## IMPORTANCIA DE BIOFILMS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

CLAUDIA ETCHEBEHERE LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y GENÓMICA MICROBIANA IIBCE



#### Esquema de la clase

- Sistemas de tratamiento de aguas residuales
- Tipos de sistemas
- Reactores aerobios
- Reactores de remoción de Nitrógeno
- Reactores anaerobios

## Ciclo del agua



#### Aguas residuales

Industria	Concentración DBO mg/L
Láctea	500-4000
Mataderos	15000-20000
Vitivinícola	600-2000
Lavadero de lana	2000-5000
Doméstica	200-500
Límite máximo aceptado	Menos de 10; 5 o 3

- Parámetros controlados: pH, OD, DBO5, aceites, grasas, detergentes, amoníaco libre, nitratos, fósforo total, sólidos suspendidos, etc.
- Vertidos líquidos industriales, Decreto 253/79 (reglamenta al Código de Aguas, Ley Nº 14.859) el cual es específico para cursos de agua.

## Composicion de las aguas resiudales

- Carbohidratos
- Proteínas
- Lípidos
- Compuestos recalcitrantes

- Cómo los eliminamos?
  - Degradación biológica aerobia
  - Degradación anaerobia





#### Sistemas de tratamiento aerobios

Respiración aerobia

 $C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \implies 6 CO_2 + 6 H_2O + 38 ATP$ 

• Materia orgánica +  $O_2 = O_2 + H_2O + Crecimiento de biomasa$ 

#### Se gasta energía y se genera lodos



## Sistemas de lodos activados



ure 2. Schematic of a typical activated sludge system [6].



## Formación de flóculos

- En sistemas de lodos activados los organismos se agrupan formando flóculos.
- La formación de flóculos es fundamental para la sedimentación (sedimentador)
- Los flóculos se forman por una red de filamentos a la cual se adhieren microorganismos que segregan exopolímeros (bacterias formadoras de flóculos).





#### Floculación



- Como las bacterias filamentosas crecen mas lento al principio se forman flóculos pequeños y redondeados (integrados solo por bacterias floculantes)
- Al crecer los filamentos forman la red en la cual se adhieren las bacterias floculantes, estos flóculos tienen una morfología variable y son mas grandes.
- Los filamentos producen la unión de varios flóculos se producen flóculos mas grandes.

## Bulking filamentoso

- Es uno de los principales problemas de sistemas de lodos activados
- El sobrecrecimiento de bacterias filamentosas causa flóculos con menor densidad que se flotan.
- El crecimiento desmedido causa un gran aumento de la biomasa del reactor.







#### Reactores con soporte



Figure 4. Overview of common configurations for biofilm wastewater treatment

Mayor cantidad de biomasa en el reactor No se necesita sedimentador externo

## Reactopres de biodiscos







## Gránulos aerobios





#### Formación de biofilms



Figure 5. Schematic representation of the steps involved in biofilm formation. 1. Formation of conditioning film on the surface, 2. initial adherence of bacterial cells, 3. irreversible attachment of bacteria, 4. maturation of the biofilm, 5. detachment.

#### La superficie selecciona el tipo de microorganismo

Sofia Andersson (2009): Characterization of Bacterial Biofilms for Wastewater Treatment. School of Biotechnology, Royal Institute of Technology (KTH), Sweden.

#### Limitaciones en el transporte de sustrato



Esta limitación puede ser utilizada para favorecer un proceso en varias etapas.

**Figure 6.** The transport limitations in a diffusion controlled biofilm leads to concentration gradients of both substrates and metabolic products within the biofilm, thus affecting the biofilm activity.

Sofia Andersson (2009): Characterization of Bacterial Biofilms for Wastewater Treatment, School of Biotechnology, Royal Institute of Technology (KTH), Sweden

#### Sistemas de remoción de Nitrógeno

- Aguas residuales con alto contenido en proteínas (industria lechera, curtiembres, industria cárnica).
- Al ser tratadas en los sistemas convencionales de tratamiento liberan grandes cantidades de amonio.
- Es necesario un post-tratamiento para completar la eliminación de la contaminación y cumplir con las normas de vertido.





#### Ciclo del Nitrogeno

•Nitrificación (oxidación aerobia del amonio a nitrato)

Desnitrificación (reducción del nitrato a N2 en condiciones anóxicas).



