19

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 370 940**

51 Int. Cl.:
C02F 3/34 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C02F 3/30 (2006.01)
C02F 101/16 (2006.01)
C02F 103/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07800689 .7**
96 Fecha de presentación : **08.08.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2172430**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.04.2010**

54 Título: **Procedimiento para la eliminación de la contaminación de C y N utilizando bacterias heterótrofas oxidantes de amoníaco.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.12.2011

73 Titular/es: **Guanghao Peng**
Rm. 103, Block 24, No. 71 East Beijing Road
Nanjing, Jiangsu 210008, CN

72 Inventor/es: **Peng, Guanghao**

74 Agente: **Jiménez Duch, Rocío**

ES 2 370 940 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la eliminación de la contaminación de C y N utilizando bacterias heterótrofas oxidantes de amoníaco.

Campo técnico

La presente invención se refiere a un procedimiento de tratamiento de aguas residuales, en particular, un procedimiento biológico para eliminar los contaminantes de carbono y nitrógeno de las aguas residuales.

Antecedentes

Las sustancias contaminantes y nutritivas de consumo de oxígeno presentes en el agua, tales como carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P) orgánicos, son los principales contaminantes que causan el deterioro de la calidad natural del agua. El método más ampliamente usado para la eliminación de carbono orgánico (COD o DBO) es el proceso de lodo activado, es decir, un proceso de tratamiento biológico de aguas residuales secundario, que se inventó entre 1898 y 1914. La eficacia de la eliminación del carbono orgánico alcanza el 90-95%. En este proceso de tratamiento biológico, las sustancias orgánicas se oxidan y se descomponen por heterótrofos. Parte del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre se asimila a las células bacterianas y se vierte en forma de exceso de lodo; el carbono orgánico restante se oxida para dar CO₂ por disimilación y después se elimina. La energía producida en el proceso es necesaria por el crecimiento y el metabolismo de los heterótrofos. El resto de las sustancias inorgánicas, tales como nitrógeno, fósforo y azufre se vierten junto con el agua en forma de NH₃, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, etc.

Los procedimientos biológicos convencionales destinados a eliminar el carbono orgánico (COD) son insuficientes para la eliminación de amoníaco. La proporción de carbono, nitrógeno y fósforo en el efluente del proceso de tratamiento secundario tradicional es aproximadamente C (BOD): N:P = 10:20:1. Por lo tanto, el proceso es capaz de eliminar el 90% del BOD, pero sólo aproximadamente el 20%-30% del nitrógeno. El nitrógeno soluble al 70%-80% restante en el agua residual es uno de los factores causantes de la eutrofización.

Habitualmente se ha reconocido que los peligros del amoníaco en el ecosistema del agua son sólo secundarios al carbono orgánico. Y a pesar de que se han construido grandes instalaciones de tratamiento de aguas residuales municipales y funcionan para eliminar el carbono orgánico, la contaminación de amoníaco aún causa un problema.

Se ha demostrado que el procedimiento biológico es eficaz para la eliminación del carbono orgánico, pero aún ha de investigarse cómo eliminar el nitrógeno a gran escala de forma eficaz y económica.

Las tecnologías de tratamiento de aguas residuales convencionales para la eliminación de carbono y nitrógeno orgánico se basan en la teoría microbiológica y principios tecnológicos que combinan tres procesos: degradación del carbono orgánico y la "amonificación" de nitrógeno orgánico por heterótrofos, "nitrificación" de amoníaco y nitrito realizada por autótrofos, y "desnitrificación" por heterótrofos anaerobios (facultativos). Los tres procesos anteriores pueden demostrarse como se indica a continuación:

Algunas de las características principales de las tres etapas se enumeran como se indica a continuación:

① La amonificación se facilita por el crecimiento de heterótrofos de diversos géneros en los que el nitrógeno orgánico se convierte en nitrógeno inorgánico, es decir, amoníaco;

② La nitrificación se facilita por el crecimiento de autótrofos aerobios obligados de diversos géneros en los que el amoníaco se oxida para dar nitrito y el nitrito se oxida adicionalmente para dar nitrato; los Nitrosomonas y los Nitrobacter son típicos de estas especies quimiolitotróficas que realizan los dos procesos de oxidación, respectivamente.

③ La desnitrificación se facilita por el crecimiento de heterótrofos de diversos géneros en los que el nitrato se reduce para dar gas nitrógeno.

ES 2 370 940 T3

Por lo tanto, desde el punto microbiológico, el mecanismo de eliminación del nitrógeno y el carbono sigue un modelo como utilización de bacterias heterótrofas → utilización de bacterias autótrofas → utilización de bacterias heterótrofas.

5 Desde una perspectiva de eliminación de nitrógeno, el sistema de lodo activado convencional en el que la eliminación de sustancias orgánicas y la amonificación tienen lugar en el mismo reactor, pueden considerarse como un proceso de nitrificación de una sola etapa. De acuerdo con el modelo anterior, la nitrificación se facilita por el crecimiento de autótrofos, y la desnitrificación se facilita por el crecimiento de heterótrofos. En este proceso de nitrificación de una sola etapa, la velocidad de crecimiento y la velocidad de utilización de oxígeno y nutrientes de los heterótrofos implicados en la oxidación de carbono orgánico son mayores que las de los autótrofos de nitrificación, por lo tanto,
10 los heterótrofos predominan sobre los autótrofos, lo que conduce finalmente a una nitrificación de baja eficiencia.

El fenómeno de la nitrificación de baja eficacia a menudo se observa en el proceso de tratamiento secundario, que al parecer refuerza el hecho de que las bacterias nitrificantes son de hecho autótrofas en la naturaleza. Los investigadores,
15 sin duda, creen que las sustancias orgánicas inhiben el crecimiento y la actividad fisiológica de las bacterias autótrofas oxidantes de amoníaco en el sistema de tratamiento de aguas residuales destinadas a la eliminación de contaminantes de C y N.

De acuerdo con esta teoría, se producen procesos de tratamiento de lodo activado de dos fases o multifase con el fin de eliminar los efectos adversos de las sustancias orgánicas de la nitrificación separando el proceso de eliminación orgánico y la nitrificación (y la desnitrificación) en dos (o tres) reactores separados. Sin embargo, el proceso de tratamiento de lodo activado multifase no ha conseguido una amplia aplicación debido a su alta inversión y coste de funcionamiento.

20 Por tanto, es comprensible que ante el avance de la teoría, los ingenieros y diseñadores han concebido una serie de tecnologías de lodo activado de una sola etapa mejoradas para eliminar el nitrógeno. Estos procesos combinan la zona de nitrificación aeróbica y la zona de desnitrificación anóxica en un solo sistema, tal como PHOREDOX (A/O), A²/O, UCT (o MUCT) y VIP etc. Sin embargo, las operaciones de estos sistemas siguen siendo complicadas a pesar de que han mejorado la eliminación de carbono y nitrógeno.

30 La eficacia de eliminación de carbono y nitrógeno orgánico se ve limitada a la raíz por las características biológicas de las bacterias durante la nitrificación. Dado que la operación de las plantas de tratamiento de aguas residuales está bajo la dirección de la teoría del metabolismo de la nitrificación autotrófica, existen mayores inconvenientes en la aplicación de estos métodos convencionales: ① Lenta velocidad del crecimiento celular, baja producción de lodo y escasa capacidad de sedimentación del lodo de las bacterias nitrificantes que hacen difícil de mantener una alta concentración de biomasa de las bacterias nitrificantes; ② Muchos sistemas de lodos activados carecen de nitrificación eficaz, especialmente durante el invierno cuando la temperatura cae por debajo de 15°C, lo que da como resultado un largo tiempo de retención hidráulico (HRT) y bajo nivel de carga orgánica en el sistema; ③ Parte del efluente y el lodo tiene que ser devueltos al tanque para lograr una mayor concentración de biomasa y una eliminación del nitrógeno más eficaz; ④ La adición de alcalinos para mantener el nivel de pH conduce a mayores costes de funcionamiento; ⑤ Los procesos convencionales de nitrificación tienden a tener resultados extremos: no se produce la oxidación de amoníaco en absoluto, ni la oxidación completa para dar nitrato; ⑥ Los métodos convencionales son a menudo inadecuados para aguas enriquecidas con nitrógeno con un contenido de nitrógeno superior a 200 mg/l.

45 En todos, el procedimiento de nitrificación-desnitrificación tradicional es inadecuado para prevenir la contaminación por nitrógeno del medio ambiente.

Sin embargo, se han realizado extensos e intensivos estudios sobre la eliminación biológica de N en muchos países desarrollados, y conducen a un gran avance en tanto la teoría como la tecnología que conduce a la invención de una amplia gama de técnicas de eliminación de nitrógeno innovadoras con SHARON® como representante, y en cierta medida ha mejorado la eficiencia de eliminación de nitrógeno y ha reducido los costes de funcionamiento del tratamiento de aguas residuales.

55 Se toma el SHARON® (Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite) que también se considera una técnica de nitrificación y desnitrificación abreviada (Patente Europea EP 0 826 639 A, Publicación de Solicitud de Patente China N° CN1310692A) como ejemplo:

Los procedimientos de nitrificación convencionales oxidan completamente amoníaco para dar nitrato en lugar de nitrito ($\text{NH}_4^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$, denominado "nitrificación completa") con el fin de eliminar tanto el potencial de consumo de oxígeno del nitrógeno como evitar que el nitrito inhiba el crecimiento bacteriano. Sin embargo, el proceso de nitrificación completa no es necesario en la eliminación del nitrógeno de las aguas residuales, y el proceso de oxidación de amoníaco para dar nitrito ($\text{NH}_4^- \rightarrow \text{NO}_2^-$) puede conseguir igualmente resultados prometedores. Es posible eliminar la conversión de NO_2^- en NO_3^- durante la nitrificación y NO_3^- en NO_2^- durante la desnitrificación en la eliminación biológica del nitrógeno. El proceso de control de la oxidación de amoníaco en la fase de nitrito se denomina Nitrificación Abreviada. En 1997 la Universidad Técnica de Delft desarrolló la Nitrificación y la Desnitrificación Abreviada que resolvió las dificultades del tratamiento de efluentes digestores de lodo que contienen en cierta medida una alta concentración de amoníaco.

ES 2 370 940 T3

La clave en la técnica SHARON® es optimizar las condiciones de funcionamiento para facilitar el crecimiento de bacterias autótrofas oxidantes de amoníaco (*Nitrosomonas* sp), especialmente *Nitrosomonas europaea*, y permitir que se conviertan en dominantes en el reactor. Las condiciones propuestas por la técnica SHARON® permiten compensar la velocidad de crecimiento de las bacterias oxidantes de amoníaco para la pérdida de lodo en el CSTR (Reactor Continuo Tipo Tanque Agitado), mientras que el crecimiento de las bacterias oxidantes de nitrito incluyendo Nitrobacterias se ve limitado y después se retiran por lavado. En estas condiciones, la oxidación de amoníaco se control y se limita a la fase de nitrito y el nitrito actúa como el aceptor de electrones en la desnitrificación. Algunas características principales de SHARON® son que: ① Es un proceso más corto que se combina con nitrificación y desnitrificación abreviada en un reactor único; ② No hay retención de biomasa en el reactor, por lo tanto, solo se requiere un reactor simple; ③ Demanda una alta temperatura de funcionamiento (30~40°C) para conseguir resultados de tratamiento eficaces; ④ La alcalinidad puede ajustarse por desnitrificación y el pH se mantiene entre 7 y 8 sin adición alcalina externa.

Comparado con tecnologías de eliminación de nitrógeno convencionales, SHARON® tiene las siguientes ventajas: menor inversión y costes de funcionamiento; inicio y funcionamiento más fácil; mantenimiento más simple; no produce subproductos químicos. Sin embargo, SHARON® tiene inconvenientes, debido a que todavía se basa en la teoría tradicional de nitrificación autótrofa. Desde el punto de vista operativo, la eliminación del carbono orgánico, eliminación de nitrógeno y el desecho de lodos siguen estando muy desintegrados. La alta temperatura de procesamiento (35°C) impone estrictos requisitos a los reactores y no es capaz de tratar grandes volúmenes de aguas residuales con baja concentración de amoníaco. Es difícil de realizar en reactores de secuenciación por lotes tradicionales (SBR). Todavía requiere un exceso de descarga de lodo y un tiempo de retención hidráulica relativamente largo (HRT) durante la desnitrificación en comparación con la velocidad de nitrificación.

La tecnología de tratamiento de aguas residuales utiliza principalmente la diversidad de bacterias del metabolismo para descomponer y eliminar los contaminantes. Los procedimientos de eliminación de carbono y nitrógeno actuales, incluyendo las nuevas técnicas de eliminación biológica de nitrógeno con SHARON® como representativa, se basan en la teoría desarrollada por Monod. La teoría de Monod (o la teoría del crecimiento celular) se refiere a la relación entre el crecimiento celular y la eliminación del carbono y el nitrógeno orgánico. Monod indica que el crecimiento celular se asocia simultáneamente con la asimilación del carbono y nitrógeno orgánico y la descomposición del exceso de sustrato para alimentar comportamientos fisiológicos. Esta teoría se ha convertido en la corriente principal de la microbiología y ha guiado una amplia gama de aplicaciones industriales, incluyendo la eliminación de carbono y nitrógeno orgánico. En particular, ha ejercido una influencia considerable en las áreas de diseño del reactor, diseño de procesos y gestión operativa, etc. De acuerdo con la teoría de Monod, en relación con la cinética de conversión del sustrato, el crecimiento bacteriano y la tasa de utilización de sustratos presentan las siguientes relaciones:

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{1}{Y} \frac{dx}{dt}$$

En la que: ds/dt es la tasa de utilización de sustrato; Y es el coeficiente de rendimiento de la biomasa (biomasa producida por masa del sustrato utilizado); X es la concentración de biomasa. Puede concluirse a partir de la ecuación que el crecimiento bacteriano está directamente relacionado con la utilización de sustrato, y que mejorando la velocidad de crecimiento bacteriano, puede mejorarse el uso del sustrato.

Durante la conversión del NH₄⁺ inorgánico en el modelo de “utilización bacteriana heterótrofa-autótrofa-heterótrofa” tradicional, y de acuerdo con la cinética de Monod, la velocidad de crecimiento bacteriano o la tasa de utilización del sustrato es extremadamente baja. En teoría, la velocidad de crecimiento bacteriano es 0,29 g/g (VSS/NH₄⁺-N) y 0,084 g/g (VSS/NO₂⁻-N) (McCarty pL. 1964) mientras que en los resultados experimentales son solo 0,04~0,13 g/g (VSS/NH₄⁺-N) y 0,02-0,07 g/g (VSS/NO₂⁻-N). El coeficiente de rendimiento de la biomasa y el coeficiente de utilización de sustrato de autótrofos nitrantes son 1-2 órdenes de magnitud más lentos que los heterótrofos que se han convertido en los principales factores limitantes de la eficacia de la eliminación de nitrógeno.

Cuando la teoría de Monod se pone en práctica en el reactor por lotes, el consumo del sustrato y la acumulación de sustancias tóxicas a menudo dan como resultado el deterioro del entorno de nutrientes y otras condiciones del entorno, tales como condiciones ácidas o básicas extremas, que a su vez, obstaculizan el crecimiento celular o incluso conducen a la muerte celular. Para eliminar estas influencias, a menudo las aplicaciones industriales adoptan el “quimiostato” en el que se añade continuamente medio fresco para el suplemento de nutrientes y se descarga continuamente una cantidad igual de líquido de cultivo (biomasa y sustancias tóxicas) para reducir la biomasa y las sustancias tóxicas acumuladas, y para sostener el crecimiento de la biomasa estable y la eliminación de sustratos.

Los principios que se han mencionado anteriormente han servido como guía para las principales tecnologías de eliminación de carbono y nitrógeno orgánico de las aguas residuales. Estos principios han determinado la configuración de casi todos los reactores (en su mayoría funcionamiento de reactor continuo de tanque agitado y de flujo continuo), y lo más importante, se han conducido al inevitable proceso de acumulación y desecho de lodo durante la eliminación de carbono y nitrógeno orgánico.

Por lo tanto, la necesidad de tratamiento y el desecho del lodo es uno de los problemas más cruciales que hay que resolver de las tecnologías de tratamiento biológico de aguas residuales convencionales.

Debido a la naturaleza autotrófica reconocida en la técnica anterior, la presencia de sustancias orgánicas es perjudicial para el crecimiento y el comportamiento fisiológico de las bacterias nitrificantes, por lo tanto, cualquier intento de optimizar los procesos biológicos implicados en la eliminación de carbono y nitrógeno orgánico no puede superar las limitaciones inherentes.

