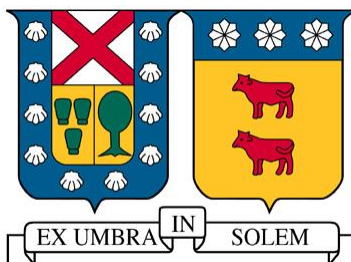


**UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAÍSO – CHILE**



**“PUESTA EN MARCHA DE UN REACTOR EGSB PARA LA
DESNITRIFICACIÓN AUTÓTROFA-HETERÓTROFA
SIMULTÁNEA, ELIMINACIÓN DE NITROGENO, AZUFRE Y
MATERIA ORGÁNICA”**

DIEGO ANTONIO JERIA LOBOS

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO CIVIL QUÍMICO**

**PROFESORA GUÍA
DRA. LORNA GUERRERO SALDES
PROFESORA CORREFERENTE
MCs. ANDREA BARAHONA LLORE**

NOVIEMBRE – 2016

A mi padre, mi madre y hermano, que me han apoyado en todo lo que he emprendido.

A mi mujer, por alegrar mis días y ser mi compañera siempre.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera partir agradeciendo a mi familia, especialmente mi padre, madre y hermano. Ellos fueron los que vieron todo mi camino hasta acá. Vivimos juntos momentos difíciles y nos alegramos con los momentos felices. Sin su apoyo no estaría acá. Sin su aliento a cumplir mis sueños no sería el yo que soy ahora. Los quiero mucho y espero que nuestro futuro esté lleno de experiencias que no hemos vivido aún. Sé que sin importar lo que haga, me estarán escuchando, comprendiendo y queriendo, lo que me emociona y me hace sentir privilegiado.

También quiero agradecer a la Anita, la *Katana*. Amor, desde que nos conocimos sabíamos que emprenderíamos un largo camino juntos, lleno de alegrías y recuerdos. Me has ayudado a terminar esta etapa y ahora es tiempo de abrir otras, lo que me alegra y motiva. Poder contar con una relación como la que tenemos es algo que no muchos pueden decir. Lo sabemos, y eso nos da otra forma de ver la vida.

Agradecer también a mis amigos Felipe y Nico por tantos momentos de risa y tantas distracciones del estudio. Supimos complementarnos siempre y sacamos lo mejor de cada uno. Nos juntamos en la recepción mechona del 2010 y no nos separamos más. Hoy estamos los tres titulándonos y para mí eso representa muchísimo.

A Lorca, Oscar y Felipe González por ser personas extraordinarias y siempre dispuestas a estar ahí. A todos y todas los que empezamos a repensar la universidad y llevamos adelante un proyecto de Federación. A Leo, la Jose, Pelao, Charles y Martin con quienes fuimos mesa el 2011. También a Christian y Amaro, que, aunque tomamos caminos separados, los aprecio mucho. A Coke, López y la Carri, que seguimos juntos en la construcción de un nuevo proyecto país. ¡Ojalá las energías no decaigan nunca!

RESUMEN.

La presente memoria se enmarca dentro del proyecto FONDECYT N°1130108, titulado "Simultaneous bio-elimination of nitrogen and sulphur in the presence and absence of complex organic matter". Particularmente, el objetivo principal de este estudio es la puesta en marcha de un reactor EGSB (Expanded Granular Sludge Bed), reactor biológico que opera con microorganismos heterótrofos y autótrofos, los cuales, dentro de su metabolismo, emplean compuestos nitrogenados como fuente de nitrógeno, siendo capaces de reducir especies como el nitrato o nitrito, contaminantes de las aguas. Sin embargo, mientras que la vía autotrófica usa compuestos inorgánicos (como las especies sulfuradas) como aceptor final de electrones, la heterotrófica emplea materia orgánica para ello. Tomando en cuenta la presencia de contaminantes sulfurados, nitrogenados y materia orgánica en los efluentes industriales, resulta interesante plantear un proceso de desnitrificación simultánea, para hacer frente a los residuos industriales líquidos (riles).

En primer lugar, se acondicionan los cultivos, los cuales se encuentran en reactores de 1,5 [L] de volumen, con agitación constante, a los que se les alimenta por espacio de 3 días con ril sintético. Luego de ello, se inocula el reactor EGSB, de 1,7 [L] de volumen efectivo y a 35°C, el que se alimenta con ril sintético, el que incorpora micronutrientes y sustancias amortiguadoras (como carbonato de calcio), mientras que por otro lado nitrato de potasio como fuente de nitrógeno, tiosulfato de sodio como fuente sulfurada y acetato de sodio como materia orgánica. Lo anterior se alimenta al equipo con una bomba que hace ingresar el ril al reactor y otra que genera recirculación interna. Mediante una salida superior del ril tratado, se obtiene el ril tratado, el cual se monitorea la concentración tanto en el influente como el efluente, obteniendo la remoción y rendimiento del reactor.

Luego de una etapa de acondicionamiento de las cepas autótrofas y heterótrofas de tres semanas, se registran remociones de 95,0% y 97,0% de nitrato, respectivamente, además de un crecimiento sostenido de sólidos suspendidos, por lo que se inocula el reactor con una proporción de 0,536 de bacterias heterótrofas sobre autótrofas, teniendo como resultado un inóculo de 22.792 [mg SSV/L], con volumen de 610 [ml]. Los microorganismos autótrofos poseen una actividad desnitrificante (ADA) de 339,95 [g N₂/g SSV/d], medida en el laboratorio. Luego, se procede a la puesta en marcha del reactor con una velocidad de carga nitrogenada (VCN) de 0,1 [kg N/m³/d], la que permitirá la estabilización del reactor para su operación con VCN variable. Por un período cercano a 4 semanas, se obtienen remociones de nitrato del 99,5%, de tiosulfato del 98,7% y de materia orgánica (DQO) de 73,0%.

Los niveles de remoción de nitrato, tiosulfato y acetato son altos según la comparación con otros estudios. Se deja manifiesto la importancia de la temperatura en las tasas de remoción, las cuales experimentaron significativas alzas al afinar el sistema de control asociado. De igual modo el pH representa un factor importante, por lo que la alimentación de solución buffer debe ser corregida ante cualquier aumento o disminución de la alcalinidad de la solución.

ÍNDICE.

AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
ÍNDICE.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	8
1.1. Introducción.....	8
1.2 Objetivos.....	10
1.2.1. Objetivo Principal.....	10
1.2.2. Objetivos Secundarios.....	10
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	11
2.1 Contaminación en aguas.....	11
2.1.1. Compuestos nitrogenados.....	11
2.1.2. Compuestos sulfurados.....	12
2.2. Procesos de eliminación de nitrógeno.....	13
2.2.1. Nitrificación-desnitrificación.....	14
2.2.2 Nitrificación parcial.....	15
2.2.4. Desnitrificación autótrofa.....	18
2.2.5. Desnitrificación heterótrofa.....	19
2.2.6. Desnitrificación simultánea.....	20
2.3. Tecnologías: Reactores desnitrificantes.....	21
2.3.1. Expanded Granular Sludge Bed reactor (EGSB).....	22
2.4. Parámetros de operación.....	24
2.4.1. Razón S/N y C/N.....	24
2.4.2. Tiempo de retención hidráulica.....	25
2.4.3. Presencia de oxígeno disuelto y productos intermedios.....	25
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA.....	26
3.1. Etapa de enriquecimiento.....	27

3.2. Etapa de puesta en marcha.....	28
3.2.1. Caracterización del inóculo	28
3.2.2. Determinación de actividad desnitrificante autótrofa (ADA).	28
3.3.3. Diseño de reactor.	29
3.3.4. Condiciones de operación.	30
3.3.5. Control del proceso.	33
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
4.1. Etapa de enriquecimiento.	35
4.2. Etapa de puesta en marcha.	36
4.2.1. Inóculo	37
4.2.2. Potencial de Hidrógeno (pH)	37
4.2.3. Nitrato y nitrito.....	39
4.2.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	40
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	42
CAPÍTULO 6: BIBLIOGRAFÍA.....	43
ANEXOS.....	46
Anexo A: Curvas características Bombas de Alimentación y Reflujo.	46
Anexo B: Método Experimental de determinación de Nitrato	47
Anexo C: Método Experimental de determinación de Nitrito	48
Anexo D: Método Experimental de determinación de Tiosulfato	49
Anexo E: Método Experimental de determinación de Sulfato	51
Anexo F: Método Experimental de determinación de DQO	53
Anexo G: Método Experimental de determinación de SST y SSV	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1, Ciclo del Nitrógeno.	11
Figura 2, Ciclo del Azufre.	13
Figura 3, Configuraciones de nitrificación y desnitrificación.	15
Figura 4, Esquema comparativo de proceso de nitrificación-desnitrificación convencional v/s nitrificación parcial-desnitrificación.	17

Figura 5, Interacción de nitrógeno, carbono y azufre.....	19
Figura 6, Reactor UAF.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 7, Reactor EGSB. .	23
Figura 9, Reactor de Enriquecimiento.....	27
Figura 10, Esquema ADA.	29
Figura 11, Equipos determinación ADA.....	29
Figura 12, Reactor EGSB empleado.....	30
Figura 13, Esquema de Reactor EGSB utilizado.....	33
Figura 14, Evolución del pH en el reactor.....	37
Figura 15, Remoción de Tiosulfato y producción de sulfato en el reactor a VCN de 0,1.....	39
Figura 16, Remoción de Nitrato y producción de nitrito en el reactor a VCN de 0,1.	40
Figura 17, Remoción de DQO en el reactor a VCN de 0,1.	41
Figura 18, Producción de Nitrito en reactor.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 19, Producción de Sulfato en el reactor.	¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1, Reactores anaerobios.	21
Tabla 2, Experiencias asociadas a reactor EGSB.....	23
Tabla 3, ril sintético de alimentación autótrofo en la etapa de enriquecimiento.	27
Tabla 4, ril sintético de alimentación heterótrofo en la etapa de enriquecimiento.....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 5, Ril sintético de alimentación de reactor EGSB simultáneo.	31
Tabla 6, Composición de solución de micronutrientes.	31
Tabla 7, Parámetros controlados.	33
Tabla 8, Crecimiento microbiano autótrofo.....	35
Tabla 9, Crecimiento microbiano heterótrofo.	35
Tabla 10, Remoción de nitrógeno por parte del cultivo autótrofo.....	35
Tabla 11, Remoción de nitrógeno por parte del cultivo heterótrofo.	36
Tabla 12, Inóculo del reactor EGSB.	37

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

1.1. Introducción.

El deterioro de la calidad del agua, supone un grave problema medioambiental y socioeconómico, que se acentúa en zonas de escasos recursos. El uso del agua potable para abastecimiento urbano e industrial, debe ir acompañado de una correcta depuración que permita su reutilización para riego agrícola, de áreas verdes, aguas recreativas, reutilización industrial, o bien como elemento que no perturbe el equilibrio biológico de la zona de vertido y que evite la contaminación de acuíferos subterráneos y masas superficiales de aguas continentales o marinas (Aranda-Cirerol *et al.*, 2006).

Alrededor del 97% del agua del planeta es salada, correspondientes a mares y océanos; un 2% está congelada en los casquetes polares y glaciares (agua dulce), y sólo el 1% está disponible para consumo humano, irrigación y usos industriales. Se calcula que actualmente 1.200 millones de personas consumen agua contaminada y cerca de 2.500 millones carecen de sistemas apropiados de alcantarillado. Más de cinco millones de personas mueren cada año de enfermedades relacionadas con el agua, tales como cólera y disentería. En todo el planeta, los agricultores y municipalidades han estado extrayendo el agua dulce a una velocidad mayor que la velocidad de reposición. Por todo esto, el tratamiento y reutilización de aguas residuales se ha convertido en una necesidad imperiosa, ya que eventualmente sería la única fuente de agua dulce, exceptuando la desalinización del agua marina, que resulta aún un proceso costoso (Bashan *et al.*, 2013).

Para entender el fenómeno de contaminación de las aguas es inmediato asociar la causa de la problemática a la actividad humana, la cual está modificando la velocidad de algunos de los procesos involucrados en los ciclos naturales de ciertos compuestos, como es el caso del nitrógeno y el azufre. Para la primera especie mencionada, la acción del hombre ha producido acumulaciones de compuestos nitrogenados en las aguas, causando su contaminación. Los procesos antropogénicos que más influyen en este ciclo son la minería y el uso de combustibles fósiles que provocan que vuelva a entrar en juego nitrógeno que ya fuera eliminado previamente del ciclo activo, y, por otro lado, la fijación del nitrógeno atmosférico mediante procesos químicos (industrias de fertilizantes) y por el cultivo de plantas fijadoras de nitrógeno (Campos *et al.*, 2009). El nitrógeno asociado al amonio (NH_4^+) y otros compuestos oxidados nitrogenados, tales como el nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-), cuando son vertidos directamente a los cuerpos de agua, provocan toxicidad para la fauna acuática, disminuyen el oxígeno disuelto, además de disminuir el pH. El principal problema del amonio proviene del amoníaco propiamente tal (NH_3), el cual a bajas

concentraciones (unos pocos mg/L) resulta tóxico, y aún más perjudicial con incrementos de pH o temperatura de las aguas, debido al equilibrio del NH_4^+ con el NH_3 (Hernández, 1991; Van Steenberg *et al.*, 1992). La reducción del contenido de nitrógeno, para alcanzar niveles de sustentabilidad ambiental, se ha convertido en uno de los objetivos principales del tratamiento de aguas, especialmente en países europeos. La presencia del nitrógeno en los aminoácidos lo vuelve esencial para la vida y, en las aguas, constituye un factor limitante para el crecimiento de los organismos autótrofos, los primeros miembros de la cadena alimenticia. Por tanto, un incremento en la presencia de nitrógeno en las aguas podría desencadenar un sobre crecimiento de dichos organismos (Dapena, 1989).

Por otra parte, muchos procesos industriales que emplean ácido sulfúrico en cantidades importantes producen aguas con alto contenido de sulfuros y materia orgánica, así también plantas con otros sustratos ricos en sulfuros. Además, este ácido es conocido por su toxicidad, poder de corrosión y mal olor, incluso en bajas concentraciones, provocando serios problemas de salud entre los 200 y 300 [mg/L] (Borkenstein y Fischer, 2006; Syed *et al.*, 2006). En la industria petrolera, la inyección de agua es usada para incrementar la presión y mejorar la recuperación, pero generándose aguas ácidas contaminadas con sulfuros (Tang *et al.*, 2009).

