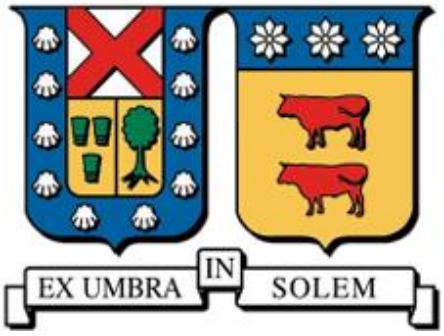
UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL



EVALUACIÓN COMPARATIVA DE REACTORES SECUENCIALES CON Y SIN ZEOLITA COMO SOPORTE MICROBIANO PARA LA NITRIFICACIÓN TOTAL Y PARCIAL Y LA DESNITRIFICACIÓN MIXOTRÓFICA

TOMÁS JAVIER JESÚS DUQUE CATALÁN

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE

INGENIERO CIVIL AMBIENTAL

PROFESOR GUÍA

DRA. LORNA GUERRERO SALDES

PROFESOR CO-REFERENTE

MSC. ANDREA BARAHONA LLORÉ

OCTUBRE, 2026

CONSTANCIA DE VALIDACIÓN Y CONFIDENCIALIDAD DE MONOGRAFÍA A REPOSITORIO ACADÉMICO

1.- IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO ACADÉMICO

Tipo de monografía (marcar una opción): ✖ Memoria o trabajo de título ☐ Tesis de Postgrado

Título del trabajo: _____Evaluación comparativa de reactores secuenciales con y sin zeolita como soporte microbiano para la nitrificación total y parcial y la desnitrificación mixotrófica_____

Nombre del candidato(a): _____Tomás Javier Jesús Duque Catalán_____

Carrera / Grado: _____Ingeniero Civil Ambiental_____

Campus: _____Casa central_____ **Departamento:** _____ Ingeniería Civil Ambiental

2.- VALIDACIÓN DEL PROFESOR GUÍA/DIRECTOR DE TESIS

Yo, __Lorna Guerrero Saldes_____, en mi calidad de profesor(a) guía/director(a) del trabajo académico mencionado anteriormente **DEJO CONSTANCIA** que:

- He revisado esta versión del documento y corresponde a la versión final aprobada del trabajo.
- El trabajo cumple con los requisitos académicos y de formato establecidos por la institución.

3.- EVALUACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD POR PROPIEDAD INDUSTRIAL (marcar una opción)

✖ El trabajo **NO contiene** información que amerite confidencialidad y puede ser publicado de inmediato en repositorio con acceso abierto.

☐ El trabajo **CONTIENE** información con potenciales implicancias de propiedad industrial o intelectual y requiere un periodo de confidencialidad (**embargo**) por **(marcar una opción)**:

☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 2 años ☐ 3 años ☐ 5 años ☐ 10 años

Fundamentación de la necesidad de confidencialidad (obligatorio si se solicita embargo):

_____

_____

_____

4.- FIRMAS

Profesor(a) guía o director(a) de memoria o tesis:

Fecha: ___29/10/2026_____ **Firma:** _____  _____

Estudiante o Candidato(a):

Fecha: ___29/10/2026_____ **Firma:** ____ 

Resumen

La presencia de compuestos nitrogenados, materia orgánica y especies reducidas de azufre en residuos industriales líquidos representa un desafío para los sistemas de tratamiento biológico, debido a la interacción entre las distintas rutas metabólicas involucradas en su transformación. En este contexto, la presente memoria, desarrollada en el marco del proyecto Fondecyt N.° 1241199, etapa 2026, titulado *"Sequential nitrification – mixotrophic denitrification v/s simultaneous nitrification – mixotrophic denitrification: comparative study of technologies using Chilean zeolite as microbial support"*, tuvo como objetivo evaluar comparativamente el desempeño de dos reactores secuenciales, uno sin soporte microbiano (RC) y otro incorporando zeolita natural chilena como soporte (RZ), mediante procesos de nitrificación total, nitrificación parcial y desnitrificación mixotrófica.

La experimentación se desarrolló en reactores de 1,5 [L] de volumen efectivo, operados secuencialmente mediante una primera etapa de nitrificación total durante 33 días y 16 ciclos (Etapa I), seguida de una segunda etapa orientada al establecimiento de nitrificación parcial durante 50 días y 25 ciclos (Etapa II). La desnitrificación mixotrófica se desarrolló posteriormente bajo condiciones anóxicas, empleando materia orgánica y sulfuro como fuentes de electrones, manteniendo relaciones C/N y S/N de 2 y 1,5, respectivamente. Durante la operación se monitorearon las concentraciones de amonio, nitrito, nitrato, sulfuro, sulfato, carbono orgánico total y nitrógeno total, además de pH, oxígeno disuelto y sólidos suspendidos volátiles. Asimismo, se realizaron ensayos de actividad desnitrificante autótrofa (ADA) y heterótrofa (ADH) para evaluar la coexistencia de ambas capacidades metabólicas.

El pH se mantuvo en un promedio de 7,5, dentro de un intervalo de 7–8, mientras que las condiciones operacionales equivalentes de oxígeno disuelto correspondieron a 0,5–1 [mg O_2/L] durante la Etapa I y 1–3 [mg O_2/L] durante la Etapa II. En la primera etapa se observó un comportamiento predominantemente asociado a nitrificación total. Durante la segunda etapa se observó una transición hacia condiciones compatibles con nitrificación parcial. La remoción máxima de amonio durante el ciclo completo alcanzó 64 % en RC durante la Etapa I y 93 % durante la Etapa II, mientras que RZ alcanzó 53 % y 95 %, respectivamente.

Durante la desnitrificación, ambos reactores presentaron una disminución de las concentraciones de nitrito y nitrato, alcanzándose remociones máximas de 100 % para ambas especies nitrogenadas en las Etapas I y II. El sulfuro disuelto presentó consumo completo al término de los ciclos evaluados, aunque sus concentraciones de entrada mostraron una elevada variabilidad. La formación de sulfato también presentó variaciones entre ciclos y etapas. El comportamiento conjunto de las especies nitrogenadas y azufradas fue compatible con el desarrollo de procesos de

desnitrificación asociados a la utilización de compuestos reducidos de azufre, aunque las limitaciones experimentales impidieron establecer un balance completo de las transformaciones del azufre.

Respecto de la materia orgánica, ambos reactores presentaron remociones máximas de TOC superiores al 70 % durante la Etapa I y superiores al 80 % durante la Etapa II. RZ alcanzó mayores eficiencias que RC en ambas etapas, con una remoción máxima de 89 % durante la Etapa II, frente al 82 % alcanzado por RC. Por otra parte, los sólidos suspendidos volátiles disminuyeron desde 11,60 a aproximadamente 3,16 [g SSV/L] en RC y desde 4,57 a aproximadamente 1,83 [g SSV/L] en RZ. Esta disminución podría asociarse a la estabilización de la biomasa suspendida y, en el caso de RZ, a la retención de microorganismos sobre la zeolita. Los ensayos ADA y ADH evidenciaron la coexistencia de capacidades desnitrificantes autótrofas y heterótrofas en ambos reactores, confirmando el carácter mixotrófico del proceso, aunque no fue posible cuantificar de manera concluyente la contribución relativa de cada ruta metabólica.

En términos generales, RC presentó una mayor eficiencia de remoción de nitrógeno durante parte de la operación, particularmente durante la Etapa I, mientras que RZ mostró una recuperación más favorable frente a las perturbaciones operacionales y alcanzó una mayor remoción máxima de amonio durante la Etapa II. La incorporación de zeolita favoreció las eficiencias de remoción bajo las condiciones evaluadas, aunque las diferencias no fueron suficientemente amplias como para establecer una mejora generalizada del desempeño. Su principal aporte se relacionó con la retención de biomasa y una mayor capacidad de recuperación del sistema. En conjunto, los resultados aportan antecedentes sobre el comportamiento de reactores secuenciales con y sin zeolita natural chilena para el tratamiento de efluentes que presentan simultáneamente compuestos nitrogenados, materia orgánica y especies reducidas de azufre.

Agradecimientos

Quiero partir el agradecimiento mencionando a las personas importantes de mi familia, quienes estuvieron para mí, y que cada uno con su manera particular formó parte de este logro profesional y me permitió disfrutar del proceso universitario de la mejor manera posible. Agradezco a mi mamá, por su apoyo incondicional, quien ha estado presente siempre y que me ha ayudado tanto en el proceso universitario, como a convertirme en el hombre que soy, y aunque todavía no sabe bien en qué trabaja un ingeniero ambiental, siempre da todo de sí para entenderme y para estar. También quiero agradecer a mis hermanas, a la Andrea y a la Cami, quienes prácticamente me criaron y que no me dejaron de lado en todas las etapas que cada uno vivió, dejándome formar parte de sus familias y ser el *Tio Tomi* de las niñas y el Maxi. Agradezco también a mi hermano Camilo, quien ha sido parte de todas mis etapas y mis estupideces, siendo mi ejemplo de vida, tanto para lo que hay que hacer, como para lo que no. Finalmente, me gustaría agradecer a mi papá, quien me ha dejado enseñanzas de vida como: "*se van a acabar las piedras, pero nunca los…*", o que de las cosas "*hay que ocuparse, no preocuparse*". Además, hago una mención especial porque estuvo muy presente en esta última etapa, llamándome casi diariamente para saber cómo iban avanzando los reactores y después escucharme pelear mientras escribía esta memoria.

Agradezco también a las profesoras Lorna, Andrea y Paloma por permitirme ser parte de este estudio y por ayudarme siempre que fue necesario en el laboratorio.

Por otro lado, quiero agradecer a mis amigos de la u por ser parte de esta linda etapa, en especial a la Loren, la Fa, la Dany y el Cheby, que son las personas que se terminaron convirtiendo en mi familia en la región. Agradezco su gran apoyo en todos los trabajos, certámenes, presentaciones, prácticas y un largo etcétera que tuvimos que pasar, y una mención especial a todos esos carretes en la casa de la Dany, con los juegos de mesa y los vasos al seco del Cheby.

Por último, quiero agradecer a la Feña, quien es la persona más especial que tengo a mi lado, y, quien se convirtió en mi pareja (pololа) en un momento en que no hallaba que buscar, sin embargo, con su cariño me enseño lo lindo que podía ser amar. Agradezco todos los actos de amor que hace y que me ayudaron a superar cada obstáculo y de hacer de esta etapa algo muy lindo para vivir juntos. Agradezco las chorrocientas mil tazas de té y café que me hizo, las charlas motivacionales cada vez que me frustraba con algo o si se me ocurría dudar o hablar mal de mí. También quiero agradecer la familia que formamos juntos en el depa, con la Oogway y el Mota, y su apoyo incondicional a pesar de lo complicado que podía ser el estar conmigo mientras estudiaba, con todas esas veces que me quedé con las luces prendidas hasta la madrugada, o las veces que ponía mi música fuerte para concentrarme, o las veces que no quería levantarme y me ponía con el computador a ocupar más de la mitad de la cama.

Índice

Resumen III

1. Introducción y Objetivos 1

1.1. Introducción 1

1.2. Objetivos 4

1.2.1. General 4

1.2.2. Específicos 4

2. Marco Teórico 5

2.1. Compuestos de nitrógeno y azufre 5

2.1.1. Nitrógeno 5

2.1.2. Azufre 8

2.1.3. Nitrógeno y azufre en aguas residuales 10

2.2. Procesos avanzados para la eliminación del Nitrógeno 12

2.2.1. Nitrificación-Desnitrificación 12

2.2.2. Nitrificación parcial 16

2.2.3. Desnitrificación autótrofa 19

2.2.4. Desnitrificación mixotrófica 22

2.2.5. Nitrificación-Desnitrificación simultánea (SND) (mezcla de lodos) 23

2.3. Bacterias reductoras de sulfato (SRB) 24

2.4. Uso de zeolita chilena 26

2.5. Biopelícula 28

2.6. Reactores aerobios y anaerobios 30

2.6.1. Reactor secuencial por lotes (SBR) 32

2.6.2. Reactor de biopelícula por lotes secuenciales (SBBR) 34

2.7. Parámetros de operación y control de reactores 35

2.7.1. Temperatura 35

2.7.2. Potencial de hidrógeno (pH) 35

2.7.3. Oxígeno disuelto (OD) 36

2.7.4. Razón de Azufre y Nitrógeno (S/N) 37

2.7.5. Razón de Carbono y Nitrógeno (C/N) 38

2.7.6. Tiempo de retención hidráulico (TRH) 38

2.8. Actividad microbiana (Test ADA y ADH) 40

3. Metodología y materiales 41
3.1. Etapas de Puesta en marcha y operación 41
3.1.1. Configuración de reactores 41
3.1.2. Inóculo 43
3.1.3. Zeolita 44
3.1.4. Sustrato 45
3.2. Estrategias de operación 47
3.2.1. Estrategia nitrificación total 48
3.2.2. Estrategia nitrificación parcial 49
3.2.3. Estrategia desnitrificación 50
3.2.4. Parámetros por controlar y mediciones 50
4. Resultados y discusiones 52
4.1. Nitrificación-Desnitrificación 52
4.1.1. Actividad nitrificante 52
4.1.2. Actividad desnitrificante 60
4.1.3. Potencial de hidrógeno (pH) 65
4.1.4. Oxígeno disuelto (OD) 67
4.1.5. Sólidos suspendidos volátiles (crecimiento microbiano-biomasa suspendida) 69
4.1.6. Carbono orgánico total (TOC) y Nitrógeno total (TN) 71
4.2. Test ADA y ADH 73
5. Conclusiones y recomendaciones 76
5.1. Conclusiones 76
5.2. Recomendaciones 78
6. Bibliografía 79
Anexos 85
A) Procedimientos experimentales 85
Sólidos Suspendidos Totales 85
Sólidos Suspendidos Volátiles 86
Concentración de amonio NH4+ 88
Concentración de nitrito NO_2^- 90
Concentración de nitrato NO_3^- 92
Concentración de sulfuro S^{2-} 94

Concentración de sulfato SO_4^{2-} 95
Ensayo de actividad desnitrificante autótrofa y heterótrofa (Test ADA y ADH) 97
Ecuación Henderson-Hasselbalch 100
B) Resultados experimentales 101
Balance de nitrógeno 101
Balance de azufre 107

Figura 1: Compuestos de nitrógeno y estados de oxidación. Fuente: (Pacheco et al., 2002) ... 5
Figura 2: Ciclo del Nitrógeno. Fuente: (Balatti y Saparrat, 2025) 5
Figura 3: Estados de oxidación del azufre. Fuente: (Velázquez et al., 2026) 8
Figura 4: Ciclo del azufre. Fuente: (Brouwer et al., 2024) 9
Figura 5: Ciclo del azufre con intervención antropogénica. Fuente: (Brouwer et al., 2024) 10
Figura 6: Configuración predesnitrificante de reactores. Fuente: (Campos et al., 2009) 14
Figura 7: Configuración postdesnitrificante de reactores. Fuente: (Campos et al., 2009)..... 15
Figura 8: Esquema comparativo de nitrificación total y parcial. Fuente: (Campos et al., 2009) 16
Figura 9: Parámetros de control para nitrificación parcial. Fuente: (Campos et al., 2009) 18
Figura 10: Interacciones biológicas entre los ciclos de carbono, nitrógeno y azufre. Fuente: (Campos et al., 2009) 19
Figura 11: Sinergia del ciclo del nitrógeno y azufre. Fuente: (Campos et al., 2009)..... 19
Figura 12: Acoplamiento de desnitrificación autótrofa y heterótrofa. Fuente: (Zhou y Wang, 2024) 22
Figura 13: Perfil de OD dentro del flóculo. Fuente: (Pochana y Keller, 1999) 23
Figura 14: Reacciones asociadas al proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea. Fuente: (Huynh et al., 2023) 24
Figura 15: Ruta metabólica de bacterias sulfato reductoras (SRB). Fuente: (Varjani y Gnansounou, 2017) 25
Figura 16: Unidades estructurales básicas de la zeolita. Fuente: (Curi et al., 2006) 26
Figura 17: Imagen topográfica amplificada de zeolita chilena. Fuente: (Englert y Rubio, 2005) 28
Figura 18: Proceso de biosíntesis de biopelícula microbiana. Fuente: (Ortega y Hernández, 2018) 28
Figura 19: Secuencia de operación en reactor SBR. Fuente: (Tauseef et al., 2013)..... 32
Figura 20: Configuración de operación en reactor SBBR. Fuente: (Rekabi et al., 2021)..... 34
Figura 21: Concentraciones de FA y FNA según pH. Fuente: (Guerrero, 2023) 36
Figura 22: Esquema técnico de reactores. Fuente: Elaboración propia 42
Figura 23: Arreglo de reactores en laboratorio. 42
Figura 24: Distribución de nitrógeno oxidado en RC y RZ 53
Figura 25: Concentraciones de amonio en el tiempo en RC 54
Figura 26: Concentraciones de amonio en el tiempo en RZ 54
Figura 27: Concentraciones de nitrito en RC y RZ en la Etapa I 56
Figura 28: Concentraciones de nitrato en RC y RZ en la Etapa I 57

