



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA CIVIL**



**SIMULACIÓN MATEMÁTICA DEL EFECTO DE LA DEPREDACIÓN POR  
PROTOZOOS EN EL DESEMPEÑO DE REACTORES DE MEMBRANA BASADOS EN  
BIOPELÍCULAS (MABRs)**

POR

**Micaela Rocío Martínez Marín**

Tesis presentada a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Concepción para optar al grado de  
Magister en Ciencias de la Ingeniería con mención en Ingeniería Civil

Profesor Guía  
Marcelo Aybar Lagos

Septiembre, 2023  
Concepción (Chile)

© 2023 Micaela Rocío Martínez Marín

© 2023 Micaela Rocío Martínez Marín.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

## DEDICATORIA

*Este trabajo me lo dedico a mí y al feminismo por permitirme estar aquí.*

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradezco a mi profesor tutor Marcelo Aybar por su tiempo y dedicación en esta investigación, además, incluyo al profesor Alex Schwarz Kusch ya que ambos me aconsejaron, apoyaron y guiaron cuando lo necesité.

## RESUMEN

El agua hoy en día es un recurso fundamental debido a su uso transversal en las actividades humanas, es por esto por lo que se debe procurar su descontaminación. Dentro de un proceso de tratamiento de aguas residuales, la etapa de remoción de contaminantes disueltos se logra generalmente a través del tratamiento biológico el cual utiliza bacterias que consumen algunos de los contaminantes disueltos en agua para sus procesos metabólicos. Existen diversos tipos de biorreactores que cumplen esta función. Este trabajo se concentró en el biorreactor aireado por membrana (MABR), debido a sus ventajas frente a las tecnologías tradicionales, tales como sus altos rendimientos en utilización de gases, alta densidad de bacterias, y reducción de desechos sólidos. Los MABR han sido estudiados principalmente en la optimización de condiciones operacionales y las limitaciones en transferencia de masa, pero pocos estudios han ahondado sobre las implicancias de los microorganismos dentro del reactor. Es por esto, que, en este estudio, se presenta un modelo matemático de un MABR programado en el *Software* AQUASIM 2.1, en donde por primera vez se incluyen bacterias autotróficas, bacterias heterotróficas y la acción de depredadores (protozoos). Se cree que los protozoos que habitan en las biopelículas causan un efecto significativo en el rendimiento de remoción de contaminantes. Biopelículas multiespecie y monoespecie fueron analizadas bajo diferentes condiciones operacionales, las cuales fueron evaluadas con el objetivo de analizar las interacciones entre los microorganismos y el efecto en la remoción de contaminantes tales como la COD y amonio. Además, el modelo fue sometido a un proceso de validación en base a los resultados experimentales de investigaciones anteriores de grupos de investigación externos.

Los resultados indican que el modelo evalúa satisfactoriamente los rendimientos de remoción de contaminantes al compararse con los resultados experimentales. Además, se observó que los depredadores tanto en las biopelículas monoespecie como multiespecie, frente a limitaciones de amonio y disponibilidad de oxígeno, generan vacíos importantes en la zona de adherencia de la biopelícula, que pueden extenderse hasta valores del 80% del espesor de la biopelícula, lo cual puede causar el desprendimiento de la biomasa y perjudicar así la remoción de contaminantes. Adicionalmente, en biopelículas multiespecie, se observó que en ciertos casos con condiciones en donde existían zonas anóxicas, aeróbicas y disponibilidad de amonio, las bacterias autotróficas predominaban en la base de la biopelícula, siendo fuertemente perjudicadas por los depredadores, producto de compartir la zona aeróbica, mientras que las bacterias heterotróficas quedarían resguardadas en la zona anóxica.

## ABSTRACT

Water today is a fundamental resource due to its transversal use in human activities. For water to be safe from a sanitary point of view, it must be decontaminated. Within a wastewater treatment process, the dissolved contaminant removal stage is generally achieved through biological treatment which uses bacteria that consume some of the dissolved contaminants in water for their metabolic processes. There are various types of bioreactors that fulfill this function. This work focused on the membrane aerated biofilm reactor (MABR), due to its advantages over traditional technologies, such as its high gas consumption yields, high density of bacteria and reduction of solid waste. The MABR has been studied mainly in the optimization of operational conditions and mass transfer limitations, but few studies have explored the implications of microorganisms inside the reactor, which is why, in this study, a mathematical model of a MABR programmed in the AQUASIM 2.1 software, where autotrophic bacteria, heterotrophic bacteria and the action of predators (protozoa) are included for the first time. Biofilm-dwelling protozoa are believed to have a significant effect on contaminant removal performance. Multispecies and monospecies biofilms were analyzed under different operational conditions, to analyze the interactions between microorganisms and the effect on the removal of contaminants such as COD and Ammonium. In addition, the model was subjected to a process of validation based on experimental results of previous investigations of external research groups. The results indicate that the model satisfactorily evaluates the contaminant removal performance when compared with the experimental results. In addition, it was observed that predators in both monospecies and multispecies biofilms, faced with ammonium limitations and oxygen availability, generate significant voids in the biofilm adhesion zone, which can extend up to 80% of the biofilm thickness, which can cause the detachment of the biomass and thus impair the removal of contaminants. Additionally, in multispecies biofilms, it was observed that in certain cases with conditions where there were anoxic, aerobic zones and ammonium availability, autotrophic bacteria predominated at the base of the biofilm, being strongly harmed by predators because of sharing the zone.

**INDICE DE CONTENIDOS**

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Motivación.....	1
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo General .....	7
1.2.2. Objetivos específicos.....	7
1.3. Hipótesis .....	7
1.4. Principales resultados .....	7
2. BIOPELÍCULAS, DEPREDACION Y SIMULACION MATEMATICA DE BIOREACTORES.....	9
2.1. Introducción.....	9
2.2. Biopelícula.....	9
2.3. Biorreactores.....	11
2.4. Efectos de los protozoos .....	13
2.5. Modelamiento interacciones entre microorganismos .....	16
2.6. Conclusión .....	18
3. METODOLOGÍA .....	20
3.1. Introducción.....	20
3.2. Modelo matemático y escenarios .....	20
3.2.1. Escenarios utilizados para el análisis del comportamiento del modelo .....	22
3.2.2. Escenarios utilizados para la evaluación del comportamiento del modelo.....	25
3.3. Modelación de membranas por medio de Reactor completamente mezclado.....	27
3.4. Modelación de Biopelículas por medio de Biorreactor .....	28
3.5. Limitaciones del modelo matemático.....	36
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
4.1. Introducción.....	38
4.2. Comparación con datos experimentales de la investigación de Shaowei <i>et al.</i> (2007).....	38
4.3. Comparación con datos experimentales de la investigación de Yi Li <i>et al.</i> (2017).....	40
4.4. Comparación con datos experimentales de la investigación de Kim <i>et al.</i> (2022).....	41

---

4.5. Análisis de escenarios.....	43
4.6. Biopelícula Multiespecie .....	43
4.6.1. Porcentaje de bacterias en Biopelícula Multiespecie .....	44
4.6.2. Efecto de la depredación sobre poblaciones de bacterias en Biopelícula Multiespecie .....	49
4.6.3. Porcentaje de vacíos en la biopelícula.....	54
4.6.4. Efecto de la depredación sobre remoción de COD en Biopelícula Multiespecie .....	56
4.6.5. Efecto en la depredación sobre remoción de <b>NH<sub>4</sub></b> en Biopelícula Multiespecie.....	57
4.7. BIOPELÍCULA MONOESPECIE.....	60
4.7.1. Porcentaje de bacterias en biopelícula Monoespecie .....	60
4.7.2. Efecto de la depredación sobre población de biopelícula Monoespecie .....	61
4.7.3. Porcentajes de vacíos en biopelícula Monoespecie.....	62
4.7.4. Remociones de <b>NH<sub>4</sub></b> en biopelícula Monoespecie .....	63
5. CONCLUSIONES .....	66
Referencias .....	69
ANEXOS.....	72
Cinética microbiana.....	72
Matriz estequiométrica.....	74

**INDICE DE TABLAS**

Tabla 3.1 Configuración del CMABR investigación Shaowei <i>et al.</i> (2007).....	23
Tabla 3.2 Configuración del MARB investigación Yi Li <i>et al.</i> (2017).....	23
Tabla 3.2 Configuración del MARB investigación Kim <i>et al.</i> (2022) .....	24
Tabla 3.3 Modelos analizados .....	25
Tabla 3.4 Características operacionales definidas para la modelación de este estudio.....	29
Tabla 3.5 Descripción de las variables particuladas y solubles activas en el reactor de biopelícula .....	30
Tabla 3.6 Definición de parámetros Estequiométricos .....	31
Tabla 3.7 Definición de parámetros Cinéticos .....	32
Tabla 3.8 Matriz estequiométrica de procesos llevados a cabo por Bacterias Autotróficas .....	33
Tabla 3.9 Matriz estequiométrica de procesos llevados a cabo por Bacterias Heterotróficas .....	33
Tabla 3.10 Matriz estequiométrica de procesos llevados a cabo por Depredadores.....	34
Tabla 3.11 Tasas de velocidad de los procesos involucrados .....	34
Tabla 3.12 Concentraciones de sustratos y enumeración de condiciones operacionales biopelícula multiespecie.....	35
Tabla 3.13 Concentraciones de sustratos y enumeración de condiciones operacionales biopelícula monoespecie .....	36
Tabla 4.1 Identificación de escenarios Anóxicos.....	44

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Esquema gráfico de cómo funciona el consumo de sustratos de las membranas co-difusivas en los reactores MBBR .....	3
Figura 1.2 Esquema gráfico de cómo funciona el consumo de sustratos en las membranas contra-difusivas en los reactores MABR.....	4
Figura 2.1 Aplicación industrial de reactores MABR, consistente en módulos que poseen columnas que sostienen membranas semipermeables a gases.....	12
Figura 2.2 Esquema gráfico de cómo funcionan las membranas de los reactores MABR .....	12
Figura 2.3 Estructura de una biopelícula contra-difusiva soportada en un medio aireado .....	13
Figura 2.4 Imagen OCT que muestra la progresión de vacíos provocados por depredadores en la biopelícula de un MABR.....	15
Figura 3.1 Esquema de los procesos de biopelícula multiespecie en un MABR .....	21
Figura 3.2 esquema reactor MABR de laboratorio .....	26
Figura 3.3 Esquema configuración Aquasim .....	27
Figura 4.1 Comparación de concentraciones efluentes de COD alcanzadas por la investigación de Shaowei <i>et al.</i> (2007) y las predicciones de remoción del modelo .....	39
Figura 4.2 Comparación de concentraciones de <b>NH<sub>4</sub></b> alcanzadas por la investigación de Shaowei <i>et al.</i> (2007) y las predicciones del modelo.....	39
Figura 4.3 Comparación de concentraciones efluentes de COD alcanzadas por la investigación de Yi Li. <i>et al</i> (2017) y las predicciones de perfiles del modelo .....	40
Figura 4.4 Comparación de concentraciones efluentes de <b>NH<sub>4</sub></b> alcanzadas por la investigación de Yi Li. (2017) y las predicciones de perfiles del modelo .....	41
Figura 4.5 Comparación de concentraciones efluentes de amonio alcanzadas por la investigación de Kim. <i>et al</i> (2022) y las predicciones de perfiles del modelo .....	42
Figura 4.6 Porcentaje de bacterias heterotróficas relativo al 25% de los particulados totales en la biopelícula Multiespecie .....	46
Figura 4.7 Diferencia en porcentaje de bacterias heterotróficas en biopelícula Multiespecie entre el caso sin depredación y con depredación. ....	47
Figura 4.8 Porcentajes de bacterias Autotróficas relativos al 25% de los particulados totales en la biopelícula Multiespecie .....	48

Figura 4.9 Diferencia en porcentaje de bacterias autotróficas en biopelícula Multiespecie entre la condición sin depredación y con depredación.....	49
Figura 4.10 Diferencias en porcentaje de impacto de depredadores entre bacterias heterotróficas y autotróficas .....	50
Figura 4.11 Particulados Caso 16 con y sin depredación.....	51
Figura 4.12 Perfil de oxígeno Caso 16.....	51
Figura 4.13 Particulados Caso 17 con y sin depredación.....	52
Figura 4.14 Perfil de oxígeno Caso 17 .....	52
Figura 4.15 Particulados Caso 18 con y sin depredación.....	53
Figura 4.16 Perfil de oxígeno Caso 18.....	54
Figura 4.17 Espesores basales de la biopelícula Multiespecie con vacíos sobre el 60% .....	55
Figura 4.18 Remoción de COD (%) para concentraciones de 250 gCOD/m <sup>3</sup> y 500 gCOD/m <sup>3</sup> . Considerar que cada barra contiene los resultados de los escenarios sin depredación y con depredación .....	56
Figura 4.19 Diferencia de remoción de COD (%) entre los casos sin depredación y con depredación .....	57
Figura 4.20 Remoción promedio de amonio (%) en biopelícula Multiespecie. Las remociones se ven mayormente afectadas con respecto a la variación de la concentración de COD y oxígeno. ....	58
Figura 4.21 Diferencia de remoción de amonio (%) entre los casos sin depredación y con depredación .....	59
Figura 4.22 Variación de porcentajes de bacterias autotróficas, relativo al 25% de particulados totales en la biopelícula Monoespecie.....	61
Figura 4.23 Disminuciones en la población de bacterias autotróficas debido a depredación .....	62
Figura 4.24 Espesores basales de la Biopelícula Monoespecie con vacíos sobre el 60%.....	63
Figura 4.25 Remoción de amonio en biopelícula Monoespecie frente a variaciones en la concentración de amonio y oxígeno.....	64
Figura 4.26 Diferencia de remoción de amonio entre la condición Sin depredación y Con depredación para biopelícula Monoespecie .....	65

# CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1. Motivación

El tratamiento de aguas residuales realizado de una forma eficiente y efectiva es una necesidad esencial en toda sociedad avanzada, debido a que el agua es un recurso altamente demandado y escaso. Ir en búsqueda de tecnologías que logren una mayor remoción de contaminantes a un menor costo es atractivo tanto en el ámbito social, ambiental como económico. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, (2022), en el año 2020 sólo el 54% de la población mundial utilizaba un servicio de saneamiento gestionado de forma segura, además, el 45% de las aguas residuales domésticas generadas en el mundo se vertieron sin aplicar un tratamiento seguro. El saneamiento deficiente de aguas residuales va asociado a la transmisión de enfermedades diarreicas, de hecho, se estima que 829 000 personas de países de ingresos bajos y medianos mueren cada año como consecuencia de la insalubridad del agua. Con respecto a la realidad en Chile, según la Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS), en el informe de gestión del sector sanitario (2019), la cobertura urbana de tratamiento de aguas servidas, a diciembre de 2019, es de 99.98%, respecto de la población que cuenta con alcantarillado, la cual alcanza el 80% de la población.

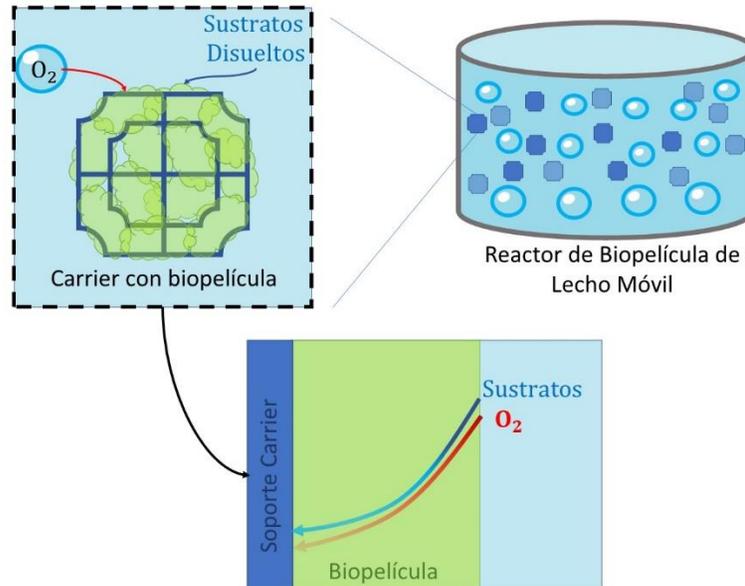
En resumen, el tratamiento de aguas residuales se puede dividir en tres fases, la primera corresponde al Tratamiento Primario donde se eliminan objetos y partículas sólidas arrastradas por el agua que pudiesen dañar los equipos de las etapas posteriores. Luego, el Tratamiento Secundario, el cual busca reducir los niveles de contaminantes disueltos, como los contaminantes químicos inorgánicos (por ejemplo, amonio, fosfatos y sulfatos) y los contaminantes orgánicos que deben ser oxidados. Finalmente, se encuentra el Tratamiento Terciario, el cual busca desinfectar el agua para disminuir así los patógenos del agua, principalmente a través de Cloro, Ozono o luz UV.

Una de las tecnologías más utilizadas para el tratamiento secundario de aguas residuales es la tecnología de Lodos Activados. En los Estados Unidos, la tecnología de Lodos Activados lideró el mercado de tratamiento de aguas residuales con el 44.5 % de los ingresos globales en 2019 (Grand View Research, 2019), mientras que, en México el 71% de las plantas del país corresponden a reactores de Lodos Activados (Reyes *et al.*, 2015), y actualmente en Chile el 63 % de las aguas servidas se tratan por medio de esta tecnología (SISS, 2019). El proceso de los Lodos Activados se lleva a cabo

por medio de bacterias que crecen de forma suspendida en un reactor las cuales oxidan los contaminantes orgánicos disueltos en el agua por medio del Oxígeno el cual es suministrado por el fondo del reactor. Sin embargo, esta tecnología tiene deficiencias en el proceso, ya que desperdicia por lo menos el 75 % de los gases suministrados (Tchobanoglous *et al.*, 2013), lo que se traduce en costos adicionales en los que deben incurrir las empresas sanitarias. Otra de las desventajas de esta tecnología es la sedimentación y cantidad de lodos generados, los cuales deben ser estabilizados y dispuestos en mono rellenos autorizados.

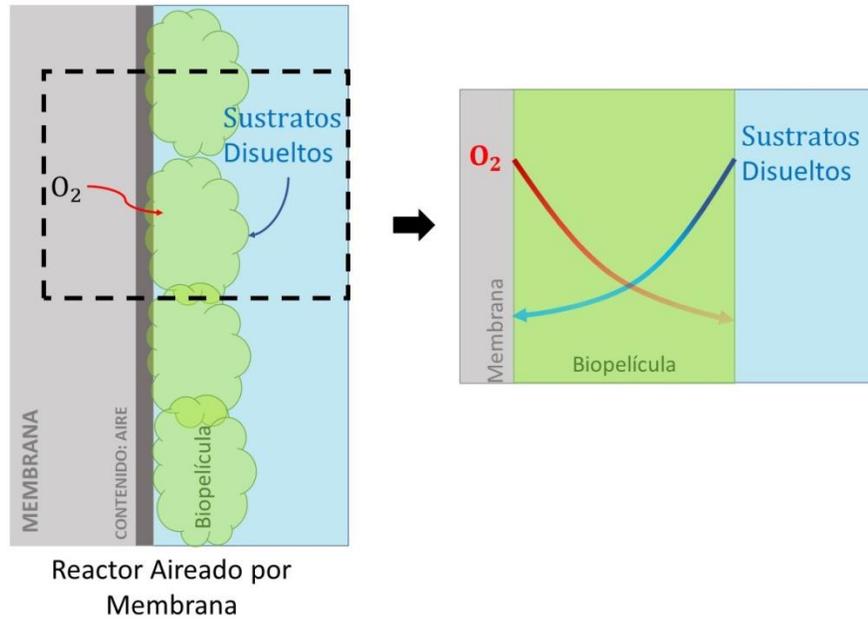
Una alternativa que resuelve los problemas de la generación excesiva y sedimentación de lodos, son los reactores que trabajan con biopelículas. Las biopelículas son comunidades de microorganismos que crecen adheridas a una superficie presentando una alta cantidad de biomasa, y en términos del transporte de sustratos, se pueden clasificar en biopelículas co-difusivas y biopelículas contra-difusivas.

Una de las tecnologías que trabaja con biopelículas co-difusivas son los reactores de biopelícula de lecho móvil (MBBR por sus siglas en inglés *Moving bed biofilm reactor*), que consta de un reactor aeróbico que en su interior contiene carriers que sirven de soporte para la biopelícula. En los MBBR, los contaminantes y el Oxígeno disuelto en el agua ingresan desde el exterior de la biopelícula y se difunden hacia su interior (Figura 1.1), de esta forma, se evita tener flóculos de bacterias creciendo de manera suspendida, que luego el exceso, debe ser decantado, estabilizado y desechado. Por otra parte, los reactores de biopelícula de lecho móvil siguen teniendo el problema de que el aire suministrado en el reactor no es específico para el crecimiento de las bacterias, de hecho, la aireación de este tipo de reactores corresponde entre el 45% y 75% de la energía total que consumen (Reardon, 1995).



**Figura 1.1** Esquema gráfico de cómo funciona el consumo de sustratos de las membranas co-difusivas en los reactores MBBR

Por otra parte, el biorreactor aireado por membrana (MABR, por sus siglas en inglés *membrane-aerated biofilms reactor*), es un reactor que utiliza biopelículas contra-difusivas que puede alcanzar eficiencias de transferencia de gases de hasta un 100 % en operación de membranas con el extremo cerrado (Ahmed *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2012; Pankhania *et al.*, 1994; Perez-Calleja *et al.*, 2017; Semmens *et al.*, 2005). Esto lo logra por medio de membranas semipermeables a gases las cuales contienen aire u oxígeno en su interior, y por el exterior en contacto con el agua, se desarrollan biopelículas encargadas de metabolizar los contaminantes disueltos (Figura 1.2).



**Figura 1.2** Esquema gráfico de cómo funciona el consumo de sustratos en las membranas contra-difusivas en los reactores MABR

Las investigaciones sobre los MABR se han basado principalmente en el control de transferencia de masa y condiciones operativas del reactor, y sólo algunas investigaciones, Aybar *et al.* (2019), Kim *et al.* (2020) y Kim *et al.* (2022) han estudiado las implicancias de los protozoos (depredadores naturales de las bacterias) en biopelículas contra-difusivas. Aybar *et al.* (2019) estudió las biopelículas heterotróficas y el impacto de los depredadores en cuanto a la morfología de la biopelícula, descubriendo que se formaban vacíos importantes en la base de esta. Kim *et al.* (2020) estudió biopelículas heterotróficas y halló que la presencia de los protozoos disminuía sus propiedades mecánicas siendo más propensas al desprendimiento con respecto al grupo al cual se le habían suprimido los depredadores, esto se explica debido a que se encontró que hay una correlación positiva entre la abundancia de los vacíos internos provocados por los depredadores y el desprendimiento de la biopelícula. Finalmente, Kim *et al.* (2022) trabajó con biopelículas autotróficas y encontró que los depredadores tenían un impacto negativo en la remoción de amonio debido probablemente a la pérdida de biomasa. Asimismo, no hay estudios que hayan indagado sobre las implicancias de la interacción bacteria-protocoo en el rendimiento de remoción de contaminantes de un MABR con biopelícula multiespecie, el cual es un factor primordial para la aplicación a gran escala de esta tecnología. Tampoco hay estudios que hayan revisado implicancias de los protozoos sobre biopelículas multiespecie, donde debido a la estratificación dentro de la biopelícula, algunos tipos de bacterias

podrían ser afectadas de diferente manera debido a sus diferencias en su ubicación espacial; en su cinética de crecimiento; y en sus diferencias en morfología y estructura.

Las modelaciones matemáticas son un complemento importante al momento de estudiar biorreactores, ya que, al representar el sistema de forma simplificada, se pueden explorar distintos escenarios de operación sin incurrir en los costos que requieren los experimentos en laboratorio. Con la información obtenida desde las modelaciones matemáticas, se puede conocer a priori el comportamiento del reactor en cuanto a rendimientos de remoción de contaminantes, interacciones microbiológicas, y morfología.

Investigaciones como Moussa *et al.* (2005) y Revilla *et al.* (2016), han modelado exitosamente el proceso de oxidación de COD, el proceso de nitrificación y el efecto de depredación por parte de protozoos en reactores de lodos activados y biorreactores de lecho móvil respectivamente. Además, Aybar *et al.* (2019) logró realizar un modelo matemático de un MABR el cual es capaz de capturar con precisión los perfiles de Oxígeno dentro de la biopelícula heterotrófica en presencia de depredadores. Sin embargo, no hay ningún modelo matemático que explique el efecto de la depredación en el rendimiento de remoción de contaminantes bajo la interacción de bacterias heterotróficas, bacterias autotróficas y protozoos en un MABR. La realización de este modelo permitirá entender mejor en qué condiciones los depredadores podrían tener un efecto significativo y las razones del por qué, ya que el modelo podrá entregar perfiles de concentración de los microorganismos y vacíos provocados por protozoos, también entregará perfiles de consumo de sustratos ( $\text{NH}_4$ , COD,  $\text{O}_2$ ) que ayudarán a analizar las consecuencias de la depredación bajo múltiples condiciones operacionales.

Es por ello por lo que la modelación matemática de una biopelícula constituida por bacterias heterotróficas y bacterias autotróficas con procesos de remoción de COD, desnitrificación, nitrificación más acción de los protozoos, dará paso para comprender mejor la dinámica de la interacción entre estos microorganismos y las implicancias sobre el rendimiento de un MABR.

Para llevar a cabo el modelo matemático se utilizará el *Software* AQUASIM 2.1 (Reichert *et al.*, 1994) debido a la flexibilidad del programa para la definición de procesos y variables. La cinética y estequiometría de los procesos se basará principalmente en los modelos de Henze *et al.* (2000). Para la modelación de depredadores se basará en la investigación de Moussa *et al.* (2005), por otra parte,

se utilizará de base el modelo desarrollado por Aybar *et al.* (2019), ya que cuenta con la modelación de la interacción entre depredadores y bacterias heterotróficas, además, de la incorporación de vacíos generados por depredadores como una variable independiente en el reactor MABR. Se simularán las investigaciones de Shaowei *et al.* (2007), Yi Li *et al.* (2017) y Kim *et al.* (2022) y se compararán los resultados experimentales de las respectivas investigaciones versus los resultados entregados por la simulación. Finalmente, se estudiarán distintas condiciones operacionales bajo presencia y ausencia de depredadores, en donde se variarán las concentraciones de oxígeno, amonio, COD, además de la utilización tanto de biopelículas Multiespecie (constituidas por bacterias Heterotróficas como Bacterias Autotróficas) como biopelículas Monoespecie (constituidas exclusivamente por bacterias Autotróficas) para así comprender la dinámica del sistema frente diferentes escenarios.