5

El presente inventor se dio cuenta de que la oxidación de NH_4^- para dar NO_2^- estaba relacionada en gran medida con el comportamiento fisiológico de los heterótrofos, y por lo tanto adoptó un procedimiento abandonado por la teoría de autótrofos y aisló con éxito diferentes heterótrofos con diversas actividades de oxidación de amoníaco. Ciertas cepas mostraron propiedades de alta acumulación de NO_2^- en condiciones de cultivo puras (Patente China N° 03118598.3, "Methods for Separating and Identifying Heterotrophic Nitrifying Bacteria"). Además propuso un procedimiento para cultivar heterótrofos nitrificantes altamente activos y los empleó para la eliminación de nitrógeno del agua (Patente China N° 03118597.5, "Cultivation and Application of Nitrifying Heterotrophs"), y propuso dos procedimientos diferentes para eliminar amoníaco (Patente China N° 03118599.1, "Combination of nitrogen-removing bacteria and their Application", y la Patente China N° 200410005158.4, "Biological Ammonia Removal Methods from Wastewater and Relative Microorganisms").

15

Sin embargo, la investigación que se ha mencionado anteriormente se realizó principalmente con un cultivo puro como inóculo, especialmente en un ensayo de un solo lote en base a la teoría de Monod. Por lo tanto, la oxidación del amoníaco y la eliminación del nitrógeno no fueron significativamente más eficaces en comparación con la oxidación autótrofa de amoníaco clásica y la desnitrificación. Otro problema fue que el crecimiento de heterótrofos altamente activos estaba limitado a temperaturas por debajo de 15°C y por lo tanto la actividad de oxidación de amoníaco era difícil de demostrar. Las tecnologías fueron incapaces de resolver los problemas de la eliminación de nitrógeno a bajas temperaturas.

20

25 Sumario de la invención

Esta invención propone un procedimiento que usa heterótrofos para realizar la eliminación de carbono y nitrógeno orgánico. Se espera que, dejando a un lado el principio del metabolismo autótrofo con respecto a las bacterias nitrificantes, este procedimiento supere muchos de los problemas que caracterizan a los procesos clásicos, tales como baja eficacia en la eliminación de amoníaco, desecho del exceso de lodo y alto consumo energético.

30

Esta invención es capaz de eliminar simultáneamente el carbono y el nitrógeno orgánicos aunque no aparezca acumulación de biomasa de acuerdo con las características fisiológicas de las "bacterias heterótrofas oxidantes de amoníaco" (HAOB) y los principios metabólicos del carbono y el nitrógeno, lo que difiere de los procedimientos convencionales que consideran la materia orgánica como un inhibidor de los microorganismos que eliminan el nitrógeno.

35

Por consiguiente, esta invención no tiene lodo generado durante el proceso de tratamiento de aguas residuales que elimina los problemas asociados con la eliminación de lodos en lo que respecta a los métodos tradicionales.

40

Esta invención puede conseguir la eliminación de carbono y nitrógeno orgánico en un reactor único, y el sistema de tratamiento secundario convencional todavía puede utilizarse sin requerir ningún aparato nuevo.

45

Esta invención ha superado las limitaciones de temperatura: los procesos de nitrificación y desnitrificación abreviados eficaces pueden conseguirse a un intervalo de temperatura de $6-40^\circ\text{C}$. Por lo tanto, no hay necesidad de cumplir con los estrictos requisitos del procedimiento SHARON[®] que demanda un proceso de nitrificación de duración relativamente de corta operativa a temperaturas entre 30°C y 40°C .

50

Esta invención propone un procedimiento que puede controlar la nitrificación y la desnitrificación abreviada tanto en condiciones aeróbicas como anóxicas controlando la adición de la fuente de carbono.

Esta invención proporciona un procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando las HAOB, que comprende las siguientes etapas:

55

(A) Cultivo de lodo activado con HAOB: siembra de tierras naturales que contienen HAOB en un sustrato que contiene carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración en un reactor mientras se mantiene el pH dentro del intervalo de 6,5 a 8,5, en el que si el sustrato contiene nitrógeno de amoníaco, se suministra una fuente de carbono orgánico en lotes; detención de la aeración cuando la concentración de nitrógeno de amoníaco está por debajo de 3 mg/l y la acumulación de NO_2^- -N alcance una cantidad máxima, manteniendo un entorno anóxico, y añadiendo una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el total de las concentraciones de NO_2^- -N y NO_3^- -N sea menor de 1 mg/l ; y

60

(B) Eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales; siembra del lodo activado producido a partir de la etapa (A) en un reactor de tratamiento biológico que contiene aguas residuales que comprenden carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración para permitir que la oxidación del amoníaco tenga lugar, en el que si las aguas residuales no contienen carbono orgánico, al reactor se le añade una fuente de carbono orgánico adicional; y detención de la aeración cuando se ha acumulado nitrito, manteniendo una condición anóxica, y adición de una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el nitrito no esté presente.

65

ES 2 370 940 T3

5 Las HAOB que se han mencionado anteriormente incluyen una gama de microorganismos que son capaces de realizar los procesos de amonificación, oxidación del amoniacio y desnitrificación (reducción de nitrito y nitrato). Algunas características principales de estas bacterias incluyen: capacidad para crecer en una placa PM y dar un resultado positivo cuando el reactivo de Griess-Ilosvay se aplica directamente; capacidad para oxidar directamente amoniacio para dar N_2 , NO_2^- o NO_3^- en condiciones aeróbicas; capacidad para eliminar nitrógeno a través de la desnitrificación con NO_2^- y NO_3^- como receptores de electrones y BOD como donante de electrones en condiciones aeróbicas y anóxicas.

10 El concepto clave de esta invención es que las bacterias implicadas en la oxidación de amoniacio son heterótrofas en lugar de autótrofas. En base a este avance del conocimiento, las bacterias se cultivan y se utilizan usando un procedimiento heterótrofo. En base a esta nueva comprensión de la naturaleza y el metabolismo de las bacterias oxidantes de amoniacio, el procedimiento abandona la teoría clásica de bacterias nitrificantes y propone el concepto de las HAOB.

15 La concepción clásica de los autótrofos implicados en la oxidación del amoniacio y el nitrito durante la nitrificación se originó a partir de la observación hecha por Winogradsky en 1890 de un tipo específico de bacterias autótrofas. Las bacterias poseen las siguientes características: ① Obtención de energía exclusivamente a partir de la oxidación de NH_4^- y NO_2^- ; ② Uso de CO_2 como la única fuente de carbono en la asimilación; ③ Las sustancias orgánicas son perjudiciales para su crecimiento y por lo tanto son incapaces de crecer en las placas de nutriente de agar clásicas.

20 A pesar de que la teoría autotrófica es a menudo incapaz de explicar muchos fenómenos contradictorios, sigue siendo la teoría predominante debido al hecho de que antes de esta patente, se no habían descubierto las bacterias heterótrofas altamente activas que oxidan el amoniacio para dar nitrito.

25 Por otra parte, los investigadores limitados por la teoría autótrofa a menudo descuidan la diversidad de los productos de oxidación del nitrógeno, y suponen que NO_2^- y NO_3^- son solo metabolitos. De hecho, durante el metabolismo de estos microbios funcionales, no solo la amonificación (descomposición de nitrógeno orgánico en NH_3) sino también la acumulación de NO_2^- y NO_3^- o la liberación de N_2 se observan en diferentes condiciones. Estos heterótrofos existen en una amplia gama, y se clasifican en el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* que describe sus propiedades.

30 La Tabla 1 describe los resultados experimentales que revelan las características del metabolismo de nitrógeno de estas bacterias.

35

(Tabla pasa a página siguiente)

40

45

50

55

60

65

Tabla 1. Metabolismo del nitrógeno de diferentes bacterias

Nombre de la bacteria	Número de Acceso de Conservación	Crecimiento en placas [®] PM positivo con reactivo de Griess-Ilosvay	Pérdida de nitrógeno en entornos aeróbicos con carbono abundante	Acumulación de NO ₂ -N en cultivo puro [®] mg/l	Acumulación de NO ₃ -N en cultivo puro [®] mg/l	Desnitrificación en cultivo aeróbico o anóxico puro [®]
Bacillus megaterium	CGMCC N°- 0554	✓/++	✓	<5	ND	✓
Bacillus firmus	CGMCC N° 0555	✓/++	✓	<5	ND	✓
Bacillus brevis	CGMCCV N° 0556	✓/++	✓	<5	ND	✓
Bacillus circulans	CGMCC N° 0557	✓/+	✓	<5	ND	✓
Bacillus coagulans	CGMCC N° 0558	✓/++	✓	<5	ND	✓

ES 2 370 940 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nombre de la bacteria	Número de Acceso de Conservación	Crecimiento en placas ^o PM positivo con reactivo de Griess-Ilosvay	Pérdida de nitrógeno en entornos aeróbicos con carbono abundante fuente de carbono abundante ^o	Acumulación de NO ₂ N en cultivo puro ^o mg/l	Acumulación de NO ₃ N en cultivo puro ^o mg/l	Desnitrificación en cultivo aeróbico o anóxico puro ^o
Bacillus lentus	CGMCC N° 0559	√/+++	√	<5	ND	√
Bacillus circus	CGMCC N° 0560	√/++	√	<5	ND	√
Bacillus pumilus	CGMCC N° 0561	√/+++	√	<5	ND	√
Bacillus licheniformis	CGMCC N° 0562	√/++	√	<5	ND	√
Bacillus globisporus	CGMCC N° 0563	√/+	√	<5	ND	√
Bacillus	CGMCC N°	√/+++	√	<5	ND	√

ES 2 370 940 T3

Nombre de la bacteria	Número de Acceso de Conservación	Crecimiento en placas ^o PM positivo con reactivo de Griess-Ilosvay	Pérdida de nitrógeno en entornos aeróbicos con carbono abundante fuente de carbono abundante ^o	Acumulación de NO ₂ N en cultivo puro ^o mg/l	Acumulación de NO ₃ N en cultivo puro ^o mg/l	Desnitrificación en cultivo aeróbico o anóxico puro ^o
<i>sphaericus</i>	0564					
<i>Bacillus badius</i>	CGMCC N°- 0565	√/+++	√	<5	ND	√
<i>Bacillus subtilis</i>	CGMCC N° 0566	√/++	√	<5	ND	√
<i>Bacillus mycoides</i>	CGMCC N° 0586	√/++	√	<5	ND	√
<i>Bacillus pseudofimus</i>	CCTCC M203101	√/++++	√	80~90	>15	√
<i>Paenibacillus campinasensis</i>	CCTCC M203102	√/++	√	<5	ND	√

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nombre de la bacteria	Número de Acceso de Conservación	Crecimiento en placas [Ⓞ] PM positivo con reactivo de Griess-Ilosvay	Pérdida de nitrógeno en entornos aeróbicos con carbono abundante fuente de carbono abundante [Ⓞ]	Acumulación de NO ₂ -N en cultivo puro [Ⓞ] mg/l	Acumulación de NO ₃ -N en cultivo puro [Ⓞ] mg/l	Desnitrificación en cultivo aeróbico o anóxico puro [Ⓞ]
Arthrobacter ramosus	CCTCC M203103	√/++	√	<5	ND	√
Arthrobacter sulfurous	CCTCC M203104	√/++	√	<5	ND	√
Arthrobacter globiformis	CCTCC M202043	√/++++	√	90~100	ND	√

Nota:

Ⓞ se refiere al crecimiento heterótrofo y la capacidad de realizar la amoniación y la oxidación de amoniaco para dar nitrito;

+ se refiere a la actividad de la oxidación de amoniaco para dar nitrito, es decir, una

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nombre de la bacteria	Número de Acceso de Conservación	Crecimiento en placas [®] PM positivo con reactivo de Griess-Ilosvay	Pérdida de nitrógeno en entornos aeróbicos con carbono abundante fuente de carbono abundante [®]	Acumulación de NO ₂ ⁻ N en cultivo puro [®] mg/l	Acumulación de NO ₃ ⁻ N en cultivo puro [®] mg/l	Desnitrificación en cultivo aeróbico o anóxico puro [®]
concentración de NO ₂ ⁻ -N acumulado (mg/l); + es equivalente a 0,5 mg/l; ++ es equivalente a 1,0-2,5 mg/l; +++ es equivalente a 2,5-5,0 mg/l; ++++ es equivalente a 5,0-10,0 mg/l. ② se refiere a una ruta de eliminación de nitrógeno (NH ₃ + O ₂ → N ₂) ③ se refiere a una nitrificación abreviada (NH ₃ + O ₂ → NO ₂ ⁻) en una prueba por lotes de una sola etapa en un reactor en agitación con la adición de una fuente de carbono (por ejemplo, piruvato) ④ se refiere a la oxidación de nitrito para dar nitrato (NO ₂ ⁻ +O ₂ → NO ₃ ⁻) ⑤ se refiere a la desnitrificación aeróbica o anóxica con NO ₂ ⁻ o NO ₃ ⁻ como un aceptor de electrones y carbono orgánico como un donante de electrones (NO ₂ ⁻ +COD → N ₂ ↑ + CO ₂ ↑).						

ES 2 370 940 T3

Como se muestra en la Tabla 1, las bacterias comparten las siguientes características comunes: capacidad de crecer sobre placas PM y dar un resultado positivo cuando se aplica directamente un reactivo de Griess-Ilosvay; capacidad para oxidar directamente el amoníaco para dar N_2 , NO_2^- y NO_3^- en condiciones aeróbicas; capacidad para eliminar nitrógeno a través de desnitrificación con NO_2^- y NO_3^- como receptores de electrones y carbono orgánico como donante de electrones en condiciones aeróbicas o anóxicas. Sin embargo, estos heterótrofos son diferentes en sus actividades. Un número limitado de bacterias muestra una actividad de oxidación amoníaco-a-nitrito muy alta, por ejemplo, *Bacillus pseudofirmus* NH-2 y *Arthrobacter globiformis* WR-2, mostrando el primero también alta actividad de oxidación nitrito-a-nitrato. Este descubrimiento muestra que la nitrificación no es un proceso realizado por dos grupos diferentes de autótrofos consecutivamente con un grupo que oxida amoníaco para dar nitrito y otro grupo de nitrito para dar nitrato.

Por lo tanto, la oxidación del nitrógeno negativo trivalente para dar diversas formas de óxidos de nitrógeno mediante heterótrofos es diferente definitivamente del concepto de oxidación de amoníaco autótrofo. Estas bacterias capaces de realizar la amonificación, oxidación de amoníaco y desnitrificación de nitrito o nitrato se denominan comúnmente como "Bacterias Heterótrofas de Oxidación de Amoníaco (HAOB)". Ha de apreciarse que estas bacterias no se nombran según su taxonomía. Son un grupo de microorganismos capaces de realizar una generación de energía acoplada a través de la oxidación-reducción combinada continua de carbono y nitrógeno.

En base al concepto de HAOB, un modelo de oxidación heterótrofa combinada de carbono y nitrógeno se configura para describir el acoplamiento de energía y el proceso de transferencia de electrones. NAD^+ actúa como el vehículo de electrones tanto para la oxidación combinada como para la transferencia de electrones. El cálculo termodinámico se aplica en cada etapa.

El proceso de transferencia de electrones en el ciclo de Krebs, y la oxidación combinada de carbono y nitrógeno se ilustran en la Figura 4.

