

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 001**

21 Número de solicitud: 202230988

51 Int. Cl.:

C02F 3/02 (2013.01)

C02F 101/38 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

15.11.2022

43 Fecha de publicación de la solicitud:

02.07.2024

Fecha de concesión:

06.11.2024

45 Fecha de publicación de la concesión:

13.11.2024

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE GRANADA (100.0%)
Cuesta del Hospicio, S/N
18071 Granada (Granada) ES

72 Inventor/es:

GONZÁLEZ MARTÍNEZ, Alejandro;
GONZÁLEZ LÓPEZ, Jesús y
HURTADO MARTÍNEZ, Miguel

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **Procedimiento de obtención de biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos, biomasa y biopelícula obtenida**

57 Resumen:

Procedimiento de obtención de biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos que comprende las siguientes etapas: a) Inoculación de biomasa que comprende microorganismos en un medio acuoso aireado; b) Granulación de la biomasa inoculada; c) Formación de biomasa granular; d) Separación de la biomasa granular del medio acuoso; caracterizado por que la granulación de la biomasa se realiza en un medio acuoso con una carga orgánica C/N en el intervalo 1 – 5, a una temperatura entre 3 y 30 °C, un pH entre 5,5 y 9,5 y con una concentración de oxígeno en agua entre 3 – 10 mg O₂/L durante un Tiempo de Retención Hidráulica entre 1 – 24 h; biomasa obtenida por dicho procedimiento y biopelícula que la comprende.

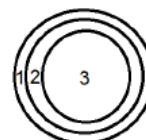


Fig. 1

ES 2 975 001 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de obtención de biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos, biomasa y biopelícula obtenida

5

Campo de la invención

La presente invención se encuadra dentro del campo de tratamiento de agua, específicamente en la producción de biomasa granular acondicionada para el tratamiento de sistemas oligotróficos.

10

Estado de la técnica

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1985), la ingesta de agua con alto contenido de nitratos y nitrito pueden causar efectos nocivos para la salud. Los nitratos no causan efectos dañinos por ellos mismos; sin embargo, los nitratos se reducen a nitritos durante el metabolismo humano, que son capaces de oxidar la hemoglobina, produciendo un aumento de los niveles de metahemoglobina que reduce la capacidad de la sangre para transportar oxígeno (Wright et al., 1999). Los nitritos también pueden reaccionar con las aminas, sustancias obtenidas del metabolismo de las proteínas, produciendo nitrosaminas, que son agentes potencialmente cancerígenos (Van Maanen, 1996), así como pesticidas.

15

20

Es muy común encontrar en las aguas subterráneas la presencia de compuestos contaminantes debido a la filtración a través del suelo. Por ejemplo, en la UE, el agua subterránea es un recurso estratégico, especialmente para el suministro urbano e industrial. En el sur de Europa, el papel de los acuíferos es aún más relevante, ya que el agua subterránea es un recurso estratégico durante las sequías. En Europa, los fertilizantes minerales representan casi el 50% de los aportes de nitrógeno a los suelos agrícolas y al consumo de nitratos. La contaminación de las masas de agua por nitratos y otros contaminantes se debe principalmente al uso inadecuado o excesivo de fertilizantes y productos fitosanitarios en la agricultura.

25

30

El resultado de estos procesos es la superación del valor límite en agua en aproximadamente un tercio de las aguas subterráneas de las cuales se tiene información actualmente disponible (EEA, 2003).

35

Del mismo modo, la aplicación extensiva de plaguicidas representa un problema emergente que afecta de manera más significativa a los países europeos con escasas precipitaciones, como en los países mediterráneos.

5 Como ejemplo, se puede describir la situación de España. España tiene alrededor de 25 millones de hectáreas de uso agrícola, por lo que, miles de toneladas de productos fitosanitarios son utilizados cada lo año, lo que produce altos niveles de nitratos y de pesticidas, en las aguas subterráneas, de las áreas agrícolas (Köck- Schulmeyer et al. 2014).

10

El primer instrumento utilizado para abordar el problema de la contaminación de las aguas subterráneas fue la publicación de la Directiva de Nitratos (91/676 / CEE) relativa a la protección de las aguas contra la contaminación causada por nitratos de fuentes agrícolas. La presente Directiva obligaba a los Estados miembros a designar a los nitratos vulnerables
15 zonas. En España, se han identificado 8 millones de hectáreas como zonas "vulnerables" a la contaminación por nitratos (MAGRAMA, 2012). En 1998, se publicó la Directiva sobre agua potable (98/83 / CE) con el objetivo de proteger salud de los efectos adversos de cualquier contaminación del agua y también establecer un máximo permitido concentración de nitrato de 50 mg / l. La incorporación de esta Directiva a la legislación española se
20 convirtió en vigente en el RD (140/2003), de 7 de febrero, por el que se establecen criterios sanitarios para la calidad del agua para se estableció el consumo.

