

**Resumen**

El tratamiento biológico convencional de aguas residuales está dirigido habitualmente a la biodegradación de la materia orgánica. Sin embargo, en algunos casos se requiere que la concentración de nitrógeno y fósforo en el efluente de la estación de tratamiento sea baja. En este trabajo se describe la eliminación biológica de nitrógeno y fósforo, destacando la biodiversidad, específica y metabólica, y las interacciones entre microorganismos.

**Palabras clave:**

Aguas residuales, amonificación, biodiversidad, eliminación de nutrientes, nitrificación, desnitrificación, metabolismo del fósforo, tratamiento biológico.

**Abstract**

*Biological wastewater treatment.*

**II. Nutrient elimination.**

Most biological wastewater processes are designed for carbonaceous compounds removal. In some cases, nutrient removal is required. In this work, biodiversity and microbial interactions of nitrogen and phosphorus removal are described.

**Keywords:**

Wastewaters, Ammonification, biodiversity, biological treatment, carbon removal, denitrification, nitrification, phosphorus metabolism.

# Tratamiento biológico de aguas residuales

## II. Eliminación de nutrientes

Por: **Carmen Arnáiz, Laura Isac y Julián Lebrato**

Grupo de Tratamiento de Aguas Residuales. Escuela Universitaria Politécnica. Universidad de Sevilla.

C/. Virgen de África 7. 41011 Sevilla.

Tel. / Fax: 954 55 28 48 / 954 28 27 77. E-mail: lebrato@cica.es

### 1. Introducción

El tratamiento biológico convencional de aguas residuales está dirigido habitualmente a la biodegradación de la materia orgánica. Sin embargo, en algunos casos se requiere que la concentración de nitrógeno y fósforo en el efluente de la estación de tratamiento sea baja, bien para proteger los ecosistemas acuáticos de la eutrofización, bien para proteger las masas de aguas destinadas a la obtención de agua potable.

El crecimiento masivo de algas es uno de las consecuencias de la eutrofización de los ríos y otras aguas superficiales y es el responsable de la degradación de la calidad del agua, ya que produce olor y sabor desagradables. Este crecimiento hace también que se dificulten las labores de pesca y disminuyan las posibilidades de baño. El desarrollo excesivo de algas consume oxígeno disuelto una vez que éstas mueren y son descompuestas por las bacterias aerobias, provocando la mortandad masiva de peces y otros organismos

acuáticos. Además, las algas producen toxinas que pueden constituir un serio problema en el abastecimiento de agua potable (Codd y Bell, 1985).

En este trabajo se describe la eliminación biológica de nitrógeno y fósforo, destacando la biodiversidad, específica y metabólica, y las interacciones entre microorganismos.

### 2. Eliminación biológica de nitrógeno

El nitrógeno está presente en las aguas residuales fundamentalmente en forma reducida, como nitrógeno amoniacal y nitrógeno orgánico: urea, aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos y algunos compuestos heterocíclicos nitrogenados.

Durante la oxidación biológica del carbono orgánico gran parte del nitrógeno orgánico es convertido en nitrógeno amoniacal. Este proceso se conoce como amonificación.

Para conseguir la eliminación de nitrógeno amoniacal es necesaria la presencia en el proceso biológico de

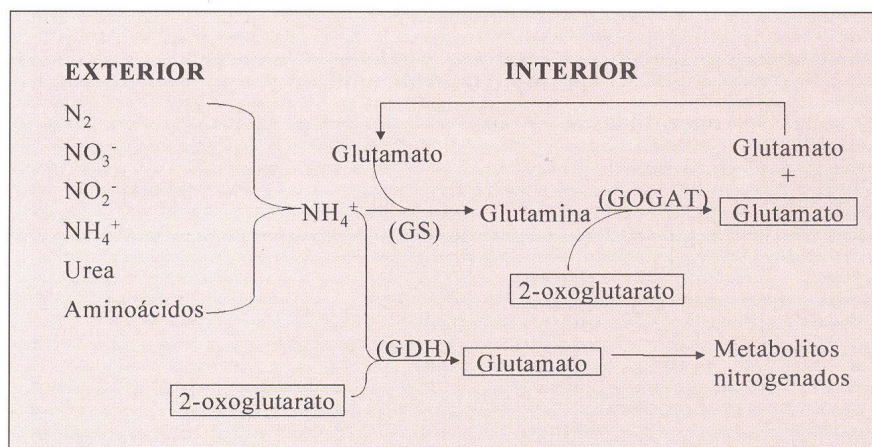


Fig. 1. Vías de incorporación de amonio en bacterias.

depuración de microorganismos específicos que dan lugar a los procesos de nitrificación-desnitrificación.

