

## Adición de zeolita en reactor EGSB para el tratamiento de aguas residuales porcinas

### Addition of zeolite in EGSB reactor for the treatment of swine wastewater



<http://opn.to/a/joiM7>

Tania Pérez-Pérez <sup>1\*</sup>, Ileana Pereda-Reyes <sup>2</sup>, Gleyce Teixeira Correia <sup>3</sup>, Eloisa Pozzi <sup>4</sup>, Wu Hong Kwong <sup>3</sup>, Deny Oliva-Merencio <sup>5</sup>, Marcelo Zaiat <sup>4</sup>

**RESUMEN:** En la presente investigación se evaluó el efecto de la adición de zeolita en un reactor anaerobio de lecho granular expandido (EGSB) para el tratamiento de aguas residuales porcinas a altas cargas orgánicas volumétricas (COV). Los resultados de los estudios demostraron que la presencia de la zeolita no afectó la hidrodinámica del EGSB, ajustando al modelo de tanques en serie. En el proceso anaerobio se operaron dos reactores (R1 y R2) con volumen efectivo de 3,04 L a temperatura controlada de 30°C. El tiempo de retención hidráulica (TRH) fue de 12 horas obtenido con un flujo de alimentación de 4 mL/min. En el caso del reactor 2 (R2) se añadieron 120 g de zeolita. Primeramente se evaluó estrategia de choque de carga orgánica (SCO) con velocidad ascensional ( $v_a$ ) constante e igual a 6 m/h durante 180 días. Se analizaron los parámetros de operación y eficiencia (pH, alcalinidad, demanda química de oxígeno y ácidos grasos volátiles), así como la dinámica y composición microbiana durante el período operacional. El reactor con inclusión de zeolita mostró una mayor estabilidad alcanzando eficiencia de un 80% a 32 kgDQO/m<sup>3</sup>d. Posteriormente, se evaluó una estrategia de incremento gradual de carga orgánica y aumento de la velocidad ascensional hasta 10 m/h por un período de 255 días. En este estudio se observó una tendencia nunca antes reportada al incrementar su eficiencia hasta el 90% y lograr mayor velocidad de degradación orgánica. Se puede asegurar que la adición de 40 g/L de zeolita al EGSB, permitió la estabilidad del sistema y su robustez ante variaciones en las condiciones operacionales, con cambios favorables en la diversidad microbiana.

**Palabras clave:** Carga orgánica volumétrica (COV), digestión anaerobia, reactor anaerobio de lecho granular expandido (EGSB), zeolita.

**ABSTRACT:** The effect of zeolite addition in an expanded granular sludge bed anaerobic reactor (EGSB) for the treatment of swine wastewater at high organic loading rates (OLR) was evaluated. The results showed that the presence of the zeolite did not affect the hydrodynamics of the EGSB, adjusting the model of tanks in series. Two reactors (R1 and R2) were operated with effective volume of 3.04 L at 30°C. Reactor 1 was operated only with granular sludge while 120 g of zeolite (5 cm of

Recibido: 19/05/2018

Aprobado en su forma original: 03/05/2019

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia Animal (ICA), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

<sup>2</sup>Centro de Estudio de Ingeniería de Procesos (CIPRO), Facultad de Ingeniería Química, Instituto Superior Politécnico Jose A. Echeverría, Calle 114 No 11901 e/ Ciclo vía y Rotonda. Marianao. La Habana. Cuba

<sup>3</sup>PhD do Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, SP, Brasil

<sup>4</sup>Laboratório de Processos Biológicos-LPB Centro de Pesquisa, desenvolvimento e inovação em engenharia ambiental- CPDI-EA. Escola de Engenharia de São Carlos- EESC, Universidade de São Paulo- USP. Av. João Dagnone 1100- Santa Angelina 13.563-120-São Carlos, SP, Brasil

<sup>5</sup>Centro de Estudios de Tecnologías Energéticas Renovables (CETER), Facultad de Ingeniería Mecánica, Instituto Superior Politécnico Jose A. Echeverría, Calle 114 No. 11901 e/ Ciclo vía y Rotonda. Marianao. La Habana. Cuba

\*Autor para correspondencia: Tania Pérez-Pérez: E-mail: [taniap@ica.co.cu](mailto:taniap@ica.co.cu)

static bed) were added in R2. Theoretical hydraulic retention time (HRT) was 12 hours, obtained with an influent flow rate of 4.0 mL/min. Firstly; an organic load shock (OLS) strategy with constant up-flow velocity ( $v_{up}$ ) of 6 m/h for 180 days was evaluated. The evolution of pH, Total Kjeldahl Nitrogen (TKN), Chemical Oxygen Demand (COD) and volatile fatty acids (VFAs) was monitored during the anaerobic digestion process with OSL and the increase of the organic loading rate (OLR). In addition, the microbial composition and the changes in bacterial and archaeal community structures were assessed. The reactor with zeolite addition showed a higher stability at high OLR reaching efficiency of 80% at 32 kgDQO/m<sup>3</sup>d. Subsequently, gradual increase of both OLR and the up-flow velocity to 10 m/h for a period of 255 days was evaluated. In this study, a trend never before reported was observed, increasing its efficiency to 90% and achieving a higher rate of organic degradation. It can be ensured that the addition of 40 g/L zeolite to the EGSB allowed the higher stability of the system with robustness when varying the operational conditions. Moreover, changes in microbial diversity were observed.