Figura 29: Concentraciones de nitrito en RC y RZ en la Etapa II 59
Figura 30: Concentraciones de nitrato en RC y RZ en la Etapa II 59
Figura 31: Concentraciones de nitrito durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa I 60
Figura 32: Concentraciones de nitrato durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa I ... 60
Figura 33: Concentraciones de nitrito durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa II ... 61
Figura 34: Concentraciones de nitrato durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa II .. 61
Figura 35: Concentraciones de sulfuro durante la desnitrificación en RC y RZ 63
Figura 36: Concentraciones de sulfato durante la desnitrificación en RC y RZ..... 63
Figura 37: Comportamiento del pH en ciclo de ejemplo de Etapa I 66
Figura 38: comportamiento del pH en ciclo de ejemplo de Etapa II..... 66
Figura 39: Concentraciones de oxígeno disuelto (OD) en RC en ciclo de ejemplo de Etapa II 67
Figura 40: Concentraciones de oxígeno disuelto (OD) en RZ en ciclo de ejemplo de Etapa II. 68
Figura 41: Evolución de la biomasa suspendida en RC y RZ 69
Figura 42: Fotografía con comparación del efluente de RZ y RC. 70
Figura 43: Concentraciones de carbono orgánico total (TOC) en RC y RZ..... 71
Figura 44: Concentraciones de nitrógeno total (TN) en RC y RZ 72
Figura 45: Fotografía del arreglo de laboratorio para el ensayo ADA y ADH. 73
Figura 46: Resultados de ensayo ADA en RC y RZ 74
Figura 47: Resultados de ensayo ADH en RC y RZ 74

Tabla 1: Donadores de electrones en la desnitrificación autótrofa. Fuente: Elaboración propia a partir de (Burghate y Ingole, 2014) 21
Tabla 2: Concentración de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en lodo nitrificante antiguo. 43
Tabla 3: Concentración de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en la mezcla de lodos nitrificante y desnitrificante. 43
Tabla 4: Características de la zeolita usada. Fuente: (ZeoMaule, 2025) 44
Tabla 5: Composición alimentación sintética nitrificación. Fuente: Modificado de (Bellenger, 2023)..... 45
Tabla 6: Composición solución micronutrientes nitrificación. Fuente: Modificado de (Bellenger, 2023) 45
Tabla 7: Composición alimentación sintética desnitrificación. Fuente: Modificado de (Palacios, 2023) 46
Tabla 8: Composición solución micronutrientes desnitrificación. Fuente: Modificado de (Palacios, 2023) 46
Tabla 9: Distribución de tiempo de operación en procesos de nitrificación y desnitrificación47
Tabla 10: Parámetros por controlar en la operación de reactores. Fuente: Elaboración propia 50
Tabla 12: Resumen de porcentajes de remoción de nitrito. 62
Tabla 13 Resumen de porcentajes de remoción de nitrato. 62
Tabla 14: Resumen de valores de pH en RC. 65
Tabla 15: Resumen de valores de pH en RZ. 65
Tabla 18: Producción diaria de nitrógeno gaseoso (N_2). 74
Tabla 19: Reactivos de test ADA y concentración en el vial 98

Tabla 20: Reactivos de test ADH y concentración en el vial 98
Tabla 21: Balance de Nitrógeno en RC 101
Tabla 22: Balance de Nitrógeno en RZ 104
Tabla 23: Balance de azufre en RC 107
Tabla 24: Blance de azufre en RZ 109

1. Introducción y Objetivos

1.1. Introducción

El crecimiento de las actividades industriales ha permitido satisfacer una demanda creciente de bienes y servicios, pero también ha generado un aumento en la producción de residuos industriales líquidos (RILes), cuya composición puede representar un riesgo para los ecosistemas acuáticos cuando sus contaminantes son descargados sin un tratamiento adecuado. Entre los principales contaminantes presentes en estos efluentes se encuentran los compuestos nitrogenados, la materia orgánica y las especies reducidas de azufre, cuya acumulación puede generar alteraciones en la calidad del agua y afectar el equilibrio de los ecosistemas. En particular, el exceso de nitrógeno puede contribuir a procesos de eutrofización y deterioro de la calidad de los cuerpos receptores, mientras que los compuestos reducidos de azufre pueden presentar efectos ambientales y sanitarios asociados a su transformación y emisión al ambiente (Metcalf y Eddy, 2001; Campos *et al.*, 2009).

La eliminación biológica de nitrógeno constituye una de las principales alternativas para el tratamiento de efluentes que presentan concentraciones elevadas de compuestos nitrogenados. El proceso convencional de nitrificación-desnitrificación comprende, en primer lugar, la oxidación biológica del amonio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-) y posteriormente a nitrato (NO_3^-) bajo condiciones aerobias. Luego, durante la desnitrificación, las especies nitrogenadas oxidadas son reducidas progresivamente hasta nitrógeno molecular (N_2) bajo condiciones anóxicas. Estos procesos son ampliamente utilizados debido a su capacidad para transformar el nitrógeno disuelto en productos menos perjudiciales para el ambiente (Metcalf y Eddy, 2001). Sin embargo, la nitrificación convencional presenta una importante demanda de oxígeno y requiere mantener condiciones adecuadas para el crecimiento de microorganismos nitrificantes, mientras que la desnitrificación heterótrofa puede requerir la disponibilidad de una fuente de carbono biodegradable cuando la materia orgánica presente en el efluente resulta insuficiente.

Frente a estas limitaciones, se han desarrollado estrategias destinadas a disminuir los requerimientos de oxígeno y materia orgánica asociados al tratamiento convencional. Entre ellas se encuentra la nitrificación parcial, proceso en el cual el amonio es oxidado preferentemente hasta nitrito, evitando su conversión completa a nitrato. La acumulación de nitrito puede favorecer rutas de eliminación de nitrógeno de menor requerimiento de oxígeno y reducir la demanda global de recursos del proceso. El establecimiento de la nitrificación parcial depende de las condiciones de operación y de la selección de las poblaciones microbianas responsables de la oxidación del amonio y del nitrito, siendo relevantes variables como el oxígeno disuelto, pH, temperatura y concentración de sustratos (Campos *et al.*, 2009). En este sentido, la operación bajo

concentraciones limitantes de oxígeno puede favorecer la actividad de los microorganismos oxidantes de amonio frente a los oxidantes de nitrito y contribuir a la acumulación de este último.

Por otra parte, la desnitrificación puede desarrollarse mediante microorganismos heterótrofos, autótrofos o mediante la coexistencia de ambos grupos. La desnitrificación mixotrófica corresponde a una estrategia en la cual los microorganismos pueden utilizar simultáneamente compuestos orgánicos e inorgánicos como donadores de electrones, permitiendo aprovechar distintas fuentes disponibles en el medio. Esta configuración puede presentar ventajas frente a los procesos exclusivamente heterótrofos o autótrofos, debido a que permite reducir la dependencia de una fuente de carbono orgánica externa y, al mismo tiempo, disminuir algunas de las limitaciones asociadas al establecimiento de comunidades exclusivamente autótrofas. Entre los donadores de electrones inorgánicos empleados en estos procesos se encuentran compuestos reducidos de azufre, hidrógeno y hierro, cuya utilización puede contribuir a la eliminación de especies nitrogenadas oxidadas (Zhang *et al.*, 2023).

El empleo de compuestos reducidos de azufre como donadores de electrones permite desarrollar procesos de desnitrificación autotrófica sulfurada, en los cuales especies como el sulfuro pueden ser oxidadas mientras el nitrato o nitrito es reducido. La relación entre el donador de electrones y el nitrógeno disponible constituye un factor relevante para el desempeño del proceso, ya que una disponibilidad insuficiente de sulfuro puede limitar la reducción de las especies nitrogenadas, mientras que un exceso puede favorecer la acumulación de especies azufradas o aumentar los requerimientos posteriores de tratamiento. Estudios experimentales han demostrado que la relación S/N influye directamente en la eficiencia de eliminación de sulfuro y nitrato durante la desnitrificación sulfurada (Campos *et al.*, 2009; Dolejs *et al.*, 2014).

La utilización de reactores secuenciales por lotes o *Sequencing Batch Reactors* (SBR) constituye una alternativa apropiada para integrar distintas condiciones de operación dentro de una misma unidad de tratamiento. Estos sistemas permiten controlar de manera independiente etapas con diferentes disponibilidades de oxígeno y tiempos de reacción, facilitando el establecimiento sucesivo de condiciones aerobias y anóxicas requeridas para la transformación de los compuestos nitrogenados. Asimismo, la configuración secuencial permite adaptar las condiciones operacionales a las características del efluente y estudiar el comportamiento de las comunidades microbianas frente a cambios en las condiciones de reacción (Metcalf y Eddy, 2001).

Una estrategia adicional para mejorar la retención de biomasa dentro de estos sistemas corresponde a la utilización de soportes para el crecimiento microbiano. Los procesos de crecimiento adherido permiten aumentar la cantidad de microorganismos retenidos en el reactor y pueden favorecer la estabilidad de poblaciones de crecimiento lento, como aquellas involucradas en la nitrificación. En este contexto, la zeolita natural ha sido

estudiada como soporte microbiano debido a sus características superficiales y a su capacidad de intercambio iónico, además de su potencial para favorecer la formación de biopelículas. Investigaciones desarrolladas en reactores secuenciales han mostrado que la incorporación de zeolita puede aumentar la retención de biomasa y modificar el comportamiento del proceso de eliminación de nitrógeno. Asimismo, estudios realizados con zeolitas naturales han evidenciado su potencial para favorecer la nitrificación en sistemas sometidos a condiciones inhibitorias, destacando la importancia de la interacción entre el soporte y la biomasa microbiana (Huiliñir *et al.*, 2020). La incorporación de un soporte como la zeolita resulta especialmente relevante cuando se busca mantener comunidades microbianas capaces de desarrollar procesos consecutivos de nitrificación y desnitrificación. Sin embargo, el efecto de este material no necesariamente se traduce en un aumento directo de la eficiencia de remoción, ya que su desempeño depende de factores como la cantidad de biomasa retenida, el periodo de adaptación, las condiciones hidráulicas y las características del soporte.

En los procesos que incorporan simultáneamente transformaciones nitrogenadas y azufradas, la interacción entre las diferentes comunidades microbianas adquiere especial importancia. Las condiciones de oxígeno disuelto, disponibilidad de materia orgánica, relación C/N y S/N, pH y concentración de sustratos pueden modificar el equilibrio entre las rutas metabólicas involucradas y, por consiguiente, la distribución de los productos obtenidos. Por ello, el análisis conjunto de las especies nitrogenadas y azufradas permite obtener una visión más completa del funcionamiento del sistema y de las posibles interacciones entre los procesos de nitrificación y desnitrificación (Zhang *et al.*, 2023).

En este contexto, la presente memoria se desarrolla en el marco del proyecto Fondecyt N.° 1241199, etapa 2026, orientado al estudio de alternativas para el tratamiento de efluentes industriales mediante procesos biológicos de eliminación de contaminantes. El trabajo aborda la operación y evaluación comparativa de dos reactores secuenciales, uno sin soporte microbiano (RC) y otro con zeolita natural como soporte (RZ), destinados al desarrollo de etapas de nitrificación total y parcial y desnitrificación mixotrófica. Para ello, se realiza el seguimiento de las principales especies nitrogenadas y azufradas, materia orgánica y parámetros operacionales, complementando la evaluación del desempeño de los reactores con ensayos de actividad desnitrificante autótrofa (ADA) y heterótrofa (ADH). De esta manera, se busca determinar el comportamiento de ambos sistemas y establecer el efecto de la incorporación de zeolita sobre la retención de biomasa, la estabilidad operacional y la eficiencia de remoción de los contaminantes estudiados.

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Evaluar comparativamente la operación de reactores secuenciales con y sin zeolita como soporte microbiano, sometidos a procesos de nitrificación total y parcial y desnitrificación mixotrófica.

1.2.2. Específicos

- Operar reactores secuenciales con y sin zeolita, estableciendo y manteniendo las condiciones operacionales requeridas para el desarrollo de las etapas de nitrificación total y parcial y desnitrificación mixotrófica.
- Determinar la actividad microbiana y las concentraciones de compuestos nitrogenados, azufrados y materia orgánica, junto con los principales parámetros de operación, para caracterizar el comportamiento de los procesos de nitrificación y desnitrificación en ambos reactores.
- Evaluar la eficiencia de los procesos de nitrificación y desnitrificación mediante la remoción de compuestos nitrogenados y azufrados y la distribución de las especies nitrogenadas oxidadas.
- Comparar el desempeño de los reactores con y sin zeolita, considerando su comportamiento operacional y la eficiencia de remoción de los compuestos nitrogenados y azufrados.

2. Marco Teórico

2.1. Compuestos de nitrógeno y azufre

En el contexto de estudio del proyecto, resultan importantes los compuestos de nitrógeno y azufre debido a su rol en las reacciones de la nitrificación y desnitrificación. Además, resulta importante analizar la implicancia de estos compuestos en los impactos ambientales a raíz de la intervención antropogénica.

2.1.1. Nitrógeno

El nitrógeno es un elemento importante para el desarrollo de la vida y en su ciclo participan diferentes organismos que permiten mantener el equilibrio en los ecosistemas. Este elemento reacciona en el ambiente y puede estar presente según los estados de oxidación de la Figura 1:

Compuesto	Estado de oxidación
NH_3	-III
N_2	0
N_2O	I
NO	II
N_2O_3	III
NO_2	IV
N_2O_5	V

Figura 1: Compuestos de nitrógeno y estados de oxidación. Fuente: (Pacheco et al., 2002)

El ciclo biogeoquímico del nitrógeno se describe en la Figura 2, en donde "Se muestran las entradas de N al suelo: la fijación biológica de nitrógeno, la fertilización, el ingreso por lluvia y la incorporación de materia orgánica, y las salidas de mayor magnitud: la absorción por parte de las plantas, la volatilización, la desnitrificación y la lixiviación" (Balatti y Saparrat, 2025).

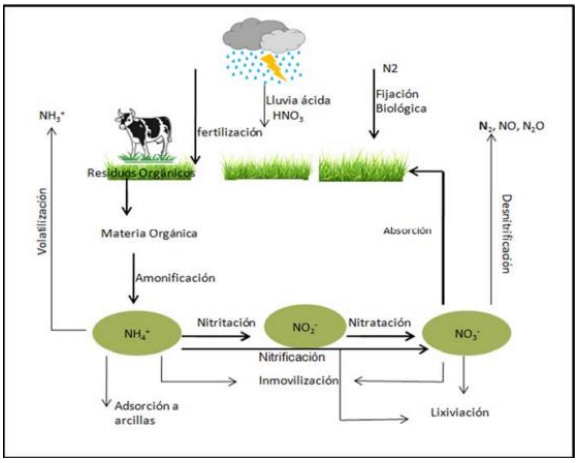


Figura 2: Ciclo del Nitrógeno. Fuente: (Balatti y Saparrat, 2025)

El ciclo consta de las siguientes etapas:

- Fijación del nitrógeno

Proceso por el cual el nitrógeno atmosférico (N_2) se transforma en sustancias más reactivas, como el ion amonio (NH_4^+) o el nitrato (NO_3^-). Esta fijación puede ocurrir mediante fenómenos biológicos y abióticos, los cuales se basan en bacterias fijadoras de nitrógeno, o en fenómenos naturales (relámpagos) capaces de romper los enlaces y permitir la formación de óxidos de nitrógeno, respectivamente. Además, existe el método Haber-Bosch, el cual es un proceso industrial que "*combina directamente nitrógeno del aire con hidrógeno bajo presiones extremadamente altas y temperaturas moderadamente altas*" (Britannica, 2026), convirtiendo el N_2 en amoniaco (NH_3) para su uso en fertilizantes.