Hay que destacar que en cualquier sistema de depuración biológica existe siempre una eliminación de nitrógeno por asimilación, es decir, para la formación de biomasa. En la mayoría de las bacterias, el amonio es incorporado a esqueletos carbonados vía glutamato deshidrogenasa (GDH) y/o empleando la ruta glutamina sintetasa (GS) y glutamato sintetasa (GOGAT) (Figura 1). La primera de estas rutas sólo tiene lugar cuando las concentraciones

de amonio son altas, debido a la elevada Km de la enzima GS para el amonio.

### 3. Amonificación

El primer paso de este proceso de amonificación es la hidrólisis de los compuestos orgánicos por microorganismos heterótrofos aerobios y anaerobios, con liberación de aminoácidos y bases orgánicas nitrogenadas, respectivamente. Estos compuestos más sencillos son luego convertidos en amonio. En este proceso, el nitrógeno no cambia su estado de oxidación.

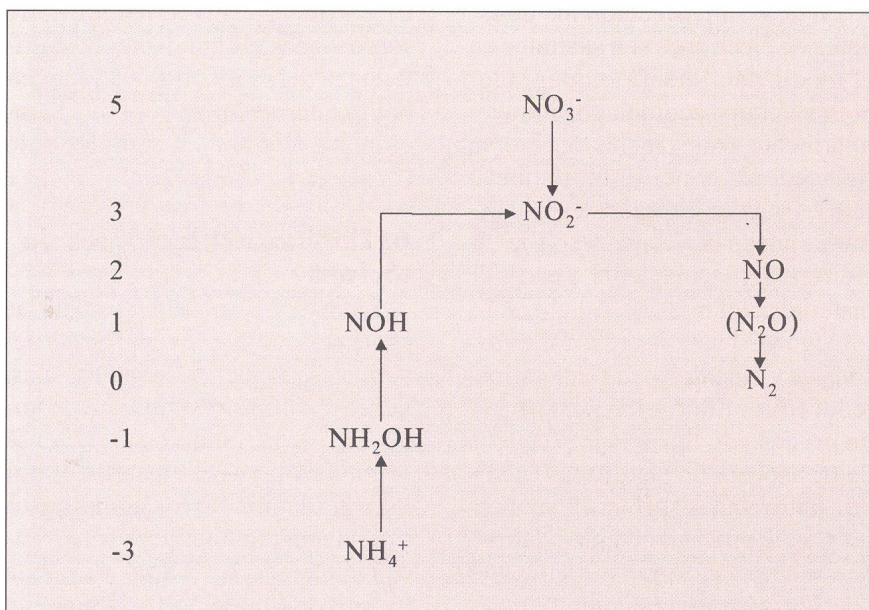


Fig.2. Cambios en el estado de oxidación del nitrógeno durante la nitrificación y la desnitrificación (De J. Wanner, 1997).

Algunos aminoácidos son convertidos en aminas

La descomposición de las proteínas bajo condiciones anaerobias (putrefacción) no conduce usualmente a la liberación inmediata como amoníaco de todo el nitrógeno amónico. En lugar de esto, algunos aminoácidos son convertidos en aminas. La descomposición putrefacta es realizada de forma característica por bacterias anaerobias formadoras de endospora (género *Clostridium*). En presencia de oxígeno, las aminas son oxidadas por otras bacterias con liberación de amoníaco.

### 4. Nitrificación

La conversión de amoníaco en nitrato es realizada en aguas residuales por dos grupos altamente especializados de bacterias quimioautótrofas aerobias estrictas (*Nitrosomonas* y *Nitrobacter*).

La nitrificación tiene lugar en dos pasos: en el primero, el amoníaco es oxidado a nitrito (*Nitrosomonas*); en el segundo, el nitrito es oxidado a nitrato (*Nitrobacter*). Como resultado de las actividades combinadas de estas bacterias, el amoníaco liberado durante la oxidación biológica de la materia orgánica es rápidamente oxidado a nitrato. En este proceso, el estado de oxidación del nitrógeno cambia gradualmente de -3 a +5, como se indica en la Figura 2.