**Keywords:** Anaerobic digestion, expanded granular sludge bed reactor (EGSB), organic loading rate (OLR), zeolite.

## INTRODUCCIÓN

En el ámbito mundial, la cría de cerdos aporta aproximadamente el 37% de la proteína animal consumida en todo el mundo ([McGlone, 2013](#)). Una de las prioridades de la Revolución ha sido la alimentación del pueblo y se han desarrollado, varios programas para garantizar la producción de los renglones necesarios en la dieta alimenticia, fundamentalmente aquella vinculada al consumo de carne animal.

Durante las últimas décadas se ha desarrollado un amplio esquema dirigido a aumentar la producción porcina. Como resultado, en los últimos diez años la producción de carne se ha duplicado y en el año 2016 la producción aproximada fue de 194 976 toneladas ([Martín, 2017](#)).

Es evidente que este incremento conlleva a un aumento sustancial en la generación de residuales porcinos y un mayor riesgo de sufrir afectaciones asociadas al mal tratamiento y deficiente disposición final de los mismos ([Abouelenien et al., 2014](#); [Fernández-López et al., 2015](#)).

La eliminación inadecuada de estos desechos provoca elevada contaminación, incluyendo aguas subterráneas, problemas de olor, contaminación por patógenos y emisiones de gases de efecto invernadero; principalmente por elevadas concentraciones de nitratos, fósforo y sólidos suspendidos (SS) ([Xu et al., 2016](#)).

El reactor de lecho granular expandido (EGSB) se estableció para resolver los problemas de cortocircuitos hidráulicos, zonas muertas y flujos preferenciales que existen en los UASB.

Para proveer una mayor mezcla hidráulica, el EGSB trabaja con velocidades ascensionales superiores a la de los UASB y como consecuencia de esto, algunos autores refieren que son capaces de soportar mayores cargas orgánicas volumétricas y tratar volúmenes superiores de aguas residuales ([Kato et al., 1994](#); [Seghezzo et al., 1998](#); [Nicolella et al., 2000](#)).

Con estos reactores se han tratado de manera eficiente diversos efluentes ([Fang et al., 2011a,b](#); [Liao et al., 2014](#); [Delforno et al., 2014](#); [Lafita et al., 2015](#); [Ambuchi et al., 2016](#)).

Desde hace muchos años, las zeolitas se han reconocido por sus propiedades físicas y químicas atractivas. Son de gran interés para la comunidad científica, sobre todo porque existen en depósitos ampliamente explotables y debido a su estructura y propiedades físicas, son ideales para los procesos de purificación biológica de aguas residuales ([Zheng et al., 2015](#); [Ziganshina et al., 2015](#)).

Aunque existen pocos estudios que utilizan el reactor EGSB para el tratamiento de residuales porcino, los resultados hasta el momento indican que es necesario un postratamiento, debido a la baja eliminación de materia orgánica obtenida. Por este motivo el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de zeolita natural como material soporte en un reactor EGSB para el tratamiento de aguas residuales porcinas a altas cargas orgánicas volumétricas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Unidad experimental

Un reactor, designado como control (R1), se operó sin adición de mineral, mientras que a R2 se le adicionó 120g de zeolita de un diámetro medio de partículas de 0,1511 mm. Las dimensiones del tubo eran de 0,96 m de altura y 0,05 m de diámetro y las del separador trifásico de 0,15 m de altura y 0,11 m de diámetro siendo el volumen efectivo de 3,04L. En el reactor se colocaron 6 puntos de muestreo. Se usaron pequeñas bolas de cristal en el fondo para garantizar una distribución homogénea del flujo. El tiempo de retención hidráulico teórico (TRH) fue de 12 horas, obtenido con un flujo de alimentación de 4,0 mL/min. Una bomba peristáltica **Gilson Minipuls 3** se utilizó para introducir el afluente por el fondo de la columna del reactor y para la recirculación del efluente se utilizó una bomba dosificadora de Diafragma (**Prominent**). La zeolita utilizada es natural purificada, proveniente del yacimiento Tasajeras de la provincia de Villa Clara, Cuba; la cual es una mezcla de aproximadamente 70% de clinoptilolita-heulandita, 5% de mordenita, 15% de anortita y 10% de cuarzo.

La alimentación fue con efluente sintético simulando las características del agua residual porcina. La composición inorgánica se basó en la propuesta de [Bergmann et al. \(2000\)](#) y la orgánica estuvo compuesta por carbohidratos (mezcla de sacarosa:almidón:celulosa), proteínas (extracto de malta) y lípidos (aceite emulsionado con detergente comercial) a una relación de 1,75:1,00:0,75, respectivamente.

### Efecto de la aplicación de choques de carga orgánica en la estabilidad de los reactores (Ensayo 1)

En este estudio el inóculo se obtuvo de un reactor UASB a gran escala que trata efluentes de matadero de aves (DACAR, Tieté, Sao Paulo, Brasil). El flujo de recirculación (Qr) fue aproximadamente de 200 mL/min, para lograr una velocidad ascensional en el tubo de 6 m/h. El tiempo de operación de los reactores fue de 90 días. Los primeros 40 días se utilizaron para la adaptación del lodo con una COV en el intervalo de 1,0-6,0 kgDQO/m<sup>3</sup>d. Con esta carga

comenzaron a aplicarse sucesivos choques de carga orgánica (SCO) durante 6 horas, unido al incremento de la misma.

### Evaluación del proceso a diferentes cargas orgánicas de operación con cambio en la velocidad ascensional (Ensayo 2)

En este estudio el inóculo se obtuvo de un reactor UASB a gran escala que trata efluentes de porcicultura (UNESP- Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil). Se utilizaron los primeros 50 días para la adaptación del lodo con una COV de 1-2 kgDQO/m<sup>3</sup>d. Se estudiaron dos velocidades ascensionales para evaluar las mejores condiciones de operación. Primero, se evaluó una velocidad ascensional de 6 m/h (Etapa 1), y la COV se aumentó de forma gradual (4, 8, 10 kgDQO/m<sup>3</sup>d). Posteriormente, se incrementó la velocidad ascensional a 10 m/h y se aplicaron COV de 10 y 15 kgDQO/m<sup>3</sup>d (Etapa 2).

