

Tratamiento de aguas subterráneas mediante un biorreactor secuencial alimentado con nitrógeno molecular

Alejandro González Martínez y Riku Vahala, Universidad de Aalto.

El uso de la tierra por las actividades humanas ha deteriorado la calidad de las masas de agua a lo largo de todo el mundo. De especial importancia es el deterioro del agua subterránea, lo cual es un serio problema porque el agua subterránea es la principal fuente de abastecimiento de agua potable de numerosos núcleos humanos (SheikhyNarany et al., 2018). Uno de los principales contaminantes del agua subterránea de la que se abastecen las comunidades humanas es el nitrógeno, nutriente ampliamente utilizado como fertilizante en las actividades agrícolas. El nitrógeno presente en los fertilizantes pasa a las aguas subterráneas disuelto en el agua de riego y permanece retenido en el acuífero (Logsdon & Cole, 2018). Una de las tecnologías más prometedoras para el tratamiento de las aguas residuales es la tecnología de lodos granulares aerobios. En esta tecnología, las condiciones operacionales de secuenciación por lotes en el biorreactor favorecen la generación espontánea de biomasa granular, adhesiones de microorganismos y de sustancia polimérica extracelular que alcanza gran densidad y gran capacidad de decantación (Gonzalez-Martinez et al., 2018b). Los sistemas de lodos granulares aerobios han sido probados para la eliminación de nitratos por medio de la desnitrificación. En este proyecto se ha construido un biorreactor configurado con tecnología de lodos granulares para el tratamiento de agua subterránea sintética contaminada por nitratos.

El sistema mostró que la biomasa granular podría ser formada en condiciones anaeróbicas y de agitación con N_2 gas. El biorreactor usado en este experimento consiste en un cilindro de 2.2 litros de volumen (Figura 1).

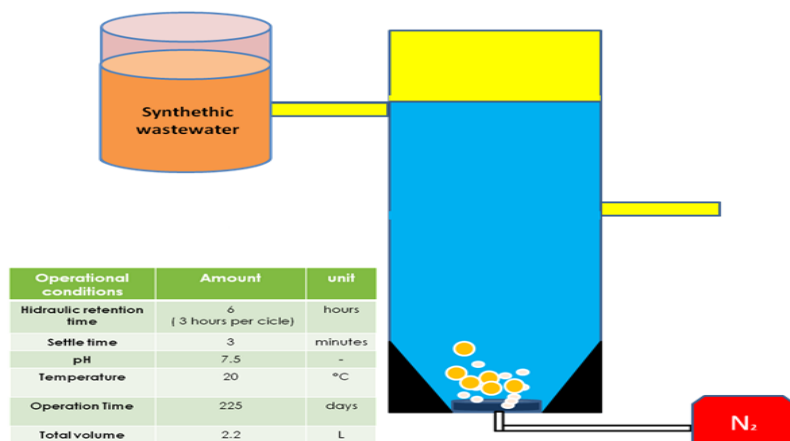


Figura 1 – Esquema del biorreactor utilizado en este estudio.

El biorreactor ha funcionado bajo una configuración secuencial, con un tiempo de retención hidráulica de 6 horas. El sistema funciona por ciclos del siguiente modo: 3 horas de agitación con N_2 gas; 3 minutos de decantación; vaciado del 50% del volumen máximo del biorreactor; llenado del 50% del volumen previamente vaciado con el influente utilizado. El pH se controló a 7,5 y el biorreactor se tuvo en funcionamiento durante 225 días. Al sistema se le fue adicionando agua sintética simulando una composición de agua subterránea con una concentración de nitratos de 100 mg/litro. Sin embargo, la concentración de la fuente de carbono se fue modificando durante el tiempo de operación.

En este sentido, la modificación consistió en una disminución de la concentración de la fuente de carbono (NaAc):

- .- 1 g/L desde el inicio hasta el día 90 de funcionamiento;
- .- 0,5 g/L desde el día 91 al 135;
- .- 0,25 g/L desde el día 136 hasta el día 180;
- .- 0,20 g/L desde el día 181 al día 225.

Todos los demás componentes del agua sintética permanecieron en igual concentración durante el tiempo de operación.

Tabla 1 – Rendimiento físico-químico en el SBR.