Los datos termodinámicos para la conversión de amoníaco se presentan en la Tabla 2.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 370 940 T3

TABLA 2

Termodinámica en el proceso de conversión del amoníaco

		ΔG° (KJ/mol)
5		
10	1. $\text{NH}_3 + 1/2\text{NAD}^- = 1/2\text{NH}_2\text{-NH}_2 + 1/2\text{NADH} + 1/2 \text{H}^+$	+114
	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^- = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $\text{NH}_3 + 1/4\text{O}_2 = 1/2\text{NH}_2\text{-NH}_2 + 1/2\text{H}_2\text{O}$	+4
15	2. $1/2\text{NH}_2\text{-NH}_2 + 1/2\text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_2\text{OH} + 1/2\text{NADH} + 1/2\text{H}^-$	+128
	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^- = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $1/2\text{NH}_2\text{-NH}_2 + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}_2\text{O} = \text{NH}_2\text{OH}$	+18
20	3. $\text{NH}_2\text{OH} + 1/2\text{NAD}^+ - 1/2\text{N}_2 + 1/2\text{NADH} + \text{H}_2\text{O} + 1/2\text{H}^-$	-190
	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^+ = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $\text{NH}_2\text{OH} + 1/4\text{O}_2 = 1/2\text{N}_2 + 3/2\text{H}_2\text{O}$	-300
25	4. $\text{NH}_2\text{OH} + \text{NAD}^- = [\text{NOH}] + \text{NADH} + \text{H}^-$	-56
	$\text{NADH} + 1/2\text{O}_2 + \text{H}^- = \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-220
	$[\text{NOH}] - 1/2\text{N}_2\text{O} + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-85
	Global: $\text{NH}_2\text{OH} + 1/2\text{O}_2 = 1/2\text{N}_2\text{O} + 3/2\text{H}_2\text{O}$	-249
30	5. $1/2\text{N}_2\text{O} + 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O} = \text{NO} + 1/2\text{NADH} + 1/2\text{H}^-$	+144
35	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^- = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $1/2 \text{N}_2\text{O} + 1/4\text{O}_2 = \text{NO}$	+34
40	6. $\text{NO} + 1/2 \text{NAD}^- + \text{H}_2\text{O} = \text{NO}_2^- + 1/2\text{NADH} + 3/2 \text{H}^-$	+46
	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^- = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $\text{NO} + 1/4\text{O}_2 + 1/2 \text{H}_2\text{O} = \text{NO}_2^- + \text{H}^-$	-64
45	7. $\text{NO}_2^- + 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}^- = \text{NO}_2 + 1/2\text{NADH}$	+134
	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^- = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $\text{NO}_2^- + 1/4\text{O}_2 + \text{H}^- = \text{NO}_2 + 1/2 \text{H}_2\text{O}$	+24
50	8. $\text{NO}_3^- + 1/2\text{NAD}^- + \text{H}_2\text{O} = \text{NO}_3^- + 1/2\text{NADH} + 3/2\text{H}^-$	+128
	$1/2\text{NADH} + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}^- = 1/2\text{NAD}^- + 1/2\text{H}_2\text{O}$	-110
	Global: $\text{NO}_2 + 1/4\text{O}_2 + 1/2\text{H}_2\text{O} = \text{NO}_3^- + \text{H}^-$	-84

55

De acuerdo con el modelo de transferencia de electrones y los cálculos pertinentes de los cambios de energía libre convencionales, puede deducirse que durante el proceso de oxidación de amoníaco en el que el amoníaco se deshidrogena y los electrones se transfieren para reducir NAD^+ para dar NADH almacenándose la energía, sólo la etapa $\text{NH}_4^+ + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{N}_2 + \text{NADH}$ es posible que se realice espontáneamente ($\Delta G^{\circ} < 0$), todas las demás etapas en las que el amoníaco se oxida y se forma NADH no son espontáneas ($\Delta G^{\circ} > 0$). En otras palabras, los autótrofos son incapaces de producir el NADH necesario para la asimilación a través de la nitrificación. Además, el ciclo de Calvin que produce energía a través de la oxidación de NADH , y realiza la asimilación de CO_2 para formar el componente celular depende de un gran consumo de energía (energía solar, ATP etc.).

65

Al tener en cuenta la segunda ley de la termodinámica y que la energía solo puede transmitirse desde unidades de alta energía a unidades de baja energía sin asistencia, se observa que la nitrificación autótrofa que utiliza CO_2 como única fuente de carbono y genera energía exclusivamente a partir de la oxidación de amoníaco es de hecho inexistente.

ES 2 370 940 T3

En general se reconoce que los cambios de energía libre en condiciones de temperatura y presión constantes son indicadores del trabajo neto máximo útil generado a partir de las reacciones. En los sistemas biológicos, el trabajo neto útil se utiliza en la biosíntesis para el crecimiento celular y en el movimiento celular como fuerza mecánica, o se utiliza para mantener ciertas características fisiológicas, tales como presión osmótica celular producida por la diferencia en las concentraciones de Na⁺ y K⁺ entre el interior y el exterior de las células, o se utiliza para producir un trabajo osmótico por la fuerza motriz de protones debido a un gradiente de protones.

El trabajo para la biosíntesis, tomada para un ejemplo, es el trabajo principal para reducir la energía libre de las reacciones durante el crecimiento celular. El sistema biológico utiliza este mecanismo de acoplamiento de energía para producir trabajo útil máximo para sostener el crecimiento y otras actividades fisiológicas.

De hecho, el acoplamiento entre el metabolismo de producción de energía y las reacciones de consumo de energía no es necesariamente difícil de producirse. Se reconoce que sólo pueden acoplarse cuando las dos reacciones tengan un reactante o producto común.

De acuerdo con los principios que se han mencionado anteriormente y el modelo de teoría de oxidación combinada de carbono y nitrógeno, dos procesos tradicionalmente aparentemente sin relación - la oxidación de carbono orgánico y la oxidación del amoníaco - están conectados por el presente inventor. En los procesos combinados, la energía se acopla por la participación del remolcador de electrones NAD⁺, que actúa como el producto o el reactante en la oxidación del carbono (mediante el ciclo de Krebs) y la oxidación del amoníaco. Esto indica que los microorganismos implicados en estos procesos son heterótrofos.

A partir del análisis de la teoría anterior, se puede revelar el principio del proceso de oxidación de amoníaco heterótrofo regulado por una fuente de carbono y la composición del producto.

1. Cálculo del trabajo neto máximo en la oxidación de amoníaco aeróbica

De acuerdo con el modelo de transporte de electrones y los cálculos termodinámicos relacionados, si la pérdida de intermedios gaseosos, tales como N₂O, NO y NO₂ se descuida, y N₂, NO₂⁻ y NO₃⁻ son considerados como los únicos productos finales de la oxidación del amoníaco, en los que N₂ es considerado como el producto inevitable, se puede simplificar el proceso de acuerdo con la ley de conservación de la materia y la ley de conservación de la energía:

En la que a, b, c, d, e son la cantidad de sustancia para el reactante original, el producto intermedio y el final durante la oxidación del amoníaco, respectivamente. De acuerdo con la ley de conservación de la materia, se puede deducir la siguiente relación:

$$a = b = 2c + d + e = 1 \text{ mol,}$$

en la que $\Delta G_{N_1}^{\circ}$, $\Delta G_{N_2}^{\circ}$, $\Delta G_{N_3}^{\circ}$ y $\Delta G_{N_4}^{\circ}$ se refieren al cambio de energía libre convencional durante cada etapa correspondiente en el proceso que se ha mencionado anteriormente en el que

$$\Delta G_{N_1}^{\circ} = +22 \text{ KJ/mol} \quad \Delta G_{N_2}^{\circ} = -190 \text{ KJ/mol}$$

$$\Delta G_{N_3}^{\circ} = -267 \text{ KJ/mol} \quad \Delta G_{N_4}^{\circ} = -60 \text{ KJ/mol}$$

Por lo tanto, el cambio de energía libre total de la oxidación de amoníaco para dar el intermedio NH₂OH y los productos finales N₂, NO₂⁻ y NO₃⁻ puede representarse por $\Delta G_{N_{Total}}^{\circ}$

$$\Delta G_{N_{Total}}^{\circ} = a \Delta G_{N_1}^{\circ} + 2c \Delta G_{N_2}^{\circ} + d \Delta G_{N_3}^{\circ} + e \Delta G_{N_4}^{\circ}$$

ES 2 370 940 T3

Se demuestra que el NH_2OH es un intermedio inevitable de la oxidación de amoníaco por experimentos en oxidación biológica y también oxidación química. Debido al hecho de que la oxidación de amoníaco para dar NH_2OH es una reacción endotérmica, se requiere la oxidación de ciertas sustancias diferentes para proporcionar energía y permitir que la reacción continúe para dar la oxidación adicional de NH_2OH .

Cuando algo de carbono orgánico participa en el proceso de oxidación de amoníaco, el trabajo neto $\Delta G_{Total}^{0'}$ mediante heterótrofos a través del proceso de oxidación de amoníaco, es decir, un proceso con la combinación de oxidación de carbono y nitrógeno, puede expresarse como

$$\Delta G_{Total}^{0'} = \Delta G_{N_{Total}}^{0'} + \Delta G_{C_{Total}}^{0'}$$

en la que $\Delta G_{Total}^{0'}$ es la energía necesaria para iniciar la oxidación de amoníaco en presencia de carbono orgánico. $\Delta G_{N_1}^{0'}$ es la energía necesaria para la oxidación de amoníaco.

$$\Delta G_{C_{Total}}^{0'} = n \cdot \Delta G_C^{0'}$$

Por lo tanto, la ecuación puede expresarse adicionalmente como

$$\Delta G_{Total}^{0'} = \Delta G_{N_{Total}}^{0'} + \Delta G_C^{0'} = a\Delta G_{N_1}^{0'} + 2c\Delta G_{N_2}^{0'} + d\Delta G_{N_3}^{0'} + e\Delta G_{N_4}^{0'} + n\Delta G_C^{0'}$$

en la que n se refiere a la cantidad de sustancia de carbono orgánico o materias de producción de energía implicadas en la oxidación del amoníaco.

Cuando $-a \cdot \Delta G_{N_1}^{0'} = n \cdot \Delta G_C^{0'} = -22\text{KJ}$, es decir que energía generada a partir de la oxidación de carbono orgánico es suficiente para oxidar el amoníaco para dar NH_2OH , se obtiene:

$$\Delta G_{N_1}^{0'} + n \cdot \Delta G_C^{0'} = 0$$

Por lo tanto, el trabajo neto máximo de la oxidación combinada de carbono y nitrógeno puede describirse por

$$\Delta G_{max}^{0'} = \Delta G_{Total}^{0'} = 2c\Delta G_{N_2}^{0'} + d\Delta G_{N_3}^{0'} + e\Delta G_{N_4}^{0'}$$

Obviamente $\Delta G_{max}^{0'}$ se refiere a las HAOB predominantes, descritas en esta invención, en el lodo activado.

2. Regulación de la oxidación de amoníaco relacionada con HAOB y la composición del producto correspondiente por control de carbono

A) En la circunstancia de que las bacterias predominantes en el lodo activado sean HAOB que son capaces de oxidar amoníaco para dar NO_3^- o N_2 , tal como especies del *Bacillus pseudofirmus*,

1) Si las HAOB predominantes en el lodo activado son las que oxidan el amoníaco por completo para dar NO_3^- o N_2 (por ejemplo, *Bacillus pseudofirmus*),

$$2c+d+e=1\text{mol} \quad d=0\text{mol}$$

$$\Delta G_{max}^{0'} = 2c\Delta G_{N_2}^{0'} + e(\Delta G_{N_3}^{0'} + e\Delta G_{N_4}^{0'})$$

ES 2 370 940 T3

se deja que la energía requerida para producir NO_3^- y N_2 en las dos reacciones paralelas en oxidación de amoníaco se igualen,

$$2c\Delta G_{\text{N}_2}^{\circ} = e(\Delta G_{\text{N}_1}^{\circ} + e\Delta G_{\text{N}_4}^{\circ})$$

Después, el trabajo neto máximo $\Delta G_{\text{max}}^{\circ}$ puede calcularse como -239 KJ durante la oxidación combinada de carbono y nitrógeno.

Los productos de oxidación de amoníaco, NO_3^- -N y N_2 , son de 0-36 mol y 0,32 mol, respectivamente.

- 2) Si las HAOB predominantes oxidan el amoníaco por completo para dar N_2 y NO_2^- , y no se produce acumulación de NO_3^- ,

$$2c+d+e=1 \text{ mol} \quad e=0 \text{ mol},$$

$$\Delta G_{\text{max}}^{\circ} = a\Delta G_{\text{N}_1}^{\circ} + 2c\Delta G_{\text{N}_2}^{\circ} + d\Delta G_{\text{N}_3}^{\circ} + e\Delta G_{\text{N}_4}^{\circ} + n\Delta G_{\text{C}}^{\circ}$$

Por lo tanto, $n\Delta G_{\text{C}}^{\circ} = -43.4 \text{ KJ}$.

Los resultados indican que cuando la energía producida a partir de la oxidación de carbono excede +43,4 KJ, la oxidación de amoníaco puede controlarse en la fase de nitrificación abreviada en la que no se acumula NO_3^- .

- 3) Si las HAOB predominantes oxidan del amoníaco completamente para dar simplemente N_2 , y no se produce NO_2^- ni NO_3^- ,

$$2c+d+e=1 \text{ mol} \quad d=e=0 \text{ mol}$$

$$\Delta G_{\text{max}}^{\circ} = a\Delta G_{\text{N}_1}^{\circ} + 2c\Delta G_{\text{N}_2}^{\circ} + n\Delta G_{\text{C}}^{\circ}$$

Por lo tanto, $n\Delta G_{\text{C}}^{\circ} = -71 \text{ KJ}$.

En otras palabras, cuando la energía producida a partir de la oxidación de carbono exceda +71 KJ, el amoníaco se oxida exclusivamente para dar N_2 .

- B) En la circunstancia de que las HAOB predominantes sean bacterias formadoras de nitrito altamente activas que oxidan amoníaco para dar nitrito (en lo sucesivo en este documento denominadas heterótrofos formadores de nitrito), tales como el *Bacillus circulans*, entonces, de acuerdo con los principios que se han mencionado anteriormente, se puede calcular el trabajo neto máximo y la proporción entre los dos productos de oxidación - NO_2^- y N_2 - durante la oxidación combinada de carbono y nitrógeno. Además, para 1 mol de amoníaco oxidado,

1) Si $n\Delta G_{\text{C}}^{\circ} = -22 \text{ KJ}$, $\text{N}_2 : \text{NO}_2^- \text{-N} = 0,58:0,42$;

2) Si $-22 \text{ KJ} < n\Delta G_{\text{C}}^{\circ} < 0$, $\text{N}_2 < 0,58 \text{ mol}$, y $\text{NO}_2^- \text{-N} > 0,42 \text{ mol}$;

3) Si $n\Delta G_{\text{C}}^{\circ} < -22 \text{ KJ}$, $\text{N}_2 > 0,58 \text{ mol}$, y $\text{NO}_2^- \text{-N} < 0,42 \text{ mol}$;

4) Si $n\Delta G_{\text{C}}^{\circ} = 0 \text{ KJ}$, todos los procesos que se han mencionado anteriormente durante la oxidación del amoníaco no pueden producirse.

Las fuentes de carbono orgánico requeridas en la oxidación de amoníaco pueden suministrarse por una gama de aguas residuales o fuentes de carbono externas. Dosificando sustancias orgánicas durante la fase aeróbica, se puede controlar la proporción de diferentes productos de oxidación de amoníaco. Esto es de particular importancia para la desnitrificación de aguas residuales ricas en amoníaco inorgánico pero pobres en BOD, es decir, baja proporción

ES 2 370 940 T3

C/N. Preferiblemente, la presente invención tiene por objeto limitar el proceso de oxidación de amoníaco a la fase de "nitrificación abreviada" en la que la concentración de NO_2^- -N excede de la de N_2 .

Es necesario recalcar que los principios y técnicas de control descritas en esta invención son claramente diferentes de lo que se ha denominado "nitrificación-desnitrificación simultánea" (SND) en la tecnología de tratamiento de aguas residuales en los últimos diez años. En esta invención, N_2 es el producto inevitable o directo de la oxidación de amoníaco por HOAB en condiciones aeróbicas en presencia de sustancias orgánicas, no el producto indirecto de la desnitrificación con NO_2^- o NO_3^- como un receptor de electrones.

3. Cálculos del requisito de la fuente de carbono para la oxidación de amoníaco por HAAB

Ya que $n \cdot \Delta G_c^\circ = \frac{W_c}{M_c} \cdot \Delta G_c^\circ$, en la que W_c , M_c se refieren a la masa molar de una fuente de carbono orgánica determinada implicada en la oxidación de amoníaco, respectivamente,

$$W_c = \frac{\Delta G_{N_2}^\circ}{\Delta G_c^\circ} \cdot M_c$$

De acuerdo con las ecuaciones anteriores, se puede obtener la cantidad de fuente de carbono orgánico necesaria por las HAAB para producir diferentes productos de oxidación de amoníaco y conseguir ciertas proporciones de productos.

Por ejemplo, si se añade ácido pirúvico ($\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$) o acetato sódico anhidro (en lo sucesivo en este documento denominado acetato sódico o NaAc) a las aguas residuales ricas en amoníaco inorgánico y desprovistas de BOD, se pueden obtener los siguientes resultados:

TABLA 3

Relación entre las dosificaciones de la fuente de carbono y la composición de los productos

Fuente de carbón y dosificación (g)	$\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$	1,67 (Valor umbral)	<1,67	1,67-7,52	>7,52
	NaAc	2,1 (Valor umbral)	<2,1	2,1-9,42	>9-42
Porcentaje de producto (%)	N_2	58	<58	>58	≈100
	NO_2^- -N	42	>42	<42	=0

ΔG° se calcula de acuerdo con la mitad de las reacciones en las que $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ y NaAc se oxidan completamente para dar CO_2 .

Con este valor energético producido en la oxidación de carbono, se puede deducir el valor de COD o BOD correspondiente, o calcular la cantidad de sustancia de una determinada fuente de carbono orgánico.

Las HAAB que se han mencionado anteriormente y su mecanismo de metabolismo conducirán grandes avances tecnológicos para la eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales si se aplican a la industria.

La invención describe los siguientes procedimientos:

A) Cultivo de lodo activado con HAAB

Los suelos naturales se siembran en sustratos que contienen carbono orgánico y nitrógeno orgánico y/o amoníaco. Se aplica aeración y no aeración. A diferencia de la teoría de nitrificación autótrofa, el procedimiento de esta invención usa cultivo de bacterias heterótrofas y fuentes de carbono orgánico, tales como ácido orgánico o sus sales correspon-

ES 2 370 940 T3

dientes incluyendo, pero sin limitación, ácido acético anhidro, acetato sódico, ácido pirúvico o sus mezclas. La fuente de carbono orgánico externa es un requisito para el metabolismo de las HAOB, especialmente heterótrofos formadores de nitrito altamente activos que oxidan el amoníaco para dar nitrito.