Hoy en día, las tecnologías más utilizadas para la eliminación de estos nutrientes, para el suministro de agua, son las tecnologías de intercambio iónico, la tecnología de ósmosis
25 inversa (OI) y los sistemas de tratamientos biológico bajo configuración de filtro sumergido.

Estos métodos tienen una eficiencia similar, por lo que la elección del tratamiento más adecuado se centra en otras características, como la producción de residuos y el consumo de energía (Panyor & Fabiani, 1996, Schoeman & Steyn, 2003). Los métodos de intercambio
30 iónico y OI se utilizan con frecuencia, aunque estos sistemas generan grandes cantidades de agua de aguas de rechazo que requieren una gestión compleja y costosa. Mientras que los sistemas de filtro sumergido requieren de una inversión inicial muy grande por la utilización de soportes, así como, la necesidad de hacer limpiezas periódicas para evitar su colmatación.

35

Sin embargo, los avances actuales determinan que estos sistemas de tratamiento convencionales deban de ser innovados o sustituidos por nuevas alternativas biotecnológicas más eficientes y medioambientalmente menos impactantes.

5 Por ello, durante la última década, los investigadores y las empresas del sector del agua, han mostrado un gran interés en el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales mediante la utilización de tecnologías basadas en sistemas granulares aeróbicos. La granulación aeróbica permite una mayor retención de biomasa, así como una
10 mejores capacidad de sedimentación y resistencia a cambios bruscos en el influente y a compuestos tóxicos, en comparación con los sistemas biológicos convencionales de fango activo.

La tecnología biológica granular representa una importante innovación en el tratamiento para suministro de agua ya que, a diferencia de otros sistemas biológicos convencionales, la
15 tecnología granular aeróbica solo necesita un biorreactor sin flujo de reciclaje, lo que en gran medida reduce los costos económicos.

El sistema granular permite la operación a 15-20 g/L de sólidos, que es mayor que el máximo de 3-5 g/L permitido en los sistemas biológicos convencionales (González-Gil &
20 Holliger, 2014). Esto lleva a menores volúmenes de reactor y, por lo tanto, ahorros económicos. Además, la biomasa granular se deposita con una velocidad >10 m/h, 10 veces más rápido que las tecnologías convencionales (Zhou et al., 2014).

Por otro lado, se ha confirmado que cada ciclo de los sistemas granulares aeróbicos
25 necesita un tiempo de retención hidráulico (TRH) tres veces menor para lograr la misma eficiencia de eliminación de materia orgánica y nutrientes con respecto a otros sistemas (Lotito et al., 2014).

Todo esto muestra una clara ventaja económica por parte de los sistemas granulares
30 aeróbicos.

Además, la granulación aeróbica permite una mayor retención de biomasa, así como una mejor capacidad de sedimentación y resistencia a cambios bruscos en el influente y a compuestos tóxicos, en comparación con el fango activo formado por flóculos. La estructura
35 estratificada de los gránulos aeróbicos permite conseguir zonas aeróbicas y anaeróbicas dentro de la biomasa. Esto permite realizar múltiples procesos biológicos al mismo tiempo,

como por ejemplo los procesos de nitrificación, desnitrificación, eliminación de fosforo y materia orgánica, los cuales se pueden realizar de manera simultánea en un solo biorreactor bajo condiciones de aireación.

5 La eliminación de compuestos, por ejemplo, derivados del nitrógeno o del fósforo, especialmente en las aguas subterráneas, siempre ha sido considerada como procesos de elevada complejidad. El principal problema radica en la formación del granulo, ya que se requiere relaciones C/N adecuadas para que sea factible el proceso de granulación. De forma general, de acuerdo con las soluciones actuales, la formación del granulo requiere
10 relaciones C/N comprendidas en el intervalo entre 5 – 12,5.

Sin embargo, en algunas situaciones, como los ambientes oligotróficos, por ejemplo, el agua subterránea, presenta una relación C/N inferior, por lo que la granulación no se ve favorecida de una forma espontánea.

15 La biomasa granular existente actualmente está pensada para el tratamiento de efluentes con altas concentraciones de materia orgánica y baja de nitrógeno por lo que no alcanzan rendimientos óptimos de eliminación ni de formación granular al tratar aquellos efluentes oligotróficos, es decir, con baja carga de nutrientes. Por tanto, los sistemas de biomasa
20 granular aeróbica actuales, al tratar efluentes oligotróficos, presentan importantes limitaciones:

- Dificultad en la formación del gránulo
- Necesidad de alta carga orgánica
- 25 - Largos periodos de puesta en marcha
- Degradación y descomposición de los gránulos
- Imposibilidad de tratar efluentes con poca concentración de nutrientes.
- Dificultad de obtener un tamaño granular óptimo para realizar procesos anaeróbicos
- Formación de biomasa granular con poca capacidad de decantación

30 Con el objeto de superar las limitaciones reportadas en el estado del arte en cuanto a los sistemas de biomasa granular para el tratamiento de aguas, por ejemplo, aguas subterráneas, se propone una biomasa granular aeróbica desnitrificante para dicho fin y su proceso de producción.