Los resultados que entregará el modelo corresponden a perfiles de concentración de microorganismos y vacíos dentro de la biopelícula que permitirán conocer su ubicación de cada una de las variables dentro de esta, y comparando cada uno de los escenarios con el modelo sin depredación, que dará a conocer el impacto en las poblaciones de bacterias que sufren bajo la presencia de depredadores, conociendo así las zonas afectadas por lo protozoos. También el modelo entregará la concentración de los sustratos ( $\text{NH}_4$ , COD,  $\text{O}_2$ ) en el efluente a través del tiempo y también las concentraciones de los sustratos dentro de la biopelícula, esta información igualmente se contrastará en los escenarios de con y sin depredación, lo cual permitirá conocer cuánto afecta la depredación en la remoción de contaminantes, y observar los casos en que esta diferencia sea significativamente perjudicial para los rendimientos del reactor. Conocer cuándo los depredadores son significativamente perjudiciales en los rendimientos de remoción del reactor mediante modelación matemática, permitirá desarrollar una base teórica, con la cual, se podrá diseñar con mayor precisión escenarios de experimentos en laboratorio de los MARB, avanzando así, en el estudio de esta materia.

## 1.2. Objetivos

A continuación, se presenta el objetivo general y los objetivos específicos de la investigación.

### 1.2.1. Objetivo General

Evaluar mediante simulación matemática el efecto en el rendimiento de remoción de amonio y COD de un reactor MABR de la interacción entre bacterias heterotróficas, autotróficas y protozoos bajo diferentes condiciones operacionales.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- Elaborar un modelo conceptual y una matriz de procesos que permitan comprender el funcionamiento del sistema
- Implementar la configuración del reactor MABR en el *Software* AQUASIM 2.1.
- Crear y evaluar escenarios de simulación
- Analizar el efecto de la depredación en el rendimiento de remoción de contaminantes.

### 1.3. Hipótesis

La depredación causada por los protozoos que habitan en la biopelícula causa un efecto negativo en la remoción de contaminantes de bacterias autotróficas y heterotróficas.

### 1.4. Principales resultados

Como principales resultados se encontró que, las comparaciones de las predicciones del modelo con los resultados experimentales de las investigaciones de Yi Li *et al.* (2017), Kim *et al.* (2022) y Shaowei *et al.* (2007), logran predecir apropiadamente las remociones de los experimentos de laboratorio, las diferencias observadas se pueden deber a la representación simplificada del MABR, a los valores promedios adoptados en el espesor de las biopelículas, a la variabilidad de las concentraciones de los sustratos, junto con las propias limitaciones del modelo unidimensional.

En cuanto a la configuración del modelo desarrollado para evaluar el impacto de los depredadores en los reactores MARB, en esta investigación se encontró que, tanto en biopelículas monoespecie como en biopelículas multiespecie, si bien los depredadores no generaban diferencias significativas en la remoción de contaminantes, sí generaban vacíos importantes (sobre el 60% del total de particulados), que podrían resultar en un debilitamiento en la adherencia de la biopelícula y posterior desprendimiento, perdiendo así, toda capacidad de remoción.

Con respecto al efecto de los depredadores en la población de bacterias de las biopelículas, el modelo desarrollado entregó que los depredadores siempre disminuían las poblaciones de bacterias. Para las biopelículas multiespecie se encontró que las bacterias heterotróficas se veían más afectadas (con un 52% de disminución de bacterias) para concentraciones bajas de COD, debido a la poca disponibilidad de COD para reponer la biomasa perdida. Por otra parte, las bacterias autotróficas en biopelículas multiespecie también se veían más afectadas a bajas concentraciones de COD, ya que, las bacterias autotróficas tienen una alta competencia con las bacterias heterotróficas por los recursos de oxígeno y amonio, y es difícil que las bacterias autotróficas logren un porcentaje significativo en la biopelícula, por ende, una limitación de COD, limita el crecimiento de bacterias heterotróficas, dando una ventaja a las bacterias autotróficas de proliferar, sin embargo, cuando estas logran proliferar, dominan la porción de la biopelícula en la zona aeróbica, desplazando las bacterias heterotróficas a la zona anóxica. Cuando esto ocurre, los depredadores tienen un efecto significativo en la población de bacterias autotróficas (-40%), ya que, las bacterias al desarrollarse en la zona aeróbica son el alimento principal de los depredadores, mientras que, las bacterias heterotróficas quedarían resguardadas en la zona anóxica, zona en la cual los depredadores no pueden proliferar. Por otra parte, para las biopelículas monoespecie, se encontró que, a bajas concentraciones de amonio, se observaron disminuciones sobre el 60%, esto debido a que, una limitación en amonio resulta en una dificultad para reponer la biomasa perdida producto de la depredación.

## **2. BIOPELÍCULAS, DEPREDACION Y SIMULACION MATEMATICA DE BIOREACTORES**

### **2.1. Introducción**

La información relevante para la elaboración del modelo consta de entender qué es una biopelícula, cómo funcionan bajo condiciones de contra-difusión, cómo funciona un MABR, cómo se han logrado modelar matemáticamente los biorreactores, además de entender la dinámica entre bacterias autotróficas, bacterias heterotróficas y depredadores, por lo que en la presente sección se abordaran estos temas.

### **2.2. Biopelícula**

Las biopelículas son comunidades de microorganismos que viven adheridos a las superficies que se alojan en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), esta forma de organización tiene ventajas frente a la vida de microorganismos individuales ya que le confiere protección hacia agentes externos, aumenta la disponibilidad de nutrientes y reduce la posibilidad de deshidratación.

De acuerdo con Sauer.K et al. (2003), el proceso de formación de biopelículas consta de cinco etapas. En la primera etapa, las bacterias presentes en el agua se adhieren de forma reversible a la superficie. Luego, en la segunda etapa, las bacterias secretan EPS (sustancias poliméricas extracelulares) permitiéndoles adherirse permanentemente a la superficie. Durante las etapas 3 y 4, ocurre la maduración de la biopelícula, que conduce a la formación de su arquitectura. Finalmente, en la fase 5, algunas células se separan de la biopelícula, repitiendo así el ciclo de formación.

La masa de biopelícula consiste predominantemente en agua (hasta 97 % de peso húmedo), células microbianas (2-5 %) y EPS (1-5 %), (Sutherland *et al.*, 2001). Estas se caracterizan por una notable heterogeneidad temporal y espacial en términos de distribución de biomasa, de gradientes químicos/moleculares y tasas de división. Las biopelículas se pueden clasificar según el tipo de microorganismos por los cuales está compuesta, como multiespecie y mono especie. La biopelícula multiespecie es cuando en la biopelícula coexisten más de una población de bacterias, y la biopelícula

monoespecie, es cuando en la biopelícula existe únicamente una especie de bacteria. También las biopelículas se pueden clasificar según el sentido de transporte y consumo de sustratos como co-difusivas y contra-difusivas, las biopelículas co-difusivas son las que consumen todos los sustratos en un mismo sentido como se puede observar en la Figura 1.1, mientras que en las biopelículas contra-difusivas utilizadas en los MABR los sustratos se consumen desde sentidos opuestos como se observa en la Figura 1.2. Las diferencias de las biopelículas co-difusivas y contra-difusivas, según Nerenberg (2016), más allá del sentido en el cual se consumen los sustratos, se encuentran en que el metabolismo de las biopelículas co-difusivas es más activo en la zona en contacto con el agua, ya que aquí, los sustratos son más abundantes, mientras que en las biopelículas contra-difusivas, los sustratos se difunden en sentidos opuestos, por lo que, la zona más activa está típicamente localizada al interior de la biopelícula. Además, las biopelículas contra-difusivas pueden conducir a estructuras comunitarias únicas. Por ejemplo, en la mayoría de las biopelículas co-difusivas para el tratamiento de aguas residuales, se desarrollan microorganismos nitrificantes en las regiones más profundas de la biopelícula, donde la COD es más baja. Si bien esta ubicación no tiene una competencia significativa con los organismos heterotróficos, también es donde la concentración de oxígeno es más baja, lo que conduce a una baja actividad de nitrificación. Por otro lado, un sistema MABR, donde se utilizan biopelículas contra-difusivas, el oxígeno se suministra desde la base de la biopelícula, por lo que las bacterias nitrificantes están expuestas a bajas concentraciones de COD y a altas concentraciones oxígeno, promoviendo alta actividad de nitrificación. Por el contrario, en las biopelículas co-difusivas, los flujos iniciales de eliminación de contaminantes son bajos, debido al bajo espesor de la biopelícula. Luego, los flujos aumentan a medida que aumenta el espesor de la biopelícula, hasta que el crecimiento de la biopelícula se equilibra con el decaimiento y el desprendimiento. En contraste, según Nerember *et al.* (2016) en biopelículas contra-difusivas, los flujos aumentan hasta cierto punto, pero luego disminuyen a medida que el espesor aumenta aún más. Esto se debe a la resistencia al transporte que experimentan el donante de electrones y el aceptor de electrones (COD y oxígeno respectivamente para las bacterias heterotróficas, y amonio y oxígeno respectivamente para bacterias autotróficas). Esto se explica, ya que, el interior de la biopelícula tiene baja actividad debido a la limitación del donante de electrones, mientras que el exterior tiene bajas tasas debido a la limitación del aceptor de electrones. Por lo tanto, es necesario controlar el espesor de las biopelículas contra-difusivas para mantener flujos altos de remoción. Adicionalmente, en las biopelículas co-difusivas, la LDL (liquid difusión layer) limita el flujo de sustratos hacia dentro de la biopelícula. A medida que el espesor de la biopelícula y los flujos incrementan, la LDL presenta una resistencia a la transferencia de masa, y

así, limita el crecimiento de la biopelícula, por lo que se necesita una alta concentración de sustratos en el agua para superar la resistencia de la LDL, ya que así, existe una mayor cantidad de sustratos disponibles para moverse a través de la LDL. Por el contrario, en las biopelículas contra-difusivas, la LDL provee una barrera contra la pérdida del sustrato interno de la biopelícula, evitando que este se difunda fácilmente hacia el agua. Mientras que las concentraciones del sustrato presente en el agua no sean limitantes, la LDL no limitará la actividad, y, de hecho, la potenciará.

### 2.3. Biorreactores

En las plantas de tratamiento de aguas residuales, en la fase del tratamiento secundario, en donde se busca reducir los niveles de contaminantes disueltos, las bacterias se utilizan para la eliminación de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos en unidades llamadas biorreactores.

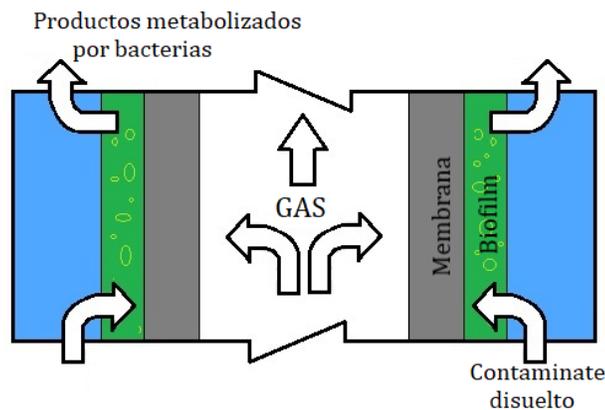
Las tecnologías tradicionales de tratamiento de aguas residuales en la etapa de remoción de contaminantes disueltos constan de un reactor que en su interior posee una mezcla de agua y de lodos, lodos que están compuestos de bacterias que metabolizan ciertos contaminantes del agua. En caso de que el biorreactor sea nuevo y se necesite inocular con bacterias, los lodos activados se pueden obtener desde otras plantas de tratamientos, o en caso de que no exista la posibilidad, se puede utilizar una muestra de agua residual con sustratos adecuados para que las bacterias se desarrollen y proliferen. En la parte inferior del reactor hay difusores de gas, gas que es necesario para la realización de los procesos metabólicos de la bacteria. Una de las desventajas de esta tecnología es, por una parte, el exceso de lodos generados que deben ser desechados y ser dispuestos finalmente en mono rellenos autorizados, y, por otra parte, al estar las bacterias mezcladas con el agua residual, ya sea como individuos o en carriers formando biopelículas, gran parte del gas que se difunde desde el fondo del reactor se pierde liberándose al ambiente, ya que, su dosificación se realiza a toda el agua que contiene a las bacterias o biopelículas que hay en el interior del reactor. De hecho, la tecnología más eficiente de lodos activados con aireación difusora de Poro fino tiene eficiencias de transferencia de gases sólo de hasta un 25% (Tchobanoglous *et al.*, 2013).

Dado que la disposición de lodos en mono rellenos, la energía necesaria para la difusión del gas y el gas en sí mismo implican costos para las empresas de saneamiento de aguas residuales, se presenta la

alternativa de la tecnología de los MABR (Figura 2.1). Esta tecnología consta de membranas semipermeables a gases que circulan en su interior (lumen). Por la parte exterior de esta membrana comienza a crecer una biopelícula que trabaja de forma contra-difusiva, ya que, por la base de la biopelícula, difunde el gas, mientras que por la parte exterior, la cual está en contacto con el agua residual, difunden los sustratos (contaminantes) que metabolizan las bacterias (Figura 2.2). Este proceso puede lograr una eficiencia de transferencia de gases de hasta el 100% (Ahmed *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2012; Pankhania *et al.*, 1994; Perez-Calleja *et al.*, 2017; Semmens *et al.*, 2005). Además, la mayor actividad de la biopelícula puede ocurrir en cualquier parte del grosor (Nerenberg *et al.*, 2016) y no necesariamente en los extremos.



**Figura 2.1** Aplicación industrial de reactores MABR, consistente en módulos que poseen columnas que sostienen membranas semipermeables a gases  
 Fuente: Adaptación Williams (2017)



**Figura 2.2** Esquema gráfico de cómo funcionan las membranas de los reactores MABR

En cuanto a la distribución de las bacterias presentes en la biopelícula, Timberlake *et al.* (1988) demostró que en un reactor de biopelícula contra-difusiva podían obtenerse tasas significativas de nitrificación, desnitrificación y oxidación heterotrófica de COD en un solo reactor debido a la estratificación de bacterias (Figura 2.3), mientras que, para reactores con crecimiento suspendidos de bacterias, cada proceso necesitaría un reactor por separado. En la zona aeróbica de la biopelícula contra-difusiva predominarían bacterias nitrificantes y sobre estas, en la zona anóxica, se ubicarían bacterias heterotróficas que están disponibles para recibir como aceptor de electrones tanto el oxígeno como el nitrato (nitrato, compuesto producido como subproducto de las bacterias nitrificantes); luego en la zona anaeróbica se desarrollaría el proceso de fermentación (Timberlake *et al.* (1988)).

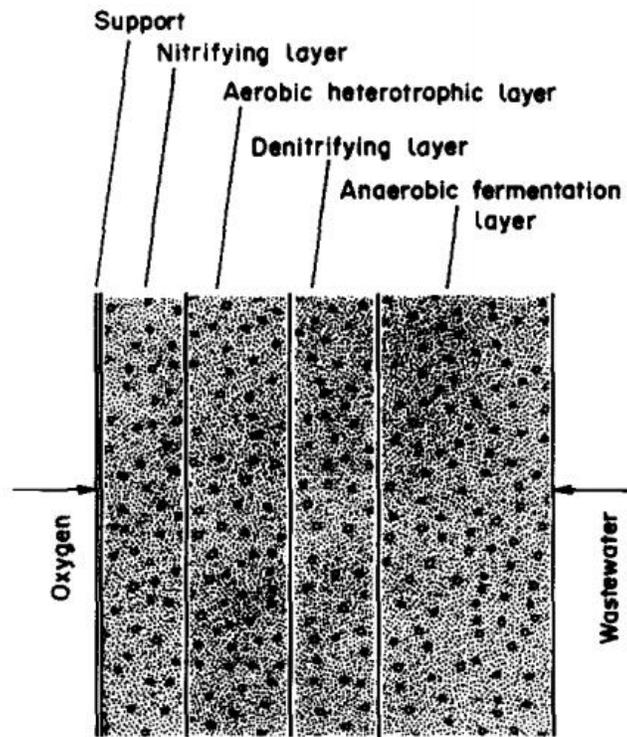


Figura 2.3 Estructura de una biopelícula contra-difusiva soportada en un medio aireado  
Fuente: Timberlake *et al.* (1988)

#### 2.4. Efectos de los protozoos

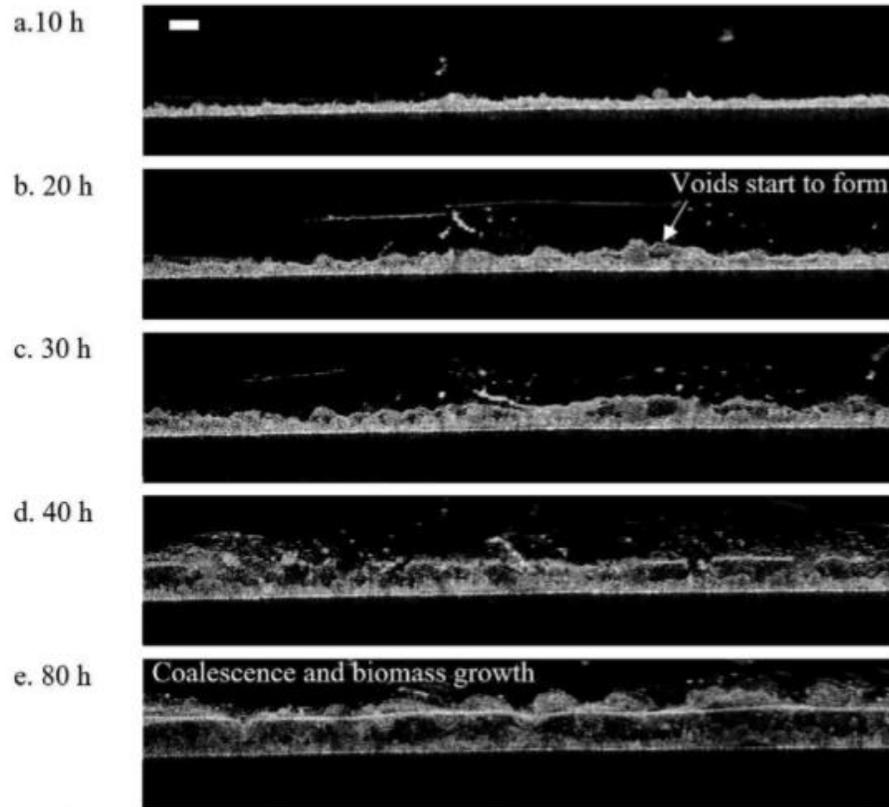
Las biopelículas son una comunidad de microorganismos y organismos superiores interdependientes, incluyendo algas, hongos, protozoos y pequeños metazoos que forman una cadena alimentaria compleja. Aunque los protozoos y metazoos actúan como depredadores, su función en la biopelícula aún no se comprende completamente (Weitere *et al.*, 2018)

Los protozoos comunes en los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales incluyen amebas, flagelos y ciliados (Jurgens *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 1996; Madoni *et al.*, 2011). Estos organismos pueden mejorar indirectamente el transporte de soluto en biopelículas por su movimiento, aumentando la porosidad y causando cambios morfológicos en la matriz de biopelículas (Bohme *et al.*, 2009). Sin embargo, una depredación excesiva de estos organismos en la biopelícula puede ser perjudicial para las transformaciones bacterianas cruciales para el rendimiento del proceso (Lee *et al.*, 1994), como además pueden perturbar las etapas iniciales del desarrollo de biopelículas (Rychert *et al.*, 2011).

Un estudio realizado por Lee *et al.* (1994) analizó los efectos de la depredación sobre bacterias nitrificantes en aerobio *continuous-flow suspended-carrier biofilm reactors*. Se concluyó que los protozoos tuvieron un impacto negativo significativo en las tasas de nitrificación, y que una disminución en la población de estos depredadores resultó en un aumento de la capacidad de nitrificación del sistema. Es posible que esta disminución se deba en parte al crecimiento más lento de este tipo de bacterias en comparación con las bacterias heterotróficas, lo que dificulta la reposición de la biomasa perdida. Esta interpretación sugiere la importancia de considerar el impacto de los depredadores en la eficiencia del sistema de nitrificación

Aunque la depredación en biopelículas típicas se ha estudiado ampliamente, no se entiende bien el impacto de la depredación en las tecnologías basadas en biopelículas contra-difusivas. Por esa razón Aybar *et al.* (2019) se centró en analizar, tanto de manera experimental como matemática, el efecto de la depredación de protozoos en la estructura interna de una biopelícula de contra-difusión heterotrófica. Según los resultados obtenidos, la interacción temporal de bacterias y protozoos puede generar vacíos o poros significativos en la superficie de adherencia de la membrana, aumentando el riesgo de desprendimiento masivo de la biopelícula (Figura 2.4). Es importante destacar que este fenómeno se produce en los MABR con limitación de sustrato orgánico, donde la base de la biopelícula tiende a ser inactiva y aeróbica, lo que favorece la depredación y la formación de huecos. Aunque este proceso es iniciado por las amebas, los flagelados amplían aún más los huecos, separando la biopelícula de la membrana y generando un nicho para los protozoos móviles, que expanden los vacíos en una brecha grande y continua. Esta situación aumenta el potencial de desprendimiento de biopelículas, lo que puede tener efectos perjudiciales en el crecimiento lento de microorganismos aeróbicos, como las bacterias nitrificantes. En este sentido, es relevante destacar que la configuración

de contra-difusión de la biopelícula desempeñó un papel clave en la ubicación y magnitud de los vacíos observados (Aybar et al., 2019).



**Figura 2.4 Imagen OCT que muestra la progresión de vacíos provocados por depredadores en la biopelícula de un MABR**

**Fuente: Aybar *et al.* (2019)**

Luego el estudio realizado por Kim *et al.* (2020) continuó el trabajo realizado por Aybar *et al.* (2019), investigando el efecto de la depredación de las biopelículas heterotróficas con respecto a las propiedades mecánicas en un MABR. El estudio trabajó con tres escenarios de MABR, el primero en donde se suprimieron los depredadores desde el comienzo; el segundo donde se ingresaron los depredadores una vez madura la biopelícula, y, por último, el tercer escenario, donde siempre estuvieron presentes los depredadores. Los resultados arrojaron que, los depredadores, tenían un impacto significativo en el aumento de la porosidad de las biopelículas, además, la presencia de depredadores disminuyó las propiedades mecánicas, provocando biopelículas débiles que se desprenden fácilmente. Sin embargo, estos efectos disminuyen considerablemente si los protozoos ingresan una vez ya madura la biopelícula.

En otro estudio llevado a cabo por Kim *et al.* (2022), se investigó el efecto de los depredadores en biopelículas formadas exclusivamente por bacterias nitrificantes en un MABR. Los resultados revelaron que la presencia de depredadores redujo las tasas de nitrificación, posiblemente debido a la pérdida de biomasa, y que estos depredadores atacaron más a las bacterias oxidantes de nitrato (NOB) que a las bacterias oxidantes de amonio (AOB). Esta preferencia por las NOB destaca la importancia de estos microorganismos en los procesos de nitrificación y expone que su disminución tiene un impacto negativo en la eficiencia de los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Tanto las investigaciones realizadas por Aybar *et al.* (2019) como la investigación de Kim *et al.* (2020) permitieron avanzar en el entendimiento del comportamiento de biopelículas heterotróficas expuestas a protozoos, observando cambios en la estructura de la biopelícula y su eficiencia en reactores MABR. Sin embargo, aún quedan aspectos por profundizar en la interacción entre protozoos y diferentes grupos bacterianos, por ejemplo, qué sucede en un reactor MABR al incluir diversos grupos bacterianos y cuál es su impacto en el rendimiento del reactor. En particular, la investigación de Kim *et al.* (2022) estudió el efecto de los depredadores en biopelículas nitrificantes, pero no incluyó otros grupos bacterianos como las bacterias heterotróficas oxidantes de COD. Por lo tanto, es necesario seguir investigando para comprender mejor el impacto de la depredación en los diferentes grupos bacterianos y su efecto en el rendimiento de los reactores MABR.

## 2.5. Modelamiento de interacciones entre microorganismos

Las matrices estequiométricas son una herramienta útil para modelar el crecimiento y la producción de bacterias. Estas matrices representan la relación estequiométrica entre los sustratos y los productos de una reacción bioquímica, lo que permite predecir la producción y el consumo de sustratos durante el crecimiento de las bacterias. Además, estas matrices pueden utilizarse para diseñar experimentos y optimizar el crecimiento bacteriano en diferentes condiciones. A continuación, se presentan investigaciones en donde utilizaron con éxito las matrices estequiométricas para representar reactores biológicos.

Para el modelamiento de bacterias heterotróficas (oxidación de materia orgánica) y bacterias autotróficas (nitrificación) con matrices estequiométricas, Henze *et al.* (2000) desarrolló cuatro

modelos de reactores de lodos activados (ASM1, ASM2, ASM2d y ASM3) cada uno más complejo que el anterior, donde presenta la estequiometría y tasas de reacción de los diferentes procesos involucrados.

Luego, Moussa *et al.* (2005) modeló mediante matrices estequiométricas por primera vez la depredación de los protozoos con procesos de nitrificación y oxidación de COD en reactores de lodos activados. El modelamiento de los depredadores se realizó considerándolos como biomasa activa que crecen de manera aeróbica en función de la concentración de los distintos tipos de bacterias presentes, sin tener preferencias de una bacteria por sobre otra.

Luego, Revilla *et al.* (2016) validó un modelo matemático en reactores de biopelículas de lecho móvil incluyendo bacterias heterotróficas, bacterias autotróficas, procesos de hidrólisis de COD y depredación usando de base las investigaciones realizadas por Moussa *et al.* (2005) en cuanto a la depredación y Henze *et al.* (2000), con respecto a los procesos bacterianos e hidrólisis.

El *software* AQUASIM 2.1 (Reichert *et al.*, 1994), ha sido ampliamente utilizado en modelaciones de MABR (Baek, *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2018; Saroj *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2017), en donde se han estudiado distintos procesos como por ejemplo la nitrificación, remoción de COD, eliminación de Metano, bajo diferentes condiciones operacionales. Esto ha sido posible ya que el *software* tiene una gran flexibilidad en cuanto a las variables y procesos a definir.

Aybar *et al.* (2019) apoyándose en las investigaciones de Moussa *et al.* (2005) y utilizando el *Software* AQUASIM 2.1 (Reichert *et al.*, 1994) desarrolló el primer modelo matemático de un MABR que modela los vacíos de una biopelícula heterotrófica resultantes por la depredación por protozoos.

La modelación matemática de reactores biológicos ha sido objeto de numerosos estudios en los últimos años. Sin embargo, aún existen lagunas en el conocimiento sobre la interacción entre los grupos bacterianos que participan en los procesos de remoción de contaminantes y los depredadores presentes en la biopelícula. Los estudios realizados por Aybar *et al.* (2019) y Kim *et al.* (2020) proporcionan valiosa información sobre la morfología y la adherencia en la biopelícula en presencia de depredadores, sin embargo, no investigan los efectos de los depredadores en el rendimiento del reactor o en grupos específicos bacterianos. La comprensión de estos efectos es crucial para la

aplicación a gran escala de los reactores MABR y la maximización de su eficiencia en la remoción de contaminantes.

La interacción de los depredadores en las biopelículas puede ser compleja y variar según los grupos bacterianos involucrados. La investigación de Kim et al. (2022) encontró que las NOB son más susceptibles a la depredación que las AOB debido a su ubicación dispersa en la biopelícula. Sin embargo, su estudio no incluyó la población de bacterias heterotróficas oxidantes de COD, que también pueden ser afectadas por los depredadores. Es importante comprender cómo los depredadores pueden afectar los procesos de remoción de contaminantes en las biopelículas y cómo esto puede variar según los grupos bacterianos involucrados.