## Nitrificación

- Proceso aeróbico en dos pasos oxidación de amonio y de nitrito
- Autótrofo, utilizan CO2 como fuente de Carbono
- Bajo rendimiento celular
- Crecimiento lento
- Difícil de cultivar
- En general en baja proporción



## Oxidación de amonio y de nitrito en dos pasos

NH4+

NO2-

02

02

- Géneros predominantes
- Oxidantes de amonio
- AOB (Bacterias) Nitrosomonas Nitrosospira
  - Nitrosococcus
- AOA (Archaeas) Nitrososphaera viennensis Candidatus Nitrosopshaera gargensis
- Oxidantes de nitrito (NOB) Nitrobacter Nitrospira Nitrospina



NO3-

H<sub>2</sub>O

## Desnitrificación

- Proceso anóxico pero la mayoría puede utilizar también oxígeno.
- En general si hay oxigeno no hay desnitrificacion.
- Heterótrofos, utilizan compuestos orgánicos,
- (acetato, succinato, etanol)
- Algunos pueden utilizar H2 o Sulfuro
- Rendimiento celular alto, crecimiento rápido



$$\zeta \zeta$$
  
NO<sub>3</sub>  $\rightarrow$  NO<sub>2</sub>  $\rightarrow$  NO  $\rightarrow$  N<sub>2</sub>O  $\rightarrow$  N<sub>2</sub>

Materia organica CO2

Alta diversidad

## ¿Cómo se pueden acoplar los dos procesos?

#### Nitrificación

Proceso aerobio litótrofo. NH4+ NO3-

Desnitrificación

Proceso anóxico heterófico. NO3- N2

#### Sistemas de remoción de N

#### Sistemas en dos etapas



#### Sistemas SBR (sequencing batch reactors)



## Proceso Anammox (anaerobic ammonia oxidation)





Descubierto al final de 1986 en un proceso de tratamiento de efluentes. Muy recientemente se ha descubierto que anammox es una parte significativa (hasta el 70%) del ciclo del N en los océanos. Es necesario tener nitrito y amonio en la proporción correcta.

#### Proceso autótrofo

#### Ahorro de aireación

No se debe agregar materia orgánica

#### Sistemas combinados



Sistema de aeriacion tubular

#### Sistemas combinados



http://www.aaees.org/e3scompetition/2015honor-research.php

#### Tratamiento anaerobio de aguas residuales



## Reactores metanogenicos







No se utiliza energía Se genera metano Se genera menos lodos

#### Reactores UASB





Upflow Anaerobic Sludge Bed (UASB)

## Gránulos metanogénicos



A) Hulshoff Pol et al., 2004. B) FISH de secciones de gránulos mesófilos con EUB338 marcada con FLUOS y ARC915 marcada con rodamina. C) Micrografía electrónica de barrido de gránulos mesófilos [Sekiguchi et al., 1999].



- Transferencia de H+ interespecies (Favorece la acetogénesis)
- Protección a variación de pH, tóxicos y [sustrato].
- Retención de la biomasa

## Producción de hidrógeno como combustible limpio

- No produce gases de efecto invernadero
- Alta eficiencia de conversión: 83%
- Producción a partir de renovables: electrólisis, gasificación de biomasa, fermentación oscura, etc.
- Posibilidad de generación local



#### Producción de hidrógeno por fermentación oscura



## Microorganismos productores de hidrógeno

#### Productores de H2

#### **Firmicutes**

Clostridium Ethanoligenens Thermoanaerobacter

Delta Proteobacteria Enterobacteriaceae

Thermotogales Thermotoga Kosmotoga



#### Consumidores de H2

Methanogens (hydrogenotrophic)

Homoacetogens

#### **Competidores**

Lactic acid bacteria

# Reactores de producción de hidrógeno

- pH ácido
- Alta carga orgánica
- Bajo tiempo de residencia hidráulico



Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey

V. Perna<sup>4,b</sup>, E. Castello<sup>6,b,\*</sup>, J. Wenzel<sup>4</sup>, C. Zampol<sup>7</sup>, D.M. Fontes Lima<sup>7</sup>, L. Borzacconi<sup>b</sup>, M.B. Varesche<sup>7</sup>, M. Zaiat<sup>7</sup>, C. Etchebehere<sup>4</sup>