35

Descripción de la invención

A diferencia con otras soluciones actuales empleadas para el tratamiento de agua, la presente invención describe una biomasa granular desnitrificante para el tratamiento de
5 aguas, especialmente acondicionada para sistemas oligotróficos, contaminadas con nitratos u otras sustancias como, por ejemplo, plaguicidas.

Esta biomasa granular puede formar una biopelícula desnitrificante, con la capacidad de adaptación y de operación con efluente de aguas, incluso subterráneas, para su uso en
10 agua potable.

La biopelícula de biomasa granular está formada por gránulos. Cada gránulo está compuesto por una gran diversidad microbiana, tales como bacterias heterótrofas aeróbicas, bacterias acumuladoras de fosfato (PAO) y bacterias desnitrificantes. Estos
15 microorganismos crecen en diferentes lugares dentro de la biomasa granular en base a las condiciones operacionales del biorreactor y a la compactación conseguida en la biomasa granular. Dado que las condiciones de desarrollo de cada uno de los microorganismos existentes en la biomasa son específicas, éstos no suelen mezclarse entre ellos, y da lugar a una biomasa granular estratificada en capas.

En este sentido, dentro de la biomasa granular se obtendrán condiciones aeróbicas (superior a 2 mg O₂/L), condiciones con microaerofilia (en torno a 2 mg O₂/L), y condiciones anóxicas o anaerobias. Esto permitirá obtener las condiciones óptimas para la realización de los procesos metabólicos de las diferentes poblaciones microbianas. De este modo, se
25 podrá realizar la eliminación de los contaminantes existentes en el agua.

Por tanto, según la presente invención, la biomasa granular desnitrificante obtenida por el presente procedimiento comprende:

- Zona anaeróbica: zona interna del gránulo, donde se encuentran las bacterias
30 desnitrificantes,
- Zona microaerofílica: donde se encuentran las bacterias acumuladoras de fosfato
- Zona aeróbica: donde se encuentran bacterias heterotróficas formadoras de exopolisacaridos.

Por ello, en el interior de la biomasa granular, se encuentran microorganismos anaeróbicos, como las bacterias desnitrificantes. Estos microorganismos heterótrofos permiten reducir el

nitrato a nitrógeno molecular. En las zonas intermedias de la biomasa granular se localizan las bacterias acumuladoras de fosfato, las cuales permiten retirar el fosfato de las aguas residuales mediante la alternancia de procesos aeróbicos y anaeróbicos. En el exterior, se disponen los organismos aeróbicos, tales como las bacterias heterotróficas aeróbicas, que son las encargadas de la formación de exopolisacáridos para la compactación granular.

De manera preferente, la zona interior, especialmente la zona anaerobia se verá beneficiada por las condiciones de operación, por lo que dicha zona presentará un mayor espesor en comparación con la zona aeróbica.

La configuración presentada por los gránulos de la biomasa aeróbica desnitrificante permite realizar procesos aeróbicos en la superficie del gránulo y, gracias a su morfología compacta con un tamaño granular, que oscila en el intervalo de 5 a 50 mm, preferiblemente entre 5 y 35 mm de diámetro y una velocidad de decantación superior a 10 m/h, preferiblemente entre 15 – 140 m/h, da lugar en el interior de los gránulos a procesos anaerobios.

El espesor de cada una de las zonas viene determinado por las condiciones operacionales durante el procedimiento de formación de la biomasa granular, tales como la aireación o la relación C/N, lo que permite interaccionar en el desarrollo de los microorganismos presentes en cada una de las zonas.

En una operación con elevada aireación, la presencia de oxígeno será elevada, y el espesor de la zona aeróbica se verá incrementado. Así, en una realización preferente de la presente invención, es la zona anaeróbica la que presenta un espesor mayor al resto de las zonas, al tratarse de una biomasa destinada para el tratamiento de aguas con baja capacidad de nutrientes. De este modo, es preferible que el desarrollo de los microorganismos que forman dicha capa anaeróbica se vea favorecido a través de la limitación del aporte de oxígeno durante la etapa de granulación de la biomasa.

En un aspecto adicional de la invención se describe el procedimiento de producción de biomasa granular. Como se ha mencionado anteriormente, el procedimiento de formación permite definir la configuración de la biomasa granular obtenida.