Es por lo anteriormente mencionado que en esta investigación se desarrollará un modelo matemático que incorpore bacterias heterotróficas que oxiden la COD tanto en condiciones aeróbicas (bajo la presencia de oxígeno), como en condiciones anóxicas (bajo la presencia de nitrato), bacterias autotróficas nitrificantes y bajo condiciones de con y sin protozoos, los cuales depredarán a ambas bacterias sin distinción. Se diseñarán distintos escenarios en los cuales se trabajará con la limitación y abundancia de tres sustratos, la COD, el amonio, y el oxígeno, esto con el objetivo de poder conocer si ciertas condiciones operacionales podrían incrementar el efecto de los depredadores, y así, entender mejor la dinámica entre estos tres microorganismos.

## **2.6. Conclusión**

En la actualidad se ha podido establecer que los depredadores en el MABR desarrollan huecos sobre la superficie de la membrana, generando biopelículas más débiles que se desprenden con mayor facilidad. Además, se ha evidenciado que, en biopelículas nitrificantes, los depredadores disminuyen las tasas de nitrificación probablemente debido a la pérdida de biomasa y que, atacan más a las bacterias NOB que AOB al ubicarse dentro de la biopelícula de una manera más dispersa. Sin embargo, hasta el momento no hay estudios que hayan indagado sobre el efecto de los depredadores sobre el rendimiento del reactor o los efectos que podrían tener los depredadores sobre biopelículas conformadas por bacterias heterotróficas y autotróficas. Debido a ello, se propone modelar estos efectos en el programa Aquasim con las condiciones faltantes, con el fin de mejorar la comprensión

del comportamiento del MABR en presencia de depredadores y optimizar su aplicación en la remoción de contaminantes.

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Introducción

A continuación, se explica la metodología necesaria para la realización del modelo matemático, que considera, la matriz estequiométrica, la programación en el *Software* AQUASIM 2.1, la definición de escenarios de modelación junto con sus limitaciones y supuestos. El detalle de los procesos y modelación se incluye en los apartados 3.3 y 3.4.

#### 3.2. Modelo matemático y escenarios

De manera general el MABR funciona a través de biopelículas contra-difusivas que se adhieren en la superficie de la membrana semipermeable a gases, en la Figura 3.1 se presenta un esquema de los procesos que se ven involucrados en la biopelícula multiespecie, en donde podemos observar que el oxígeno difunde desde la membrana hacia la biopelícula, y en sentido opuesto, los sustratos (COD y  $\text{NH}_4$ ) presentes en el agua, los cuales difunden hacia el interior de la biopelícula. Dentro de la biopelícula encontramos 3 tipos de microorganismos, dos de ellos son exclusivamente aeróbicos, que corresponden a los depredadores (que se alimentan de bacterias) y a las bacterias autotróficas. Por otra parte, el último grupo de microorganismos son las bacterias heterotróficas, las cuales se consideraron como aeróbicas y anaeróbicas.

Como modelo conceptual general, se entiende que en el MABR las interacciones entre los tipos de microorganismos se dan de forma estratificada en la biopelícula. De acuerdo con Timberlake *et al.* (1988), las bacterias autotróficas y heterotróficas se distribuyen en diferentes capas de la biopelícula, y esta estratificación es importante para su funcionamiento. Los depredadores, por su parte, se encuentran en zonas aeróbicas debido a que son organismos aeróbicos, como lo explica Moussa *et al.* (2005) en su trabajo sobre la modelación de estos organismos en la matriz estequiométrica. De esta forma, las bacterias autotróficas realizan la oxidación biológica del amonio con oxígeno, generando nitrato como producto. Por su parte, las bacterias heterotróficas oxidan biológicamente la materia orgánica con oxígeno (proceso aeróbico) o con nitrato (proceso anóxico). Los protozoos depredan a las bacterias presentes en las zonas aeróbicas, generando vacíos que solo pueden ser rellenados por el

crecimiento de nuevas bacterias. Es importante mencionar que todos los organismos considerados utilizan el amonio para su síntesis celular.

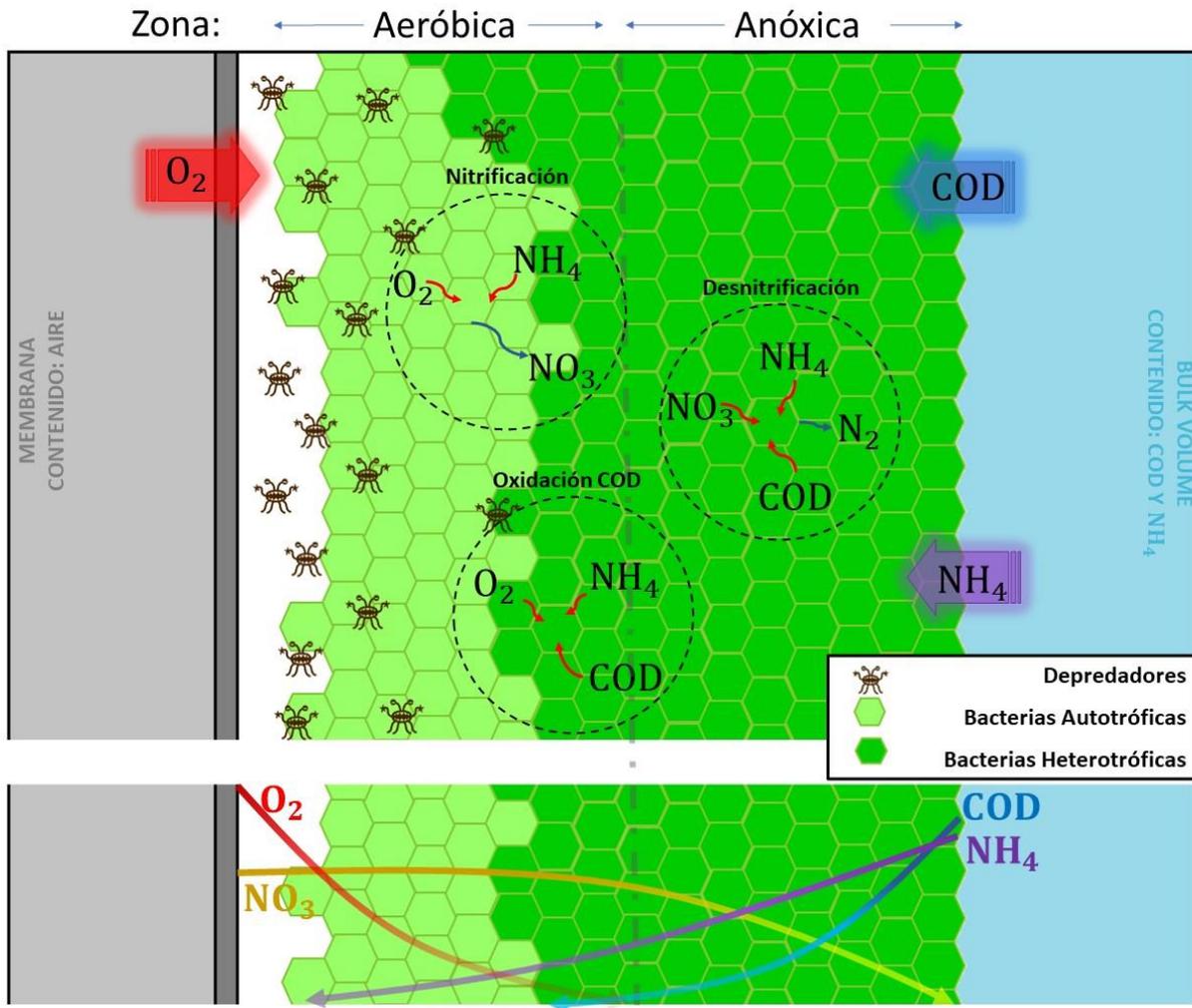


Figura 3.1 Esquema de los procesos de biopelícula multiespecie en un MABR

El reactor modelado en esta investigación es un MABR. Se confeccionaron dos clases de modelos matemáticos con el objetivo de evaluar el comportamiento del reactor bajo la presencia de depredadores, cuya diferencia recae en el tipo de biopelícula. La primera corresponde a una biopelícula multiespecie compuesta por bacterias heterotróficas oxidantes de COD junto con bacterias autotróficas nitrificantes, y la segunda biopelícula, a una biopelícula monoespecie compuesta exclusivamente de bacterias autotróficas nitrificantes.

En este trabajo, se realizó una comprobación empírica del modelo propuesto utilizando datos experimentales de tres investigaciones previas. En particular, se utilizaron los datos de Yi Li *et al.*

(2017) y Shaowei *et al.* (2007), quienes llevaron a cabo experimentos con un reactor MABR equipado con membranas micro-porosas y analizaron los rendimientos de remoción de COD y amonio durante meses. Además, se utilizó el estudio de Kim *et al.* (2022), quien analizó el efecto de los depredadores en MABR nitrificantes con membranas densas. En cada caso, se recrearon las condiciones experimentales de la investigación y se introdujeron en el modelo propuesto para simular el rendimiento del reactor. Luego, se compararon las remociones promedio de COD y amonio en estado estacionario obtenidas del modelo con las alcanzadas en los experimentos. De esta manera, se pudo comprobar el nivel predictivo del modelo y su capacidad para representar adecuadamente los procesos biológicos involucrados en el MABR.

### 3.2.1. Escenarios utilizados para el análisis del comportamiento del modelo

Como se dijo anteriormente, se utilizarán los datos experimentales de las investigaciones de Yi Li *et al.* (2017), Shaowei *et al.* (2007), y Kim *et al.* (2022) para el análisis del comportamiento del modelo bajo distintos escenarios de laboratorio y así realizar un proceso de validación del modelo. A continuación, se detallan las condiciones operacionales de las investigaciones mencionadas.

#### 1.1.1.1 Datos de modelación para la investigación de Shaowei *et al.* (2007)

En la investigación de Shaowei *et al.* (2007), se analizaron la remoción simultánea de COD y  $\text{NH}_4$  de un reactor de biopelícula aireado por membrana de carbono (CMABR por sus siglas en inglés *Carbon membrane-aerated biofilm reactor*)., En este estudio se lograron altas remociones de COD y  $\text{NH}_4$  (entre 84% a 94%) para tiempos de retención hidráulicos entre 12 h y 20 h, sin embargo, cuando se disminuían los tiempos de retención hidráulicos a 8 h la eficiencia de remoción de amonio declinaba rápidamente ( a 62%) . El reactor que utilizaron consistía en un CMABR de un volumen de 2.4 litros, con un área de biopelícula de  $0.0895\text{m}^2$ , un espesor (L) de biopelícula variable. El coeficiente de transferencia de oxígeno de la membrana (K) dependía de la presión interna de la membrana. Adicionalmente, en la investigación se menciona que en el medio contenido en el reactor existía Oxígeno disuelto en el agua, proveniente desde la membrana. Los demás detalles de la configuración del sistema se presentan en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Configuración del CMABR en investigación de Shaowei *et al.* (2007)

Partida	Q (m <sup>3</sup> /d)	Presión (atm)	gCOD/m <sup>3</sup> entrada	gCOD/m <sup>3</sup> salida	gNH <sub>4</sub> /m <sup>3</sup> entrada	gNH <sub>4</sub> /m <sup>3</sup> salida	K (m/d)	L (μm)	J (gCO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> /d)	J (gNH <sub>4</sub> /m <sup>2</sup> /d)
1	0.0028	0.226	253	35.4	49	0.49	3.6	280	7.00	1.56
2	0.0048	0.249	348	43.5	77	4.62	3.8	1104	16.33	3.88
3	0.0072	0.272	410	357.1	102	s/n	6.0	2140	4.25	-

### 1.1.1.2 Datos de modelación para la investigación de Yi Li *et al.* (2017)

En Yi Li *et al.* (2017), investigaron el impacto en la remoción de Nitrógeno que tenían los parámetros de aireación de un MABR a escala piloto, considerando la velocidad de aire de intra-membrana y la presión de gas; el tiempo de retención hidráulico; y la razón COD/N. Los resultados indicaron que la presión de intermembrana es factor crucial para controlar la concentración de DO en el medio del reactor y el rendimiento de la desnitrificación. El volumen del MABR utilizado fue de 470 litros, con un área de biopelícula de 20 m<sup>2</sup>. Los tiempos de retención hidráulicos fueron entre 12 h y 2 días. Cabe destacar que el medio del reactor se considera aeróbico, ya que, las concentraciones de Oxígeno disuelto en el reactor fluctuaron entre 1.5 y 6 mgO<sub>2</sub>/l. Los detalles de operación del reactor se presentan en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Configuración del MARB investigación Yi Li *et al.* (2017)

Partida	Q (m <sup>3</sup> /d)	Presión (atm)	gCOD/m <sup>3</sup> entrada	gCOD/m <sup>3</sup> salida	gNH <sub>4</sub> /m <sup>3</sup> entrada	gNH <sub>4</sub> /m <sup>3</sup> salida	K (m/d)	L (μm)	J (g/m <sup>2</sup> /d)	J (gNH <sub>4</sub> /m <sup>2</sup> /d)
1	0.24	0.098	76.7	13.1	25.0	0.0	3.6	~300	0.76	0.30
2	0.31	0.098	78.7	15.9	24.7	2.5			0.97	0.34
3	0.47	0.098	76.5	12.4	25.3	2.5			1.50	0.53
4	0.94	0.098	77.1	19.2	24.3	3.2			2.72	1.00

### 1.1.1.3 Datos de modelación para la investigación de Kim *et al.* (2022)

En esta investigación se exploraron los efectos de la depredación en MABR nitrificantes, encontrando que los depredadores pueden impactar de una manera significativamente negativa en la estabilidad estructural de la biopelícula, en la población de las bacterias y en las tasas de remoción de amonio. Las biopelículas se desarrollaron en un reactor con tres compartimientos de 8 mm × 25 mm × 3 mm, los cuales contenían 2 membranas planas en donde el aire fue difundido pasivamente. El volumen de trabajo es igual a la suma de los tres compartimientos, lo cual da un valor de 1.8 mL, por otra parte, el área de biopelícula se determinó como la suma de las dos caras de membranas por los tres compartimientos, el cual da un valor de 0.00045 m<sup>2</sup>. Adicionalmente, se menciona en esta investigación, que, al agua entrante, se le purgaba el Oxígeno disuelto por medio de Nitrógeno gaseoso. En la Tabla 3.3 se entregan los detalles de la operación del reactor.

**Tabla 3.3 Configuración del MARB investigación Kim *et al.* (2022)**

<b>Partida</b>	<b>Q (m<sup>3</sup>/d)</b>	<b>Presión (atm)</b>	<b>gNH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> entrada</b>	<b>gNH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> salida</b>	<b>K (m/d)</b>	<b>L (µm)</b>	<b>J (g/m<sup>2</sup>/d)</b>
Sin depredación	6.24	0.21	100	76.2	0.1	250	0.33
Con depredación	6.24	0.21	100	85.5	0.1	150	0.20

### 1.1.1.4 Resumen

La validación del modelo propuesto se llevará a cabo comparando los resultados de las investigaciones detalladas anteriormente, bajo las distintas condiciones operacionales establecidas en esta sección. Es importante mencionar que se consideró que los resultados de las investigaciones están bajo estado estacionario, junto con condiciones ideales de temperatura, pH, y que no existen otros sustratos limitantes para el crecimiento de los microorganismos. Se hace hincapié en que estos mismos supuestos se utilizaron tanto en el modelo en estudio como en los modelos utilizados para la validación.

### 3.2.2. Escenarios utilizados para la evaluación del comportamiento del modelo

Para evaluar el comportamiento del sistema bajo diferentes condiciones operacionales, se diseñaron 4 modelos de MABR los cuales corresponden a dos con biopelícula Multiespecie y a dos con biopelícula Monoespecie, ambos bajo la presencia y ausencia de depredadores. El objetivo de los modelos es poder contrastar los resultados de remoción de contaminantes bajo la presencia de depredadores. La razón detrás para realizar los modelos con distinto tipo de biopelícula es para poder analizar mejor los impactos sobre bacterias autotróficas, ya que estas, no son predominantes en las biopelículas Multiespecie. Todos los modelos analizados en esta investigación se detallan en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Modelos analizados

Nombre	Características				Objetivo
	Tipo de biopelícula		Presencia de Depredadores		
	Multiespecie	Monoespecie	Si	No	
Reactor Multiespecie 1	X		X		El objetivo de estos modelos es determinar los efectos de la presencia de los depredadores en biopelículas Multiespecie.
Reactor Multiespecie 2	X			X	
Reactor Monoespecie 1		X	X		El objetivo de estos modelos es determinar los efectos de la presencia de los depredadores específicamente en poblaciones de bacterias Nitrificantes.
Reactor Monoespecie 2		X		X	
Reactor Shaowei	X		X		El objetivo de estos modelos es determinar si la configuración de variables elegida representa el sistema de manera adecuada.
Reactor Yi Li	X		X		

El modelo matemático del MABR se basó en el diseño de un reactor a escala de laboratorio, el cual se esquematiza en la Figura 3.2. Este reactor de laboratorio consta de un reactor completamente mezclado (RCM) que se logra con una bomba de recirculación. El RCM contiene el agua a tratar junto con las membranas que transportan el gas y soportan las biopelículas. El reactor posee dos entradas, una de ellas es de gas (aire u oxígeno) el cual se distribuye al interior de las membranas, y por otra parte está la entrada de agua, por donde ingresan los contaminantes disueltos (COD y  $\text{NH}_4^+$ ). En cuanto a las salidas del reactor, este podría o no presentar una salida de gas, la cual está representada a través de la válvula de paso, por otra parte, en cuanto a la salida de agua, esta es obligatoria, ya que, aquí, se entrega el agua tratada.

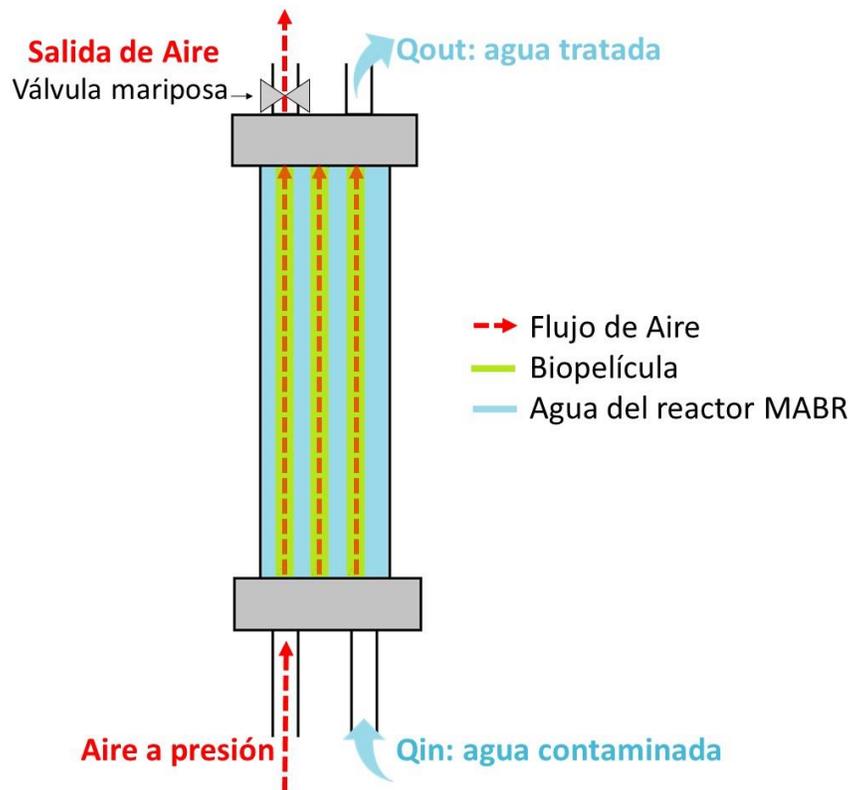


Figura 3.2 esquema reactor MABR de laboratorio

En cuanto al desarrollo del modelo matemático unidimensional del reactor MABR, este se programó en el Software AQUASIM 2.1 (Reichert., 1994). La configuración del reactor MABR se puede observar en la Figura 3.3, la cual consiste en dos compartimientos unidos a través de un enlace difusivo. El primer compartimiento es el reactor completamente mezclado (RCM) que representa el

lumen de la membrana donde se encuentra el gas (Aire u Oxígeno para el caso de estudio), y el segundo, un compartimiento de reactor de biopelícula (BR) que consiste en una fase acuosa completamente mezclada con biopelícula adherida a la superficie.

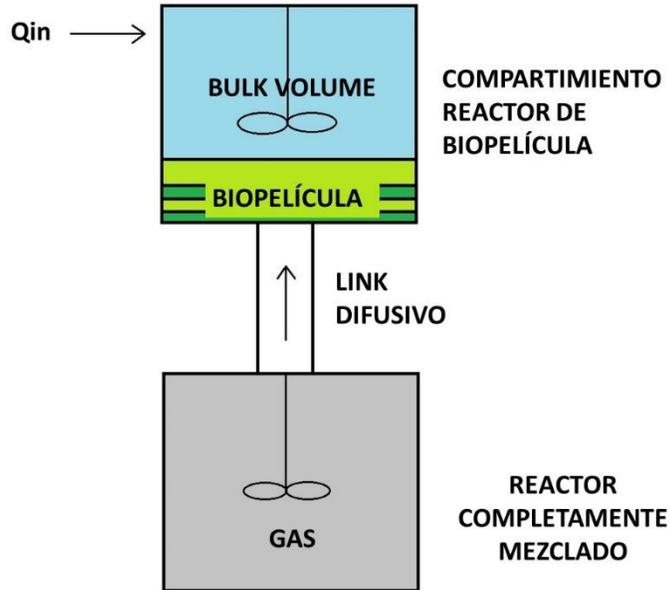


Figura 3.3 Esquema configuración Aquasim

### 3.3. Modelación de membranas por medio de Reactor completamente mezclado

Las membranas del MABR, las cuales contienen el gas, fueron modeladas como un reactor completamente mezclado, este reactor se definió con un volumen constante de  $1000 \text{ m}^3$  para así asegurar el abastecimiento constante de oxígeno durante todo el período simulado. La única variable considerada en este compartimiento es la concentración de oxígeno ( $S_{O_2}$ ), cuya condición inicial queda definida por la ley de los gases ideales de la forma:

$$S_{O_2 \text{ inicial}} = \frac{P_{O_2} * P_M}{R * T^*} \quad 1)$$

Dónde:

- $S_{O_2 \text{ inicial}}$ : Concentración inicial de oxígeno ( $g_{O_2}/m^3$ )
- $P_{O_2}$ : Presión parcial de oxígeno (atm)

- $R$ : Constante universal de los gases ideales ( $0.000082 \frac{m^3 atm}{mol K}$ )
- $T$ : Temperatura (K)
- $PM$ : Peso molecular del oxígeno ( $32 \frac{g}{mol}$ )

Las presiones consideradas en los escenarios de modelación fueron de 5 psig y 15 psig de aire junto con 15 psig de oxígeno, esto con el objetivo de crear escenarios de limitación y abundancia de oxígeno.

### 3.4. Modelación de Biopelículas por medio de Biorreactor

En cuanto al reactor de biopelícula, este se modeló de tipo confinado. El volumen de poros corresponde exclusivamente a la fase líquida, mientras que la matriz de biopelícula es de tipo rígida. Debido a que en este reactor interactúan casi la totalidad de variables y procesos del MABR. Las variables, los procesos, y las condiciones iniciales se definirán detalladamente más adelante en esta sección.

En cuanto al desprendimiento de la superficie de la biopelícula, esta se modeló con una ecuación global de velocidad, la cual se diseñó para que la velocidad de desprendimiento sea igual a la velocidad de crecimiento, manteniendo así el espesor constante. La ecuación se detalla a continuación:

$$\text{if } u_F > 0 \text{ then } u_F * 1 \text{ else } 0 \text{ endif} \quad 2)$$

Dónde:

- $u_F$ : Velocidad de crecimiento ( $m/d$ )

Con respecto a la difusión de los sustratos dentro de la biopelícula se definió tal como se detalla en la investigación de Aybar *et al.* (2019), en donde se establece que los coeficientes de la difusión de los sustratos varían dentro de la biopelícula en función de la fracción de vacíos, en donde, dentro de estos vacíos, se asume que sólo hay agua. Las expresiones utilizadas para cada escenario se detallan a continuación:

- Difusión de sustratos en la biopelícula sin depredación  $\theta = \theta_f$

$$D_f = (1 - f)D_w \tag{3}$$

- Difusión en los vacíos

$$D_F = D_w$$

- Difusión de sustratos en la biopelícula sin depredación

$$D_f = (1 - f)D_w + (\theta - \theta_f) \left( \frac{D_w(1-f)}{1-\theta_f} \right) \tag{4}$$

Dónde:

- $D_f$ : Difusividad efectiva del sustrato dentro de la biopelícula.
- $D_w$ : Difusividad del sustrato en el agua.
- $f$ : la difusión relativa de biopelícula/agua.
- $\theta_f$ : Fracion inicial de biopelícula y vacíos.
- $\theta$ : Fración de vacíos (vacíos/particulados totales)

Las características físicas del biorreactor se basaron en las características físicas del reactor de Shaowei *et al.*, (2007), ya que, se busca analizar un reactor a escala de laboratorio. Las variables físicas y operacionales se presentan a continuación en la Tabla 3.5.

**Tabla 3.5 Características operacionales definidas para la modelación de este estudio**

Modelo	Parámetros Considerados		Caudal ( $m^3/d$ )	Tiempo de residencia hidráulico (h)
	BR			
	Área ( $m^2$ )	Volumen ( $m^3$ )		
Este Estudio	0.0895	0.0024	0.0048	12

De aquí en adelante se definirán las variables, parámetros y procesos considerados en las modelaciones de manera general. Se debe tener en consideración que, para los modelos sin acción de

depredadores, se deben excluir todas las variables, parámetros y procesos relacionados con la depredación, y de igual manera, para los modelos de biopelícula Monoespecie, se excluyen todos los procesos y variables relacionados con las bacterias heterotróficas. Las ecuaciones químicas de los procesos se basaron según lo propuesto en Rittmann et al., (2001).

Las variables particuladas consideradas corresponden a los microorganismos, que son las bacterias autotróficas ( $X_A$ ), las bacterias heterotróficas ( $X_H$ ), los depredadores ( $X_P$ ) que fueron modelados según Moussa et al., (2005), las partículas inertes producto del decaimiento ( $X_i$ ) modeladas según Henze *et al.* (2000) y, por último, los vacíos ( $X_V$ ) que fueron modelados según Aybar et al., (2019).

Por otra parte, las variables solubles corresponden a los sustratos como: el oxígeno ( $S_{O_2}$ ), amonio ( $S_{NH_4}$ ), nitrato ( $S_{NO}$ ), y COD ( $S_{COD}$ ). La difusión de las variables solubles dentro de la biopelícula se modeló según Aybar et al., (2019). En la Tabla 3.6 se presenta un resumen de las variables junto con su descripción y unidad de medida.