El primer paso es la oxidación del nitrógeno amoniacal a hidroxilamina, reacción endérgica catalizada por una monooxigenasa. La energía es producida únicamente en los pa-

es producida únicamente en los pasos siguientes, es decir, en la oxidación de la hidroxilamina y del nitrito. En el último paso, los electrones se transfieren desde el nitrito al oxígeno molecular vía citocromo  $a_1$ .

La literatura referente a eliminación biológica de nitrógeno siempre hace referencia a que las bacterias nitrificantes son aerobias estrictas. Sin embargo, el proceso de nitrificación puede llevarse a cabo en reactores biológicos con algunas horas de anoxia o anaerobiosis. La maquinaria enzimática de las bacterias nitrificantes es, por tanto, más compleja de lo que tradicionalmente se ha pensado. Así, por ejemplo, Bock et al. (1988) demostraron experimentalmente el crecimiento de una especie de *Nitrobacter* en ausencia de oxígeno disuelto.

### 5. Desnitrificación

Muchas bacterias aerobias pueden utilizar nitratos en lugar de oxígeno como aceptor final de electrones si las condiciones son de anaerobiosis. En estas condiciones se habla de anoxia.

De este modo, siempre que la materia orgánica es oxidada en el agua y se agota el oxígeno como resultado de la respiración aeróbica microbiana, algunos de estos anaerobios facultativos continuarán respirando la materia orgánica si hay nitrato presente, es decir, mediante respiración anóxica. Como consecuencia, el nitrato se reduce. Algunas bacterias (por ejemplo, *Escherichia coli*) sólo son capaces de reducir el nitrato hasta nitrito y el nitrito hasta amoníaco, pero una gran variedad de eubacterias y ciertas arqueobacterias son capaces de realizar una cascada de dos respiraciones anaeróbicas subsecuentes, por las que el ion nitrato se reduce a óxido nitroso gaseoso ( $N_2O$ ) y luego a nitrógeno ( $N_2$ ) (Hochstein y Tomlinson, 1988). Por este proceso, denominado desnitrificación, el nitrógeno combinado se elimina del agua, liberándose  $N_2$  gaseoso a la atmósfera. Se trata de un proceso respira-

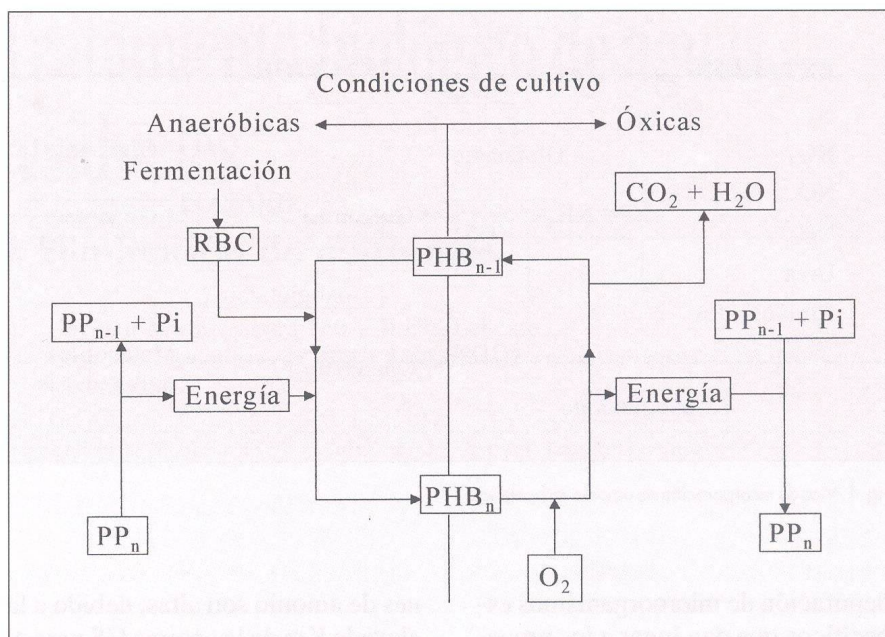


Fig. 3. Transporte de energía entre condiciones óxicas y anaeróbicas. RBC, readily biodegradable compounds (De J. Wanner, 1997).

torio donde los óxidos de nitrógeno sirven de aceptores de electrones, en reacciones acopladas a la síntesis de ATP.