Este procedimiento permite desarrollar las condiciones idóneas de Tiempo de retención hidráulico, pH, concentración de materia orgánica, tiempo de aireación, etc. para el desarrollo óptimo de una biomasa granular. El presente procedimiento de producción

permite seleccionar las poblaciones microbianas necesarias para la producción de biomasa granular aeróbica con alta actividad desnitrificante que puede ser usada como inoculante para la rápida puesta en marcha de biorreactores a escala real que puedan ser utilizados para la potabilización de aguas subterráneas.

5

Por tanto, las condiciones empleadas permiten poder obtener dentro del granulo zonas aeróbicas y microaerofilas muy finas y una zona anaeróbica mucho más gruesa, necesarias para poder llevar a cabo el proceso de desnitrificación, hasta en ambientes más exigentes como los sistemas oligotróficos. En otras palabras, el procedimiento de obtención de biomasa granular resulta especialmente importante ya que, debido a las bajas concentraciones de nutrientes en las aguas a tratar (por ejemplo, aguas subterráneas), se hace imprescindible la inoculación externa de una biomasa granular específica en los biorreactores, ya que el proceso de granulación directa resulta inviable al no tener suficiente concentración de microorganismos en las aguas subterráneas.

15

Por tanto, el procedimiento de formación de biomasa granular acondicionada para el tratamiento de sistemas oligotróficos comprende las siguientes etapas:

- Inoculación de biomasa que comprende microorganismos en un medio acuoso
- Granulación de biomasa inoculada
 - o Relación C/N entre 1 y 5, preferiblemente entre 1 y 3
 - o Entrada de aire en el tanque del biorreactor con una concentración de oxígeno en agua entre 3 - 10 mg O₂/L,
 - o Tiempos de Retención Hidráulica (RTH): 1 – 24 h,
 - o pH: 5,5 – 9,5, y
 - o Temperatura: 3 y 30°C
- Formación de la biomasa granular en el tanque del biorreactor,
- Separación biomasa granular.

25

A diferencia de otros procesos de formación de biomasa granular aeróbica, el procedimiento según la presente invención permite generar una biomasa granular en condiciones de baja carga orgánica, que posteriormente puede dar lugar a una biopelícula, acondicionada para ser empleada en tratamiento con baja carga orgánica. Esto hace que se pueda emplear esta solución, por ejemplo, en situaciones como las aguas subterráneas contaminadas con nitratos, donde la presencia de nutrientes es baja.

35

Como se comentó anteriormente, la formación tradicional de la biomasa granular requiere relaciones C/N adecuadas, como son el intervalo entre 5–12,5, para que sea factible el proceso de granulación. Sin embargo, en algunas situaciones, como los ambientes oligotróficos, por ejemplo, una corriente de agua subterránea donde la relación C/N es 1 – 5, preferentemente 1 – 3. Bajo estas condiciones, la granulación no se ve favorecida de forma espontánea al carecer de la relación adecuada de C/N, luego el tratamiento de este tipo de agua presenta elevadas dificultades.

Para poder solventar este problema, en primer lugar, se requiere la inoculación selectiva del biorreactor con biomasa. Es decir, se lleva a cabo la adicción de un fango con bacterias y otros microorganismos como arqueas y hongos, provenientes de un medio externo, que permite tener un numero de microorganismos suficiente para acelerar el proceso de granulación. Posteriormente dicho fango es sometido a unas condiciones operacionales que permiten la formación de biomasa granular y su acondicionamiento a las condiciones oligotróficas desnitrificantes de estos ambientes, donde la relación C/N es baja.

Las condiciones operacionales establecidas para la producción masiva de biomasa granular aeróbica desnitrificante se encuentran favorecida por un proceso de decantación previo al vaciado, etapa por la cual la biomasa granular se prepara para la separación posterior del medio acuoso; y al movimiento circular dentro del biorreactor, sin que ello determine pérdidas de biomasa. Dicho proceso de decantación se produce una vez alcanzado el rendimiento óptimo de eliminación de nutrientes mediante la detención del proceso de aireación. De esta manera, al parar la aireación, se produce la decantación de la biomasa granular al fondo del biorreactor. Esta etapa impide que se produzca la pérdida de la biomasa granular durante el proceso de vaciado del agua tratada.

El movimiento circular se produce por las condiciones establecidas de aireación, las cuales crean un proceso de turbulencias continuas en el agua. Este efecto se traduce en un movimiento de la biomasa continuo, lo que permite obtener una mayor compactación de la biomasa flocular y da lugar a la biomasa granular deseada.

A diferencia de los procesos actuales, el proceso de granulación se lleva a cabo bajo condiciones de oligotrofia con una relación de C/N baja, $C/N = 1 - 5$, preferentemente entre 1-3, como ocurre en las aguas subterráneas. Además, se han establecido las condiciones ambientales requeridas para que bajo esas condiciones de baja concentración de nutrientes las poblaciones microbianas puedan producir los exopolisacáridos necesarios para la

estabilidad del granulo, así como, para la eliminación de los contaminantes presentes en el agua.