**Tabla 3.6 Descripción de las variables particuladas y solubles activas en el reactor de biopelícula**

	<b>SÍMBOLO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>UNIDAD</b>
Variables Particuladas	$X_H$	Concentración de bacterias heterotróficas	$g_{COD}/m^3$
	$X_A$	Concentración de bacterias autotróficas nitrificantes	$g_{COD}/m^3$
	$X_i$	Concentración de productos particulados proveniente del decaimiento de bacterias	$g_{COD}/m^3$
	$X_{Pred}$	Concentración de depredadores de la biopelícula	$g_{COD}/m^3$
	$X_V$	Concentración de vacíos	$g_{COD}/m^3$
Variables Solubles	$S_{O_2}$	Concentración de oxígeno gaseoso	$g_o/m^3$
	$S_{NH_4}$	Concentración de amonio	$g_N/m^3$
	$S_{NO_3}$	Concentración de nitrato	$g_N/m^3$
	$S_{COD}$	Concentración de materia orgánica	$g_{COD}/m^3$

El modelo considera 4 procesos generales: el primer proceso corresponde a la Nitrificación llevado a cabo por  $X_A$  en donde el amonio se transforma directamente a Nitrato; el segundo es el proceso de oxidación de COD llevado a cabo por  $X_H$  que consume Oxígeno como aceptor de electrones; el tercero es el proceso de desnitrificación, este proceso es similar a la oxidación de COD, también es llevado a cabo por  $X_H$ , pero consumen Nitrato como aceptor de electrones en vez de Oxígeno, y por último, el cuarto proceso de depredación llevado a cabo por los protozoos  $X_{Pred}$ , en donde se consume sin distinción bacterias autotróficas y heterotróficas en zonas aeróbicas. Los procesos, tasas y parámetros considerados se basaron en las investigaciones de Henze et al., (2000), Moussa et al., (2005), Semmens et al., (2004), y Aybar et al. (2019). Las matrices estequiométricas, variables y tasas de crecimiento se detallan desde la Tabla 3.7 hasta la Tabla 3.12. Una explicación más acabada sobre la cinética microbiana y coeficientes estequiométricos se detalla en los ANEXOS de este documento.

**Tabla 3.7 Definición de parámetros Estequiométricos**

SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN	VALOR	UNIDAD	REFERENCIA
$Y_H$	Rendimiento heterotrófico	0.5	$\frac{\text{g cell COD formed}}{\text{g COD oxidized}}$	Calibrado desde los valores entregados por Shanahan and Semmens. (2004)
$Y_A$	Rendimiento autotrófico	0.3-0.1*	$\frac{\text{g cell COD formed}}{\text{g N oxidized}}$	Valor máximo y mínimo entregado por Shanahan and Semmens. (2004).
$Y_{Pred}$	Rendimiento de predadores	0.5	$\text{g COD} / \text{g COD}$	Moussa <i>et al.</i> (2005)
$i_{xb}$	Contenido de Nitrógeno en biomasa	0.045	$\text{g N} / \text{g COD}$	Calibrado desde los valores entregados por Revilla et al. (2016)
$F_i$	Fracción de biomasa que conduce a productos particulados	0.1	Adimensional	Matsumoto <i>et al.</i> (2007)

\* El valor mínimo fue utilizado exclusivamente para analizar el caso de Kim et al. (2022)

Tabla 3.8 Definición de parámetros Cinéticos

SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN	VALOR	UNIDAD	REFERENCIA
$\mu_H$	Cte. de máximo crecimiento específico para heterótrofos	2.5	1/d	Calibrado desde los valores entregados por Shanahan and Semmens. (2004)
$\mu_A$	Cte. de máximo crecimiento específico para autótrofos	0.3-3	1/d	Valor máximo y mínimo entregado por Shanahan and Semmens. (2004).
$\mu_{Pred}$	Cte. de máximo crecimiento específico para depredadores	0.24	1/d	Moussa <i>et al.</i> (2005)
$b_H$	Decaimiento endógeno heterotrófico	0.4	1/d	Henze <i>et al.</i> (2000) ASM2
$b_A$	Decaimiento endógeno autótrofo	0.15	1/d	Henze <i>et al.</i> (2000) ASM2
$b_{pred}$	Decaimiento endógeno de protozoos	0.15	1/d	Moussa <i>et al.</i> (2005)
$K_{O_2}^H$	Cte. de afinidad del oxígeno en heterótrofos	0.2	$gO_2/m^3$	Henze <i>et al.</i> (2000) ASM1
$K_{O_2}^A$	Cte. de afinidad del oxígeno en autótrofos	0.4	$gO_2/m^3$	Valor mínimo entregado por Shanahan and Semmens. (2004)
$K_{O_2}^{Pred}$	Cte. de afinidad del oxígeno en depredadores	0.2	$gO_2/m^3$	Moussa <i>et al.</i> (2005)
$K_{NO}^H$	Cte. de afinidad del nitrato en heterótrofos	0.5	$g NO - N$	Henze <i>et al.</i> (2000) ASM2
$K_{NH_4}^A$	Cte. media de saturación de Amonio para autótrofos	5	$g NH - N$	Valor máximo entregado por Shanahan and Semmens. (2004)
$K_{NH_4}^H$	Cte. media de saturación de Amonio para heterótrofos	0.05	$g NH - N$	Henze <i>et al.</i> (2000) ASM2
$K_{COD}$	Cte. media de saturación de Materia Orgánica	20	$gCOD/m^3$	Calibrado desde los valores entregados por Shanahan and Semmens. (2004)

\* El valor mínimo fue utilizado exclusivamente para analizar el caso de Kim et al. (2022)

A continuación, se entregan las tasas de los procesos considerados junto con los coeficientes estequiométricos de las variables relacionadas. Para obtenerlos se basó en las investigaciones de Henze et al. (2000), Moussa et al. (2005) y Aybar et al. (2019).

**Tabla 3.9 Matriz estequiométrica de procesos llevados a cabo por Bacterias Autotróficas**

Procesos	Variables no solubles			Variables solubles			
	XA	Xv	Xi	S <sub>O<sub>2</sub></sub>	S <sub>COD</sub>	S <sub>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></sub>	S <sub>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub>
	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>O<sub>2</sub></sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>N</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>N</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>
<b>Crecimiento</b>	1	(-pd)	-	$-\frac{4.57 - Y_A}{Y_A}$	-	$-i_{xb} \frac{1}{Y_A}$	$\frac{1}{Y_A}$
<b>Decaimiento</b>	-1	-	<i>F<sub>i</sub></i>	-	-	-	-

Los procesos detallados están basados según la investigación de Henze et al. (2000) y Aybar et al. (2019)

**Tabla 3.10 Matriz estequiométrica de procesos llevados a cabo por Bacterias Heterotróficas**

Procesos	Variables no solubles			Variables solubles			
	XH	Xv	Xi	S <sub>O<sub>2</sub></sub>	S <sub>COD</sub>	S <sub>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></sub>	S <sub>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub>
	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>O<sub>2</sub></sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>COD</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>N</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g</i> <sup>N</sup> / <sub>m<sup>3</sup></sub>
<b>Crecimiento Anóxico</b>	1	(-pd)	-	-	$-\frac{1}{Y_H}$	$-i_{xb}$	$-\frac{1 - Y_H}{2.86Y_H}$
<b>Crecimiento Aeróbico</b>	1	(-pd)	-	$-\frac{1 - Y_H}{Y_H}$	$-\frac{1}{Y_H}$	$-i_{xb}$	-
<b>Decaimiento</b>	-1	-	<i>F<sub>i</sub></i>	-	-	-	-

Los procesos detallados están basados según la investigación de Henze et al. (2000) y Aybar et al. (2019)

**Tabla 3.11 Matriz estequiométrica de procesos llevados a cabo por Depredadores**

Procesos	Variables no solubles					Variables solubles	
	XH	XA	Xv	X <sub>Pred</sub>	Xi	S <sub>O<sub>2</sub></sub>	S <sub>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></sub>
	<i>gCOD</i> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g<sup>N</sup></i> / <sub>m<sup>3</sup></sub>	<i>g<sup>N</sup></i> / <sub>m<sup>3</sup></sub>				
Crecimiento por Heterótrofos	-1	-	1	$Y_{Pred}(1 - F_p)$	-	$-1 + Y_{Pred}(1 - F_i) + F_i$	$i_{xb} - i_{xp}F_p - i_{xb}(Y_{Pred}(1 - F_p))$
Crecimiento por Autótrofos	-	-1	1	$Y_{Pred}(1 - F_p)$	-	$-1 + Y_{Pred}(1 - F_i) + F_i$	$i_{xb} - i_{xp}F_p - i_{xb}(Y_{Pred}(1 - F_p))$
Decaimiento	-	-	-	-1	$F_i$	-	-

Los procesos detallados están basados según la investigación de Moussa et al. (2005) y Aybar et al. (2019)

**Tabla 3.12 Tasas de velocidad de los procesos involucrados**

PROCESOS	ECUACIÓN DE LA VELOCIDAD DE PROCESO	REFERENCIA
<b><i>Bacterias Autotróficas</i></b>		
Crecimiento aeróbico	$\mu_A \frac{S_{NH_4^+}}{K_{NH_4-N} + S_{NH_4^+}} * \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^A + S_{O_2}} X_A$	Henze et al. (2000)
Decaimiento de autótrofos	$b_A X_A$	Henze et al. (2000)
<b><i>Bacterias Heterotróficas</i></b>		
Crecimiento Anóxico	$\mu_H \frac{S_{COD}}{K_{COD} + S_{COD}} * \left(\frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}}\right)^{100} \frac{S_{NO}}{K_{NO}^H + S_{NO}} \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4}^H + S_{NH_4}} X_H$	Shanahan and Semmens. (2004)
Crecimiento Aeróbico	$\mu_H \frac{S_{COD}}{K_{COD} + S_{COD}} * \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} * \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4}^H + S_{NH_4}} * X_H$	Henze et al. (2000)
Decaimiento	$b_H X_H$	Henze et al. (2000)

PROCESOS	ECUACIÓN DE LA VELOCIDAD DE PROCESO	REFERENCIA
<i>Depredadores</i>		
Crecimiento por heterótrofos	$\mu_{Pred} \frac{X_H}{X_A + X_H} \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^{Pred} + S_{O_2}} X_H$	Moussa et al. (2005)
Crecimiento por autótrofos	$\mu_{Pred} \frac{X_A}{X_A + X_H} \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^{Pred} + S_{O_2}} X_A$	Moussa et al. (2005)
Decaimiento de predadores	$b_{pred} X_{Pred}$	Moussa et al. (2005)

Para analizar el efecto de los depredadores tanto en las poblaciones de bacterias como en el rendimiento de remoción de contaminantes, se variaron las presiones de gas (Aire y Oxígeno), las concentraciones de amonio y COD. Estos escenarios son seleccionados para poder analizar el efecto de los depredadores bajo condiciones de limitaciones de uno o más sustratos, y, bajo condiciones de abundancia de sustratos, ya que, las bacterias heterotróficas, autotróficas y depredadores necesitan de los sustratos para su reproducción, por lo que, bajo ciertas condiciones de suministros, el efecto de la depredación podría ser diferente. La enumeración de los casos de la biopelícula Multiespecie se presenta en la Tabla 3.13, mientras que la enumeración de los casos de la biopelícula Monoespecie se presentan en la Tabla 3.14.

**Tabla 3.13 Concentraciones de sustratos y enumeración de condiciones operacionales biopelícula multiespecie**

gCOD/m <sup>3</sup>		50			250			500		
gNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /m <sup>3</sup>		5	20	50	5	20	50	5	20	50
Presiones	Bajo Oxígeno 5 psig aire	Caso 1	Caso 4	Caso 7	Caso 10	Caso 13	Caso 16	Caso 19	Caso 22	Caso 25
	Medio Oxígeno 15 psig aire	Caso 2	Caso 5	Caso 8	Caso 11	Caso 14	Caso 17	Caso 20	Caso 23	Caso 26
	Alto Oxígeno 15 psig O2	Caso 3	Caso 6	Caso 9	Caso 12	Caso 15	Caso 18	Caso 21	Caso 24	Caso 27

**Tabla 3.14 Concentraciones de sustratos y enumeración de condiciones operacionales biopelícula monoespecie**

PRESIONES	gNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /m <sup>3</sup>			
	5	20	50	100
Bajo Oxígeno 5 psig aire	CASO 1	CASO 4	CASO 7	CASO 10
Medio Oxígeno 15 psig aire	CASO 2	CASO 5	CASO 8	CASO 11
Alto Oxígeno 15 psig O <sub>2</sub>	CASO 3	CASO 6	CASO 9	CASO 12

### 3.5. Limitaciones del modelo matemático

En cuanto a las limitaciones del estudio se debe mencionar que este modelo no fue calibrado con datos experimentales de laboratorio específicos para el caso de estudio, además las variables cinéticas y procesos ingresados son supuestos en base al crecimiento suspendido de bacterias y no de biopelículas contra-difusivas.

Las limitaciones del modelo se relacionan en primer lugar en que el modelo es unidimensional, sin embargo, se considera adecuado ya que un modelo de 2 dimensiones, si bien podría describir mejor la variabilidad física y biología del modelo (impactos de la depredación en la morfología, esparcimiento de vacíos, desprendimiento), resulta en un costo computacional mucho mayor. En todo caso, los modelos unidimensionales han sido utilizados con éxito para la simulación de procesos de biopelículas (por ejemplo, Moussa *et al.* 2005 y Henze *et al.* 2000) en los cuales es posible aproximar la superficie de soporte a una geometría plana (membranas planas y fibras huecas)

En cuanto a los microorganismos, el proceso de nitrificación se modeló en un solo paso de amonio a nitrato omitiendo la consideración explícita del paso intermedio de amonio a nitrito. Esto podría traer consecuencias en la formación de nitrato ya que bajo ciertas condiciones podría ocurrir una acumulación de nitrito en el reactor, por ejemplo, en la investigación de Kim *et al.* (2021) en la condición sin depredadores, la transformación de amonio a nitrito fue de un 28% y de nitrito a nitrato

de un 47%. Además, los efectos de limitación de otros nutrientes inorgánicos como por ejemplo el fósforo no han sido considerados.

En cuanto a los depredadores, se consideró que consumían ambas bacterias (autotróficas y heterotróficas) sin distinción alguna, lo cual podría no ser tan correcto, debido a que son bacterias de distinto tamaño y desarrollo lo cual podría tener consecuencias en las preferencias de depredación por parte de los protozoos. Se considera que este factor podría eventualmente causar una diferencia significativa en la depredación específica sobre cada grupo de bacterias. No obstante, no existe información detallada sobre el comportamiento en la alimentación de protozoos para distintas especies, por lo que su desarrollo pendiente para futuros trabajos.

El modelo también asume una temperatura de 20°C y pH ~7, lo cual tiene influencia en los valores de los coeficientes de los procesos ya que varían frente a cambios en estos parámetros. Por último, el modelo sólo considera un desprendimiento de biopelícula erosivo, lo que implica que sólo las bacterias de la superficie están afectadas al desprendimiento, lo que puede ser inválido a grandes escalas de tiempo ya que el desarrollo de vacíos en la superficie de la membrana podría ocasionar el desprendimiento masivo o *sloughing* de biopelículas como se observan en los resultados de Kim *et al.* (2020). Por lo que cuantificar el desprendimiento por *sloughing* deberá ser investigado en trabajos futuros.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Introducción

A continuación, se discuten los resultados de la tesis en dos partes fundamentales. En la primera parte, se realiza una validación del modelo comparando los resultados de remoción del modelo versus las remociones de las investigaciones de Shaowei et al. (2007), Yi Li et al. (2017), y Kim et al. (2022). En la segunda parte, se evalúa el modelo bajo diferentes escenarios de disponibilidad de sustratos para analizar así en qué escenarios sería más perjudicial la depredación por parte de los protozoos tanto en biopelículas monoespecie como multiespecie

### 4.2. Comparación con datos experimentales de la investigación de Shaowei *et al.* (2007)

En la Figura 4.1 y la Figura 4.2 se observa la comparación de los resultados de remoción de COD y amonio respectivamente de la investigación de Shaowei *et al.* (2007) versus los resultados del modelo de biopelícula multiespecie desarrollado en esta investigación; en donde se extrae que los resultados del modelo se aproximan bastante a las mediciones de laboratorio, incluso, siguen las tendencias frente a las variaciones en la operación del reactor. Cabe mencionar que para analizar los resultados de remoción de amonio de la investigación de Shaowei *et al.* (2007) se consideraron sólo los resultados de la partida 1 y 2, ya que, la partida 3 nunca alcanzó un valor estacionario con el cual se pudiese trabajar (las partidas corresponden a 20 h, 12 h y 8h de HTR respectivamente).

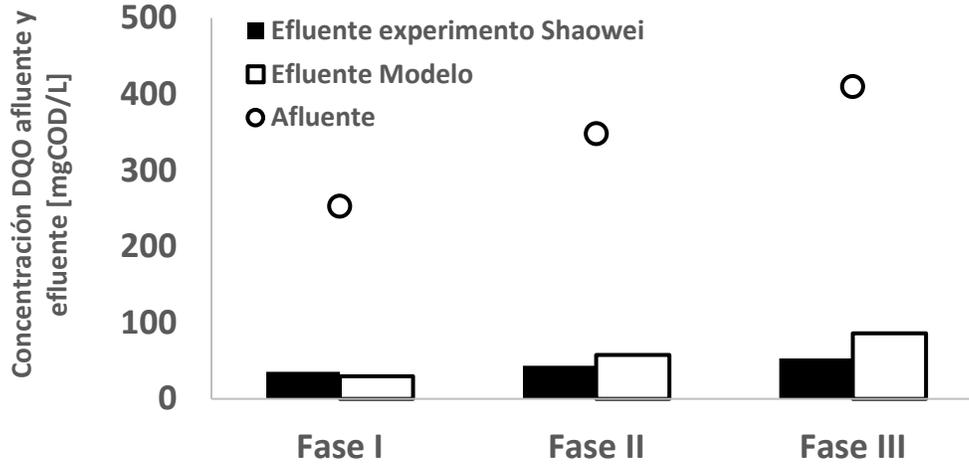


Figura 4.1 Comparación de concentraciones efluentes de COD alcanzadas por la investigación de Shaowei *et al.* (2007) y las predicciones de remoción del modelo

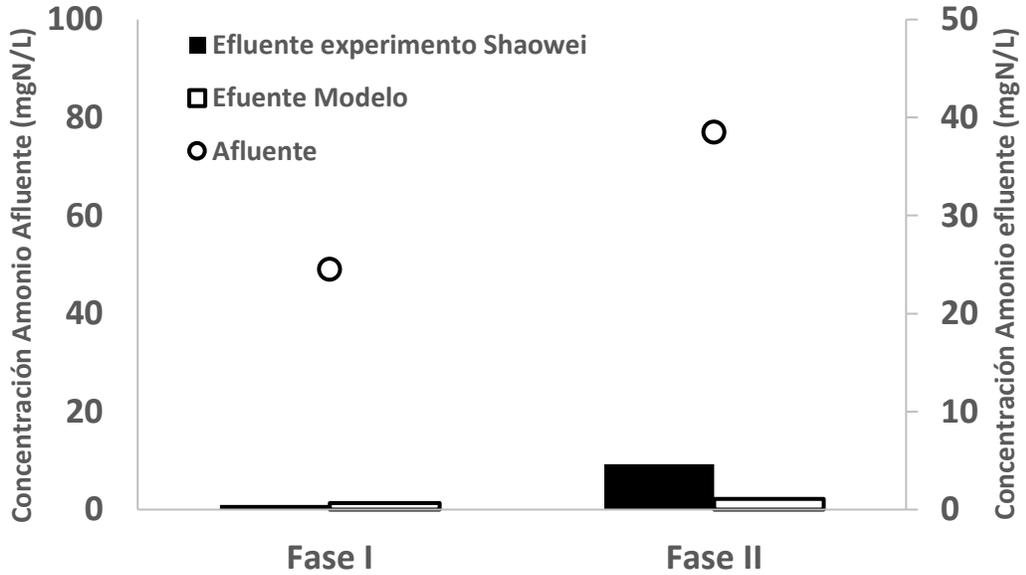


Figura 4.2 Comparación de concentraciones de NH<sub>4</sub> alcanzadas por la investigación de Shaowei *et al.* (2007) y las predicciones del modelo

### 4.3. Comparación con datos experimentales de la investigación de Yi Li *et al.* (2017)

En la Figura 4.3 y en la Figura 4.4 se presenta la comparación de los resultados de la investigación de Yi Li *et al.* (2017) versus los resultados de la modelación de biopelícula multiespecie para la remoción de COD y de amonio respectivamente. Se puede observar en ambas imágenes que, nuevamente el modelo se aproxima bastante a la magnitud de las remociones de COD y amonio, y que incluso, logra captar la tendencia de los datos frente a variaciones en las condiciones operativas del reactor.

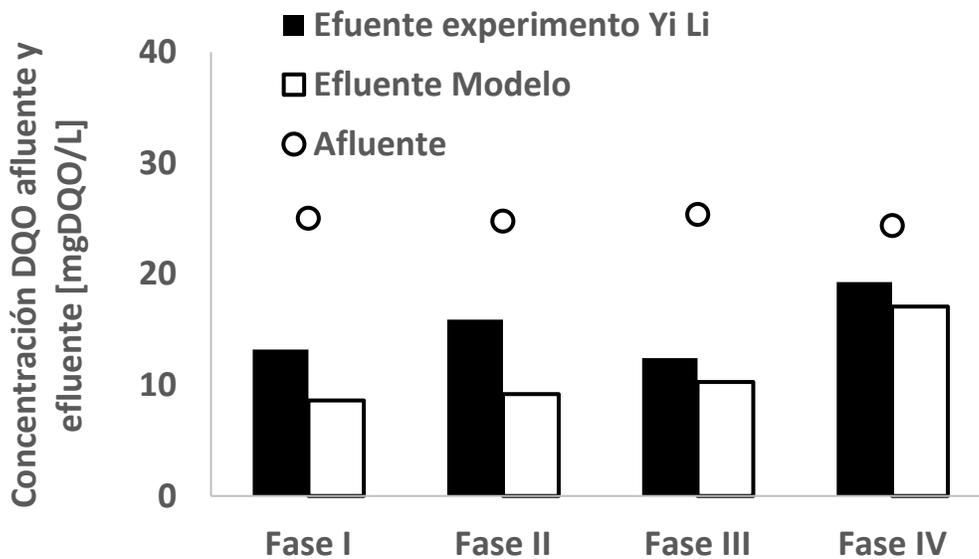


Figura 4.3 Comparación de concentraciones efluentes de COD alcanzadas por la investigación de Yi Li. *et al* (2017) y las predicciones de perfiles del modelo

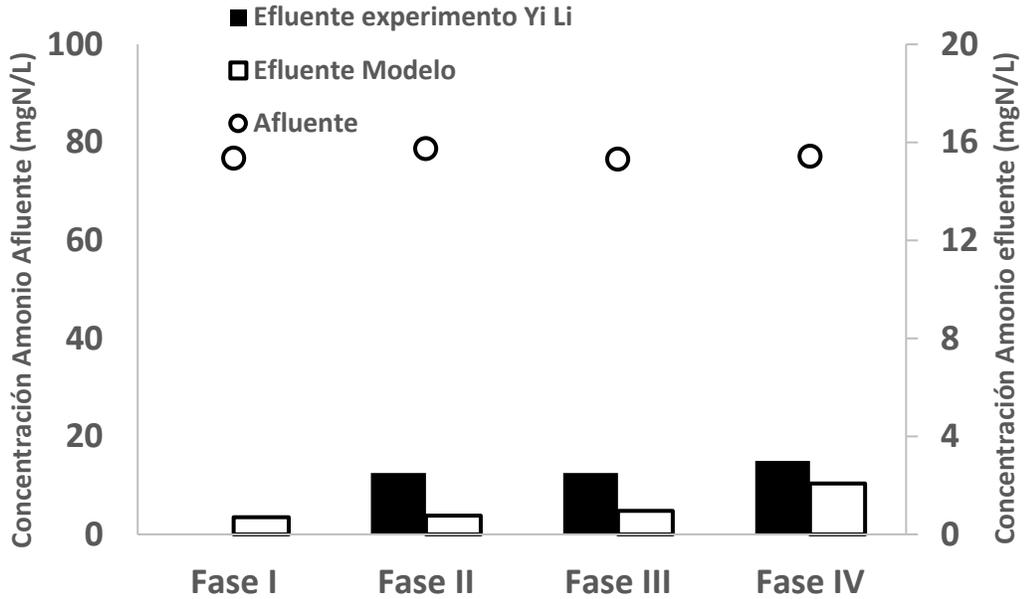
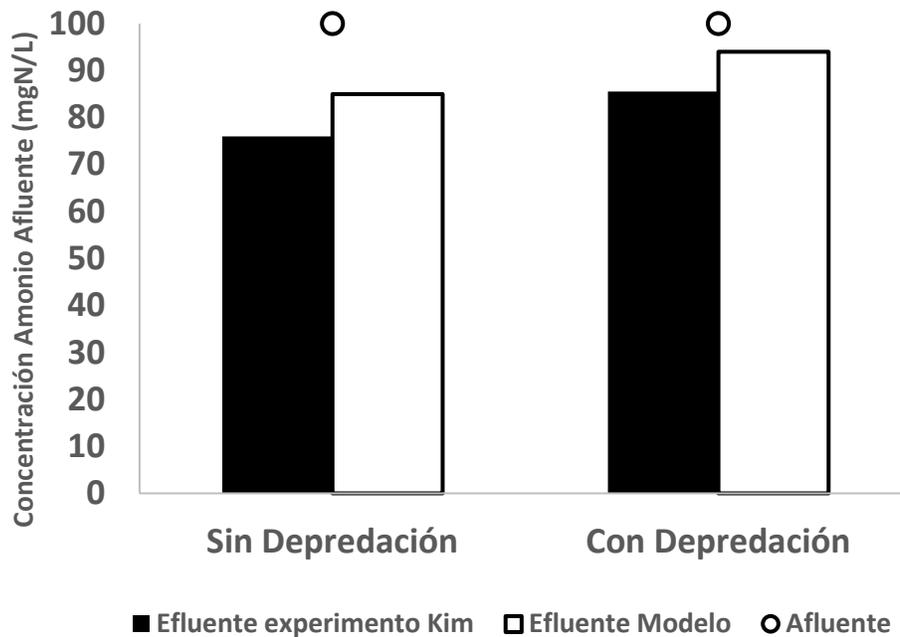


Figura 4.4 Comparación de concentraciones efluentes de NH<sub>4</sub> alcanzadas por la investigación de Yi Li. (2017) y las predicciones de perfiles del modelo

#### 4.4. Comparación con datos experimentales de la investigación de Kim *et al.* (2022)

En la Figura 4.5 se presenta la comparación de los resultados de la investigación de Kim *et al.* (2022) versus los resultados de la modelación para la remoción de amonio bajo las condiciones de Sin depredación y Con depredación. Se puede observar que, nuevamente el modelo se aproxima bastante a la magnitud de las remociones de amonio, y que incluso, logra captar la tendencia de los datos frente a variaciones en las condiciones operativas del reactor.