También se producen corrientes contaminadas con sulfuro en la industria papelera, plantas petroquímicas, industria textil y durante la digestión anaerobia de residuos de la agricultura (Jing *et al.*, 2009). La producción de contaminantes tales como el ácido sulfhídrico (H_2S), la potencial emisión de SO_2 a la atmósfera mediante combustión, la cual contribuye a la lluvia ácida y acidificación de los suelos, y la necesidad de un uso sustentable del agua ha llevado a la industria petrolera a adoptar estrategias tanto *in-situ* como *ex-situ* de control asociada a dichos problemas (An *et al.*, 2010). El sulfuro también es producido en el tratamiento de estas aguas residuales (Tandukar *et al.*, 2009; Krishnakumar *et al.*, 2005), por lo que su efluente, en muchos casos, se debe aplicar tratamiento aeróbico, encontrándose dificultades como el crecimiento de bacterias filamentosas y ruptura de flóculos microbianos a concentraciones superiores a 0,5 [mg/L] de sulfuro y también elevando la demanda de oxígeno para su oxidación, teniendo como consecuencia un incremento en los costos operacionales de estas plantas (Mahmood *et al.*, 2007; Vannini *et al.*, 2008).

Los efluentes residuales pueden presentar una mezcla de compuestos sulfurados y nitrogenados. Si se da el caso anteriormente descrito, la desnitrificación autótrofa resulta una vía atractiva para el tratamiento, ya que es capaz de producir nitrógeno gaseoso (N_2) del compuesto nitrogenado primo (nitrito o nitrato), empleando el compuesto de azufre como receptor de electrones, conllevando recuperación de dicha especie. Sin embargo,

este proceso actúa a niveles de materia orgánica bajos o nulos, lo cual no se condice con la composición de determinadas aguas residuales con contenido importante de ella, por lo que en dichos casos se recomienda emplear desnitrificación heterótrofa (con nitrificación previa), pero sacrificando la eliminación del azufre (An *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2010). Tomando en cuenta lo anterior, resulta interesante plantear un proceso de desnitrificación simultánea, que posea las características autótrofas y heterótrofas para poder hacer frente a aguas residuales indistintamente posean compuestos nitrogenados, sulfurados y materia orgánica. Lo anterior representará el objeto del presente estudio.

Actualmente, existen diversas tecnologías asociadas a los procesos de tratamiento de aguas, siendo el reactor de lecho granular expandido (en inglés *expanded granular sludge bed, EGSB*) una de las tecnologías que ofrece mejor rendimiento en cuanto a tasas de desnitrificación y remoción de azufre. Este reactor es alimentado con un residuo industrial líquido (ril) a velocidades de flujo elevadas, entregando ratios de remoción de sustrato orgánico considerablemente altos, en comparación con otros sistemas, tales como el reactor de agitación continua (CSTR) (Chen *et al.*, 2008). El presente trabajo consiste en la puesta en marcha de un reactor de este tipo, buscando estabilizar y conocer el rendimiento del equipo a niveles de contaminación bajo, para de esa forma proseguir su operación a concentraciones de nitrato superiores en una etapa posterior a este estudio.

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivo Principal

El objetivo principal del presente estudio consiste en la puesta en marcha de un reactor EGSB (Expanded Granular Sludge Bed) para tratar de manera simultánea, autótrofica y heterótróficamente, un ril sintético que contiene nitrato, tiosulfato y acetato, como compuesto nitrogenado, sulfurado y materia orgánica, respectivamente.

1.2.2. Objetivos Secundarios

El presente estudio comprende una serie de objetivos secundarios, entre los que se encuentran:

- Enriquecimiento de inóculos bacterianos de naturaleza autótrofa y heterótrofa.
- Diseño y montaje de un sistema de desnitrificación simultánea, cuyo reactor biológico corresponda al tipo EGSB.
- Inoculación de reactor EGSB y alimentación de ril sintético de forma continua.

- Monitoreo de remoción de contaminantes mediante comparación entre efluente e influente.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.

2.1 Contaminación en aguas.

2.1.1. Compuestos nitrogenados (Campos *et al.*, 2009).

El nitrógeno encuentra su reserva fundamental en la atmósfera, en forma de nitrógeno molecular. Sin embargo, esta molécula no puede ser utilizada directamente por la mayoría de los seres vivos. La fijación del nitrógeno desde el estado gaseoso a la forma orgánica se lleva a cabo biológicamente por microorganismos especializados: bacterias y algas cianofíceas, que convierten el nitrógeno molecular (N_2) en otras sustancias químicas, tales como el amonio y nitrato, que son asimilables por las plantas. Estos compuestos pueden ser tomados por las plantas y usarlos en su metabolismo para la síntesis de las proteínas y ácidos nucleicos, entrando por ende el nitrógeno en la cadena trófica (Figura 1).

En el metabolismo de los animales los compuestos nitrogenados acaban transformándose en amonio, que es eliminado en forma de urea. Estos compuestos van al suelo o al agua de donde pueden tomarlos de nuevo las plantas o ser usados por algunas bacterias, tales como las nitrificantes y desnitrificantes. Dentro del ciclo del nitrógeno también se incluye la fijación por transformaciones físico-químicas como son las reacciones de tipo electroquímico (tormentas eléctricas) aunque su importancia es muy pequeña comparada con la de los procesos biológicos.

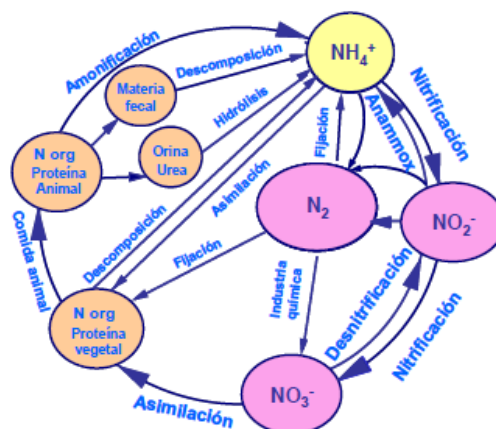


Figura 1, Ciclo del Nitrógeno.
(Campos *et al.*, 2009).

Los problemas que origina el nitrógeno en las aguas residuales van a depender de la forma en que se encuentre.

El nitrógeno amoniacal plantea problemas como:

- Eutrofización: El crecimiento excesivo de las algas en los cursos de las aguas se convierte en una fuente de contaminación importante.
- Toxicidad: El amonio es un compuesto tóxico para muchas especies de la fauna acuática incluso a valores muy bajos.
- Pérdida de oxígeno en las aguas: Su oxidación a nitrato supone una disminución del oxígeno disuelto de 4,57 [g O₂/g N] oxidado.

Mientras que los principales efectos producidos por el nitrito y nitrato son:

- Metahemoglobinemia (“síndrome del niño azul”) en niños de corta edad. Su causa es la ingestión de nitritos o la formación de éstos a partir de nitratos en el estómago, debido a la flora reductora que existe en él. A niveles altos de nitrato se forman compuestos como nitrosaminas y nitrosamidas que son cancerígenos.
- Exposiciones prolongadas a altas concentraciones puede llevar a alteraciones de los vasos sanguíneos.
- La desnitrificación incontrolada en las aguas receptoras origina óxidos de nitrógeno (NO y N₂O) que contribuyen a la destrucción de la capa de ozono. Para evitar estos problemas la legislación ha marcado unos límites máximos de vertido para los compuestos nitrogenados. Estos límites de vertido se pueden alcanzar mediante tratamientos físico-químicos o biológicos siendo estos últimos los más empleados por motivos económicos.

2.1.2. Compuestos sulfurados (Fajardo, 2011)

En la naturaleza, los compuestos sulfurados se pueden encontrar en forma de sulfato de calcio, complejos metálicos (como la pirita) y como azufre elemental.

El ciclo del azufre (ver Figura 2) envuelve tanto el proceso oxidativo como de reducción. En el proceso de reducción, los compuestos oxidados que contienen azufre (sulfatos, sulfitos) son tanto química como biológicamente reducidos. Las bacterias reductoras de azufre (SRB) se encargan del proceso, usando como aceptores terminales de electrones los compuestos sulfurados tales como el SO₄, S₂O₃ y SO₃ como también los componentes orgánicos como el lactato o etanol, como también el hidrógeno molecular como donador

de electrones. Este proceso puede ser empleado para remover altas concentraciones de sulfato o sulfito. Las bacterias más representativas de este género corresponden a las *Desulfobacter*, *Desulfomonas*, etc.

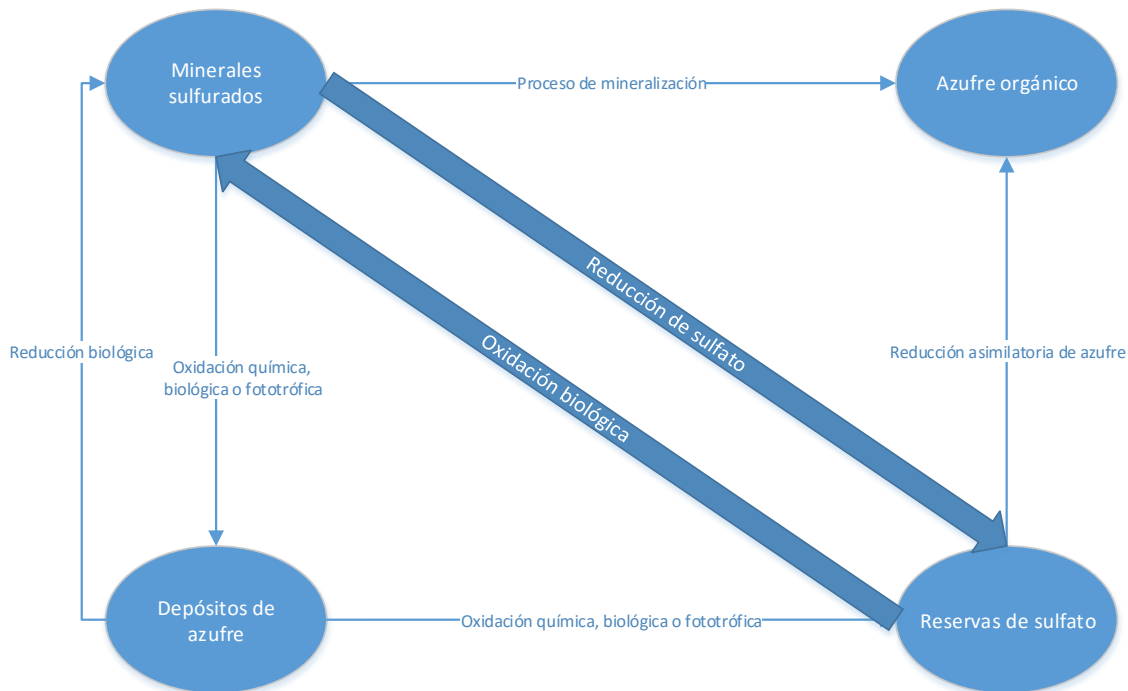


Figura 2, Ciclo del Azufre.
(Lens y Kuenen, 2001).

La oxidación biológica del azufre es llevada a cabo mediante vía fotótrofa o quimiolitótrofa. Durante la primera, las bacterias verdes y púrpuras oxidan los sulfatos y sulfitos a azufre, requiriendo luz, CO₂ y nutrientes inorgánicos para su crecimiento, en condiciones anaerobias. En reactores, se han registrado altas eficiencias de remoción. En el caso de la oxidación quimiolitótrofa, los compuestos reducidos de azufre se oxidan parcialmente a azufre elemental mediante condiciones limitantes de oxígeno o se oxidan totalmente usando exceso de oxígeno por bacterias aerobias del género *Thiobacillus*.

En la naturaleza, existen microorganismos que pueden combinar los ciclos de nitrógeno y azufre, jugando un rol, fundamental en los ecosistemas marinos, en el límite entre las interfaces anóxica y aerobia. La combinación de ambos ciclos implica la oxidación del azufre y la reducción del nitrógeno, ambos de sus respectivos compuestos.

2.2. Procesos de eliminación de nitrógeno (Campos *et al.*, 2009)

En la naturaleza, se puede encontrar el nitrógeno en sus diferentes estados de oxidación. Para cada forma existen diferentes transformaciones de carácter biológico como la fijación, amonificación, asimilación, nitrificación, desnitrificación y anammox, realizadas cada una por un microorganismo determinado.

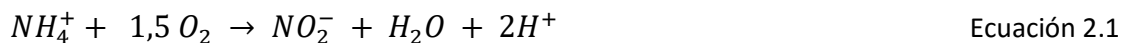
La relación existente entre la demanda química de oxígeno (DQO) y la cantidad de nitrógeno presente, es decir el cociente DQO/N del agua residual, determinará cuál de estos procesos biológicos es el más adecuado para llevar a cabo la eliminación:

- DQO/N >20: Eliminación por asimilación por bacterias heterótrofas.
- 20>DQO/N>5: Eliminación por asimilación, nitrificación y desnitrificación.
- DQO/N<5: Eliminación por nitrificación parcial-desnitrificación o nitrificación parcial-Anammox.

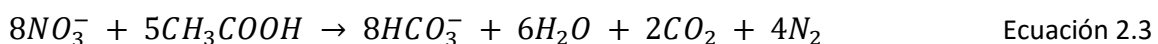
A continuación, se desarrollan algunos de los procesos antes mencionados.

2.2.1. Nitrificación-desnitrificación

Este proceso consta de etapas de nitrificación y desnitrificación sucesivas. En la primera, el amonio es transformado a nitrato (o nitrito), consistiendo en una primera parte de oxidación del nitrógeno amoniacal a nitrito y la posterior oxidación de éste a nitrato (ecuaciones 1 y 2, respectivamente), llevado a cabo por bacterias autótrofas (Khin y Annachatre, 2004).



Posteriormente, durante la desnitrificación se reducen el nitrato (y nitrito) formado a nitrógeno gaseoso bajo condiciones anóxicas, consumiéndose materia orgánica (Ecuación 2.3). Este proceso lo llevan a cabo bacterias heterótrofas desnitrificantes. A su vez, los dos procesos combinados permiten reducir la cantidad de productos químicos para el control de pH dada que la misma alcalinidad de la desnitrificación se emplea para evitar el descenso de la nitrificación.



Como se pudo apreciar anteriormente, las etapas requieren de condiciones antagónicas: mientras que la nitrificación requiere condiciones aerobias, por tanto, se deben disponer en compartimientos separados, los cuales pueden poseer dos configuraciones (Figura 3):

- La primera configuración se llama predesnitrificante, y en ella el agua residual ingresa al reactor desnitrificante, para luego realizar la nitrificación. Posteriormente, una corriente de la unidad aerobia, conteniendo nitrato (nitrito) se recircula a la primera para llevar a cabo la desnitrificación.
- La segunda corresponde a la configuración postdesnitrificante, en la que el agua de desecho se introduce en el reactor nitrificante, a su vez que el efluente de éste va al reactor desnitrificante. La ventaja de esta configuración es que se puede controlar fácilmente el proceso y, además, no se necesita recirculación. Sin embargo, la materia orgánica se oxida en la etapa aerobia por lo que se tiene que suministrar externamente para realizar la desnitrificación (mayor coste). Esto hace que la postdesnitrificación se use sólo cuando la relación DQO/N sea baja.