Este procedimiento da lugar a la obtención de una biomasa granular que permite tratar todo tipo de contaminantes sin necesidad de utilizar otro biorreactor distinto como ocurre con otros sistemas biológicos actuales. Además, gracias a la biomasa granular producida según la presente invención, se logra operar bajo condiciones con baja concentración de nutrientes sin degradarse, creando las estructuras compactas que necesita la biomasa granular, para poder realizar los procesos aeróbicos y anaeróbicos, para su óptimo rendimiento.

La capacidad de actuar bajo condiciones aerobias y anaerobias consigue mantener procesos de granulación estables a largo plazo, con unos rendimientos óptimos, incluso, bajo condiciones oligotróficas, donde la relación de C/N se encuentra entre 1 – 3 y las actuales soluciones no son operativas. Así, el rendimiento alcanzado por esta tecnología llega a niveles de eliminación de nitrógeno del 100%, además de alcanzar rendimientos del 70% en la eliminación de fosfato y del 100% de materia orgánica.

De este modo, el agua subterránea, una vez tratada, puede ser abastecida a poblaciones humanas como agua potable. Por tanto, el empleo de la biomasa granular o la biopelícula obtenida según la presente invención resulta especialmente importante para su aplicación real en los biorreactores con biomasa granular desnitrificante para el tratamiento de una corriente acuosa oligotrófica. Dicho empleo se traduce en la mejora de la puesta en marcha de los biorreactores, incrementando el rendimiento de estos equipos.

En las figuras, se muestran los siguientes elementos:

1. Zona aeróbica
2. Zona microaerofílica
3. Núcleo desnitrificante

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, componentes o pasos. Además, la palabra "comprende" incluye el caso "consiste en". Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.

Breve descripción de las figuras

5

La Figura 1 muestra un esquema de una realización de la biomasa granular desnitrificante.

La Figura 2 muestra la evolución del tamaño del diámetro (D) granular, en mm, de las partículas de biomasa obtenidas a lo largo del tiempo (t), en días.

10

Descripción detallada de la invención

La presente invención describe biomasa granular desnitrificante para el tratamiento de aguas. En un segundo aspecto de la presente invención, la agrupación de un conjunto de biomasa granular da lugar a una biopelícula desnitrificante. Tanto la biomasa granular como la biopelícula pueden ser empleada para el tratamiento de una corriente acuosa oligotrófica.

La Figura 1 muestra un esquema de una realización de la biomasa granular desnitrificante. Como se aprecia en dicha Figura 1, los microorganismos del gránulo están distribuidos en dos zonas: una zona interior y una zona exterior. En el interior, se encuentran los microorganismos anaeróbicos, como las bacterias desnitrificantes y las bacterias acumuladoras de fosfato. Estas segundas se encuentran localizadas en una zona microaerófila, donde la concentración de oxígeno todavía existe, si bien es baja. La zona microaerófila es una zona, por tanto, de enlace entre la zona anaeróbica del núcleo del gránulo, y la zona aeróbica. En su conjunto, estos microorganismos permiten eliminar o reducir el nitrógeno y el fosfato presentes en sistemas oligotróficos, por ejemplo, las aguas subterráneas. En el exterior, se disponen los organismos aeróbicos, tales como bacterias nitrificantes y heterotróficas.

Así, en una realización preferente de la presente invención, se pueden distinguir múltiples capas dentro la biomasa granular:

- Zona anaeróbica: En el interior del núcleo se encuentran bacterias desnitrificantes.

- Zona microaerófila: Se situa en la parte intermedia, donde la concentración de oxígeno se ve reducida. Dicha capa comprende bacterias acumuladoras de fosfato
- Zona aeróbica: Se trata de la zona en contacto con el exterior. En esta zona se encuentran bacterias heterotrofas aerobicas.

Los microorganismos de la zona aeróbica son los encargados de formar los exopolisacaridos que permiten la compactación del granulo. Además, durante este proceso consumen oxígeno reduciendo, o incluso evitando, que dicho compuesto llegue a las zonas internas del granulo.

Los gránulos, con un tamaño entre 5 – 35 mm de diámetro y una velocidad de decantación superior a 10 m/h, preferiblemente entre 15 - 140 m/h, alcanzan valores de concentración de biomasa entre 0,3 – 10 g/L en un reactor de tratamiento de aguas. Estas características, sumado a la disposición estratificada de los microorganismos dentro de la biomasa granular desnitrificante, permite realizar procesos aeróbicos en la superficie del gránulo y, gracias a la morfología compacta, en el interior de los gránulos se pueden producir procesos anaerobios incluso en condiciones oligotróficas del sistema a tratar.