### Técnicas analíticas

El pH se determinó con un pH-metro QX 1500 a dos puntos de calibración (4 y 7). Los análisis de sólidos totales (2540D) y demanda química de oxígeno (5220D) se realizaron de acuerdo al Standard Methods. La concentración de nitrógeno total se midió de acuerdo a la metodología de Kjeldahl con un Marconi MA 036, por digestión seguida de destilación y titración. La determinación de la alcalinidad total (AT), alcalinidad parcial (AP) y alcalinidad intermedia (AI) se realizó de acuerdo con la metodología de Dillalo y Albertson (1961) modificada por [Ripley \(1986\)](#). La cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) se realizó en columna Aminex HPX-87H (Biorad) para cuantificar los ácidos volátiles.

Los análisis microbiológicos (diámetro medio de los gránulos, DGGE, microscopía de fluorescencia y microscopía electrónica de barrido) se realizaron para verificar diferencias en el tamaño de los gránulos y los microorganismos presentes en el reactor en cada una de las etapas.

### Análisis estadístico

Las técnicas analíticas de los indicadores de eficiencia del proceso de digestión anaerobia se realizaron en triplicado. Para el análisis estadístico de las mismas se utilizó el software Infostat 2012 ([Di Rienzo et al., 2012](#)). Se realizó

análisis de varianza según modelo de clasificación simple. Se aplicó dócima LSD Fisher (1935) para  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ambos *Ensayos* los valores de pH se mantuvieron próximos a la neutralidad, aunque fueron superiores en R2 que en R1, atribuido probablemente a la presencia de zeolita.

### Ensayo 1

En este estudio, los valores promedios de la relación AI/AP fueron de 0,79 para el R1 y de 0,72 para el R2. De la revisión bibliográfica se pudo comprobar que el intervalo adecuado para un buen desempeño del proceso anaerobio es muy variable. Se considera que si la relación AI/AP es superior a 0,3 el proceso de digestión anaerobia es inestable (Ripley et al., 1986). Sin embargo, debido a las particularidades de cada efluente, algunos reactores no muestran irregularidades en el proceso a pesar de que la relación supere este valor (Chernicharo, 2007). Existen reportes en el tratamiento de efluentes de porcincultura en un reactor UASB, con valores medios para la relación AI/AP de 0,6, sin observar un detrimento en la eficiencia del proceso (Pereira et al., 2009). Como se puede observar en estos casos, la relación AI/AP equivale al doble del valor recomendado en la literatura y coincide aproximadamente con los obtenidos en el presente trabajo.

### Eficiencia de eliminación de la demanda química de oxígeno

En la [Figura 1](#) se muestra el comportamiento de la eficiencia en la eliminación de la DQO. Como se puede observar, la estrategia de choques de carga permitió operar los reactores hasta una carga orgánica volumétrica igual a 32 kgDQO/

m<sup>3</sup>d. Los valores de eficiencia alcanzados se mantuvieron en un intervalo entre 70 y 90%, observándose una tendencia al decrecimiento de la misma a medida que se incrementó la COV aplicada. Estos resultados son similares a los reportados en varios estudios de procesos anaerobios con empleo de EGSB como única configuración (Fang et al., 2011b; Liu et al., 2011; Ghorbanian et al., 2014; Li et al., 2014). De acuerdo a la revisión bibliográfica se pudo constatar que son pocos los reportes que refieren la operación de los EGSB a COV mayores que 15 kgDQO/m<sup>3</sup>d.

En el caso de las COV de 6, 24 y 32 kgDQO/m<sup>3</sup>d se encontraron diferencias significativas entre ambos reactores con Pvalor de 0,0008; 0,0394 y 0,0087; respectivamente. Existen reportes de empleo de EGSB como única configuración que, al aplicar cargas orgánicas volumétricas en el mismo orden que las aplicadas en este estudio, obtuvieron eficiencias de eliminación de DQO inferiores (Liu et al., 2010; Fang et al., 2011a; Liu et al., 2012). Otros autores refieren resultados de eficiencias también similares, pero operando a COV menores (Delforno et al., 2014; Yu et al., 2014).

### Ensayo 2

### Eficiencia de eliminación de la demanda química de oxígeno

El comportamiento de la eficiencia de eliminación de la DQO correspondiente a esta experimentación, se muestra en la [Figura 2](#). En las primeras COV aplicadas, los reactores se operan a velocidad ascensional de 6 m/h (Etapa 1). Cabe destacar que el incremento de carga orgánica se realizó paulatinamente. En estas condiciones, la eficiencia en ambos reactores se mantiene en un intervalo entre 86% y 90% sin