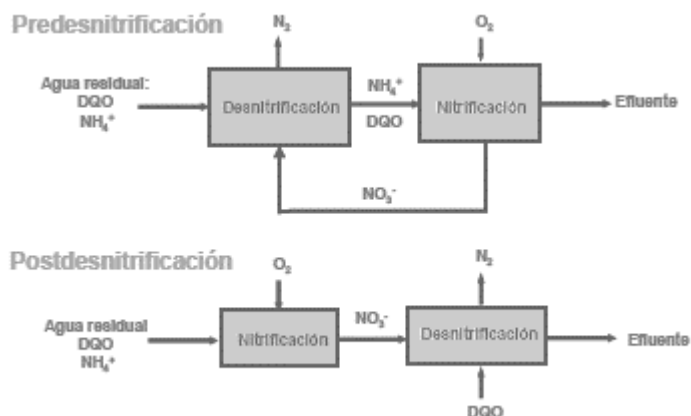


Figura 3, Configuraciones de nitrificación y desnitrificación.

(Campos *et al.*, 2009)

2.2.2 Nitrificación parcial

La combinación de los procesos biológicos de nitrificación/desnitrificación para eliminar amonio es adecuada cuando se tratan aguas residuales con una composición caracterizada por una elevada relación DQO/N. Sin embargo, el costo de operación de esta alternativa aumenta cuando las aguas residuales tienen bajas relaciones DQO/N (efluentes de digestores de lodos, lixiviados de vertedero, efluentes de digestores

anaerobios de la industria conservera, etc.). Para el tratamiento de estos efluentes se emplearía una configuración postdesnitrificante, siendo preciso añadir una fuente de materia orgánica externa (metanol, ácido acético, etc.) para completar la desnitrificación. En estos casos, la oxidación parcial a nitrito supondría un ahorro del 25% del oxígeno necesario durante la nitrificación y, por otro lado, se produciría un 40% menos de lodo (Van Kempen *et al.*, 2001)

Considerando que el proceso de nitrificación es realizado en dos etapas por distintos grupos de microorganismos, el proceso de nitrificación parcial restringe la etapa de oxidación de nitrito a nitrato, favoreciendo las condiciones para que solo ocurra la oxidación de amonio a nitrito. En las plantas de tratamiento de aguas se tienen condiciones de operación normal de pH entre 6,5 y 8,5, temperaturas entre 10 y 20°C, además de una carga de oxígeno disuelto de aproximadamente unos 1 a 2 [mg/L]. A dichas condiciones no se observa producción de nitrito. Para lograr dicho objetivo, se debe tender a que la velocidad de oxidación de amonio sea más rápida que la de nitrito. Para ello, se debe conocer los factores que afectan a ambos procesos y como variarlos para que la población de bacterias amonio-oxidantes posea mayor velocidad de crecimiento que las nitrito-oxidantes (ver Figura 4).

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x}(T) * \frac{O_2}{k_{O_2} + O_2} * \frac{S}{k_S + S} * \frac{1}{1 + \frac{NH_3}{K_{NH_3}}} \quad \text{Ecuación 2.4}$$

Se observa en la Ecuación 2.4 que la velocidad de crecimiento depende de la temperatura y concentraciones de oxígeno disuelto y amoniaco libre en la solución. En cuanto a la primera, se observan valores de crecimiento máximo a mayores tasas de temperatura ; en cuanto al oxígeno disuelto, una disminución del nivel en el reactor afectaría de forma más notable a las bacterias nitrito-oxidantes (por poseer constantes de afinidad por el oxígeno mayores), por lo que favorecería la formación de nitrito; y para el tercera factor, se sabe que la oxidación de amonio es inhibida por concentraciones mayores de amonio libre que la oxidación de nitrito, por lo que se podría aumentar la nitrificación parcial manteniendo niveles de amonio adecuados. Sin embargo, ello podría significar no cumplir requerimientos de vertido, además de que existir una eventual aclimatación de las bacterias nitrito-oxidantes, por lo que al cabo de un tiempo se recuperaría su actividad.

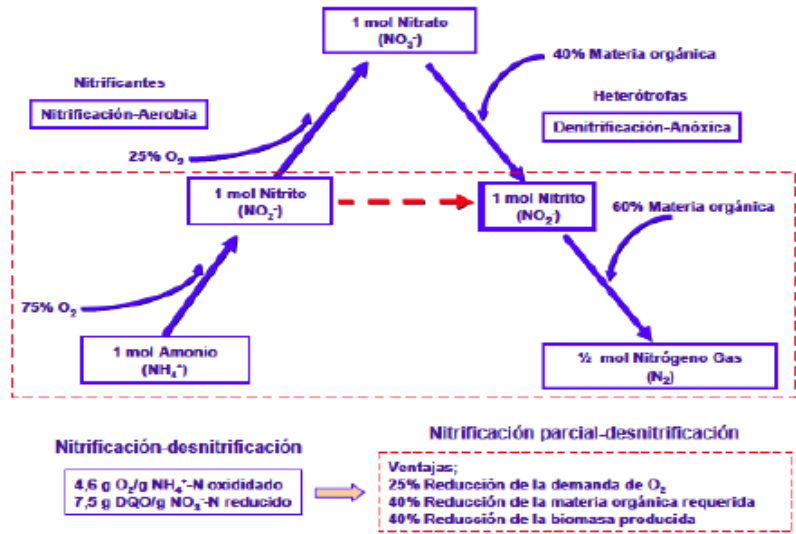
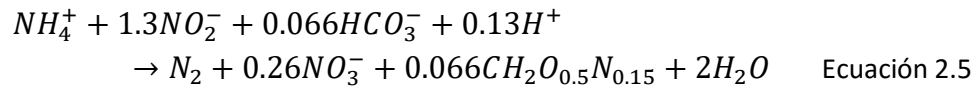


Figura 4, Esquema comparativo de proceso de nitrificación-desnitrificación convencional v/s nitrificación parcial-desnitrificación. (Campos et al., 2009)

2.2.3. Anaerobic Ammonium Oxidation: el proceso Anammox.

El proceso Anammox es llevado a cabo por un grupo de bacterias autótrofas capaces de oxidar el amonio (NH₄⁺) a nitrógeno gaseoso (N₂) utilizando nitrito (NO₂) como aceptor de electrones, sin necesidad de aportar materia orgánica ni oxígeno (Ecuación 2.5).



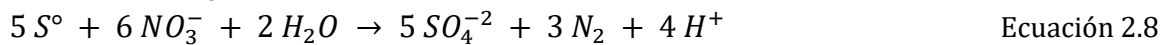
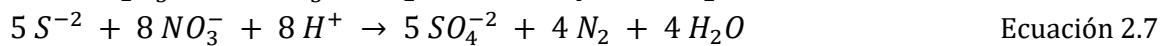
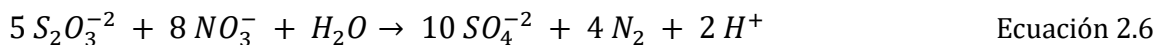
El proceso Anammox es realizado por bacterias del género *Planctomycetes*, con temperatura y pH óptimos de aproximadamente 35°C y 8,0, respectivamente. La productividad de estas bacterias es baja, pero su tiempo de duplicación es alto (11 d), lo cual implica una producción de lodos menor, disminuyendo los costos operacionales, aunque por otro lado conlleva una larga puesta en marcha del sistema. Una característica importante en la operación de reactores que posean estos microorganismos es que su actividad se ve inhibida en presencia de oxígeno, nitrito o materia orgánica (Dapena-Mora et al., 2004; 2007).

Para la aplicación del proceso Anammox se debe poseer un agua residual con concentraciones adecuadas de amonio y nitrito, por lo que una buena posibilidad sería emplear un proceso de nitrificación parcial previo (con una conversión de amonio a nitrito cercana al 50%), el que por un lado brindaría el nitrito, que no suele estar presente en los efluentes, y además oxidar la materia orgánica presente, evitando su efecto adverso en el Anammox.

Si se combinan los procesos antes mencionados y las condiciones de operación son las óptimas, se puede poseer un ahorro del 60% del oxígeno requerido, se puede prescindir de materia orgánica y se obtendrá una generación de sólo el 15% de los lodos (Campos *et al.*, 2009).

2.2.4. Desnitrificación autótrofa.

La desnitrificación autótrofa representa la interacción biológica entre los ciclos del nitrógeno y el azufre (Figura 5), consistiendo en la reducción de óxidos de nitrógeno (NO_3^- y/o NO_2^-) a N_2 gaseoso. La sustancia sulfurada ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, S^0 y/o H_2S) se utiliza como donador de electrones (Ecuaciones 2.6, 2.7 y 2.8). El producto final obtenido es sulfato que es menos perjudicial que el nitrato, especialmente cuando se vierte al medio marino.



La desnitrificación autótrofa presenta ciertas ventajas frente a la desnitrificación heterótrofa (convencional) que son:

- No requiere de una fuente de carbono orgánica.
- El azufre elemental puede ser usado como fuente de electrones, lo que representa una alternativa económica.
- La producción de lodos es reducida (minimiza su costo de manejo) (Campos *et al.*, 2009).

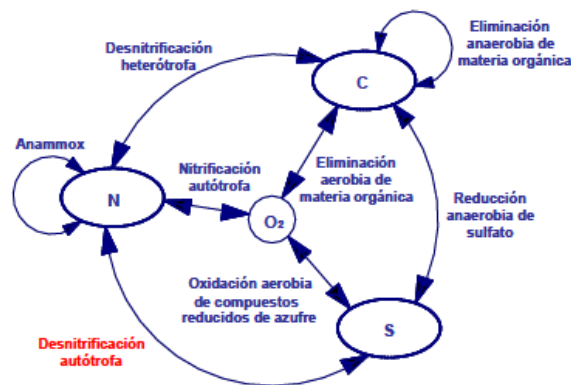


Figura 5, Interacción de nitrógeno, carbono y azufre.

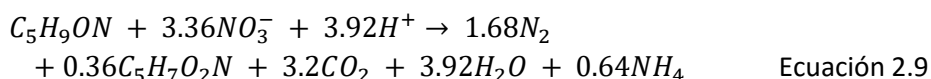
(Campos *et al.*, 2009)

Las principales bacterias desnitrificantes pertenecen a los géneros *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans*, con un pH óptimo entre 7-8 y temperatura entre 25-35 °C. A considerar es que en esta vía desnitrificante se requiere de una fuente de alcalinidad para neutralizar los protones producidos (Fajardo *et al.*, 2008). Estas bacterias pueden usar también el oxígeno como aceptor de electrones para la oxidación de compuestos azufrados y el producto final obtenido dependerá de la concentración de oxígeno. Si el propósito del proceso es la eliminación de nitrato se debe evitar la presencia de oxígeno dado que las bacterias usarán preferentemente éste como aceptor de electrones.

2.2.5. Desnitrificación heterótrofa.

En la desnitrificación heterótrofa se utilizan los nitratos como aceptores finales de electrones en lugar del oxígeno, eliminando el nitrógeno reducido como N₂ a la atmósfera.

La estequiometría de la reacción es de la forma:



La desnitrificación heterótrofa es un proceso respiratorio anaerobio del tipo anóxico donde la reducción del nitrato hasta N₂ sigue una serie de pasos que involucran la actividad de diferentes bacterias, entre las que se encuentran los géneros *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus* y *Thiosphaera*, entre otros. La mayoría de estos microorganismos poseen la enzima nitrato reductasa, para reducir nitrato a nitrito.

El primer paso de la desnitrificación es la reducción de nitrato a nitrito, catalizado por el nitrato reductasa. El segundo paso es la reducción de nitrito a óxido nítrico por medio del nitrito reductasa. La reducción de NO a N₂O está catalizada por el óxido nítrico reductasa, localizada en la membrana citoplasmática. La última etapa de la desnitrificación es la reducción de N₂O a N₂. Es llevada a cabo por el óxido nitroso reductasa. Esta enzima es severamente inhibida por la presencia de oxígeno. Debido a esto, es importante evitar la entrada de oxígeno en el proceso desnitrificante, para no liberar N₂O, gas que contribuye

al efecto invernadero del planeta. Evidencias recientes han mostrado que la concentración de cobre en el influente de un reactor continuo desnitrificante juega un papel importante para evitar la acumulación de N_2O durante la eliminación de concentraciones altas de nitrato (Cervantes et al., 2000).

En cuanto a factores, el nivel de pH óptimo está alrededor del neutro. Ya se ha podido apreciar que la desnitrificación aumenta la alcalinidad y, como consecuencia, sube el pH. En el caso de la desnitrificación se recuperan 3,57 [mg/L] como carbonato de calcio por cada [mg/L de $N-NO_3$] desnitrificado (J. Suárez y Jácome, 2007). El pH puede influir en la acumulación de intermediarios indeseables en el proceso desnitrificante. Se ha descrito que en condiciones ácidas (pH 6 o menor) se acumula ácido nitroso (HNO_2), muy tóxico para las bacterias. A valores de pH ligeramente alcalinos, el nitrato es convertido en N_2 . Cabe decir que estos estudios del efecto del pH sobre la desnitrificación han sido realizados en cultivos batch. En cultivos en continuo, por el contrario, no se observó acumulación de intermediarios de la desnitrificación en el intervalo de pH de 6 a 9, aun cuando se utilizó una velocidad de carga alta (1.000 [mg $N-NO_3$]/L/d]), pero el proceso si fue totalmente inhibido a un pH de 5 (Cervantes et al., 2000). El proceso de desnitrificación tiende a aumentar la alcalinidad, puesto que necesita los protones de hidrógeno para su ejecución (Sánchez y Sanabria, 2009).

2.2.6. Desnitrificación simultánea

Para ilustrar el concepto de desnitrificación simultánea se puede apreciar el caso del control de acidificación en el petróleo. Teniendo en cuenta que las reservas de petróleo poseen una diversa población microbiana, se ha generado una alternativa biológica en la cual se manipula dicha población mediante la adición de nitrato para apalear la acidificación producida en las reservas. El principio detrás de esto es la estimulación de las bacterias reductoras de nitrato heterótrofas y las bacterias oxidantes de azufre autótrofas. En la presencia de nitrato, estas cepas compiten por el donador de electrones, produciendo la eliminación del sulfato presente (An et al., 2010).

Furumai et al. (1996) y Reyes-Avila et al. (2004), argumentan que la razón de conversión de nitrato a nitrito ($NO_3^- \rightarrow NO_2^-$) es más veloz vía desnitrificación autótrofa ($S_2^- \rightarrow S^0$) que por heterótrofa ($CH_3COOH^- \rightarrow CO_2$). Contrariamente, la tasa de reacción ($NO_2^- \rightarrow N_2$) experimenta tasas mayores vía heterótrofa que por autótrofa. Por lo anterior, con un cultivo simbiote de organismos autótrofos y heterótrofos con suministro ilimitado de nitrógeno, Reyes-Avila et al. (2004), logra generar remoción simultánea de nitrógeno, azufre y carbono en un tanque agitado de tipo CSTR

2.3. Tecnologías: Reactores desnitrificantes (Montalvo y Guerrero, 2003)

Existen diferentes maneras de clasificar los reactores anaerobios que procesan aguas residuales, en el presente trabajo se profundizará en los reactores UASB y filtro anaerobio. A continuación, en la Tabla 1, se presenta una forma de agrupar los distintos digestores anaerobios.