5 Durante la fase de aeración, las bacterias crecen y realizan la oxidación de amoníaco y producen NO_2^- ; durante la fase anóxica, cuando se detiene la aeración, comienza la desnitrificación que da como resultado la desaparición de NO_2^- del cultivo, y flujo de lodo ascendente causado por la producción de grandes cantidades de burbujas.

10 El pH aumenta según el sustrato de nitrógeno orgánico se amonifica y las proteínas se descomponen durante el cultivo de HAOB. Pero según tiene lugar posteriormente la oxidación del amoníaco, que genera NO_2^- , el pH disminuye gradualmente. Por lo tanto, para estabilizar el pH en el reactor para promover el crecimiento de bacterias, puede añadirse ácido orgánico y otra fuente de carbono orgánico a diferentes intervalos de acuerdo con la variación del pH. Durante el crecimiento del lodo activo, la concentración de amoníaco disminuye gradualmente y el NO_2^- -N se acumula según continúa la aeración. En condiciones aeróbicas, la fuente de carbono orgánico iniciará la desnitrificación
15 aeróbica, causando la desaparición transitoria de NO_2^- -N que más tarde se acumulará de nuevo a una concentración mayor. Este proceso se repite con cada suplemento de carbono orgánico hasta que la oxidación de amoníaco casi desaparece y la acumulación de NO_2^- -N alcanza una cantidad máxima. Este indica que las HAOB han alcanzado una cantidad máxima con su actividad completamente expresada, y se vuelven predominantes en el lodo.

20 Los procedimientos que se han mencionado anteriormente son capaces de aprovechar por completo la actividad de HAOB y permitir que los heterótrofos formadores de nitrito altamente activos, tales como *Bacillus pseudofirmus* NH-2 y *Arthrobacter globiformis* sean predominantes en el lodo activado. Esto puede demostrarse usando los procedimientos descritos en la Patente China 03118598.3. El procedimiento proporciona maneras de identificar, separar y contar HAOB. También puede reflejarse por la acumulación de NO_2^- -N por unidad de volumen por unidad de tiempo
25 (mg/l/min).

Ya que el crecimiento y la actividad de la oxidación del amoníaco de HAOB (con producción de NO_2^- como indicador) se regulan específicamente por el metabolismo de la energía de la oxidación combinada de carbono y nitrógeno, las HAOB son capaces de eliminar amoníaco o acumular NO_2^- -N tanto en periodos de crecimiento celular
30 como sin crecimiento celular, dependiendo del tipo y la cantidad de fuente de carbono empleada. Ciertos detalles del proceso de cultivo con acumulación de NO_2^- -N como indicador deben ajustarse de acuerdo con las especies de HAOB específicas predominantes en el lodo para eliminar el impacto de una fluctuación en el pH dramática provocada por la diferencia en la utilización del carbono y el nitrógeno durante el cultivo.

35 Por lo tanto, la aeración (u oxidación con amoníaco) y la no aeración (desnitrificación) pueden controlarse de acuerdo con los principios que se muestran a continuación.

La presente invención es ampliamente aplicable en diferentes condiciones y diferentes concentraciones de lodo y fuentes de lodo, y es posible ejercer control regulando el pH o la concentración de NO_2^- -N acumulado durante la aeración. El principio general es que durante la fase aeróbica, el pH debe controlarse en el intervalo de 6,5-8,5. La razón es que cuando el pH <6,5, la velocidad de oxidación amoníaco-a-nitrito disminuye significativamente lo que es desventajoso para la eliminación de nitrógeno total. Por otra parte, la presencia de una alta concentración de HNO_2 inhibirá el crecimiento de otras bacterias, en particular, bacterias filamentosas, lo que evitará el volumen del lodo y garantizará que existan especies de HAOB predominantes altamente activas en el sistema. El pH también puede
45 elevarse debido a la alcalinidad producida a partir de la desnitrificación. Cuando el pH excede de 9, las bacterias son susceptibles de morir y por lo tanto en pH debe mantenerse en el intervalo de 6,5-8,5. El pH puede controlarse por medio de la adición de una fuente de carbono orgánico, o ácido o álcali. Cuando el nitrógeno es ≤ 3 mg/l y la acumulación de NO_2^- -N alcanza la cantidad máxima, la aeración se detiene para mantener un entorno anóxico, y después con la adición de la fuente de carbono tiene lugar la desnitrificación. El amoníaco se refiere a NH_3 y
50 NH_4^+ en total. El uso de pH y HNO_2 como indicadores pueden facilitar el control inteligente de la aeración y la no aeración.

Durante el cultivo del lodo activado con HAOB, la temperatura se mantiene en el intervalo de temperatura ambiente, por ejemplo, 20~40°C. En el caso de un cultivo continuo a temperaturas por debajo de 15°C, el descenso
55 del crecimiento del lodo y la concentración de amoníaco son lentos, y no se observan acumulaciones de NO_2^- -N y NO_2^- -N, indicando que las células experimentan un crecimiento lento a bajas temperaturas de acuerdo con la teoría de Monod. Sin embargo, una de las características significativas de la invención es que se pueden cultivar HAOB a temperatura ambiente y usarlas a bajas temperaturas. Esta característica se debe al principio de la eliminación de carbono y nitrógeno sin crecimiento celular, que se describe a continuación.

60 Después del cultivo, lodo activado con HAOB producido a partir de la etapa A) se siembra en un bio-reactor (es decir, el reactor de tratamiento biológico que se ha mencionado anteriormente) que contiene aguas residuales con carbono orgánico y nitrógeno orgánico y/o amoníaco. La mezcla se airea y, si no hay carbono orgánico, puede añadirse la fuente de carbono orgánico al agua para permitir que la oxidación del amoníaco proceda. Una vez que el
65 NO_2^- -N empieza a acumularse, la aeración se detiene para mantener un entorno anóxico, y después se añade la fuente de carbono orgánico para iniciar la desnitrificación. La desnitrificación continúa aunque hasta que no haya nitrito presente.

ES 2 370 940 T3

En la etapa B), la eliminación del carbono y el nitrógeno se consigue a través de procesos aeróbicos y anóxicos o a través del control de la aeración y la no aeración. El proceso aeróbico realiza la eliminación de COD, y la oxidación de amoníaco, un proceso similar al denominado nitrificación en la tecnología actual con la excepción de que el proceso aeróbico se realiza por HAOB con N_2 y NO_2^- como productos. Por otra parte, el proceso anóxico es similar a la tecnología de desnitrificación presente, en la que el carbono orgánico se añade cuando se acumula NO_2^- -N en cierta medida, y las condiciones anóxicas se mantienen hasta que no hay NO_2^- -N. Sin embargo, la diferencia entre esta invención y las tecnologías presentes es que la eliminación del carbono y el nitrógeno se consiguen por heterótrofos.

La presente invención puede aplicarse a una amplia gama de aguas residuales que contienen nitrógeno, por ejemplo, aguas residuales municipales con TKN (Nitrógeno Kjeldahl Total) que vía entre 20 y 80 mg/l, aguas residuales de alta concentración (TKN: 400~500 mg/l), tales como aguas residuales de coque, o aguas residuales industriales (TKN: 1000~2000 mg/l), tales como aguas residuales de fabricas de fertilizantes y glutamato monosódico. En la etapa B), la acumulación de NO_2^- -N puede mantenerse al nivel de 0,5~125 mg/l durante la oxidación de amoníaco. Una vez que se ha alcanzado el nivel deseado, se deja que se produzca la desnitrificación anóxica. De acuerdo con la etapa B), los diferentes niveles de nitrógeno pueden requerir oxidación y desnitrificación de amoníaco repetidas para eliminar el carbono y el nitrógeno y conseguir la concentración deseada, tal como una concentración de amoníaco de menos de 3 mg/l.

La tecnología biológica basada en el no crecimiento celular para la eliminación de carbono y nitrógeno se desarrolla en esta invención para superar los defectos de los procedimientos de tratamiento biológico convencionales, y las limitaciones de la desnitrificación causadas por la baja velocidad de crecimiento y la eficacia de la conversión del sustrato de las bacterias oxidantes de amoníaco.

Como ya se ha mencionado anteriormente, el tratamiento de aguas residuales actual se basa principalmente en la teoría de Monod que se refiere al crecimiento bacteriano para eliminar los sustratos. De acuerdo con la teoría, es necesaria la descarga de grandes cantidad de lodo, y la bajas temperaturas conducirán a una lenta velocidad de crecimiento celular y una asimilación ineficaz del amoníaco y, por consiguiente, una baja acumulación del producto de oxidación de amoníaco NO_2^- -N incluso para HOAB.

Generalmente, se aprecia que los principios subyacentes de la eliminación del carbono y el nitrógeno de las aguas residuales son las teorías de la termodinámica y la cinética de enzimas, en otras palabras, los principios de las reacciones bioquímicas que promueven las enzimas en el crecimiento celular. Los principios en que se basa esta invención no se contradicen con las teorías clásicas de promoción de enzimas, la síntesis y la expresión se enzimas ya se ha conseguido completamente cuando el crecimiento de las bacterias oxidantes de amoníaco alcanzan la cantidad máxima. Por consiguiente, la eliminación del carbono y el nitrógeno es irrelevante para el crecimiento bacteriano y sólo tiene relación con la actividad enzimática y la cantidad enzimática. La actividad de oxidación del amoníaco del lodo activado con HAOB cultivado a partir de la etapa A) ya se ha expresado completamente y por lo tanto puede utilizarse a diferentes temperaturas para conseguir la función de los microorganismos. Además, de acuerdo con el principio del no crecimiento celular promovido por enzimas, el lodo activado con HAOB puede retenerse en el interior del reactor sin descarga constante de lodo o células bacterianas lo que se requiere para un procedimiento convencional de acuerdo con el principio del crecimiento celular.

Por lo tanto, algunos conceptos de esta invención son diferentes de los conceptos clásicos aplicados tradicionalmente en un sistema de lodo activado convencional. Por ejemplo, la edad del lodo (tiempo de retención del lodo, SRT) se define tradicionalmente como la proporción entre la cantidad total de lodo en el reactor y el lodo descargado por unidad de tiempo. En otras palabras, es la proporción entre la cantidad de lodo contenido en el sistema de lodo activado (M_x) y la producción de lodo (F_{sp} , la cantidad de lodo descargado por unidad de tiempo), $SRT = M_x/F_{sp}$. Sin embargo, a lo largo de todo el proceso del presente procedimiento, no se descarga lodo, $F_{sp} = 0$, $SRT = \infty$, por lo tanto, $SRT \gg HRT$, que refleja adicionalmente que la teoría de la enzima implicada en la eliminación de carbono y nitrógeno en esta invención es claramente indiferente de la teoría del crecimiento clásica. Por lo tanto, la presente invención resuelve el problema que surge en el proceso de tratamiento de aguas residuales convencional de que una gran cantidad de lodo tiene que descargarse y después tratarse.

De acuerdo con los principio de la eliminación de carbono y nitrógeno en condiciones de no crecimiento celular, el lodo activado con HAOB cultivado a partir de la etapa A) se capaz de funcionar a temperaturas inferiores que la temperatura ambiente. En otras palabras, la técnica se caracteriza por el cultivo a temperatura ambiente y la utilización a baja temperatura y, como se ha mencionado en la etapa B), es capaz de conseguir una oxidación del amoníaco y desnitrificación eficaz cuando funciona a la temperatura de 6-40°C.

Además, la invención tiene una eficacia de oxidación de amoníaco significativamente mejorada a través del aumento de la concentración del lodo y la mejora en la eficacia de transferencia de masas del oxígeno, que refleja de nuevo la teoría del no crecimiento celular durante la eliminación de carbono y nitrógeno.

La concentración de lodo y las condiciones de aeración de la etapa B) pueden determinarse de acuerdo con tecnologías convencionales. El aumento del lodo activado puede aumentar en gran medida la eficacia del tratamiento de aguas residuales, y disminuir significativamente el tiempo de retención hidráulica (HRT), el tiempo de aeración y el tiempo de no aeración. Por consiguiente, la mejora de la aeración puede mejorar la capacidad del tratamiento y reducir el HRT, el tiempo de aeración y el tiempo de no aeración.

ES 2 370 940 T3

La etapa B) puede aplicarse generalmente en diversos tipos de reactivos biológicos existentes, por ejemplo, reactores de lodo activado suspendidos, reactores de biopelícula, reactores de secuenciación por lotes (SBR) o reactores de flujo continuo o sus combinaciones.

5 La utilización de lodo activado con HAOB para eliminar el carbono y el nitrógeno puede conseguirse por el sistema de tratamiento biológico de dos fases tradicional, que elimina la necesidad de construir nuevos reactores. Las características biológicas de las HAOB permiten que la eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales se consiga en un SBR único, o en un reactor continuo de tipo tanque agitado (CSTR). El proceso puede realizarse fácilmente mediante el control o aeración para crear condiciones aeróbicas o anóxicas. Esto reduce en gran medida el número
10 de reactores, simplifica el proceso de funcionamiento y evita muchas dificultades implicadas en la configuración del reactor compilado que caracteriza los procedimientos convencionales.

El proceso tecnológico de la eliminación de carbono y nitrógeno en un SBR unido se muestra en la Figura 1. El lodo activado que contiene HAOB se siembra en las aguas residuales que contienen COD y NH_3 . Después, la aeración y la no aeración inician la fase aeróbica (fase I) y la fase anóxica (fase II) posteriormente en el mismo SBR a una temperatura entre 6-40°C (Figura 1). La Fase I implica la eliminación de COD y la oxidación del amoníaco del nitrógeno en condiciones aeróbicas por heterótrofos, y por consiguiente, da como resultado la liberación de N_2 o la acumulación de NO_2^- -N. Una vez que el NO_2^- -N alcanza un cierto nivel, la aeración se detiene para crear una condición anóxica, es decir, la fase II, en la que se añade la fuente de carbono orgánico para realizar la desnitrificación hasta que el NO_2^- -N desaparece. El bucle de la fase I a la fase II puede repetirse varias veces hasta que los contaminantes de carbono y nitrógeno se eliminen generalmente y alcance un cierto estándar, por ejemplo, una cantidad de amoníaco de menos de 3 mg/l.

Un tanque de sedimentación es innecesario en el proceso ya que la fase I y la fase II no requieren separación de lodos. Además, la flotación de lodo causada por la liberación de N_2 durante la desnitrificación en la fase anóxica puede utilizarse fácilmente para conseguir la separación de lodos espontánea. El efluente (es decir, las aguas residuales tratadas) pueden verse desde la parte invención del reactor por gravedad lo que reduce el consumo de energía innecesario y evita la necesidad de un tanque de sedimentación o un proceso de reciclado de lodos.

30 A partir del análisis previo acerca de la regulación de la oxidación de amoníaco relacionada con HAOB y la composición de los productos correspondiente por el control del carbono, puede observarse que, por lo tanto, es posible en la etapa B) controlar la composición de los productos de oxidación de amoníaco controlando la adición de la fuente de carbono orgánico a los reactores biológicos en condiciones aeróbicas. La fuente de carbono orgánico en un reactor biológico incluye carbono orgánico de las aguas residuales (COD o BOD) y una fuente de carbono orgánico externa cuando sea necesario. Por lo tanto, los productos de oxidación de amoníaco pueden regularse a diferentes niveles cambiando la cantidad y los tipos de carbono orgánico externo y el suministro de oxígeno. El control del carbono y el suministro de oxígeno apropiados no solo permiten la eliminación simultánea del carbono y el nitrógeno en condiciones aeróbicas, sino que también son capaces de optimizar el proceso al nivel más ventajoso.

40 Por consiguiente, la etapa B) preferiblemente limita la reacción a la fase de nitrificación abreviada. Las amonificaciones en N_2 y NO_2^- coexisten en presencia de una cierta sustancia orgánica. La acumulación de NO_2^- -N predomina sobre la producción de N_2 y la reacción puede controlarse en la fase de nitrificación abreviada en la que el NO_2^- -N se acumula sin que se produzca NO_2^- -N. El proceso se facilita por HAOB altamente activas, tales como *Bacillus pseudofirmus* NH-2 y *Arthrobacter globiformis* WR-2 como se menciona en esta invención.

45 Debido a la existencia de COD, parte del amoníaco puede oxidarse para dar N_2 de tal forma que el suministro de oxígeno y el consumo de energía puedan reducirse. La alcalinidad regenerada a partir de la desnitrificación neutraliza el ácido producido de la oxidación del amoníaco, lo que reduce significativamente el requisito de la alcalinidad - esto es similar a lo que se ha descrito en SHARON®.