Las enzimas asociadas a la desnitrificación se sintetizan en anaerobiosis, aunque este proceso puede realizarse en presencia de oxígeno (Robertson y Kuenen, 1984). Por otro lado, la presencia de nitrato, o de otros óxidos de nitrógeno, no es necesaria para la inducción de estas enzimas.

En la desnitrificación los donadores de electrones son sustratos en el medio fácilmente biodegradables, sustratos acumulados intracelularmente, o sustancias de reserva (por ejemplo el poli- $\beta$ -hidroxibutirato). Una vez agotados estos sustratos, puede darse una desnitrificación endógena, más lenta, a partir de material celular.

Algunas bacterias (ciertos *Clostridium* y *Pseudomonas* entre otros) reducen el nitrato a ion amonio por un proceso no ligado a una cadena de transporte de electrones (no es por tanto una respiración anaerobia). Este proceso origina cantidades de amoníaco que exceden las requeridas para el crecimiento (no es por tanto una reducción asimilatoria de nitrito). El valor de esta reduc-

ción es la desviación de electrones del NADH al nitrito en vez de a un compuesto orgánico. En consecuencia, los productos orgánicos de la fermentación están más oxidados y la obtención de ATP por fosforilación del sustrato resulta incrementada.

Si bien el proceso de nitrificación es bastante conocido desde el punto de vista de su mecanismo y cinética (Stensel y Barnard, 1992), no lo es tanto el proceso de desnitrificación. En particular, el efecto inhibitorio sobre los microorganismos desnitrificantes del óxido nítrico, un metabolito intermedio de la desnitrificación, no es aún bien comprendido (Casey et al., 1994).

### 6. Eliminación biológica de fósforo

La mayor parte del fósforo de las aguas residuales proviene de los detergentes domésticos e industriales, ya sea en forma inorgánica u orgánica. El fósforo como ortofosfato se origina en las aguas residuales por la degradación de los compuestos orgánicos que tienen fósforo (ácidos nucleicos, fosfolípidos) y de la hidrólisis de los polifosfatos que son comunes en los detergentes comerciales.

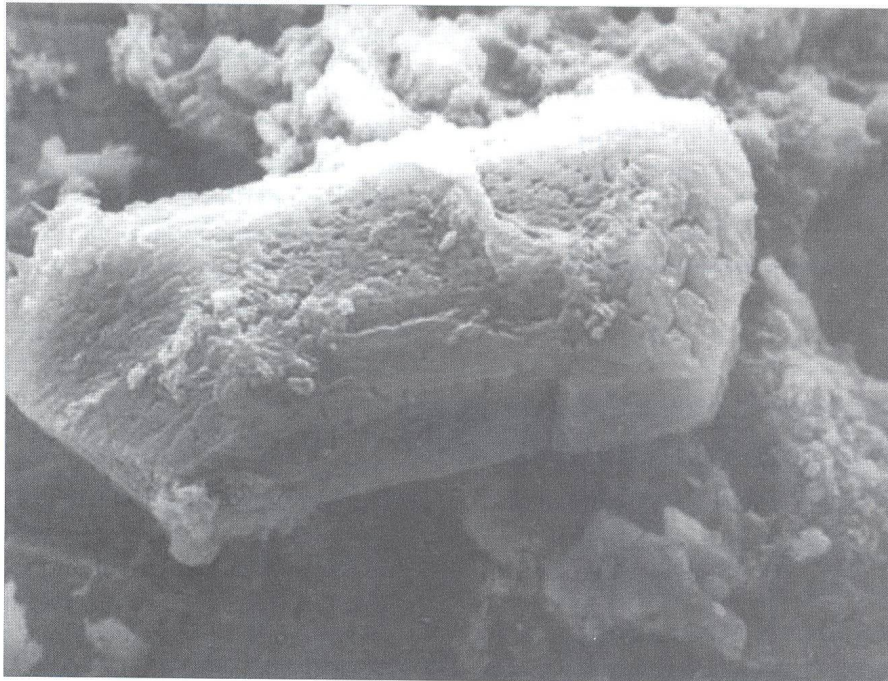


Fig. 4. Cristal de estruvita procedente de un digestor anaerobio, observado al microscopio electrónico de barrido (1.700x) (De J. Lebrato, 1990).

