

Experiencias con cultivos puros de bacterias desnitrificantes inoculadas en los sistemas granulares aerobicos.

Jesús González-López, Instituto de Investigación del Agua (Universidad de Granada)

Gran cantidad de recursos hídricos se encuentran afectados por la contaminación de nitratos debido al desarrollo de la agricultura, entre otras actividades, la cual contamina el agua con fertilizantes sintéticos y materia orgánica (Galloway et al., 2008). Aunque los alimentos disponibles han aumentados gracias a estos productos, otros problemas derivados de la agricultura están causando efectos negativos en el medio ambiente como son la contaminación difusa de agua subterráneas por nutrientes. El resultado de la acumulación de estos productos en la tierra y el agua provoca el deterioro del ecosistema. En Europa, la contaminación difusa por nitratos en zonas sensibles fue un objetivo primordial para la Directiva de Nitratos de la Comisión Europea en 1991 (91/676/EC), seguida de la Directiva Marco de Agua del año 2000 (2000/60/EC). Este tipo de contaminación puede ser un riesgo para la salud de las poblaciones humanas que ingieran o estén en contacto con aguas contaminadas con nitratos.

Distintas tecnologías tratan de solucionar y evitar el consumo de este tipo de agua subterránea contaminada. Entre ellas, el proyecto ECOGRANULARWATER incorpora una innovadora biotecnología de tratamiento basado en sistemas aeróbicos granulares, los cuales eliminan una amplia variedad de contaminantes presentes en aguas residuales como nitrógeno y fósforo (Gonzalez-Martinez et al., 2018). La posibilidad de utilizar cepas de microorganismos que sean capaces de reducir el nitrato y los pesticidas es una apuesta para la investigación científica relacionada con esta problemática ambiental, que el proyecto ECOGRANULARWATER está desarrollando en la actualidad.

Las cepas bacterianas desnitrificantes son capaces de reducir el nitrato generando óxidos de nitrógeno o nitrógeno molecular y, específicamente, las especies que contienen en su genoma el denominado gen *nosZ* son capaces de transformar óxidos de nitrógeno (gases de efecto invernadero) a nitrógeno molecular, evitando la emisión de estos gases tan extremadamente perjudiciales. La posible utilidad de estas cepas bacterianas para el desarrollo de sistemas aeróbicos granulares son una promesa para el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas por nitratos debido al bajo coste energético que representa frente a otros tratamientos como la ósmosis inversa. Para la realización del proyecto LIFE ECOGRANULARWATER de sistemas aeróbicos granulares, hemos utilizado distintas cepas bacterianas con gen *nosZ*, con el objeto de realizar la desnitrificación completa del nitrato consiguiéndose de esta forma una eliminación de este compuesto en el agua subterránea y al mismo tiempo reducir a cero la emisión de óxido nitroso.

Específicamente para la acción A2 de este proyecto, se construyeron biorreactores secuenciales (**Figura 1**), basados en 4 etapas: aireación, decantación de la biomasa, vaciado del agua tratada y llenado con agua contaminada. El volumen de cada uno de los biorreactores fue de 2.3 L, aireados desde la base del reactor mediante burbuja fina y con una caudal de aire de 4.5 L min⁻¹. El tiempo de retención hidráulico fue de 12 horas. El agua de entrada fue sintética, simulando la composición de un agua subterránea contaminada por nitratos. Los microorganismos

encargados de eliminar nitrato necesitaron carbono orgánico, seleccionándose el metanol y el acetato sódico. En este sentido, en diferentes ensayos la concentración de materia orgánica fue disminuyéndose durante la operación hasta encontrar la cantidad mínima necesaria que permita la eliminación de los contaminantes, y así optimizar los costes económicos que esto supone. Los rendimientos de eliminación de nitratos fueron estudiados en función de las concentraciones de materia orgánica y nitratos en diferentes fases que son mostradas en la Tabla 1.