50 A diferencia de lo que se ha descrito en la teoría del crecimiento autótrofo que respalda los procedimientos de eliminación de amoníaco comunes, los heterótrofos completamente cultivados son activos a diversas temperaturas. Pueden realizar el proceso de oxidación de amoníaco de forma constante en la fase de NO_2^- , y superar de esta manera las dificultades implicadas en el control del pH, el control del OD, el control de la temperatura y el control del amoníaco libre. En particular, resuelve los problemas asociados con la alta temperatura de funcionamiento, tal como el alto consumo de energía en invierno y la eliminación de amoníaco ineficaz para aguas residuales de alta concentración, lo que es característico de la técnica SHARON®. La invención puede eliminar alto contenido de carbono y nitrógeno de diversas aguas residuales de forma eficaz.

60 En total, en comparación con las tecnologías convencionales y la técnica SHARON®, el procedimiento de acuerdo con la presente invención posee algunas ventajas evidentes como se indica a continuación:

- 1) De acuerdo con los caracteres fisiológicos de HAOB y sus características del catabolismo de carbono y nitrógeno, el procedimiento es capaz de eliminar carbono y nitrógeno simultáneamente en condiciones de no crecimiento celular.
- 2) No se requiere descarga de lodo a lo largo de todo el proceso de tratamiento de aguas residuales, lo que elimina dificultades asociadas con la eliminación de lodo en las tecnologías de lodo activado tradicionales.

ES 2 370 940 T3

- 3) El lodo activado de acuerdo con la presente invención es capaz de conseguir la eliminación del carbono y el nitrógeno en un sistema de lodo activado convencional sin construir nuevos reactores, y de esta manera pueden reducirse en gran medida los costes de construcción. El fin de esta invención puede cumplirse con un reactor biológico único, y por lo tanto, el lodo activado puede emplearse en una diversidad de reactores de tratamiento biológico ya existentes.
- 4) El procedimiento ha superado las limitaciones de la temperatura: la nitrificación y desnitrificación abreviadas eficaces pueden conseguirse en el intervalo de temperatura de 6-40°C, mientras que en el proceso SHARON® se requieren condiciones estrictas de 30-40°C para conseguir la nitrificación abreviada.
- 5) La nitrificación y la desnitrificación abreviadas pueden conseguirse tanto en condiciones aeróbicas como en condiciones anóxicas a través del control de la fuente de carbono.
- 6) En comparación con el proceso SHARON®, la invención tiene una alta velocidad de desnitrificación abreviada. También ha superado un problema que caracteriza las técnicas de desnitrificación convencionales: la desnitrificación se inhibe una vez que el NO_2^- -N excede de 30 mg/l.
- 7) La invención puede reducir en gran medida la demanda de oxígeno y la fuente orgánica para la desnitrificación.
- 8) El lodo activado puede cultivarse fácilmente en grandes cantidades debido un corto tiempo de inicio, funcionamiento flexible y control sencillo.
- 9) El volumen de los lodos no tiene lugar, y el lodo puede separarse sin requerir ningún tanque de sedimentación de lodos.

A continuación, se presentan descripciones detalladas de las realizaciones de la invención. Sin embargo, ha de apreciarse que la invención no se limita a las realizaciones presentadas a continuación, pero se define por las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de los dibujos adjuntos

La Figura 1 ilustra el proceso de la eliminación de carbono y nitrógeno en un reactor SBR único de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 ilustra el aparato para el experimento en el banco.

La Figura 3 ilustra el proceso de tratamiento para aguas residuales de coque combinando un reactor de flujo continuo con un SBR.

Realizaciones preferidas

Las propiedades fisicoquímicas del suelo sembrado se enumeran en la Tabla 4. No se requirieron características específicas ni una fuente específica para el suelo.

(1) Tierra Yutu

Se denomina suelo fluvo ácuico de medio margoso de color amarillo en la categorización del suelo.

Se tomaron muestras de la tierra de tierras de labranza en el pueblo de Zhaogang, condado Fengqiu, provincia de Henan, China (GPS: 35-2N, 114-5E).

Las propiedades fisicoquímicas fueron las que se indican a continuación:

TABLA 4

Propiedades fisicoquímicas de la muestra de Yutu

Materia orgánica (%)	N total (% de N)	P total (% de P_2O_5)	K total (% de K_2O)	pH (Extracción de agua)	CaCO_3 (%)
1,57	0,092	0,178	2,26	8,34	10,51

CEC $\text{Cmol}^{(+)}\text{kg}^{-1}$ 19,13, textura de la tierra: marga arcillosa limosa

ES 2 370 940 T3

(2) Tierra Wushantu

Se denomina gley neutro como el suelo arrocero en la categorización de la tierra.

5 Se tomaron muestras de la tierra de tierras de labranza en el pueblo de Xinzhuang, ciudad de Changshu, provincia de Jiangsu, China. (GPS: 31-33-N, 123-38-E).

Las propiedades fisicoquímicas fueron las que se indican a continuación:

10 TABLA 5

Propiedades fisicoquímicas de la muestra de Wushantu

Materia orgánica (%)	N total (% de N)	P total (% de P ₂ O ₅)	K total (% de K ₂ O)	pH (Extracción de agua)	CaCO ₃ (%)
3,74	0,192	0,160	2,16	7,41	0,03
CEC Cmol ⁽⁺⁾ kg ⁻¹ 19,13, textura de la tierra: margas arcillosa limosa					

25 El número de microorganismos presentes en la muestra de la tierra antes y después del cultivo se muestran en la Tabla 6.

30 TABLA 6

Número de microorganismos antes y después del cultivo

Muestra de tierra seca [ⓐ]	Tierra fresca (0 días de cultivo)			Después del cultivo de 24 días en medio inorgánico		
	MPN por gramo de tierra seca [ⓐ]	Número de bacterias totales por gramo de tierra seca [ⓐ]	Proporción de heterótrofos nitrificantes con respecto al número de bacterias totales [ⓐ]	MPN por gramo de tierra seca	Número de bacterias totales por gramo de tierra seca	Proporción de heterótrofos nitrificantes con respecto al número de bacterias totales
Yutu	8,52 x 10 ⁶	2,71 x 10 ⁶	55,3%	6,0 x 10 ¹⁰	5,9 x 10 ¹⁰	46,7%
Wushantu	7,2 x 10 ³	3,11 x 10 ⁷	33,0%	3,4 x 10 ¹⁰	3,05 x 10 ¹⁰	50,0%

ⓐ Se usó medio modificado Stephenson

ⓑ Placa PM (placa de extracto de carne-peptona-agar)

ⓒ Patente China (Pat. N° 03118598-3, CN1187440C) "Separation, identification and purification of heterotrophic nitrification microorganisms"

60 La fuente de las aguas residuales y sus composiciones se muestran a continuación. La invención no se limitó a ningún componente o concentración específicos.

(A) Aguas residuales modeladas con altas concentraciones de carbono y nitrógeno

Extracto de Levadura	Triptona	(NH ₄) ₂ SO ₄
2,36 g	2,36 g	2,50 g

ES 2 370 940 T3

La solución se preparó con agua del grifo; las sustancias orgánicas se calentaron para su disolución y se diluyeron para dar 2500 ml; el pH se ajustó en el intervalo de 7,0~7,2; CODer = $1,99 \times 10^3$ mg/l, TKN = 424 mg/l, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ = 212 mg/l.

5 (B) Aguas residuales municipales modeladas

La concentración de la solución preparada en la etapa (A) se diluyó para dar un décimo con agua, tal como CODer = $1,99 \times 10^2$ mg/l, TKN = 42,4 mg/l, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ = 21,2 mg/l.

10 (C) Aguas residuales fertilizantes modeladas de alta concentración

La solución se preparó con urea, $(\text{ND}_4)_2\text{SO}_4$ y agua del grifo sin esterilización. TKN = 1000 N mg/l, en la que el nitrógeno ureico = $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ = 500 mg/l; pH ~7.0.

15 (D) Aguas residuales industriales: glutamato monosódico

Se tomaron muestras de aguas residuales de alta concentración de aguas residuales sin procesar de una empresa de fabricación de glutamato monosódico de la provincia de Jiangsu, China. Las aguas residuales se trataron en un reactor SBR. Las características de las aguas residuales se mostraron en la Tabla 7.

TABLA 7

Características de las aguas residuales de glutamato monosódico

COD (mg/l)	BOD (mg/l)	NH ₄ ⁺ -N (TKN) (mg/l)	SO ₄ ²⁻ (mg/l)	pH
$4,5 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$		6,0-6,5

Las aguas residuales sin tratar se diluyeron para dar $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ a una concentración de aproximadamente 500~600 mg/l o 1500~1800 mg/l antes de ponerlas en el SBR descrito en la invención.

35 (E) Aguas residuales industriales: aguas residuales de coque

Se tomaron muestras de aguas residuales de un grupo de acero en Nanjin, provincia de Jiangsu, China. La media al mes de composiciones de contaminantes se mostró en la Tabla 8:

TABLA 8

Características de las aguas residuales de coque

Fenol volátil (mg/l)	Cianuro (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ ⁺ -N (TKN) (mg/l)	color	pH	SCN (mg/l)
156-289	10-20	1081	330-511	Pardo claro transparente	7-10	-300

Los experimentos se realizaron en reactores similares a los SBR que se describen como se indica a continuación:

Configuración del reactor con un vaso de precipitados: Como se muestra en la Fig. 2, se usó un vaso de precipitados de 3 l con un volumen eficaz de 2,5 l como reactor; el reactor se agitó constantemente con un agitador magnético; y se realizó la aeración usando una bomba de aeración (potencia: 2,5 W) con un difusor de aire de núcleo de arena sinterizada; un baño termostático (modelo SDC-6) permitió que el reactor se mantuviera a una temperatura constante de $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ o $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Configuración del reactor con una cuba: Se usó una cuba de PVC de 150 l con un volumen eficaz de 100 l, equipado con un agitador mecánico con una velocidad de giro constante de 60 rpm como reactor. El aire se suministró por un compresor de aire electromagnético y 6 difusores de aire de núcleo de arena sinterizada, con un caudal de aire de 40 l/min. Los experimentos se realizaron a temperaturas de $15 \pm 2^\circ\text{C}$ y $30 \pm 2^\circ\text{C}$ en diferentes estaciones, respectivamente.

ES 2 370 940 T3

Todas las unidades del experimento cumplieron los estándares nacionales o estándares industriales en ausencia de estándares nacionales. Por ejemplo, 60,0 mg-N/l de nitrito representarán 60 mg de nitrito en cada litro de solución y 0,18 mg-N/l de nitrato representarán 0,18 mg de nitrato en cada litro de solución.

5 Si las condiciones y procedimientos del experimento no se describen específicamente en los experimentos que se muestran a continuación, se entenderá que se realizarán en condiciones y procedimientos convencionales. Por ejemplo, los procedimientos descritos en “Experimental Methods for Soil Microorganism” (recopilado por el Centro de Investigación de Microorganismos del Suelo [Japón], traducido por Ye Weiqing etc. Science Press, 1983); “Manual for Research Methods of Soil Microorganism” (XuGuanghui, Beijing Agricultural Press, 1986);

10 “Research Methods for Soil Microorganism” (Recopilado por el Instituto de Ciencias del Suelo, Academia de Ciencias de China, Science Press, 1985); y “Research Methods for Water Quality” (Recopilado por la Asociación del Uso del Agua Industrial Japonesa, traducido por Chen Iv-an, Chinese Environmental Science Press, 1990), etc. Se determinaron ciertos procedimientos y condiciones de acuerdo con las sugerencias de los fabricantes.

15
Ejemplo 1

20 Este ejemplo usó Wushantu como semilla en el proceso de cultivo de lodo.

La composición del medio de pre-cultivo orgánico usado para el cultivo de HAOb se enumera a continuación:

Extracto de levadura	Triptona	(NH ₄) ₂ SO ₄	NaH ₂ PO ₄	K ₂ HPO ₄	FeSO ₄ ·7H ₂ O	MnSO ₄ ·H ₂ O	MgSO ₄ ·7H ₂ O
2,36 g	2,36 g	2,50 g	0,63 g	1,80 g	0,03 g	0,03 g	0,09 g

25 El sustrato de cultivo se preparó disolviendo el medio de pre-cultivo orgánico con agua del grifo y calentamiento, y después se diluyó para dar 2500 ml; el pH se ajustó en el intervalo de 7,0-7,2; CODer = 1,99 x 10³ mg/l, TKN = TN = 424 mg/l; N orgánico N:N inorgánico = 1:1.

30 Se sembraron 5 g de Wushantu seca en los 2500 ml de sustrato de cultivo anteriores (TKN = 424 mg/l). La aeración continua se realizó a 28°C durante 2 días hasta que el NO₂⁻-N alcanzó 0,5-1,0 mg/l. A la solución se le añadieron dos veces al día (cada 12 horas) ácido acético (HAc) o acetato sódico (NaAc) como fuente de carbono. La cantidad de fuente de carbono cada vez fue de 0,28 ml de HAc anhidro por litro de solución o 0,40 g de NaAc anhidro por litro de solución, que correspondía a un equivalente de concentración de COD de 316 mg/l. Según la variación del pH, se añadieron alternativamente HAc o NaAc para mantener el pH entre 6,5 y 8,5.

35 Se observó acumulación de NO₂⁻-N (≥ 5 mg/l) después de la 12^a adición de fuente de carbono en condiciones de aeración. La adición de carbono se realizó un total de 18 veces o 9 días. El noveno día, 12 horas después de la segunda adición de la fuente carbono, la acumulación de NO₂⁻-N alcanzó 75 mg/l o incluso más. Hasta entonces, el COD total (incluyendo toda la fuente de carbono añadida y la del medio) había alcanzado 7688 mg/l y el tiempo de aeración había ascendido a 11 días.

40 Después, se inició la desnitrificación anóxica. La aeración se detuvo y se añadieron metanol y NaAc anhidro de acuerdo con la concentración de NO₂⁻-N con una estequiometría química COD: NO₂⁻-N = 2,4:1, que era un dato experimental y era diferente de la proporción 1,71:1 en teoría. Se añadió metanol de acuerdo con la proporción en masa de CH₃OH:NO₂⁻-N = 2,4:1 (datos experimentales) o se añadió NaAc anhidro de acuerdo con la proporción en masa de NaAc:NO₂⁻-N = 4,57:1 (datos experimentales). Después, la mezcla se agitó para realizar la desnitrificación. Se observó una gran cantidad de burbujas seguido de flotación del lodo. Una vez que el NO₂⁻-N estaba por debajo de 0,5 mg/l, se detuvo la desnitrificación.

45 La aeración puede continuar para oxidar completamente NH₄⁺ en NO₂⁻ si todavía existe NH₄⁺ restante. No se requiere adición de carbono en el proceso y el proceso de desnitrificación que se ha mencionado anteriormente puede repetirse varias veces una vez que la acumulación de NO₂⁻ haya alcanzado un determinado nivel. El fin del cultivo se marcó por el descenso de las concentraciones de NH₄⁺-N, NO₂⁻-N y NO₃⁻-N, cada una por debajo de 1 mg/l. El lodo obtenido puede usarse para tratar todo tipo de aguas residuales.

50 El proceso de cultivo que se ha mencionado anteriormente puede realizarse con éxito en el reactor de cuba (150 litros), así como el reactor de vaso de precipitados anterior. El lodo forma témpanos tiene una buena capacidad de sedimentación.

ES 2 370 940 T3

Ejemplo Comparativo

Los ejemplos comparativos compararon la actividad de la conversión del nitrógeno la actividad de la conversión de nitrógeno por las bacterias oxidantes de amoníaco a temperaturas diferentes en un proceso de secuenciación por lotes de cultivo simple cuando se aplican medios de cultivo heterótrofos y autótrofos.

Se sembraron por separado dos tipos de muestras de suelo en el sustrato de cultivo que se ha mencionado en el Ejemplo 1 (sustrato de cultivo heterótrofo, representado por H en las Tablas 9 y 10) y medio de cultivo inorgánico de Stephen modificado (sustrato de cultivo autótrofo, representado por A en las Tablas 9 y 10). Las cantidades fueron 2,0 gramos de suelo seco por litro de solución. Ambos ejemplos se realizaron usando un cultivo de secuenciación por lotes simple a 28°C en el mismo reactor y en las mismas condiciones. Aparte de la aplicación de NaOH para a justar la acidez, no se añadió una fuente de carbono orgánico.

El medio de cultivo modificado de Stephenson fue como se indica a continuación con TN = NH₄⁺-N = 400 mg/l y sin esterilización:

(NH ₄) ₂ SO ₄	NaH ₂ PO ₄	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄ · 7H ₂ O	MnSO ₄ · H ₂ O	FeSO ₄ · 7H ₂ O	Agua del grifo	pH
5,0 g	0,625 g	1,875 g	0,075 g	0,025 g	0,025 g	2500 ml	7,0-7,2

La Tabla 9 comparó las conversiones de nitrógeno en dos sustratos de cultivo diferentes.

