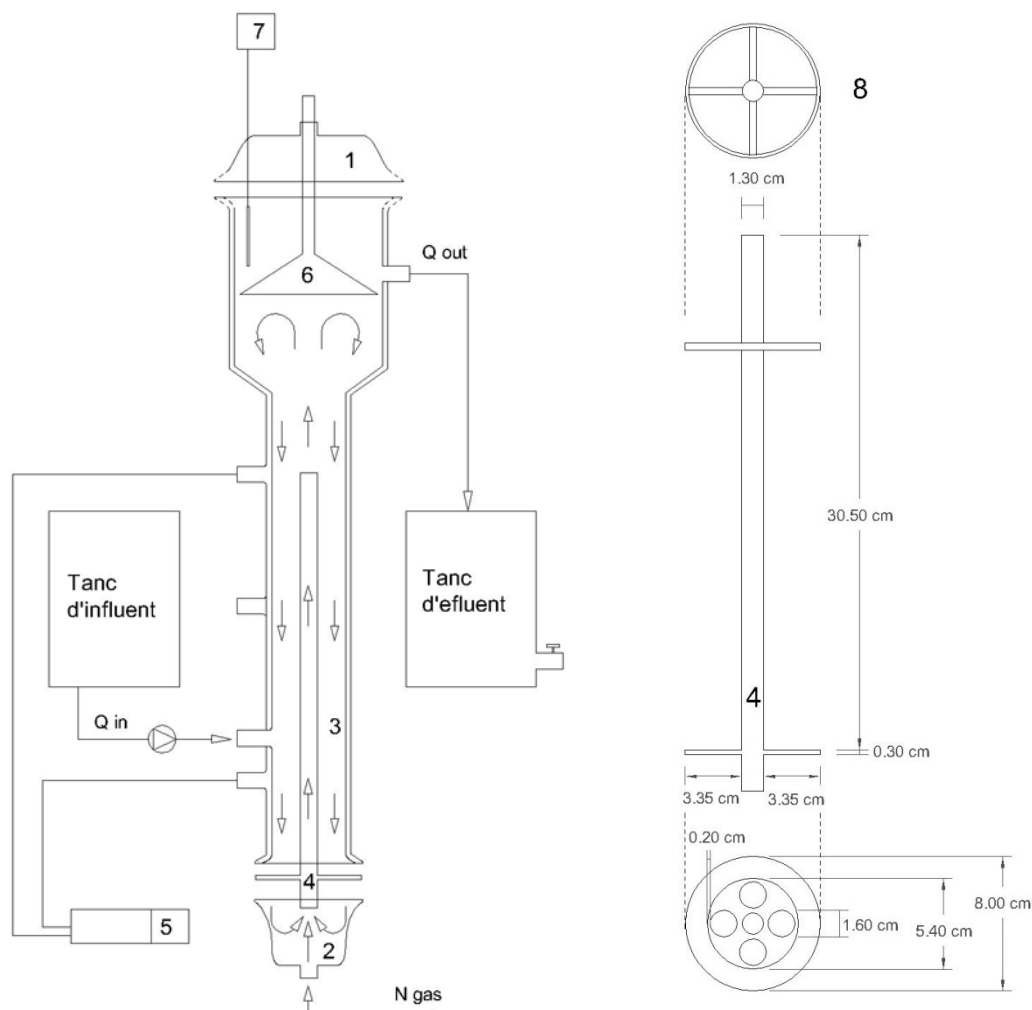


Figura 5.1. Bioreactor *gas-lift* i detall del tub de ventilació. Components: (1) Tapa superior. (2) Tapa inferior. (3) Cos del bioreactor. (4) Tub de ventilació. (5) Bany termostàtic. (6) Campana de separació de fases (sòlid/ líquid). (7) Sensor de temperatura. (8) Anell de suport del tub de ventilació.

L'influent entra per la part inferior i l'efluent surt per la part superior. L'alimentació serà bombejada per una bomba peristàtica graduable; d'aquesta manera la velocitat ascensional estarà condicionada per el cabal d'entrada de l'aliment i de la inserció de nitrogen gas. A mesura que entra l'influent, sortirà l'efluent per sobreiximent. Una mica per sota de la sortida d'efluent es posarà una campana (6) per evitar al màxim les pèrdues de grànuls.

L'alimentació i l'efluent es disposaran en bidons de 25 L, tancats i segellats per evitar l'entrada d'oxigen. També es desposarà d'una sonda de temperatura (7) que es ficarà per un dels orificis superiors del reactor, per tal de tenir una lectura de la temperatura actual del bioreactor.

5.2.3. Manteniment de l'operació

Per el manteniment i/o l'enriquiment de biomassa anammox en el reactor *gas-lift*, s'utilitzarà un substrat sintètic (Taulas 5.1 i 5.2). Els compostos nitrogenats, l'amoni i el nitrit, seran adicionats en forma de sals sobre una solució mare.

Taula 5.1. Composició del substrat sintètic mare.

Químics	Conc. Solució (mg/L)
KHCO ₃	1000
KH ₂ PO ₄	27
FeSO ₄ - 7H ₂ O	9
EDTA	5
MgSO ₄ - 7H ₂ O	240
CaCl ₂ - 2H ₂ O	143
Elements traça*	0,3

*Composició d'elements traça en l'annex F.

Taula 5.2. Composició dels compostos nitrogenats adicionats a la solució mare.

Químics	Conc. Solució (mg/L)
NH ₄ Cl	573.1
NaNO ₂	739.2

Una vegada preparat l'aliment, cal posar-lo en el bidó d'influent, injectar nitrogen gas i tancar hermèticament. D'aquesta manera s'aconsegueix expulsar l'oxigen i evitar l'entrada d'aire de l'exterior. El TRH que es vol aconseguir són 2 dies aproximadament. Per tant, per un volum de 2 L necessitariem un cabal d'alimentació d'1 L/d.

L'efluent, tant la part líquida com la part gasosa, s'anirà acumulant en un altre bidó que també estarà tancat hermèticament. D'aquesta manera, en cas que s'escapessin grànuls del reactor no es veurien pertorbats en excés (aquests grànuls són molt sensibles a la presència d'oxigen). En cas que s'escapessin molt grànuls, es faria una recirculació d'aquests de forma manual, i es tornaria a barrejar junt amb el bidó d'influent.

La presa de mostra d'efluent es farà per una obertura lateral. Per a fer aquest mostreig primer és tancaran les vàlvules corresponents per tal d'impedir depressions que afectin al sistema, i es recollirà l'efluent en un tub de mostreig. Un cop fet, es tancaran totes les vàlvules que s'hagin obert.

El cabal d'injecció de nitrogen gas estarà dins de l'interval 0,005-0,5 L/s, per causar una velocitat ascensional de 0,01-1,00 m/s, i mantenir així la circulació dels microorganismes.

La temperatura d'operació és de $28 \pm 0,3$ °C, i com en el cas anterior del bioreactor SAO, el circuit de calefacció es programa de la mateixa manera en el bany termostàtic.

Dins del protocol de manteniment i mostreig, es registraran els nivells inicials i finals del bidó d'influent, el volum recollit d'efluent, la data de preparació de l'alimentació, la temperatura, la temperatura del bioreactor, la presa de mostres i/o incidències en una llibreta de control del bioreactor. Com a protocol de mostreig, es farà una caracterització de l'influent cada cop que es prepari una nova partida, incloent el pH i rati nítrid/amoni. Per a l'efluent, la caracterització comprendrà els sòlids suspesos totals i volàtils (SST, SSV), el pH i concentració d'amoni, nítrid i nítrat. Cal remarcar que en aquest tipus de bioreactor cal controlar les concentracions de nítrat diàriament. Amb aquest propòsit, la utilització d'unes tires reactives que indiquin la concentració aproximada de nítrat és la fórmula més adient, ja que, per a aquest cas, si per exemple el màxim que es pretén eliminar són 150 mg de N-NH_4^+ /L, el màxim que podem admetre de nítrat és d'uns 30 mg N-NO_3^- /L. Concentracions més elevades poden ser indicadors de la presència de microorganismes NOB, que entrarien en competència pel substrat.

5.3. Posada en marxa del digestor anaerobi termòfil

En aquest capítol es pretén fer un anàlisi dels resultats de la posada en marxa del digestor per a l'enriquiment dels organismes SAO termòfils i la producció de biogàs.

Taula 5.3. Paràmetres d'operació del reactor SAO.

Paràmetre	Control	Rang
Cabal influent	Bomba peristàtica	0,05 L/d
TRH	Bomba peristàtica	36 d
Temperatura	Sonda Pt 100	55 ± 1 °C
Mescla influent	Agitador mecànic	35 rpm
pH reactor	pH-metre	7,5-8,0
Amoni influent	Tècniques per destil·lació	$>0,7$ g N-NH_4^+ /L

A més, l'objectiu d'aquesta etapa també és eliminar la màxima quantitat de matèria orgànica biodegradable per tal d'evitar el posterior creixement dels organismes heteròtrofs en l'etapa NP-anammox, tal com s'ha explicat anteriorment en l'apartat 1.6. Així doncs, es pretén enriquir els bacteris SAO, i s'avaluaran els resultats obtinguts per tal de poder prevenir qualsevol

problemàtica que pogués sorgir al llarg d'aquest procés. La posada en marxa va començar el dia 26 de Març del 2018, i la valoració d'aquesta va ser fins el 15 de Maig del mateix any.

L'inòcul utilitzat són fangs activats d'una planta de tractament de residus urbans. El bioreactor és del tipus CSTR, on s'ha inoculat 1,8 L de fangs, que és la capacitat màxima de volum útil. Els paràmetres operacionals es mostren a la Taula 5.3.

5.3.1. Avaluació dels cabals i del TRH

La valoració es va fer al llarg dels 80 dies, on els volums d'alimentació s'avaluaven entre 3 i 4 cops per setmana, i els de sortida una vegada per setmana, obtenint els gràfics de la Figura 5.2.