## ¿El material de soporte selecciona los microorganismos productores de hidrógeno?





#### Q-PCR Fe-hidrogenasa



Fig. 4 – Quantification of Fe-hydrogenase by real-time PCR in samples taken from the inoculum, mixing chamber (MC) and midpoint of sampling in the bed zone (suspended biomass) at different OLRs. A sample from the biomass attached to the support matrix (SM) was analyzed at the end of operation (day 56). The error bars represent the standard deviation of triplicate measurements. Fe-hidrogenasa enzima
clave prar la producción
de hidrógeno de
Clostridium

#### Celdas microbianas



Microorganismos electroactivos transfieren electrones a una superficie

## Tipos de celdas microbianas





## Mecanismos de trasnferencia de electrones



Lovley et al., 2006

#### *Pseudomonas alcaliphila* Fenazinas mediadoras



#### *Shewanella oneidensis* Transporte vía citocromos



Okamoto et al., 2012

## Biofilms en celdas microbianas





## Celdas microbianas asociadas a la producción de hidrógeno









Bioprocess Biosyst Eng (2017) 40:807–819 DOI 10.1007/s00449-017-1746-6



RESEARCH PAPER

Microbial fuel cell coupled to biohydrogen reactor: a feasible technology to increase energy yield from cheese whey

J. Wenzel<sup>1</sup> · L. Fuentes<sup>1</sup> · A. Cabezas<sup>1</sup> · C. Etchebehere<sup>1</sup>

#### Consumo de sustratos

#### uthor's personal copy



**Fig. 2** Volatile fatty acids (VFA) concentration, lactose concentration (measured as reducing sugars) and pH during one batch cycle for MFC 1 (a) and MFC 2 (b). Lactose is only shown for MFC 1 as it was not detected in MFC 2. pH (*open square*), Lactose (*plus sym*-

*bol*), Acetic acid (*closed square*), Propionic acid (*closed circle*), Lactic acid (*asterisk*), Isobutyric acid (*multiple symbol*), Butyric acid (*closed triangle*). For the control MFC acetate was completely consumed (data not shown)

#### Comunidades microbianas de celdas



**Fig. 4** Microbial community composition at phylum level and class level of anodes from MFC 1 (fed with raw cheese whey), MFC 2 (fed with biohydrogen reactor effluent) and the control MFC (fed

with acetate), obtained by 16S rRNA gene pyrosequencing. Phyla or classes with relative abundances below 1% are grouped and named "Other"



## Importancia de los biofilm en sistemas de tratamiento de aguas residuales

- Mayor cantidad de biomasa en el reactor, sistemas con mayor capacidad y menor tamaño.
- Evitan el sedimentador externo
- Mejoran la transferencia entre diferentes grupos de microorganismos.
- Permite realizar sistemas combinados.

#### Control del crecimiento en el biofilm

- Flujo del liquido
- Recirculación
- Concentración de sustrato
- Tipo de sustrato

# Biofilms en sistemas de purificación y suministro de agua potable





Biofilm en cañerías (desprendimiento de biofilm)



#### About: 🛞 Specialist group

The Biofilms Specialist Group is an organizational unit of the International Water Association (IWA). It represents a forum for the exchange of scientific and technical information among researchers and practitioners involved in the field of biofilms. The scope of the Group includes on one hand all technical and natural aquatic systems, in which sessile bacteria are found, and on the other hand all biological, chemical and physical processes, which are relevant for biofilm behavior.

#### Group committee



<sup>233</sup> 16 Group committee

#### Group members



怒 1864 members





Renew

#### Gracias!



- Djalma Ferraz
- Victoria de la Sovero
- Patricia Bovio
- Laura Fuentes
- Inés Etchelet
- Mariangeles García
- Angeline Saadoun
- Angela Cabezas

Cecilia Callejas

Liliana Borzacconi

Elena Castelló



BIOTECNOLOGIA DE PROCESOS PARA EL AMBIENTE MUSICIÓN DE LA MUSICIÓN DE LA MUSICIÓN MUSICIÓN DE LA MUSICIÓN DE LA MUSICIÓN DE LA MUSICIÓN MUSICIÓN DE LA MUSICIÓN