(Tabla pasa a página siguiente)

Tabla 9. Tasas de conversión de nitrógeno para Yutu y Wushantu a 28 °C en diferentes sustratos de cultivo

Inóculo	Sustrato de cultivo	Temperatura (°C)	Tiempo de amonificación (días) [Ⓞ]	Tiempo de oxidación del amoniaco (días) [Ⓞ]	Tiempo de oxidación de nitrito (días) [Ⓞ]	Tiempo de desnitrificación (días) [Ⓞ]
Tierra	H	28	2	10	10	2,5~3,0
Yutu	A	28	-	14	14	>5
Tierra	H	28	2	10	10	2,3~3,0
Wushantu	A	28	-	14	14	>5

[Ⓞ]Tiempo de amonificación-Tiempo necesario para la amonificación del nitrógeno orgánico hasta que la prueba del reactivo de Griess-Ilosvay comience a mostrarse positiva y $\text{NO}_2^- \text{-N} < 0,2 \text{ mg/l}$.

[Ⓞ]Tiempo de oxidación del amoniaco-Tiempo necesario hasta que la prueba del reactivo de Nessler fue negativa y la prueba del reactivo de Griess-Ilosvay fue positiva, indicando la desaparición del amoniaco.

[Ⓞ]Tiempo de oxidación del nitrito-Tiempo necesario hasta que tanto la prueba del reactivo de Nessler como la prueba del reactivo de Griess-Ilosvay fueron negativas y la prueba del reactivo de difenilamina fue positiva, indicando ambos $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ y $\text{NO}_2^- \text{-N}$ de menos de 0,2 mg/l.

[Ⓞ]Tiempo de desnitrificación-Tiempo necesario hasta que la prueba del reactivo de difenilamina y la prueba del reactivo de Griess-Ilosvay fueron ambas negativas.

ES 2 370 940 T3

Los resultados mostrados en las tablas anteriores indicaron que la tasa de nitrificación y desnitrificación en la sustancia de cultivo heterótrofo excedía a la del sustrato de cultivo autótrofo. El lodo en el sustrato de cultivo heterótrofo formó témpanos pero el lodo en el sustrato de cultivo autótrofo fue pequeño y tenía poca capacidad de sedimentación lo que estaba de acuerdo con los resultados indicados.

Las operaciones similares se realizaron a 15°C, y se cultivaron durante 35 días (Tabla 10).

TABLA 10

Nitrificación para Yutu y Wushantu a 15°C en sustratos de cultivo diferentes

Inóculo	Sustrato de cultivo	Temperatura de cultivo (°C)	NO ₂ ⁻ -N (mg/l)	NO ₃ ⁻ -N (mg/l)
Tierra	H	15	<1	<1
Yutu	A	15	<1	<1
Tierra	H	15	<1	<1
Wushantu	A	15	<1	<1

H - Sustrato de cultivo heterótrofo; A - Sustrato de cultivo autótrofo

Los resultados muestran que a bajas temperaturas, el crecimiento celular era muy escaso con una formación de partículas ligeramente organizada en sustratos de cultivo tanto heterótrofo como autótrofo. No tuvo lugar la nitrificación, en otras palabras no hubo acumulación de NO₂⁻-N y NO₃⁻-N.

Se indicó que cuando se aplicó un cultivo de secuenciación por lotes simple, la velocidad de nitrificación en sustratos de cultivo inorgánicos u orgánicos fue extremadamente lenta y el lodo activado era difícil de obtener, lo que está de acuerdo con los informes previos.

Ejemplo 2

El ejemplo 2 describe la aplicación del lodo activado sembrado en Wushantu en el ejemplo 1 para tratar aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico.

El lodo activado sembrado en Wushantu en el ejemplo 1 se recogió como inóculo. El proceso se realizó de acuerdo con el diagrama de flujo mostrado en la Figura 1: La reacción se detuvo cuando el amoníaco estaba por debajo de 3 mg/l (no había acumulación de NO₂⁻-N o NO₃⁻-N); el agua se desechó y el lodo se dejó. El proceso se repitió continuamente durante 12 meses, durante los cuales no se desechó lodo. Los parámetros técnicos y los resultados de tratamiento relacionados se mostraron en la Tabla 11.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 370 940 T3

TABLA 11

Parámetros técnicos para el tratamiento consecutivo de aguas residuales modeladas con aguas residuales con alto contenido de carbono y nitrógeno orgánico (TKN = 424) usando lodo activado sembrado en Wushantu

Veces de tratamiento continuo		1ª vez	2ª vez	3ª vez	4ª vez	5ª vez
Concentración de lodo inicial (mg/l)		2000				
Aguas residuales sin tratar		Aguas residuales de alta concentración en carbono y nitrógeno (TKN = 424 mg/l)				
Temperatura (°C)		28,0	28,0	28,0	28,0	28,0
Lapso de tiempo (h)	HRT total	105	70,5	47,5	36,5	36,4
	Amonificación	13,5	11	8	5,5	5,3
	Oxidación de amoniaco para dar nitrito	84	55,25	36,5	28	28
	Aeración	97,5	66,25	44,25	33,5	33,3
	Sin aeración	7,5	4,25	3,25	3,0	3,1
	Oxidación de amoniaco para dar nitrito/Sin aeración	11,2:1	15,5:1	13,6:1	11,2:1	11:1
Consumo total de la fuente de carbono (NaAc anhidro) (g)		3,2	2,95	3,15	3,15	3,15
Acumulación de NO ₂ ⁻ -N total (mg/l)		218	310	315	330	330
Volumen de lodo después de 30 min de sedimentación (ml)		-200	250-300	-350	-400	-400

Puede concluirse a partir de la Tabla 11 que durante el tratamiento consecutivo de las aguas residuales de alta concentración en carbono y nitrógeno orgánico a 28°C con 2000 mg/l sembrados de lodo activado y un solo difusor de aire, el HRT total, el tiempo de aeración y el tiempo sin aeración disminuyen significativamente con el alimento de las repeticiones de tratamiento consecutivas. Sin embargo, el volumen del lodo experimentó un ligero aumento hasta que se estabilizó después del cuarto ciclo de tratamiento continuo. Se oxidó aproximadamente el 22,2% de amoniaco para dar N₂ y se disipó mientras que el resto del amoniaco se eliminó a través de la desnitrificación.

ES 2 370 940 T3

TABLA 12

Comparación de concentraciones entre influente (es decir, las aguas residuales antes del tratamiento) y el efluente (es decir, las aguas residuales después del tratamiento)

5

Elementos Índices	COD	TKN mg/l	NH ₄ ⁺ -N	NO ₂ ⁻ -N	NO ₃ ⁻ -N
Influyente	1,9 x 10 ³	424	212	0	0
Efluente	38	<10	<3	<0,5	0

10

15

Los índices de efluente disminuyeron sustancialmente (Tabla 12), de esta manera el procedimiento propuesto por la invención había eliminado de forma eficaz el carbono y el nitrógeno de las aguas residuales.

20 Ejemplos 3-5

Los Ejemplos 3-5 describen la aplicación del lodo activado sembrado en Wushantu para tratar aguas residuales de glutamato monosódico, aguas residuales fertilizantes modeladas y aguas residuales municipales modeladas de la misma manera que el ejemplo 2.

25

(Tabla pasa a página siguiente)

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 13. Parámetros técnicos para el tratamiento consecutivo de aguas residuales con el lodo activado sembrado en Wushantu a diferentes temperaturas

		Difusor de aire único				
		Ejemplo 5				
Aguas residuales sin tratar		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L				
		Ejemplo 4		Ejemplo 5		
		Aguas residuales fertilizantes modeladas 1000 mg N/L		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L		
		Ejemplo 3		Ejemplo 5		
Aguas residuales de glutamato monosódico (500 mg N/L)		Aguas residuales fertilizantes modeladas 1000 mg N/L		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L		
		Aguas residuales de glutamato monosódico (500 mg N/L)		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L		
Repeticiones de tratamiento consecutivo		Aguas residuales de glutamato monosódico (500 mg N/L)		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L		
Temperatura °C		Aguas residuales de glutamato monosódico (500 mg N/L)		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L		
Lapso de tiempo (h)		Aguas residuales de glutamato monosódico (500 mg N/L)		Aguas residuales municipales modeladas 42,4 mg N/L		
		28	28	15	15	15
	HRT total	71,9	95,7	19,5	14,03	13,5
	Amonificación	3,5	0	0	0	0
	Oxidación de amoniac para dar nitrito	63,5	84,05	17,33	12,36	12,0
	Aeración	67	8405	17,33	1236	120
	Sin aeración	4,87	11,62	2,17	167	1,5
	Oxidación de	13,0:1	7,23:1	7,98:1	7,40:1	8,0:1
				14,9:1	8,0:1	8,0:1

ES 2 370 940 T3

5 Puede concluirse que la oxidación del amoníaco con la acumulación de NO_2^- -N como indicador, fue capaz de realizarse rápidamente. Cuando la temperatura bajo de 28°C a 15°C , oxidación todavía pudo producirse, pero la velocidad de oxidación disminuyó significativamente. Pero a medida que las repeticiones de tratamiento aumentaron, las HAOB fueron capaces de adaptarse rápidamente a la baja temperatura, y la velocidad de reacción biológica total aumentó y finalmente se estabilizó.

Ejemplos 6-10

10 Los Ejemplos 6-10 analizaron el intervalo de temperatura óptico y la cantidad de lodo activado sembrado más ventajosa para el proceso. Todas las condiciones en los ejemplos 6-10 fueron similares a los ejemplos 2-5, excepto que la concentración de lodo inicial fue de 6000 mg/l mientras que en los ejemplos 2-5 se emplearon 2000 mg/l .

15 La Tabla 14 mostró los resultados del tratamiento del agua a diferentes temperaturas usando un difusor de aire único cuando aumentó la cantidad de lodo activado.

20 (Tabla pasa a página siguiente)

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 14. Parámetros técnicos para el tratamiento consecutivo de diversas aguas residuales a diferentes temperaturas usando lodo activado de alta concentración sembrado en Mushantu

		Difusor de aire único				
		Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8	Ejemplo 9	Ejemplo 10
Concentración de lodo inicial (mg/l)		6000				
Aguas residuales sin tratar		Aguas residuales de carbono y nitrógeno orgánico modeladas (424 mg N/L)	Aguas residuales de glutamato monosódico (500 mg N/L)	Aguas residuales fertilizantes modeladas (1000 mg N/L)	Aguas residuales modeladas (42,4 mg N/L)	Aguas residuales municipales
Repeticiones de tratamiento consecutivo					1 ^a vez	2 ^a vez
					3 ^a vez	4 ^a vez

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Temperatura °C	28	28	28	28	28	15	15	15	15	15
Lapso de tiempo (h)	45,6	51,6	79	3	13	11	5,75	4,67		
Amonificación	10	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Oxidación de amoniaco para dar nitrito	32,5	44,25	70,11	2,67	11,4	10,17	5,0	4,17		
Aeración	42,5	47,25	70,11	2,67	11,4	10,17	5,0	4,17		
Sin aeración	3,1	4,35	8,89	0,33	1,6	0,83	0,75	0,5		
Oxidación de amoniaco para dar nitrito/Sin aeración	10,5:1	10,17:1	7,89:1	8,09:1	7,13:1	12,15:1	6,66:1	834:1		
Consumo total de la fuente de carbono (NaAc anhidro) (g)	3,15	4,2	9,35	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4		
Acumulación de NO ₂ ⁻ -N total (mg/l)	340	415	920	35	35	35	35	35		
Volumen de lodo después de 30 min de sedimentación (ml)	900	-700	-750	-750	-750	-750	-750	-750		

ES 2 370 940 T3

A partir de la comparación de las Tablas 14, 11 y 13, se puede observar que el aumento del lodo activado puede mejorar significativamente la eficacia del tratamiento, y acortar el HRT total, el tiempo de aeración y el tiempo sin aeración. Para el tratamiento continuo de las aguas residuales municipales modeladas a bajas temperaturas, la eficacia de tratamiento fue comparable a la de 28°C después un corto periodo de adaptación. Esto refleja uno de los principios esenciales mencionados en la presente invención: eliminación de carbono y nitrógeno en condiciones de falta de crecimiento celular.

Las Tablas 15 y 16 muestran los resultados del tratamiento de las aguas residuales modeladas de alta concentración en carbono y nitrógeno orgánico y aguas residuales fertilizantes modeladas con concentraciones de lodo diferentes usando un difusor de aire único a 28°C.

TABLA 15

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales modeladas de alta concentración en carbono y nitrógeno orgánico con diferentes concentraciones de lodo activado

28 °C, lodo activado sembrado en Wushantu, difusor de aire único						
Cantidad de inoculación MLSS g·l ⁻¹	HRT total (h)	Velocidad de eliminación de TN (mgN·h ⁻¹)	Actividad específica de eliminación de TN	Tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito (h)	Actividad específica de la oxidación de amoniaco (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	
					mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹	mgN·g ⁻¹ ·d ⁻¹
2	70,5	6,01	3,00	55,25	3,83	91,9
6	45,6	9,29	1,54	32,5	2,17	52,1

HRT total = Tiempo de aeración + Tiempo sin aeración;

Velocidad de la retirada de TN = Cantidad de nitrógeno total en el influente (mg)/HRT total (h);

Actividad específica de la eliminación de TN = Velocidad de eliminación de TN (mgN·h⁻¹)/Cantidad total de lodo o MLSS (g);

Actividad específica de oxidación del amoniaco = Cantidad de nitrógeno total en el influente (mg)/(Tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito (h) x cantidad total de lodo (g)).

ES 2 370 940 T3

TABLA 16

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales fertilizantes modeladas con diferentes concentraciones de lodo activado

5

28 °C, lodo activado sembrado en Wushantu, difusor de aire único						
Cantidad de inoculación MLSS g·L ⁻¹	HRT total (h)	Velocidad de eliminación de TN (mgN·h ⁻¹)	Actividad específica de eliminación de TN (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	Tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito (h)	Actividad específica de la oxidación de amoniaco (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	
					mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹	mgN·g ⁻¹ ·d ⁻¹
2	95,7	10,45	5,22	84,05	5,95	142,8
6	79,0	12,66	2,11	70,1	2,38	57,12

10

15

20

25

Las Tablas 15 y 16 mostraron que en el tratamiento de aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico y las aguas residuales fertilizantes modeladas, HRT, la velocidad de la eliminación de TN y el tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito se mejoraron sustancialmente cuando la concentración de lodo aumentó. Sin embargo, la actividad específica de la eliminación de TN y la actividad de la oxidación de amoniaco disminuyeron significativamente.

De forma similar, las operaciones de las aguas residuales municipales modeladas con diferentes concentraciones de lodo activado a 15°C se muestran en la Tabla 17.

TABLA 17

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales municipales modeladas con diferentes concentraciones de lodo activado a 15°C

40

15 °C, lodo activado sembrado en Wushantu, difusor de aire único						
Cantidad de inoculación MLSS g·L ⁻¹	HRT total (h)	Velocidad de eliminación de TN (mgN·h ⁻¹)	Actividad específica de eliminación de TN (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	Tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito (h)	Actividad específica de la oxidación de amoniaco (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	
					mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹	mgN·g ⁻¹ ·d ⁻¹
2	13,5	3,14	1,57	12,0	1,76	42,39
6	4,67	9,07	1,51	4,17	1,69	40,67

45

50

55

60

El HRT total, la velocidad de eliminación de TN y el tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito se mejoraron significativamente en proporción al aumento del lodo sembrado. Sin embargo, la actividad específica de la oxidación de amoniaco y la actividad específica de la eliminación de nitrógeno total disminuyeron ligeramente.

ES 2 370 940 T3

Ejemplos 11-12

La solubilidad del oxígeno en agua a diferentes temperaturas se muestra en la Tabla 18.

5

TABLA 18

Valores de oxígeno disuelto (OD) saturado como una función de la temperatura a presión atmosférica convencional

10

Temperatura °C	0	5	10	15	20	25	30	35	40
OD saturado (mg/l)	14,62	12,80	11,33	10,15	9,17	8,38	7,63	7,10	6,60

15

20 El OD saturado aumento significativamente con el descenso de la temperatura, lo que dio como resultado la diferencia insignificante de la actividad específica de la eliminación de TN y la actividad específica de la oxidación de amoniaco a diferentes concentraciones de lodo como se ha mostrado en los Ejemplos 6-10.

25 Por lo tanto, se puede deducir que la razón fundamental de los descensos de la actividad de la eliminación de TN y la actividad de la oxidación de amoniaco fue la baja eficacia de la transferencia de oxígeno, en altas concentraciones de lodo. El aumento en el suministro de oxígeno o la adopción de difusores de aire de alta eficacia pueden aumentar el OD y mejorar la eficacia de la transferencia de oxígeno para conseguir una eliminación eficaz del carbono y el nitrógeno.

30 El ejemplo 11 comparó los resultados del tratamiento de las aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico con una aeración diferente y diferentes concentraciones de lodo.