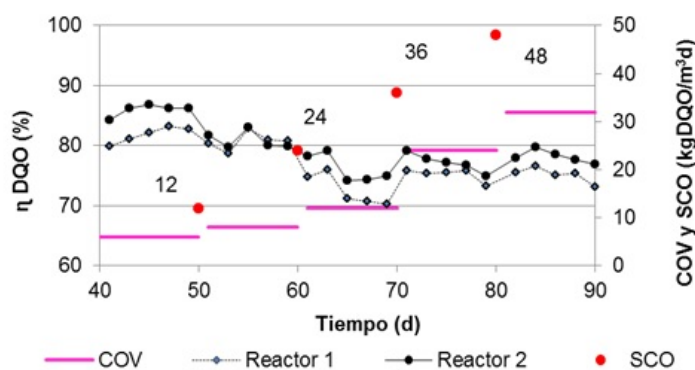
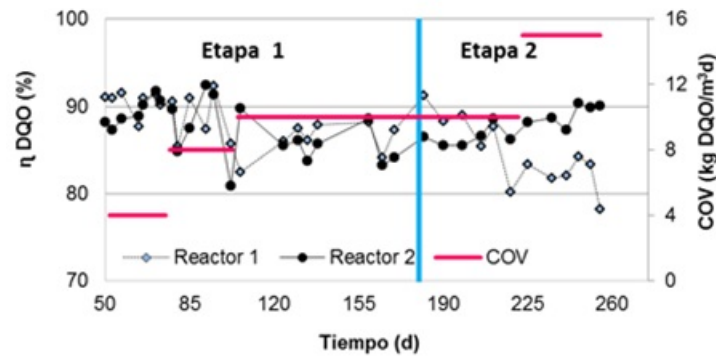


Figura 1. Eficiencia de eliminación de DQO para los dos reactores



**Figura 2.** Eficiencia de eliminación de la DQO al variar la COV y la velocidad ascensional en ambos reactores

diferencias significativas. No obstante, existe una tendencia a disminuir a medida que la COV va aumentando. Este comportamiento es de esperar, tal como se explicó anteriormente. Existen reportes de operación de EGSB hasta COV similares a las aplicadas en esta experimentación, que muestran estos resultados ([Puñal et al., 2003](#); [Fang et al., 2011b](#); [Ghorbanian et al., 2014](#)).

Posteriormente se incrementa la velocidad ascensional a 10 m/h (Etapa 2) y este aumento repercutió en un ligero incremento de la eficiencia de eliminación de DQO en el EGSB modificado, tendencia que se mantuvo en esta COV. Sin embargo, el aumento de la velocidad ascensional tuvo un efecto negativo en el reactor control.

Un incremento posterior de la COV a 15 kgDQO/m<sup>3</sup>d, manteniendo la velocidad ascensional, no permite la recuperación del reactor control y mantiene la tendencia negativa en la disminución de la eficiencia con valores inferiores al 80%. Por el contrario, en el EGSB modificado tienden a incrementar hasta lograr eficiencias de 90%. En estas condiciones se encontraron diferencias significativas entre reactores con un P-valor < 0,0001.

En el caso del reactor control el comportamiento era esperado y la disminución de la eficiencia se atribuye a la combinación de los efectos de incremento de velocidad ascensional y de la COV. Esto pudo provocar un lavado de la biomasa activa del reactor ([Liao et al., 2013](#)). Sin embargo, el comportamiento del EGSB modificado no coincidió con lo reportado en la literatura hasta el momento. Este resultado puede atribuirse solamente a la presencia de la zeolita, que garantiza a esos niveles de COV y de

velocidad ascensional, la estabilidad y la robustez del sistema.

En estas condiciones la relación AI/AP tuvo valores promedios de 0,6 para ambos reactores. Este resultado confirma que, para este tipo de residual, la relación AI/AP es el doble de la recomendada en la literatura, tal como se comentó anteriormente.

#### **Efecto del cambio de la velocidad ascensional y la COV en los ácidos grasos volátiles**

Como cabe esperar los cambios en la  $\eta$ DQO se deben corresponder con cambios en la acumulación de los AGVs. En la [Figura 3](#) se muestra este comportamiento para ambas etapas. Se observa que los resultados coinciden con la evolución de la eficiencia de la DQO para ambos reactores. Se confirma que la mayor acumulación de AGVs ocurre con el efecto combinado de incremento de la velocidad ascensional y de la COV. Las diferencias entre ambos reactores fueron significativas bajo esas condiciones de operación, 15 kgDQO/m<sup>3</sup>d y 10 m/h.

Los procesos anaerobios se han adaptado a diferentes concentraciones de AGVs, y algunos autores consideran que los niveles inhibitorios pueden estar en el intervalo de 2,2-4,9 g/L ([Siegert y Banks, 2005](#); [Climent et al., 2007](#)). En el presente estudio se obtuvieron valores inferiores a estos, aunque en el caso del reactor control, al aumentar la carga orgánica a 15 kgDQO/m<sup>3</sup>d, la acumulación de AGVs fue de más de un 40% con relación al EGSB modificado. La mayor conversión de los ácidos en R2 puede deberse a la robustez del sistema en presencia de la zeolita. Este resultado coincide con lo reportado por [Ziganshina et al. \(2015\)](#) en la digestión anaerobia de residuales avícolas,

donde al incrementar la COV a 3,5 gSV/Ld, la acumulación de AGV en el reactor control, llegó a alcanzar el doble del valor del reactor que contenía zeolita.

### Diámetro medio de los gránulos

En las muestras coexistieron gránulos de diferentes tamaños en el EGSB modificado, estando los mismos en el intervalo de 0,3 a 3,4 mm. Aproximadamente, el 80% de los gránulos mostraron tamaños en el intervalo de 0,3 a 1,0 mm de lo cual se puede inferir que la zeolita probablemente actuó como soporte, ya que el diámetro medio de la misma fue de 0,15 mm. Con el aumento de la velocidad ascensional y la COV, disminuyó el diámetro promedio de los gránulos en ambos reactores (Figura 4), coincidiendo con lo reportado por Chou et al. (2011). En el EGSB modificado, la presencia de gránulos de mayor diámetro es más visible. En el intervalo estudiado, la mayor frecuencia de gránulos se encontró en este reactor. Probablemente, la zeolita en la parte inferior del

reactor, disminuyó el impacto de la tasa de recirculación, que no afectó directamente a la biomasa activa dentro del reactor y favoreció su adhesión. Esto provocó un ligero aumento en el diámetro del gránulo para las velocidades ascensionales estudiadas. Varios estudios reportan este efecto cuando se emplean materiales soportes en configuraciones de lecho expandido.