Tabla 1, Reactores anaerobios.

Primera Generación	Segunda Generación	
	Crecimiento en soporte	Crecimiento disperso
Tanques sépticos	Híbrido	Lodo activado anaerobio
Lagunas anaerobias	Lecho fijo	UASB
Minidigestores	Lecho fluidizado o expandido	EGSB
Digestores convencionales	Filtro anaerobio con carbón activado	Circulación interna
	Inmovilización de microorganismos	Con ascensión de gas
	Asociado a partículas suspendidas	Modificado a alta velocidad
	Contactador rotatorio	Membrana

	anaerobio	
	Columna de plato	Flujo horizontal con deflectores
		Dos etapas
		Percoladores en serie
		Tubular inclinado

(Adaptado de Montalvo y Guerrero, 2003)

2.3.1. Expanded Granular Sludge Bed reactor (EGSB)

El reactor EGSB es perteneciente a la familia de los reactores granulares. Gracias a un reciclo alto, la velocidad de flujo ascendente de este equipo se mantiene alrededor de los 6 [m/h], muy dispar a otros reactores como el Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor (UASB) en que el rango se encuentra a lo más en 1 [m/h], por lo que el lecho del EGSB se torna expandido, a diferencia del UASB.

Consta de un cuerpo cilíndrico largo, de diámetro pequeño para minimizar el área, el cual permite que los gránulos de materia bacteriana interactúen de mejor manera con el ril, produciéndose las reacciones de desnitrificación asociadas. Además, ayudados con la velocidad de flujo, los gránulos se expanden a través de la superficie, mejorando el tiempo de contacto y la transferencia de materia. Este equipo está acondicionado para tratar cargas orgánicas altas, cercanas o superiores a los 30 [kg/m³/d]. La velocidad de flujo es su principal mejora respecto al UASB, permitiendo separar la biomasa dispersa de los gránulos mayores, maximizando el contacto y el rendimiento del reactor (Lim, 2011).

En el tope de este reactor se encuentra una campana que posee un orificio superior para la salida del biogás, además de una expansión diametral, para evitar la descarga por arrastre de los microorganismos. La descarga del reactor funciona por rebalse, es decir, el nuevo volumen de ril ingresado al reactor empuja hacia el exterior los desechos, por la parte superior (ver Figuras 6 y 7).

Es adecuado para concentraciones en el influente menores a 1-2 [g DQO/L], además de condiciones de temperatura medias a bajas (Lettinga *et al.*, 1997).

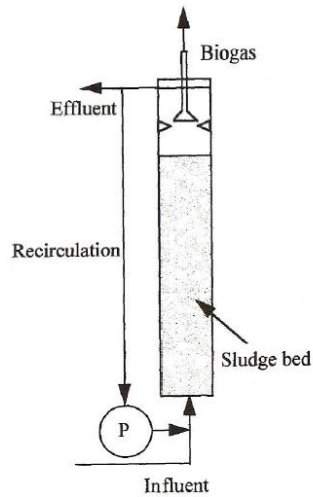


Figura 6, Reactor EGSB.
(Lim, 2011)

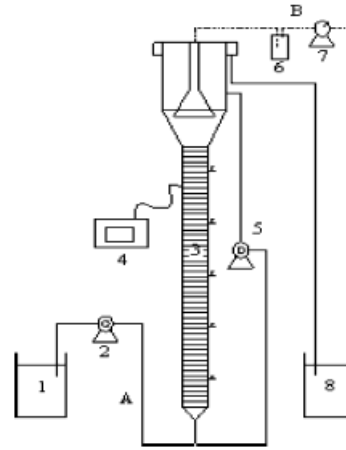


Figura 7, Configuración de equipos asociados al reactor EGSB.
(Chen et al., 2008)

A continuación, se presenta la Tabla 2, correspondiente a diversas experiencias realizadas en laboratorio sobre la capacidad de remoción de contaminantes del reactor EGSB.

Tabla 2, Experiencias asociadas a reactor EGSB.

Referencia	Reactor	Azufre	Remoción	Nitrógeno	Remoción	Carbono	Remoción
Furumai <i>et al.</i> (1996)	DAF	$S_2O_3^{-2}$ $\rightarrow SO_4^{-2}$	N/A	NO_3^- $\rightarrow N_2$	Alta	X	X
Wang <i>et al.</i> (2005)	CSTR	S^{-2} $\rightarrow S^0$	75%	NO_3^- $\rightarrow N_2$	90%	X	X
Manconi <i>et al.</i> (2006)	CSTR	S^{-2} $\rightarrow SO_4^{-2}$	100%	NO_3^- $\rightarrow N_2$	100%	X	X
Kim y Bae (2000)	SPBR	S^0 $\rightarrow SO_4^{-2}$	N/A	NO_3^- $\rightarrow N_2$	99%	Lactato	N/A
Reyes-Avila <i>et al.</i> (2004)	CSTR	S^{-2} $\rightarrow S^0$	99%	NO_3^- $\rightarrow N_2$	99%	Acetato	65%
Chen <i>et al.</i> (2008)	EGSB	S^{-2} $\rightarrow S^0$	>90%	NO_3^- $\rightarrow N_2$	54-66%	Acetato	>90%

DAF: reactor con aire disuelto; CSTR: reactor continuamente agitado.; SPBR: reactor biológico secuencial.

2.4. Parámetros de operación.

2.4.1. Razón S/N y C/N.

En el caso del presente estudio se poseen riles con presencia de compuestos sulfurados y nitrogenados, además de materia orgánica disuelta por lo que resulta primordial entender la interacción de estas tres especies y su dificultad de tratamiento.

La razón S/N representa los gramos de azufre reductor sobre los gramos de nitrógeno oxidante¹, y la de C/N es homónima a la anterior, pero correspondiendo la concentración de carbono en la fuente respectiva respecto a la de nitrógeno. Esta información es relevante a la hora de caracterizar el ril para conocer las concentraciones de cada uno de los contaminantes y poder elegir una alternativa de tratamiento óptima.

Existen diversos estudios respecto a la respuesta de los microorganismos a estas razones. Con respecto a la relación S/N, Campos *et al.* (2008) indica que, en un reactor del tipo *batch*, utilizando razones menores a la estequiométrica, en donde el compuesto limitante es el tiosulfato de sodio, la desnitrificación es incompleta produciéndose nitrito como producto final. Por otro lado, a razones estequiométricas o superiores, se observa desnitrificación total, produciendo N₂, con una fuente de nitrógeno correspondiente a nitrato en concentración variable de 0,88 a 3,98 [g/L]. Por otro lado, Muñoz (2015), operando un reactor de tipo UASB, determina una relación óptima de S/N de 4,6 , con VCN de 2,2 [kg/m³/d], alcanzando remociones de nitrato y tiosulfato de 91% y 82%, respectivamente.

Para el caso de la relación C/N, con H₂S, acetato y nitrato como aceptor de electrones, Cardoso *et al.*, (2006) demuestra que con exceso estequiométrico de nitrato, se presenta completa oxidación del ácido sulfhídrico a sulfato. Sin embargo, a concentraciones bajo la estequiométrica, se obtienen razones de oxidación bajas. Esto radica en que la concentración de carbono impacta directamente la actividad de las bacterias heterotróficas. Por otra parte, Chen *et al.* (2008) analiza el comportamiento de un reactor

¹ Se realiza una equivalencia estequiométrica para cada compuesto, recordando que en el presente estudio se tendrá tiosulfato de sodio, nitrato y acetato de sodio como fuentes de azufre, nitrógeno y carbono respectivamente.

EGSB con inóculo simultáneo, variando la relación C/N entre 0,85/1 a 2/1, con estequiometría de 0,75/1. El rendimiento de remoción de nitrato y acetato fue del 100% para una proporción de 0,85/1 hasta 1,05/1, sin embargo, para razones de 2/1 se observa una baja de la remoción de azufre. Esto se explica porque cuando existe exceso de acetato, las bacterias desnitrificadoras heterótrofas dominan a las autótrofas.

2.4.2. Tiempo de retención hidráulica

El tiempo de retención hidráulica (TRH) corresponde a una medida del tiempo que permanece un volumen de agua residual dentro del reactor. Se puede apreciar la relación matemática del TRH en el Ecuación 2.11.

$$TRH [d] = \frac{\text{volumen reactor } [m^3]}{\text{caudal } [\frac{m^3}{d}]} \quad \text{Ecuación 2.11}$$

El parámetro de la TRH repercute en la eficiencia de remoción de contaminantes, ya que entrega información respecto a cuánto es el tiempo de interacción entre los microorganismos y el sustrato. Chen *et al.* (2008) reporta tiempos de retención cercanos a 0,5 días (11,4 [h]) para el comportamiento del reactor EGSB estudiado, el cual posee características de diseño similares al de este estudio.

2.4.3. Presencia de oxígeno disuelto y productos intermedios.

Existen ciertas especies que pueden inhibir las capacidades desnitrificantes de las bacterias y que, por ende, se hace primordial propender a que no exista presencia de ellas en el reactor.

Por un lado, si no se tiene un reactor y un sistema lo suficientemente aislado, lo que conlleva presencia de oxígeno en el equipo, puede significar que las bacterias, en base a capacidades facultativas, empleen el O₂ como aceptor final de electrones por sobre los compuestos sulfurados, reduciendo su recuperación. Fajardo (2011) informa que con concentraciones superiores a los 0,3 [mg/L] se produce una inhibición de la desnitrificación y la formación de sulfato.

Por otra parte, se debe controlar la acumulación de nitrito como producto intermedio de la reacción, ya que esta especie representa ser un inhibidor natural de los procesos de remoción de nitrógeno de aguas residuales (Cardoso, 2002). En el reactor EGSB monitoreado en el trabajo de Chen *et al.*, (2008), se puede apreciar que, a valores de C/N

de entre 0,85-1,05/1, se tuvo acumulación de NO_2^- , lo que se tradujo en menor actividad de las bacterias heterótrofas sobre las autótrofas.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA.

En la presente investigación se tienen dos etapas: una de enriquecimiento microbiano, que tiene como objetivo el acondicionamiento de las bacterias autótrofas y heterótrofas desnitrificantes y, por otro, lado la etapa de puesta en marcha del reactor EGSB propiamente tal, en la cual se cargan los microorganismos para iniciar, a una baja carga de contaminantes, el proceso a monitorear.

3.1. Etapa de enriquecimiento.

En la etapa de enriquecimiento se emplean dos reactores de 1,5 [L] de capacidad para cada cultivo. Dichos equipos pueden apreciarse en la Figura 8. Cuentan con una salida superior de descarga, situada en la línea de los 500 [mL] y una en la parte inferior para la entrada (alimentación). Además, cuentan con una salida de gases, producidos en el proceso de desnitrificación, en su parte superior.

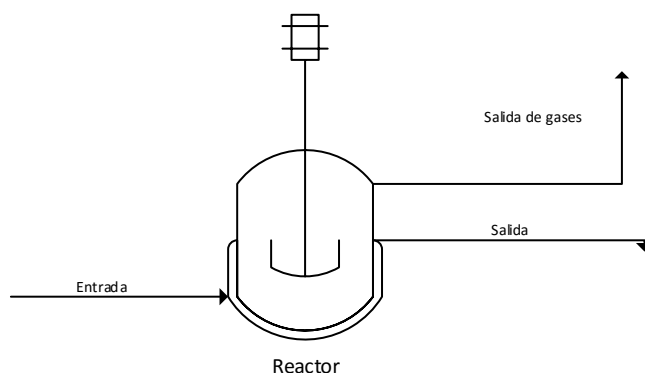


Figura 8, Reactor de Enriquecimiento.

El proceso de carga y descarga se realiza cada 3 días y se emplea un ril sintético preparado con las concentraciones que aparecen en la Tabla 3. Se observa la presencia de tiosulfato de sodio como fuente aceptora de electrones para las bacterias autótrofas y el acetato de sodio como fuente de carbono para las heterótrofas como principal diferencia, además de la incorporación de bicarbonato de sodio para estabilizar el pH del cultivo autótrofo.

Los reactores eran mantenidos a una temperatura de 35°C mediante un calefactor instalado próximo a ellos, el cual disponía de una termocupla para monitoreo y un controlador encargado del funcionamiento del calefactor. Todo el sistema fue mantenido en un ambiente aislado.

Tabla 3, ril sintético de alimentación autótrofo y heterótrofo en la etapa de enriquecimiento.

Reactor de enriquecimiento		
Parámetro	Autótrofo	Heterótrofo
[-]	[mg/L]	[mg/L]
Na₂S₂O₃*5H₂O	5	-
KNO₃	1,43	1,43
NaHCO₃	1,5	-
K₂HPO₄	1,5	0,3

KH₂PO₄	0,3	1,84
NH₄Cl	0,1	0,1
CH₃COOK	-	1,52
Micronutrientes	1 [mL]	1 [mL]

(Fajardo,2012)

Se monitorean diversos parámetros para cuantificar el acondicionamiento, siendo la remoción de nitrógeno y los sólidos suspendidos totales y volátiles los que proporcionan mayor información. El primero de ellos corresponde a la capacidad que posee el cultivo microbiano de reducir el nitrato presente en el ril y convertirlo en nitrógeno gaseoso. Lo anterior se realiza mediante una comparación de las concentraciones en el influente y el efluente. Por otra parte, los sólidos suspendidos totales miden la cantidad de lodo en el reactor, mientras que su parte volátil es una medida de la cantidad de microorganismos en él.

3.2. Etapa de puesta en marcha.

3.2.1. Caracterización del inóculo

Para comenzar el proceso de puesta en marcha del reactor, es necesario primero caracterizar la mezcla de microorganismos que se emplearán. Como existen dos cultivos bacterianos, es necesario generar una mezcla óptima de ellos, teniendo en cuenta los SSV de cada uno, para de esa forma no favorecer la presencia de uno sobre otro. Para lo anterior, se tiene lo presentado por Peirano (2016), quien postula una razón teórica óptima de 0,54 de bacterias heterótrofas sobre bacterias autótrofas, en términos de masa de microorganismos.

Por tanto, se realiza una mezcla con dicha proporción, inoculándose cerca de 25% del volumen del reactor.

3.2.2. Determinación de actividad desnitrificante autótrofa (ADA).

De la misma forma, se pudo testear la actividad desnitrificante autótrofa (ADA) del cultivo respectivo, para tener una idea de la capacidad reductora de las bacterias. Dicho muestreo se llevó acabo según el procedimientos descrito en el trabajo *“Determinación de la actividad desnitrificante autótrofa de lodo enriquecido proveniente de plantas de tratamiento anaerobio”*, adaptado de Fajardo (2011) y Belmonte (2009) (ver Figuras 9 y 10).