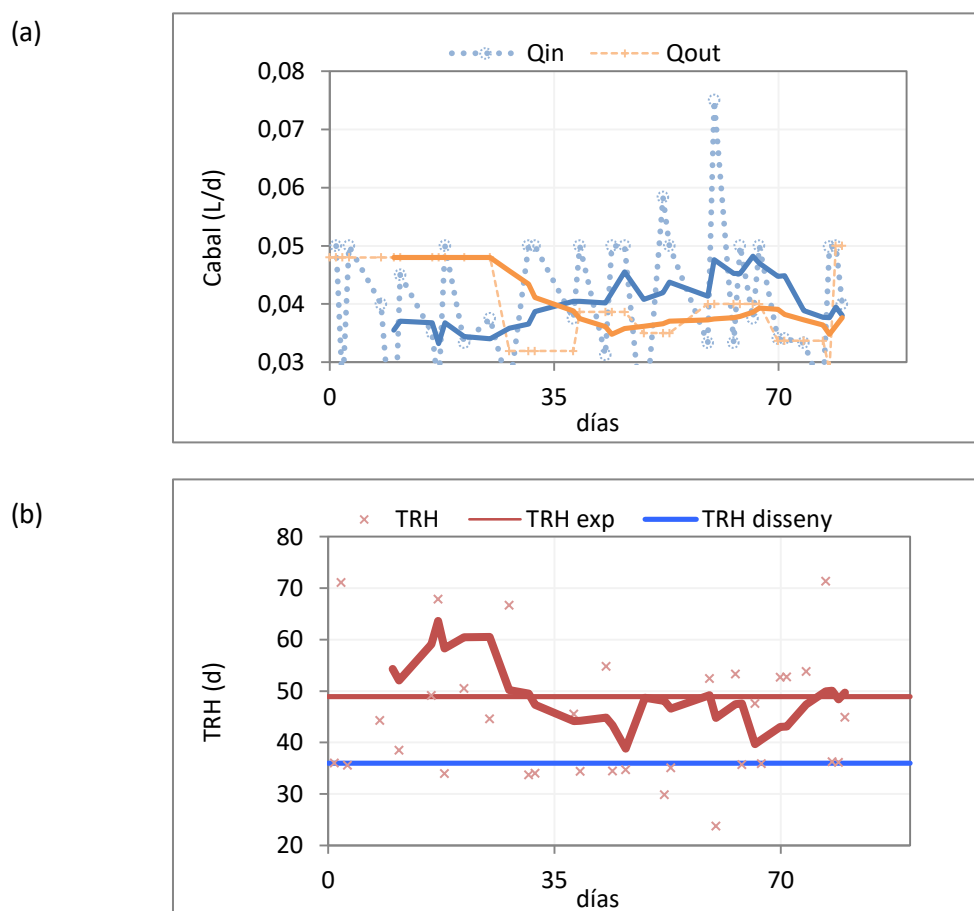


Figura 5.2. Evolució dels cabals i del temps de retenció. (a) Cabal de influent (blau) i efluent (taronja). (b) Temps de retenció hidràulic (TRH) experimental i de disseny ³.

³ Les línies gruixudes representen el valor mitjana setmanal (7 dies).

En la Figura 5.2(a) s'observa bastant dispersió en els cabals d'entrada (Q_{in}) i sortida (Q_{out}), no sembla que tinguin cabals constants, com a mínim en l'alimentació esperaríem que sigues més uniform ja que és la que controlem. Aquest comportament podria ser explicat degut a l'evaporació, ja que l'influent buscat és molt petit i la temperatura de treball és elevat, a prop dels 55°C , fent que l'efecte de l'evaporació sigui més notable per aquest tipus d'operació, i per consegüent el volum anotat en aquell moments sigui el bombeig d'aliment més lo que s'evapora. Altre factor que pot influir ha aquest comportament és que a l'hora d'anotar els volum d'entrada, la bomba peristàltica encara no hagi fet el seu bombeig degut a un desfasament que hi ha en el temporitzador, és a dir que no alimenta cada 24 hores sinó que alimenta cada 25 hores, causat per una mala precisió del temporitzador. Aquest efecte fa que quan anotem el volum d'alimentació a una hora determinada, ens puguem deixar un bombeig d'alimentació i per consegüent a l'anotar un altre dia el volum que porta l'aliment a un altre hora ens portem un bombeig d'error, donant un fals cabal diari i un desfasament considerable. Un altre explicació seria simplement un mal calibratge o un fallo de la bomba peristàltica. Així que per descartar alguna d'aquestes possibilitats es va avaluar les concentracions de DQO de l'alimentació al llarg de 4 dies, on si l'efecte de l'evaporació és notable les concentracions de DQO augmentaria durant aquest període.

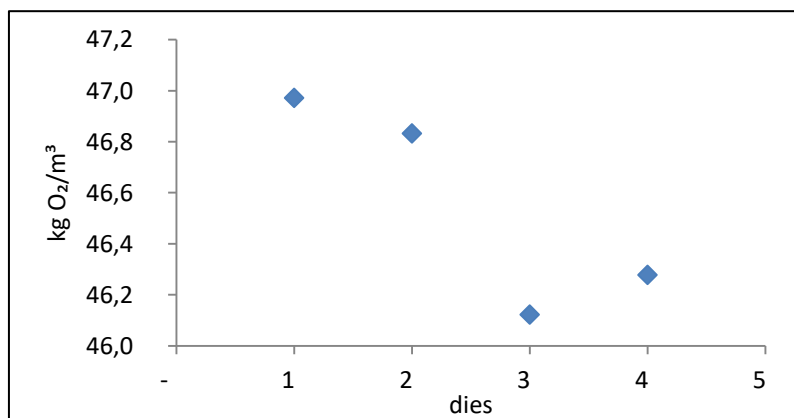


Figura 5.3. Evolució de la DQO en l'alimentació.

En la Figura 5.3 s'observa un decreixement de la DQO, tot lo contrari a lo esperat, això vol dir que l'efecte de l'evaporació queda descartada i donant per vàlid que l'efecte de cabals tan dispers en l'influent es causat per un desfasament considerable del temporitzador o per un mal calibratge. Per accions futures caldria tenir més cura del calibratge de la bomba, del desfasament del temporitzador o tenir una millor equip de bombeig que assegurí un cabal constant, ja que la

bomba peristàltica utilitzada és una mica antiga i no sembla que faci una bona alimentació. Altre consideració a tenir en compte és que a l'hora d'anotar el volum d'alimentació, assegurant-nos que ha fet els bombeigs que pertoca, ja que si anotem el volum que porta l'alimentació a hores diferents pot influir en la valoració del cabal.

En quant al temps de retenció hidràulic (TRH), a pesar de tenir cabals d'entrada i sortida tant dispersos, sembla ser constant i seguir una línia de tendència uniform, tal com s'observa en la Figura 5.2(b). Com a mitja del TRH s'ha obtingut 49 dies amb una desviació estàndard de 22 dies, 13 dies per sobre de lo desitjat (36 dies), però degut a les fluctuacions dels cabals d'entrada i sortida fa que tinguem desviacions considerables. Tot i així el resultat no és dolent, ja que al tenir una mitja de TRH més gran de lo esperat deixa temps extra per poder desenvolupar més biomassa SAO, el problema el tindríem si fos menor, podent provocar un rentat de la biomassa.

5.3.2. Avaluació de l'eficiència de degradació de la DQO

Els valors mitjans de velocitats carrega (VCOin) i descarrega orgànica (VCOout) són $1,75 \pm 0,04$ i $0,34 \pm 0,22$ kg DQO/m³·d respectivament. Observem en la Figura 5.4 que la velocitat de descarrega orgànica comença a disminuir a prop dels 30 dies, quan compleix aproximadament un TRH. Això és senyal de que els bacteris SAO ja passen la fase d'adaptació i comencen a degradar la matèria orgànica de l'aliment amb més eficiència.

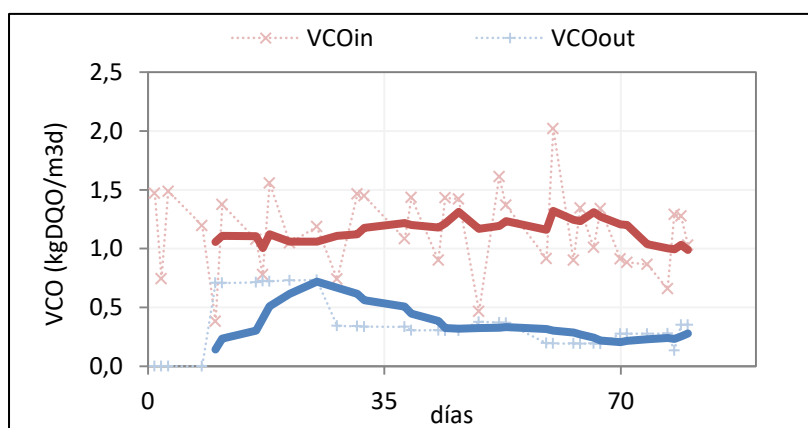


Figura 5.4. Evolució de la carga i descarrega orgànica ⁴.

⁴ Les línies gruixudes representen el valor mitjana setmanal (7 dies).

Un cop tenim les valoracions de VCOin i VCO out es pot calcular les eficiències de degradació, d'aquesta manera obtenim la Figura 5.5. Els valors mitjans de l'eficiència de degradació experimental i teòrica són $59\pm 36\%$ i $63\pm 24\%$ respectivament. Observem que l'eficiència de degradació avaluada de forma experimental trobem punts superiors al 100%. Aquest comportament pot ser explicat degut a que trobem moltes fluctuacions en el cabal d'entrada, i per raons que hem explicat anteriorment, fa que no sigui del tot correcte, trobant diferències bastant destacables entre degradació experimental i teòrica.

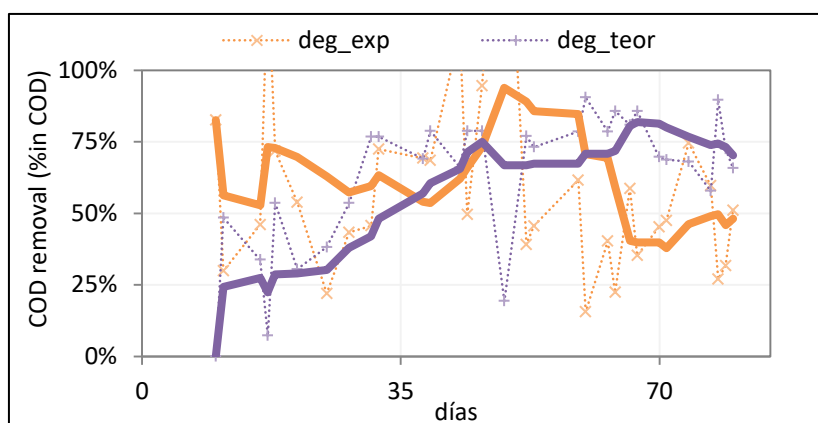


Figura 5.5. Evolució de la degradació de matèria orgànica teòrica i experimental ⁵.