- Absorción por las plantas (de NH_4^+ o NO_3^- a biomoléculas)

En esta etapa, las plantas absorben los compuestos de nitrógeno generados en la etapa anterior a través de sus raíces, integrándolos en el metabolismo vegetal. El nitrógeno es uno de los nutrientes esenciales para las plantas, formando un papel fundamental en su desarrollo, siendo componente básico de los aminoácidos, además de formar parte de la formación de ADN y ARN, y síntesis de clorofila (Biobox, 2025).

- Transferencia del nitrógeno (Consumo por los animales)

En esta etapa se transfiere el nitrógeno del suelo hacia los animales, a través de las plantas, ya que los animales no poseen la capacidad de hacerlo por sí mismos, pasando a formar parte de los tejidos, músculos y sistemas biológicos (Biobox, 2025).

- Excreción y descomposición (Devolución al suelo) – Amonificación

La etapa en la que el nitrógeno vuelve al suelo corresponde a la amonificación, y es el proceso por el cual "*los compuestos nitrogenados orgánicos que se encuentran en el suelo, (…) son transformados por los microorganismos del suelo liberando amonio*" (Balatti y Saparrat, 2025). Este proceso puede ser llevado a cabo por bacterias, hongos, protozoos y algas, en amplias condiciones ambientales, transformando el nitrógeno orgánico en ion amonio (NH_4^+).

- Nitrificación (NH_4^+ a NO_3^-)

En esta etapa el ion amonio es convertido en nitrato (NO_3^-), con la formación intermedia de nitrito (NO_2^-). El proceso es llevado a cabo por la acción secuencial de bacterias oxidantes de amonio (BAO) y de nitrito (BNO), utilizando el

"*nitrógeno en forma de amonio y nitrito como fuente de energía, y oxígeno molecular como aceptor de electrones, liberando nitritos y nitratos al suelo*" (Balatti y Saparrat, 2025).

- Desnitrificación (NO_3^- a N_2)

Finalmente, ocurre la etapa en la que se devuelve el nitrógeno a la atmosfera en su forma molecular (N_2), a través de bacterias anaeróbicas, tanto autótrofas como heterótrofas. Esta etapa es fundamental para el ciclo, ya que permite "*evitar el exceso de nitratos en el suelo, que pueden contaminar acuíferos y provocar problemas ambientales como la eutrofización. Al mismo tiempo, permite que el nitrógeno vuelva a su estado original en la atmósfera, cerrando así el ciclo natural que lo mantiene en movimiento constante*" (Biobox, 2025).

La contaminación por nitrógeno puede afectar el agua, el aire y el suelo, y sus fuentes principales son el uso de fertilizantes agrícolas, las emisiones vehiculares y los efluentes industriales residuales.

Con respecto al uso de fertilizantes agrícolas, el descubrimiento de la generación de amoniaco a partir de nitrógeno del aire, para generar fertilizantes nitrogenados, permitió un aumento en la eficiencia de producción agrícola durante los últimos 150 años (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2025). Sin embargo, este crecimiento en la producción ha sido desproporcional con respecto a las normativas gubernamentales y las capacidades de los ecosistemas, por lo que se ha provocado la acumulación de estos compuestos en el ambiente, generando grandes impactos en la naturaleza. Una de las principales fuentes de contaminación por nitrógeno antropogénico es de origen agrícola, a causa del uso de fertilizantes sintéticos, ya que la absorción de nitrógeno por los cultivos es limitada, llegando a perderse hasta el 80% en el medio ambiente (UNEP, 2026), lo que equivale aproximadamente a 200 millones de toneladas de nitrógeno reactivo al año.

La contaminación por nitrógeno terrestre "*se origina principalmente en la producción de cultivos agrícolas, los desechos del ganado y las aguas residuales humanas, así como en la excreción de aves marinas y ungulados salvajes en algunos pequeños atolones y cayos*" (Baeza, 2022), y debido a la baja eficiencia del uso de nitrógeno en cultivos, es una amenaza para los ecosistemas costeros, que poseen gran biodiversidad, interrumpiendo la función del ecosistema y la capacidad de dar los servicios ecosistémicos correspondientes.

Los impactos en la naturaleza por exceso de compuestos de nitrógeno en el suelo corresponden a la alteración de la proporción de nutrientes, alterando el pH del terreno y pudiendo incluso afectar la actividad microbiana (Gul y Rias, 2026). La contaminación del aire proviene principalmente de los óxidos de nitrógeno liberados por la combustión de combustibles fósiles en vehículos y centrales eléctricas, los

cuales son capaces de causar daños a la salud, además de ser potentes gases de efecto invernadero (Interfaint Center for Sustainable Development, 2026). Por otro lado, el principal impacto en sistemas acuáticos es la eutrofización, que es el proceso en el que el aumento excesivo de nutrientes hace que "*las algas crezcan tan rápido que los ecosistemas no pueden lidiar con esa cantidad*" (EPA, 2026). Lo que *"deteriora la calidad del agua, los alimentos y los hábitats, y reduce el oxígeno que los peces y otras especies acuáticas necesitan para vivir*" (EPA, 2026). Análogamente, los compuestos nitrogenados pueden ser tóxicos para especies acuáticas, principalmente en su forma de NH_3, y su toxicidad no es exclusiva para especies acuáticas, ya que, para el ser humano, la ingesta prolongada de nitritos y nitratos puede provocar efectos adversos en la salud, contribuyendo "*al desarrollo de linfomas y cánceres, enfermedades coronarias, infecciones del tracto respiratorio, y malformaciones en los recién nacidos*" (Cardenas y Sanchez, 2012).

2.1.2. Azufre

El azufre es un elemento importante para el desarrollo de la vida, siendo "*un elemento esencial para las macromoléculas de los seres vivos, ya que determina los patrones de plegamiento tridimensional de las proteínas*". EL azufre en condiciones normales de presión y temperatura es un sólido inodoro e insípido, "*formando parte de numerosos minerales, pero también en forma pura, cuya fórmula química es S_8 y recibe el nombre de octazufre u octatiocano*" (National Geographic, 2025). En la naturaleza reacciona y se encuentra presente según los estados de oxidación de la Figura 3.

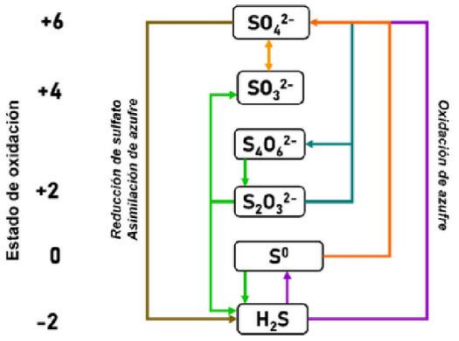


Figura 3: Estados de oxidación del azufre. Fuente: (Velázquez et al., 2026)

El ciclo biogeoquímico del azufre se describe en la Figura 4, en donde, "*El dióxido de azufre atmosférico se vuelve disponible para los ecosistemas terrestres y marinos cuando se disuelve en la precipitación como ácido sulfúrico débil o cuando cae directamente a la Tierra como lluvia radiactiva. La meteorización de las rocas también hace que los sulfatos estén disponibles para los ecosistemas terrestres. La*

descomposición de los organismos vivos devuelve los sulfatos al océano, al suelo y a la atmósfera".

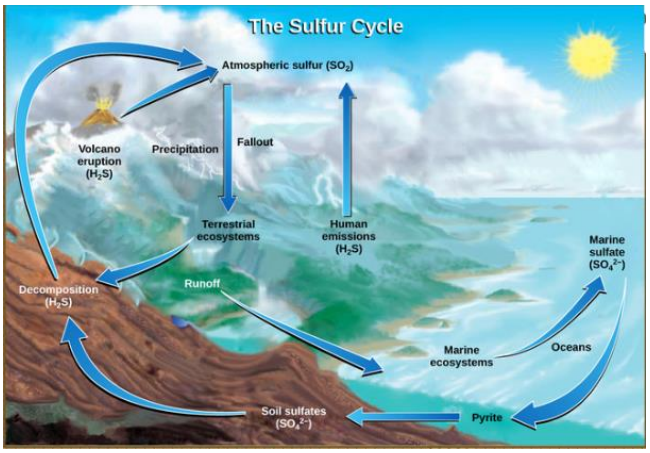


Figura 4: Ciclo del azufre. Fuente: (Brouwer et al., 2024)

Este ciclo se puede definir con las siguientes etapas principales:

- Liberación a la atmósfera *(H_2S)*: El ciclo "*comienza con la liberación de sulfuro de hidrógeno (H_2S) a la atmósfera, proveniente de fuentes como erupciones volcánicas, la descomposición de materia orgánica y la combustión de combustibles fósiles*" (Spira, 2019).
- Oxidación y retorno al suelo: El H_2S se oxida generando dióxido de azufre (SO_2), el que reacciona con el vapor de agua en la atmósfera, formando ácido sulfúrico (H_2SO_4) y precipitando con la lluvia para regresar al suelo.
- Asimilación (SO_4^{2-}): El ácido sulfúrico se disocia y el azufre como sulfato (SO_4^{2-}) es asimilado por las plantas a través de sus raíces y es incorporado "*a los esqueletos de carbono de los aminoácidos para formar cisteína u homocisteína*" (Kopriva y Kopriva, 2003).
- Consumo primario y descomposición: Cuando las plantas mueren o son consumidas por consumidores primarios, el "azufre regresa a sus formas originales mediante la descomposición, completando así el ciclo" (Spira, 2019), y liberando *H_2S*.

Las actividades humanas han alterado el equilibrio del ciclo global de azufre, liberando dióxido de azufre mediante la quema excesiva de carbón y combustibles fósiles en vehículos y plantas eléctricas. Esta intervención antropogénica puede ser apreciada en la Figura 5, que incluye al ciclo del azufre los impactos humanos derivados de la minería y la quema de combustibles.

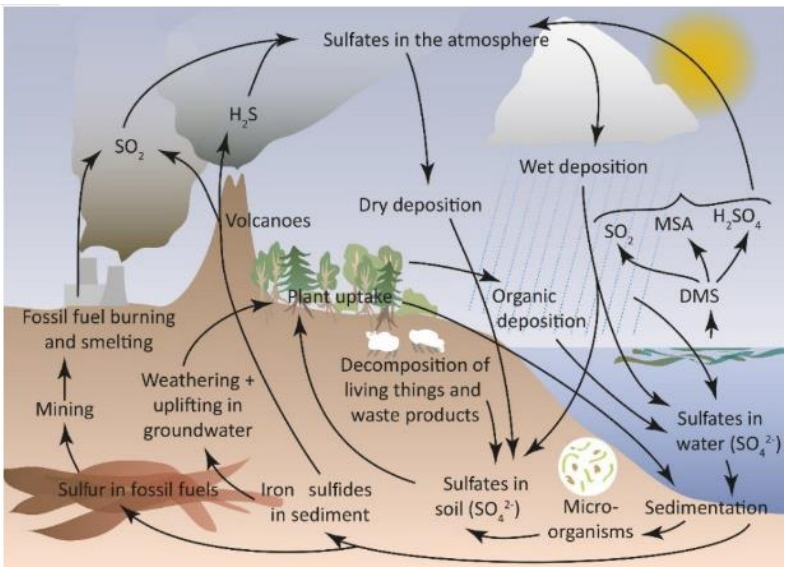


Figura 5: Ciclo del azufre con intervención antropogénica. Fuente: (Brouwer et al., 2024)

El dióxido de azufre generado por la intervención humana reacciona formando ácido sulfúrico, y al igual que con el ácido nítrico, se provoca la deposición ácida o "lluvia ácida", que "*daña el medio ambiente natural al disminuir el pH de los lagos, lo que provoca la muerte de muchas de las plantas y animales que los habitan"* (Brouwer *et al.*, 2024). Además, este fenómeno puede degradar las estructuras creadas por el ser humano, a través de la degradación química de los edificios.

2.1.3. Nitrógeno y azufre en aguas residuales

Una de las principales formas en la que se contamina los ambientes a causa de la actividad humana es a partir de la liberación de los efluentes, los cuales pueden incluir "*desechos líquidos domésticos, municipales o industriales, eliminados, generalmente a través de una tubería o sistema de alcantarillado*" (UNEP, 2008). Estas aguas pueden contener "*agua; nutrientes (nitrógeno y fósforo); sólidos (incluida materia orgánica); patógenos (incluidas bacterias, virus y protozoos); helmintos (gusanos intestinales y parásitos vermiformes); aceites y grasas; escorrentía de calles, estacionamientos y techos; metales pesados (incluidos mercurio, cadmio, plomo, cromo, cobre) y muchos productos químicos tóxicos, incluidos PCB, HAP, dioxinas, furanos, pesticidas, fenoles y compuestos orgánicos clorados*" (UNEP, 2008).

La composición de aguas residuales puede variar según la fuente y el tipo de agua, y para esto es que es necesario definirlas, con respecto a esto, en Chile se cuenta con la Ley 21.075 de 2018 del Ministerio de Obras Públicas, que en su Artículo 2° define los tipos de aguas residuales según la fuente (BCN Chile., 2018):

- Aguas grises: aguas servidas domésticas residuales provenientes de las tinas de baño, duchas, lavaderos, lavatorios y otros, excluyendo las aguas negras.
- Aguas grises tratadas: aquellas que se han sometido a los procesos de tratamiento requeridos para el uso previsto.
- Aguas negras: aguas residuales que contienen excretas.
- Aguas residuales: aquellas que se descargan después de haber sido utilizadas en un proceso o producidas por éste, y que no tienen ningún valor inmediato para dicho proceso.
- Aguas servidas domésticas: aguas residuales que contienen los desechos de una edificación, compuestas por aguas grises y aguas negra.

Para el tratamiento de aguas residuales urbanas, industriales y agropecuarias existe un esquema general, con diferentes tipos de tratamientos acorde a los efluentes respectivos para obtener agua de pureza razonable (Gómez, 2018):

1. Pretratamiento: Permite eliminar material de gran tamaño, tales como ramas, piedras, arena, aceites y grasas, entre otros.
2. Tratamiento Primario: Elimina material orgánico e inorgánico mediante procesos fisicoquímicos.
3. Tratamiento Secundario: Elimina cargas orgánicas (principalmente disueltas), con procesos biológicos
4. Tratamiento terciario: Elimina materia orgánica y material recalcitrante, como el nitrógeno y el fósforo.
5. Sanitización o Desinfección: Elimina microorganismos con procesos fisicoquímicos.

Para el tratamiento de efluentes se consideran los siguientes parámetros relevantes (Gómez, 2018):

- Demanda biológica de oxígeno (DBO): Cantidad de oxígeno que necesitan los microorganismos para degradar totalmente la materia orgánica biodegradable de la muestra.
- Demanda química del oxígeno (DQO): Cantidad de oxígeno necesaria para oxidar químicamente toda la materia orgánica presente en la muestra.
- Sólidos suspendidos (SS): Material orgánico e inorgánico suspendido en la muestra.
- Nitrógeno (N) y fósforo (P): Nutrientes más comunes encontrados en aguas residuales.