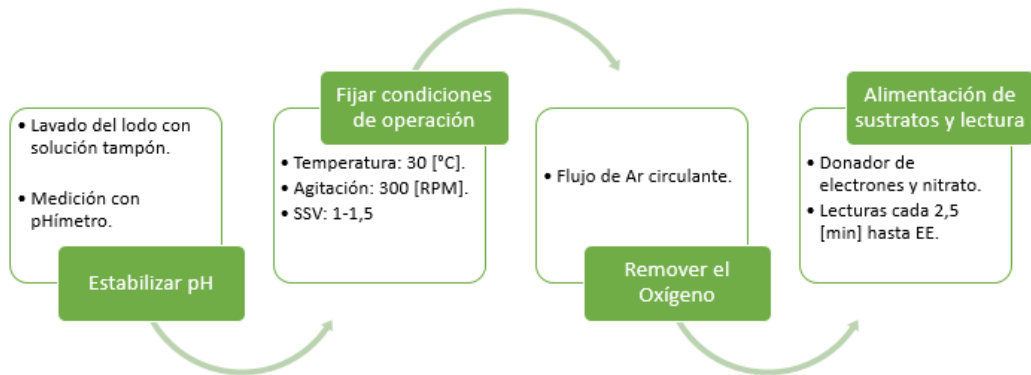


Figura 9, Esquema ADA.
Fuente: Elaboración propia.



Figura 60, Equipos determinación ADA.

3.3.3. Diseño de reactor.

El reactor, del tipo EGSB, posee las dimensiones indicadas en la Figura 11. Tal como se muestra, este reactor posee un diseño de tipo tubular y alargado en la mayoría de su estructura. Es esta configuración la que permite alcanzar velocidades superiores a otros reactores e incrementar su performance. Sin embargo, en su parte superior posee una zona de campana, la cual actúa como una zona que previene la eliminación de microorganismos del equipo, ya que una velocidad podría producir el arrastre de

bacterias. De esta forma, aumentando el diámetro en esta porción del equipo, se disminuye la velocidad de flujo. En cuanto a la interacción que permitirá la actividad desnitrificante simultánea, se tiene por tanto que corresponde a la porción del reactor en que se produce la ascensión de flujo, por lo que el volumen efectivo constituye la sección tubular, correspondiendo aproximadamente a 1,67[L]

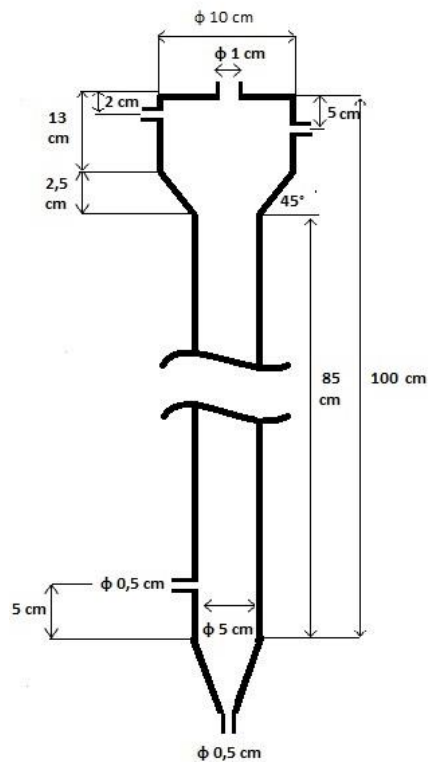


Figura 71, Reactor EGSB empleado.

3.3.4. Condiciones de operación.

Respecto de los equipos asociados y las condiciones de operación se debe tener en consideración lo expuesto en capítulos posteriores del presente estudio.

3.3.4.1. Temperatura y alcalinidad.

Tal como se ha expuesto, la temperatura representa un parámetro crítico de operación, como también, lo es la alcalinidad de la solución. Para ello, es que se instala una termocupla próxima al reactor, la cual envía el valor reportado a un controlador con un set point de 35 °C. Al momento de registrarse una baja, el controlador inicia el funcionamiento de un calefactor de manera inmediata, hasta alcanzar el valor seteado. La

alcalinidad de la solución es registrada mediante la metodología presentada en la sección de Testeo de Parámetros y es controlada mediante la adición de sustancias *buffer*, que sean capaces de elevar el pH, ante alguna eventual caída por la producción de H⁺.

3.3.4.2. Alimentación.

Para la alimentación de este reactor se tiene una bomba peristáltica (curva en Anexo A), la cual hace ingresar un ril sintético al reactor, desde un tanque de almacenamiento con un agitador para evitar la precipitación de componentes. Este ril sintético presenta la composición apreciada en la Tabla 4, en la cual el tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) representa el aceptor de electrones y el acetato de potasio (CH₃COOK) junto con el carbonato de sodio (NaHCO₃) (aunque éste también representa el papel de buffer) la fuente de carbono para autótrofas y heterótrofas respectivamente, además de la fuente de nitrógeno, correspondiente a nitrato de potasio (KNO₃). Las demás sustancias representan un medio de controlar la alcalinidad de la mezcla y los micronutrientes (registrados en la Tabla 5) corresponden a compuestos esenciales para el crecimiento bacteriano.

Tabla 4, Ril sintético de alimentación de reactor EGSB simultáneo.

Componente	Valor	Unidad
Na ₂ S ₂ O ₃ *5H ₂ O	2,6	[g/L]
KNO ₃	1,06	[g/L]
CH ₃ COOK	1,81	[g/L]
NaHCO ₃	1,5	[g/L]
NH ₄ Cl	0,056	[g/L]
KH ₂ PO ₄	0	[g/L]
K ₂ HPO ₄	0,07	[g/L]
Micronutrientes	1	[mL/L]

(Fajardo,2012)

Tabla 5, Composición de solución de micronutrientes.

Componente	Valor	Unidad
Na ₂ MoO ₄ *7H ₂ O	1,00	[g/L]
FeSO ₄ *7H ₂ O	30,0	[g/L]
ZnCl ₂ *4H ₂ O	1,00	[g/L]
CaCO ₃	2,00	[g/L]

MnCl₂*4H₂O	1,50	[g/L]
CuSO₄*5H₂O	0,25	[g/L]
CoCl₂*6H₂O	0,25	[g/L]
HCl (32%)	50,0	[g/L]
NiCl₂*6H₂O	0,25	[g/L]
H₂BO₃	0,25	[g/L]

(Fajardo,2012)

El sistema de alimentación es controlado mediante un timer, el cual es programado para accionar la bomba a determinados intervalos de tiempo, entregando de esta forma un caudal total al día distribuido en períodos sucesivos, los cuales ayudan al rendimiento del reactor en la etapa de puesta en marcha. Dicha programación depende de la carga que se quiera aplicar sobre el equipo. Se define entonces la velocidad de carga nitrogenada (VCN) como el parámetro que determina la cantidad de contaminante nitrogenado alimentado al reactor, de la forma presentada en la Ecuación 3.1

$$VCN \left(\frac{kg N}{m^3 día} \right) = \frac{Q \left(\frac{m^3}{día} \right) * C \left(\frac{kg N}{m^3} \right)}{V_{reactor} (m^3)} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

Donde Q representa el caudal ingresado al reactor, C la concentración de nitrógeno y Vr el volumen del reactor.

De la expresión anterior, se aprecia que una variación de la VCN responde a un cambio en la concentración de nitrógeno empleada o al caudal ingresado. A lo largo de esta etapa no se tienen cambios en la VCN, ya que la puesta en marcha corresponde a un período de adaptación de los microorganismos a la entrada del ril, el cual debe poseer un valor de VCN bajo. Para el presente estudio, se elige un valor de 0,1 [kg N/m³/d], correspondiente a una carga mínima. Por tanto, para entregar dicho valor de VCN, el timer se programó de manera que sea capaz de activar la bomba por un período de 2 [min], 16 veces en el día, para de esa forma poseer una distribución del caudal ingresado.

De igual forma, se instala una segunda bomba peristáltica (curva en Anexo A), que genera reflujo, permitiendo mantener expandido el lodo en el reactor, ayudando de esta forma a que la alimentación pueda arrastrar microorganismos a lo largo del reactor. Así se asegura un contacto permanente con el lecho. Sin embargo, se debe tener extrema precaución en que dicho reflujo no arrastre al microorganismo fuera del reactor.

Finalmente, se instalan dos salidas del reactor mediante mangueras. La primera se encuentra en el tope de la campana y corresponde a la vía de evacuación de gases, en

este caso, el nitrógeno gaseoso producto de la reducción de nitrato. Por otro lado, se instala una manguera para la eliminación de residuos, que lleva a un tanque de desechos.

Se presenta en la Figura 12 una imagen del conjunto de equipos instalados en laboratorio.

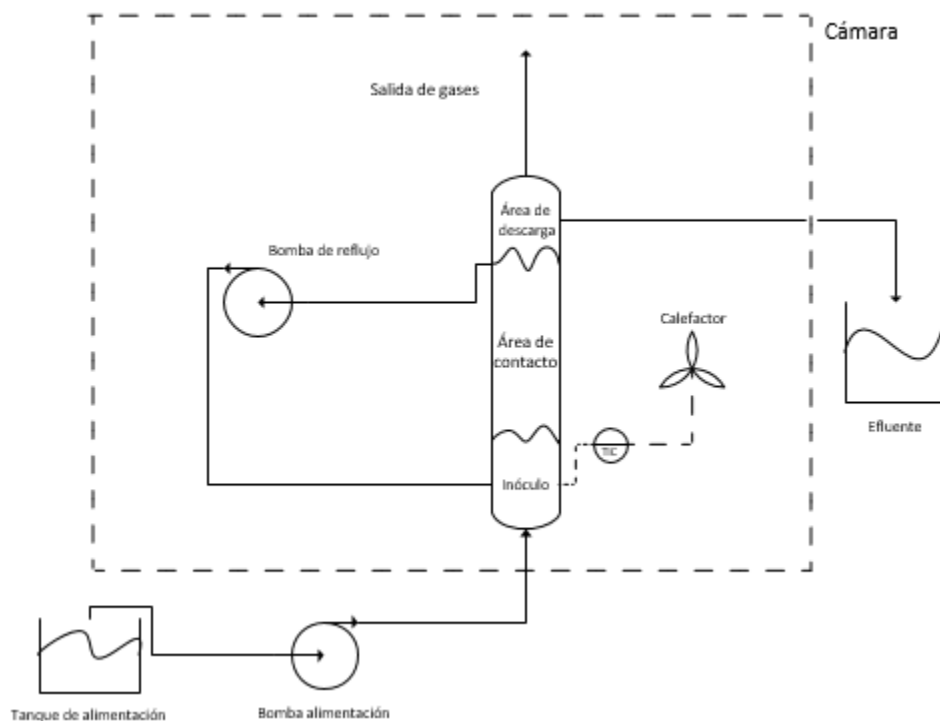


Figura 82, Esquema de Reactor EGSB utilizado.

3.3.5. Control del proceso.

Para el control de proceso se emplean los métodos autorizados, que se presentan en los Anexos B hasta el G y se resumen en la Tabla 7. Las muestras extraídas son analizadas inmediatamente, siendo debidamente almacenadas en el caso de que se necesite hacerlo después. No obstante, el tiempo que transcurre entre la toma de la muestra al análisis nunca excedió de 24 [h], lo cual considera las recomendaciones de la APHA de almacenamiento de muestras para cada compuesto.

Tabla 7, Parámetros controlados.

Parámetro a Testear	Técnica empleada	Fuente
Nitrato	Espectrometría UV-VIS	APHA, 2012
Nitrito	Espectrometría UV-VIS	APHA, 2012
Tiosulfato	Valoración	Aguirre, 2014

Sulfato	Espectrometría UV-VIS	Severiche y González, 2012
DQO (acetato)	Espectrometría UV-VIS	León, 2012
SSV y SST	Gravimetría	APHA, 2012

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Etapa de enriquecimiento.

Tal como se mencionó en el punto anterior, los parámetros medidos a lo largo del tiempo y que representan de mejor forma una aproximación al rendimiento de las cepas bacterianas, corresponden a los sólidos suspendidos totales y volátiles (SST y SSV, respectivamente), además de las tasas de remoción de nitrato de cada una.

Para el caso del crecimiento bacteriano, se ilustra en las Tablas 8 y 9, los SST y SSV de ambos cultivos, autótrofo y heterótrofo, a su vez que la remoción de nitrato en el reactor, se ilustra mediante la diferencia de la concentración en el influente (alimentación) y el efluente (descarga), denotando un porcentaje de remoción como el que se indica en las Tablas 10 y 11.

Tabla 8, Crecimiento microbiano autótrofo.

AUTÓTROFAS		
DÍA	SST	SSV
[-]	[mg/L]	[mg/L]
7	5530	4190
14	5560	3350
21	35040	24460

Tabla 9, Crecimiento microbiano heterótrofo.

HETERÓTROFAS		
DÍA	SST	SSV
[-]	[mg/L]	[mg/L]
1	9340	13180
7	9530	10100
14	29280	24600
21	24670	21610

De las tablas anteriores, se puede apreciar una tendencia al crecimiento de la biomasa tanto en el reactor autótrofo como heterótrofo, el cual será primordial para la inoculación y posterior puesta en marcha del reactor EGSB.

Tabla 10, Remoción de nitrógeno por parte del cultivo autótrofo.

Autótrofas			
Día	NO ₃ influente	NO ₃ efluente	Remoción
[-]	[mg/L]	[mg/L]	[%]
1	838	-	-
2	953	87	89,6
6	1012	26	97,3
8	1285	79	92,2
12	865	15	98,8
14	981	12,0	98,6
18	916	23	97,7
21	892	28	96,9

Tabla 11, Remoción de nitrógeno por parte del cultivo heterótrofo.

Heterótrofas			
Día	NO ₃ influente	NO ₃ efluente	Remoción
[-]	[mg/L]	[mg/L]	[%]
1	1612	-	-
2	2352	46	97,2
6	923	12	99,5
8	1104	7,7	99,2
12	1354	11,1	99,0
14	1693	60,6	100
18	571	4	100
21	932	9,3	98,4

En el caso de la remoción de nitrato del influente, se aprecian valores mayoritariamente sobre el 95,0% para las autótrofas y de 97,0% para heterótrofas, incluso alcanzando *peaks* de 98,8% y 100% respectivamente. Lo anterior representa una medida de la capacidad desnitrificante de las bacterias y por ende una aproximación al rendimiento que mostrarán más adelante.

Con los datos anteriormente expuestos se procede a la inoculación del reactor EGSB.

4.2. Etapa de puesta en marcha.

Antes de la inoculación y siguiendo la metodología presentada en la sección anterior, se pudo determinar la actividad desnitrificante autótrofa (ADA) de los microorganismos, la cual corresponde a 339,95 [g N₂/g SSV/d].