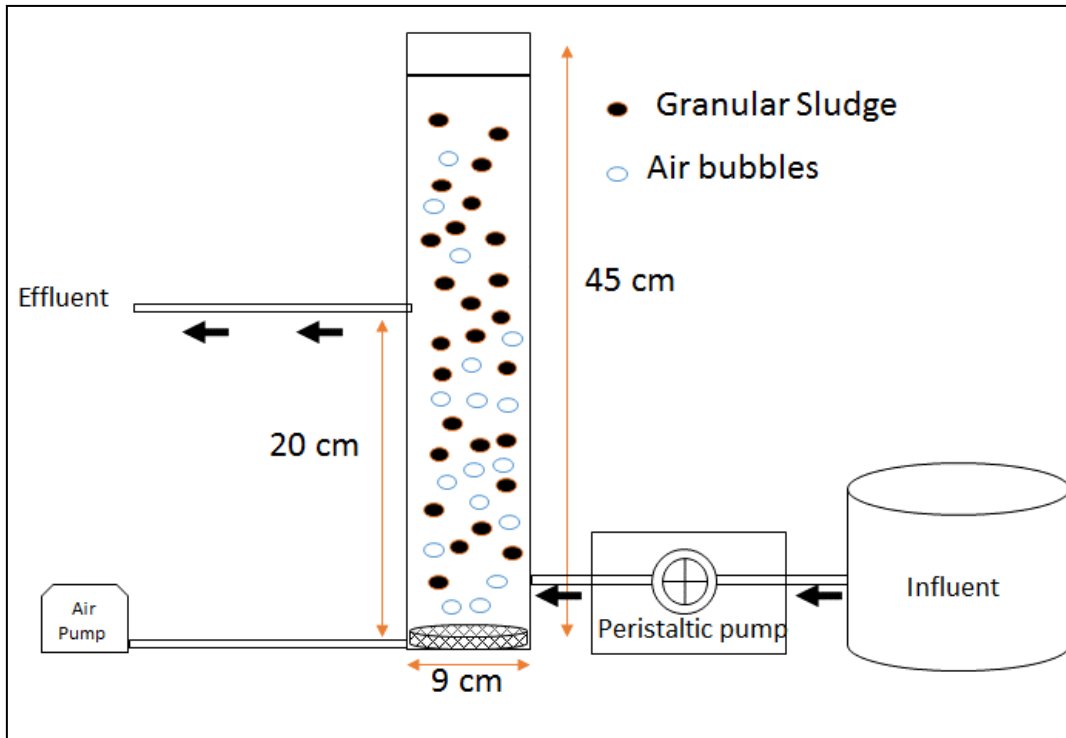


Figura 1.- Diseño de los biorreactores aeróbicos granulares.

Tabla 1.- Fases de la operación de los sistemas aeróbicos granulares en relación a la composición del agua sintética de entrada.

Periodo	Acetato sódico (mgL ⁻¹)	Nitrato (mgL ⁻¹)	Tiempo (d)
I	900	200	60
II	400	100	30
III	300	100	30

El periodo de experimentación se realizó principalmente para la fase de puesta en marcha de las plantas piloto, con la finalidad de establecer el crecimiento y la estabilización de la biomasa granular. Los rendimientos de eliminación de nitrato para cada una de las cuatro cepas fueron diferentes, al igual que el proceso de granulación se produjo con evidentes diferencias para cada una de las bacterias. En la Tabla 2 se reflejan las propiedades que determinan la biomasa granular, las cuales son la velocidad de decantación y el tamaño medio del gránulo para las cepas alimentadas con acetato sódico como fuente de carbono.

Tabla 2.- Tamaño medio y velocidad de decantación de la biomasa granular en cada uno de los biorreactores

Biorreactor	Propiedad	Día 30	Día 60	Día 90	Día 120
Cepa I	Tamaño(mm)	1,79	3,47	3,94	4,02
	Vel (mh-1)	16,41	43,53	60,24	67,34
Cepa II	Tamaño(mm)	-	4,56	5,67	-
	Vel (mh-1)	-	18,32	24,45	-
Cepa III	Tamaño(mm)	-	4,65	8,37	-
	Vel (mh-1)	-	21,056	31,168	-
Cepa IV	Tamaño(mm)	-	-	-	-
	Vel (mh-1)	-	-	-	-

La cepa IV se descartó debido a que la bacteria no fue capaz de conformar una biomasa granular de manera estable, la presencia de microorganismos filamentosos dificultó el proceso de operación. Los estudios con las cepas II y III aun se encuentran en experimentación. La **Figura 2** y **Figura 3** refleja los gránulos formados tras 90 días de operación en los biorreactores inoculados con la Cepa I y Cepa III, respectivamente.