Día	90	135	180	225
Nitrito mg-N /L	0	0	12	15
Nitrato mg-N /L	17	26	46	52
Eliminación de Nitrógeno (%)	83	74	42	33

El rendimiento del biorreactor en términos de eliminación de nitrógeno durante todo el tiempo de operación se muestra en la Tabla 1. El sistema experimentó un incremento de la capacidad de eliminación de nitrógeno durante la etapa de formación de la biomasa granular a 1 g/L y 0,5 g/L de NaAc respectivamente.

La concentración de nitritos en el efluente en estas dos etapas era insignificante y la concentración de nitrato estaba relacionada con el nitrógeno total del efluente, mostrando que el sistema eliminó nitrito rápidamente y que la reducción de nitrato fue el factor limitante en el proceso biológico de eliminación de nitrógeno.

No obstante, conforme la concentración de la fuente de carbono fue reduciéndose hasta 0,25 mg/L o más baja, el nitrito comenzó a acumularse en el biorreactor, llegando a disminuir la eliminación de nitrógeno total, que alcanza un valor final en torno al 30-40 %.

Las comunidades microbianas de los dominios *Bacteria*, *Archaea* y *Fungi* han sido analizadas a través de secuenciación de alto rendimiento, para conocer su estructura y su dinámica durante el funcionamiento del sistema a diferentes concentraciones de materia orgánica en el influente. En este sentido, para la recogida de muestras biológicas, se tomaron 100 mL de biomasa del biorreactor cuando se encontraba en condiciones de mezcla completa. Las muestras fueron conservadas a -20°C y se enviaron al Laboratorio RTLGenomics (Lubbock, TX, USA) para el subsiguiente protocolo de secuenciación de alto rendimiento IlluminaMiSeq.

En este sentido, la ordenación de las comunidades microbianas durante el tiempo de experimentación sugirió que había más semejanzas entre las muestras para el dominio *Archaea* que entre los dominios *Bacteria* o *Fungi* (**Figura 2**).

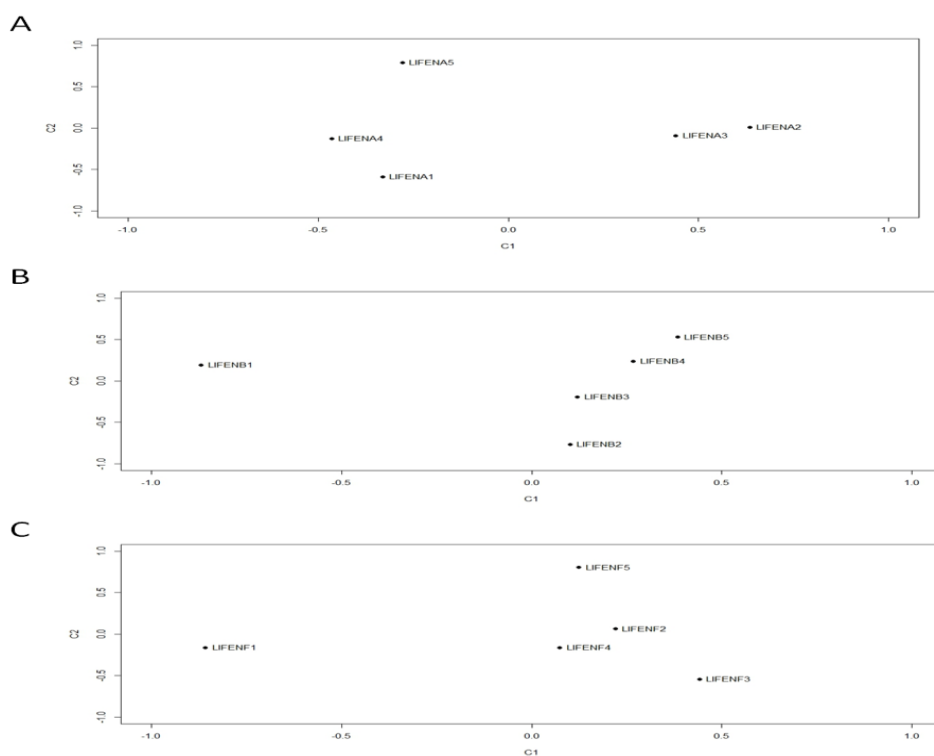


Figure 2 – Descomposición de valores singulares para los dominios *Archaea* (A), *Bacteria* (B) and *Fungi* (C)

Para *Bacteria* y *Fungi*, la muestra inicial fue muy diferente de las demás, sugiriendo que había una adaptación de la biomasa bacteriana y fúngica durante el tiempo de operación del biorreactor. Por otro lado, la descomposición del valor singular para el dominio *Archaea* sugirió que las comunidades de *Archaea* no experimentaron cambios significativos durante el tiempo de operación.