Luego de la inoculación, la puesta en marcha se monitorea periódicamente a través de los parámetros a continuación indicados.

4.2.1. Inóculo

Tal como se presentó en secciones posteriores, se generó una mezcla de cepas, previa caracterización de ellas, buscando una relación H/A (en unidades de mg de SSV) óptima de 0,54 (heterótrofas/autótrofas). Es así como se inoculó al reactor una mezcla de 610 [ml] de lodo, con una razón H/A de 0,536, correspondientes a 240 [mL] y 370 [mL] de inóculo heterótrofo y autótrofo, respectivamente (ver Tabla 12).

Tabla 12, Inóculo del reactor EGSB.

Inóculo EGSB	[mg SSV/L]	Volumen [ml]	Volumen [L]	[mg SSV]	Razón	Razón Teo
Heterótrofo	20220	240	0,24	4852,8	0,53620914	0,54
Autótrofo	24460	370	0,37	9050,2		
Inóculo Total		610				

4.2.2. Potencial de Hidrógeno (pH)

En la Figura 13, se presenta la tendencia del pH a través del tiempo. Se puede apreciar un valor por sobre los 9, hasta cerca del día 7 de operación. Teniendo en cuenta que los valores óptimos, mencionados en el Marco Teórico del presente estudio, corresponden a valores entre 6 y 9 (ligeramente neutros), se baja la cantidad de carbonato de calcio (CaCO_3), presentándose una caída de pH leve, pero que encuentra su valor dentro del rango mencionado.

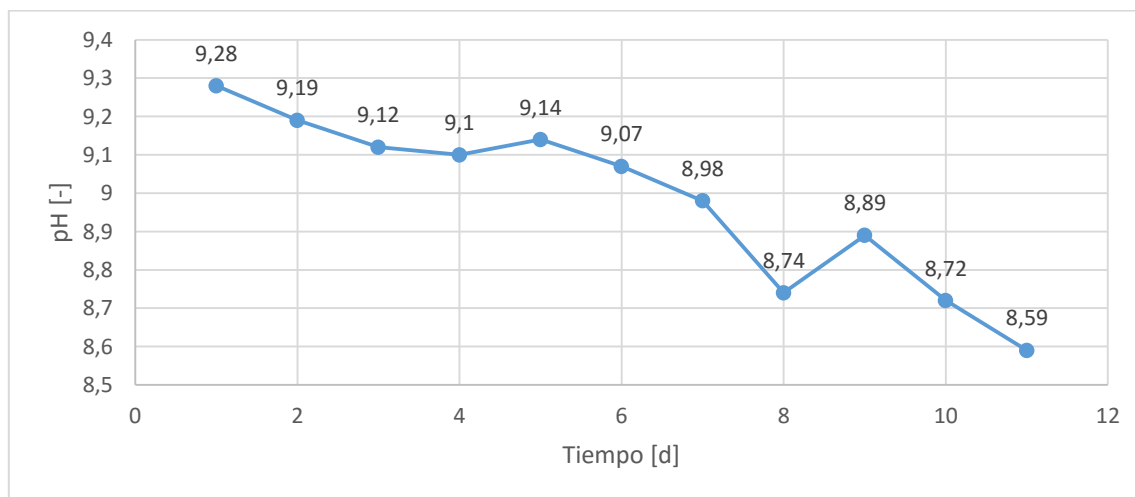


Figura 93, Evolución del pH en el reactor.

4.2.2. Tiosulfato y Sulfato.

La remoción de tiosulfato de sodio se puede apreciar en la Figura 14, en la cual se aprecia un valor inicial cercano al 84,0%, el cual posee una tendencia al alza, informando un valor de 98,7% el día de término de la puesta en marcha. Desde el día 5 de operación el crecimiento se muestra constante, existiendo variaciones en las mediciones en los días previos.

Para explicar lo anterior, de aquí en adelante se debe tener en cuenta que alrededor del día 5 de operación se descubre que el actuador unido a la termocupla y que opera el calefactor se encontraba en posición errónea, ya que éste último estaba en altura, lo que se traducía en que el aire caliente se mantenía en el tope del reactor y no calefaccionada la cama de bacterias de la parte baja del reactor, la cual contenía casi la totalidad del lecho, por lo que no se encontraba la temperatura óptima (también mencionada en el Marco Teórico de este estudio, cercana a los 35 °C). Luego del cambio de configuración de los equipos, se aprecia un cambio sostenido en casi la totalidad de los parámetros medidos, tendiendo al alza todas las remociones.

Los valores de remoción de tiosulfato son significativamente mayores a los de Aguirre (2014), con una tasa de 32,5%, respectivamente. Lo anterior se debe a la alimentación de Aguirre (2014), el que incorpora un ril con menor proporción de tiosulfato, por lo que beneficia el metabolismo de las bacterias heterótrofas, lo que se ve reflejado en su proporción S/N de 2,6 frente a los 4,6 del presente experimento.

Por otro lado, la producción de sulfato encontró un alza sostenida desde el día 5. Dichos valores alcanzaron *peaks* de 24,95 [mg/L], maximizando la conversión del tiosulfato y por ende representando una mayor capacidad de recuperar el azufre. De igual forma, se puede apreciar valores

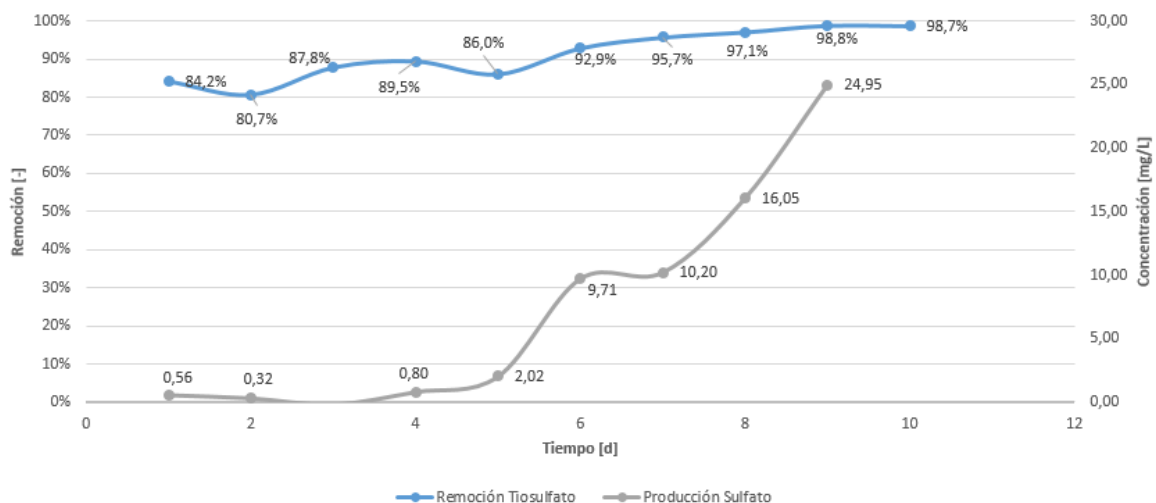


Figura 104, Remoción de Tiosulfato y producción de sulfato en el reactor a VCN de 0,1.

4.2.3. Nitrato y nitrito

La remoción de nitrato corresponde al parámetro principal de acuerdo a los objetivos planteados al comienzo del estudio.

La remoción bacteriana antes de la inoculación correspondía a valores sobre el 90,0%. Sin embargo, tomando en cuenta que se cambia el ambiente de ellas, además que se mezclan cada una de ellas, la baja en el porcentaje a un 88,2% de remoción del reactor en la primera medición es esperable y representa una caída no tan pronunciada. Luego, y como se observa en la Figura 15, se presenta una tendencia al alza, con crecimiento sostenido desde el día 5 de operación, llegando a un valor de 99,5% el día de la última medición.

Además, se puede apreciar un alza constante de la concentración de nitrito, lo cual representa uno de los factores por los que se revisó la instalación, cambiando la configuración el día 5 de operación. Como se puede apreciar, la concentración de nitrito, la cual cómo se explicó se debe tender a disminuir, experimentó una caída continua (alcanzando los 0,43 [mg/L]), produciendo por ende una mayor producción de nitrógeno molecular, significando una desnitrificación óptima.

Los niveles de remoción de nitrato son similares a los de Aguirre (2014), el que informa una tasa de 99,5%. Lo anterior deja de manifiesto la capacidad desnitrificante del reactor simultáneo, independiente de si se promueve la actividad de autótrofas o heterótrofas.

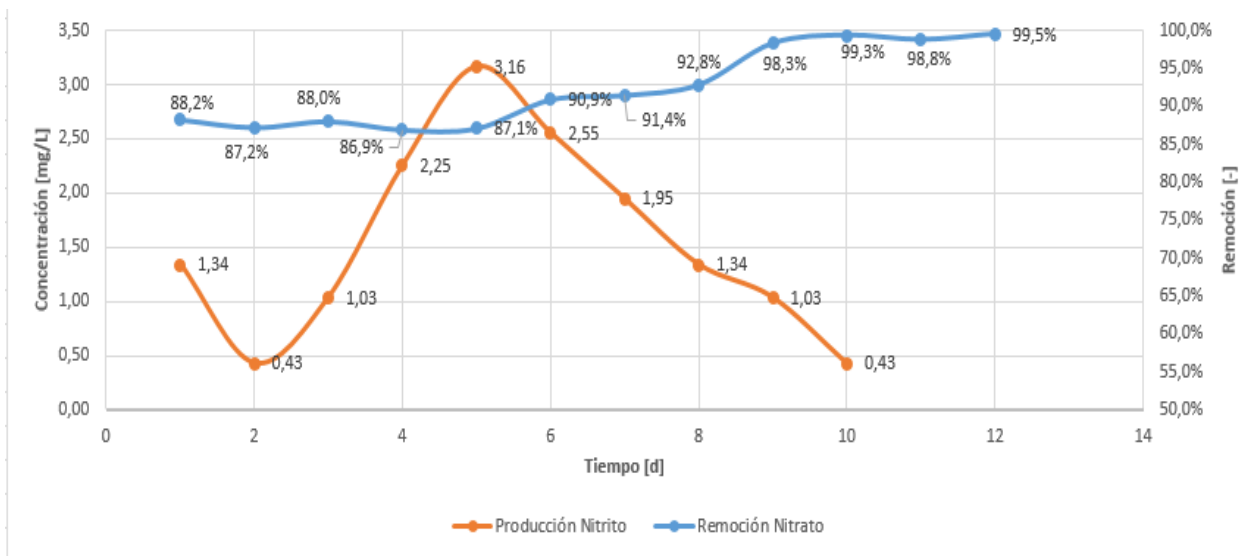


Figura 115, Remoción de Nitrato y producción de nitrito en el reactor a VCN de 0,1.

4.2.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Tal como se puede apreciar en la Figura 16, la demanda química de oxígeno, correspondiente al consumo de material orgánico en el reactor, representado por el acetato de sodio, tiene un aumento sostenido a partir del día 5 de operación. El comportamiento registra un valor máximo de 73% el día 12.

Como se discutió anteriormente, es esperable que este nivel de remoción no esté por sobre el de Aguirre (2014), quien informa cerca de 76,0% de remoción de materia orgánica, alcanzando valores superiores. Lo anterior responde a que este estudio empleó razones S/N y C/N tendientes a favorecer el cultivo autótrofo, por lo que la capacidad de remoción de acetato, exclusiva de los organismos heterótrofos se vio perjudicada.

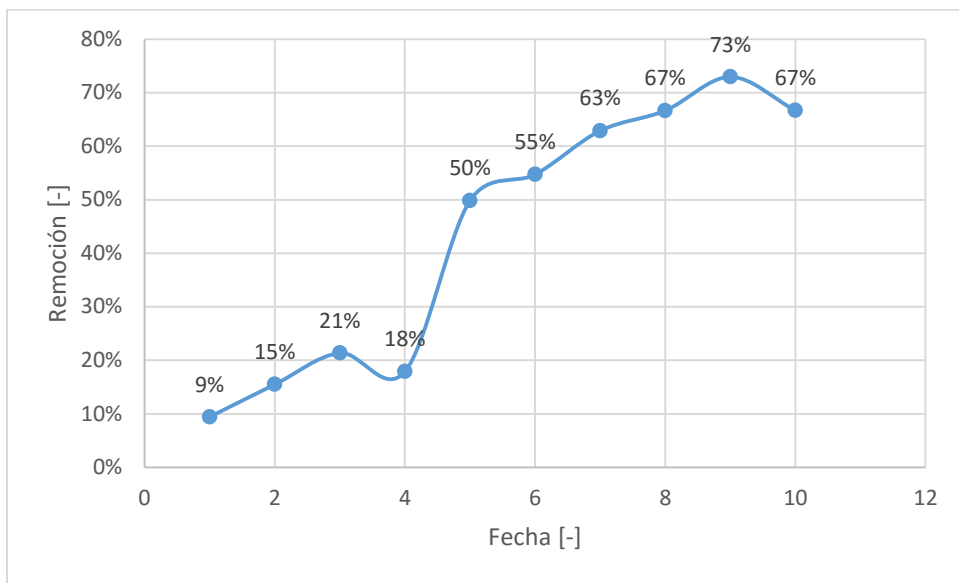


Figura 126, Remoción de DQO en el reactor a VCN de 0,1.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Los niveles de desnitrificación de 99,5% y de remoción de tiosulfato y materia orgánica de 98,7% y 73,0%, respectivamente, representan un porcentaje importante de descontaminación del ril alimentado, el cual posee una razón de S/N de 4,6 y una VCN de 0,1 [kg N/m³/d], junto con una relación C/N de 3,1. En cuanto a la tasa de desnitrificación, y comparando con la producción de nitrito, se puede decir que esta tecnología representa una alternativa a considerar para el proceso de descontaminación de aguas. A su vez, se pudo realizar una correcta remoción del tiosulfato y se generó un producto más fácil de retirar, el sulfato. Por el lado de la materia orgánica, también se alcanzaron tasas de remoción altas. Es necesario tomar en cuenta la naturaleza de la alimentación (ril) y sus respectivas concentraciones para poder estimar tasas de remoción, ya que como se pudo apreciar las relaciones S/N y C/N se traducen en un favorecimiento de la actividad desnitrificante autótrofa o heterótrofa según sea el caso y, por ende, se presentará una remoción más alta de compuesto sulfurado o materia orgánica, dependiendo el caso. En conclusión y contrastando con otros experimentos, se pone de manifiesto que el reactor EGSB simultáneo produjo rendimientos altos de operación para las tres especies estudiadas.