En un tratamiento biológico de eliminación de materia orgánica, el fósforo es utilizado en la síntesis de nuevos componentes celulares. La eliminación biológica de fósforo consiste en el enriquecimiento del cultivo en bacterias capaces de acumular ortofosfatos a un nivel superior al requerido para el metabo-

lismo celular normal (*luxury uptake*) (Pauli, 1994). Este proceso (EBPR –*enhanced biological phosphorus removal*–), consigue concentraciones de fósforo en peso seco de biomasa 20 veces superior a la habitual. Representa además, una vía muy eficiente de transferencia de energía entre condiciones de cultivo aereo-

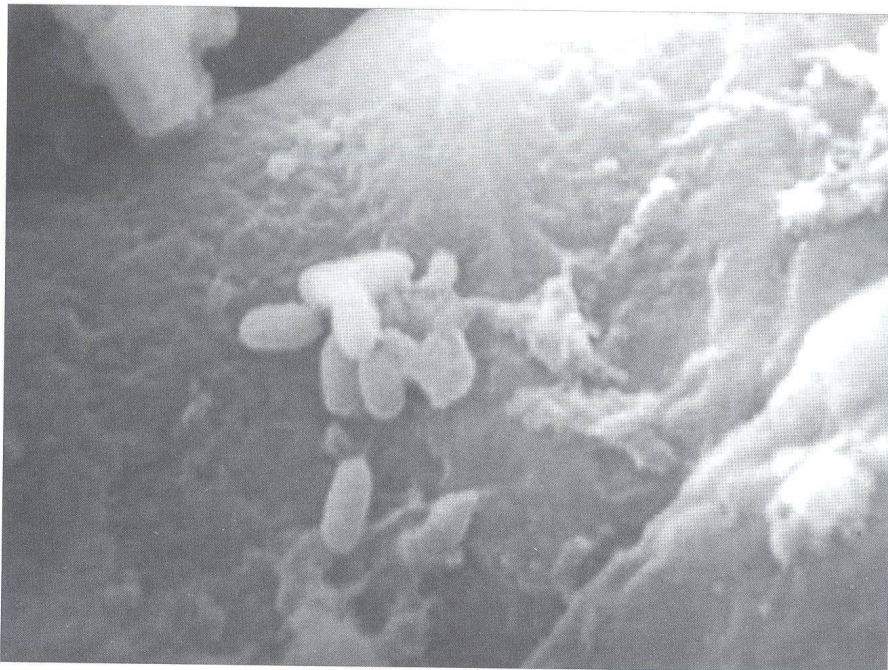


Fig. 5. Detalle de la microfotografía electrónica de la Figura 4, poniendo de manifiesto el tamaño de las bacterias respecto al del cristal de estruvita (4.200x) (De J. Lebrato, 1990).

*Algunas bacterias*

*actúan como*

*fuentes de*

*energía*

bias y anaerobias. Esta transferencia de energía mediante compuestos orgánicos de reserva (típicamente poli-b-hidroxitirato, PHB) y polifosfatos (PP) se muestra en la **Figura 3**.

El fósforo capturado en exceso en ambiente aerobio, es almacenado en forma de polifosfatos estabilizados con iones  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$ . Estos polifosfatos, junto con material de naturaleza lipídica y proteica, forma gránulos intracelulares. La función primaria de estos gránulos es servir como fuente de fósforo durante periodos de carencia del mismo. Sin embargo, en algunas bacterias actúan como fuente de energía. Es en este compuesto, reserva de energía intracelular, en el que se basa el mecanismo de selección metabólica de bacterias capaces de acumular fosfatos en ambiente anaerobio.

Son muchos los organismos capaces de acumular  $\text{P}_i$  en exceso en forma de polifosfato en condiciones desfavorables tales como pH bajos, anaerobiosis o tras períodos de carencia de azufre o fosfato. Sin embargo, la capacidad de acumular fosfato en procesos de tratamiento de aguas residuales mediante el proceso EPBR es atribuida principalmente al género *Acinetobacter*. Otros microorganismos que podrían contener gránulos de polifosfatos y así contribuir al EPBR pertenecen a los géneros *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Klebsiella*, *Moraxella* y *Pseudomonas*.

Los polifosfatos son también los causantes de la precipitación de estruvita,  $\text{PO}_4\text{MgNH}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , en digestores anaerobios (Figura 4 y 5). Los digestores anaerobios contienen iones en solución, por lo que determinadas sales inorgánicas pueden precipitar en el interior de los reactores cuando se alcanzan los productos de solubilidad.