Paralelamente, se describe un proceso de producción de biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos. Este procedimiento permite desarrollar las condiciones idóneas para poder seleccionar las poblaciones microbianas necesarias para la producción de biomasa granular aeróbica con alta actividad desnitrificante que puede ser usada como inoculante para la rápida puesta en marcha de biorreactores a escala real que puedan ser utilizados para la potabilización de aguas subterráneas.

Este procedimiento de producción de biomasa granular desnitrificante, resulta especialmente importante ya que, debido a las bajas concentraciones de nutrientes en las aguas oligotróficas, como por ejemplo las aguas subterráneas, contaminadas con nitratos, se hace imprescindible la inoculación externa de los biorreactores con biomasa, para poder acelerar el proceso de granulación en dichos sistemas.

Como se comentó anteriormente, la formación del granulo requiere relaciones adecuadas C/N, de 5-12, para que sea factible el proceso de granulación de manera espontánea. Sin embargo, en algunas situaciones, como los ambientes oligotróficos, por ejemplo, el agua

subterránea, no favorecen la granulación de una forma espontánea al carecer de una relación adecuada de C/N.

5 A diferencia de otros procesos de formación de biomasa granular aeróbica en el proceso de la presente invención no se requiere condiciones de alta carga orgánica. Esto hace que la biomasa granular obtenida según la presente invención deba estar acondicionada previamente para su empleo posterior en sistema oligotróficos, por ejemplo, en situaciones como las aguas subterráneas contaminadas con nitratos, donde la presencia de nutrientes es baja. Es decir, a pesar de existir otras soluciones de biomasa granular, no se ha descrito
10 una biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos, donde las soluciones actuales presentan numerosas limitaciones en su aplicación.

Así, el procedimiento de obtención de biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos comprende las siguientes etapas:

- 15 a) Inoculación de biomasa que comprende microorganismos en un medio acuoso; es decir, una adición selectiva de ciertos microorganismos en los biorreactores.
- b) Granulación de la biomasa inoculada;
- c) Formación de los gránulos de biomasa; y
- d) Separación de la biomasa granular del medio acuoso.

20 A diferencias con los procesos descritos actualmente, la granulación de los microorganismos que forman la biomasa se lleva a cabo en un medio acuoso con una carga orgánica con una relación C/N entre 1 y 5, siendo preferente la relación 1 – 3. La modificación de las condiciones de operación supone una modificación relevante en la estructura resultante de la biomasa granular. Por tanto, para la obtención de gránulos adecuados, de manera
25 adicional a la correcta relación C/N, el medio acuoso donde se han inoculado los microorganismos debe comprender ciertos nutrientes y condiciones específicas, que dependerán de los microorganismos empleados para la formación de la biomasa granular.

30 La temperatura para la formación de la biomasa granular se encuentra en el intervalo 3 – 30 °C, y el pH entre 5,5 y 9,5, de modo que los microorganismos pueden desarrollarse en el dicho medio acuoso.

Adicionalmente, los microorganismos que forman la biomasa se ven favorecidos en
35 presencia de otros nutrientes que ayudan en la formación de los exopolisacáridos necesarios para la estabilización del gránulo y la obtención de una velocidad de decantación

mínima que permita su empleo posterior en un sistema oligotrófico. Estos nutrientes pueden o no estar incluidos en el medio acuoso de manera inicial, por lo que puede requerirse la adición externa de otros compuestos tales como $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 o KCl .

5 Un ejemplo de estos nutrientes puede verse en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentración de nutrientes adicionados a un agua subterránea con contaminación por nitrato/L (50-1000 mg/L) para la obtención de gránulos

Componentes	Concentración de nutrientes mg/L
Acetato sódico ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$)	25 – 500
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3 – 30
K_2HPO_4	3 – 30
KH_2PO_4	0,1 - 10
KCl	1 – 20

10

El resultado obtenido por la presencia de estos nutrientes en el medio acuoso es el crecimiento de la biomasa hasta la formación de gránulos. Estos gránulos se encuentran en constante movimiento debido a la aireación, preferentemente ascendente, existente en el biorreactor.

15

Por su parte, la biomasa granular obtenida en la etapa c) del presente procedimiento, requiere ser separada del medio acuoso para un posterior uso. Dicha separación se lleva a cabo mediante el vaciado del tanque. De este modo, la biomasa granular se queda retenida en el tanque, mientras que el medio acuoso se extrae. El vaciado del tanque puede verse favorecido por una etapa de decantación previa al vaciado del tanque.