### Diversidad microbiana a través de la electroforesis en gel de gradiente desnaturizante

La técnica PCR/DGGE se usó para comparar las bandas de las comunidades de bacterias (Figura 5) y arqueas (Figura 6) entre ambos reactores durante el período operacional. Aunque esta técnica no es cuantitativa, se observaron diferencias en la intensidad de los perfiles de las bandas.

Para el dominio Bacteria al concluir la primera etapa de operación (A), el coeficiente de similitud entre ambos reactores en los diferentes puntos, incrementa de 73% a 95%. Sin

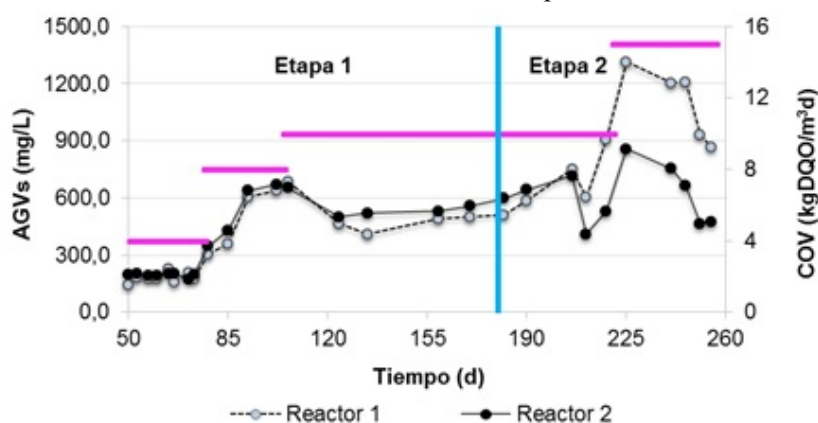


Figura 3. Variación de la concentración de AGVs en R1 y R2 durante el proceso de digestión anaerobia

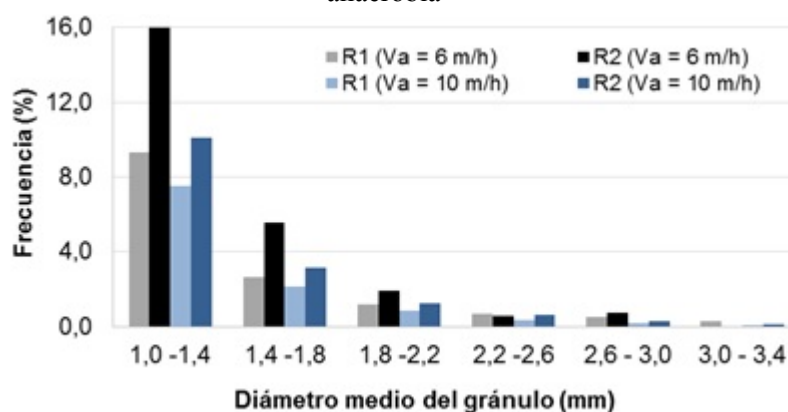
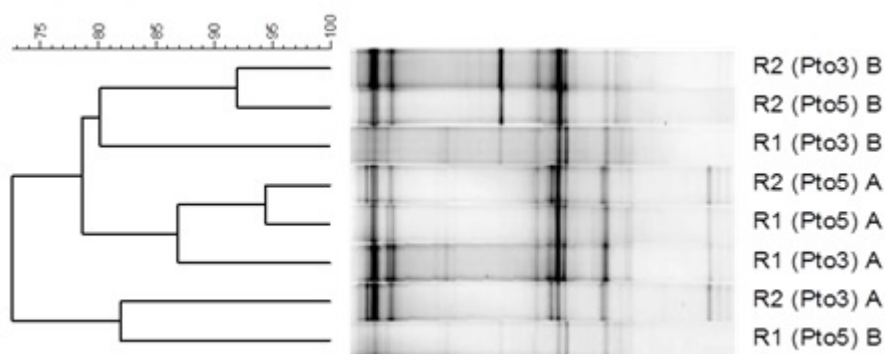
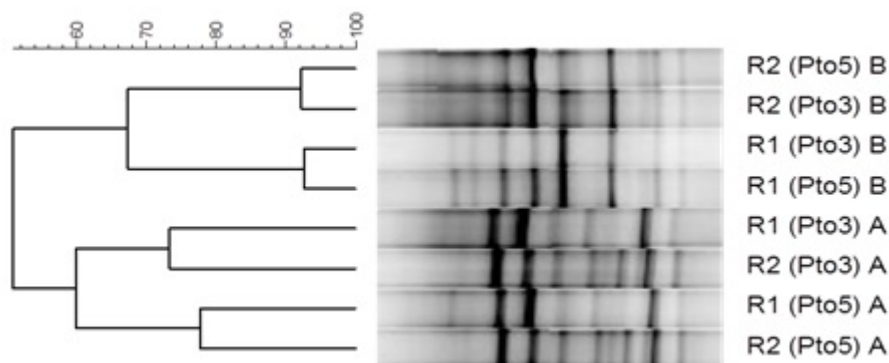


Figura 4. Porcentaje del diámetro de los gránulos en las muestras retiradas de punto 1 en ambos reactores



**Figura 5.** Análisis de similitud para el perfil de bandas de las poblaciones de bacterias del reactor control (R1) y el reactor con adición de zeolita (R2) para las diferentes etapas (A y B) (Correlación de Pearson)



**Figura 6.** Análisis de similitud para el perfil de bandas de las poblaciones de arqueas del reactor control (R1) y el reactor con adición de zeolita (R2) para las diferentes etapas (A y B) (Correlación de Pearson)

embargo, el reactor control disminuye tanto la diversidad como la intensidad del dominio Bacteria y el EGSB modificado mantiene mayor homogeneidad tanto en la diversidad como en la riqueza de bacterias.