**Figura 4.5** Comparación de concentraciones efluentes de amonio alcanzadas por la investigación de Kim. *et al* (2022) y las predicciones de perfiles del modelo

Finalmente, las diferencias entre los resultados de laboratorio de las investigaciones de Shaowei *et al.* (2007), Yi Li *et al.* (2017) y Kim *et al.* (2022) y las predicciones del modelo son considerables teniendo en cuenta la concentración de salida del contaminante, sin embargo si se observan los porcentajes de las remociones de contaminantes, estas están dentro del orden de magnitud. Finalmente las diferencias se pueden deber a diversos factores, el primero de ellos es que el modelo es una representación simplificada del MABR, el segundo es que en la realidad los factores como el espesor de biopelícula que se consideró constante y uniforme para este modelo, podría afectar, ya que, esta es heterogénea en su extensión, el tercer motivo se debe a las variaciones de temperatura afectan los valores de los parámetros considerados (el modelo considera operaciones a 20 °C), y finalmente la variabilidad de las concentraciones de entrada y salida, para efectos de la comparación se determinaron los valores promedios de las condiciones de laboratorio, las cuales pueden afectar en los resultados.

#### 4.5. Análisis de escenarios

A continuación, se entrega el análisis de los escenarios modelados para las biopelículas Multiespecie y Monoespecie, en donde se revisarán los rendimientos de remoción de COD y  $\text{NH}_4^+$  bajo las condiciones de depredación y no depredación con el objetivo de encontrar los casos en que la depredación podría ser potencialmente significativa para las poblaciones de bacterias y rendimientos del MABR.

#### 4.6. Biopelícula Multiespecie

Zonas de disponibilidad y carencia de Oxígeno dentro de la biopelícula podrían ser importantes al momento de analizar el efecto de los depredadores en cuanto a la población de bacterias y remoción de contaminantes. Las condiciones anóxicas en las biopelículas se presentan cuando la disponibilidad de oxígeno se acaba dentro del espesor de la biopelícula, debido al consumo por parte de los organismos que se desarrollan bajo escenarios aeróbicos como las bacterias Heterotróficas, las bacterias Nitrificantes y los Protozoos. Posterior a esta zona aeróbica, se desarrolla la zona anóxica, producto del Nitrato producido por las bacterias Nitrificantes, el cual es consumido por bacterias Heterotróficas en el proceso de desnitrificación. Un caso en particular de estudiar, es cuando se presentan las zonas aeróbicas y anóxicas dentro de la biopelícula, junto con el desarrollo de bacterias autotróficas en una cantidad significativa en la zona aeróbica, aquí, el efecto de los depredadores podría ser significativamente más perjudicial para las bacterias autotróficas en comparación con las bacterias heterotróficas, ya que, los depredadores al ser organismos aeróbicos, depredarían en la única zona en donde se desarrollarían las bacterias autotróficas, mientras que, las bacterias heterotróficas quedarían resguardadas en la zona anóxica. A continuación, en la Tabla 4.1 se presentan los casos en que la biopelícula presenta condiciones Anóxicas.

La distribución del oxígeno dentro de la biopelícula es crucial para entender cómo los depredadores afectan a las poblaciones bacterianas y la eliminación de contaminantes. Cuando la disponibilidad de oxígeno se agota dentro de la biopelícula, debido al consumo por organismos aeróbicos como las bacterias heterotróficas, nitrificantes y los protozoos, se crean condiciones anóxicas. Más allá de esta zona aeróbica, se forma una zona anóxica que se produce por la acción de las bacterias nitrificantes, que generan nitrato, el cual es consumido por las bacterias heterotróficas en el proceso de desnitrificación. En algunos casos, puede haber zonas aeróbicas y anóxicas dentro de la biopelícula,

con un desarrollo significativo de bacterias autotróficas en la zona aeróbica. En estas situaciones, los depredadores pueden afectar significativamente a las bacterias autotróficas, ya que, al ser organismos aeróbicos, depredarán en la única zona en la que se desarrollan estas bacterias, mientras que las bacterias heterotróficas estarían protegidas en la zona anóxica. Por lo tanto, es importante considerar las condiciones anóxicas en la biopelícula cuando se analiza el efecto de los depredadores. En la Tabla 4.1 se presentan los casos en los que la biopelícula muestra condiciones anóxicas.

Como se puede apreciar en la Tabla 4.1, se observó en los resultados del modelo que los casos anóxicos (ausencia de oxígeno) corresponden a casi la totalidad de los casos con presiones de 5 psig de aire (con excepción del Caso 1), esto se debe a que es una presión baja de aire, por lo que el suministro de oxígeno es limitado. Por otra parte, algunos de los casos con presiones de 15 psig de aire también presentan condiciones anóxicas, y se da para los casos en donde hay suficientes sustratos de amonio y COD, las cuales son condiciones en donde la biopelícula tiene más recursos para mantener a más microorganismos, y así, agotar el suministro de oxígeno, Finalmente ninguno de los casos con presiones de 15 psig de oxígeno presentan condiciones anóxicas, debido a que es una presión alta con alto contenido de oxígeno.

**Tabla 4.1 Identificación de escenarios Anóxicos**

	gCOD/m <sup>3</sup>	50			250			500		
	gNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> / m <sup>3</sup>	5	20	50	5	20	50	5	20	50
presiones	5 psig aire	-	Caso 4	Caso 7	Caso 10	Caso 13	Caso 16	Caso 19	Caso 22	Caso 25
	15 psig aire	-	-	Caso 8	-	Caso 14	Caso 17	-	Caso 23	Caso 26
	15 psig O <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**4.6.1. Porcentaje de bacterias en Biopelícula Multiespecie**

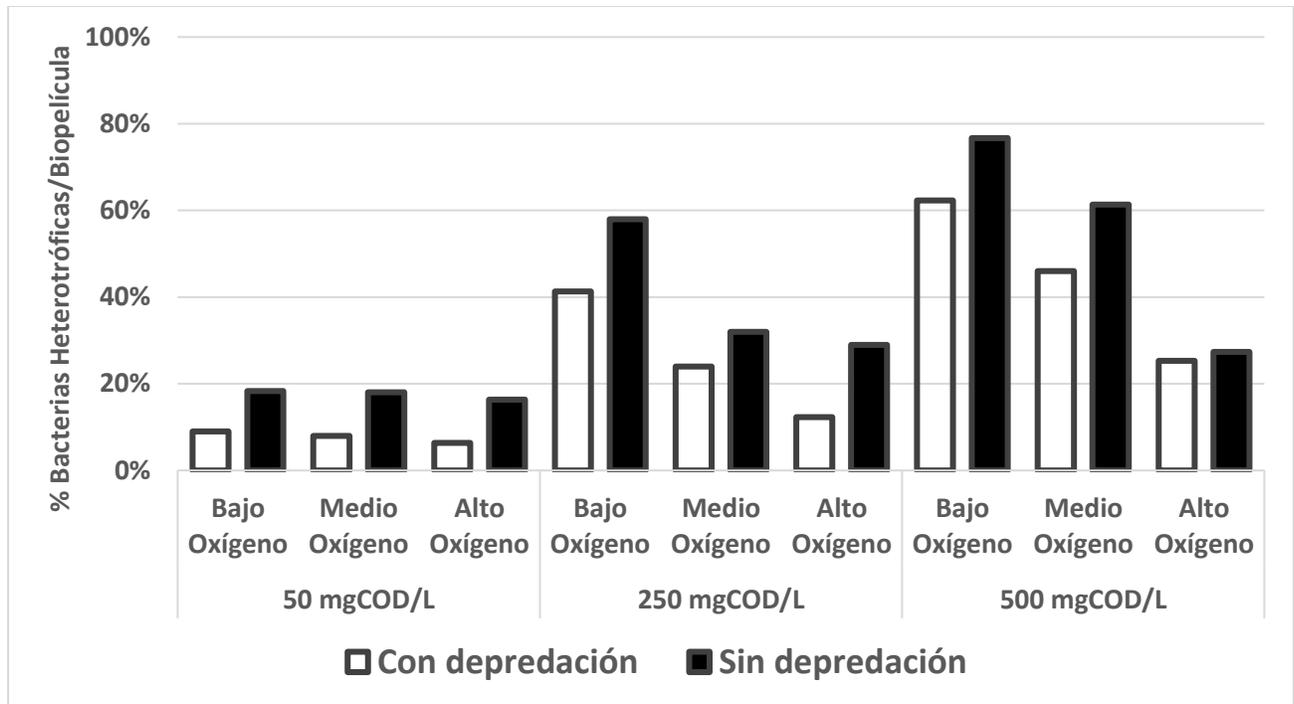
Es importante mencionar que el modelo exige un porcentaje de particulados en la biopelícula y este permanece invariable en el tiempo. Para los modelos se consideró un porcentaje total de particulados del 25%. Por lo anterior, los porcentajes de particulados estimados (bacterias heterotróficas, bacterias autotróficas, depredadores, partículas inertes, y vacíos) son relativos al 25% definido. Para estimar el porcentaje relativo de bacterias, se hizo de la siguiente forma:

$$\%X_i = \frac{X_i}{\sum_{i=1}^n X_i} \quad 5)$$

Donde;

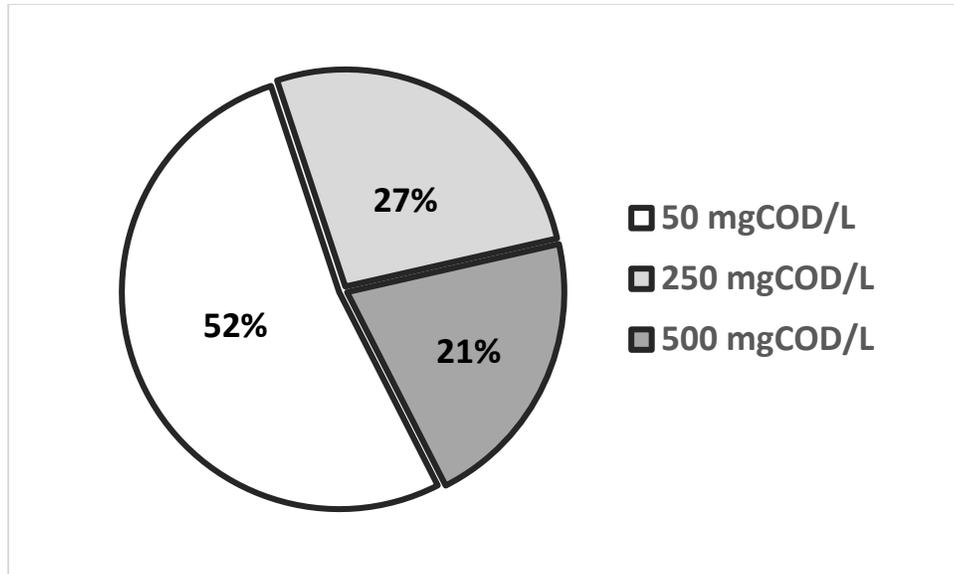
- $X_i$ : cantidad total de particulado  $i$  en la biopelícula ( $gCOD_{X_i}/m^3$ )
- $n$ : total de particulados considerados en la biopelícula

Conocer el porcentaje relativo de las bacterias dentro de las biopelículas nos ayuda a comprender mejor la composición de la biopelícula ya analizar qué condiciones son más favorables para el desarrollo de los microorganismos dentro de la biopelícula. En la Figura 4.6 se presenta el porcentaje promedio de las bacterias heterotróficas con respecto al total de particulados en la biopelícula Multiespecie, tanto para condiciones con y sin depredación. Lo primero que se puede apreciar es que, para ambas condiciones de presencia/ausencia de depredadores, es que, a mayor disponibilidad de COD, las bacterias heterotróficas consiguen mayor representación en la biopelícula. Sin embargo, una mayor disponibilidad de oxígeno no asegura mayor cantidad de bacterias, ya que, a un aumento de oxígeno, aumentan las partículas inertes.



**Figura 4.6** Porcentaje de bacterias heterotróficas relativo al 25% de los particulados totales en la biopelícula Multiespecie

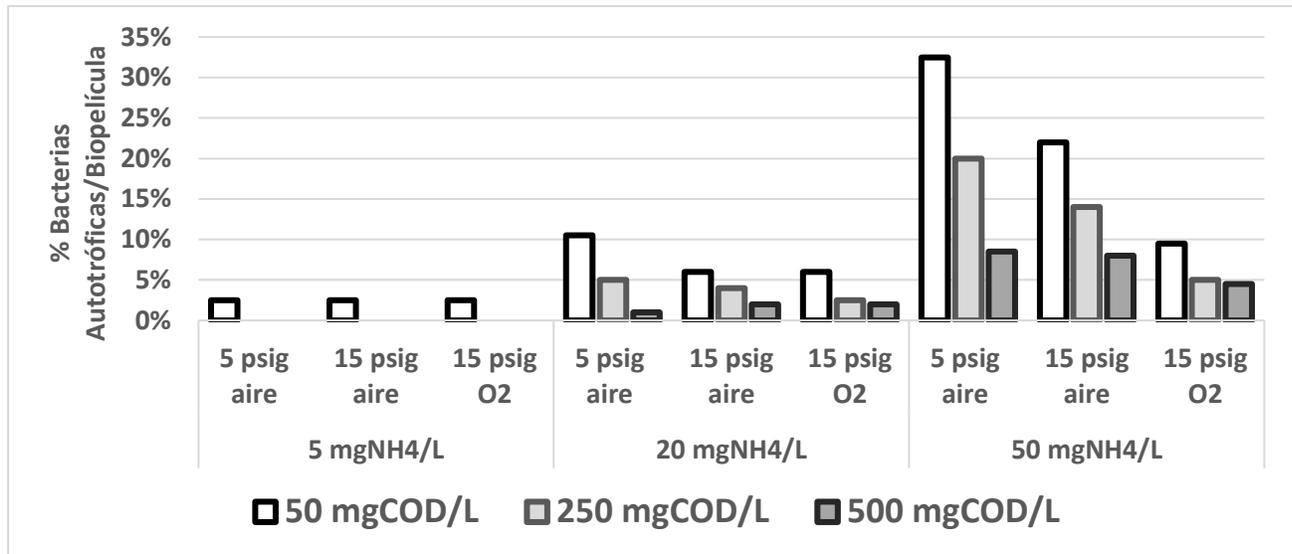
En la Figura 4.7 se presenta la diferencia de porcentajes de bacterias heterotróficas entre la condición sin depredación y con depredación. Como podemos observar, la condición sin depredadores es siempre más favorable para la presencia de bacterias heterotróficas dentro de la biopelícula. Las diferencias más grandes son para cuando hay limitación de COD, esto se puede explicar, ya que, la limitación de estos sustratos, limitan la producción de bacterias, por lo que es más difícil reponer la población atacada por los depredadores. Cabe destacar que en este análisis no se tuvo en cuenta el efecto de las diferentes concentraciones de oxígeno y amonio debido a que no se observaron variaciones significativas.



**Figura 4.7** Diferencia en porcentaje de bacterias heterotróficas en biopelícula Multiespecie entre el caso sin depredación y con depredación.

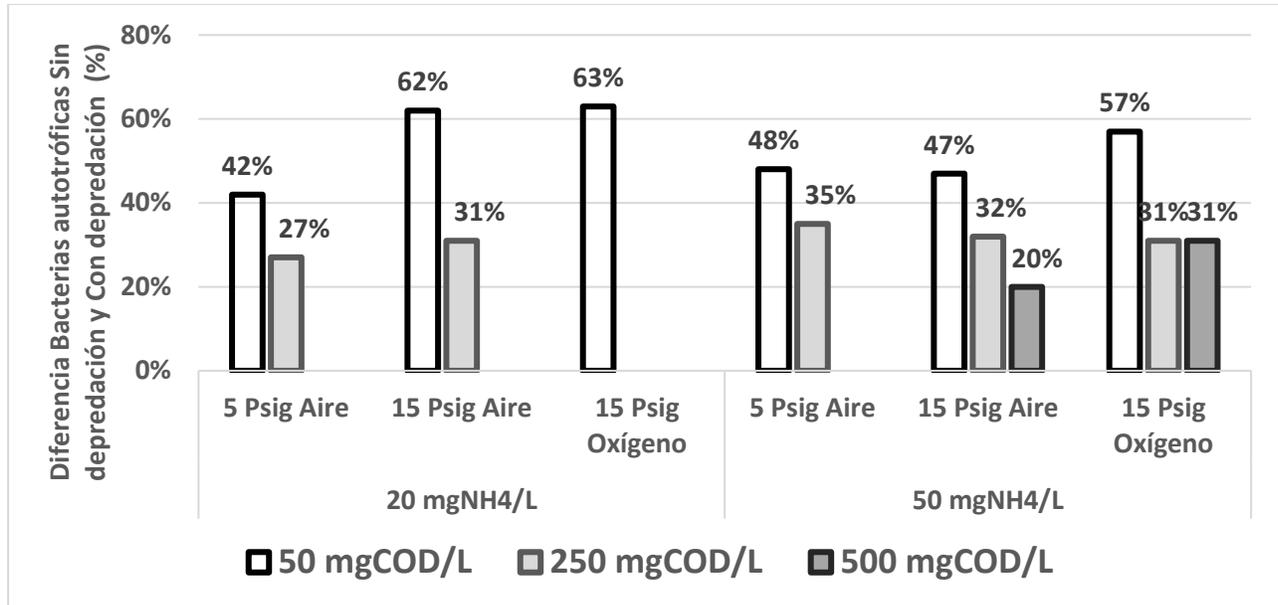
Con respecto a los porcentajes de bacterias autotróficas se observa en la Figura 4.8, que a una mayor disponibilidad de amonio, aumenta la abundancia de bacterias nitrificantes en la biopelícula, debido a que, la disponibilidad de amonio permite el crecimiento de bacterias autotróficas. Además, se observa que, una mayor disponibilidad de COD limita el crecimiento de bacterias autotróficas, esto debido a la competencia en el consumo de amonio por parte de las bacterias heterotróficas. Los mayores porcentajes alcanzados de bacterias autotróficas corresponden a una alta disponibilidad de amonio, con concentraciones bajas a medias de COD, junto con bajas disponibilidades de oxígeno, estos escenarios provocan condiciones anóxicas en la biopelícula (Casos 7, 8, 16 y 17 en orden decreciente). Estas condiciones mencionadas serían favorables ya que, una gran disponibilidad de amonio resulta en una disminución en la competencia por este sustrato (recordar que todos los microorganismos utilizan el amonio para el proceso de síntesis celular, y las bacterias autotróficas, además, realizan el proceso de nitrificación).

En adición a lo anterior, concentraciones bajas a medias de COD limitarían el crecimiento de bacterias heterotróficas, dándoles una oportunidad a las bacterias autotróficas de proliferar. Sin embargo, se puede apreciar en la investigación que, una mayor disponibilidad de oxígeno no aumenta la población de bacterias autotróficas debido a que, por una parte, se perdería la condición anóxica de la biopelícula, y con ella, la zona aeróbica basal en donde las bacterias autotróficas poseen ventaja, y, por otra parte, el aumento de oxígeno provoca un incremento de las partículas inertes.



**Figura 4.8** Porcentajes de bacterias Autotróficas relativos al 25% de los particulados totales en la biopelícula Multiespecie

En cuanto a la diferencia de porcentajes de bacterias autotróficas entre la condición sin depredación y con depredación, podemos observar en la Figura 4.9 que las diferencias son valores positivos, es decir, que las condiciones - sin depredación - presentaban mayor porcentaje de bacterias autotróficas. Además, nuevamente la depredación afecta más a las condiciones con limitación de COD, ya que, la limitación de COD favorece a la proliferación de bacterias autotróficas, por ende, hay mayor población que puede ser afectada. En adición podemos observar que esta diferencia va aumentando a medida que hay más disponibilidad de oxígeno, ya que los depredadores son organismos aeróbicos. Para este análisis se omitieron todos los casos cuyas poblaciones de bacterias autotróficas fueran menores al 5% de particulados, ya que, nos importa ver los efectos cuando las bacterias autotróficas tienen un papel relevante en la biopelícula. Parte de estos casos corresponden a los que poseen una concentración de 5 mgNH<sub>4</sub><sup>+</sup> /L, ya que, para estos escenarios, el amonio es limitante, provocando que las bacterias heterotróficas ganen en la competencia por este sustrato, debido a su superioridad en velocidad de reproducción. Otra parte de los casos omitidos corresponden a ciertos escenarios con 500 mgCOD/L, en donde dependiendo de la concentración de amonio y/o concentración de aire, las bacterias autotróficas no proliferaban, debido a las condiciones favorables para las bacterias heterotróficas.



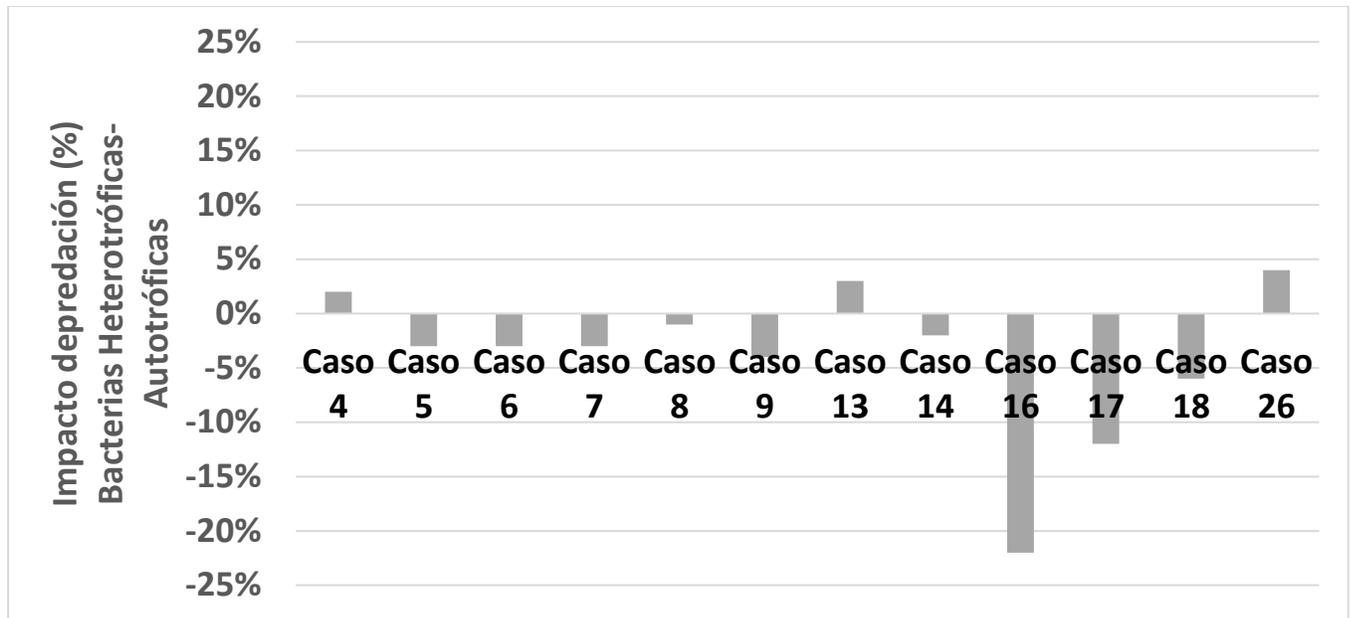
**Figura 4.9** Diferencia en porcentaje de bacterias autotróficas en biopelícula Multiespecie entre la condición sin depredación y con depredación

#### 4.6.2. Efecto de la depredación sobre poblaciones de bacterias en Biopelícula Multiespecie

En la Figura 4.10 se presenta la diferencia entre el impacto de los depredadores entre bacterias heterotróficas y bacterias autotróficas. Se excluyeron todos los Casos cuya población de bacterias autotróficas fuera irrelevante (menor al 5%).

De los resultados de la Figura 4.10 se puede extraer que -en la mayoría de los Casos- la diferencia del impacto de los depredadores frente a ambas poblaciones no fue significativa (menor al  $\pm 5\%$ ), sin embargo, en general, los depredadores afectaron más a las bacterias autotróficas.

La depredación fue notoriamente más selectiva hacia las bacterias autotróficas en el Caso 16 con un 22% de mayor impacto con respecto a las bacterias heterotróficas, luego le sigue el Caso 17 con un 12%, y finalmente el Caso 18 con un 6%. En los Casos 16 y 17 los depredadores afectaron más a las bacterias autotróficas debido a que el escenario anóxico provoca que las bacterias autotróficas y depredadores compartan la misma ubicación en la biopelícula (Figura 4.11 y Figura 4.13). Un análisis más detallado se desarrolla más adelante.



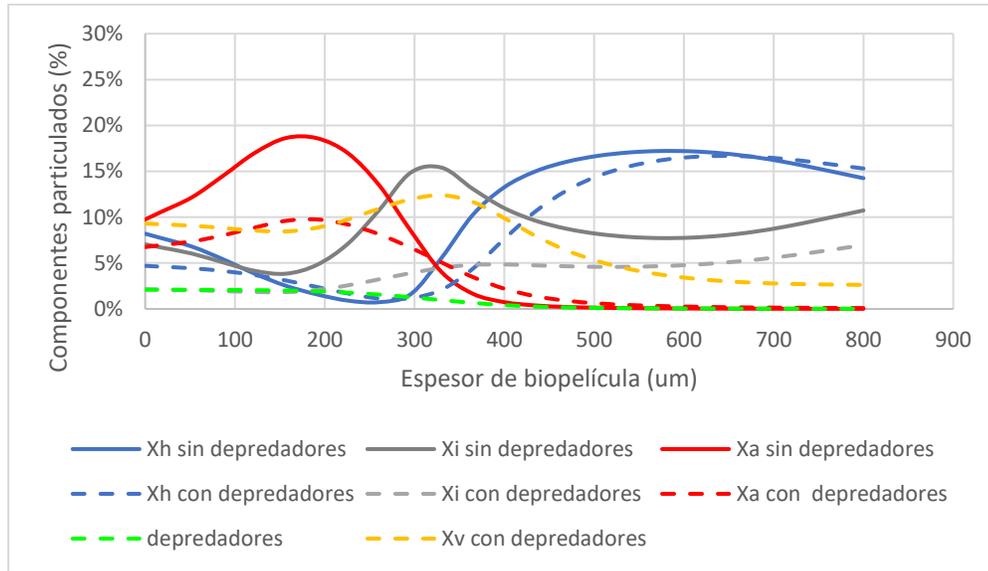
**Figura 4.10** Diferencias en porcentaje de impacto de depredadores entre bacterias heterotróficas y autótroficas

Desde la Figura 4.11 hasta la Figura 4.16 se entregan las distribuciones de particulados en la biopelícula junto con los perfiles de oxígeno para los Casos 16, 17, y 18. en las condiciones con y sin depredación

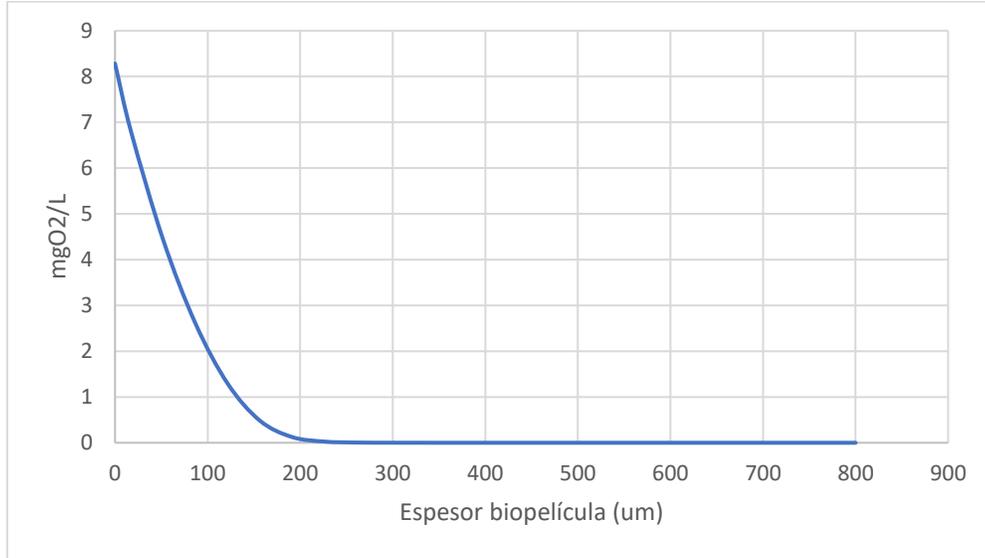
En la Figura 4.11 podemos observar la distribución de particulados del Caso 16, en donde se puede apreciar una clara división de dominancia entre las bacterias heterotróficas y autótroficas cuya inflexión está entre la ubicación 300  $\mu\text{m}$  y 400  $\mu\text{m}$ . Además, desde la ubicación 0  $\mu\text{m}$  hasta la 400  $\mu\text{m}$  se encuentran los depredadores de la biopelícula. Adicionalmente, en la Figura 4.12 podemos apreciar que hay un excedente de oxígeno hasta la ubicación 200  $\mu\text{m}$ , y luego para el resto de la biopelícula, hay una carencia de oxígeno evidenciando un escenario anóxico. Lo anteriormente mencionado sobre el Caso 16, explica la gran diferencia en el efecto de los depredadores de las bacterias autótroficas sobre las bacterias heterotróficas, ya que, efectivamente, como se puede apreciar en la Figura 4.11, la ubicación de las bacterias autótroficas es el mismo lugar en donde se desarrollan los depredadores, y si bien, las bacterias heterotróficas igual se encuentran en este lugar, no corresponde a su zona de mayor abundancia para sufrir un impacto significativo.