2.2. Procesos avanzados para la eliminación del Nitrógeno

Debido a los impactos antropogénicos, se han desarrollados procesos industriales avanzados que permiten la eliminación de nutrientes. Debido al alcance de esta memoria, se consideran las principales tecnologías aplicadas para el propósito del estudio:

2.2.1. Nitrificación-Desnitrificación

El proceso de nitrificación corresponde a la oxidación biológica del nitrógeno amoniacal (N-NH_3), y se realiza mediante dos etapas. En la primera etapa, se oxida el ion amonio (NH_4^+) a nitritos, y luego estos son oxidados a nitratos en la segunda etapa. Las reacciones son realizadas por bacterias autótrofas aerobias principalmente de dos géneros, que utilizan el carbono inorgánico como fuente de carbono celular, según las reacciones de las Ecuaciones 1 y 2 (Knobelsdorf, 2005):

- Nitrosomonas: Género principal de bacterias amonio oxidantes (BAO)

Ecuación 1

$$2NH_4^+ + 3O_2 \rightarrow 2NO_2^- + 2H_2O + 4H^+ + Energía$$

- Nitrobacter: Género principal de las bacterias nitrito oxidantes (BNO)

Ecuación 2

$$2NO_2^- + O_2 \rightarrow 2NO_3^- + Energía$$

Lo que se resume con la reacción de la Ecuación 3 (Knobelsdorf, 2005):

Ecuación 3

$$NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow 2NO_3^- + 2H^+ + H_2O$$

Las bacterias nitrificantes tienen un bajo rendimiento energético, por lo que obtienen una cantidad limitada de energía a partir de las reacciones de oxidación. La oxidación del amonio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-) libera entre 54 y 84 [Kcal/mol de NH_4^+], mientras que la oxidación del nitrito a nitrato (NO_3^-) aporta únicamente entre 15 y 21 [Kcal/mol de NH_4^+] (Knobelsdorf, 2005), lo que se traduce en una velocidad de crecimiento reducida.

La ecuación global que describe el metabolismo de las bacterias nitrificantes autótrofas se obtiene a partir del balance entre las reacciones de obtención de energía y las de síntesis celular. Para su formulación se consideran coeficientes de producción celular de 0,15 [g de biomasa/g de N–NH_4^+] oxidado y 0,02 [g de biomasa/g de N–NO_2^-] oxidado, correspondientes a las etapas de oxidación del amonio y del nitrito, respectivamente. El resultado de este balance se presenta en la Ecuación 4 (Knobelsdorf, 2005):

Ecuación 4

$$NH_4^+ + 1{,}83O_2 + 1{,}98HCO_3^- \rightarrow 0{,}21C_5H_7NO_2 + 0{,}98NO_3^- + 1{,}04H_2O + 1{,}88H_2CO_3$$

A partir de la Ecuación 4 se puede concluir que las bacterias nitrificantes autótrofas poseen una producción de bacterias nitrificantes de 0,021 [mol células/mol de N-NH_4^+], que es un valor muy pequeño comparado al de las bacterias heterótrofas, que tiene una producción de 0,17 [mol células/mol de N-NH_4^+]. Además, el oxígeno consumido es de 4,18 [g O_2/g de N-NH_4^+]. Por otro lado, se puede deducir que el proceso conlleva una reducción significativa del pH en el sistema, con una alcalinidad consumida de 7,1 [g $CaCO_3$/g N–NH_4^+].

La desnitrificación corresponde a la reacción de reducción del nitrato a nitrógeno gas, pasando por las etapas consecutivas intermedias de: nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N_2O). El proceso de desnitrificación implica la transferencia de electrones desde un "dador de electrones" (materia orgánica) a un "aceptor de electrones" oxidado (oxígeno, nitrito, nitrato o sulfatos), y los organismos responsables son bacterias, siendo el género más importante las pseudomonas. Los organismos relacionados son principalmente heterótrofos aerobios facultativos, que en condiciones anóxicas son capaces de utilizar los nitritos y nitratos como aceptor de electrones en lugar del oxígeno disuelto (Knobelsdorf, 2005).

Los microorganismos de la desnitrificación requieren de una fuente de carbono orgánico a la que poder oxidar, que en la industria puede ser de la materia orgánica presente en el agua residual o de un sustrato externo, como metanol (CH_3OH), etanol (C_2H_5OH) o ácido acético (CH_3COOH), siendo el metanol el más utilizado, debido a su bajo costo y alta eficiencia como dador de electrones. Si la fuente de carbono es propia del agua residual, disminuye el consumo de oxígeno en las fases aerobias, "*ya que gran parte de la materia orgánica se habrá oxidado durante el proceso de desnitrificación*" (Knobelsdorf, 2005). No obstante, existen ocasiones en que la materia orgánica se agota previamente, por lo que es necesario utilizar las fuentes de carbono externas. Por otro lado, "*el uso del nitrato o del nitrito, en lugar del oxígeno disuelto conlleva una producción ligeramente inferior de energía durante la síntesis celular. Por otra parte, la utilización de los nitratos genera más energía que la utilización de los sulfatos*" (Knobelsdorf, 2005).

Finalmente, la reacción del proceso de oxidación y síntesis utilizando una fuente orgánica genérica, se puede reducir a la reacción global de la Ecuación 5 (Knobelsdorf, 2005):

Ecuación 5

$$4NO_3^- + 5C + 4H_2CO_3 \rightarrow 2N_2 + 5CO_2 + 2H_2O + 4HCO_3^-$$

A partir de la Ecuación 5, se puede corroborar la producción de alcalinidad, con un valor de 3,57 [g $CaCO_3$/g $N–NO_3^-$], lo que corresponde a casi la mitad de la alcalinidad consumida durante la nitrificación. Además, suponiendo que se requiere de un mol de O_2 para oxidar un mol de materia orgánica (Knobelsdorf, 2005), se consigue un ahorro de oxígeno por oxidación de la materia orgánica de 2,86 [g O_2/g de $N\text{-}NO_3^-$].

Para la aplicación de ambos procesos se requiere de control que garantice los parámetros operacionales óptimos para obtener una conversión eficiente. En base a esto es que se tienen dos configuraciones principales del proceso.

- Predesnitrificación: En la configuración de predesnitrificación, representada en la Figura 6, el agua residual ingresa inicialmente a un reactor anóxico, donde los microorganismos desnitrificantes utilizan la materia orgánica biodegradable presente en el afluente como fuente de carbono y de electrones para reducir los nitratos (NO_3^-) recirculados desde la etapa de nitrificación, transformándolos principalmente en nitrógeno gaseoso (N_2). Posteriormente, el efluente es conducido a un reactor aerobio, en el cual el amonio (NH_4^+) es oxidado sucesivamente a nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) mediante el proceso de nitrificación. Una fracción del licor mezcla generado en esta etapa es recirculada hacia el reactor anóxico con el propósito de aportar los nitratos necesarios para que ocurra la desnitrificación.

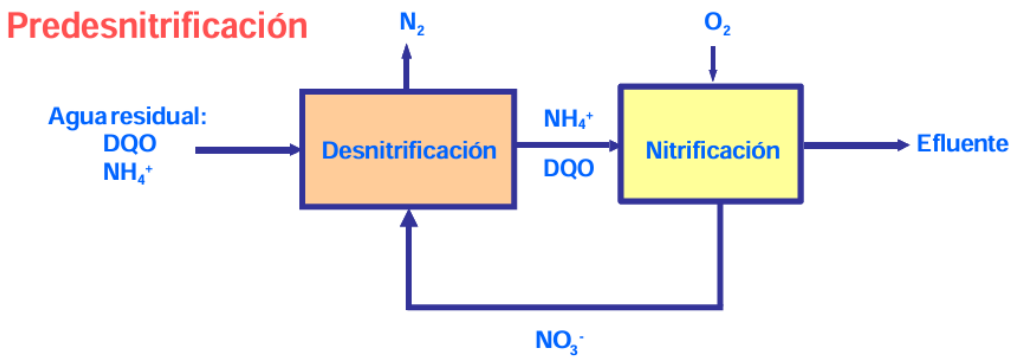


Figura 6: Configuración predesnitrificante de reactores. Fuente: (Campos et al., 2009)

Esta configuración presenta como principal ventaja el aprovechamiento de la materia orgánica contenida en el afluente como fuente de carbono para la desnitrificación, reduciendo o incluso eliminando la necesidad de adicionar una fuente de carbono externa. Asimismo, al disminuir la carga orgánica que alcanza la etapa aerobia, es posible optimizar los requerimientos de oxígeno y reducir el volumen necesario del reactor de nitrificación, lo que se traduce en menores costos de inversión y operación. No obstante, el sistema también presenta algunas limitaciones. La presencia de materia orgánica residual puede favorecer el desarrollo de bacterias heterótrofas en el reactor aerobio, las cuales compiten con las bacterias

nitrificantes por el oxígeno y el espacio disponible, pudiendo afectar la eficiencia del proceso de nitrificación. Además, debido a que la recirculación interna nunca permite retornar la totalidad de los nitratos generados, es habitual que el efluente final contenga una concentración residual de nitrato, cuya magnitud depende, entre otros factores, de la relación de recirculación y de la eficiencia alcanzada en ambas etapas del proceso.

- Postdesnitrificación: La configuración de postdesnitrificación, ilustrada en la Figura 7, se caracteriza por disponer la etapa de nitrificación antes de la desnitrificación. En este esquema, el agua residual ingresa inicialmente a un reactor aerobio, donde el ion amonio es oxidado biológicamente a nitrito y posteriormente a nitrato. A continuación, el efluente es conducido a un reactor anóxico, en el cual los microorganismos desnitrificantes reducen los nitratos a nitrógeno gaseoso (N_2), el cual es liberado a la atmósfera.

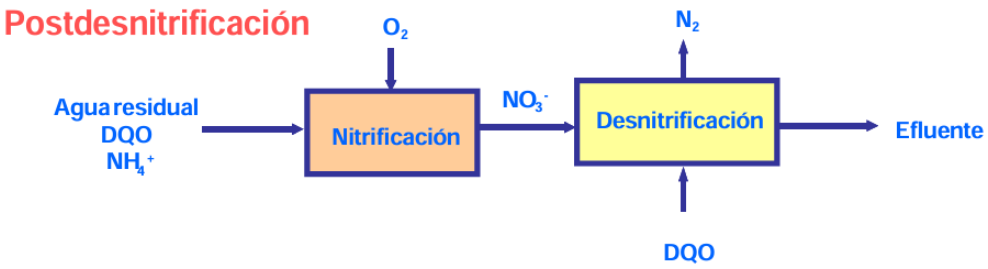


Figura 7: Configuración postdesnitrificante de reactores. Fuente: (Campos et al., 2009)

Una de las principales ventajas de esta configuración radica en su simplicidad operativa, ya que no requiere la implementación de una recirculación interna de nitratos entre reactores para llevar a cabo la desnitrificación. Sin embargo, durante la etapa de nitrificación se consume una parte importante de la materia orgánica biodegradable presente en el afluente, reduciendo la disponibilidad de carbono para el proceso desnitrificante. Como consecuencia, suele ser necesario incorporar una fuente externa de carbono, con el fin de proporcionar los electrones requeridos para una desnitrificación eficiente. Debido a esta característica, la configuración de postdesnitrificación se utiliza principalmente en sistemas que presentan bajas relaciones DQO/N, donde la cantidad de materia orgánica disponible resulta insuficiente para sostener la reducción biológica de los nitratos.

Para el desarrollo experimental de este proyecto se adoptó una configuración de postdesnitrificación. En una primera etapa, el sistema fue alimentado con un agua residual sintética, formulada para reproducir la concentración de amonio característica del efluente de interés, lo que permitió evaluar el desempeño del proceso bajo condiciones controladas y reproducibles. Posteriormente, la estrategia

de operación contempla la incorporación gradual de un efluente industrial real, con el propósito de adaptar el funcionamiento del sistema a las características propias de este tipo de agua residual.

2.2.2. Nitrificación parcial

El proceso de nitrificación-desnitrificación es un método convencional eficiente de eliminación biológica de compuestos nitrogenados, sin embargo, su aplicación se vuelve inviable a razones de DQO/N menores a 5 (Guerrero, 2023), debido a la necesidad de aplicar una fuente externa de materia orgánica, lo que eleva los costos de operación. Para relaciones de materia orgánica (representada por la DQO) y nitrógeno menores a 5 (DQO/N<5), se recomienda la nitrificación parcial-desnitrificación o nitrificación parcial-Anammox (Guerrero, 2023). Para efectos del estudio, se analiza el método avanzado de nitrificación parcial o vía nitrito, que permite una reducción del 25% de la demanda de oxígeno, 40% de reducción de la materia orgánica requerida y de biomasa producida, lo que se puede apreciar en la Figura 8.

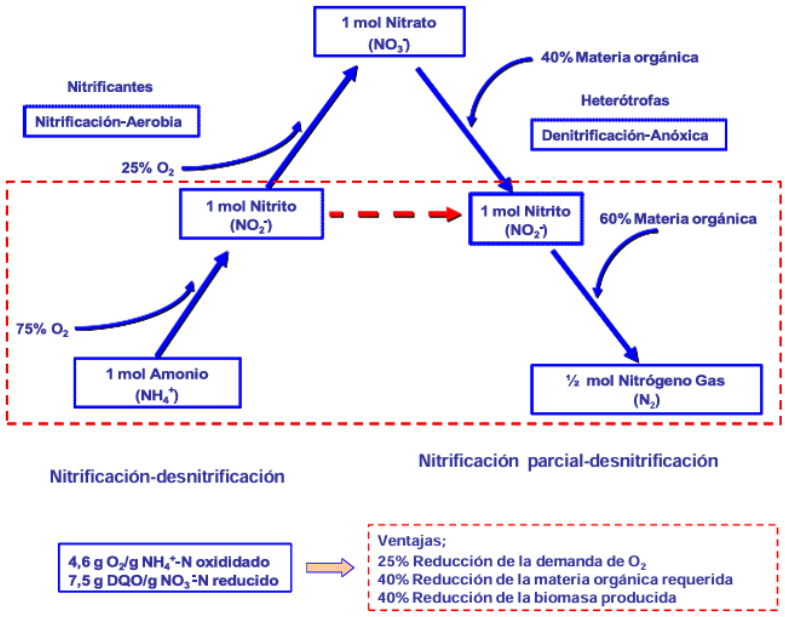


Figura 8: Esquema comparativo de nitrificación total y parcial. Fuente: (Campos et al., 2009)

Para lograr controlar el proceso de nitrificación y lograr la conversión parcial de amonio a nitrito evitando la conversión a nitrato, se requiere de conocer los factores y parámetros clave que afectan la oxidación y la actividad de las BAO y BNO, de modo en que se pueda favorecer la velocidad de oxidación de las BAO por sobre las BNO. Para estos efectos se cuenta con la Ecuación 6, que define la velocidad de crecimiento bacteriano (μ) en el proceso de nitrificación (Campos *et al.*, 2009):

Ecuación 6

$$\mu = \mu_{max}(T) \cdot \frac{O_2}{K_{O_2} + O_2} \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{NH_3}{K_{I_{NH_3}}}\right)}$$

En donde:

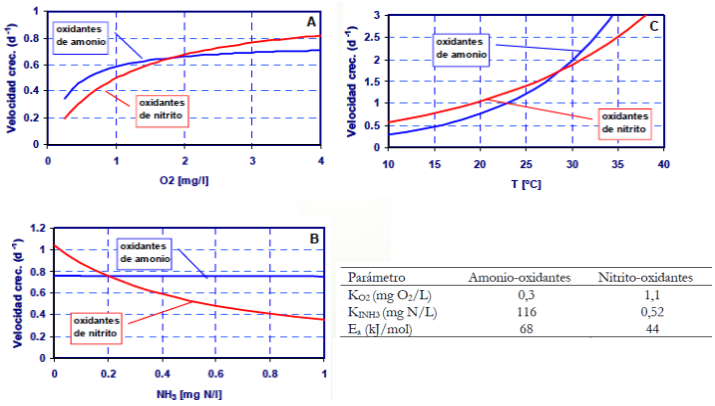
- O_2: Concentración de oxígeno disuelto disponible [mg O_2/L]
- μ_{max}: Velocidad de crecimiento máxima a una temperatura determinada (T)
- S: Concentración del sustrato limitante. NH_4^+ para las BAO y NO_2^- para las BNO. [mg N/L]
- NH_3: Concentración de amoniaco libre [mg N-NH_3/L]
- K_i: Constante de semisaturación para el componente i (con i= O_2 o S) [mg i/L]
- K_{INH3}: Constante de inhibición por amoniaco libre (sensibilidad de las bacterias ante el amoniaco) [mg N-NH_3/L]