Al cambiar las condiciones de operación, se observa una disminución en el coeficiente de similitud entre ambos reactores en los diferentes puntos. El CS disminuye de 80% a 73% entre el punto 3 y el punto 5, pero se observa una mayor homogeneidad en cada reactor a lo largo de los mismos. Posiblemente el aumento del flujo de recirculación haya favorecido la homogeneización de la comunidad bacteriana, aumentando de esta forma, la similitud.

Cabe destacar que el EGSB modificado mantuvo una diversidad de bacterias muy similar en ambos puntos de muestreo, al cambiar las condiciones de operación. Esto se debe a que en esta porción del reactor se concentra más el lecho de zeolita y los microorganismos tienen la posibilidad de adherirse a la misma y mantener

mejor su distribución en el reactor. Es por ello que se puede concluir que para el EGSB modificado, los cambios operacionales no influyeron en la diversidad y riqueza del dominio Bacteria. Por el contrario, el reactor control mostró cambios en la diversidad y riqueza de este dominio con un decrecimiento en ambos indicadores para el punto 3 y ocurre lo contrario en el punto 5, aunque con ligeros incrementos. Estos resultados son lógicos teniendo en cuenta la proximidad del punto 3 a la alimentación y a que este no tiene la posibilidad de mantener los microorganismos adheridos en esa porción.

Al finalizar la primera etapa (A), ambos reactores muestran un 72% de similitud entre los puntos 3 y 78% de similitud entre los puntos 5. Por otra parte, al concluir la segunda etapa, en ambos reactores aparece una menor intensidad en las muestras analizadas siendo un poco más acentuada la presencia de metanógenos en el EGSB modificado bajo estas condiciones. La homogeneidad en cada reactor al finalizar esta etapa es la mayor observada en esta

experimentación para el dominio Archaeas. Después de concluida la operación (B) hubo un 93% de similitud entre los puntos 3 y 5 del R1 y un 92% entre los puntos 3 y 5 del R2. Cabe destacar que entre los grupos de arqueas presentes en los dos ensayos (A y B) hay una diferencia acentuada pues solo existe un 52% de similitud.

Debido a la menor velocidad aplicada en la etapa A, las arqueas pueden estar distribuidas por zonas a lo largo del reactor, sin embargo, en la etapa B, el mezclado es mayor y la distribución del líquido es más homogénea. Esto pudo traer consigo el aumento en la similitud entre los puntos en la última etapa. Tal como ocurrió en las poblaciones de bacterias, las poblaciones de arqueas se diferencian con los cambios en las condiciones operacionales. En este caso la atenuación de la intensidad de las bandas de metanógenos confirma la disminución observada en el diámetro medio de los gránulos con el cambio de las condiciones operacionales.

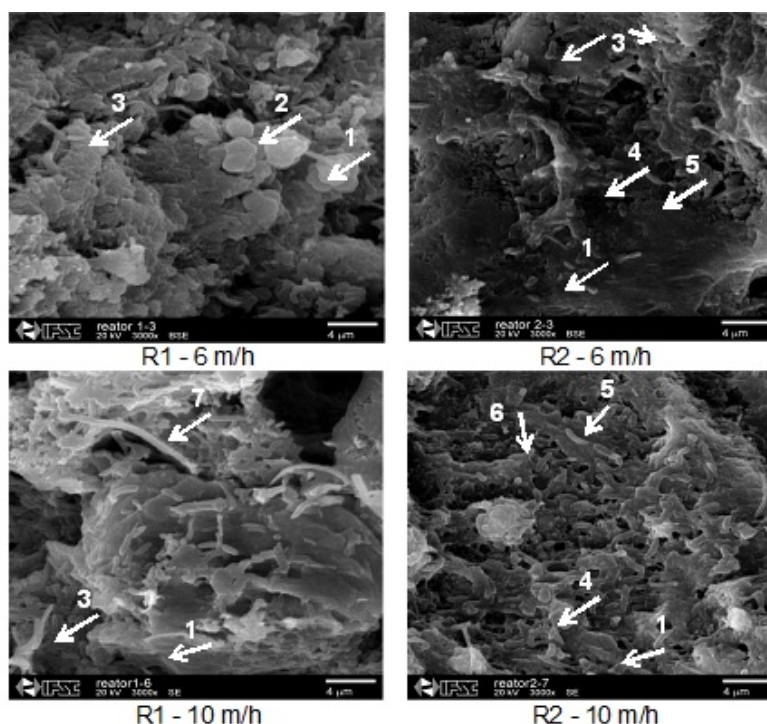
#### Diversidad microbiana a través de la Microscopía Electrónica de Barrido

En la [Figura 7](#) se observa la MEB realizada a cada reactor para las etapas analizadas. En estas imágenes se puede observar la influencia de los

cambios en las condiciones de operación, sobre la morfología de los microorganismos presentes en cada reactor.

Al concluir la Etapa 2 en el reactor control, con el aumento de la velocidad ascensional a 10 m/h y de la COV a 15 kgDQO/m<sup>3</sup>d, existió una disminución en tamaño de los gránulos, referida en el análisis anterior. Sin embargo, se observa que los microorganismos, principalmente las bacterias, presentan un crecimiento más acentuado, probablemente relacionado con el aumento de la carga orgánica.