La representació de degradació teòrica sembla que sigui més correcte, ja que els punts representatius estan més a prop de la línia de tendència. La seva eficiència augmenta fins als primers 50 dies i després es manté constant. En aquest cas és podria dir que les velocitats de carrega i descarrega orgànica, al ser calculat en funció del cabal fa que l'error sigui menys notable, ja que quan més cabal entra més carrega orgànica tenim. Si observem els seus coeficients de variació (CV), la valoració feta de forma experimental s'obté un CV del 59,9 %, en canvi per la valoració feta de forma teòrica obtenim un CV del 37,7%, llavors d'aquesta manera es reflexa que l'eficiència avaluada de forma indirecte o teòric fa una millor representació.

Les fluctuacions obtingudes durant l'experiment poden ser explicats per una mala representació de la mostra d'efluent. Ja que a l'hora fer la valoració de DQO en l'efluent agafem una mostra representativa una vegada buidem el baló d'efluent, i depenen dels dies que triguem en buidar-lo la DQO que es troba en aquell moment serà molt diferent al quant surt del bioreactor. Per aquest

⁵ Les línies gruixudes representen el valor mitjana setmanal (7 dies).

motiu per saber si la diferencia és molt gran, s'ha fet una gràfica (Figura 5.6) on es representa els dies que es triga a buidar el baló i el resultat de DQO donat. Els resultats mostrats s'ha fet a partir del dia 59 de la posada en marxa, quan ja portava més d'un TRH operant.

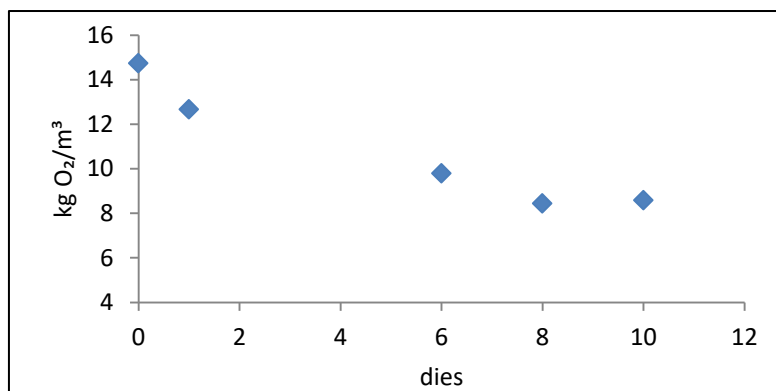


Figura 5.6. Resultats de la DQO en diferents dies del buidatge del baló.

En la Figura 5.6 es pot veure com la DQO disminueix a mesura que triguem més a buidar el baló d'efluent i fer l'anàlisi. Les diferències són bastant clares, ja que el temps que està l'efluent dins el baló la DQO encara és segueix consumint, donant un fals resultat. Com recomanació, lo més adient seria fer la caracterització de l'efluent una vegada buidat tot el baló i esperar a que faci un bombeig per fer l'anàlisi. D'aquesta manera evitaríem agafar una mostra representativa de l'efluent acumulat en el baló, sent més precisos en els resultats i evitar tantes fluctuacions en les representacions.

5.3.3. Avaluació de la producció de metà

Els valors mitjans de producció de metà de forma experimental ($P_{V_{CH_4 \text{ exp}}}$) i de forma teòrica ($P_{V_{CH_4 \text{ teor}}}$) són $0,19 \pm 0,10$ i $0,27 \pm 0,14$ $N \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{m}^3\text{d}$, respectivament. En las Figures 5.7 s'observa una similitud de comportament entre la producció de metà teòric i experimental, això és bona senyal de que la producció de metà esperat per la degradació dona els resultats esperats, o de com a mínim poder dir que els resultats obtinguts són coherents.

També s'observa un creixement de la producció de metà durant els primers 50 dies, després sembla que decreixi i vagi disminuint. Encara quedaria tenir més punts experimentals i observa si realment està disminuint o es queda en un estat estacionari. Hem de tenir en compte varis factors, en l'apartat anterior s'ha vist problemes en el cabal d'alimentació, podent donar resultats més dispersos i erronis en alguns punts de la producció avaluada de forma teòrica. En canvi en la

producció de metà experimental els resultats obtinguts van dependre directament dels volums de biogàs anotats, llavors els resultats obtinguts d'aquesta forma són més representatius.

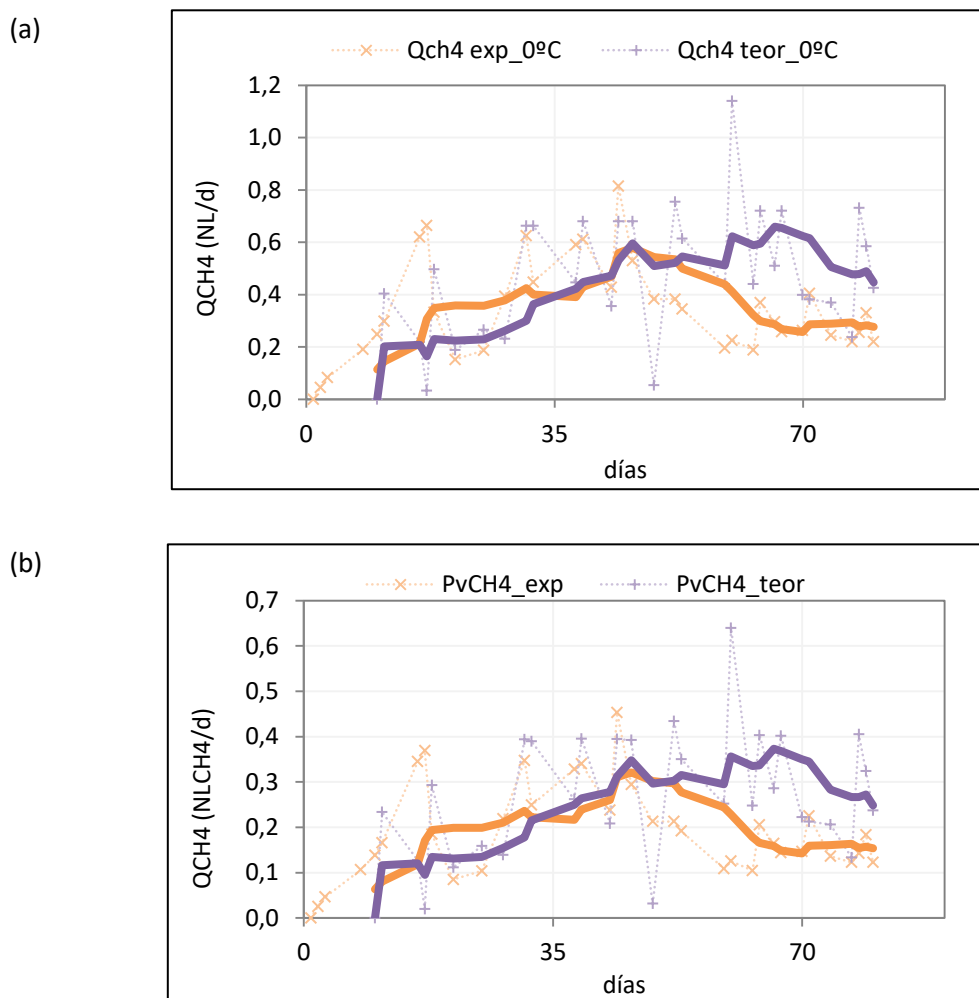


Figura 5.7. (a) Producció de metà experimental i teòrica normalitzats a 0°C. (b) Valoració de la producció de metà ⁶.

Per poder fer una comparació dels resultats obtinguts es va fer una representació de l'evolució de la concentració de metà (Figura 5.8), on es va fer un anàlisi de la composició del biogàs cada cop que es canviava l'aliment durant els primer mes, després es va passar a fer un anàlisi cada setmana.

En la Figura 5.8 s'observa un creixement del percentatge de metà durant els primers 25 dies, arribant a un màxim d'un 70% aproximadament. Després d'aquesta pujada sembla que es manté

⁶ Les línies gruixudes representen el valor mitjana setmanal (7 dies).

en un estat constant, on el seu percentatge ronda entre els 60-65 %. A diferència de la representació de la producció de metà, aquí observem que la seva composició es manté constant una vegada complert un temps hidràulic. La representació de metà del biogàs és bona, ja que normalment en altres tipus de bioreactors s'ha obtingut percentatges de metà entre el 50-80 % (Flotats, 2016).

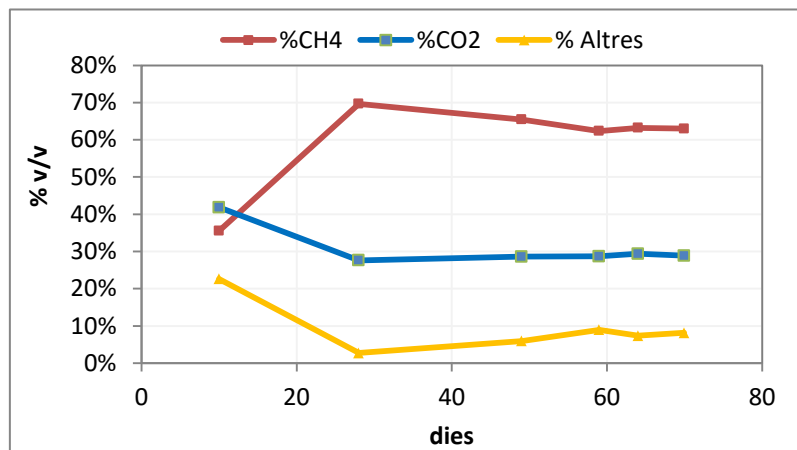


Figura 5.8. Evolució de la concentració de metà en l'efluent.

6. Conclusions

Es recomana un sistema NP-anammox d'una sola etapa. D'acord amb la recerca bibliogràfica efectuada, la tecnologia òptima per a operar el procés combinat NP-anammox depèn de les característiques del substrat a tractar. Per a concentracions molt elevades de nitrogen, serà més convenient operar amb sistemes d'un sol reactor, ja que aquests permeten treballar a concentracions més baixes, i així s'evita que oscil·lacions grans en la composició dels compostos nitrogenats puguin desestabilitzar el sistema i provocar la seva fallada. També, els sistemes d'un sol reactor permeten optimitzar els costos de tractament, i eventuais reduccions en les emissions d'òxids de nitrogen. En aquest context, els reactors de tipus SBR amb biomassa granular són molt interessants per treballar amb digestats anaerobis, perquè permeten treballar a un elevat TRC, factor determinant donat el lent creixement dels bacteris anammox. Un dels principals problemes d'operar el procés NP-anammox amb un sol reactor és la seva elevada sensibilitat durant la posada en marxa, fet que obliga a tenir una especial cura durant tot aquest procediment.