En cuanto a su posible operación posterior, se dejan algunas recomendaciones:

- El caudal de operación representa una variable extremadamente importante: por un lado, determina la VCN y la masa de contaminante a tratar y, por otro lado, debe ser ajustado de manera óptima para la correcta operación del reactor. No se debe olvidar que esta tecnología trabaja con un lecho bacteriano sin soporte, por lo que el peligro de arrastre de biomasa hacia el exterior al momento de la alimentación es notable y mermaría la capacidad instalada. Además, los tiempos de retención hidráulica constituyen otra variable a considerar, ya que la fenomenología involucrada está estrechamente relacionada con el tiempo en que interaccionan las bacterias con el ril, y, al no tener un relleno, dichas tasas son mínimas.
- Para una correcta operación es imprescindible contar con una unidad representativa de la temperatura a la cual se están sometidos los microorganismos. En el caso de la presente investigación, todas las tasas de remoción experimentaron un crecimiento sostenido cuando se reconfiguró la posición del medidor y actuador. Con respecto a la alimentación del reactor, se corroboran las relaciones de alimentación presentadas. Sin embargo, se recomienda emplear una cantidad por debajo de lo presentado de carbonato de

calcio. Lo anterior ya que los niveles de alcalinidad fueron elevados durante los primeros días de operación.

CAPÍTULO 6: BIBLIOGRAFÍA.

- Aguirre, Juan, P. (2014). Diseño y Puesta en marcha de un reactor UASB híbrido para la desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa. Valparaíso, Chile: Universidad Técnica Federico Santa María. Tesis para optar al título de magister en Ciencias de la Ingeniería Química.
- An, S., Tang, K., y Nemati, M. (2010). Simultaneous biodesulphurization and denitrification using an oil reservoir microbial culture: Effects of sulphide loading rate and sulphide to nitrate loading ratio. *Water Research*, 44(5), 1531–1541. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2009.10.037>
- APHA. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 22th Edition. Washington DC: APHA, AWWA, WEF.
- Aranda-Cirerol, N., Herrera-Silveira, J. A., y Comín, F. A. (2006). Nutrient water quality in a tropical coastal zone with groundwater discharge, northwest Yucatán, Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68(3–4), 445–454. <http://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.02.015>
- Bashan, L. E. De, Hernandez, J. P., y Bashan, Y. (2004). Utilidad de las bacterias de uso agrícola para el crecimiento de algas empleadas en el tratamiento de aguas residuales. *Water Research*, 38(1), 8–9.
- Borkenstein C., Fischer U. (2006). Sulfide removal and elemental sulfur recycling from a sulfide-polluted medium by *Allochromatium vinosum* strain 21D. *International Microbiology*, 9:253–258.
- Campos, J. L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A., y Méndez, R. (2008). Kinetics of denitrification using sulphur compounds: Effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. *Bioresource Technology*, 99(5), 1293–1299. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.007>
- Campos, J. L., Fernández, I., Fajardo, C., Seca, I., y Pampín, R. (2009). Procesos avanzados de eliminación de nitrógeno : nitrificación parcial, Anammox, desnitrificación autótrofa.
- Cardoso, R. B. (2002). Potencial e importancia del ciclo del nitrógeno en la depuración de aguas.
- Cardoso RB, Sierra-Alvarez R, Rowlette P, Flores ER, Gomez J, y Field JA (2006) Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Biotechnol Bioeng* 95:1148–1157
- Cervantes, F., Pérez, J., y Gómez, J. (2000). Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(2), 73–82.
- Chen, C., Ren, N., Wang, A., Yu, Z., y Lee, D. J. (2008). Simultaneous biological removal of sulfur, nitrogen and carbon using EGSB reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(6), 1057–1063. <http://doi.org/10.1007/s00253-008-1396-3>
- Dapena Mora, A. (1989). Wastewater treatment by anammox process: A short-circuit in the natural nitrogen cycle. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53).
- Dapena-Mora A., Campos J., Mosquera-Corral A., Jetten M., y Méndez R. (2004). Stability of the ANAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR. *Journal of Biotechnology*, 110:159-170.
- Dapena-Mora A., Fernández I., Campos J., Mosquera-Corral A., Méndez R., y Jetten M. (2007).

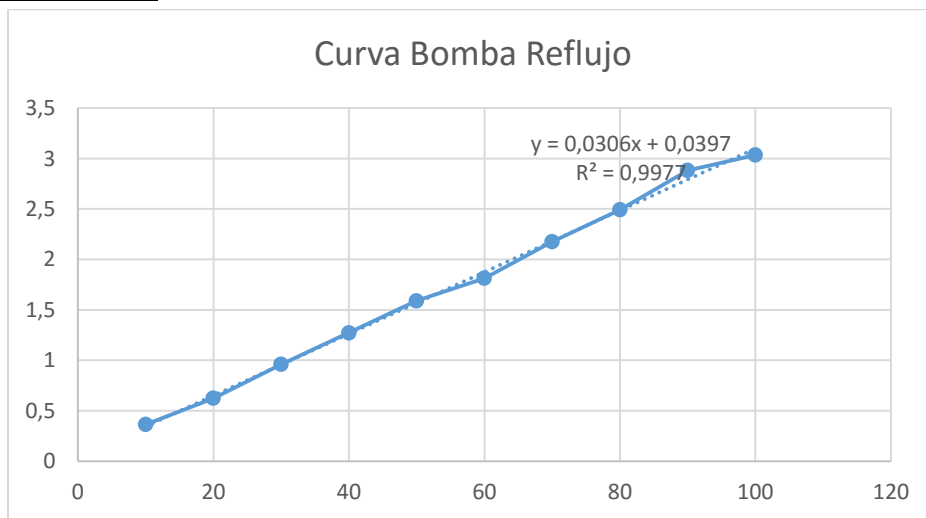
- Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme and Microbial Technology*, 40:859-865.
- Fajardo, C. (2011). Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds.
- Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J., y Méndez, R. (2008). Depuración conjunta de aguas ricas en nitratos y efluentes con compuestos reducidos de azufre.
- Fajardo, M. del C. (2011). Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds.
- Furumai, H., Tagui, H., y Fujita, K. (1996). Effects of pH and alkalinity on sulfur-denitrification in a biological granular filter. *Water Science and Technology*, 34(1-2-2 pt 1), 355-362. [http://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00544-6](http://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00544-6)
- Guiot, S. R., y van den Berg, L. (1985). Performance of an upflow anaerobic reactor combining a sludge blanket and a filter treating sugar waste. *Biotechnology and Bioengineering*, 27(6), 800-806. <http://doi.org/10.1002/bit.260270608>
- Heertjes, P.M.; Kuijvenhoven, L.J.; and van der Meer, R.R. (1982) Fluid Flow Pattern in Upflow Reactors for Anaerobic Treatment for Beer Sugar Factory Wastewater. *Biotechnol. Bioeng.*, 24, 443.
- Hernández A. (1991). Eliminación de nutrientes en las aguas residuales. II Congreso de Ingeniería Ambiental, Bilbao, España.
- Hickey, R., Weimin, W., Veiga, M., y Jones, R. (1991). Start-up, operation, monitoring and control of high-rate anaerobic treatment systems.
- Leon, C. (2009). Estandarizacion y validacion de una tecnica para medicion de la demanda bioquimica de oxigeno por el metodo respirometrico y la demanda quimica de oxigeno por el metodo colorimetrico
- Jing, C., Ping, Z., & Mahmood, Q. (2009). Simultaneous sulfide and nitrate removal in anaerobic reactor under shock loading. *Bioresource Technology*, 100(12), 3010-3014. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.041>
- Khin, T., y Annachhatre, A. P. (2004). Novel microbial nitrogen removal processes. *Biotechnology Advances*, 22(7), 519-532. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2004.04.003>
- Krishnakumar, B., Majumdar, S., Manilal, V. B., y Haridas, A. (2005). Treatment of sulphide containing wastewater with sulphur recovery in a novel reverse fluidized loop reactor (RFLR). *Water Research*, 39(4), 639-647. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2004.11.015>
- Lettinga, G., Field, J., Van Lier, J., Zeeman, G., y Hulshoff Pol, L. W. (1997). Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future. *Water Science and Technology*, 35(10), 5-12. [http://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00222-9](http://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00222-9)
- Lim, S. J. (2011). Comparisons between the UASB and the EGSB reactor. Iowa State University Publication, 17(1969), 1-17.
- Mahmood, Q., Zheng, P., Cai, J., Wu, D., Hu, B., Islam, E., y Azim, M. R. (2007). Comparison of anoxic sulfide biooxidation using nitrate/ nitrite as electron acceptor. *Environmental Progress*, 26(2), 169-177. <http://doi.org/10.1002/ep.10201>
- Montalvo, S., & Guerrero, L. (2003). Tratamiento anaerobio de residuos. Universidad Técnica Federico Santa María.

- Muñoz, C. (2015). Operación de un reactor anaerobio de lecho fijo desnitrificante autótrofo para la remoción simultánea de azufre y nitrógeno a partir de nitrato. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Ambiental.
- Peirano, C. (2016). Eliminación biológica de azufre, nitrógeno y carbono mediante desnitrificación autótrofa/heterótrofa simultánea. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias de la Ingeniería Química.
- Reyes-Avila, J., Razo-Flores, E., y Gomez, J. (2004). Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, 38(14–15), 3313–3321. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2004.04.035>
- Sánchez, J., y Sanabria, J. (2009). Metabolismos microbianos involucrados en procesos avanzados para la remoción de Nitrógeno, una revisión prospectiva. *Rev. Colomb. Biotecnol.*, 11(1), 114–124.
- Soto, G. (2016). Desnitrificación autótrofa a partir de nitrato en un reactor egsb, usando tiosulfato como agente reductor. Valparaíso, Chile: Universidad Técnica Federico Santa María. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Químico.
- Severiche, C., y González, H. (2012). Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. *Ingeniería USBMed*, 3, 6.
- Suárez, C. (1998). Efecto de las velocidades de carga nitrogenada y de fosfato sobre la estabilidad de sedimentación de un lodo activado nitrificante. Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa.
- Suárez, J., y Jácome, A. (2007). Eliminación de nitrógeno de las aguas residuales. Procesos de nitrificación y desnitrificación. *Tratamientos Avanzados de Depuración*.
- Syed, M., Soreanu, G., Falletta, P., & Béland, M. (2006). Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - A review. *Canadian Biosystems Engineering*, 48(1993), 1–14.
- Tandukar M., Pavlostathis S., Cervantes F. (2009) Autotrophic denitrification for the removal of nitrogen and sulphur compounds contaminants from wastewaters. *Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution*, 12:319-365.
- Tang, K., An, S., y Nemati, M. (2010). Evaluation of autotrophic and heterotrophic processes in biofilm reactors used for removal of sulphide, nitrate and COD. *Bioresource Technology*, 101(21), 8109–8118. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.037>
- Tang, K., Baskaran, V., y Nemati, M. (2009). Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 73–94. <http://doi.org/10.1016/j.bej.2008.12.011>
- Van Kempen R., Mulder J., Uitjerlinde C., y Loosdrecht M. (2001). Overview: full scale experience of the SHARON® process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Science and Technology*, 44(1):145-152.
- Vannini, C., Munz, G., Mori, G., Lubello, C., Verni, F., y Petroni, G. (2008). Sulphide oxidation to elemental sulphur in a membrane bioreactor: Performance and characterization of the selected microbial sulphur-oxidizing community. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(6–8), 461–473. <http://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.07.003>
- Van Steenberg K., Feyaerts M., Vriens L., y Verachtert H. (1992). Microbial and biochemical aspects of the biological nutrient removal. *Jornadas sobre Biotecnología en el Tratamiento de*

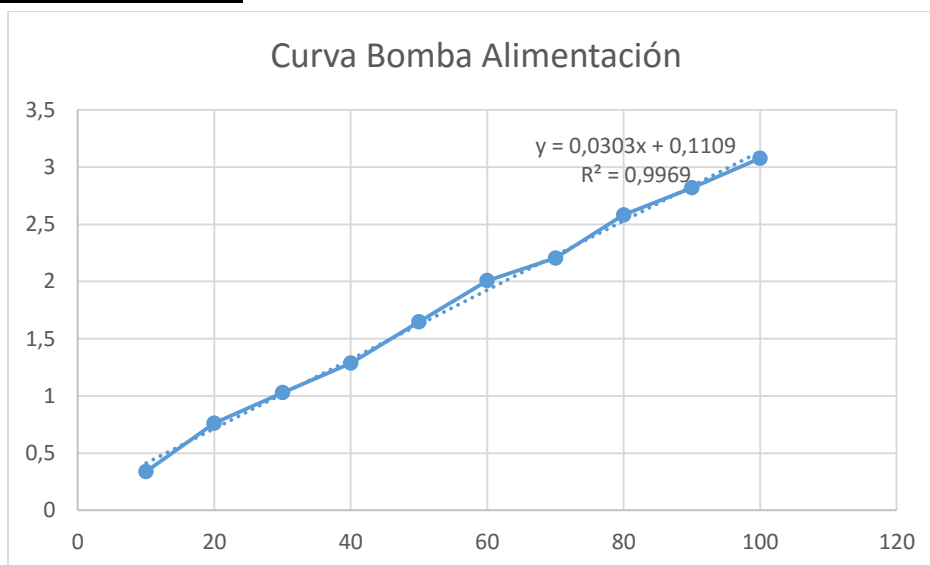
ANEXOS.

Anexo A: Curvas características Bombas de Alimentación y Reflujo.

Curva Bomba Reflujo



Curva Bomba Alimentación



Anexo B: Método Experimental de determinación de Nitrato (APHA, 2012).

Principios

Este método se basa en la técnica con luz ultravioleta, donde se mide la absorbancia del nitrato a 200 nm la cual es adecuada para aguas que no presentar una carga orgánica elevada, es decir su contenido de materia orgánica es bajo. La curva de calibrado verifica la Ley Lambert-Beer hasta los 1 mg N/L.

La medida de 220 nm hace posible una rápida determinación del nitrato, dado que la materia orgánica no absorbe a tal magnitud y el nitrato no lo hace a 275 por lo que se puede utilizar una segunda medida a 275 para corregir el valor de nitrato. La corrección puede variar dependiendo de los distintos tipos de aguas se le agrega 1 mL de ácido clorhídrico 1 N para eliminar posibles interferencias.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS para trabajar 200 a 300 nm.
- Cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos

Agua exenta de nitrato. Utilizar agua destilada o redestilada, desionizada de la máxima pureza posible para preparar todas las soluciones y diluciones

Solución Madre de Nitratos

Secar nitrato de potasio KNO₃ en horno a 105°C durante 24 horas, se disuelven 0.7218 [g] en agua y se diluye a 1L; 1,00 mL = 100 micro gramos de NO₃⁻-N. se conserva con 2 mL de cloroformo CHCl₃/Estable al menos durante seis meses.

Solución intermedia de Nitratos

Se toman 100mL de la solución madre de nitratos y se diluyen a 1L de agua destilada, 1.00mL = 10.0microgramos NO₃⁻-N, se conserva con 2mL de cloroformo.

Solución HCl 1N

Se prepara a partir HCl concentrado llevándose a volumen de 1 L almacenándolo en una botella ámbar para posteriormente estandarizarlo con carbonato de sodio como patrón primario, previamente secado en estufa durante 1 hora a 206-270°C.