De forma general puede afirmarse que las condiciones de operación condicionaron cambios en la morfología de los microorganismos presentes. Este estudio confirma los cambios en las bandas de ambos dominios analizados anteriormente. Se destaca la presencia constante de bacterias filamentosas, lo cual se relaciona con el mantenimiento de la estructura del gránulo; además de bacilos y bacilos curvos. El predominio de las especies *Methanosaetas* está relacionado con las bajas concentraciones de ácidos grasos volátiles (principalmente ácido acético) detectados en el reactor en comparación con otros estudios similares ([McMahon et al., 2001](#); [Leven et al., 2007](#)).



**Figura 7.** Microscopía electrónica de barrido (MEB) de la biomasa de los reactores operando con  $V_a = 6$  m/h y 10 m/h. Presencia de microorganismos del género *Methanosaeta* (1), *Methanosarcina* (2), bacilos de diversas dimensiones (3), cocos (4), bacilos curvos (5), vibrios (6) y filamentos largos (7)

Los resultados de este trabajo coinciden con lo obtenido por Jiménez (2015) que empleó arcillas para el tratamiento de residuales porcinos con adición de paja de arroz y encontró predominio de Methanosaetas. Este estudio demostró que la composición de la comunidad metanogénica en los reactores, puede proveer valiosa y comparable información sobre el comportamiento del sistema anaerobio en diferentes condiciones de operación.

### CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que a mayores velocidades ascensionales la presencia de zeolita en el reactor EGSB garantiza mayor estabilidad a altas cargas orgánicas. Posterior a los shocks de carga orgánica, el reactor con inclusión de zeolita alcanzó mejores % de eliminación de DQO y fue menor a acumulación de AGV. Los perfiles de DGGE indicaron diferencias entre las poblaciones de bacterias y arqueas, entre los diferentes puntos de muestreo y en las diferentes condiciones impuestas. La adición de zeolita no varió la biodiversidad de la comunidad microbiana.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abouelenien, F.; Namba, Y.; Kosseva, M.R.; Nishio, N.; Nakashimada, Y. 2014. Enhancement of methane production from co-digestion of chicken manure with agricultural wastes. *Bioresource Technology*, Vol.159: 80-87.
- Ambuchi, J.J.; Liu, J.; Wang, H.; Shan, L.; Zhou, X.; Mohammed, M.O.; Feng, Y. 2016. Microbial community structural analysis of an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor for beet sugar industrial wastewater (BSIW) treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.100: 4651-4661.
- Bergmann, B.A.; Cheng, J.; Classen, J.; Stomp, A. 2000. In vitro selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation. *Bioresource Technology*, Vol.73, (No.1): 13-20.
- Chernicharo, C. A. L. 2007. Anaerobic reactors. *Biological Wastewater Treatment Series*, Vol.4, London: IWA Publishing, 175 p., ISBN: 978-1-78040-211-6, Available: Available: <https://www.amazon.com/Anaerobic-Reactors-Biological-Wastewater-Treatment/dp/1843391643>, [Consultado: Enero 10, 2015].
- Chou, H. H.; Huang, J.Sh.; Chen, Sh.K.; Lee, M.Ch.. 2011. Process kinetics of an expanded granular sludge bed reactor treating sulfate-containing wastewater. *Chemical Engineering Journal*, Vol.170: 233-240.
- Climent, M.; I. Ferrer; M Baeza.; Artola, A.; Vázquez, F.; Font, X. 2007. Effects of thermal and mechanical pretreatments on secondary sludge on biogas production under thermophilic conditions. *Chemical Engineering Journal*, Vol.133, (No.1-3): 335-342.
- Delforno, T.P.; Moura, A.G.L.; Okada, D.Y.; Varesche, M.B.A. 2014. Effect of biomass adaptation to the degradation of anionic surfactants in laundry wastewater using EGSB reactors. *Bioresource Technology*, Vol. 154: 114-121.
- Di Rienzo, J.A.; Balzarini, M.G.; Casanoves, F.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. 2012. InfoStat. [Windows], Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, Available: Available: <http://www.infostat.com.ar/>. [Consultado: Abril 19, 2017].
- Fang, C.; Boe, K.; Angelidaki, I. 2011a. Biogas production from potato-juice, a by-product from potato-starch processing, in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) and expanded granular sludge bed (EGSB) reactors. *Bioresource Technology*, Vol.102: 5734-5741.
- Fang, C Thong; Boe, K.; Angelidaki, I. 2011b. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and deoiled palm oil mill effluent (POME). *Journal of Hazardous Materials*, Vol.189: 229-234.
- Fernández-López, M.; Puig-Gamero, M.; López-González, D.; Ávalos-Ramirez, A.; Valverde, J.; Sánchez-Silva, L. 2015. Life cycle assessment of swine and dairy manure: pyrolysis and combustion processes. *Bioresource Technology*, Vol.182: 184-192.