Es recomana un sistema de tipus *gas-lift* com a reactor anammox secundari, per la seva simplicitat i degut a què només necessitem mantenir un tipus de biomassa, els bacteris anammox en forma de grànul. Per el seu manteniment s'utilitzarà un TRH de 2 dies i una temperatura d'operació de 28°C. En el tub de ventilació s'injectarà nitrogen gas per aconseguir condicions anaeròbiques i una distribució uniforme dels grànuls dins del bioreactor.

La posada en marxa del digestor anaerobi per a enriquir bacteris SAO en el rang termòfil no ha estat problemàtica. Els resultats obtinguts mostren un comportament normal, on l'únic problema ha estat no fer un bon seguiment de la bomba peristàtica. Així doncs, variacions del cabal d'entrada han pogut comprometre la precisió dels resultats. Tant la producció de metà com l'eficiència de la degradació han estat bones, obtenint $0,19 \pm 0,10 \text{ N m}^3 \text{ CH}_4/\text{m}^3\text{d}$ i $63 \pm 24\%$ respectivament. Tot i que semblaria que després del període de posada en marxa hagi disminuït la producció de metà, no es pot afirmar que els anàlisis fets durant els 80 dies de treball experimental siguin suficients. També s'observen diferències de comportament entre les fases experimentals. Els factors que ho justifiquen poden ser diversos, però un bon control i seguiment del bioreactor farà que els resultats siguin més fiables.

Treballs futurs dins el projecte PIONER

Aquest treball representa un petita part del projecte de recerca PIONER, que actualment s'està executant des d'IRTA. Alguns temes pendents són:

- Avaluar la implementació de la digestió anaeròbia en un o bé en dos reactors. Cal fer una recerca bibliogràfica i experiments per tal d'avaluar si la fase d'hidròlisi es farà conjuntament amb la metanització, o bé per separat.
- Fixar els paràmetres de disseny i operacionals del SBR per tal d'implementar el procés NP-anammox. Queda encara per definir les mides del cos del reactor i la forma com s'operarà la posada en marxa.
- Escollir el sistema de control necessari per automatitzar tot el procés integrat de digestió anaeròbia (SAO) - separació S/L - eliminació de N (NP-anammox).
- Fer funcionar la planta pilot de manera integral, i obtenir una seqüència de dades experimentals prou llarga i estable d'acord amb la planificació d'experiments.

7. Bibliografia

- Ahn, Y. (2006). *Sustainable nitrogen elimination biotechnologies*. *Process Biochemistry*. 41(8): 1.709-1.721.
- Ahn, Y., Hwang, I.S., Min, K.S. (2004). *ANAMMOX and partial denitrification in anaerobic nitrogen removal from piggery waste*. *Water Science & Technology*. 49 (5–6): 145–153.
- Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S., Srinath, E.G. (1976). *Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid*. *Water Pollution Control Federation*. 48(5): 835-852.
- Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R. (2008). *Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge*. *Progress in Energy and Combustion Science*. 34(6): 755-781.
- Arrojo, B., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Mendez, R. (2006). *Effects of mechanical stress on Anammox granules in a sequencing batch reactor (SBR)*. *Journal of Biotechnology*. 123 (4): 453-463.
- Augusto, M. R., Camiloti, P.R., Souza, T.S. (2018). *Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor*. *Bioresource Technology*. 266: 151-157.
- Bertino, A. (2010). *Study on one-stage partial nitritation-Anammox process in Moving Bed Biofilm Reactors: A sustainable nitrogen removal*. Tesi Doctoral, Royal Institute of Technology, Estocolm, Suecia.
- Brooks, J.P., Adeli, A., McLaughlin, M.R. (2014). *Microbial ecology, bacterial pathogens, and antibiotic resistant genes in swine manure wastewater as influenced by three swine management systems*. *Water Research*. 57: 96–103.
- Campos, J.L., Valenzuela-Heredia, D., Pedrouso, A., Val del Río, A., Belmonte, M., Mosquera-Corral, A. (2016). *Greenhouse gases emissions from wastewater treatment plants: minimization, treatment, and prevention*. *Journal of Chemistry*: ID3796352.
- Cema, G., Wiszniowski, J., Zabczyński, S., Zabłocka-Godlewska, E., Raszka, A., Surmacz-Górska, J. (2007). *Biological nitrogen removal from landfill leachate by deammonification assisted by heterotrophic denitrification in a rotating biological contactor (RBC)*. *Water Sci. Technol*. 55 (8-9): 35-42.



- Chamchoi, N., Nitorisavut, S., Schmidt, J.E.E. (2008). *Inactivation of anammox communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (anammox) and denitrification*. *Bioresource Technology*. 99 (9): 3331-3336.
- Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). *Inhibition of anaerobic digestion process*. *Bioresource Technology*. 99(10): 4044-4064.
- Chini, A., Kunz A., Viancelli A., Antunes L., Rosa J. i Chimanko I. (2016). *Recirculation and Aeration Effects on Deammonification*. *Water air and soil pollution*. 227 (2): 1-10.
- Claros, A. (2012). *Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno amoniacal*. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de Valencia.
- Daigger, G.T., Sanjines, P., Pallansch, K., Sizemore, J., Wett, B. (2011). *Implementation of a full-scale anammox-based facility to treat an anaerobic digestion sidestream at the Alexandria sanitation authority water resource facility*. *Water Practice & Technology*. 6(2):1-2
- Dapena-Mora, A. (2007). *Wastewater treatment by anammox process: a short-circuit in the natural nitrogen cycle*. Tesis Doctoral. Universitat de Santiago de Compostela.
- Dapena-Mora, A., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Jetten, M.S.M, Mendez, R. (2004) *Stability of the ANAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR*. *Journal of Biotechnology*. 110: 159–170.
- Dapena-Mora, A., Vázquez-Padín, J.R., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Jetten, M.S.M., Méndez, R. (2010). *Monitoring the stability of an Anammox reactor under high salinity conditions*. *Biochemical Engineering Journal*. 51: 167-171.
- Egli, K., Fanger, U., Alvarez, P.J.J., Siegrist, H., Van der Meer, J.R., Zehnder, A.J.B. (2001). *Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate*. *Archives of Microbiology*. 175: 198-207.
- Fernández, N., Sierra-Alvarez, R., Field, J.A., Amils, R., Sanz, J.L. (2008). *Microbial community dynamics in a chemolithotrophic denitrification reactor inoculated with methanogenic granular sludge*. *Chemosphere*. 70: 462-474.
- Figueroa, M., Vázquez-Padín, J.R., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Méndez, R. (2012). *Is the CANON reactor an alternative for nitrogen removal from pre-treated swine slurry?*. *Biochemical Engineering Journal*. 65: 23-29.



- Flotats, X. (coord.) (2016). *Ingeniería y Aspectos Técnicos de la Digestión Anaeróbica. II. Procesos de Biotransformación de la Materia Orgánica*. De Residuo A Recurso. El Camino hacia la Sostenibilidad. Madrid, Ed. Mundi-Prensa.
- Fux, C. Boehler, M., Huber, P., Brunner, I., Siegrist, H. (2002). *Biological treatment of ammonium-rich wastewater by partial nitrification and subsequent anaerobic ammonium oxidation (anammox) in a pilot plant*, Journal of Biotechnology. 99: 295–306.
- Fux, C., Siegrist, H. (2004). *Nitrogen removal from sludge digester liquids by nitrification-denitrification or partial nitritation-anammox*. Environmental and economical considerations. Water Sci. Technol. 50 (10): 19-26.
- Ganigue, R., Lopez, H., Balaguer, M.D., Colprim, J. (2007). *Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban land fill leachates*. Water Research. 41: 3317–3326.
- Ganigue, R., López, H., Rusalleda, M., Balaguer, M.D., Colprim, J. (2008). *Operational strategy for a partial nitritation-sequencing batch reactor treating urban landfill leachate to achieve stable influent for an anammox reactor*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology. 83(3): 365-371.
- Gaya, C. (2011). *Estudi d'alternatives d'eliminació biològica de nitrogen dels corrents de retorn a capçalera en plantes de tractament d'aigües residuals urbanes. simulació i elecció de la millor tecnologia disponible*. Tesi de Màster. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Grunditz, C., Dalhammar, G. (2001). *Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of Nitrosomonas and Nitrobacter*. Water Research. 35(2): 433-440.
- Guieysse, B., Quijano, G., Muñoz, R. (2011). *Airlift Bioreactors*. Comprehensive Biotechnology. 2: 199–212.
- Hanaki, K., Wantawin, C., Ohgaki, S. (1990). *Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor*. Water Research. 24 (3): 297-302.
- Hattori, S. (2008). *Syntrophic acetate-oxidizing microbes in methanogenic environments*. Microb. Environ. 23(2): 118-127.
- Helmer-Madhok, C., Schmid, M., Filipov, E., Gaul, T., Hippen, A., Rosenwinkel, K-H., Seyfried, C.F., Wagner, M., Kunst, S. (2002). *Deammonification in biofilm systems: population structure and function*. Water Sci. Technol. 46 (1-2): 226-231.