TABLA 19

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico con diferentes de aeración y diferentes concentraciones de lodo

35

28 °C, lodo activado sembrado en Wushantu					
Número de difusores de aire		1	2	1	3
Concentración de lodo (mg·l ⁻¹)		2000	2000	6000	6000
Aguas residuales sin tratar		Aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico (TKN = 424 mg/l)			
Temperatura °C		28	28	28	28
Tiempo (h)	HRT total	70,5	48,82	45,1	20,08
	Amonificación	11	7,5	10	5,1
	Oxidación de amoniaco para	55,25	36,9	32,5	10,68

65

ES 2 370 940 T3

	dar nitrito				
5	Aeración	66,25	44,38	42,5	16,78
	Sin aeración	4,25	4,42	3,1	3,3
10	Oxidación de amoníaco para dar nitrito/Sin aeración	11,2:1	8,35:1	10,17:1	5,06:1
15	Consumo total de la fuente de carbono (NaAc anhidro) (g)	2,95	3,0	3,15	3,15
20	Acumulación de NO ₂ ⁻ -N total (mg/l)	310	310	340	330
25	Volumen de lodo después de 30 min de sedimentación (ml)	250~300	~350	900	850~900

El ejemplo 12 comparó los resultados del tratamiento de las aguas residuales fertilizantes modeladas con una aeración diferente y diferentes concentraciones de lodo (Tabla 20).

TABLA 20

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales fertilizantes modeladas con diferente aeración y diferentes concentraciones de lodo

28 °C, lodo activado sembrado en Wushantu						
40	Número de difusores de aire		1	2	1	3
45	Concentración de lodo (mg·l ⁻¹) ¹⁾		2000	2000	6000	6000
50	Aguas residuales sin tratar		Aguas residuales fertilizantes modeladas (TKN = 1000 mg/l)			
55	Temperatura °C		28	28	28	28
60	Tiempo (h)	HRT	95,7	68,06	79,0	32,87

65

ES 2 370 940 T3

	Amonificación	0	0	0	0
5	Oxidación de amoniaco para dar nitrito	84,05	56,06	70,1	23,7
	Aeración	84,05	56,06	70,1	23,7
10	Sin aeración	11,62	12,0	8,89	9,17
15	Oxidación de amoniaco para dar nitrito/Sin aeración	7,23:1	4,67:1	7,89:1	2,58:1
20	Consumo total de la fuente de carbono (NaAc anhidro) (g)	9,35	9,30	9,35	9,35
25	Acumulación de NO ₂ ⁻ -N total (mg/l)	900	-900	920	910
30	Volumen de lodo después de 30 min de sedimentación (ml)	400-450	40-450	~750	-750

Las Tablas 19 y 20 demostraron los resultados de la operación del tratamiento de las aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico y las aguas residuales fertilizantes modeladas con diferentes condiciones de aeración. La mejora de la condición de aeración puede mejorar sustancialmente la eficacia del tratamiento, reducir el HRT total, el tiempo de aeración y sin aeración, y mantener de forma constante la oxidación de amoniaco en la fase de acumulación de NO₂⁻-N.

Las Tablas 21 y 22 analizaron los diversos parámetros (velocidad de eliminación de TN, actividad específica de la eliminación de TN y actividad específica de la oxidación de amoniaco) para el tratamiento de las aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico y aguas residuales fertilizantes modeladas en diferentes condiciones de aeración y usando diferentes concentraciones de lodo.

TABLA 21

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico con diferentes condiciones de aeración

28 °C, lodo activado sembrado en Wushantu							
Cantidad de difusores de aire g·l ⁻¹	MLSS inicial (g·l ⁻¹)	HRT (h)	Velocidad de eliminación de TN (mgN·h ⁻¹ l ⁻¹)	Actividad específica de eliminación de TN (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	Tiempo para la oxidación de amoniaco para dar nitrito (h)	Actividad específica de la oxidación de amoniaco (mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	
						mgN·g ⁻¹ ·h ⁻¹	mgN·g ⁻¹ ·d ⁻¹
1	2	70,5	6,01	3,00	55,25	3,83	91,9
2	2	48,82	8,68	4,34	36,9	5,09	122,2
1	6	45,6	9,29	1,54	32,5	2,17	52,1
3	6	20,08	21,11	3,52	10,68	6,61	158,8

ES 2 370 940 T3

TABLA 22

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales fertilizantes modeladas con diferentes condiciones de aeración

28 °C, lodo activado sembrado en Wushantu

Cantidad de difusores de aire $g \cdot l^{-1}$	MLSS inicial $(g \cdot l^{-1})$	HRT (h)	Velocidad de eliminación de TN $(mgN \cdot h^{-1} \cdot l^{-1})$	Actividad específica de eliminación de TN $(mgN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1})$	Tiempo para la oxidación de amoniac para dar nitrito (h)	Actividad específica de la oxidación de amoniac $(mgN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1})$	
						$mgN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	$mgN \cdot g^{-1} \cdot d^{-1}$
1	2	95,7	10,45	5,22	84,05	5,95	142,8
2	2	68,06	14,69	7,34	56,17	-8,9	213,6
1	6	79	12,66	2,11	70,1	2,38	57,12
3	6	32,87	30,42	5,07	23,7	7,03	168,7

Quando se mejoraron las condiciones de aeración y la actividad específica de la eliminación de TN y la actividad específica de la oxidación de amoniac se mantuvieron constantes, la alta concentración de lodo dio como resultado la reducción significativa del HRT total y el tiempo para la oxidación de amoniac para dar nitrito, y mejoró la velocidad de eliminación de TN.

Ejemplo 13

1. Cultivo de lodo activado usando tierra Yutu como inoculo

El cultivo de lodo activado usando tierra Yutu como inoculo se realizó mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 1. El tiempo de cultivo y la cantidad de fuente de carbono pueden diferir ligeramente debido a la diferencia en las propiedades fisicoquímicas de los suelos, la composición de microorganismos, especialmente la especie de HAOB que muestra alta actividad de oxidación amoniac-a-nitrito. El *Bacillus pseudofirmus* NH-2 predominó la tierra Yutu mientras que el *Arthrobacter globiformis* WR-2 predominó en la tierra Wushantu.

2. El tratamiento consecutivo de aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico usando lodo activado

Siguiendo el enfoque del cultivo anterior pero a 15°C en el reactor de cuba de 150 litros, se cultivó tierra Yutu durante 23 días, y después el lodo se filtró y sirvió como inoculo. La Tabla 23 mostró los resultados del tratamiento de las aguas residuales modeladas de concentración de carbono y nitrógeno orgánico.

ES 2 370 940 T3

TABLA 23

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico

Difusor de aire único			
Inóculo	15 °C, reactor de 150 litros. Tierra Yutu después de 23 días de cultivo continuo		
Concentración de lodo inicial (mg·l ⁻¹)	2000		
Temperatura °C	28		
Tiempos de ciclo de tratamiento	1 ^a vez	2 ^a vez	
Tiempo (h)	HRT total	155	63
	Amonificación	126.5	53
	Sin aeración	28.5	10
	Aeración/sin aeración	1.42:1	5.3:1
Consumo de la fuente de carbono total (NaAc anhidro) (g)	7.3	4.25	
Acumulación de NO ₂ ⁻ -N total (mg/l)	145	385	
Nota: El crecimiento bacteriano fue escaso a 15 °C, no se observó acumulación de los productos de nitrificación. El lodo filtrado se almacenó en un refrigerador a 4 °C antes de su uso.			

Debido al escaso crecimiento bacteriano a 15°C, el lodo se cultivo adicionalmente a 28°C. Durante el primer cultivo, la acumulación de NO₂⁻-N fue pequeña y crecieron bacterias (Tabla 23). Esto se debió en gran medida al hecho de que el crecimiento de HABO es débil a 15°C. El proceso se realizó en paralelo 6 veces.

Ejemplos 14-18

Con el mismo enfoque, el lodo producido a partir del ejemplo 13 se retiró por filtración. Los resultados del tratamiento consecutivo de diversos tipos de aguas residuales usando 4000 mg/l de lodo activado se muestran a continuación:

Tabla 24. Parámetros técnicos para diversos tratamientos de aguas residuales usando lodo activado sembrado en tierra Yutu

Difusor de aire único					
	Ejemplo 14	Ejemplo 15	Ejemplo 16	Ejemplo 17	Ejemplo 18
Inoculo	Lodo cultivado del Ejemplo (sembrado en Yutu)				
Concentración de lodo inicial (mg·l ⁻¹)	4000				
Tipo de aguas residuales	Aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico	Aguas residuales fertilizantes modeladas	Aguas residuales de glutamato monosódico de alta concentración	Aguas residuales de glutamato monosódico de baja concentración	Aguas residuales municipales modeladas
Temperatura °C	28	28	28	28	28
Tiempos de ciclo de tratamiento continuo	1ª vez				
	2ª				
Tiempo (h)	50	54	188,5	72	5,5
HRT total		113,5			

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Amonificación	44	49,3	100	171,2	66,25	4,83
Sin aeración	6	4,7	13,5	17,3	5,75	0,67
Aeración/sin aeración	7,33:1	10,5-1	7,41:1	9,88:1	11,52:1	7,21:1
Consumo de la fuente de carbono total (NaAc anhidro) (g)	4,6	4,1	8,85	13,9	4,1	0,3
Acumulación de NO ₂ ⁻ -N total (mg/l)	330	355	785	990	385	30

① Diluir las aguas residuales de glutamato monosódico originales con agua del grifo 6,67 veces.
TKN = 1500 mg/l, COD = 6746,6 mg/l, BOD = 1799,1 mg/l;

② Diluir las aguas residuales de glutamato monosódico originales con agua del grifo 20 veces.
TKN = 500 mg/l, COD = 2250 mg/l, BOD = 600 mg/l.

ES 2 370 940 T3

Ha de apreciarse que el lodo activado de la tierra Yutu fue capaz de tratar aguas residuales con alta concentración de amoníaco, tales como aguas residuales de glutamato monosódico (la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ varió entre 500-600 y 1500-1800 mg/l) y aguas residuales fertilizantes modeladas. Las altas concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ no inhibieron la oxidación de amoníaco como se describe por procedimientos convencionales.

Ejemplos 19-20

El lodo filtrado final producido en los Ejemplos 14-18 se usó como inóculo para tratar aguas residuales municipales modeladas y aguas residuales modeladas de alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico.

TABLA 25

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales municipales modeladas usando lodo activado sembrado en Yutu

15 °C, Difusor de aire único					
Inóculo		Lodo filtrado del proceso explicado en la Tabla 24			
Tiempos de ciclo de tratamiento consecutivo		1ª vez	2ª vez	3ª vez	4ª vez
Temperatura °C		15	15	15	15
Tiempo (h)	HRT total	19,5	16,1	10,8	8,1
	Amonificación	18,3	15,1	10,0	7,3
	Sin aeración	1,2	1,0	0,8	0,8
	Aeración/sin aeración	15,3:1	15,1:1	12,5:1	9,12:1
Consumo de la fuente de carbono total (NaAc anhidro) (g)		0,6	0,4	0,4	0,4
Acumulación de $\text{NO}_2^- \text{-N}$ total (mg/l)		40	35	35	35

TABLA 26

Parámetros técnicos para el tratamiento de aguas residuales modeladas con alta concentración de carbono y nitrógeno orgánico usando diferentes concentraciones de lodo activado

28 °C, Difusor de aire único				
Concentración de lodo mg/l		4000	6000	8000
Temperatura °C		28	28	28
Tiempo (h)	HRT total	54	38	34.6
	Amonificación	49,3	35	31.5
	Sin aeración	4,7	3,0	3.1
	Aeración/sin aeración	10,40:1	11,67:1	10.16:1
Consumo de la fuente de carbono total (NaAc anhidro) (g)		4,1	3,7	3,1
Acumulación de $\text{NO}_2^- \text{-N}$ total (mg/l)		355	390	340

ES 2 370 940 T3

Los resultados del tratamiento fueron comparables o incluso mejores que los obtenidos usando lodo activado sembrado en Wushantu. La disminución de la transferencia de oxígeno debido a altas concentraciones de lodo también puede evitarse mejorando las condiciones de aeración para conseguir una eliminación altamente eficaz del carbono y el nitrógeno.

Ejemplo 21

El ejemplo se refiere a la eliminación biológica de nitrógeno de las aguas residuales de coque usando los procedimientos descritos en esta invención.

Las aguas residuales de coque, caracterizadas por alto COD y alto $\text{NH}_3\text{-N}$, eran un tipo especial de aguas residuales industriales que contravienen otros procedimientos de tratamiento de aguas residuales que se han mencionado anteriormente y por lo tanto dificultaban conseguir la eliminación de $\text{NH}_3\text{-N}$.

Un grupo de acero en Nanjing, provincia de Jiangsu usó el procedimiento de lodo activado convencional para tratar las aguas residuales de coque desfenolizadas y destiladas con amoníaco con $\text{HRT} \geq 12$ h. La calidad del agua del efluente después de la aeración se muestra en la Tabla 27.

TABLA 27

Resultados del tratamiento después de la aeración

Elementos	Fenol volátil	CN^-	SCN^-	COD	$\text{NH}_3\text{-N}$
Influente $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	121,39	6,19	161,1	1081	511,0
Efluente $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	0,84	0,685	6,03	505	386,1
% de Eficacia de eliminación	99,31	88,93	96,26	53,28	24,44

Los resultados fueron similares a los informes de otras compañías: Las concentraciones de fenol y cianuro básicamente pueden alcanzar los estándares controlados aunque el COD y $\text{NH}_3\text{-N}$ excedan sus límites correspondientes. Los procesos de nitrificación-desnitrificación abreviados (o completos) no pudieron aplicarse a este tipo de aguas residuales debido a que no tuvo lugar la nitrificación en los reactores, por lo tanto, el amoníaco no pudo eliminarse.

Las principales razones son:

① El procedimiento del lodo activado es una técnica biológica destinada a la eliminación de BOD, por lo tanto, es eficaz en el tratamiento del fenol, cianuro y tiocianato degradable. Así, puede entenderse que el tratamiento por tanto, es comprensible que el tratamiento de compuestos orgánicos complejos refractarios es insatisfactorio.

② El 24,4% de la eficacia de eliminación de $\text{NH}_3\text{-N}$ por el lodo activado se aporta parcialmente en realidad por la liberación de N_2 producido a partir de la oxidación de amoníaco heterótrofa durante el proceso sin crecimiento celular de HAOB (no se desechó lodo en este proceso de tratamiento). No es el resultado de la extracción con aire como se pensaba.

Las aguas residuales de coque desfenolizadas y destiladas con amoníaco se airearon continuamente a 28°C antes de verse en el tanque biológico. El lodo activado propuesto por la presente invención se sembró en el tanque. El valor del pH en el tanque experimentó descensos continuos pero el $\text{NH}_4^+\text{-N}$ no se redujo cuando el fenol volátil alcanzó los estándares correspondientes (el punto en el que la eliminación de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ alcanza aproximadamente el 24%). Después, la solución de fenolato sódico (que contenía fenol (calidad analítica) e hidróxido sódico), que tenía un pH ajustado entre 7,0 y 7,5, se añadió al reactor cada 12 horas. La solución se aireó continuamente durante 13 días antes de que el $\text{NH}_4^+\text{-N}$ se eliminara completamente. No se detectaron acumulaciones de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ y $\text{NO}_3^-\text{-N}$. Esto prácticamente confirmó que los heterótrofos no eran capaces de oxidar $\text{NH}_4^+\text{-N}$ para dar N_2 . Por otro lado, la eficacia de la eliminación del amoníaco era ineficaz usando este modelo. El proceso, además de requerir la entrada de COD, también consumió tiempo y consumió una gran cantidad de oxígeno y energía. En total, el proceso no fue aplicable para la eliminación de amoníaco de las aguas residuales de coque.

En el sistema de lodo activado, normalmente no tiene lugar la nitrificación. Esto se atribuye en gran medida a la inhibición de la oxidación de amoníaco, especialmente las sustancias orgánicas, como CN^- y SCN^- que inhiben la nitrificación o el proceso más tradicionalmente denominado oxidación de amoníaco. Se realizaron investigaciones adicionales para observar si la nitrificación, con acumulación de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ o $\text{NO}_3^-\text{-N}$ como indicador tendría lugar después de que se eliminaran las sustancias inhibitoras, tales como CN^- y SCN^- .

ES 2 370 940 T3

El inventor sostuvo que la causa básica de la dificultad de la eliminación de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ fue la falta de fuente de carbono necesaria por HAOB, especialmente heterótrofos altamente activos para la oxidación de amoníaco para dar nitrito, que evitaría la oxidación de amoníaco. Debido a esta preocupación, el inventor diseñó un proceso que combina un reactor de flujo continuo con un SBR (Figura 3).

En el proceso que se muestra en la Figura 3, el cianuro y el cianato, etc., se eliminaron de las aguas residuales de coque desfenolizadas y destiladas con amoníaco 1. El efluente 2 después de la separación del lodo contenía amoníaco y se introdujo en el SBR, en el que se sembraron diferentes concentraciones de lodo activado con HAOB. Una de las especialidades del proceso fue que la fuente de carbono orgánico 3, no más de 200 mg/l, debe añadirse durante la aeración. Después, se realizó la oxidación de amoníaco y se mantuvo en la fase de nitrificación abreviada (el $\text{NO}_2^-\text{-N}$ era el producto final) seguido de desnitrificación después de que se detuviera la aeración.