Es importante mencionar que la saturación de oxígeno en el agua es aproximadamente de 8 a 10 mg/L a presiones cercanas a la atmosférica, y como se puede observar en la Figura 4.14, y la Figura 4.16, las concentraciones superan la saturación de oxígeno. Sin embargo, lo que se ha observado a nivel

experimental, hasta el momento, es que se han medido concentraciones del orden de 20 a 30 mg/L en la superficie de la membrana cubierta con biopelícula, por lo que es posible que la biopelícula inhiba la formación de burbujas debido al consumo y/o mayor densidad del medio (Perez-Calleja, P *et al.* 2017).



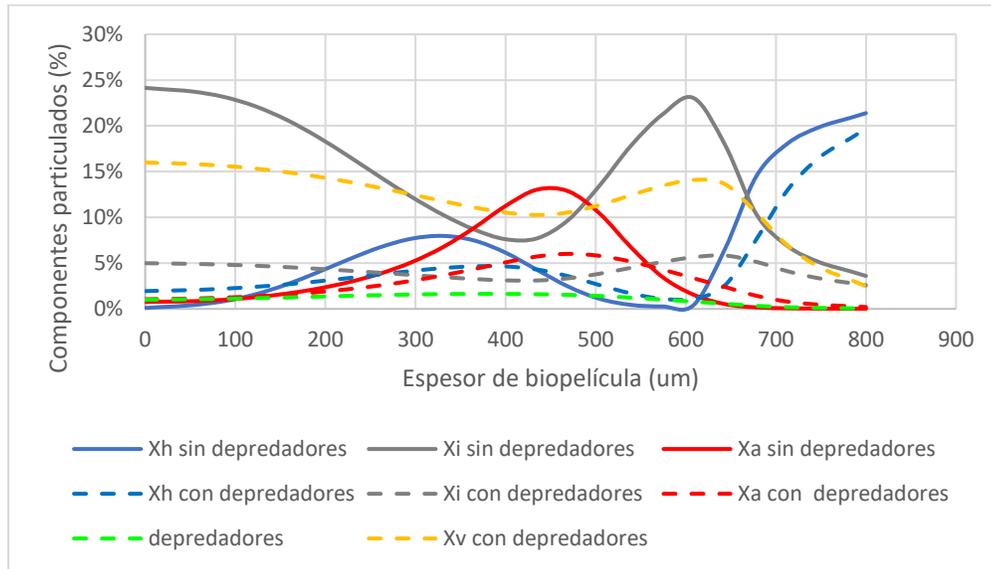
**Figura 4.11 Particulados Caso 16 con y sin depredación**



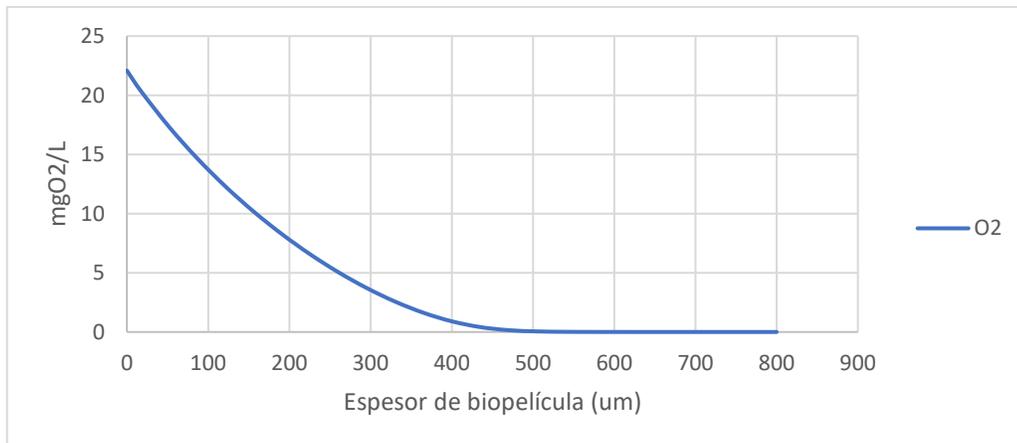
**Figura 4.12 Perfil de oxígeno Caso 16**

En la Figura 4.13 se presenta la distribución de particulados en la biopelícula para el Caso 17. Lo primero que podemos observar, es el desplazamiento de bacterias y depredadores con respecto al Caso 16. Esto se debe a que, a mayor disponibilidad de oxígeno se aumenta la disponibilidad de este sustrato en el medio de la biopelícula, por lo que las bacterias prefieren ocupar lugares más alejados hacia el

exterior para salvar así la pérdida de disponibilidad de sustratos debido a la difusión (COD y  $\text{NH}_4$ ), para luego crecer en lugares con mayor disponibilidad de sustratos, resultando así, en un incremento de las partículas inertes y vacíos en los inicios de la biopelícula. Adicionalmente, es posible observar una clara separación en la distribución de las bacterias autótrofas y heterótrofas, donde las primeras dominan en la zona aerobia y los depredadores se concentran en esta misma zona. Por otro lado, las bacterias heterótrofas prefieren localizarse mayormente en la zona anóxica. Este comportamiento es similar al observado en el Caso 16.

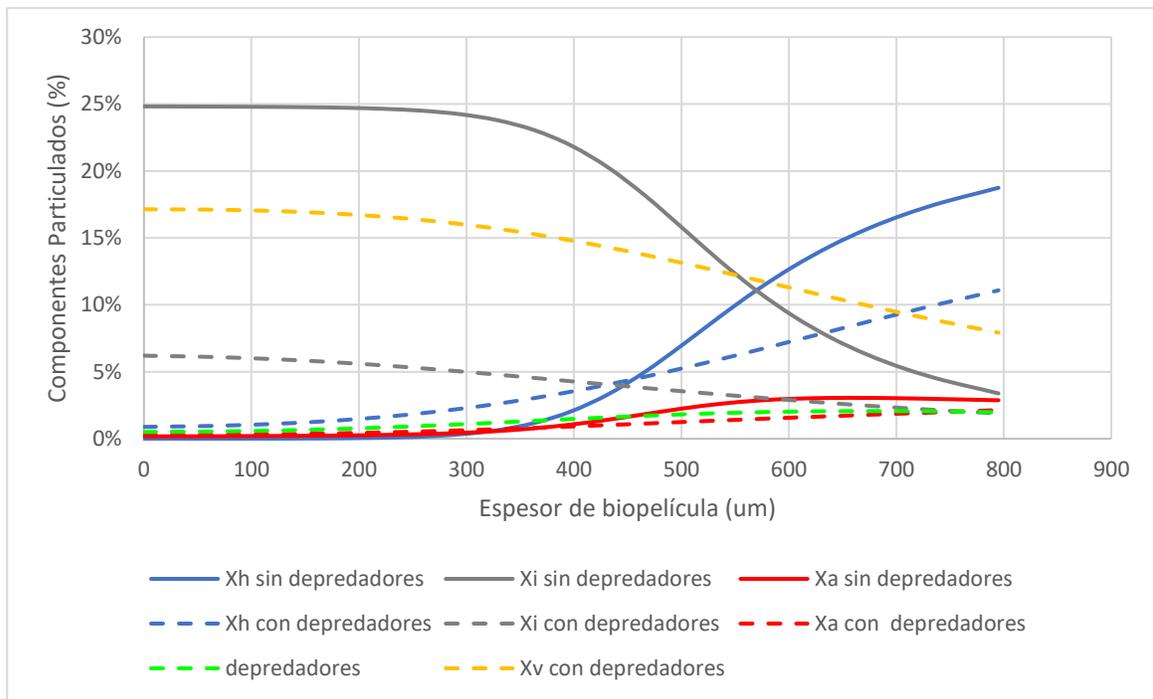


**Figura 4.13 Particulados Caso 17 con y sin depredación**



**Figura 4.14 Perfil de oxígeno Caso 17**

En la Figura 4.15 podemos observar que la distribución de particulados en la biopelícula del Caso 18. Si bien mantiene el desplazamiento de las bacterias debido al incremento de los vacíos y partículas inertes en la base de la biopelícula producto de la gran disponibilidad de oxígeno, el Caso 18 no presenta el patrón de la división en la predominancia entre bacterias heterotróficas y autotróficas, ni tampoco, en la focalización de los depredadores en una zona exclusiva. Acá, la diferenciación del impacto de los depredadores en un 6% más hacia las bacterias autotróficas sobre las heterotróficas se podría explicar debido a que las bacterias heterotróficas tienen mayor ventaja para recuperarse de la depredación.



**Figura 4.15 Particulados Caso 18 con y sin depredación**

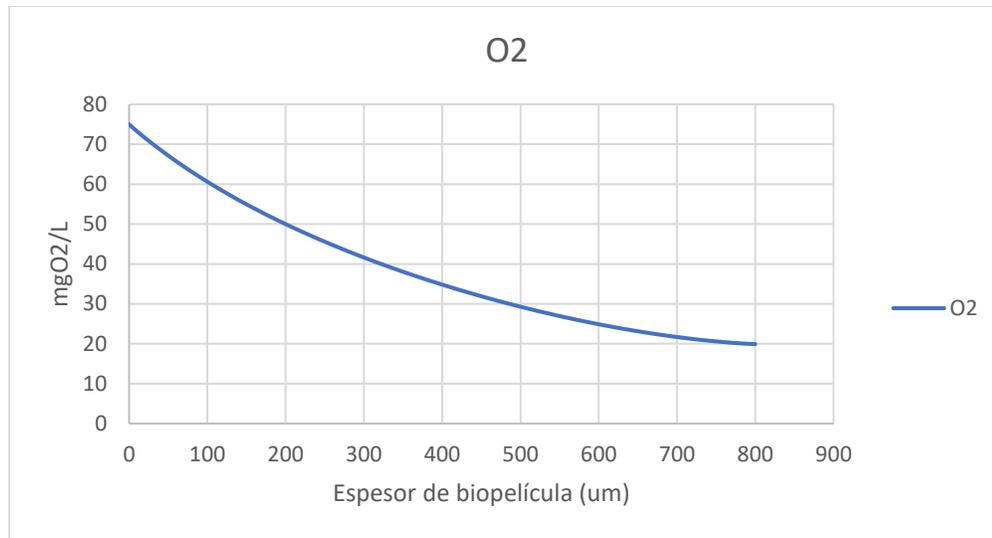


Figura 4.16 Perfil de oxígeno Caso 18

### 4.6.3. Porcentaje de vacíos en la biopelícula

En la Figura 4.17 se presenta el porcentaje de espesor de biopelícula cuyo contenido de vacíos provocados por los depredadores supera el 60% del total de productos particulados (25%). Este criterio se definió ya que, basándose en la investigación de Kim *et al.* (2021), el hecho que en la zona de adherencia haya sobre un 60% de vacíos, se considera que es un escenario en donde potencialmente se podría desprender la biopelícula de la membrana. Esto se analiza ya que el modelo no contempla un desprendimiento debido al porcentaje de vacíos. Para determinar los espesores afectados, se identificaron los casos en que el porcentaje de vacíos que estaba presente en la base de la biopelícula superara el 60%, luego se determinaron todos los valores continuos que estuviesen dentro del rango para luego promediarlos y obtener un valor representativo. Una vez que los vacíos en la biopelícula salían del rango del 60%, se determinaba la ubicación de este quiebre y se dividía por el espesor total de la biopelícula, obteniendo así el espesor de biopelícula afectado.

En la Figura 4.17 se presentan los resultados obtenidos, los cuales revelan ciertos patrones esperados. Se observa que a medida que aumenta la disponibilidad de oxígeno, la biopelícula tiende a presentar mayores porcentajes de vacíos basales y un espesor considerable. Además, se observa que la importancia de los vacíos basales disminuye a medida que hay una mayor disponibilidad de sustratos,

como COD y amonio. Esto se debe a que estos sustratos favorecen la recuperación de la biomasa al proporcionar condiciones adecuadas para el crecimiento bacteriano.

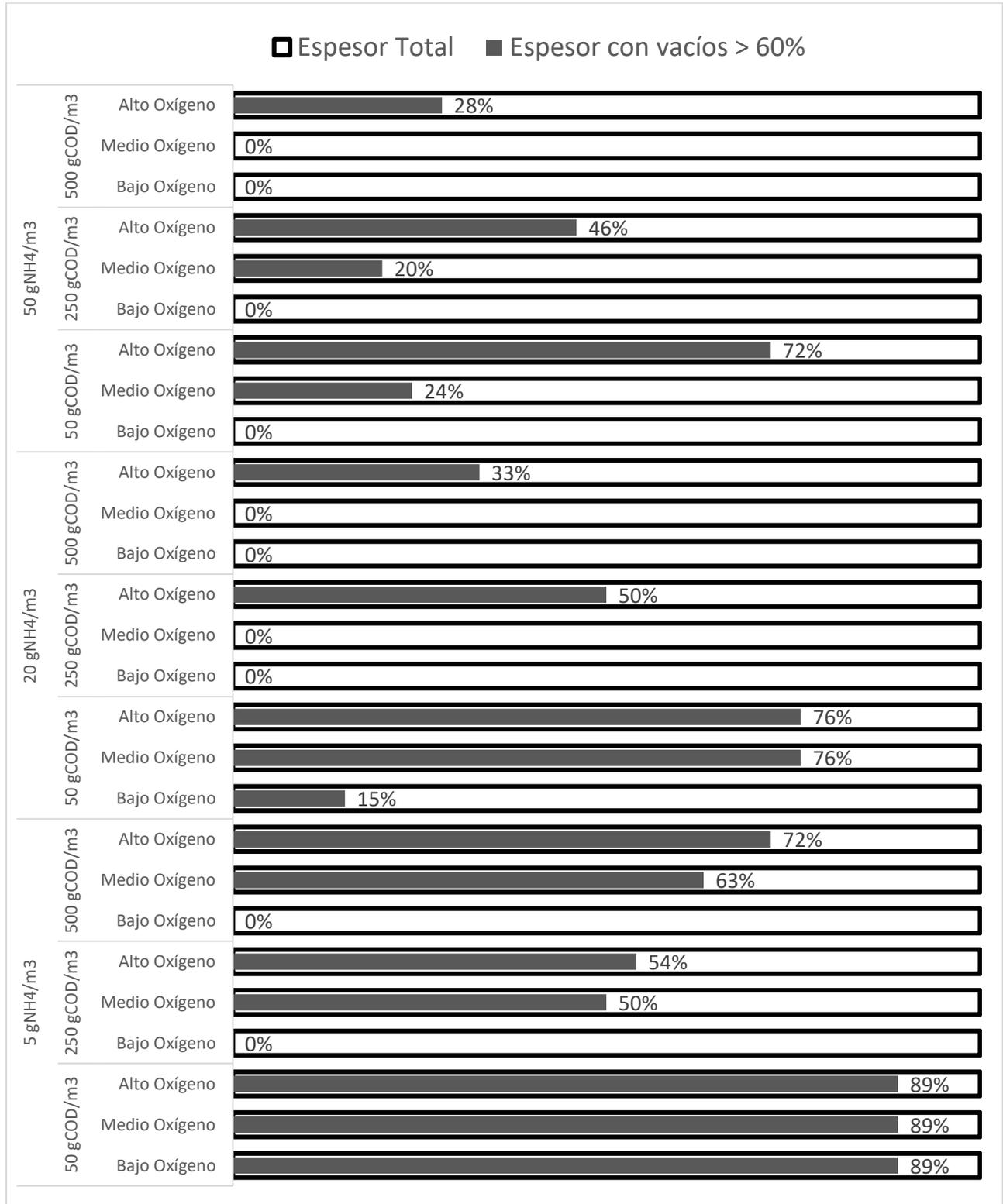


Figura 4.17 Espesores basales de la biopelícula Multiespecie con vacíos sobre el 60%

#### 4.6.4. Efecto de la depredación sobre remoción de COD en Biopelícula Multiespecie

Para los Casos 1, 2 y 3, en donde las concentraciones de COD son de 50 mgCOD/L, y tanto para las condiciones con y sin depredación, se obtuvo una remoción promedio del 82% y no se observó que una mayor concentración de oxígeno o amonio fueran significativas para alcanzar mayores rendimientos, lo que indica que el sistema no tenía sustratos limitantes. Sin embargo, en la Figura 4.18 se presentan las remociones promedios de COD en la biopelícula Multiespecie para los casos con y sin depredación para concentraciones de 250 mgCOD/L y 500 mgCOD/L. Lo que se puede apreciar es que las remociones aumentan con mayor disponibilidad de amonio (utilizado en la síntesis celular de las bacterias heterotróficas) y a mayor disponibilidad de oxígeno.

Este efecto de mayor remoción de COD a mayores concentraciones de amonio y oxígeno se ve intensificado para altas concentraciones de COD, ya que aquí, el amonio y el oxígeno, son limitantes. Además, se observa que una baja relación de  $\text{NH}_4^+ / \text{COD}$  perjudica fuertemente la remoción de COD alcanzando remociones menores al 50%, esto debido a que no hay suficiente amonio para la síntesis de bacterias heterotróficas.

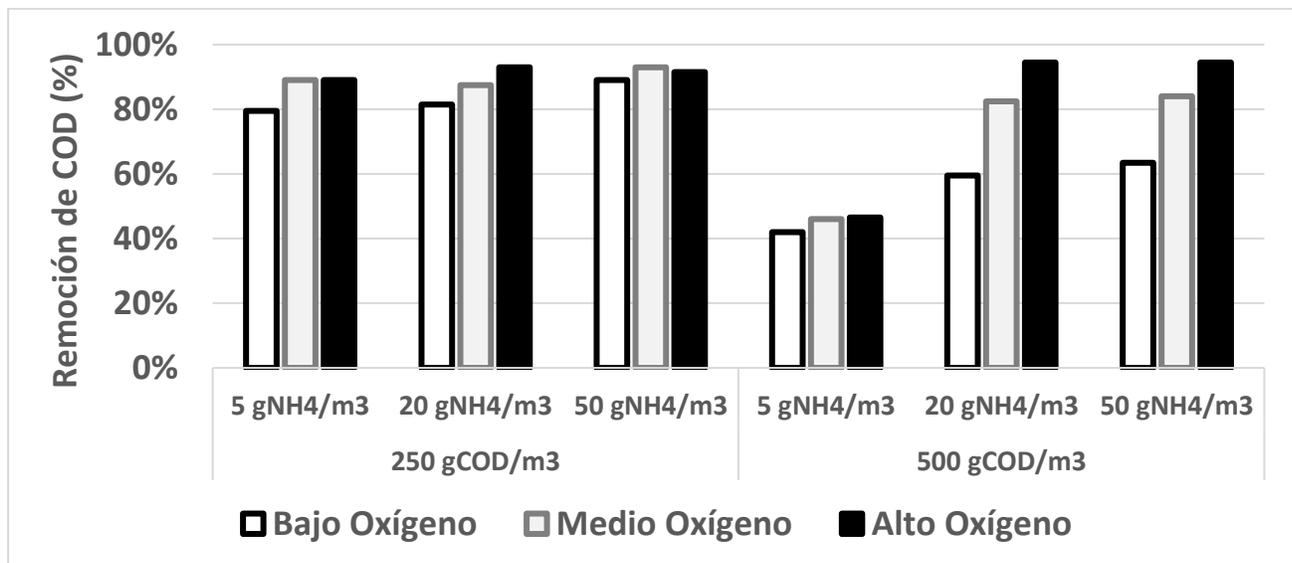


Figura 4.18 Remoción de COD (%) para concentraciones de 250 gCOD/m<sup>3</sup> y 500 gCOD/m<sup>3</sup>. Considerar que cada barra contiene los resultados de los escenarios sin depredación y con depredación

En la Figura 4.19 se entregan los resultados de la diferencia de remoción de COD entre los casos sin depredación y con depredación. Como se puede observar, para la mayoría de los casos hay mejores remociones cuando no hay depredadores presentes en la biopelícula, sin embargo, estos porcentajes

son bajos como para que impliquen una gran diferencia. Por otra parte, hay que tener en cuenta los resultados de la Figura 4.17, en donde los rendimientos de remoción de contaminantes para los Casos etiquetados “Con riesgo de desprendimiento” deben ser revisados, debido a los altos vacíos basales, los que podrían provocar el desprendimiento de la biopelícula, perdiendo así la capacidad de remoción de contaminantes.

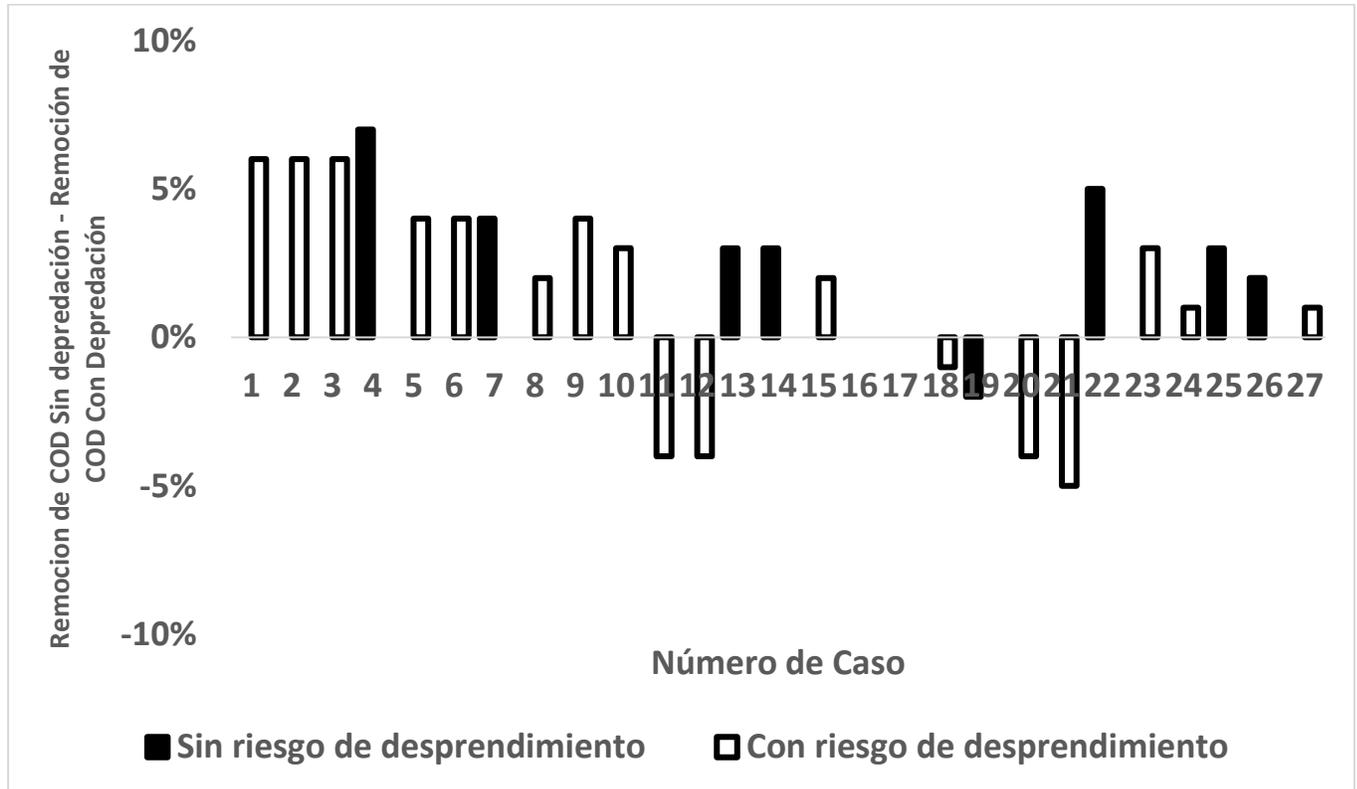


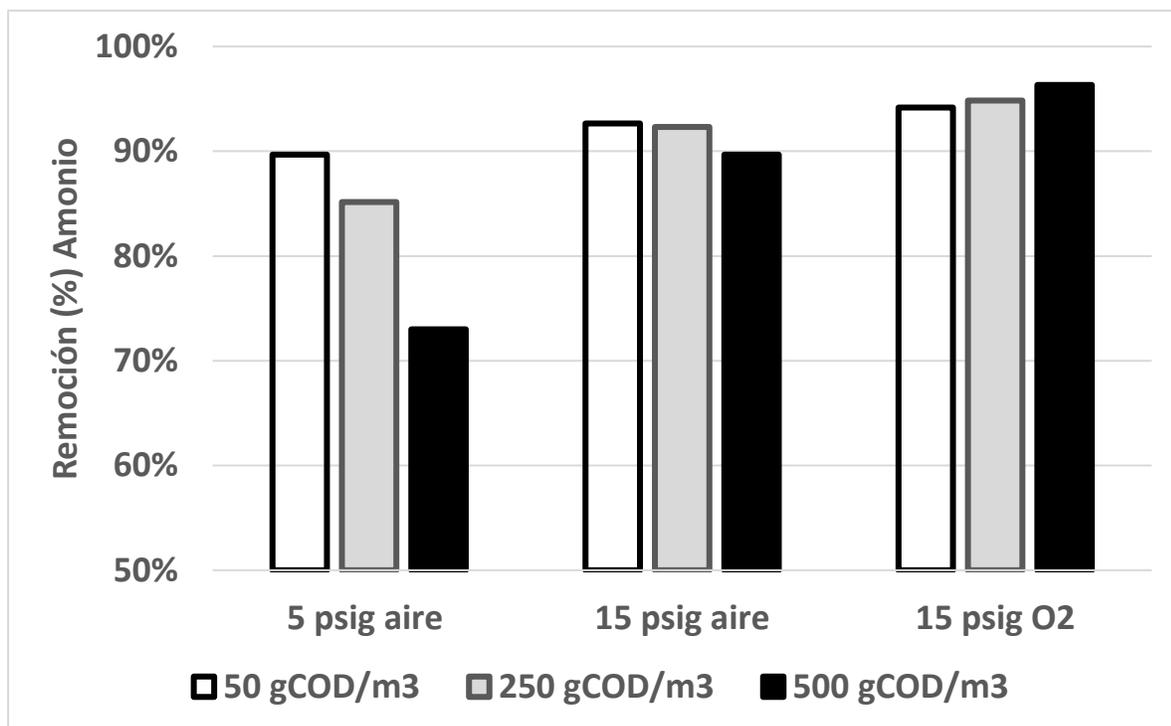
Figura 4.19 Diferencia de remoción de COD (%) entre los casos sin deprecación y con deprecación

#### 4.6.5. Efecto en la deprecación sobre remoción de NH<sub>4</sub> en Biopelícula Multiespecie

En la Figura 4.20 se presentan las remociones promedio de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Se puede observar de forma general que el aumento de la concentración de oxígeno se correlaciona con una mayor remoción de este contaminante. Por otro lado, se observa que un incremento en la concentración de materia orgánica (COD) no favorece la remoción de amonio, ya que promueve el crecimiento de bacterias heterotróficas debido a la disponibilidad de sustratos. Esto resulta en una mayor competencia entre las bacterias heterotróficas y las bacterias autotróficas por el sustrato de amonio, siendo las primeras

las beneficiadas en este proceso. Es importante destacar que los promedios de remoción incluyen las condiciones tanto con cómo sin depredación, y no se observó una diferencia significativa entre ambas condiciones, como se aprecia más adelante en la Figura 4.21.