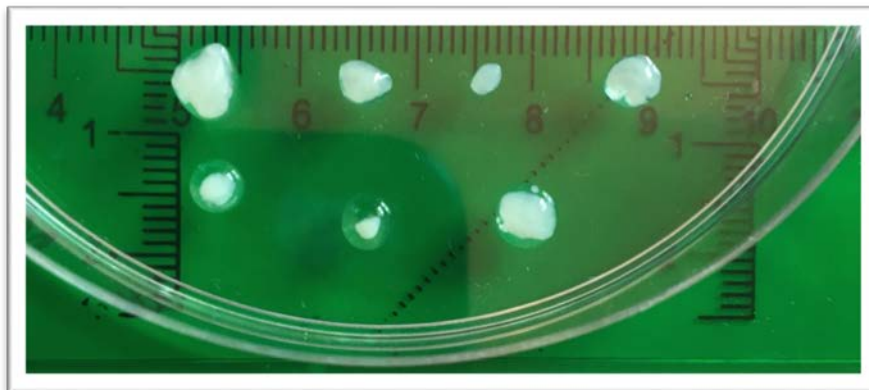


Figura 2.- Gránulos formados en el biorreactor inoculado con la cepa I.

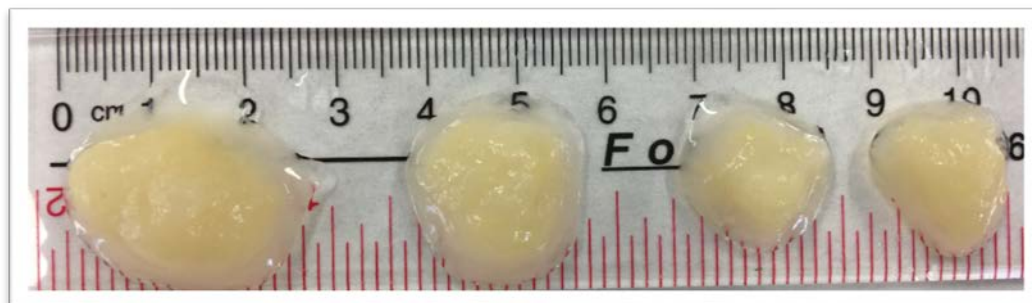


Figura 3.- Gránulos formados en el biorreactor inoculado con la cepa III

Los resultados de eliminación de nitrógeno con acetato de sodio como fuente de carbono para cada una de las cepas finalmente seleccionadas debido a su capacidad de granulación, son

mostrados en la Tabla 3. Actualmente se sigue en operación, mostrándose los resultados de eliminación de nitrógeno correspondientes al día 15 de operación de esta fase.

Tabla 3. Eliminación de nitrógeno para las cepas durante la operación con acetato de sodio como fuente de carbono.

Biorreactor	Periodo	Eliminación de nitrato (%)
Cepa I	Fase I	87%
	Fase II	92%
	Fase III	44%
Cepa II	Fase I	81%
	Fase II	96%
	Fase III	-
Cepa III	Fase I	87%
	Fase II	92%
	Fase III	-

En conclusión, los sistemas aeróbicos granulares inoculados con cultivos puros de bacterias desnitrificantes son una potencial tecnología de eliminación de nitratos presentes en aguas subterráneas, debido a su alta capacidad de remoción de nutrientes, a su propiedades granulares, diseño compacto y bajo coste energético y económico. La acción A2 está en fase de laboratorio sin concluir y por ello, no se han establecido los límites mínimos de concentración de materia orgánica que adicionar a la entrada para que el sistema genere un agua de salida que cumpla los requisitos de agua potable para el consumo humano. Por otro lado, la selección de la fuente de materia orgánica no ha sido concluida al necesitar una visión global de los resultados en términos físico-químicos y económicos.

Referencias bibliográficas

European Commission, (1991). Directive 91/676/EEC. Council directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. Off. J. Eur. Common. L 375, 1–8. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1991:375:0001:0008:EN:PDF>.

Galloway, J.N., Townsend, A.R., Erisman, J.W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J.R., Martinelli, L.A., Seitzinger, S.P., Sutton, M.A., (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science* 320, 889–892.

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.

Wu, J., & Sun, Z. (2016). Evaluation of shallow groundwater contamination and associated human health risk in an alluvial plain impacted by agricultural and industrial activities, mid-west China. *Exposure and Health*, 8(3), 311-329.