- Informes Pimec, 2014. *El sector porcí a Catalunya*. Informe, núm. 7/2014. Observatori de la pime, Barcelona.
- Isaka, K., Date, Y., Sumino, T., Yoshie, S., Tsuneda, S. (2006). *Growth characteristic of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic filtrated reactor*. Applied Microbiology & Biotechnology. 70: 47–52.
- Jaroszynski, L.W., Oleszkiewicz, J.A. (2011). Autotrophic ammonium removal from reject water: partial nitrification and anammox in one-reactor versus two-reactor systems. Environmental Technology. 32(3): 289-294.
- Jetten, M.S.M., Schmid, M.A., Schmidt, I., Wubben, M., Van Dongen, U., Abma, W., Sliemers, A.O., Revsbech, N.P., Beaumont, H.J.E., Ottosen, L., Volcke, E., Laanbroek, H.J., Campos-Gómez, J.L., Cole, J., Van Loosdrecht, M.C.M., Mulder, J.W., Fuerst, J., Richardson, D., Van de Pas-Schoonen, K.T., Mendez-Pampín, R., Third, K., Cirpus, I.Y., Van Spanning, R., Bollmann, A., Nielsen, L.P., Op den Camp, H.J.M., Schultz, C., Gundersen, J., Vanrolleghem, P., Strous, M., Wagner, M., and Kuenen, J.G. (2002). *Improved nitrogen removal by application of new nitrogen-cycle bacteria*. Reviews in Environ. Sci. Biotechnol. 1: 51-63.
- Jetten, M.S.M., Strous, M., Van de Pas-Schoonen, K.T., Schalk, J., Van Dongen, L., Van de Graaf, A.A., Logemann, S., Muyzer, G., Van Loosdrecht, M., Kuenen, J.G. (1999). *The anaerobic oxidation of ammonia*. FEMS Microbiol. Reviews. 22 (5): 421-437.
- Jurado, G. (2011). *Enriquiment de biomassa anammox a partir de fangs procedents d'una planta de tractament de purins*. Tesi de Màster. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Li, X., Sung, S. (2015). *Development of the combined nitrification–anammox process in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor with anammox granules*. Chem. Eng. J. 281: 837–843.
- Liang, Z., Liu, J. (2008). *Landfill leachate treatment with a novel process: Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) combined with soil infiltration System*. Journal of Hazardous Materials. 151: 202–212.
- Liu, T., Sung, S. (2002). *Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogens*. Water science and technology. A journal of the international association. 45: 113-20.
- López, H. (2009). *Desarrollo del proceso Anammox para el tratamiento de lixiviadps: puesta en marcha y aplicacion*. Tesi Doctoral. Universitat de Girona.



- Magrí, A. (2007). *Modelització del tractament biològic de la fracció líquida de purins orientat a l'eliminació de nitrogen*. Tesi Doctoral. Universitat de Lleida.
- Magrí, A., Béline, F., Dabert, P. (2013). *Feasibility and interest of the anammox process as treatment alternative for anaerobic digester supernatants in manure processing - An overview*. Journal of Environmental Management. 131: 170-184.
- Magrí, A., Vanotti, M.B., Szögi, A.A. (2012b). *Anammox sludge immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) cryogel carriers*. Bioresource Technology. 114: 231-240.
- Magrí, A., Vanotti, M.B., Szögi, A.A., Cantrell, K.B. (2012a). *Partial nitrification of swine wastewater in view of its coupling with the anammox process*. Journal of Environmental Quality. 41(6): 1989-2000.
- Morales, A., Val del Río, J. R. Vázquez-Padín, R. Gutiérrez, R. Fernández-González, P. Icaran, F. Rogalla, J. L. Campos, R. Méndez and A. Mosquera-Corral. (2015). *Influence of dissolved oxygen concentration on the start-up of the anammox-based process: ELAN*. Water Science & Technology. 72: 520-527.
- Mosquera, A., González, F., Campos, J.L., Méndez, R. (2005). *Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds*. Process Biochemistry. 40: 3109–3118.
- Mulder, A., Van de Graaf, A., Robertson, L.A. and Kuenen, J.G. (1995). *Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor*. FEMS Microbiol. 16: 177-184.
- Paralta, S., Serrato, G. (2016). *Potencial del tratamiento anammox en la eliminación de amonio de medio sintético a escala de laboratorio a partir de inóculos de ambientes tropicales*. Treball de Final de Grau. Universitat del Valle.
- Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gomez, E. (1991). *Kinetics of anaerobic treatment: a critical review*. Critical Reviews in Environmental Control. 21(5–6): 411–490.
- Pynaert, B., Smets F., Beheydt D., Verstraete W. (2004). *Start-up of autotrophic nitrogen removal reactors via sequential biocatalyst addition*. Environmental Science & Technology. 38: 1228–1235.
- Qiao, S., Yamamoto, T., Misaka, M., Isaka, K., Sumino, T., Bhatti, Z., Furukawa, K. (2010). *High-rate nitrogen removal from livestock manure digester liquor by combined partial nitrification–anammox process*. Biodegradation. 21: 11–20.



- Schalk, J., Oustad, H., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (1998). *The anaerobic oxidation of hydrazine: A novel reaction in microbial nitrogen metabolism*. FEMS Microbiology Letters. 158 (1): 61-67.
- Siegrist, H., Reithaar, S., Koch, G., Lais, P. (1998). *Nitrogen loss in a nitrifying rotating contactor treating ammonium-rich wastewater without organic carbon*. Water Sci. Technol. 38 (8-9): 241-248.
- Sliekers, A. O., Derwort, N., Campos, J.L., Strous, M., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (2002). *Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor*. Water Research. 36(10): 2.475-2.482.
- Sliekers, A.O., Third, K., Abma, W., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (2003). *CANON and Anammox in a gas-lift reactor*, FEMS Microbiology Letters. 218: 339–344.
- Soto, M., Méndez, R., Lema, J.M. (1993). *Sodium inhibition and sulphate reduction in the anaerobic treatment of mussel processing wastewaters*. Chemical technology and biotechnology. 58 (1): 1-7.
- Strous, M., Gerven, E.V., Zheng, P., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. (1997). *Ammonium removal from concentrated waste streams with the Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) process in different reactor configurations*. Water Res., 31 (8): 1955-1962.
- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (1998). *The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms*. Appl. Microbiol. Biotech. 50(5): 589-596.
- Strous, M., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (1999). *Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation*. Appl. Environ. Microbiol. 65(7): 3248-3250.
- Third, K.A., Sliekers, A.O., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (2001). *The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria*. Syst. Appl. Microbiol. 24 (4): 588-596.
- Trigo, C., Campos, J.L., Garrido, J.M., Mendez. R. (2006). *Start-up of the Anammox process in a membrane bioreactor*, Journal of Biotechnology. 126: 475–487.
- Tsushima, I., Ogasawara, Y., Kindaichi, T., Satoh, H., Okabe, S.(2007). *Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors*, Water Research. 41 (8): 1623–1634.



- Van de Graaf, A.A., De Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M., Kuenen, J.G. (1996). *Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor*. Microbiology. 42: 2187-2196.
- Van der Star, W.R.I., Miclea, A.I., Van Dongen, U.G.J.M., Muyzer, G., Picioreanu, C., Van Loosdrecht, M.C.M. (2008). *The membrane bioreactor: a novel tool to grow anammox bacteria as free cells*, Biotechnology and Bioengineering. 101: 286–294.
- Van Hulle, S.W.H., Van Den Broeck, S., Maertens, J., Villez, K., Donckels, B.M.R., Schelstraete, G., Volcke, E.I.P., Vanrolleghem, P.A. (2005). *Construction, start-up and operation of a continuously aerated laboratory-scale SHARON reactor in view of coupling with an Anammox reactor*. Water SA. 31: 327–334.
- Van Hulle, S.W.H., Volcke, E.I.P., Teruel, J.L., Donckels, B., Van Loosdrecht, M.C.M., Vanrolleghem, P.A. (2007). Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process. J. Chem. Technol. Biotechnol. 82 (5), 471-480.
- Van Hulle, S.W.H., Vandeweyer, H.J.P., Meesschaert, B.D., Vanrolleghem, P.A., Dejans, P., Dumoulin, A. (2010). *Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams*. Chemical Engineering Journal. 162(1): 1-20.
- Van Niftrik, L.A.M.P., Fuerst, J.A., Sinninghe Damsté, J.S., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., Strous, M. (2004). *The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria*. Fems Microbiol. 23: 7-13.
- Vazquez-Padin, J.R., Fernández, I., Figueroa, I., Mosquera-Corral A., Campos, J.L., Méndez, R. (2009b). *Applications of Anammox based processes to treat anaerobic digester supernatant at room temperature*. Bioresource Technology. 100: 2988–2994.
- Vazquez-Padin, J.R., Figueroa, I., Mosquera-Corral A., Campos, J.L., Méndez, R. (2009a). *Post-treatment of effluents from anaerobic digesters by the Anammox process*. Water Science & Technology. 60: 1135–1143.
- Vázquez-Padín, J.R., Morales, N., Gutiérrez, R., Fernández, R., Rogalla, F., Barrio, J.P., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Méndez, R. (2014). *Implications of full-scale implementation of an anammox based process as post-treatment of a municipal anaerobic sludge digester operated with co-digestion*. Water Science & Technology. 69: 1151-1158.



- Vazquez-Padin, J.R., Pozo, M.J., Jarpa, M., Figueroa, M., Franco, A., Mosquera Corral, A., Campos, J.L., Mendez, R. (2009c). *Treatment of anaerobic sludge digester effluents by the CANON process in an air pulsing SBR*. Journal of Hazardous Materials. 166: 336-341.
- Volcke, E.I.P. (2006). *Modelling, analysis and control of partial nitrification in a SHARON reactor*. Tesi Doctoral, Ghent University, Bèlgica.
- Wiesmann, U., Choi, I.S., Dombrowski, E.M. (2007). *Fundamentals of Biological Wastewater Treatment*. Wiley-VCH, Weinheim, Alemanya, 1a Ed.
- Wyffels, S., Boeckx, P., Pynaert, K., Zhang, D., Van Cleemput, O., Chen, G., Verstraete, W. (2004a). *Nitrogen removals from sludge reject water by a two-stage oxygenlimited autotrophic nitrification denitrification process*. Water Science & Technology. 49(5-6): 57-64.
- Wyffels, S., Van Hulle, S.W.H., Boeckx, P., Volcke, E.I.P., Van Cleemput, O., Vanrolleghem, P.A., Verstraete, W. (2004b). *Modelling and simulation of oxygen-limited partial nitrification in a membrane-assisted bioreactor (MBR)*. Biotechnology & Bioengineering. 86: 531-542.
- Zhang, L., Zheng, P., Tang, C., Jin, R. (2008). *Anaerobic ammonium oxidation for treatment of ammoniumrich wastewaters*. Journal of Zhejiang University – Science. 9 (5): 416-426.
- Zhu, G., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q., Wang, S. (2008). *Biological Removal of Nitrogen from Wastewater*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 192: 159-195.



Annexos

Annex A. Microbiologia i bioquímica del procés anammox

A.1. Microbiologia

Gràcies al desenvolupament de noves tècniques moleculars, com l'amplificació d'ADN amb la Polymerase Chain Reaction (PCR) i posterior seqüenciació, es va poder identificar la taxonomia relativa als organismes anammox (Taula A.1).

Taula A.1. Classificació dels diferents espècies de bacteris anammox (Zhang et al., 2007).