En la Figura 4.21 se presentan las diferencias de remoción de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) entre las condiciones con y sin depredación. Se observa que las remociones de amonio están más influenciadas por la concentración de materia orgánica (COD) y oxígeno y en menor medida por la concentración de amonio. Debido a esta dependencia de las remociones de amonio con respecto a las concentraciones de COD y oxígeno, se decidió mostrar los resultados promediando las remociones obtenidas en las tres concentraciones de amonio evaluadas, esto permite tener una visión más amplia y representativa del efecto de la depredación en la remoción de amonio en diferentes condiciones. Si bien las diferencias son pequeñas, menores al 15%, hay que tener en cuenta los resultados de la Figura 4.17, en donde se pueden poner en duda los rendimientos de remoción de contaminantes para los Casos etiquetados “Con riesgo de desprendimiento”, debido a los altos vacíos basales, los que podrían provocar el desprendimiento de la biopelícula, perdiendo así la capacidad de remoción de contaminantes.



**Figura 4.20 Remoción promedio de amonio (%) en biopelícula Multiespecie. Las remociones se ven mayormente afectadas con respecto a la variación de la concentración de COD y oxígeno.**

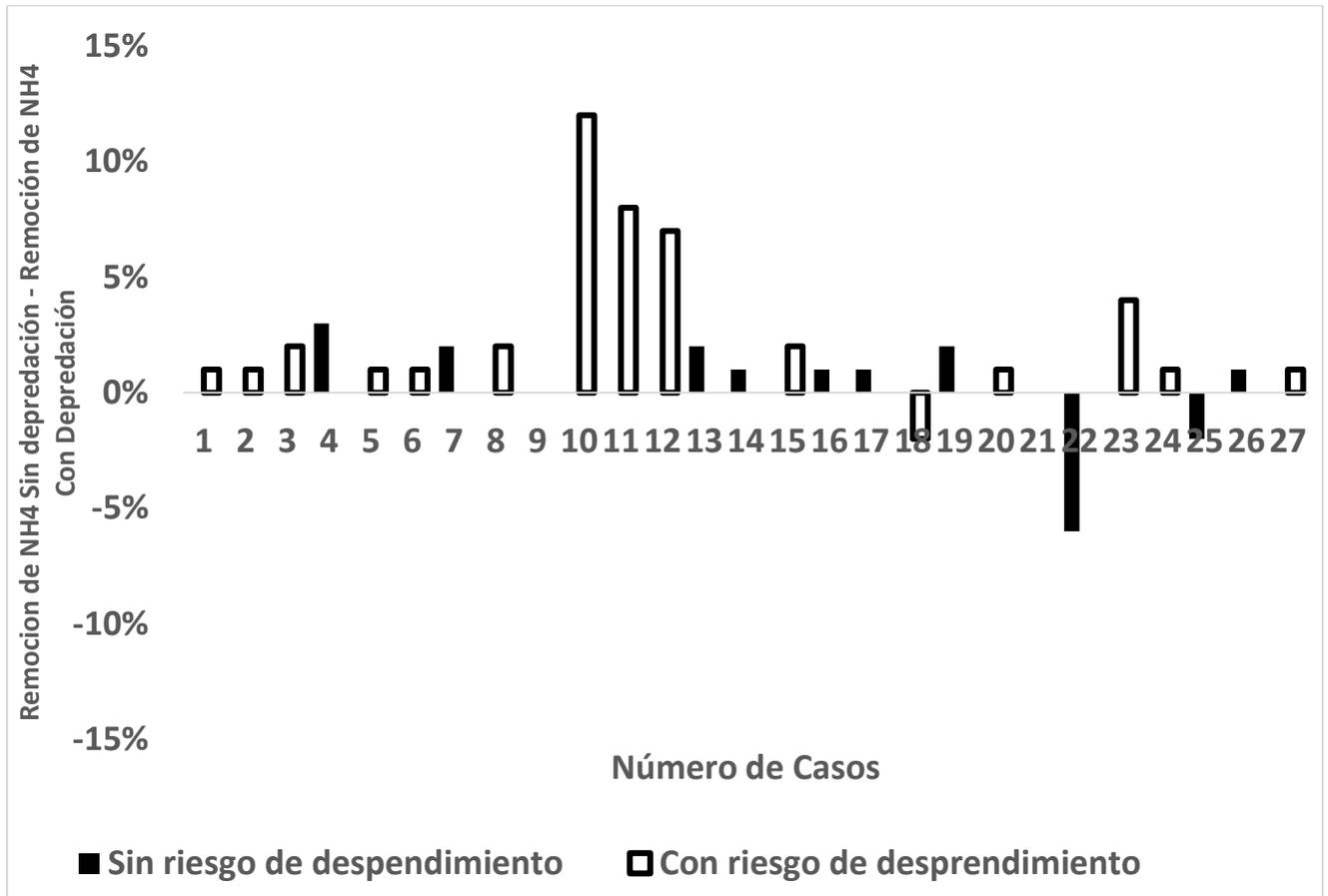


Figura 4.21 Diferencia de remoción de amonio (%) entre los casos sin deprecación y con deprecación

## **4.7. BIOPELÍCULA MONOESPECIE**

En los siguientes apartados se presentan los resultados de la biopelícula Monoespecie compuesta de bacterias autotróficas nitrificantes, el proceso de nitrificación se consideró que se llevaba a cabo por un solo tipo de bacteria.

### **4.7.1. Porcentaje de bacterias en biopelícula Monoespecie**

Es importante mencionar que el modelo exige un porcentaje de particulados en la biopelícula y este permanece invariable en el tiempo. Para este caso de estudio se consideró un porcentaje total de particulados del 25%. Por lo anterior, los porcentajes de particulados estimados (bacterias autotróficas, depredadores, partículas inertes, y vacíos) son relativos al 25% definido.

En la Figura 4.22 se presentan los porcentajes de bacterias autotróficas en biopelículas monoespecie de bacterias nitrificantes. A grandes rasgos, se observa que, a mayor disponibilidad de amonio, se incrementa la población de bacterias autotróficas, ya que este sustrato es esencial para su reproducción. Sin embargo, es importante destacar que, a mayor disponibilidad de oxígeno, no representa un aumento en el porcentaje de bacterias autotróficas, debido al aumento de partículas inertes y vacíos. En la Figura 4.23. estos aspectos relacionados con las partículas inertes y la influencia del oxígeno en el crecimiento de las bacterias autotróficas no se visualizan, ya que, se han analizado en detalle durante el análisis de los resultados.

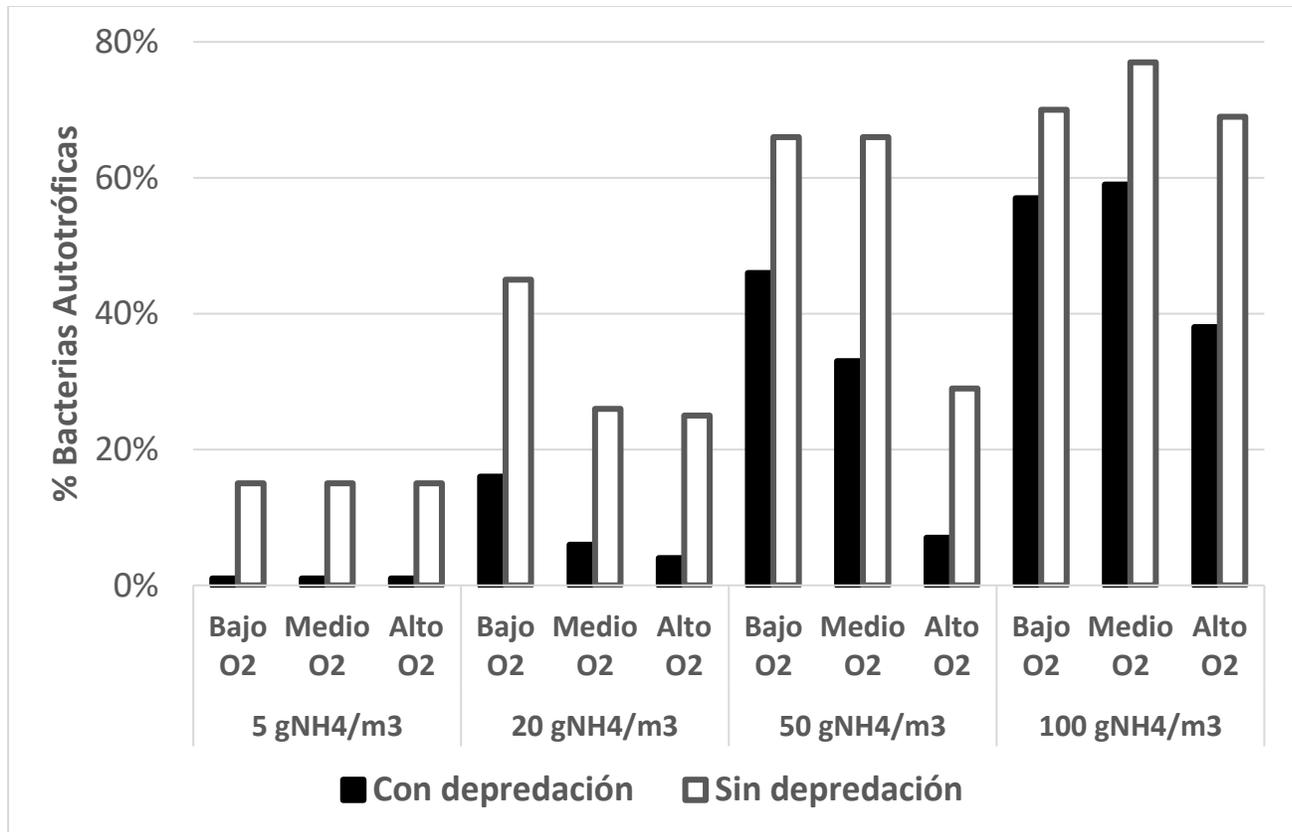


Figura 4.22 Variación de porcentajes de bacterias autotróficas, relativo al 25% de particulados totales en la biopelícula Monoespecie.

#### 4.7.2. Efecto de la depredación sobre población de biopelícula Monoespecie

En la Figura 4.23 se muestra en porcentaje el efecto de los depredadores sobre la población de bacterias autotróficas en la biopelícula Monoespecie. Podemos observar que a medida que se suministra más amonio, las diferencias entre poblaciones de bacterias nitrificantes entre las condiciones con y sin depredación disminuyen. Esto se explica debido a que una mayor dosis de amonio ayudaría a la reposición de bacterias autotróficas depredadas y a disminuir la competencia de depredadores y bacterias autotróficas por este sustrato. Por otra parte, un mayor suministro de oxígeno provoca un fortalecimiento de los depredadores, afectando más a la población de bacterias autotróficas.

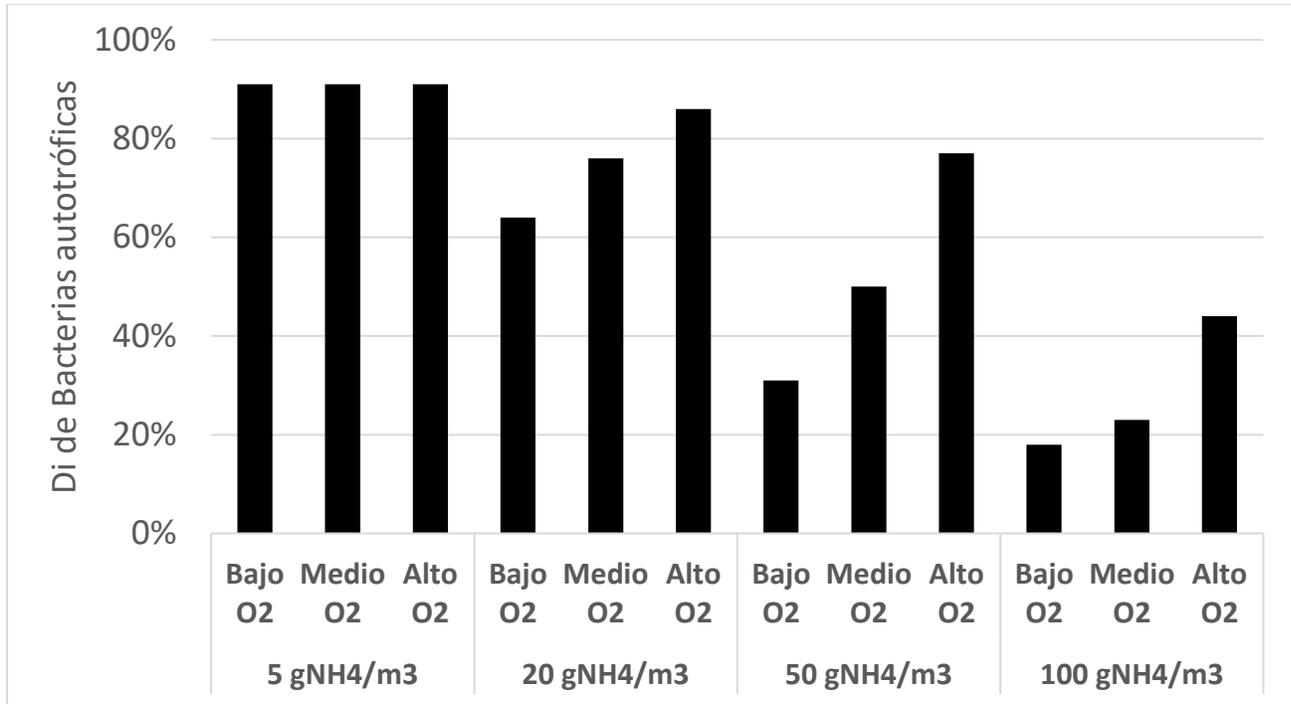


Figura 4.23 Disminuciones en la población de bacterias autotróficas debido a depredación

### 4.7.3. Porcentajes de vacíos en biopelícula Monoespecie

En la Figura 4.24 se puede observar que, para bajas concentraciones de ( $5 \text{ gNH}_4/\text{m}^3$  y  $20 \text{ gNH}_4/\text{m}^3$ ), casi toda la biopelícula presenta porcentajes elevados de vacíos, superiores al 69%. Esto se debe a que estas concentraciones de amonio son insuficientes para compensar la pérdida de biomasa causada por la depredación. Además, se observa que, para concentraciones más altas ( $50 \text{ gNH}_4/\text{m}^3$  y  $100 \text{ gNH}_4/\text{m}^3$ ), en combinación con altas concentraciones de oxígeno, los vacíos vuelven a aumentar posiblemente al fortalecimiento de los depredadores favorecido por la abundancia de oxígeno.

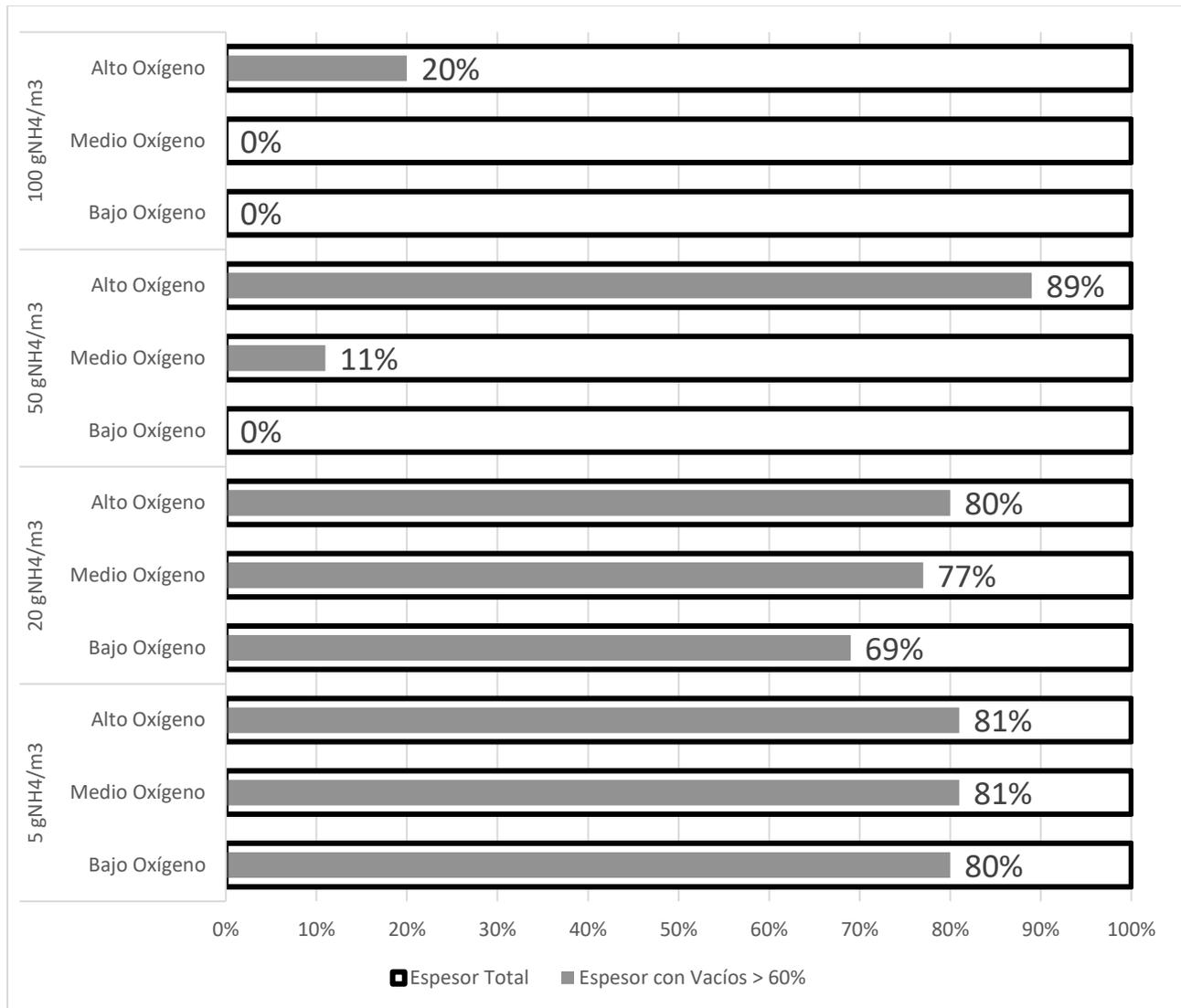


Figura 4.24 Espesores basales de la Biopelícula Monoespecie con vacíos sobre el 60%

#### 4.7.4. Remociones de NH<sub>4</sub> en biopelícula Monoespecie

En la Figura 4.25 se presentan las remociones de amonio para casos con y sin depredación, se puede observar que a concentraciones de 5 gNH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> y 20 gNH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> el amonio es removido casi en su totalidad. Esto se puede explicar al analizar las concentraciones de amonio, las cuales serían limitantes en el sistema, bajo las condiciones ensayadas. Luego observamos que a 50 gNH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> y 100 gNH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> las remociones de NH<sub>4</sub> van aumentando a medida que hay mayor disponibilidad de oxígeno.

Con respecto al efecto de los depredadores en la remoción de amonio, en la Figura 4.26 se puede observar que las diferencias son menores al 10% y que las remociones de amonio son siempre mejores

sin depredadores. Sin embargo, es necesario revisar los casos etiquetados como "Con riesgo de desprendimiento", ya que, según lo visto en la Figura 4.24, estos casos presentaban una proporción significativa de vacíos en la base de la biopelícula, con más del 69%, lo cual los deja potencialmente susceptibles a sufrir un desprendimiento y perder así la capacidad de remoción de amonio

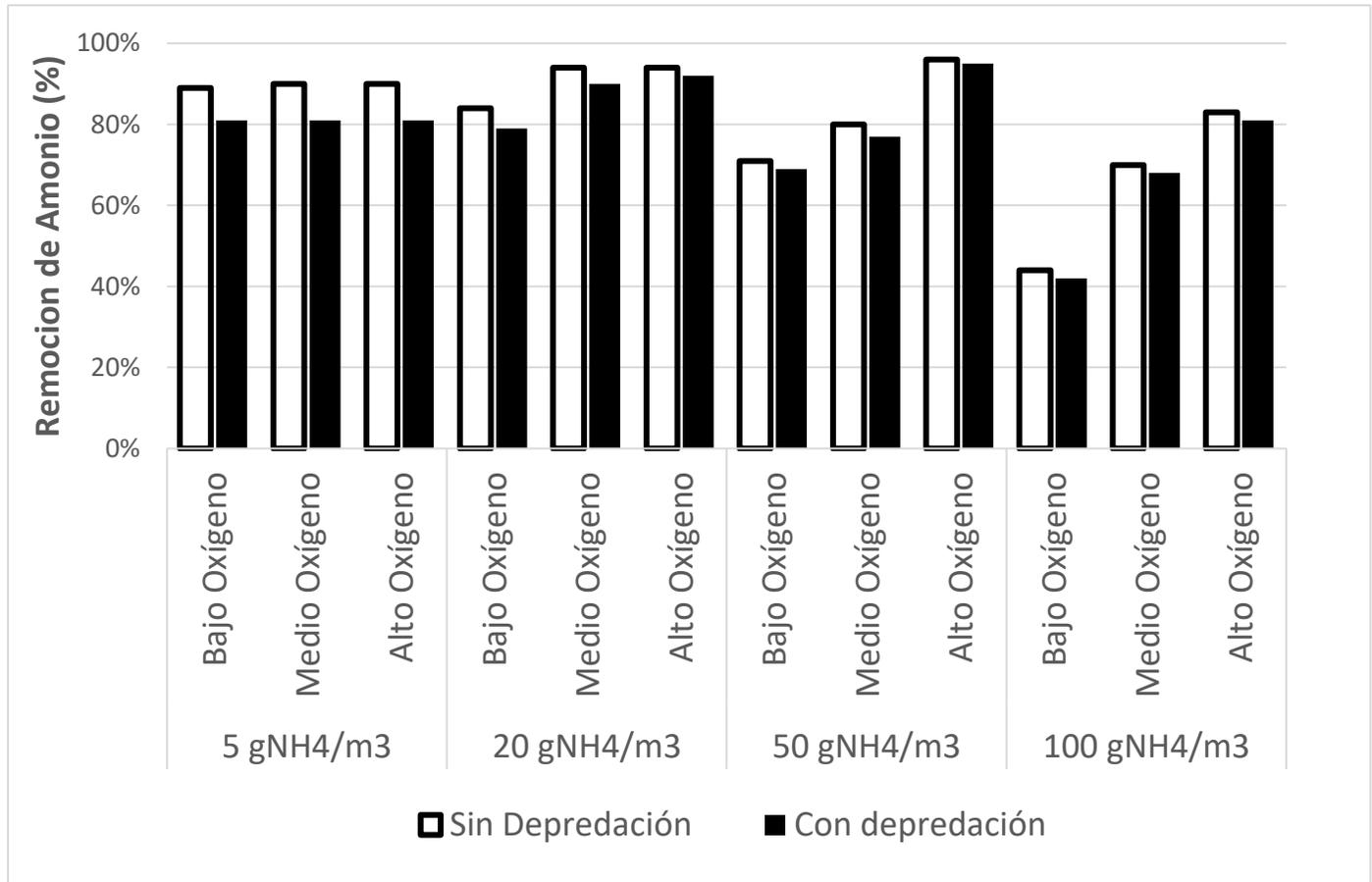


Figura 4.25 Remoción de amonio en biopelícula Monoespecie frente a variaciones en la concentración de amonio y oxígeno

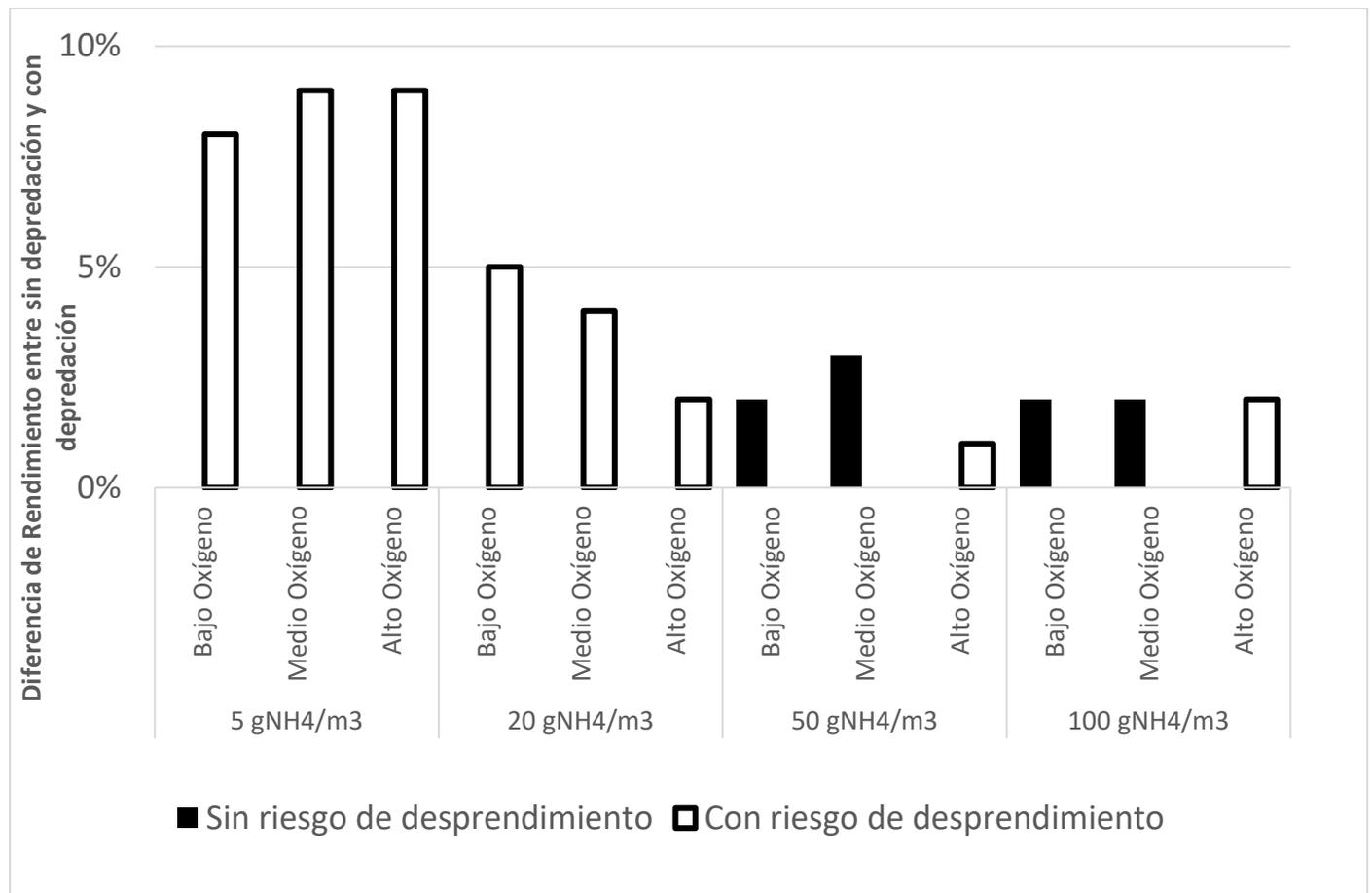


Figura 4.26 Diferencia de remoción de amonio entre la condición Sin depredación y Con depredación para biopelícula Monoespecie

## 5. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se desarrolló un modelo matemático capaz de predecir apropiadamente el efecto de la depredación de los protozoos en el desempeño de los reactores MABR. La similitud de las predicciones de remoción realizadas por nuestro modelo con los resultados experimentales de las investigaciones realizadas por Yi Li *et al.* (2017), Kim *et al.* (2022) y Shaowei *et al.* (2007) permite confirmar la adecuada construcción de nuestro modelo. Las comparaciones entre las predicciones del modelo y los resultados de estos estudios demuestran que nuestro modelo es capaz de predecir de manera precisa las remociones observadas en los experimentos de laboratorio, y las diferencias observadas se pueden deber a la representación simplificada del MABR (reactor, disposición de membranas, propiedades de los materiales, etc.); a los valores promedios de los espesores de biopelículas adoptados (cuando se sabe que en la realidad el espesor es heterogéneo en su extensión); a la variabilidad de las concentraciones de entrada y salida (para efectos de la comparación se determinaron valores promedios de las concentraciones de entrada y salida de laboratorio), junto con las propias limitaciones del modelo que corresponden a que es una modelación unidimensional; a que los parámetros cinéticos junto con los procesos estequiométricos fueron obtenidos desde condiciones de crecimiento suspendido en vez de condiciones de crecimiento por biopelículas, además de considerar condiciones ideales de temperatura, pH y salinidad (entre otros); la representación del proceso de nitrificación en un solo paso de amonio a nitrato omitiendo la consideración explícita del paso intermedio de amonio a nitrito.