El magnesio necesario para formar la estruvita puede proceder bien de la alimentación bien de los subproductos del proceso. También puede ser aportado por minerales de arcilla empleados como soporte para los microorganismos en los digestores o existentes en el influente. El ión amonio puede ser aportado al medio por la biodegradación anaerobia de las proteínas (Lebrato, 1990; Pérez Rodríguez et al., 1992; Maqueda et al., 1994).

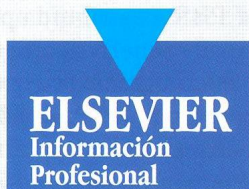
El ion fosfato necesario para la precipitación de la estruvita puede proceder, directamente, del metabolismo anaerobio de los microorganismos que se encuentran en el digestor: la hidrólisis de los gránulos intracelulares de polifosfatos de ciertas bacterias. Los polifosfatos actúan como almacén de energía ya que pueden fosforilar el ADP por la reacción inversa de la polifosfatoquinasa (PPK). El acetilfosfato formado es transformado en acetilcoenzima, liberando fosfato al citoplasma bacteriano, que posteriormente es excretado al medio extracelular a través de la membrana (Kulaev, 1990).

La precipitación de estruvita puede llegar a constituir un auténtico problema en estaciones depuradoras de aguas residuales. Horesstein et al. (1990) describe los problemas derivados de su precipitación en la E.D.A.R. Hyperion de Los Ángeles (U.S.A.).

### Bibliografía

- Bock, E., Wilderer, P.A. y Freitag, A. (1988). Growth of Nitrobacter in the absence of dissolved oxygen. *Wat. Res.*, 22, 245-250.
- Casey, T.G., Wentzel, M.C., Ekama, G.A., Loewenthal, R.E., y Marais, G.R. (1994). An hypothesis for the cause and control of anoxic-aerobic (AA) filament bulking in nutrient removal activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.*, 29 (7), 203-212.
- Codd, G.A. y Bell, S.G. (1985). Eutrophication in freshwaters. *Wat. Pollut. Control* 84, 225-232.
- Hochstein, L.I. y Tomlinson, G.A. (1988). The enzymes associated with denitrification. *Ann. Rev. Microbiol.*, 42, 231-261.
- Horenstein B.K., Hernandez, G.L., Rasberry G. y Grosse J. (1990). Successful dewatering experience at Hyperion wastewater treatment plant. *Wat. Sci. Technol.*, 22, 183-191.
- Kulaev, I.S. (1990). The physiological role of inorganic polyphosphates in microorganisms: some evolutionary aspects. En *Novel biodegradable microbial polymers*. E.A. Dawes (Ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Lebrato, J. (1990). Obtención de biogás a partir de residuos orgánicos urbanos, experiencias en lecho fluidizado. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla.
- Maqueda, C., Perez Rodriguez, J.L. y Lebrato, J. (1994). Study of struvite precipitation in anaerobic digesters. *Wat. Res.*, 28, 411-416.
- Pérez Rodríguez, J.L., Maqueda, C., Lebrato, J. y Carretero, M.I. (1992). Influence of clay minerals, used as supports in anaerobic digester, in the precipitation of struvite. *Wat. Res.*, 26, 497-506.
- Robertson, L.A. y Kuenen, J.G. (1984). Aerobic denitrification: a controversy revived. *Arch. Microbiol.*, 139, 351-354.
- Stensel, H.D. y Barnard, J.L. (1992). Principles of biological nutrient removal. En *Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal*, 25-84. C.W. Randall Ed. Technomic Publishing Co., Lancaster, P.A.
- Wanner, J. (1997). Microbial populations dynamics in biological wastewaters treatment plants. En *Microbial Community analysis: the key to the design of biological wastewater treatment systems*. T.E. Cloete y N.Y.O. Muyima Eds. University Press. Cambridge.

## EQUIPOS PRODUCTOS INDUSTRIALES



27.000 ejemplares distribuidos gratuitamente  
entre el sector industrial

**Control OJD - Distribución nominativa**

Solicite información y un ejemplar de muestra

**Elsevier Información Profesional, S.A.**

Entença, 28 Entlo. - 08015 Barcelona - Tel.: 292 46 38