- Ghorbanian, M.; Lupitskiy, R.M.; Satyavolu, J.V.; Berson, R.E. 2014. Impact of Hydraulic Retention Time at Constant Organic Loading Rate in a Two-Stage Expanded Granular Sludge Bed Reactor. *Environmental Engineering Science*, 31(6): 317-323, ISSN: 1557-9018, DOI:10.1089/ees.2013.0501.
- Jiménez, J. 2015. Adición de paja de arroz y arcillas residuales a la digestión anaerobia de estiércol porcino. Efecto sobre la comunidad procarionota productora de metano. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.
- Kato M. T.; Field, J. A.; Versteeg, P.; Lettinga, G. 1994. Feasibility of expanded granular sludge bed reactors for the anaerobic treatment of low-strength soluble wastewaters. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.44, (No.4): 469-479.
- Lafita, C.; Peña-Roja, J.M.; Gabaldon, C. 2015. Anaerobic removal of 1-methoxy-2 propanol under ambient temperature in an EGSB reactor. *Bioprocess Biosystem Engineering*, Vol.38, (No.11): 2137-2146.
- Leven, L.; Eriksson, A.R.B.; Schnürer, A. 2007. Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste. *FEMS Microbiology Ecology*, Vol.59, (No.3): 683-693.
- Li, W.; Su, C.; Liu, X.; Zhang, L. 2014. Influence of the organic loading rate on the performance and the granular sludge characteristics of an EGSB reactor used for treating traditional Chinese medicine wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, Vol.21, (No.13): 8167- 8175.
- Liao, R.; Y. Li; X. Yu; P. Shi; Z. Wang; K. Shen; Q. Shi; Y. Miao; W. Li; A. Li. 2014. Performance and microbial diversity of an expanded granular sludge bed reactor for high sulfate and nitrate waste brine treatment. *Journal of Environmental Sciences*, Vol. 26, (No.4): 717-725.
- Liao, R. ; K. Shen ; Li, A.M.; Shi, P.; Li, Y.; Shi, Q.; Wang, Zh. 2013. High-nitrate wastewater treatment in an expanded granular sludge bed reactor and microbial diversity using 454 pyrosequencing analysis. *Bioresource Technology* , Vol.134: 190-197.
- Liu, J.; J. Hu; J. Zhong; J. Luo; A. Zhao; F. Liu; R. Hong; G. Qian; Z.P. Xu. 2011. The effect of calcium on the treatment of fresh leachate in an expanded granular sludge bed bioreactor. *Bioresource Technology* , Vol.102: 5466-5472.
- Liu, J. ; J. Luo ; J. ZhouL; Q. Liu; G. Qian ; Z.P. Xu . 2012. Inhibitory effect of high-strength ammonia nitrogen on bio-treatment of landfill leachate using EGSB reactor under mesophilic and atmospheric conditions. *Bioresource Technology* , Vol.113: 239-243.
- Liu, J. ; J. Zhong ; Y. Wang; Q. Liu ; G. Qian ; L. Zhong; R. Guo; P. Zhang; Z. P. Xu. 2010. Effective bio-treatment of fresh leachate from pretreated municipal solid waste in an expanded granular sludge bed bioreactor. *Bioresource Technology* , Vol.101: 1447-1452.
- Martín, G.M. 2017. Desde el 2010 Cuba no importa carne de cerdo. *Juventud Rebelde*, 30 January, La Habana, Cuba, ISSN: 1563-8340, Available: <http://www.juventudrebelde.cu/cuba/2017-01-30/desde-el-2010-cuba-no-importa-carne-de-cerdo> , [Consulted: October 14, 2017].
- McGlone, J.J. 2013. The future of pork production in the world: towards sustainable, welfare-positive systems. *Animals*, Vol.3, (No.2): 401-415.
- McMahon, K. D.; Stroot, P. G.; Mackie, R. I.; Raskin, L. 2001. Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions - II: Microbial population dynamics. *Water Research*, Vol.35, (No.7): 1817-1827.
- Nicolella, C.; Loosdrecht, M.C.M.; van Heijnen, J.J. 2000. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology*, Vol.80, (No.1): 1-33.
- Pereira, E. L.; C.M.M. Campos; F. Motteran. 2009. Efeitos do pH, acidez e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) tratando efluentes de suinocultura. *Revista Ambiente & Água*, Vol.4, (No.3): 157-168.

- Puñal, A.; Brauchi, S.; Reyes, J.G.; Chamy, R. 2003. Dynamics of extracellular polymeric substances in UASB and EGSB reactors treating medium and low concentrated wastewaters. *Water Science and Technology*, Vol.48, (No.6): 41- 49.
- Ripley, L.E.; Boyle, W.C.; Converse, J.C. 1986. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic-digestion of high strength wastes. *Journal Water Pollution Control Federation*, Vol.58, (No.5): 406-411.
- Seghezze, L.; Zeeman, G.; Lier, J.B. Van; Hamelers, H.V.M.; Lettinga, G. 1998. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology* , Vol.65, (No.3): 175-190.
- Siegert, I.; Banks, C. 2005. The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, Vol.40, (No.11): 3412-3418.
- Xu, J.; Adair, Ch.W.; Deshusses, M.A. 2016. Performance Evaluation of a Full-Scale Innovative Swine Waste-to-Energy System. *Bioresource Technology* , Vol.216: 494-502.
- Yu, H.; Chen, Ch.; Ma, J.; Xu, X.; Fan, R.; Wang, A. 2014. Microbial community functional structure in response to micro-aerobic conditions in sulfate-reducing sulfur-producing bioreactor. *Journal of Environmental Sciences* , Vol.26, (No.5): 1099-1107.
- Zheng, H.; Li, D.; Stanislaus, M. S.; Zhang, N.; Zhu, Q.; Hu, X.; Yan, Y. 2015. Development of bio-zeolite fixed bed bioreactor for mitigating ammonia inhibition of anaerobic digestion with extremely high ammonium concentration livestock waste. *Chemical Engineering Journal* , Vol.280: 106-114
- Ziganshina, E.E.; Belostotskiy, D.E.; Ilinskaya, O.N.; Boulygina, E.A.; Grigoryeva, T.V.; Ziganshin, A.M. 2015. Effect of the Organic Loading Rate Increase and the Presence of Zeolite on Microbial Community Composition and Process Stability During Anaerobic Digestion of Chicken Wastes. *Environmental Microbiology*, Vol.70, (No.4): 948-970.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)