Domini	Fílum	Ordre	Gènere	Espècie
Eubacteri	Planctomycetes	Planctomycetales	<i>Ca. Brocadia</i>	<i>anammoxidans</i> <i>fulgida</i>
			<i>Ca. Kuenenia</i>	<i>stuttgartiensis</i>
			<i>Ca. Anammoxoglobus</i>	<i>propionicus</i>
			<i>Ca. Scalindua</i>	<i>sorokinii</i> <i>brodae</i> <i>wagneri</i> <i>arabica</i>

Aquests microorganismes poden trobar-se tant en sistemes naturals (ambients marins com el Mar Negre, el Mar d'Àràbia i la corrent de Banguela), així com en diferents sistemes de tractament d'aigües residuals. En els sistemes naturals es solen trobar en concentracions molt baixes, però tenen una gran importància en el cicle del nitrogen ja que contribueixen fins en un 50% a l'alliberació del nitrogen gas a l'atmosfera.

En les plantes de tractament d'aigües s'ha trobat bacteris anammox en reactors biològics rotatius de contacte que tractaven lixiviats d'abocadors (Siegrist et al., 1998) i en reactors aeròbics de massa fixada (Helmer et al., 2002), en aquest cas, en la part més interna del biofilm on hi ha baixes concentracions d'oxigen dissolt. En ambdós casos, els processos tractaven efluents amb altes càrregues de nitrogen amoniacal, a altes temperatures, i amb combinacions de zones aeròbiques i anòxiques en el mateix procés. A la Taula A.2 es pot veure una relació de diferents espècies d'anammox en funció de l'origen.

Taula A.2. Relació de les espècies anammox localitzades en diferents ambients (López, 2009).

Localització	Espècie
Plantes de tractament d'aigües residuals	<ul style="list-style-type: none"> Ca. <i>B. anammoxidans</i> Ca. <i>B. fulgida</i> Ca. <i>K. stuttgartiensis</i> Ca. <i>A. propionicus</i>
Ambients marins	<ul style="list-style-type: none"> Ca. <i>S. sorokinii</i> Ca. <i>S. brodae</i> Ca. <i>S. wagneri</i> -Ca. <i>S. arabica</i>

Els gèneres *Ca. Brocadia* i *Ca. Kuenenia* són els més habituals en la majoria d'estudis i dels que més enriquiments s'han realitzat al llarg d'aquests últims anys. En les espècies *Ca. B. anammoxidans* i *Ca. K. stuttgartiensis* trobem una diferència principal, l'espècie *Ca. B. anammoxidans* té una activitat específica més elevada, 55 nmol N₂ / mg proteïna·min a pH 8 i a 40°C (Jetten et al., 1999), que l'espècie *Ca. K. stuttgartiensis*, 26 nmol N₂ / mg proteïna·min a pH 8 i a 37°C (Egli et al., 2001). És important dir que les diferències de temperatura de cada estudi poden influir en les activitats específiques obtingudes. D'altra banda el gènere *Ca. Kuenenia* té una tolerància al nitrit i al fosfat superior que el gènere *Ca. Brocadia* (Egli et al., 2001).

A.2. Bioquímica

El procés bioquímic dels anammox està estimulat per dos intermediaris químics: la hidrazina (N₂H₄) i la hidroxilamina (NH₂OH). En el mecanisme bioquímic (Figura A.1) del procés anammox, l'amoni es combina amb la hidroxilamina, i per mitjà de l'enzim *hidrazina hidrolasa* (HH) es forma la hidrazina. Després l'hidrazina es oxidada per l'enzim *hidrazina oxidasa* (HZO) a N₂, produint 4 electrons i 4 protons (H⁺).

Els 4 electrons produïts són utilitzats en el citoplasma per l'enzim *nitrit reductasa* (NIR) que redueix el nitrit a hidroxilamina, i poder començar així de nou el procés anammox. Però tal com mostra la Figura A.2(a), part del nitrit no es redueix sinó que s'oxida a nitrat, aproximadament un 10%, generant electrons necessaris per el creixement autotròfic reduint el CO₂ (Van de Graaf et al., 1996).

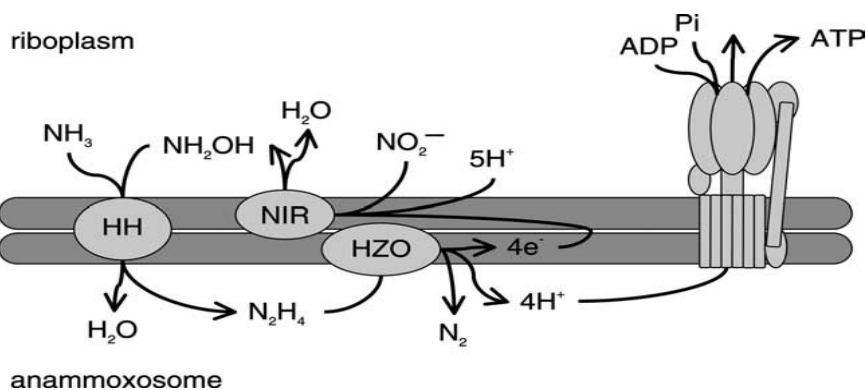


Figura A.1. Mecanisme de reacció anammox en l'anammoxosoma (Van Niftrik et al., 2004).

La hidracina, compost intermedi introduït durant el metabolisme del procés, és un component tòxic per als microorganismes anammox si s'acumula durant llargs períodes de temps (Schalk et al., 1998). Per evitar aquesta elevada toxicitat, els bacteris anammox contenen un orgànel·le intracel·lular denominat anammoxosoma (Figura A.2b), la hidracina queda confinada en l'interior d'aquesta membrana evitant així la inhibició del procés.

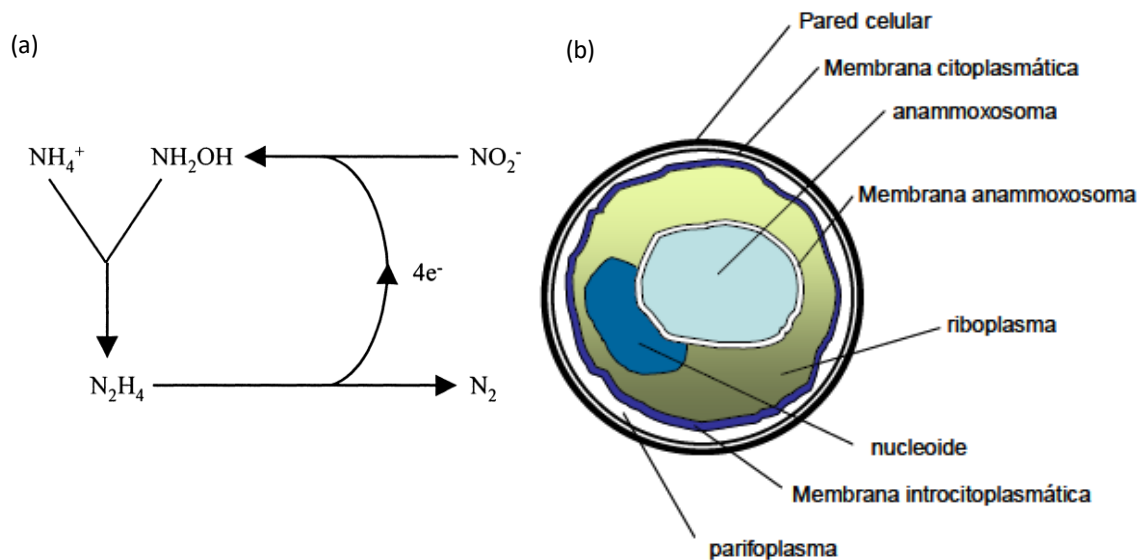


Figura A.2. (a) Ruta metabòlica del procés anammox (Schalk et al., 1998). (b) Constituents cel·lulars dels bacteris anammox (Van Niftrik et al., 2004).

El anammoxosoma representa, aproximadament, un 30% del volum intern de la cèl·lula i està rodejada per una membrana lipídica escalonada, denominat membrana anammoxosoma, amb múltiples concatenacions d'anells de ciclobutè, molt compacte i inusual, únicament trobada en bacteris anammox. La reacció catabòlica del procés anammox té lloc en el interior del *anammoxosoma*. El material nuclear (nucleoide) de la cèl·lula es troba en l'interior d'una doble

membrana (introcitoplasmatic), típic dels Planctomycetes. A més de l'anammoxosoma, hi ha dos compartiments separats per membranes, el riboplasma i el parifoplasma, en el primer conte ribosomes amb les proteïnes associades.

Cal destacar que s'ha observat experimentalment que davant un desajust en el sistema produït per l'acumulació de nitrit, es pot realitzar una addició de hidroxilamina e hidracina per restablir el procés anammox (Strous et al., 1999). En aquest sentit, Ahn et al. (2004) van afegir aquests intermedis per estimular la biomassa anammox per restaurar el procés que havia estat inhibida per la acumulació de nitrits, tal com hem vist en la seva ruta metabòlica (Figura A.1).



Annex B. Procés de biometanització

Aquest procés biològic es realitza en absència d'oxigen. La matèria orgànica es degrada gràcies a varis grups de microorganismes que treballen en cooperació, donant com a producte final un biogàs i un digerit. El biogàs és combustible i està format majoritàriament per metà (CH_4) i diòxid de carboni (CO_2). Les proporcions d'aquests components depenen del tipus de residu tractat. El digerit està estabilitzat i es podria utilitzar com a esmena fertilitzant en l'agricultura, o bé, com és el nostre cas, ser sotmès a post-tractament.

El procés de biometanització té lloc a partir de l'activitat coordinada i interdependent d'un conjunt de microorganismes amb metabolismes diferenciats (Figura B.1). Segons el tipus de microorganisme i el substrat que es degradi, en aquest procés es troben identificar quatre etapes diferents:

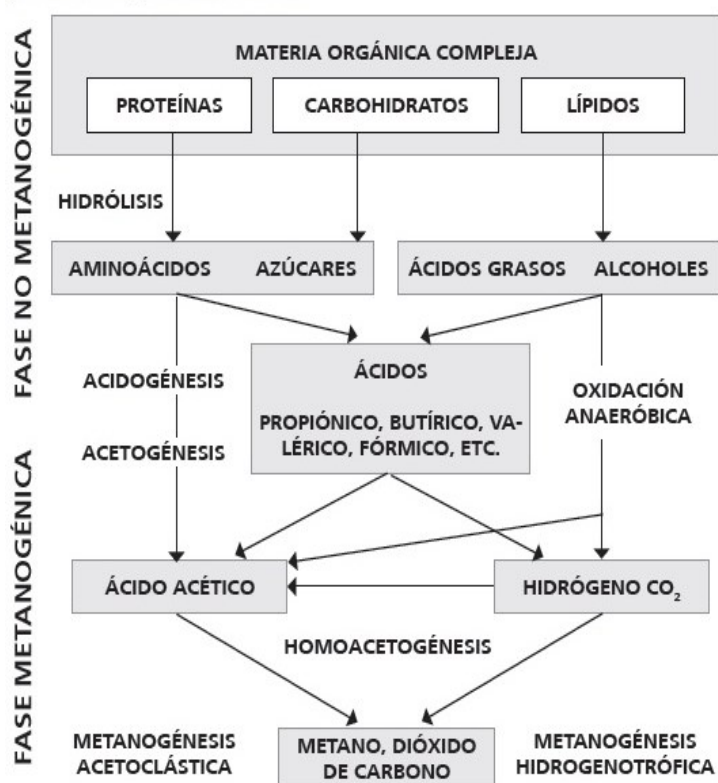


Figura B.1. Fases de la biometanització (Pavlostathis i Giraldo-Gòmez, 1991).