La eficacia del tratamiento se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 28

Parámetros técnicos en el proceso de eliminación de aguas residuales de coque

Influyente: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ -250 mg/l, lodo activado sembrado en tierra Wushantu, 28°C					
Número de difusores		1	1	3	3
Concentración de lodo (mg/l)		2000	2000	6000	6000
Tiempos de ciclo de tratamiento continuo		1ª vez	2ª vez	3ª vez	4ª vez
Tiempo (h)	HRT total	26,25	21,95	7,88	7,71
	Amonificación	0	0	0	0
	Oxidación de amoníaco para dar nitrito	22,5	18,75	5,38	5,21
	Aeración	22,5	18,75	5,38	-5,21
	Sin aeración	3,75	3,20	2,5	2,5
	Aeración/Sin aeración	6,00:1	5,86	2,15:1	2,08:1
Consumo total de la fuente de carbono (NaAc anhidro) (g) ⁽¹⁾		2,57	2,57	2,57	2,57
Acumulación de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ total (mg/l)		225	225	225	225~
Volumen de lodo después de 30 min de sedimentación (ml)		~250	~250	750	750
⁽¹⁾ Sólo se calculó la fuente de carbono aplicada durante la desnitrificación. La fuente de carbono necesaria para iniciar la fase de nitrificación no se incluyó					

ES 2 370 940 T3

El COD de las aguas residuales de coque después de la eliminación del nitrógeno era de aproximadamente 300 mg/l, que estaba por encima del estándar nacional (150 mg/l). El COD restante puede tratarse con reactivo de Fenton con Fe^{2+} y H_2O_2 (30%). Cuando el H_2O_2 alcanzó 600 mg/l o 900 mg/l, el COD se redujo al nivel de 175-7 mg/l y 130,5 mg/l, respectivamente, lo que estaba conforme con los estándares nacionales.

Los resultados de la eliminación de carbono y nitrógeno de diversas aguas residuales tratadas por el procedimiento de acuerdo con la invención se resumen en la Tabla 29.

TABLA 29

Resultados del tratamiento usando el procedimiento de acuerdo con la invención

Elementos		COD	BOD	TKN	NH_4^{+-}	NO_2^{-}	NO_3^{-}
Tipo de aguas residuales	Influente/Efluente	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	N $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	N $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	N $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$
Aguas residuales modeladas con alto contenido de carbono y nitrógeno orgánico	Influente	1999	-	424	≥ 212	<0,5	ND
	Efluente	<40		≤ 10	≤ 3	<0,5	ND
Aguas residuales fertilizantes modeladas	Influente	-	-	1000	500	<0,5	ND
	Efluente	<10	-	<10	≤ 3	<0,5	ND
Aguas residuales municipales modeladas	Influente	199	-	42.4	≥ 21.2	<0,5	ND
	Efluente	<4	-	≤ 1	≤ 1	<0,5	ND
Aguas residuales de glutamato monosódico de	Influente	6747	~1799	1500	1400	<0,5	ND
	Efluente	<300	<100	≤ 10	≤ 3	<0,5	ND

ES 2 370 940 T3

5	alta concentración							
	Aguas residuales de glutamato monosódico de baja concentración	Influyente	2250	-600	500	430	<0,5	ND
10		Efluente	<100	<30	≤10	≤3	<0,5	ND
	Aguas residuales de coque	Influyente ⁽¹⁾	~321	-	~250	~250	<0,5	ND
15		Efluente	~300	-	<10	≤3	<0,5	ND
20	⁽¹⁾ Efluente de planta de coque (COD = 628,4 mg·l ⁻¹ , NH ₄ ⁺ -N = 330 mg·l ⁻¹) tratado con el procedimiento de lodo activado.							

25 Para enfatizar aún más las ventajas de esta invención, se compararon los procedimientos de desnitrificación anóxicos abreviados de esta invención y los procedimientos de nitrificación simultánea aeróbica (SND).

30 El proceso SND se realizó en una mezcla de aeración y continúa. Cuando el NH₃-N se oxidó para dar NO₂⁻-N y se acumuló adicionalmente a una cierta cantidad (30~50 mg/l), la fuente de carbono (NaAc anhidro) comenzó a añadirse hasta que la prueba del reactivo de Griess-Ilosvay fue negativa (NO₂⁻-N<0,5 mg/l) lo que demostró que la desnitrificación aeróbica se había completado. El consumo de la fuente de carbono total se calculó cuando la prueba del reactivo de Griess-Ilosvay fue positiva (NO₂⁻-N>0,5 mg/l) aproximadamente 5~10 minutos más tarde después de la desaparición de nitrito. El tiempo necesario para la desnitrificación aeróbica se anotó. El procedimiento se repitió hasta que el NH₃-N y el NO₂⁻-N estaban por debajo de 3 mg/l y 0,5 mg/l, respectivamente. La reacción se detuvo y se calculó el tiempo total de desnitrificación y consumo de NaAc.

35 Los resultados del tratamiento de las aguas residuales de glutamato monosódico usando dos tipos de lodo activado con dos tipos de procedimientos se enumeran a continuación.

40 La comparación de la nitrificación y la desnitrificación abreviada en este invención y el proceso SND para tratar las aguas residuales de glutamato monosódico (NH₄⁺-N = 500 mg/l) usando lodo activado sembrado en Wushantu (4000 mg/l) con un difusor de aire único se muestra en la Tabla 30.

45 (Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

Tabla 30. Comparación entre la nitrificación/desnitrificación abreviada en esta invención y SND para el tratamiento de aguas residuales de glutamato monosódico

Lodo activado sembrado en Wushantu, 28 °C, difusor de aire único

Entorno	Procedimientos operativos	Cantidad de acumulación de NO ₂ -N total mg/l	Consumo total de NaAc g	NaAc/NO ₂ ⁻ N (p/p)	Tiempo de desnitrificación abreviada acumulada (h)	Velocidad de desnitrificación ^Φ mgN/min·l
Esta invención	Continua la mezcla detenida de aeración	420	4,3	4,09	4,87	1,44
SND	Aeración y mezcla	290	11,1	15,3	12,9	0,37

^Φ Velocidad de desnitrificación = Cantidad de acumulación de NO₂⁻-N total/tiempo de desnitrificación abreviada acumulada

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

ES 2 370 940 T3

La comparación de la nitrificación y la desnitrificación abreviada en este invención y el proceso SND para tratar las aguas residuales de glutamato monosódico ($\text{NH}_4^+\text{-N} = 500 \text{ mg/l}$) usando lodo activado sembrado en Yutu (4000 mg/l) con un difusor de aire único se muestra en la Tabla 31.

Lodo activado sembrado en Wushantu, 28 °C, difusor de aire único							
	Entorno	Procedimientos operativos	Cantidad de acumulación de $\text{NO}_2\text{-N}$ total mg/l	Consumo total de NaAc g	NaAc/ $\text{NO}_2\text{-N}$ (p/p)	Tiempo de desnitrificación abreviada acumulada (h)	Velocidad de desnitrificación ^o $\text{mgN}/\text{min}\cdot\text{l}$
Esta invención	Anóxico	Continua la mezcla detenida de aeración	385	4,1	4,26	5,75	1,12
SND	Aeróbico	Aeración y mezcla	310	9,5	12,26	3,62	1,43
^o Velocidad de desnitrificación = Cantidad de acumulación de $\text{NO}_2\text{-N}$ total/tiempo de desnitrificación abreviada acumulada							

ES 2 370 940 T3

Las Tablas 30 y 31 indicaron que cuando se usó lodo activado sembrado en tierra Wushantu, la fuente de carbono necesaria para desnitrificar cada unidad de $\text{NO}_2^- \text{-N}$ usando el procedimiento de desnitrificación aeróbica SND era 3,74 veces el del procedimiento de acuerdo con la presente invención y la velocidad de desnitrificación del proceso SND era el 25,7% la del procedimiento de acuerdo con la presente invención. Mientras que, cuando se usó lodo activado sembrado en Yutu, la fuente de carbono usada en el proceso SND era 2,88 veces la del procedimiento de acuerdo con la presente invención y la velocidad de desnitrificación fue comparable en ambos procedimientos, y la velocidad de desnitrificación para ambos procedimientos fue significativamente mayor que la que usó el lodo activado sembrado en Wushantu. La causa subyace en las diferencias relacionadas con las especies de microorganismos.

En general, comparado con el procedimiento de acuerdo con la presente invención, el proceso SND requirió más fuente de carbono, aeración y suministro de energía, y tiene una velocidad de reacción más lenta.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), que comprende las siguientes etapas:
- (A) Cultivo de lodo activado con HAOB: siembra de tierras naturales que contienen HAOB en un sustrato que contiene carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración en un reactor mientras se mantiene el pH dentro del intervalo de 6,5 a 8,5, en el que si el sustrato contiene nitrógeno de amoníaco, se suministra una fuente de carbono orgánico en lotes; detención de la aeración cuando la concentración de nitrógeno de amoníaco está por debajo de 3 mg/l y la acumulación de NO_2^- -N alcance una cantidad máxima, manteniendo un entorno anóxico, y añadiendo una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el total de las concentraciones de NO_2^- -N y NO_3^- -N sea menor de 1 mg/l; y
- 10 (B) Eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales; siembra del lodo activado producido a partir de la etapa (A) en un reactor de tratamiento biológico que contiene aguas residuales que comprenden carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración para permitir que la oxidación del amoníaco tenga lugar, en el que si las aguas residuales no contienen carbono orgánico, al reactor se le añade una fuente de carbono orgánico adicional; y detención de la aeración cuando se ha acumulado nitrito, manteniendo una condición anóxica, y adición de una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el nitrito no esté presente, en el que las HAOB son bacterias heterótrofas que son capaces de realizar la amonificación, la oxidación del amoníaco y la desnitrificación (reducción de nitrito y nitrato), y que tienen las siguientes características: capacidad para crecer en una placa PM y dar un resultado positivo cuando el reactivo de Griess-Ilosvay se aplica directamente; capacidad para oxidar directamente amoníaco para dar N_2 , NO_2^- o NO_3^- en condiciones aeróbicas en presencia de una fuente de carbono orgánico; y capacidad para eliminar nitrógeno a través de la desnitrificación con NO_2^- y NO_3^- como receptores de electrones y BOD como donante de electrones en condiciones aeróbicas o anaeróbicas.
- 15 (B) Eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales; siembra del lodo activado producido a partir de la etapa (A) en un reactor de tratamiento biológico que contiene aguas residuales que comprenden carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración para permitir que la oxidación del amoníaco tenga lugar, en el que si las aguas residuales no contienen carbono orgánico, al reactor se le añade una fuente de carbono orgánico adicional; y detención de la aeración cuando se ha acumulado nitrito, manteniendo una condición anóxica, y adición de una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el nitrito no esté presente, en el que las HAOB son bacterias heterótrofas que son capaces de realizar la amonificación, la oxidación del amoníaco y la desnitrificación (reducción de nitrito y nitrato), y que tienen las siguientes características: capacidad para crecer en una placa PM y dar un resultado positivo cuando el reactivo de Griess-Ilosvay se aplica directamente; capacidad para oxidar directamente amoníaco para dar N_2 , NO_2^- o NO_3^- en condiciones aeróbicas en presencia de una fuente de carbono orgánico; y capacidad para eliminar nitrógeno a través de la desnitrificación con NO_2^- y NO_3^- como receptores de electrones y BOD como donante de electrones en condiciones aeróbicas o anaeróbicas.
- 20 (B) Eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales; siembra del lodo activado producido a partir de la etapa (A) en un reactor de tratamiento biológico que contiene aguas residuales que comprenden carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración para permitir que la oxidación del amoníaco tenga lugar, en el que si las aguas residuales no contienen carbono orgánico, al reactor se le añade una fuente de carbono orgánico adicional; y detención de la aeración cuando se ha acumulado nitrito, manteniendo una condición anóxica, y adición de una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el nitrito no esté presente, en el que las HAOB son bacterias heterótrofas que son capaces de realizar la amonificación, la oxidación del amoníaco y la desnitrificación (reducción de nitrito y nitrato), y que tienen las siguientes características: capacidad para crecer en una placa PM y dar un resultado positivo cuando el reactivo de Griess-Ilosvay se aplica directamente; capacidad para oxidar directamente amoníaco para dar N_2 , NO_2^- o NO_3^- en condiciones aeróbicas en presencia de una fuente de carbono orgánico; y capacidad para eliminar nitrógeno a través de la desnitrificación con NO_2^- y NO_3^- como receptores de electrones y BOD como donante de electrones en condiciones aeróbicas o anaeróbicas.
- 25 (B) Eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales; siembra del lodo activado producido a partir de la etapa (A) en un reactor de tratamiento biológico que contiene aguas residuales que comprenden carbono y nitrógeno orgánico y/o nitrógeno de amoníaco inorgánico, y aeración para permitir que la oxidación del amoníaco tenga lugar, en el que si las aguas residuales no contienen carbono orgánico, al reactor se le añade una fuente de carbono orgánico adicional; y detención de la aeración cuando se ha acumulado nitrito, manteniendo una condición anóxica, y adición de una fuente de carbono orgánico para permitir que la desnitrificación tenga lugar hasta que el nitrito no esté presente, en el que las HAOB son bacterias heterótrofas que son capaces de realizar la amonificación, la oxidación del amoníaco y la desnitrificación (reducción de nitrito y nitrato), y que tienen las siguientes características: capacidad para crecer en una placa PM y dar un resultado positivo cuando el reactivo de Griess-Ilosvay se aplica directamente; capacidad para oxidar directamente amoníaco para dar N_2 , NO_2^- o NO_3^- en condiciones aeróbicas en presencia de una fuente de carbono orgánico; y capacidad para eliminar nitrógeno a través de la desnitrificación con NO_2^- y NO_3^- como receptores de electrones y BOD como donante de electrones en condiciones aeróbicas o anaeróbicas.
- 30 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los *Bacillus pseudofirmus* NH-2 actualmente activo (N° de Acceso de CCTCC M203101) actúan como las bacterias dominantes en el lodo activado con HAOB.
- 35 3. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los *Arthrobacter globiformis* WR-2 altamente activo (N° de Acceso de CCTCC M202443) actúan como las bacterias dominantes en el lodo activado con HAOB.
- 40 4. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que en la etapa (A) el cultivo de lodo activado con HAOB se realiza a 20-40°C.
- 45 5. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la acumulación de NO_2^- -N está en el intervalo de 0,5~125 mg/l en la oxidación de amoníaco de la etapa (B).
- 50 6. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la etapa (B) la oxidación de amoníaco y la desnitrificación se repiten hasta que los contaminantes de carbono y nitrógeno se eliminan de las aguas residuales.
- 55 7. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la eliminación de carbono y nitrógeno de las aguas residuales descrita en la etapa (B) se realiza a 6~40°C.
- 60 8. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el reactor de tratamiento biológico usado en la etapa (B) es un reactor suspendido, un reactor de biopelícula, un reactor simple de secuenciación por lotes, o reactor de flujo continuo, o sus combinaciones.
- 65 9. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el lodo activado con HAOB se retiene completamente en el reactor de tratamiento biológico.
10. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el reactor de tratamiento biológico es capaz de conseguir espontáneamente la separación lodo-agua; las aguas residuales que se han tratado se vierten directamente del reactor de tratamiento biológico.

ES 2 370 940 T3

11. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el producto de oxidación de amoníaco se controla controlando la cantidad de una fuente de carbono orgánico en el reactor de tratamiento biológico en condiciones aeróbicas.

5

12. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 11, en el que, para 1 mol de amoníaco oxidado en el reactor de tratamiento biológico en condiciones aeróbicas, cuando la energía de oxidación producida por la fuente de carbono orgánico es 22 KJ/mol, la proporción molar de N_2 -N con respecto a NO_2^- -N es 58:42; cuando la energía de oxidación es menor de 22 KJ/mol, el porcentaje molar de NO_2^- -N está en el intervalo del 42%~99% entre los productos de oxidación de amoníaco; cuando la energía de oxidación excede 22 KJ/mol, el porcentaje molar de N_2 -N está en el intervalo del 58%~99% entre los productos de oxidación de amoníaco.

10

13. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la oxidación de amoníaco en la etapa (B) se controla en la fase en la que no aparece acumulación de NO_3^- -N.

15

14. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la energía de oxidación de la fuente de carbono orgánico en el reactor de tratamiento biológico en condiciones aeróbicas excede 43,4 KJ/mol por mol de amoníaco.

20

15. Procedimiento para eliminar un contaminante de carbono y nitrógeno de las aguas residuales usando la bacteria heterótrofa de oxidación de amoníaco (HAOB), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el procedimiento puede usarse para tratar aguas residuales de coque.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Figura 2.

Figura 3.

Figura 4.