A partir de la Ecuación 6 se puede concluir que los principales parámetros que regulan el crecimiento bacteriano son la concentración de amoniaco en el medio, la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura. Análogamente, se requiere de controlar parámetros complementarios (Ge *et al.*, 2015):

- pH: influye en el equilibrio entre NH_4^+/NH_3 y NO_2^-/HNO_2. Al modificar la concentración de amoníaco libre y ácido nitroso libre, puede favorecer la actividad de las BAO e inhibir selectivamente a las BNO.
- Control de aireación en tiempo real: consiste en ajustar la aireación de acuerdo con la respuesta del proceso (por ejemplo, mediante sensores), evitando la oxidación completa del nitrito a nitrato y reduciendo el consumo energético.
- Tiempo de retención de sólidos o lodos (TRS): al operar con un TRS suficientemente bajo es posible favorecer el crecimiento de las BAO mientras se dificulta la permanencia de las BNO, debido a que estas últimas presentan una menor velocidad de crecimiento.
- Compuestos inhibidores: empleo de inhibidores (como la concentración de amoníaco libre (NH_3) y de ácido nitroso libre (HNO_2)) para suprimir selectivamente la actividad de las BNO.
- Operación alternada anóxica/aerobia: consiste en alternar fases anóxicas y aerobias para afectar preferentemente a las BNO y favorecer la acumulación de nitrito

En este sentido, se recomienda mantener el sistema en un rango de pH entre 7,0 y 8,0, ya que bajo estas condiciones la concentración de amoníaco libre (NH_3) puede alcanzar niveles suficientes para inhibir selectivamente la actividad de las BNO. De

igual forma, la temperatura constituye un factor determinante, puesto que valores superiores a 30 [°C] favorecen el crecimiento de las BAO. Esto se debe a que la reacción de oxidación del amonio presenta una mayor energía de activación en comparación con la oxidación de nitrito, lo que incrementa la velocidad de crecimiento de las BAO respecto de las BNO. Sin embargo, esta estrategia solo resulta factible en sistemas que operan de manera natural o controlada a temperaturas cercanas a dicho valor. Con respecto a los compuestos inhibitorios, el amoníaco libre (FA) desempeña un papel fundamental, ya que, si bien puede afectar tanto a las bacterias oxidantes de amonio (BAO) como a las BNO, estas últimas presentan una sensibilidad significativamente mayor. En las BAO, los efectos inhibitorios se manifiestan generalmente a concentraciones de FA entre 10 y 150 [mg NH_3 /L], mientras que las BNO pueden verse inhibidas con concentraciones comprendidas entre 0,1 y 1 [mg NH_3 /L] (Anthonisen *et al.*, 1976). Esta diferencia en la tolerancia permite establecer condiciones operacionales que favorezcan la actividad de las BAO y limiten el crecimiento de las BNO, promoviendo así la acumulación de nitrito. De forma similar, el ácido nitroso libre (FNA) también actúa como un inhibidor selectivo, afectando la actividad de las BNO en concentraciones entre 0,2 y 2,8 [mg HNO_2/L] (Yuan *et al.*, 2021), y pudiendo disminuir hasta en un 50% la actividad de las BAO con concentraciones entre 0,42 y 1,72 [mg HNO_2/L] (Zhao *et al.*, 2022). Su concentración aumenta a medida que disminuye el pH del medio, por lo que el control de esta variable operacional resulta igualmente relevante para mantener la nitrificación parcial (Anthonisen *et al.*, 1976). Por otra parte, la disponibilidad de oxígeno disuelto también desempeña un papel fundamental, ya que las BNO presentan una mayor constante de afinidad por este compuesto (K_{O2} = 1,1 [mg/L]) en comparación con las BAO (K_{O2} = 0,3 [mg/L]). En consecuencia, operar con bajas concentraciones de oxígeno disuelto (0,5-1,5 [mg O_2/L] (Ge *et al.*, 2015)) afecta preferentemente la actividad de las BNO, favoreciendo la acumulación de nitrito y evitando su posterior oxidación a nitrato. Para estos efectos se cuenta con los gráficos de la Figura 9 (Campos *et al.*, 2009).



Parámetro	Amonio-oxidantes	Nitrito-oxidantes
K_{O2} (mg O_2/L)	0,3	1,1
K_{INH3} (mg N/L)	116	0,52
E_a (kJ/mol)	68	44

Figura 9: Parámetros de control para nitrificación parcial. Fuente: (Campos et al., 2009)

2.2.3. Desnitrificación autótrofa

En las aguas residuales suele haber compuestos de carbono, nitrógeno y azufre, y para el tratamiento de estos es posible aprovechar las interacciones entre los ciclos de dichos compuestos, como se aprecia en la Figura 10.

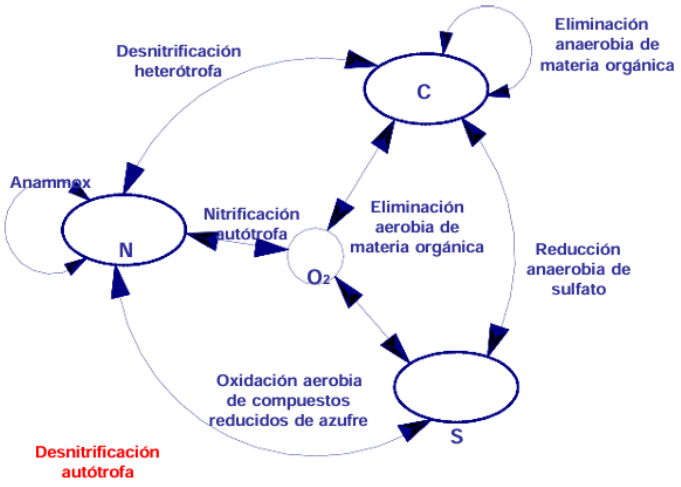


Figura 10: Interacciones biológicas entre los ciclos de carbono, nitrógeno y azufre. Fuente: (Campos et al., 2009)

Además de la desnitrificación heterótrofa, se tiene la interacción biológica de los ciclos de nitrógeno y azufre de la Figura 11, dada por la desnitrificación autótrofa, que consiste en la oxidación de los óxidos nitrosos a nitrógeno gaseoso usando compuestos reducidos de azufre ($S_2O_3^{2-}$, S^0 y/o H_2S) como donadores de electrones.

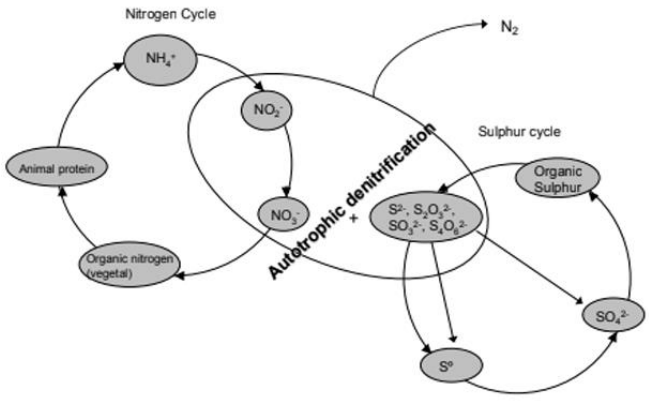


Figura 11: Sinergia del ciclo del nitrógeno y azufre. Fuente: (Campos et al., 2009)

Esta interacción genera sulfato como producto final, que es menos perjudicial para el ambiente que el nitrato, según las reacciones de las Ecuaciones 9, 10 y 11 (Campos *et al.*, 2009).

Ecuación 7

$$5S_2O_3{}^{2-} + 8NO_3{}^{-} + H_2O \rightarrow 10SO_4{}^{2-} + 4N_2 + 2H^+$$

Ecuación 8

$$S^{2-} + 8NO_3{}^{-} + 8H^+ \rightarrow 5SO_4{}^{2-} + 4N_2 + 4H_2O$$

Ecuación 9

$$5S^0 + 6NO_3{}^{-} + 2H_2O \rightarrow 5SO_4{}^{2-} + 3N_2 + 4H^+$$

La desnitrificación autótrofa (DA) es un proceso biológico llevado a cabo por una amplia diversidad de microorganismos, entre los que destacan bacterias pertenecientes a los géneros *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Paracoccus*, *Thiosphaera*, *Ferrobacillus*, *Gallionella*, *Leptothrix* y *Sphaerotillus*. Estos microorganismos emplean diferentes compuestos inorgánicos como donadores de electrones, tales como hidrógeno (H_2), azufre elemental (S^0), sulfuro (S^{2-}), bisulfuro (HS^-), tiosulfato ($S_2O_3{}^{2-}$) y hierro ferroso (Fe^{2+}). Mientras que algunas especies presentan un metabolismo estrictamente autótrofo, otras son facultativas, como *Paracoccus denitrificans* y *Thiobacillus denitrificans*, las cuales pueden utilizar tanto compuestos inorgánicos como materia orgánica como fuente de electrones (Burghate y Ingole, 2014).

Las bacterias desnitrificantes autótrofas se desarrollan óptimamente en un intervalo de pH entre 7 y 8 y corresponden, en su mayoría, a microorganismos mesófilos, cuyo rango óptimo de temperatura se encuentra entre 25 y 35 °C. A diferencia de la desnitrificación heterótrofa, este proceso requiere la incorporación de una fuente de carbono inorgánico, generalmente bicarbonato ($HCO_3{}^-$), para la síntesis de biomasa. Además, el bicarbonato, o en algunos casos el carbonato de calcio ($CaCO_3$), actúa como fuente de alcalinidad, permitiendo neutralizar los protones (H^+) generados durante las reacciones de oxidación de los donadores de electrones y evitando, de esta manera, la acidificación del medio.

Las principales bacterias desnitrificantes pertenecen a los géneros *Thiobacillus* y *Thiomicrospira,* y estas pueden utilizar además al oxígeno como aceptor de electrones para la oxidación de compuestos azufrados, dejando entonces a la concentración de oxígeno como factor determinante de la oxidación. Como en este caso se busca la eliminación de nitrato, se debe evitar la presencia de oxígeno en la desnitrificación, ya que "*a concentraciones de O_2 bajas (< 0,1 mg O_2/L) se produce una oxidación parcial a S° mientras que a altas concentraciones se produce sulfato*"

(Campos *et al.*, 2009) según las reacciones de las Ecuaciones 12 y 13, respectivamente.

Ecuación 10

$$2HS^- + 0{,}50_2 \rightarrow S^0 \downarrow + H_2O$$

Ecuación 11

$$2HS^- + 4O_2 \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+$$

En la desnitrificación se posee una amplia variedad de donadores de electrones, en donde la eficiencia depende de la biodisponibilidad del sustrato de los microorganismos, la afinidad microbiana y el rendimiento energético, los que determinan la tasas y la eficiencia global de la desnitrificación (Di Capua *et al.*, 2019). Los balances estequiométricos según el donador de electrones se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Donadores de electrones en la desnitrificación autótrofa. Fuente: Elaboración propia a partir de (Burghate y Ingole, 2014)

Donador de e⁻	**Balance estequiométrico**
Hidrógeno	$2NO_3^- + 5H^+ \rightarrow N_2 + 4H_2O + 2OH^-$
Hierro ferroso	$NO_3^- + 5Fe^{2+} \rightarrow 0{,}5N_2 + 5FeOOH + 9H^+$
Sulfuro	$14NO_3^- + 5FeS_2 + 4H^+ \rightarrow 7N_2 + 10SO_4^{2-} + 5Fe^{2+} + 2H_2O$
Tiosulfato	$0{,}141NO_3^- + 0{,}125S_2O_3^{2-} + 0{,}643CO_2 + 0{,}1H_2O \rightarrow 0{,}0129C_5H_7NO_2 + 0{,}064N_2 + 0{,}25SO_4^{2-} + 0{,}109H^+$
Azufre elemental	$10NO_3^- + 11S^0 + 4{,}1HCO_3^- + 0{,}5CO_2 + 1{,}71NH_4^+ + 2{,}54H_2O \rightarrow 0{,}92C_5H_7NO_2 + 5{,}4N_2 + 11SO_4^{2-} + 9{,}62H^+$

La desnitrificación autótrofa posee las siguientes ventajas frente a la desnitrificación heterótrofa convencional (Campos *et al.*, 2009):

- "*No requiere de una fuente orgánica de carbono orgánica*"
- "*El azufre elemental puede ser usado como fuente de electrones económica*"
- "*La producción de lodos es reducida, por lo tanto, el coste asociado a la gestión de los mismos es bajo*"

Sin embargo, posee la desventaja de generar sulfato (SO_4^{2-}), que en concentraciones elevadas puede alterar las propiedades organolépticas del agua, además de la necesidad de aplicar un control de pH mediante soluciones tampón, a causa de la acidificación que genera el proceso (Di Capua *et al.*, 2019).

2.2.4. Desnitrificación mixotrófica

La desnitrificación mixotrófica corresponde a la integración de las rutas metabólicas tanto heterótrofas como autótrofas permitiendo complementar las deficiencias de cada una, reduciendo la dependencia de la adición de fuentes externas de carbono de la vía heterótrofa y optimizando el arranque lento de la vía autótrofa (Zhang *et al.*, 2023). En base a esto es que se posee la Figura 12, que muestra el intercambio electrónico y las reacciones oxido-reductoras del proceso mixotrófico, lo que se sustenta en la utilización de materia orgánica e inorgánica como donadores de electrones.

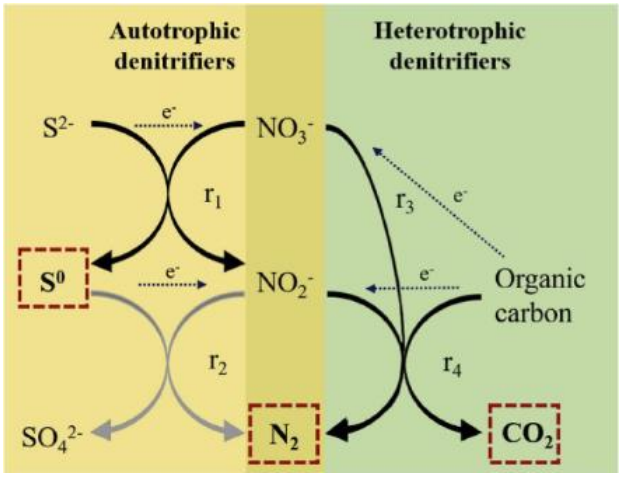


Figura 12: Acoplamiento de desnitrificación autótrofa y heterótrofa. Fuente: (Zhou y Wang, 2024)

En comparación con los procesos de desnitrificación heterótrofa y autótrofa cuando operan de manera independiente, la desnitrificación mixotrófica ofrece diversas ventajas operacionales y ambientales. Una de las principales corresponde a la disminución de la producción de sulfatos en el efluente, problema habitualmente asociado a la desnitrificación autótrofa basada en compuestos reducidos de azufre, donde las concentraciones generadas pueden superar los límites establecidos por la normativa vigente. La combinación de rutas metabólicas heterótrofas y autótrofas favorece un uso más eficiente de los donadores de electrones y reduce la formación de este subproducto, debido a la interacción y complementariedad entre ambas comunidades microbianas. Adicionalmente, la desnitrificación mixotrófica presenta un proceso de puesta en marcha más rápido, elevadas eficiencias de remoción de nitrógeno y una menor producción de lodos biológicos en comparación con los procesos convencionales (Zhang *et al.*, 2023).

2.2.5. Nitrificación-Desnitrificación simultánea (SND) (mezcla de lodos)

El proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea consiste en desarrollar conjuntamente ambos procesos biológicos dentro de un mismo reactor, mediante la coexistencia de bacterias nitrificantes y desnitrificantes en una biomasa mixta. Esta configuración resulta especialmente adecuada para el tratamiento de aguas residuales con una baja relación carbono/nitrógeno (C/N < 5), además, permite ahorrar costos, eliminando la necesidad de disponer de un reactor anóxico independiente (Rahimi *et al.*, 2020).