- **Hidròlisi.** La matèria orgànica polimèrica no pot ser utilitzada directament per les bactèries. Per aquest motiu, és necessari que s'hidrolitzi en compostos solubles per poder travessar la membrana cel·lular. Aquesta etapa és portada per enzims extracel·lulars excretades per bacteris, podent ser aquesta la fase limitant de la velocitat del procés

global en aquells casos que es tractin residus amb alt contingut en sòlids. Així que el grau d'hidròlisis i la velocitat del procés depèn de la mida de partícula i el tipus de matèria orgànica particulada, de la concentració de biomassa hidrolítica i de factors ambientals, com el pH i temperatura.

- **Acidogènesi.** Durant aquest procés les molècules orgàniques solubles són fermentades per diversos microorganismes formant compostos de menor pes molecular, com àcid làctic, etanol, àcid propiònic, àcid butíric, àcid acètic, àcid fòrmic e H_2 . Les proporcions d'aquests productes varien en funció del H_2 per part de les bactèries que l'utilitzen. Quan l'hidrogen és eliminat de forma eficient, aquestes bactèries no produeixen etanol, afavorint la producció de H_2 i l'alliberació d'energia en forma d'ATP. L'activitat d'algunes bactèries fermentatives depenen de la concentració de H_2 en el medi, sent solament possible a valors molt baixos de pressió parcial d'aquest. Per lo tant l'eliminació continua de H_2 per mitja d'oxidació amb CO_2 estimula l'activitat de bactèries fermentatives al disminuir els nivells d'hidrogen.
- **Acetogènesi.** Un grup especialitzat de microorganismes anomenat acetogènics sintròfics, són els encarregats de convertir el producte final de l'etapa acidogènica en acetat a partir de dues rutes diferents: per deshidrogenació acetogènica (on produeixen l'acetat a partir de la fermentació d'àcids grassos volàtils, lactat, propionat i alcohols) i l'hidrogenació acetogènica (que sintetitzen l'acetat a partir de l'hidrogen i el diòxid de carboni). Els bacteris acetogènics depenen necessàriament de les reaccions de transferència d'hidrogen entre microorganismes ja que no tenen altres possibilitats metabòliques. Així que de forma anàloga, en la deshidrogenació acetogènica depenen de la concentració d'hidrogen existent, sent necessari que l'hidrogen generat siguin utilitzat i consumit per les arquees metanogèniques hidrogèniques i/o bacteris homoacetogènics a una velocitat igual o superior a la que es produeix.
- **Metanogènesi.** Les arquees matanogèniques són les encarregades d'eliminació dels productes generats en les etapes anteriors i de la formació de CH_4 . En aquest procés s'estableixen dos grans grups de arquees metanogèniques: arquees metanògenes hidrogenotròfiques (que consumeixen H_2 , CO_2 i àcid fòrmic) i arquees metanògenes acetoclàstiques (consumeixen acetat, metanol i algunes matilamines). La presència de arquees hidrogenotròfiques és fonamental per al procés global, ja que eliminen l' H_2 del



medi, mantenint la pressió parcial d'aquest a nivells adequats per tal d'afavorir la producció d'acetat en les etapes anteriors.

B.1. Efecte del nitrogen amoniacal en la biometanització

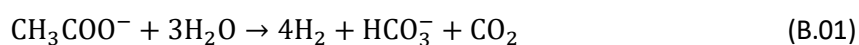
Com a resultat de la degradació de proteïnes i urea es forma amoni/amoníac. Aquests dos compostos estan en equilibri químic i les seves concentracions depenen de la temperatura i el pH del medi. L'amoni és necessari per al creixement microbià ja que és un nutrient essencial per la producció de proteïnes. Per tant, concentracions baixes d'amoni beneficien el procés, això és al voltant de 200 mg/L (Liu et al., 2002). A concentracions superiors, pot produir inhibició del creixement. El més tòxic és l'amoníac, degut a què pot travessar la membrana cel·lular, causant un desequilibri de protons i una deficiència de potassi. Els bacteris metanogènics són els més sensibles a aquestes inhibicions. Així, a concentracions entre 400-550 mg N-NH₃/L disminueixen la seva activitat en un 50% (Appels et al., 2008) mentre que les poblacions acidogèniques no es veuen afectades.

Com s'ha comentat, el pH i la temperatura tenen un efecte en l'equilibri d'aquests compostos. Un augment del pH i la temperatura provoca un augment de la concentració d'amoníac, i per consegüent, un augment de la toxicitat. Estudis on s'han comparat la inhibició per amoníac en règim mesòfil, entre 30-40 °C, i en règim termòfil, entre 46-65 °C, han demostrat una inhibició superior en el mesòfil, indicant que els bacteris termòfils toleren una major concentració d'amoni (Chen et al., 2008). Amb la finalitat d'estudiar aquesta inhibició, s'han monitoritzat diferents bioreactors que operaven amb altes concentracions d'amoni i s'ha observat que els bacteris hidrogenotròfics junt amb els bacteris SAO són capaços de produir metà (Flotats, 2016)

B.2. Microorganismes sintròfics oxidants de l'acetat (SAO)

Les condicions d'inhibició dels organismes metanogènics acetoclàstics, com són les altes concentracions d'amoníac, dona com a resultat l'aparició de microorganismes SAO.

Els organismes SAO són un grup de microorganismes que tenen la capacitat de oxidar l'acetat produint H₂ i CO₂ (equació B.01). A diferència del procés habitual realitzat pels organismes acetoclàstics, que degraden l'acetat a metà amb una $\Delta G^{\circ} = -135,6$ kJ/mol, l'oxidació de l'acetat a H₂ i CO₂ té una $\Delta G^{\circ} = 104,6$ kJ/mol, fet que vol dir que no és favorable en condicions estàndard.



Aquesta reacció sota la col·laboració sintròfica d'organismes metanogènics hidrogenotròfics, fa que es mantingui un pressió parcial d'hidrogen baixa, convertint-lo en termodinàmicament favorable. L'energia alliberada per l'oxidació de l'hidrogen és de -135,6 kJ/mol, que sumant ambdós processos dona una $\Delta G^{\circ} = -31$ kJ/mol, convertint aquest procés en favorable en condicions estàndard. Aquesta energia disponible per als microorganismes es veu afectada pels canvis de temperatura i les concentracions d'altres substrat i productes. Per exemple, per als organismes SAO la ΔG° es torna més favorable a baixes pressions parcials d'hidrogen i a altes temperatures, mentre que per als hidrogenotròfics es torna desfavorable (Hattori, 2008).

Alguns organismes SAO, també produeixen formiat (B.02), que també pot ser degradat pels organismes hidrogenotròfics, i per això es creu que el formiat s'utilitza quan hi ha una gran distància entre les dues comunitats microbianes.



B.3. Influència de factors ambientals en bacteries SAO

L'oxidació sintròfica de l'acetat és el principal mecanisme de degradació en presència d'inhibidors, en particular de l'amoni i d'àcids grassos volàtils. La tolerància a l'amoni dels organismes SAO els dona un avantatge competitiu en els sistemes d'alta carga amoniacal. El llindar de tolerància per al seu desenvolupament està al voltant de 3-3,3 g N-NH₄⁺/L, amb un pH i una temperatura entre 7,5-8 i 37-38 °C, respectivament. En canvi, en el rang termòfil, sobre els 55°C, el canvi de metanògens acetoclàstics a SAO pot ocórrer per sobre els 0,7-1,4 g N-NH₄/L amb un pH de 7. Tot i així, s'ha demostrat que poden haver-hi llindars superiors per organismes ja adaptats a l'amoni. En canvi, s'ha trobat fallades del sistema de tractament a nivells superiors a 9,2-11,1 g N-NH₄⁺/ amb un pH i temperatura entre 7,1-7,8 i 37-38°C.

S'ha vist que per al creixement dels organismes SAO són favorables elevades concentracions d'acetat i altes temperatures. Així doncs, la temperatura més alta millora la competitivitat dels SAO enfront dels metanògens acetoclàstics, donat que el llindar de tolerància és menor i els nivells d'hidrogen o/i formiat no es necessita que siguin tan baixos com en el cas mesòfil. Per a temperatures mesòfil·les s'afavoreix el creixement dels organismes SAO si es té més concentració d'acetat en el medi, però això també dependrà de l'espècie. S'ha trobat poblacions específiques, com *Syntrophaceticus schinkii* i *Thermacetogenium Phaeum*, que treballen bé a baixes



concentracions d'acetat, tenint en compte que sempre es treballa amb bioreactors amb altes càrregues de nitrogen amoniacal.

Els microorganismes sintròfics depenen estrictament de la comunitat metanogènica i de la seva eficiència per a l'eliminació de l'hidrogen i/o format. Un altre factor important és la competència per l'acetat amb els metanògens acetoclàstics, així que paràmetres com la inhibició per amoni, la temperatura i la concentració d'acetat influeixen sobre l'estructura de la comunitat metanogènica, i conseqüentment, insereixen un efecte indirecte sobre els microorganismes SAO.