20

Esta decantación permite que la biomasa granular que presente una cierta velocidad de decantación descienda a la parte inferior del biorreactor. De este modo, se puede lograr una biomasa granular con una velocidad de decantación superior a 10 m/h, siendo preferente aquella biomasa con una velocidad de decantación en el intervalo comprendido entre 15 y 140 m/h.

25

Las condiciones operacionales establecidas para la producción masiva de biomasa granular aeróbica desnitrificante se encuentran favorecida por un movimiento circular dentro del biorreactor, sin que ello determine pérdidas de biomasa. Este proceso de movimiento

30

circular se produce por las condiciones establecidas de aireación. En una realización preferente, dicha aireación presenta una configuración ascendente y somete a la biomasa a un movimiento permanente ascenderse obligando a la biomasa a compactarse dentro del sistema lo que permite obtener una mayor densidad de la biomasa formando gránulos. En este sentido, la formación de los gránulos de la biomasa granular se lleva a cabo con un tiempo de retención hidráulico entre 1 – 24 h.

Por tanto, el desarrollo de una biomasa granular tal y como la descrita en la presente invención permite eliminar todo tipo de contaminantes sin necesidad de utilizar otro biorreactor distinto como ocurre con otros sistemas biológicos y, además, operar bajo condiciones con baja concentración de nutrientes sin degradarse, al crear estructuras de biomasa compactas, con un tamaño entre 3 - 35mm de diámetro y una velocidad de decantación entre 15 - 140 m/h.

La capacidad de actuar bajo condiciones aerobias y anaerobias consigue mantener procesos de granulación estables a largo plazo, incluso bajo condiciones oligotróficas, con unos rendimientos óptimos, de hasta un 100% de eliminación del nitrógeno.

La biomasa granular producida está constituida por poblaciones microbianas desnitrificantes, tales como las bacterias *Holophagaceae*, *Gemmatimonadaceae*, *Trichococcus* *Bifidobacterium* y *Candidatus* *Microthrix*, junto con las arqueas y hongos *Trichosporonaceae* y *Methanospirillum*, las cuales son necesarias para el tratamiento de efluentes de aguas subterráneas. Al tratarse de un conjunto de microorganismos, tales como *Holophagaceae*, *Gemmatimonadaceae* y *Trichococcus* presentan una mayor capacidad de crecimiento. Estos microorganismos aportan una mayor compactación y estabilidad, al crear exopolisacáridos lo que se traduce en una mayor estabilidad del gránulo formado según la presente invención.

De este modo, el empleo de una biomasa granular como la descrita en la presente invención, logra obtener un corriente de agua tratada que puede ser abastecida a poblaciones humanas como agua potable.

Ejemplo – Tamaño y velocidad de decantación de la biomasa obtenida

Se construyeron dos biorreactores granulares aeróbicos secuenciales uno de 660L (Ejemplo E1) y uno de 2.163L (Ejemplo E2) de capacidad. El biorreactor se alimentó con agua

subterránea real contaminada, con una concentración de 85-100 mg/L de nitrato a temperatura ambiente. En este sentido, con el objetivo de poder obtener la biomasa granular desnitrificante, se inoculó con fango activo proveniente de un reactor biológico de una EDAR. Posteriormente, se adicionó al agua subterránea, justo en la entrada del biorreactor, una serie de nutrientes como la mostrada en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición de los nutrientes añadidos al agua residual empleada para la obtención de gránulos

Ejemplos	Componentes				
	Acetato sódico ($C_2H_3NaO_2$) mg/L	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ mg/L	K_2HPO_4 mg/L	KH_2PO_4 mg/L	KCl mg/L
E1	100	7,0	7,2	2,1	3,1
E2	150	14,0	14,4	4,2	6,2

- En estas condiciones, se llevó a cabo la granulación de la biomasa con una carga orgánica C/N de 1 para para el Ejemplo 1 y de 2 para el ejemplo 2. a una temperatura de 15-20 °C, un pH de 7-8 y con una concentración de oxígeno en agua de 6 mg O_2 /L durante un Tiempo de Retención Hidráulica (RTH) de 6 h.
- Como se aprecia en la Figura 2, donde se muestra el tamaño del diámetro (D) granular, en mm de las partículas de biomasa formada, frente al tiempo (t), en días; se observó como la formación de la biomasa granular se estabiliza a lo largo del tiempo en ambos biorreactores. De este modo, se obtiene un tamaño granular superior a 15 mm en ambos ejemplos, una decantación superior a 90 m/h y alcanzando valores de eliminación de nitrógeno y de materia orgánica superiores al 80% (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros físico-químicos obtenidos en la biomasa granular desnitrificante.