El proceso SND se puede llevar a cabo gracias a un mecanismo físico y uno biológico. El mecanismo físico tiene relación con los gradientes de oxígeno disuelto y su difusión a través de los flóculos de los lodos de fangos activados y biopelículas. En la Figura 13, se aprecia el perfil de oxígeno disuelto dentro de los flóculos y cómo el tamaño y la difusión de oxígeno influyen en la formación de una zona anóxica y una zona aerobia. En la zona de la periferia (zona aerobia), en donde las concentraciones de OD están por sobre 1-2 [mg O_2/L], se encuentran las bacterias autótrofas; y en la zona interior (zona anóxica), en donde las concentraciones inferiores a 0,5 [mg O_2/L], se ubican las bacterias desnitrificantes (Zhu *et al.*, 2008). A medida que aumenta el tamaño del flóculo, se incrementa la cantidad de bacterias nitrificantes presentes en su zona periférica, lo que intensifica el consumo de oxígeno disuelto en las capas externas. Como consecuencia, la concentración de oxígeno disminuye progresivamente hacia el interior del flóculo, favoreciendo el desarrollo de regiones anóxicas de mayor extensión en su núcleo (Zhu *et al.*, 2008).

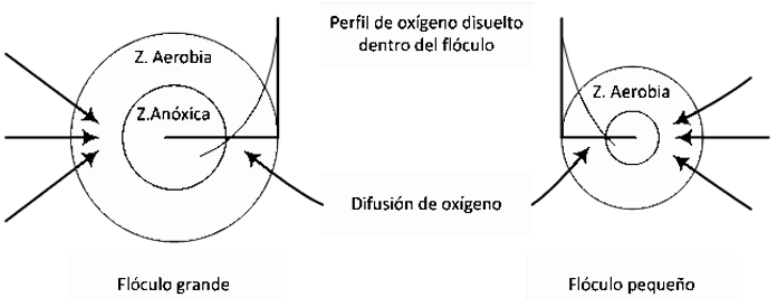


Figura 13: Perfil de OD dentro del flóculo. Fuente: (Pochana y Keller, 1999)

Por otro lado, en la Figura 14, se puede apreciar el mecanismo biológico, que responde a la actividad de oxidación de amonio de las bacterias nitrificantes heterotróficas, y su relación con los microorganismos desnitrificantes, que pueden realizar la reducción de nitritos y nitratos en condiciones aerobias de alta saturación de OD.

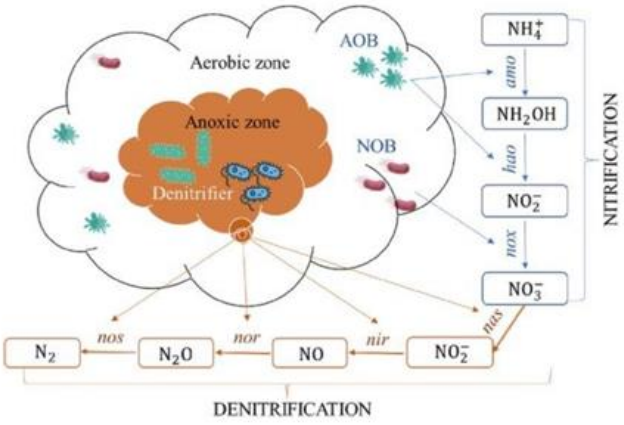


Figura 14: Reacciones asociadas al proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea. Fuente: (Huynh et al., 2023)

Entonces, los factores que condicionan el proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea son:

- Carbono orgánico: Resulta un parámetro de control vital, ya que un exceso inhibe a las bacterias autótrofas nitrificantes y una concentración baja provoca déficit de dador de electrones para las bacterias desnitrificantes (Tam *et al.*, 1992).
- Oxígeno disuelto: Como la nitrificación y desnitrificación poseen requerimientos opuestos de oxígeno, su concentración afecta en doble sentido. En bajas concentraciones se suprime la nitrificación, y en altas, se inhibe el proceso de desnitrificación. Y se tiene que en concentraciones de alrededor de 0,5 [mg O_2/L] las velocidades de nitrificación y desnitrificación son iguales (Münch *et al.*, 1996).
- Tamaño del flóculo: el proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea (SND) ocurre principalmente en flóculos con diámetros superiores a 125 µm, donde las limitaciones en la difusión del oxígeno disuelto generan gradientes de concentración que favorecen la formación de zonas anóxicas en su interior (Bedoya, 2012)

2.3. Bacterias reductoras de sulfato (SRB)

Las bacterias sulfato reductoras (BSR) corresponden a un grupo de microorganismos anaerobios estrictos capaces de utilizar el sulfato (SO_4^{2-}) como aceptor final de electrones durante su metabolismo respiratorio. Como resultado de este proceso, el sulfato es reducido hasta sulfuro, principalmente en forma de sulfuro de hidrógeno (H_2S) y bisulfuro (HS^-), empleando como donadores de electrones hidrógeno molecular (H_2), ácidos grasos volátiles de bajo peso molecular, acetato y otros compuestos orgánicos

derivados de la degradación de la materia orgánica (Guerrero *et al.*, 2017; Varjani y Gnansounou, 2017).

Como se observa en la Figura 15, las SRB forman parte de la comunidad microbiana responsable de la degradación anaerobia de la materia orgánica. Durante este proceso, los polímeros complejos son transformados mediante hidrólisis y fermentación en compuestos de menor peso molecular. Estos productos constituyen los principales sustratos utilizados por las bacterias sulfato reductoras, las cuales reducen sulfato a sulfuro mientras obtienen la energía necesaria para su crecimiento (Varjani y Gnansounou, 2017).

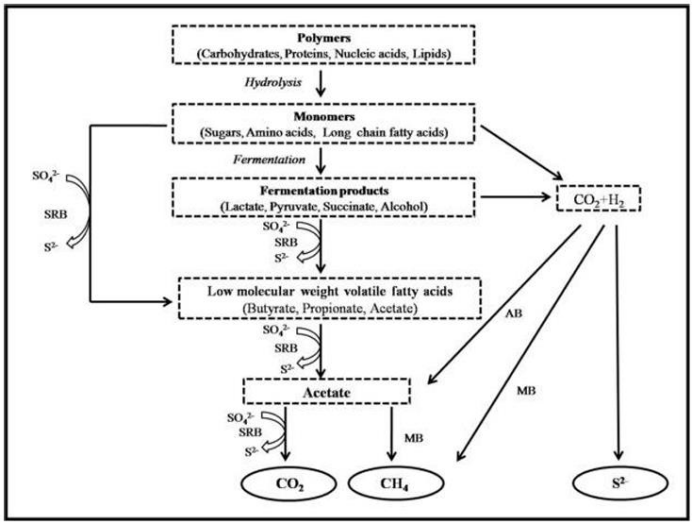


Figura 15: Ruta metabólica de bacterias sulfato reductoras (SRB).
Fuente: (Varjani y Gnansounou, 2017)

Desde el punto de vista de la interacción con las bacterias desnitrificantes. Ambos grupos principales de bacterias pueden utilizar los mismos donadores de electrones, tales como acetato, metanol, etanol o hidrógeno molecular, estableciéndose una competencia metabólica por estos compuestos (Guerrero *et al.*, 2017). Sin embargo, cuando el nitrato se encuentra disponible, las bacterias desnitrificantes presentan una ventaja energética, ya que la reducción de nitrato genera un mayor rendimiento energético que la reducción de sulfato. En consecuencia, el nitrato es utilizado preferentemente como aceptor final de electrones, limitando el desarrollo de las BSR y reduciendo la formación de sulfuro de hidrógeno.

La competencia entre ambos grupos microbianos puede analizarse mediante parámetros cinéticos de crecimiento, principalmente la velocidad específica máxima (μ_{max}) y la constante de saturación (K_S), en donde esta última, expresa la afinidad del microorganismo por el sustrato limitante, mediante relación inversa. En conjunto, estos parámetros permiten predecir qué población dominará bajo determinadas condiciones

operacionales, constituyendo una herramienta de interés para el diseño y control de procesos biológicos de tratamiento (Guerrero *et al.*, 2017).

La diferencia metabólica sitúa a ambos grupos bacterianos en etapas opuestas del ciclo del azufre. Mientras las BSR transforman sulfato en sulfuro bajo condiciones anaerobias, las bacterias desnitrificantes autótrofas oxidan el sulfuro, el azufre elemental o el tiosulfato nuevamente hasta sulfato durante la desnitrificación. En consecuencia, el equilibrio entre ambas poblaciones determina en gran medida la distribución de las especies de azufre presentes en el sistema de tratamiento.

Por otro lado, en procesos de desnitrificación mixotrófica, una oxidación excesiva de compuestos reducidos de azufre puede incrementar la concentración de sulfato en el efluente, mientras que el predominio de bacterias sulfato reductoras favorece la formación de sulfuro de hidrógeno, compuesto asociado a problemas de toxicidad, corrosión y generación de olores. Por ello, el control de las condiciones operacionales resulta fundamental para favorecer el desarrollo de comunidades desnitrificantes y optimizar simultáneamente la remoción de nitrógeno y compuestos de azufre (Zhang *et al.*, 2023; Zhou y Wang, 2024).

2.4. Uso de zeolita chilena

El mineral de la zeolita pertenece a la familia de los *aluminosilicatos hidratados*, y está formado por estructuras tridimensionales de tetraedros de AlO_4 y SiO_4 que se unen entre sí compartiendo los átomos de oxígeno. Su estructura genera la formación de huecos y canales, favoreciendo la movilidad de moléculas de agua y cationes alcalinos y/o alcalinos térreos, lo que análogamente facilita el intercambio iónico. Las unidades estructurales básicas de la zeolita se pueden apreciar en la Figura 16, en donde A) corresponde a un tetraedro con un átomo de Si (círculo negro) en el centro y átomos de oxígeno en los vértices; B) es un tetraedro con átomo de Al sustituyendo el Si y unido a un catión monovalente para compensar la diferencia de carga entre el Si y el Al; y C) sería un átomo para balancear las cargas entre el Al y el Si en una cadena múltiple de tetraedros (Curi *et al.*, 2006).

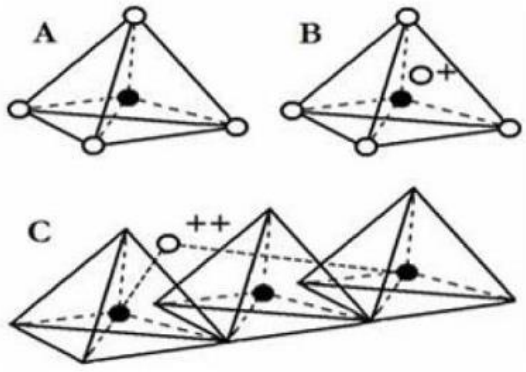


Figura 16: Unidades estructurales básicas de la zeolita. Fuente: (Curi et al., 2006)

Las zeolitas influyen favorablemente en las transformaciones microbianas y enzimáticas de variadas sustancias, tales como: amonio, azufre, carbohidratos y compuestos fenólicos (Montalvo *et al.*, 2012), esto gracias a las propiedades derivadas de su estructura particular, entre las que destacan:

- Adsorción: Fenómeno en que los átomos, iones o moléculas son atrapados en la superficie de los sólidos, lo que en las zeolitas está directamente relacionado con la superficie interna y externa. Las fuerzas de atracción de la superficie interna de las zeolitas se encuentran en equilibrio, en cambio, las de la superficie externa tienen un desbalance, generando fuerzas netas de atracción o repulsión hacia las moléculas. Para una adhesión estable, se debe de alcanzar la distancia óptima entre la superficie de la zeolita y la molécula, en el que las fuerzas de atracción de la superficie externa alcancen el equilibrio con las fuerzas de repulsión de la superficie interna.
- Intercambio iónico: El intercambio iónico corresponde a la sustitución isomórfica de los átomos de silicio de la estructura cristalina de la zeolita, por átomos de aluminio, generando una carga negativa en la estructura, que se compensa con la incorporación de otros cationes de fuera de la estructura. La magnitud o cantidad de cationes que puede retener la zeolita por unidad de masa se conoce como capacidad de intercambio iónico, y está directamente relacionada con la cantidad de aluminio en la red, en donde, mientras menor sea la relación SiO_4/AlO_4, mayor será el grado de sustitución y la capacidad de intercambio iónico (Curi *et al.*, 2006). Esta propiedad adquiere importancia en los procesos de nitrificación-desnitrificación ya que al incorporar iones de amonio puede alterar la concentración de amoniaco libre.
- Soporte para poblaciones bacterianas: Los microorganismos usados para la remoción de contaminantes en efluentes, se adhieren a la zeolita formando una biopelícula que favorece la retención de biomasa (Basaul, 2013). Mientras mayor sea la superficie en la zeolita, mayor será la cantidad de microorganismos adheridos, por lo que la porosidad de esta juega un rol fundamental en el mecanismo de transferencia de materia. La zeolita posee una superficie interna extremadamente grande en comparación a la superficie externa (Vásquez, 2010), gracias a la presencia de microporos (diámetros menores a 2 [nm]), los que permiten una mayor interacción entre la partícula y las paredes del poro, y por consiguiente un buen confinamiento de las moléculas (Curi *et al.*, 2006).

Las zeolitas son un mineral que suele encontrarse en rocas cercanas a volcanes activos o extintos. Las composiciones mineralógicas varían dependiendo de la estructura y la composición de Si/Al, existiendo cerca de 50 tipos de zeolita natural. En la Figura 17 se puede apreciar una imagen amplificada de la zeolita chilena “Ch-zeolite” tomada por un microscopio electrónico de barrido por Englert y Rubio, quienes en 2005 caracterizaron la zeolita chilena. Los estudios a la zeolita chilena concluyeron que posee un área

superficial específica bastante alta, además de que está compuesta principalmente por clinoptilolita y mordenita, que corresponden al tipo de zeolita natural más utilizados en la industria debido a su pureza (Englert y Rubio, 2005; Montalvo *et al.*, 2012).

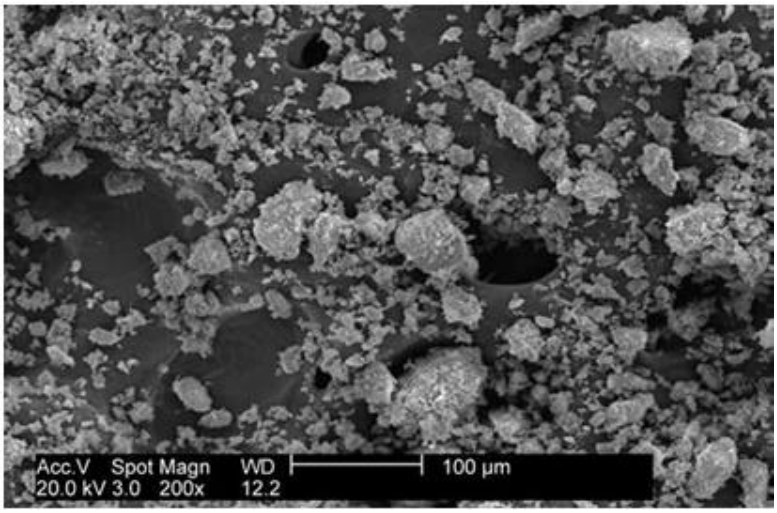


Figura 17: Imagen topográfica amplificada de zeolita chilena. Fuente: (Englert y Rubio, 2005)

2.5. Biopelícula

El 90% de los microorganismos poseen la característica microbiológica de producir biopelículas, las que se definen como comunidades de microorganismos que crecen agregados y rodeados a una matriz extracelular que ellos mismos producen, en donde la matriz está conformada por proteínas, ADN extracelular y exopolisacáridos (EPS) (Ortega y Hernández, 2018). La biosíntesis de biopelículas es un proceso complejo que ocurre en cuatro fases, como se describe en la Figura 18.