Los miembros de *Archaea* identificados fueron todos del filo *Euryarchaeota*. La importancia de *Archaea* no fue relevante en la muestra N1, dado que solo una lectura de alta calidad se pudo realizar en esa muestra. Los filotipos de *Archaea* dominantes se compartieron en las muestras N2, N3, N4 y N5, y los cambios en la estructura de dicha comunidad consistieron en diferencias en importancia de otras OTUs (unidades taxonómicas operativas), como indican los análisis de descomposición de valores singulares.

Los filos bacterianos identificados en las muestras fueron Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Planctomycetes, Proteobacteria y Verrucomicrobia. Entre ellas, Proteobacteria fue el dominante. Entre las Proteobacteria presentes en el sistema, se encontraron desnitrificadores potenciales dentro de la familia *Burkholderiaceae*. Bacterias de esta familia han sido identificadas como potenciales desnitrificadoras en suelos de paja de arroz y cuencas naturales (Yoshida et al., 2012; Tomasek et al., 2017). La reducción de la concentración de materia orgánica en el influente de 0,5 a 0,25 mg/L cambió la OTU bacteriana dominante, lo que sugiere que los desnitrificadores dominantes en el sistema tienen diferentes afinidades por la materia orgánica.

Los OTUs dominantes dentro del dominio *Fungi* pertenecen al filo Basidiomycota. El predominio de este filo, en biomasa granular y otras tecnologías para el tratamiento de aguas residuales operando en condiciones de baja temperatura ha sido recogido en anteriores estudios (Gonzalez-Martinez et al., 2018a; 2018b) y por tanto, su predominio en este experimento podría explicarse por su adaptación a estas condiciones.

En conclusión, hasta ahora, los resultados obtenidos señalan que la tecnología de lodos granulares es una solución viable para el tratamiento de agua subterránea contaminada por nitrógeno. Los análisis preliminares desarrollados muestran la eficiencia del sistema para eliminar nitrógeno con una concentración de NaAc por encima de 0,5 g/L y la ineficiencia de operar por debajo de esa concentración en materia orgánica, lo cual supuso un giro en los OTUs dominantes. No obstante, serán necesarios más estudios para mejorar el conocimiento de esta tecnología.

Referencias bibliográficas.

- Gonzalez-Martinez, A., Garcia-Ruiz, M.J., Rodriguez-Sanchez, A., Osorio, F., and Gonzalez-Lopez, J. (2016) Archaeal and bacterial community dynamics and bioprocess performance of a bench-scale two-stage anaerobic digester. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100: 6013–6033.
- Gonzalez-Martinez, A., Sihvonen, M., Muñoz-Palazon, B., Rodriguez-Sanchez, A., Mikola, A., and Vahala, R. (2018a) Microbial ecology of full-scale wastewater treatment systems in the Polar Arctic Circle: Archaea, Bacteria and Fungi. *Nature Sci. Rep.* 1–11.
- Gonzalez-Martinez, A., Muñoz-Palazon, B., Maza-Márquez, P., Rodriguez-Sanchez, A., Gonzalez-lopez, J., and Vahala, R. (2018b) Performance and microbial community structure of a polar Arctic Circle aerobic granular sludge system operating at low temperature. *Bioresour. Technol.* 256: 22–29.
- Logsdon, S.D., Cole, K.J. (2018) Soil nutrient variability and groundwater nitrate-N in agricultural fields. *Sci. Total Env.* 627: 39-45
- SheikhyNarany, T., Sefie, A., Aris, A.Z. (2018) The long-term impacts of anthropogenic and natural processes on groundwater deterioration in a multilayered aquifer. *Sci. Total Env.* 630: 931-942
- Tomasek, A., Staley, C., Wang, P., Kaiser, T., Lurndahl, N., Kozarek, J.L., et al. (2017) Increased Denitrification Rates Associated with Shifts in Prokaryotic Community Composition Caused by Varying Hydrologic Connectivity. *Front. Microbiol.* 8: 1–12.
- Yoshida, M., Ishii, S., Fujii, D., Otsuka, S., Senoo, K. (2012) Identification of Active Denitrifiers in Rice Paddy Soil by DNA- and RNA-Based Analyses. *Microbes Environ.* 27: 456–461.