Procedimiento

Sobre 50 mL de muestra, filtrada de ser necesario, añadir 1 mL de HCl 1N y mezclar bien, en caso que las muestras no se encuentren dentro de la curva es necesario considerar dilución.

Preparación curva de calibración

Preparar estándares del calibrado de nitrato en el rango de 0 a 7 mg NO₃⁻ N/L agregando mediante bureta volúmenes conocidos de la solución intermedia de nitratos. se trata a los patrones de la misma manera que las muestras.

Medida espectrofotométrica

Leer a 220 nm frente a blanco de agua destilada y a 275 para obtener los interferentes debidos a materia orgánica disuelta

Anexo C: Método Experimental de determinación de Nitrito (APHA, 2012).

Principio:

Se fundamenta en la base de la formación de una coloración purpura rojiza, el cual se produce en un pH ácido por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidroclorada (diclorhidrato de NED).

El rango de aplicación de este método va desde los 10 a 1000 µg/L.

El sistema de color obedece la ley de Lambert-Beer hasta 180 µg/L con 1 cm de paso de luz a 543 nm

Aparatos y equipos:

- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS para trabajar entre 500-600 nm
- Celda de 1 cm de diámetro.
- Material usual de laboratorio.

Reactivos y soluciones:

- Agua exenta de nitrito
- Ácido fosfórico.

- Sulfanilamida.
- Permanganato de potasio.
- N-(1-Naftil)- etilendiamina dihidroclorada.
- Patrón Nitrito.

Procedimiento:

Preparación del reactivo.

Disolver 100mL ácido fosfórico al 85% en 800 ml de agua destilada y 10 gramos de sulfanilamida, tras disolver completamente agregar 1 gramos de N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidroclorada, aforar a 1 litro en botella ámbar. Refrigerar.

Solución stock de nitrito.

Se pipetea 0,1 mL de la solución patrón de NO₂ (1000 mg/L), y se afora a 500 mL.

En caso de no contar con solución patrón, se deben disolver 1,232 [g] de NaNO₂ (1mL=250ug), previamente secado a 105°, por una hora, al menos y después 20 minutos en desecador y ser retro valorado con permanganato de potasio. Aforar a 1000mL

Tratamiento de la muestra.

Se filtra para eliminar cualquier sólido suspendido con un filtro de membrana de 0,45 µm, en caso de ser necesario.

Se toman 50 ml de muestra de agua y se agregan 2 ml de reactivo de color (reactivo de NED), dejar actuar por 10 minutos.

Medir la absorbancia a 543 nm de la muestra y de los estándares.

Anexo D: Método Experimental de determinación de Tiosulfato (Aguirre, 2014).

Principios:

Se determina el tiosulfato presente en las muestras por yodometría, que es un método volumétrico indirecto en el que los oxidantes son determinados haciéndolos reaccionar con un exceso de iones yoduro y determinándose el yodo liberado con un reductor estándar como el tiosulfato de sodio.

Materiales

- Matraces Erlenmeyer de 50mL
- Bureta 30 mL para el Tiosulfato
- Bureta 30 mL para Yodo.
- Pipeta aforada de 10 mL y 20 mL

- Gotario
- Matraz de aforo de 1[L]
- Botella ámbar 1[1L]
- Matraces de aforo 100 mL

Soluciones

- Yoduro de potasio 10%.
- Solución Tiosulfato de Sodio 0,1N ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- Solución de yodo 0,1N
- Solución de almidón
- Solución de yodo 0,1N
- Yodato de Potasio (KIO_3) 0,1 N, patrón primario
- Solución de almidón

Procedimiento

La muestra es tomada en envases de polipropileno y su análisis es en el transcurso de unos minutos no se almacena de esta se toman en duplicado, 10 [mL] de muestra previamente filtrada y se vacía en un matraz Erlenmeyer y se titula con una solución de yodo 0,1000 N aproximadamente, desde bureta hasta que la muestra varíe de incolora a amarillo pálido ,luego esta se valora con tiosulfato de sodio desde bureta 0,1000n aproximadamente hasta que esta vire a un color incoloro ,luego se agregan unas gotas de almidón para ver si quedan trazas de yodo de ser así se observara una color verdoso y se debe continuar titulando hasta que la muestra quede incolora.

Preparación tiosulfato de sodio:

Se pesa en balanza granataria 25.0 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y se transfieren a una botella ámbar de un litro, mediante un embudo de vástago largo, utilizando agua recién hervida y previamente enfriada, se agregan diez gotas de cloroformo y se lleva a volumen de homogeniza la solución y se deja reposar un par de días para su posterior estandarización.

Estandarización tiosulfato de sodio con Yodato de Potasio:

Se tomó una alícuota de 20 mL de yodato de potasio (patrón primario, el cual se preparó pesando una cantidad de 0,3567 gramos previamente desecados a 110°C durante una hora, y luego se aforaron a 100mL) y se traspasaron cuantitativamente a matraz Erlenmeyer, luego se agregaron 10mL de ácido clorhídrico 1N ó 5 mL de ácido sulfúrico 2N y 10 mL de yoduro de potasio al 10% (o aproximadamente dos gramos del este compuesto), se valoró con tiosulfato desde bureta hasta cambio de color a amarillo pálido

y luego se agregó 5mL de almidón y se continuo valorando hasta cambio el color de azul vinoso a incoloro ,se realiza duplicado.

Solución Iodo 0,1 N.

Se pesaron 20 gramos de yoduro libre de yodato p.a en 30-40 mL se agua destilada en matraz aforado de un litro con tapa esmerilada, se pesan en balanza granataria 12.7 gramos de Yodo resublimado sobre vidrio reloj y se traspasa cuantitativamente al matraz de aforo. Se tapa el matraz y se deja en agitación hasta que el Yodo se haya disuelto, se deja en reposo por veinte minutos y se lleva al aforo. Se conserva en frasco con tapa de vidrio esmerilado en lugar frio y oscuro.

Estandarización solución de Yodo con Tiosulfato:

En matraz Erlenmeyer se agregan 25 [mL] de la solución de Yodo preparada y se agrega mediante bureta, la solución valorada de tiosulfato de sodio (patrón secundario) hasta que esta tenga un color amarillo pálido, luego se agregan dos mL del almidón y se prosigue lentamente hasta la decoloración, se anota el gasto y se realiza duplicado.

Solución de almidón:

Se realiza una pasta con un gramo de almidón soluble y una pequeña cantidad de agua y se agrega con buena agitación 100 mL de agua a ebullición y se hace hervir durante un minuto. Se deja enfriar y se agregan tres granos de yoduro de potasio.

Cálculo

Conociendo el volumen utilizado de iodios consumido por el iodo de la solución de tiosulfatos como patrón primario se calculan los milimoles totales consumidos por la solución estándar.

Al saber el volumen de iodo agregado a la muestra se tiene los moles totales de iodo.

Al restar ambas cantidades sabremos la cantidad de milimoles consumidos por la muestra y de acuerdo con la relación:

$$1[\text{mL}] \text{ de } \text{I}_2 = 0,1581[\text{g}] \text{ de } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$$

Anexo E: Método Experimental de determinación de Sulfato (Severiche y González, 2012)

Principios:

El ion sulfato precipita en medio acido con cloruro de bario formando cristales de Sulfato de bario de tamaño uniforme, tal cantidad es proporcional a la concentración de sulfatos

presentes en la muestra y la absorbancia luminosa d-Ne la suspensión; puede ser medido espectrofotométricamente a 420 nm, siendo la concentración de sulfatos determinada respecto a una curva de calibración de acuerdo con los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales preparados por la APHA.

Este método nos permite determinar hasta una concentración de 40 mg/L de sulfatos, en caso de presentar una concentración mayor es necesario diluir y de presentar turbidez filtrar o centrifugar, la posible interferencia de sílice y muestras con alto contenido de materia orgánica, pero este no es el caso.

Equipos y Materiales

Material común de vidrio de uso en laboratorio, ejemplo volumétrico, vasos de precipitado.

Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS para trabajar a 420nm con celdas de paso óptico de 1 cm.

Reactivos y soluciones:

- Solución trazable de sulfatos.
- Cloruro de bario di hidratado.

Solución acondicionadora para sulfato:

Es utilizada como forma de acondicionamiento al proporcionar un método de suspensión para los iones sulfatos al ser leídos en el espectrofotómetro, es de vital importancia ya que su no uso precipitaría todo el analito al momento de la adición del cloruro de bario.

Su preparación debe ser en orden agregando a un vaso precipitado de un litro y mezclando después de cada adición:

300 mL de aguas destilada, 30mL ácido clorhídrico concentrado, 100mL de alcohol isopropílico y 75 gramos de cloruro de sodio, finalmente añadir 50 mL de glicerol medidos en probeta, mezclar todo y llevar a volumen final de 500mL con agua destilada, esta solución es estable durante seis meses en frasco ámbar a temperatura ambiente.

Procedimiento:

Las condiciones ambientales no tienen mayor influencia en las condiciones del ensayo

Preparación de la curva de calibración:

Se utilizó el método de adiciones estándar para la curva de calibración, de esta manera se agregaron volúmenes crecientes de solución trazable de sulfatos mediante bureta a matraces aforados de 100 mL para obtener al menos seis calibraciones que van desde los 0 mg/L a 40mg/L.

A continuación, se transfirieron estos patrones a vasos precipitados de 100mL y se adicionaron 2,5 mL de solución acondicionadora y se agito en cada vaso mediante varilla de vidrio, luego se adiciono una cucharadita de cristales de cloruro de bario y se agito nuevamente hasta la disolución de los cristales.

Una medida crítica de este método es que debe ser leído antes de cinco minutos en espectrofotómetro a 420 nm en celda de 1 cm de paso óptico. y se crea la curva de calibración

No es necesario realizar una curva de calibración cada vez que se realizara una medición si sino comprobar la validez de la existente, para ello se prepara un patrón de 20mg/L de la solución trazable se sulfatos y se lee como muestra normal si el resultado es coincidente en más menos 10% se considera que la curva es válida y es posible realizar la medición de las muestras, de no ser así se debe repetir el patrón o construir una nueva curva de calibración.

Cálculos

La concentración puede ser leída directamente en la ecuación de la recta obtenida a partir de la curva de calibración, hay que considerar si se realizó dilución.

Anexo F: Método Experimental de determinación de DQO (León, 2012)

Principio

La demanda química de oxígeno (DQO) se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con la muestra bajo condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumido se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno. Por sus propiedades químicas, el dicromato es el oxidante utilizado. Cuando una muestra es digerida, el ión dicromato oxida la materia orgánica presente en la muestra. Esto resulta en un cambio del cromo en estado hexavalente (Cr^{+6}) a un estado trivalente (Cr^{+3}). Ambas especies crómicas son coloreadas y absorben en la región visible del espectro. El ión dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$) absorbe fuertemente en la región de los 400 nm, donde el ión crómico (Cr^{+3}) absorbe mucho menos. El ión Cr^{+3} absorbe fuertemente en la región de los 600 nm, donde el ión dicromato tiene una absorción cercana a cero.

Para valores de DQO entre 100 y 900 ppm se determina el incremento de Cr^{+3} a los 600 nm. Los valores más altos pueden determinarse por dilución de la muestra.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro para trabajar en el rango de 600 nm
- Digestor (que alcance los 150 °C)

- Material de uso común en laboratorio.
-

Reactivos y soluciones

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Sulfato de palta ($AgSO_4$).
- Sulfato de mercurio ($HgSO_4$)
- Ftalato Ácido de Potasio (KHP)($HOOC_6H_4COOK$).

Solución digestora

Se disuelven en 500mL agua destilada las siguientes cantidades de reactivos:

- 10,216 g dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$
- 250 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- 17 gramos de sulfato de mercurio $HgSO_4$ (esta cantidad depende de la cantidad de cloruros presentes en la muestra la cual debe ser de una relación $HgSO_4$: Cl^- igual o superior a 10:1
- Dejar enfriar y aforar.

Solución catalítica

Disolver en un litro de ácido sulfúrico 10,7 gramos de sulfato de plata ($AgSO_4$) dejando en agitación por 48 horas.

Solución patrón DQO.

Disolver 0,1 gramos de Ftalato ácido de potasio (ligeramente aplastado y secado a $104^\circ C$ hasta peso constante). Esta solución tiene una concentración de 1176 mg DQO aproximadamente.

Procedimiento

- En tubo de DQO se agregan cuidadosamente 1,5 mL de solución digestora.
- Posteriormente 3,5 mL de solución catalítica esta adición debe ser cuidadosamente por las paredes del tubo, para observar la separación de fases, el tubo se puede calentar por lo que se reitera el sumo cuidado de la operación a realizar,
- Se toman 2,5 mL de muestra diluida o no, en caso de ser necesario, se agregan al tubo.
- Se sella el tubo con teflón y cierra herméticamente con la tapa.

- Agitar el contenido del tubo y colocar en un digestor previamente calentado a 150°C por dos horas, después de transcurrido el tiempo dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Se calculan los volúmenes de solución patrón y se realizan los pasos mencionados anteriormente.
- Realizar la medida espectrofotométrica a 600 nm, traspasando cuidadosamente el contenido del tubo a una cubeta de 1cm de paso de luz.
- Muestras y estándares se tratan de la misma manera.

Calculo

Directamente de la curva de calibración, considerar factor dilución en caso de ser necesario.

Anexo G: Método Experimental de determinación de SST y SSV (APHA, 2012).

Sólidos Suspendidos Totales (SST)

1. Poner a secar papel filtro cuantitativo ADVANTED por una hora a 105 °C. Luego poner en desecador y pesar una vez frío. Manipular el papel con pinzas.
2. Homogeneizar la muestra y tomar un volumen adecuado de muestra, dependiendo de la cantidad de sólidos suspendidos que se aprecien a simple vista.
3. Filtrar la muestra al vacío y poner el papel filtro en estufa por una hora a 105 °C. Luego poner el papel filtro en desecador y pesar una vez frío. Utilizar pinzas.

Calculo

$$SST \left[\frac{mg}{L} \right] = \frac{T_{ps} - T_p}{V} * 10^6$$

Donde:

T_{ps} = tara papel filtro más sólidos [g].

T_p = tara papel filtro [g].

V = volumen muestra [mL].

Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)

1. Doblar cuidadosamente el papel filtro obtenido en la determinación de los SST y colocarlo dentro de un crisol previamente tarado.
2. Poner el crisol en la mufla durante mínimo una hora a 550 °C. Retirar, dejar en desecador y pesarla una vez frío.

Calculo

$$SSV \left[\frac{mg}{L} \right] = \frac{M_{SST} - (T_{cm} - T_c)}{V} * 10^6$$

Donde

M_{SST} = masa de SST [g].

T_{cm} = tara crisol más muestra luego de la mufla [g].

T_c = tara crisol [g].

V = volumen muestra [mL].