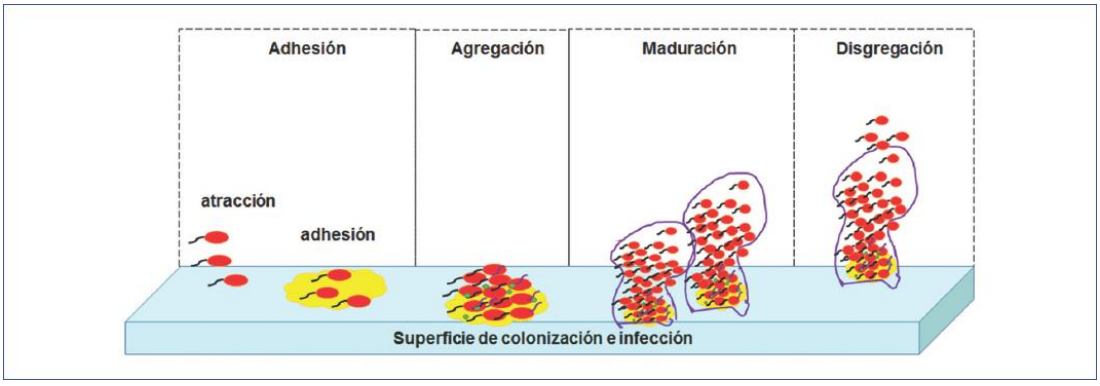


Figura 18: Proceso de biosíntesis de biopelícula microbiana. Fuente: (Ortega y Hernández, 2018)

1. Adhesión: Fase en que los microorganismos se depositan sobre la superficie gracias a la atracción y adhesión. La atracción es un proceso reversible y consiste en la atracción de los microorganismos en estado planctónico por parte de una superficie inerte, mediante distintos tipos de fuerzas fisicoquímicas propias de las paredes microbianas o de la superficie. Posteriormente ocurre la adhesión, que consiste en un proceso irreversible por moléculas constitutivas de la pared microbiana: pili, flagelos, ácidos teicoicos y moléculas que los microorganismos expresan bajo circunstancias de estrés (Ortega y Hernández, 2018).
2. Agregación: Esta fase ocurre cuando se agregan más células microbianas a los microorganismos ya adheridos. Durante la agregación, el metabolismo microbiano genera concentraciones elevadas de metabolitos secundarios, los cuales son útiles para la comunicación microbiana.
3. Maduración: En esta fase los microorganismos agregados comienzan a multiplicarse y análogamente se tiene una producción excesiva de EPS, proteínas y liberación de ADN extracelular, los que servirán para la formación de la matriz extracelular y el crecimiento de biopelículas (Allewell, 2016). Además, la liberación de ADN extracelular es útil para dar rigidez a la biopelícula y ayudar a los microorganismos a adquirir nutrientes del medio. Por otro lado, en esta fase se forman canales de agua a través y alrededor de la biopelícula, para la excreción y transporte de moléculas.
4. Disgregación: Cuando la densidad microbiana en el interior de la biopelícula aumenta significativamente y los microorganismos han producido cantidades importantes de metabolitos, se induce la síntesis de enzimas capaces de degradar los componentes de la matriz extracelular. Como consecuencia, la estructura de la biopelícula pierde estabilidad, favoreciendo el desprendimiento de agregados microbianos y de células individuales, las cuales pueden colonizar nuevas superficies e iniciar un nuevo ciclo de formación de biopelículas (Cheung *et al.*, 2014). Adicionalmente, además de las enzimas responsables de la degradación de la matriz extracelular, existen moléculas señalizadoras que participan en este proceso de dispersión. Entre ellas destaca el óxido nítrico (NO), el cual actúa como un mediador capaz de inducir la disgregación de la biopelícula, favoreciendo la transición de las bacterias desde el estado sésil al estado planctónico y facilitando su dispersión hacia nuevos sitios de colonización (Barraud *et al.*, 2015).

2.6. Reactores aerobios y anaerobios

En el tratamiento biológico de aguas residuales, los reactores pueden clasificarse en dos categorías principales: reactores de biomasa adherida (lecho fijo) y reactores de biomasa en suspensión. Esta clasificación es aplicable tanto a procesos aerobios como anaerobios y depende de la forma en que los microorganismos se desarrollan dentro del sistema, característica que influye directamente en aspectos como la eficiencia del tratamiento, el diseño hidráulico y las condiciones de operación del reactor (Metcalf y Eddy, 2001).

En los reactores de lecho fijo, los microorganismos forman biopelículas adheridas a un medio soporte, el cual puede estar constituido por materiales naturales o sintéticos, como piedras, plásticos u otros elementos especialmente diseñados para favorecer el crecimiento microbiano. En contraste, los reactores de biomasa en suspensión mantienen a los microorganismos dispersos en el licor mezcla, condición que se logra mediante sistemas de aireación y/o agitación mecánica, los cuales aseguran la transferencia de oxígeno y una adecuada homogeneización del contenido del reactor (Metcalf y Eddy, 2001).

Entre los principales reactores biológicos aerobios empleados a escala industrial se encuentran:

- CSTR (Continuous Stirred Tank Reactor o reactor de mezcla completa): corresponde a la configuración tradicional de los sistemas de lodos activados, en la cual la biomasa permanece suspendida en el licor mezcla gracias a la acción conjunta de la aireación y la agitación. Estas condiciones favorecen una distribución uniforme del sustrato y del oxígeno, promoviendo el desarrollo de los procesos biológicos.
- SBR (Sequencing Batch Reactor): opera en régimen discontinuo mediante ciclos sucesivos que comprenden las etapas de llenado, reacción, sedimentación y descarga del efluente. Esta modalidad de operación permite trabajar con elevadas relaciones sustrato/biomasa y facilita la incorporación de diferentes condiciones operacionales dentro de un mismo reactor.
- Filtros percoladores: corresponden a sistemas de biomasa adherida en los que el agua residual es distribuida sobre un medio soporte mediante un sistema de aspersión. A medida que el afluente atraviesa el lecho, entra en contacto con la biopelícula desarrollada sobre el material de relleno, donde ocurre la degradación biológica de la materia orgánica.
- MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor): combina las ventajas de los procesos de biomasa suspendida y biomasa adherida mediante el empleo de soportes móviles sobre los cuales se desarrolla la biopelícula. Estos elementos permanecen en constante movimiento gracias a la aireación o a la agitación,

incrementando el área disponible para el crecimiento microbiano y favoreciendo el contacto entre los microorganismos y el agua residual.

Los reactores anaerobios pueden clasificarse de acuerdo con su evolución tecnológica en reactores de primera y segunda generación. Los reactores de primera generación presentan tiempos de retención hidráulico (TRH) y de sólidos (TRS) similares, lo que limita la acumulación de biomasa activa y, en consecuencia, la eficiencia del proceso. En contraste, los reactores de segunda generación incorporan mecanismos que favorecen la retención de biomasa, permitiendo que el TRS sea considerablemente mayor que el TRH. Esta característica posibilita el tratamiento de mayores cargas orgánicas y mejora el rendimiento del sistema al mantener una elevada concentración de microorganismos en el interior del reactor (Metcalf y Eddy, 2001; Guerrero *et al.*, 2017).

Entre los reactores anaerobios de mayor aplicación en el tratamiento de aguas residuales se encuentran:

- UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket): corresponde a uno de los reactores anaerobios más utilizados a escala industrial debido a su elevada eficiencia en la remoción de materia orgánica y a su capacidad para retener biomasa mediante la formación de lodos granulares. El afluente ingresa por la parte inferior del reactor y asciende a través del manto de lodos, favoreciendo el contacto entre el sustrato y los microorganismos responsables de la degradación anaerobia (Metcalf y Eddy, 2001).
- EGSB (Expanded Granular Sludge Bed): constituye una evolución del sistema UASB, diseñada para operar con mayores velocidades de flujo ascensional. Estas condiciones permiten la expansión parcial del lecho granular, mejorando la transferencia de masa entre el agua residual y la biomasa, lo que favorece el tratamiento de efluentes con altas cargas orgánicas y una mayor eficiencia del proceso (Guerrero *et al.*, 2017).
- Reactor anaerobio de lecho fijo (RALF): en este sistema los microorganismos crecen adheridos a un medio soporte, formando una biopelícula estable que permanece retenida en el reactor. El agua residual circula a través del lecho, generalmente en flujo ascendente, favoreciendo el contacto con la biomasa adherida. Además del crecimiento sobre el soporte, es posible la acumulación de biomasa en los intersticios del material de relleno e incluso la presencia de flóculos en suspensión, contribuyendo a incrementar la capacidad de tratamiento del sistema (Metcalf y Eddy, 2001; Guerrero *et al.*, 2017).

2.6.1. Reactor secuencial por lotes (SBR)

El Sequencing Batch Reactor (SBR) es un sistema biológico de operación discontinua cuyo funcionamiento se basa en la ejecución secuencial de las distintas etapas del tratamiento dentro de un único reactor. Al igual que en los sistemas convencionales de lodos activados, en este tipo de reactores se desarrollan procesos de aireación, reacción biológica, sedimentación y separación del efluente. Sin embargo, a diferencia de los sistemas de flujo continuo, donde cada proceso se lleva a cabo en unidades independientes, en un reactor SBR todas las operaciones se realizan de manera sucesiva en el mismo estanque, lo que simplifica el diseño de la instalación y proporciona una mayor flexibilidad operacional (Metcalf y Eddy, 2001).

Como se muestra en la Figura 19, un ciclo típico de operación comprende cinco etapas consecutivas: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y una fase inactiva o de espera. La duración de cada una de ellas puede ajustarse en función de las características del afluente y de los objetivos del tratamiento (Metcalf y Eddy, 2001).

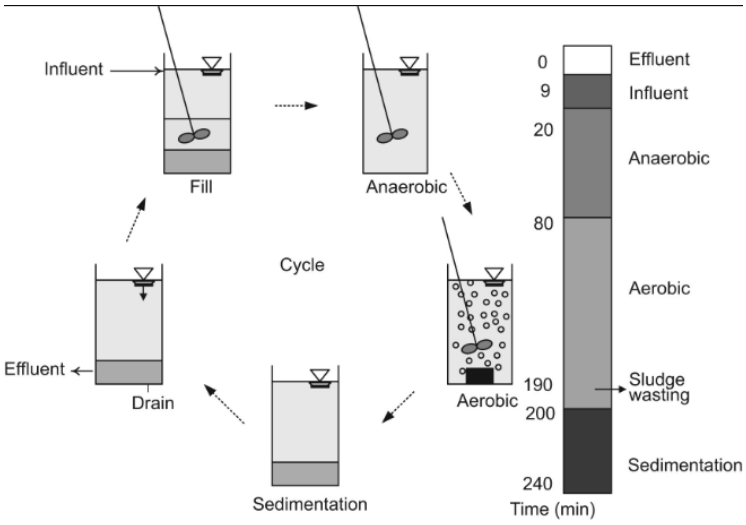


Figura 19: Secuencia de operación en reactor SBR. Fuente: (Tauseef et al., 2013)

1. Llenado: corresponde a la incorporación del agua residual al reactor hasta alcanzar el volumen de operación establecido. Dependiendo de la estrategia de control, esta etapa puede desarrollarse con o sin agitación y, en algunos casos, bajo condiciones anóxicas o anaerobias. Generalmente representa cerca del 25 % del tiempo total del ciclo.

2. Reacción: durante esta fase se llevan a cabo los procesos biológicos responsables de la remoción de contaminantes. La operación puede realizarse bajo condiciones aerobias, mediante suministro de oxígeno, o alternar con períodos anóxicos o anaerobios, favoreciendo procesos como la nitrificación y la desnitrificación.

Habitualmente, esta etapa corresponde aproximadamente al 35 % del tiempo de operación del ciclo.

3. Sedimentación: una vez finalizada la reacción biológica, cesan la aireación y la agitación para permitir la decantación de los sólidos biológicos. Al desarrollarse en ausencia de perturbaciones hidráulicas, la separación entre la biomasa y el efluente suele ser más eficiente que en los sistemas continuos de lodos (Metcalf y Eddy, 2001).

4. Vaciado: consiste en la extracción del sobrenadante clarificado sin alterar el manto de lodos sedimentado. La duración de esta etapa depende de factores como el volumen útil del reactor, el caudal de descarga y la calidad del efluente requerida, pudiendo representar entre un 20 % y un 50 % del tiempo total del ciclo.

5. Fase inactiva: corresponde al intervalo comprendido entre el término del vaciado y el inicio de un nuevo ciclo. En reactores únicos, este período puede aprovecharse para realizar la purga de lodos excedentes o tareas de operación y mantenimiento. En configuraciones con múltiples reactores, esta etapa permite sincronizar los ciclos de funcionamiento entre las distintas unidades. No obstante, dependiendo de la estrategia operacional implementada, esta fase puede reducirse o incluso eliminarse (Metcalf y Eddy, 2001).

Debido a la variabilidad que puede tener el proceso en la industria, y la existencia de la purga de lodos, el tiempo de operación del ciclo se define como en la Ecuación 14:

Ecuación 12

$$T_{Ciclo} = T_{carga} + T_{reacción} + T_{sedimentación} + T_{descarga}$$

La operación secuencial de los reactores SBR les confiere una serie de ventajas operacionales frente a los sistemas convencionales de lodos activados. Entre las principales ventajas de esta configuración se encuentran (Tantak *et al.*, 2014):

- La posibilidad de regular la estrategia de alimentación y la intensidad de aireación, lo que contribuye a controlar el crecimiento de bacterias filamentosas responsables del incremento del volumen de lodos. Asimismo, estas condiciones favorecen la respiración endógena de la biomasa, promoviendo el consumo del sustrato remanente y mejorando procesos como la nitrificación, la desnitrificación y la remoción biológica de fósforo.

- La capacidad de desarrollar procesos de nitrificación y desnitrificación dentro de un mismo reactor mediante la alternancia de períodos con y sin aireación, evitando la necesidad de disponer de unidades independientes para cada etapa del tratamiento.

- Una elevada resistencia frente a variaciones bruscas en la carga hidráulica y orgánica del afluente, permitiendo mantener un funcionamiento estable incluso bajo condiciones de operación fluctuantes.
- La integración de las funciones de ecualización, reacción biológica y sedimentación en una sola unidad, eliminando la necesidad de incorporar estanques de ecualización y clarificadores secundarios independientes. Esta configuración simplifica el diseño del sistema y reduce el flujo de sólidos asociado a la etapa de clarificación respecto de los procesos convencionales.
- La posibilidad de remover nutrientes biológicamente sin requerir la adición de reactivos químicos, ya que la secuencia de operación permite controlar de manera precisa el suministro de oxígeno y las condiciones aerobias, anóxicas o anaerobias necesarias para favorecer los distintos procesos microbiológicos involucrados (Tantak *et al.*, 2014).

2.6.2. Reactor de biopelícula por lotes secuenciales (SBBR)

El Secuencing Batch Biofilm Reactor (SBBR) es una variable de los reactores SBR, que combina los beneficios de la biomasa suspendida con la biomasa adherida, la cual está presente en soportes inertes, como la zeolita. La configuración se puede apreciar en la Figura 20, y al contar con biomasa adherida y suspendida, permite mejorar la eficiencia de retención de biomasa, además de brindar mayor estabilidad operativa en el interior del reactor ante posibles fluctuaciones del afluente.