Ejemplos	Diámetro (D) granular (mm)	Velocidad de Decantación (m/h)	Rendimiento de Materia Orgánica (%)	Rendimiento Nitrógeno Total (%)
E1	25,1	110	100	80
E2	16,8	90	99	100

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de biomasa granular acondicionada para sistemas oligotróficos que comprende las siguientes etapas:
 - 5 a) Inoculación de biomasa que comprende microorganismos en un medio acuoso;
 - b) Granulación de la biomasa inoculada;
 - c) Formación de biomasa granular; y
 - d) Separación de la biomasa granular del medio acuoso;caracterizado por la granulación de la biomasa se realiza en un medio acuoso con una carga orgánica C/N en el intervalo 1 – 5, a una temperatura entre 3 y 30 °C, un pH entre 5,5 y 9,5 y
10 con una concentración de oxígeno en agua entre 3 – 10 mg O₂/L durante un Tiempo de Retención Hidráulica (RTH) entre 1 – 24 h.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, donde el medio acuoso comprende una carga orgánica con una relación C/N = 1 – 3.
- 15 3. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde la separación de la biomasa comprende una etapa de decantación previa a un vaciado del medio acuoso.
4. Biomasa granular obtenida por el procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 20 5. Biomasa granular de acuerdo con la reivindicación 4, donde la biomasa comprende una estructura estratificada con una zona anaeróbica, situada en la zona más interna del granulo, donde se encuentran las bacterias desnitrificantes, una zona intermedia microaerófila, donde se encuentran las bacterias acumuladoras de fosfato, y una zona aeróbica, donde se encuentran bacterias heterotróficas formadoras de exopolisacáridos.
- 25 6. Biomasa granular de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5, donde la biomasa granular presenta una velocidad de decantación superior a 10 m/h.
7. Biomasa granular de acuerdo con la reivindicación 6, donde la biomasa granular presenta una velocidad de decantación comprendida en el intervalo 15 a 140 m/h.
8. Biomasa granular de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7, donde la
30 biomasa granular comprende un diámetro de partícula entre 5 y 35 mm.
9. Biopelícula caracterizada por que comprende la biomasa granular de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 – 8.
10. Uso de la biomasa granular de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 – 8 o la biopelícula según la reivindicación 9, para el tratamiento de una corriente acuosa
35 oligotrófica.

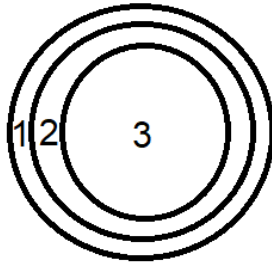


Fig. 1

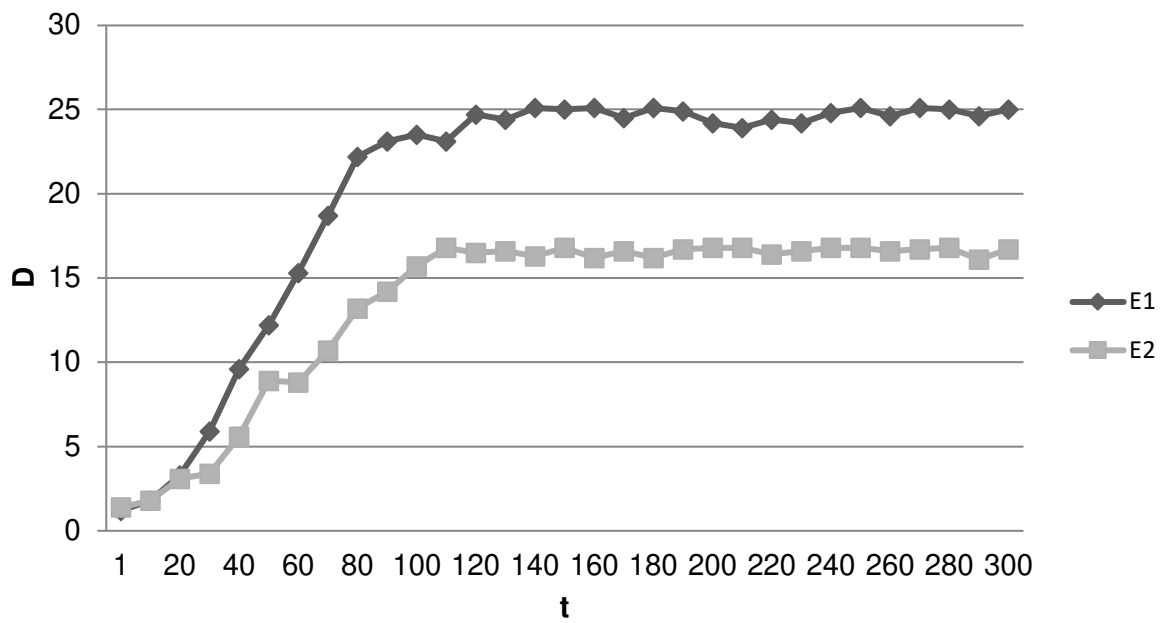


Fig. 2