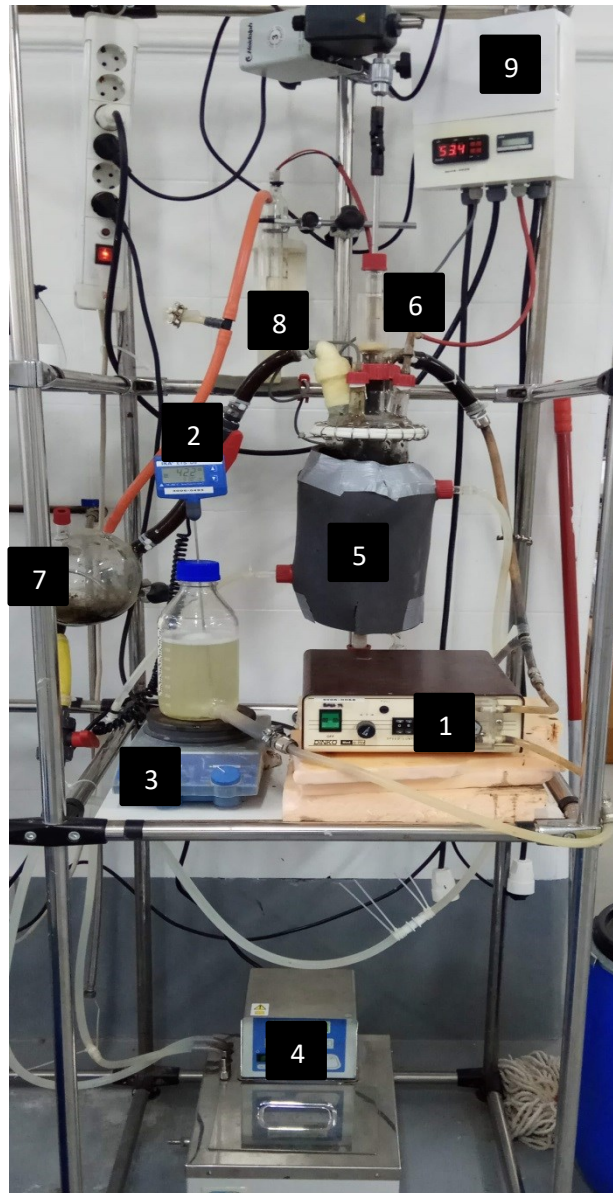
B.4. Condicions d'operació

El TRC del digestor anaerobi haurà de ser més gran que el temps de duplicació microbiana per a evitar d'aquesta manera el rentat de la població. El temps de duplicació dels metanògens acetoclàstics pot variar de 8-36 hores fins a 1-9 dies depenent de l'espècie. Els organismes SAO mesòfils (37°C) s'ha estimat que triguen uns 28 dies en duplicar-se. En canvi, per als organismes SAO termòfils (55-60°C) s'ha obtingut temps de duplicació més curts, al voltat de 1,3-3 dies, fet que indica que poden ser més ràpids que alguns organismes metanògens. Tot i que el TRC pot ser un factor decisiu, altres paràmetres com la configuració del bioreactor (recirculació, utilització de materials de suport) i les condicions ambientals (temperatura, concentració d'amoni o acetat) també tenen una influència important.

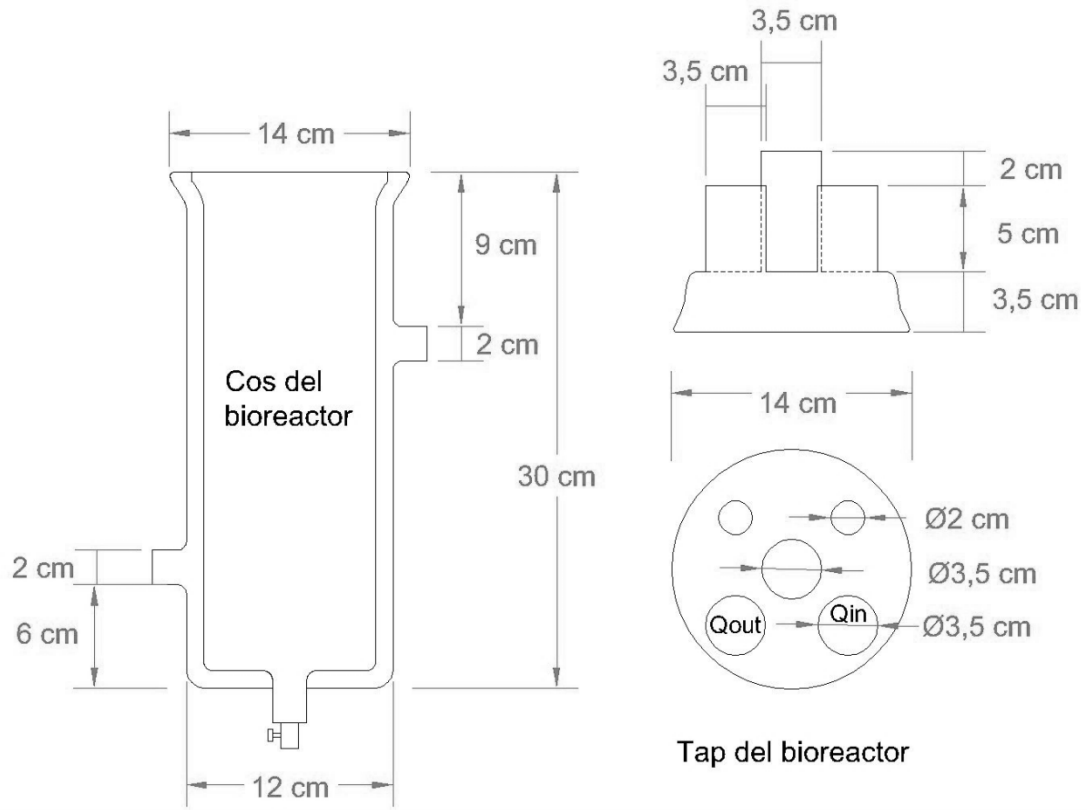
Les altes concentracions de sulfurs provoquen la precipitació de metalls, fent disminuir la biodisponibilitat d'oligoelements. En aquestes condicions, és important l'addició d'oligoelements. S'ha demostrat que la biodisponibilitat de cobalt i níquel són importants per un bon funcionament de sistemes amb altes càrregues de nitrogen amoniacal.

Annex C. Vista del reactor SAO termòfil

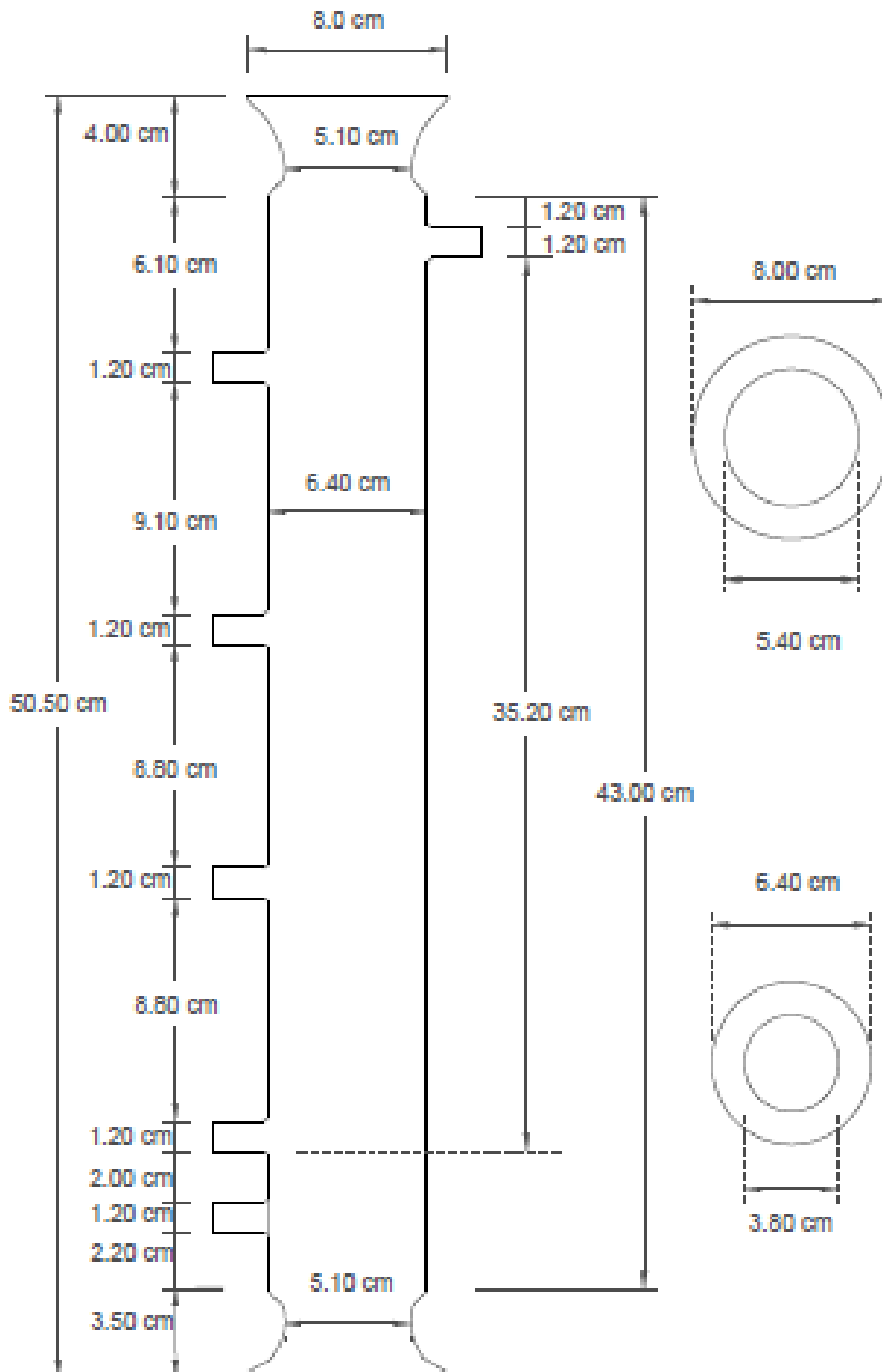
(1) Bomba d'impulsió per l'alimentació. (2) Sonda de temperatura per control de l'aliment. (3) Escalfador tèrmic. (4) Bany termòstat. (5) Bioreactor tipus CSTR. (6) Sonda de temperatura per el control del bioreactor. (7) Baló amb sortides per l'efluent de la fase líquida i gasosa. (8) Mariotte amb elèctrodes. (9) Panell de control.



Annex D. Dimensions del reactor CSTR per a l'enriquiment de bacteris SAO



Annex E. Dimensions del reactor UASB usat com a referència del nostre disseny



Annex F. Composició de la solució d'elements traça utilitzada per l'enriquiment de biomassa anammox

Químics	mg/L
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1247
MnSO ₄ ·H ₂ O	1119
CuSO ₄ ·5H ₂ O	44
Al ₂ (SO ₄) ₃ ·14H ₂ O	201,5
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	129
CoCl ₂ ·6H ₂ O	30
KCl	100
EDTA	975