En cuanto a configuración del modelo desarrollado para evaluar el impacto de los depredadores en los reactores MABR, en esta investigación se puede concluir que:

### Biopelícula Multiespecie

- Con respecto a la población tanto de bacterias heterotróficas como autotróficas se puede decir que los depredadores siempre disminuyeron la abundancia de las bacterias heterotróficas y autotróficas dentro de la biopelícula. Este efecto se vio intensificado para las condiciones de 50 mgCOD/L tanto para bacterias heterotróficas, como autotróficas. Con respecto a las bacterias heterotróficas, esto se debe a la poca disponibilidad de COD para reponer la biomasa perdida producto de la depredación, causando diferencias promedio de la población del -52% en comparación con el escenario sin depredación. mientras que, para las bacterias autotróficas,

se registraron disminuciones sobre el -40% con respecto a la condición sin depredadores, debido a que, la limitación de COD favorece a la proliferación de bacterias autótrofas, por ende, hay mayor población que puede ser afectada. Adicionalmente, a medida que aumentaba la disponibilidad de oxígeno, el efecto de la depredación se volvía más perjudicial debido al fortalecimiento de los depredadores. Estos organismos aeróbicos encontraban un hábitat más extenso dentro de la biopelícula, lo cual se reflejaba en una mayor abundancia de vacíos en la estructura. Este análisis se basa en el supuesto que las biopelículas no se desprenden producto de los vacíos en la superficie provocados por depredadores, ya que, si el modelo pudiese incluir el desprendimiento por alto porcentaje de vacíos, en casos con altas concentraciones de oxígeno y bajas concentraciones de amonio, las poblaciones de bacterias podrían verse negativamente afectadas (serían físicamente desprendidas de la superficie de la membrana).

- Si bien los depredadores no tienen un gran impacto en la remoción de contaminantes, si generan vacíos importantes en la base que podría resultar en un desprendimiento masivo de biomasa, perdiendo así la capacidad de remoción de contaminantes del MABR. Se registró que el 63% de los casos poseían en cierta porción inicial de la biopelícula un porcentaje de vacíos superior al 60%. Esto se relaciona con la investigación de Kim *et al.*, 2020, ya que, las biopelículas que estaban bajo la presencia de depredadores, las cuales vieron disminuidas sus propiedades mecánicas, poseían una fracción de vacíos de  $69 \pm 6\%$ .

#### Biopelícula Monoespecie

- En cuanto al efecto provocado por los depredadores en la abundancia de las bacterias autótrofas, se observaron disminuciones sobre el 80% y 60% para las concentraciones de  $5\text{mgNH}_4/\text{L}$  y  $20\text{mgNH}_4/\text{L}$  respectivamente. Esto se debe a la baja disponibilidad de amonio en el sistema para poder reponer la biomasa perdida producto de la depredación. Adicionalmente se observó que el oxígeno favorece la acción de los depredadores, por lo que un aumento de este sustrato implica una mayor disminución de bacterias.

Si bien el efecto de los depredadores no afecta significativamente la remoción de amonio, su presencia genera vacíos significativos en la base de la biopelícula, lo que podría dar lugar a un desprendimiento masivo de biomasa y, como resultado, afectar la capacidad del MABR para remover contaminantes. Se observó que aproximadamente el 75% de los casos presentaban

una porción inicial de la biopelícula con un alto porcentaje de vacíos, superando el 69%. Esto destaca el papel modulador de los depredadores en la biopelícula y sus implicancias en la remoción de amonio y materia orgánica en un sistema MABR.

## Referencias

- Ahmed, T., Semmens, M. J., & Voss, M. A. (2004). Oxygen transfer characteristics of hollow-fiber, composite membranes. *Advances in Environmental Research*, 8(3-4), 637-646.
- Andrew Williams. (2017). *The Rise of MABR Technology: Is the Future Bubbleless?*. WaterWorld <https://www.waterworld.com/international/wastewater/article/16201158/the-rise-of-mabr-technology-is-the-future-bubbleless>
- Aybar, M., Perez-Calleja, P., Li, M., Pavissich, J. P., & Nerenberg, R. (2019). Predation creates unique void layer in membrane-aerated biofilms. *Water research*, 149, 232-242.
- Baek, S. H., Jeon, S. K., & Pagilla, K. (2009). Mathematical modeling of aerobic membrane bioreactor (MBR) using activated sludge model no. 1 (ASM1). *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15(6), 835-840.
- Böhme, A., Risse-Buhl, U., Küsel, K., (2009). Protists with different feeding modes change biofilm morphology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 69(2), 158–169.
- Eawag. (s. f.). Department Systems Analysis, Integrated Assessment and Modelling. [www.eawag.ch](http://www.eawag.ch). Recuperado 24 de marzo de 2021, de <https://www.eawag.ch/en/department/siam/software/>
- Grand View Research. (s.f). Secondary Water & Wastewater Treatment Equipment Market Size, Share & Trends Analysis Report By Technology (Activated Sludge, Sludge Treatment), By Application, By Region, And Segment Forecasts, 2020 – 2027. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/secondary-water-wastewater-treatment-equipment-market>
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., & van Loosdrecht, M. C. (2000). *Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3*. IWA publishing.
- Jürgens, K., & Matz, C. (2002). Predation as a shaping force for the phenotypic and genotypic composition of planktonic bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1-4), 413-434.
- Kim, B., Perez-Calleja, P., Li, M., & Nerenberg, R. (2020). Effect of predation on the mechanical properties and detachment of MABR biofilms. *Water Research*, 186, 116289.
- Kim, B., & Nerenberg, R. (2022). Effects of eukaryotic predation on nitrifying MABR biofilms. *Water research*, 209, 117911.
- Lee, N. M., & Welander, T. (1994). Influence of predators on nitrification in aerobic biofilm processes. *Water Science and Technology*, 29(7), 355-363.

- Lee, N. M., & Welander, T. (1996). Reducing sludge production in aerobic wastewater treatment through manipulation of the ecosystem. *Water Research*, 30(8), 1781-1790.
- Madoni, P. (2011). Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview. *Italian Journal of Zoology*, 78(1), 3-11.
- Martin, K. J., & Nerenberg, R. (2012). The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: principles, applications, and recent developments. *Bioresource technology*, 122, 83-94.
- Moussa, M. S., Hooijmans, C. M., Lubberding, H. J., Gijzen, H. J., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2005). Modelling nitrification, heterotrophic growth and predation in activated sludge. *Water research*, 39(20), 5080-5098.
- Nerenberg, R. (2016). The membrane-biofilm reactor (MBfR) as a counter-diffusional biofilm process. *Current opinion in biotechnology*, 38, 131-136.
- ONU. (21 de Marzo 2022) Saneamiento. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sanitation#:~:text=Cerca%20de%20829%20000%20personas,total%20de%20m uertes%20por%20diarrea>.
- Pankhania, M., Stephenson, T., & Semmens, M. J. (1994). Hollow fibre bioreactor for wastewater treatment using bubbleless membrane aeration. *Water research*, 28(10), 2233-2236.
- Perez-Calleja, P., Aybar, M., Picioleanu, C., Esteban-Garcia, A. L., Martin, K. J., & Nerenberg, R. (2017). Periodic venting of MABR lumen allows high removal rates and high gas-transfer efficiencies. *Water research*, 121, 349-360.
- Reardon, D. J. (1995). Turning down the power. *Civil Engineering—ASCE*, 65(8), 54-56.
- Reichert, P. (1994). AQUASIM-A tool for simulation and data analysis of aquatic systems. *Water Science and Technology*, 30(2), 21.
- Revilla, M., Galán, B., & Viguri, J. R. (2016). An integrated mathematical model for chemical oxygen demand (COD) removal in moving bed biofilm reactors (MBBR) including predation and hydrolysis. *Water research*, 98, 84-97.
- Rittmann, B. E., & McCarty, P. L. (2001). *Environmental biotechnology: principles and applications*. McGraw-Hill Education.
- Rychert, K., & Neu, T. (2010). Protozoan impact on bacterial biofilm formation. *Biological Letters*, 47(1), 3-10
- Sauer, K. (2003). The genomics and proteomics of biofilm formation. *Genome biology*, 4(6), 1-5.

- Shaowei, H. U., Fenglin, Y. A. N. G., Cui, S. U. N., Zhang, J., & Tonghua, W. A. N. G. (2008). Simultaneous removal of COD and nitrogen using a novel carbon-membrane aerated biofilm reactor. *Journal of Environmental Sciences*, 20(2), 142-148.
- Saroj, D. P. (2008). Application and operational optimization of membrane bioreactors for municipal wastewater treatment.
- Semmens, M. J. (2005). *Membrane technology: pilot studies of membrane-aerated bioreactors*. Alexandria, USA: Water Environment Research Foundation.
- Super Intendencia de Servicios Sanitarios. (2019). *Informe de gestión del sector sanitario*. <https://www.siss.gob.cl/586/w3-article-17953.html>
- Sutherland, I. W. (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147(1), 3-9.
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L., & Stensel, H. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4th edn, 983–1027.
- Timberlake, D. L., Strand, S. E., & Williamson, K. J. (1988). Combined aerobic heterotrophic oxidation, nitrification and denitrification in a permeable-support biofilm. *Water research*, 22(12), 1513-1517.
- Weitere, M., Erken, M., Majdi, N., Arndt, H., Norf, H., Reinshagen, M., ... & Wey, J. K. (2018). The food web perspective on aquatic biofilms. *Ecological Monographs*, 88(4), 543-559.
- Wu, J., & Zhang, Y. (2017). Evaluation of the impact of organic material on the anaerobic methane and ammonium removal in a membrane aerated biofilm reactor (MABR) based on the multispecies biofilm modeling. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1677-1685.
- Zhu, B., Yang, J., Wu, Y., Wang, H., Guo, L., Xie, M., ... & Zhang, Z. (2018, December). Modelling nitrogen removal performance of membrane aerated biofilm reactor by AQUASIM software. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 208, No. 1, p. 012117). IOP Publishing.

## ANEXOS

### Cinética microbiana

A continuación, se definen las ecuaciones de la cinética microbiana, basada en la información entregada en Rittmann, B. E., y McCarty, P. L. (2001). Environmental biotechnology: principles and applications. McGraw-Hill Education.

Los modelos de los procesos microbianos requieren de un balance entre la biomasa activa y los sustratos que limitan el crecimiento. Un término ampliamente usado para representar la cinética de los microorganismos de crecimiento rápido es la ecuación de Monod, la cual entrega la tasa específica de crecimiento en base a los sustratos limitantes, la cual se define de la forma:

$$\mu_{síntesis} = \left( \frac{1}{X_a} \frac{dX_a}{dt} \right)_{síntesis} = \mu' \frac{S_1}{K_1 + S_1} \frac{S_2}{K_2 + S_2}$$

Donde;

- $\mu_{síntesis}$ : tasa de crecimiento específico debido a la síntesis de biomasa ( $T^{-1}$ )
  - $X_a$ : concentración de biomasa activa ( $M_{X_a} L^{-3}$ )
  - $t$ : tiempo (T)
  - $S_1$ : concentración de sustrato limitante 1 ( $M_{sustrato\ limitante\ 1} L^{-3}$ )\*
  - $S_2$ : concentración de sustrato limitante 2 ( $M_{sustrato\ limitante\ 2} L^{-3}$ )\*
  - $\mu'$ : tasa de crecimiento máximo ( $T^{-1}$ )
  - $K$ : concentración de semisaturación ( $M_{sustrato\ limitante} L^{-3}$ )
- \* La cantidad de sustratos limitantes dependerá de la definición de cada sistema.

Adicionalmente, para representar el decaimiento endógeno de los microorganismos, se define de la siguiente manera:

$$\mu_{decaimiento} = \frac{1}{X_a} \frac{dX_a}{dt}_{decaimiento} = -b$$

Donde;

- $\mu_{decaimiento}$ : tasa de crecimiento debido al decaimiento ( $T^{-1}$ )
- $b$ : coeficiente endógeno de decaimiento

Es importante mencionar que no toda la biomasa que sufre el decaimiento se pierde, parte de ella es oxidada para generar energía para los procesos de mantenimiento, y sólo una pequeña fracción se acumula como biomasa inerte. La tasa de oxidación de biomasa inerte, o la respiración para la generación de energía se expresa como:

$$\left(\frac{1}{X_a} \frac{dX_a}{dt}\right)_{respiración} = -f_d b$$

Donde;

- $f_d$ : Fracción de biomasa activa que es biodegradable

La tasa con la cual la biomasa activa es convertida a biomasa inerte es la diferencia entre la tasa general de decaimiento y la tasa de oxidación de biomasa inerte, expresada de la forma:

$$-\frac{1}{X_a} \frac{dX_i}{dt} = \left(\frac{1}{X_a} \frac{dX_a}{dt}\right)_{inerte} = -(1 - f_d)b$$

Donde;

- $X_i$ : concentración inerte de biomasa ( $M_{X_i} L^{-3}$ )

Luego, la tasa específica de crecimiento de biomasa activa ( $\mu$ ) es la suma entre el nuevo crecimiento y el decaimiento:

$$\mu = \frac{1}{X_a} \frac{dX_a}{dt} = \mu_{síntesis} + \mu_{decaimiento} = \mu' \frac{S}{K + S} - b$$

Como el crecimiento de biomasa es producto en parte por la alimentación del sustrato, la tasa de utilización de sustrato y la tasa de crecimiento de biomasa están conectadas mediante;

$$\mu = qY$$

Donde;

- $q$ : tasa máxima de utilización de sustrato ( $M_{sustrato} M_{microorganismo}^{-1} T^{-1}$ )
  - $Y$ : Rendimiento verdadero para la síntesis celular ( $M_{sustrato}^{-1} M_{microorganismo}$ )\*
- \*Representa la fracción del donador de electrones convertido en electrones de biomasa durante la síntesis de nueva biomasa.

### Matriz estequiométrica

De forma general, en este apartado, se explicará la obtención de los coeficientes estequiométricos para la confección de la matriz estequiométrica. Los coeficientes estequiométricos y tasas de reacción utilizados en esta tesis se basaron en los ocupados en las investigaciones de Shanahan and Semmens. (2004), Henze *et al.* (2000), y Moussa *et al.* (2005). Para ejemplificar la obtención de los coeficientes, se realizará el procedimiento para el crecimiento de bacterias autotróficas en condiciones aeróbicas.

Los coeficientes estequiométricos proveen una relación cuantitativa entre los compuestos químicos y los microorganismos. Como ya se mencionó en el apartado Cinética microbiana, la tasa de crecimiento específico es igual a la tasa de síntesis de biomasa más la tasa de decaimiento. Considerando el caso de crecimiento aeróbico de bacterias heterotróficas, en donde se considera que los sustratos como el oxígeno, COD, y amonio (este último para la síntesis celular) actúan como sustratos limitantes, la tasa de crecimiento específico queda de la forma:

$$= 1 * \mu_H \frac{S_{COD}}{K_{COD} + S_{COD}} * \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} * \frac{S_{NH_4^+}}{K_{NH_4^+}^H + S_{NH_4^+}} * X_H - 1 * b_H X_H$$

Además, de la formula anterior se extrae que el coeficiente estequiométrico que acompaña a  $X_H$  en el crecimiento de bacterias heterotróficas es “1”, y pasa el caso del decaimiento “-1”.

Teniendo en consideración que la tasa de utilización de sustrato ( $q$ ) y la tasa de crecimiento de biomasa ( $\mu$ ) están relacionadas mediante el rendimiento ( $Y_H$ ), se tiene que dividiendo la tasa de crecimiento por el rendimiento da la tasa de consumo del donador de electrones  $r(S_{COD})$ , resultando en un coeficiente estequiométrico de  $-\frac{1}{Y_H}$ ;

$$r(S_{\text{COD}}) = -\frac{1}{Y_H} * \mu_H \frac{S_{\text{COD}}}{K_{\text{COD}} + S_{\text{COD}}} * \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2}^H + S_{\text{O}_2}} * \frac{S_{\text{NH}_4^+}}{K_{\text{NH}_4^+}^H + S_{\text{NH}_4^+}} * X_H$$

Para obtener el coeficiente estequiométrico para la tasa de consumo de amonio, se multiplica el contenido de nitrógeno en la biomasa ( $i_{xb}$ ) por la tasa de crecimiento, obteniendo un coeficiente estequiométrico de  $-i_{xb}$ :

$$r(S_{\text{NH}_4^+}) = -i_{xb} * \mu_H \frac{S_{\text{COD}}}{K_{\text{COD}} + S_{\text{COD}}} * \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2}^H + S_{\text{O}_2}} * \frac{S_{\text{NH}_4^+}}{K_{\text{NH}_4^+}^H + S_{\text{NH}_4^+}} * X_H$$

En el caso de la tasa de utilización de oxígeno, hay que utilizar factores de conversión entre el donador de electrones y el aceptor de electrones, debido a que el rendimiento ( $Y_H$ ) está en base al donador de electrones. Sabemos que el oxígeno es utilizado para oxidar la COD, la cual es en parte utilizada para la creación de biomasa, y otra porción utilizada para la producción de energía, por lo que queda la tasa de utilización de oxígeno ( $r(S_{\text{O}_2})$ ) queda expresada mediante:

$$= -\alpha \frac{1}{Y_H} * \mu_H \frac{S_{\text{COD}}}{K_{\text{COD}} + S_{\text{COD}}} * \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2}^H + S_{\text{O}_2}} * \frac{S_{\text{NH}_4}}{K_{\text{NH}_4}^H + S_{\text{NH}_4}} * X_H + \alpha\beta * \mu_H \frac{S_{\text{COD}}}{K_{\text{COD}} + S_{\text{COD}}} * \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2}^H + S_{\text{O}_2}} * \frac{S_{\text{NH}_4}}{K_{\text{NH}_4}^H + S_{\text{NH}_4}} * X_H$$

Donde;

- $\alpha$ : relaciona el donador de electrones con el aceptor de electrones, el primer término de la ecuación expresa que todo el donador de electrones es utilizado como energía
- $\beta$ : relaciona la cantidad de biomasa con la cantidad del donador de electrones, por lo que la segunda parte de la ecuación,  $\alpha\beta$  al multiplicar la tasa de crecimiento, expresa la cantidad del aceptor de electrones utilizado para convertir cierta cantidad de energía para realizar la síntesis de biomasa

Para el caso del crecimiento de bacterias heterotróficas bajo condiciones aeróbicas, se sabe que 8 gramos de COD son equivalentes a 8 gramos de oxígeno por electrón equivalente, por lo que  $\alpha=1$ , y que, por gramo de COD se necesitan 8 electrones equivalentes, y que 8 gramos de COD son necesarios

por electrón equivalente en la formación de biomasa, por lo que  $\beta=1$ . Por lo que el coeficiente estequiométrico para tasa de utilización de oxígeno queda finalmente expresado por:

$$r(S_{O_2}) = -\frac{1 - Y_H}{Y_H} * \mu_H \frac{S_{COD}}{K_{COD} + S_{COD}} * \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} * \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4}^H + S_{NH_4}} * X_H$$

Para expresar la tasa de vacíos “rellenados” por el crecimiento de bacterias, se utiliza el coeficiente estequiométrico es “ $P_d$ ”, donde  $P_d$  es la fracción adimensional que representa la cantidad de biomasa que reemplaza a la variable particulada de vacíos ( $X_V$ ), expresándose como:

$$r(X_V) = -p_d * \mu_H \frac{S_{COD}}{K_{COD} + S_{COD}} * \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} * \frac{S_{NH_4^+}}{K_{NH_4^+}^H + S_{NH_4^+}} * X_H$$

Finalmente, para expresar la tasa de producción de particulados inertes ( $X_i$ ), se multiplica el contenido inerte en la lisis de biomasa ( $F_i$ ) por la tasa de decaimiento, expresándose como:

$$r(F_i) = F_i * b_H X_H$$

# UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN – FACULTAD DE INGENIERÍA

## RESUMEN DE TESIS DE MAGÍSTER

<b>Departamento</b>	: Departamento de Ingeniería Civil
<b>Carrera</b>	: Ingeniería Civil
<b>Nombre del memorista</b>	: Micaela Rocío Martínez Marín
<b>Título de la memoria</b>	: SIMULACIÓN MATEMÁTICA DEL EFECTO DE LA DEPREDACIÓN POR PROTOZOOS EN EL DESEMPEÑO DE REACTORES DE MEMBRANA BASADOS EN BIOPELÍCULAS (MABRs)
<b>Fecha de la presentación oral</b>	: Abril 2023
<b>Profesor(es) Guía</b>	: Marcelo Aybar Lagos
<b>Profesor(es) Revisor(es)</b>	: Alex Schwarz Kusch
<b>Concepto</b>	:
<b>Calificación</b>	:

### Resumen

El agua hoy en día es un recurso fundamental debido a su uso transversal en las actividades humanas. Para que el agua sea segura desde el punto de vista sanitario, se debe procurar su descontaminación. Dentro de un proceso de tratamiento de aguas residuales, la etapa de remoción de contaminantes disueltos se logra generalmente a través del tratamiento biológico el cual utiliza bacterias que consumen algunos de los contaminantes disueltos en agua para sus procesos metabólicos. Existen diversos tipos de biorreactores que cumplen esta función, este trabajo se concentró en el biorreactor aireado por membrana (MABR), debido a sus ventajas frente a las tecnologías tradicionales, tales como sus altos rendimientos en utilización de gases, alta densidad de bacterias y reducción de desechos sólidos. Los MABR han sido estudiados principalmente en la optimización de condiciones operacionales y las limitaciones en transferencia de masa, pero pocos estudios han ahondado sobre las implicancias de los microorganismos dentro del reactor, es por esto, que, en este estudio, se presenta un modelo matemático de un MABR programado en el Software AQUASIM 2.1, en donde por primera vez se incluyen bacterias autotróficas, bacterias heterotróficas y la acción de depredadores (protozoos). Se cree que los protozoos que habitan en las biopelículas causan un efecto significativo en el rendimiento de remoción de contaminantes. Biopelículas multiespecie y monoespecie fueron analizadas bajo diferentes condiciones operacionales, las cuales fueron evaluadas con el objetivo de analizar las interacciones entre los microorganismos y el efecto en la remoción de contaminantes tales como la COD y amonio, además, el modelo fue sometido a un proceso de validación en base a los resultados experimentales de investigaciones anteriores de grupos de investigación externos. Los resultados indican que el modelo evalúa satisfactoriamente los rendimientos de remoción de contaminantes al compararse con los resultados experimentales. Además, se observó que los depredadores tanto en las biopelículas monoespecie como multiespecie, frente a limitaciones de amonio y disponibilidad de oxígeno, generan vacíos importantes en la zona de adherencia de la biopelícula, que pueden extenderse hasta valores del 80% del espesor de la biopelícula, lo cual puede causar el desprendimiento de la biomasa y perjudicar así la remoción de contaminantes. Adicionalmente, en biopelículas multiespecie, se observó que, en ciertos casos con condiciones en donde existían zonas anóxicas, aeróbicas y disponibilidad de amonio, las bacterias autotróficas predominaban en la base de la biopelícula, siendo fuertemente perjudicadas por los depredadores, producto de compartir la zona aeróbica, mientras que, las bacterias heterotróficas quedarían resguardadas en la zona anóxica.