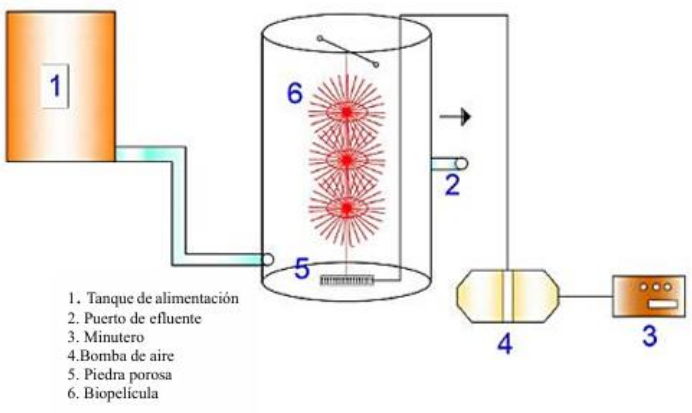


Figura 20: Configuración de operación en reactor SBBR. Fuente: (Rekabi et al., 2021)

Los reactores SBBR suelen diseñarse con una relación largo/ancho cercana a 1,5:1, configuración que favorece una distribución uniforme de los portadores sobre los cuales se desarrolla la biopelícula. En comparación con los sistemas convencionales de lodos activados, esta tecnología ofrece diversas ventajas operacionales,

alcanzando eficiencias similares en la remoción de materia orgánica y en los procesos de nitrificación y desnitrificación, pero utilizando un menor volumen de reactor. Esta característica se debe tanto a la elevada concentración de biomasa que puede mantenerse mediante el crecimiento adherido sobre los soportes como a la operación secuencial del sistema, que integra las etapas de reacción biológica, sedimentación y clarificación dentro de una misma unidad. Asimismo, la coexistencia de biomasa suspendida y biomasa adherida incrementa la estabilidad del proceso y favorece una mayor capacidad de remoción de nitrógeno, incluso frente a variaciones en la carga orgánica e hidráulica del afluente (Lewandowski y Boltz, 2011).

2.7. Parámetros de operación y control de reactores

Para regular las condiciones de operación de forma en que se pueda controlar los reactores y las reacciones asociadas, se cuenta con distintos parámetros que están relacionados con la velocidad de crecimiento, la actividad metabólica de los microorganismos, la disponibilidad de nutrientes y el grado de acidez o alcalinidad de los reactores. En base a esto es que se fijaron valores de los parámetros de operación según los requerimientos específicos de la reacción de nitrificación y desnitrificación.

2.7.1. Temperatura

Como se ha mencionado previamente, la temperatura es un parámetro de control fundamental, que es clave en la velocidad de crecimiento de los microorganismos del sistema. En el arreglo de laboratorio se cuenta con un calefactor de aire eléctrico y un controlador que mantienen la temperatura del ambiente fijada a 40,0 [°C], asumiendo una temperatura interna del reactor de 30,0 [°C] por las posibles pérdidas y transferencias de calor. Esta temperatura se encuentra dentro del rango óptimo de entre 25 y 30 [°C] para favorecer el crecimiento de las bacterias amonio oxidantes, y por consiguiente la nitrificación parcial (Campos *et al.*, 2009).

2.7.2. Potencial de hidrógeno (pH)

El potencial de hidrogeno permite determinar el grado de acidez o alcalinidad del reactor, según los iones hidronio (H^+) o hidroxilo (OH^-), respectivamente. Este parámetro de control está relacionado con la relación de NH_4^+/NH_3 y NO_2^-/HNO_2 y mediante la concentración de amoniaco libre y óxido nitroso libre permite favorecer la nitrificación parcial (Ge *et al.*, 2015).

El rango de operación de pH recomendable es entre 7 y 8 de modo en que se inhibe la actividad de las Nitrobacter, según lo que se puede apreciar en la Figura 21. Además, este rango es el recomendable para las bacterias encargadas de desnitrificación autótrofa.

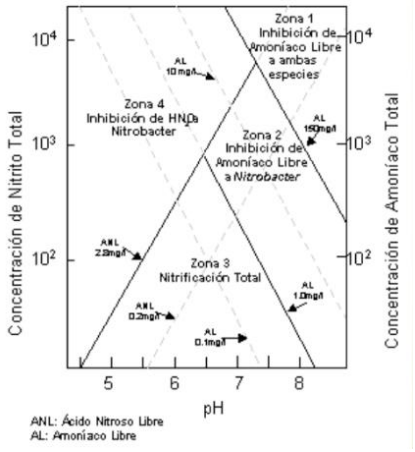


Figura 21: Concentraciones de FA y FNA según pH. Fuente: (Guerrero, 2023)

Para el arreglo de laboratorio se utiliza una solución tampón de fosfato y bicarbonato, manteniendo cada reactor en un rango entre 7 y 8 de pH.

2.7.3. Oxígeno disuelto (OD)

El oxígeno disuelto (OD) constituye uno de los principales parámetros de operación en los procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación, ya que regula la actividad metabólica y el crecimiento de las comunidades microbianas responsables de la eliminación del nitrógeno. En la etapa de nitrificación se recomiendan concentraciones de oxígeno disuelto entre 1 y 3 [mg O_2/L], rango que permite mantener una adecuada actividad de las bacterias nitrificantes sin que el oxígeno constituya un factor limitante (Campos *et al.*, 2009; Metcalf y Eddy, 2001). En contraste, durante la desnitrificación se requieren condiciones anóxicas, manteniendo concentraciones de oxígeno disuelto inferiores a 0,2 [mg O_2/L], de modo que el nitrato actúe como el principal aceptor de electrones (Metcalf y Eddy, 2001)

Además de regular la velocidad de nitrificación, el oxígeno disuelto influye en la competencia entre las BAO y BNO. Debido a que las BAO presentan una mayor afinidad por el oxígeno, son capaces de mantener elevadas tasas de crecimiento incluso a bajas concentraciones de OD. En cambio, las BNO requieren mayores concentraciones de oxígeno para alcanzar velocidades de crecimiento similares. Por esta razón, operar con concentraciones moderadamente bajas de oxígeno disuelto favorece la actividad de las BAO e inhibe selectivamente a las BNO, promoviendo la acumulación de nitrito y, con ello, la nitrificación parcial (Ge *et al.*, 2015).

En sistemas donde la nitrificación y la desnitrificación ocurren de manera simultánea, concentraciones de oxígeno disuelto cercanas a 0,5 [mg O_2/L] favorecen el desarrollo conjunto de ambos procesos, al permitir la coexistencia de zonas

aerobias y anóxicas dentro de los flóculos o biopelículas microbianas (Münch *et al.*, 1996). Desde un punto de vista estequiométrico, la oxidación completa del nitrógeno amoniacal hasta nitrato requiere aproximadamente 4,57 [g O_2/ g de N-NH_4^+], valor que representa la demanda teórica de oxígeno del proceso de nitrificación (Knobelsdorf, 2005; Mohan *et al.*, 2016).

Para el desarrollo experimental, durante la etapa de nitrificación los reactores se operaron con concentraciones de oxígeno disuelto entre 1 y 3 [mg O_2/L], valor determinado por la capacidad del sistema de aireación disponible en el laboratorio y suficiente para asegurar que el oxígeno no constituyera un factor limitante para la oxidación del amonio. Posteriormente, durante la etapa de desnitrificación, el suministro de aire fue suspendido, manteniendo concentraciones de oxígeno disuelto inferiores a 0,2 [mg O_2/L], con el propósito de garantizar condiciones anóxicas que favorecieran la actividad de las bacterias desnitrificantes y el desarrollo de la desnitrificación mixotrófica.

2.7.4. Razón de Azufre y Nitrógeno (S/N)

La razón del azufre con el nitrógeno es uno de los principales parámetros de diseño y operación, y tiene directa relación con la desnitrificación autótrofa, en donde, la razón S/N representa la disponibilidad de azufre inorgánico como donador de electrones por cada unidad de nitrógeno oxidado, para la reducción biológica de los nitritos y nitratos. Este parámetro tiene influencia en la eliminación de sulfuro, la velocidad de desnitrificación, la acumulación de azufre elemental y la estabilidad operacional (Dolejs et al., 2014), representando si es que existen electrones suficientes para completar la desnitrificación. No obstante, a niveles muy elevados de S/N se puede producir reducción disimilatoria del nitrato hacia amonio (DNRA), que consiste en la reducción preferente del nitrato (NO_3^-) al ion amonio (NH_4^+) ante el nitrógeno gas (N_2), a causa de que algunas bacterias encuentran enérgicamente más favorable conservar el nitrógeno en forma de NH_4^+ en lugar de liberarlo como N_2 (Dolejs et al., 2014).

Para efectos del laboratorio se utiliza alimentación sintética en la desnitrificación mixotrófica a partir de los niveles de nitrito y nitrato con una razón de S/N de 1,5 [mol/mol], valor que se encuentra en el rango inferior a 2,8 para no inhibir la desnitrificación autótrofa y cercana a los requerimientos estequiométricos (Dolejs *et al.*, 2014).

2.7.5. Razón de Carbono y Nitrógeno (C/N)

La relación carbono/nitrógeno (C/N) constituye uno de los principales parámetros operacionales en los procesos biológicos de desnitrificación, ya que determina la disponibilidad de materia orgánica como fuente de carbono para la síntesis celular y como donador de electrones durante la reducción de nitrato y nitrito hasta nitrógeno gaseoso. En consecuencia, este parámetro influye directamente sobre la velocidad de desnitrificación, la actividad metabólica de la biomasa y la eficiencia global de eliminación de nitrógeno (Fu *et al.*, 2022).

Cuando la relación C/N es insuficiente, la disponibilidad de carbono biodegradable limita el crecimiento de las bacterias desnitrificantes heterótrofas, disminuyendo la velocidad de reducción de nitrato y favoreciendo la acumulación de especies nitrogenadas oxidadas en el efluente. En contraste, un exceso de carbono promueve un mayor crecimiento microbiano, incrementando la producción de lodos y el consumo de fuentes externas de carbono, sin generar mejoras significativas en la eficiencia de remoción de nitrógeno una vez satisfecha la demanda estequiométrica del proceso (Fu *et al.*, 2022).

Los procesos de desnitrificación mixotrófica presentan un desempeño favorable en efluentes con relaciones C/N comprendidas aproximadamente entre 1 y 3, intervalo en el cual ambas rutas metabólicas contribuyen de manera complementaria a la remoción de nitrógeno. Para efectos del laboratorio se utiliza una relación C/N de 2, ya que permite mantener una actividad heterótrofa suficiente para favorecer el arranque y la estabilidad del proceso, al mismo tiempo que promueve la participación de bacterias desnitrificantes autótrofas oxidantes de azufre, reduciendo la necesidad de incorporar carbono externo y limitando la producción de lodos (Fu *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023; Zhou y Wang, 2024).

2.7.6. Tiempo de retención hidráulico (TRH)

El tiempo de residencia hidráulico (TRH) corresponde al tiempo promedio que permanece el agua residual dentro de un reactor biológico y constituye uno de los principales parámetros de diseño y operación en los procesos de tratamiento de aguas residuales. Este parámetro determina el tiempo disponible para que los microorganismos entren en contacto con el sustrato y desarrollen las transformaciones biológicas responsables de la eliminación de los contaminantes presentes en el afluente. Para reactores de operación continua, el TRH se define como la relación entre el volumen útil del reactor y el caudal de alimentación según la Ecuación 15 (Metcalf y Eddy, 2001):

Ecuación 13

$$TRH = \frac{V}{Q}$$

En donde:

- TRH: tiempo de residencia hidráulico [d]
- V: volumen útil del reactor [L]
- Q: caudal de alimentación [L/d]

En reactores SBR, el afluente es incorporado únicamente durante la etapa de llenado, por lo que no existe un caudal continuo de alimentación. En estos sistemas, el caudal medio puede expresarse como la razón entre el volumen alimentado por ciclo y la duración total del mismo. Considerando que el tiempo de ciclo (T_c) corresponde a la suma de las etapas del ciclo *batch*, calculado mediante la Ecuación 14 de la sección 2.6.1, la expresión clásica del TRH puede adaptarse según la Ecuación 16 (Huiliñir *et al.*, 2020):

Ecuación 14

$$TRH = \frac{T_c}{V_F} \cdot V_T$$

En donde:

- T_c: duración total del ciclo [d]
- V_T: volumen efectivo del reactor [L]
- V_F: volumen de afluente alimentado al reactor por ciclo [L]

La selección del tiempo de residencia hidráulico influye directamente sobre la eficiencia de los procesos de nitrificación y desnitrificación, ya que determina el tiempo de contacto entre los microorganismos y los compuestos nitrogenados presentes en el afluente. Para efectos del laboratorio, se utiliza un tiempo de residencia hidráulico de un día para la etapa de nitrificación y un día para la etapa de desnitrificación, permitiendo evaluar ambos procesos de forma independiente bajo condiciones controladas.

2.8. Actividad microbiana (Test ADA y ADH)

La actividad microbiana corresponde a la capacidad metabólica de una comunidad de microorganismos para llevar a cabo las transformaciones biológicas propias de un determinado proceso. En sistemas de desnitrificación, esta actividad puede evaluarse mediante ensayos de actividad desnitrificante, los cuales permiten cuantificar el potencial metabólico de las bacterias responsables de la reducción de nitrato y nitrito presentes en el reactor. Generalmente, estos ensayos se desarrollan en modo *batch* utilizando medios sintéticos formulados para favorecer selectivamente el crecimiento de distintos grupos microbianos. En este contexto, es posible emplear una alimentación con compuestos reducidos de azufre para determinar la Actividad Desnitrificante Autótrofa (ADA) y otra con una fuente de carbono orgánico para evaluar la Actividad Desnitrificante Heterótrofa (ADH).

La determinación de la actividad desnitrificante se basa en la cuantificación del nitrógeno gaseoso (N_2) generado durante la reducción biológica de nitrato o nitrito. En sistemas cerrados, la producción de este gas provoca un incremento de la presión interna del reactor, permitiendo estimar indirectamente la velocidad de desnitrificación y, por consiguiente, la actividad metabólica de la biomasa presente (Dapena *et al.*, 2007).

3. Metodología y materiales

3.1. Etapas de Puesta en marcha y operación

Esta memoria abarca la puesta en marcha y operación estable de dos reactores secuenciales por lotes (SBR), configurados en el laboratorio para contrastar el comportamiento de un reactor sin medio de soporte (RC) con un reactor con zeolita chilena como medio de soporte (RZ) y su desempeño en nitrificación total y parcial. La puesta en marcha de los reactores inicia con un enriquecimiento de la población de bacterias nitrificantes establecido previamente hacia nitrificación total (Etapa I) y considera los ciclos hasta una operación estable del proceso en nitrificación parcial (Etapa II). Para analizar los procesos biológicos en cada reactor se lleva registro de parámetros de control como temperatura, pH, oxígeno disuelto, carbono orgánico total y concentración de compuestos nitrogenados y azufrados.

3.1.1. Configuración de reactores

Los reactores utilizados corresponden a recipientes de acrílico transparente, con un volumen efectivo de 1,5 [L], cuyas características y especificaciones se presentan en la Figura 22. Estos fueron rediseñados respecto de botellas de color ámbar utilizadas previamente en el laboratorio, con el propósito de mejorar el sistema de aireación y facilitar el control de las condiciones de oxígeno disuelto durante la operación. Cada reactor dispone de las conexiones de “Salida” y “Purga”, destinadas a la extracción del líquido sobrenadante después de la etapa de sedimentación y a la purga de lodos, respectivamente, cuando esta sea requerida. Asimismo, cuentan con una conexión para la salida de gases y cuatro conexiones destinadas a la instalación de difusores cerámicos porosos de aire, alimentados mediante una bomba de acuario. Este sistema permite mantener concentraciones de oxígeno disuelto entre 1 y 3 [mg O_2/L] durante la etapa de nitrificación, de acuerdo con las condiciones de operación establecidas en la sección 2.7.3 de la presente memoria.

En la parte superior de cada reactor se disponen tres aperturas. Dos de ellas presentan el mismo diámetro: una se encuentra ubicada en el centro del reactor y está destinada a la instalación de un agitador mecánico, operado a una velocidad de 90–100 [rpm], con el propósito de favorecer la homogenización del licor y mejorar el contacto entre la biomasa y el sustrato durante la disminución de la concentración de oxígeno disuelto en la etapa de nitrificación y durante la desnitrificación. La segunda apertura se encuentra ubicada hacia el borde del reactor y permite la instalación de un embudo para la incorporación del sustrato durante las distintas etapas de operación. Finalmente, la apertura de mayor diámetro se encuentra destinada a mantener fijo el sensor de medición de oxígeno disuelto, permitiendo su

posicionamiento en la parte superior del reactor durante el seguimiento de las condiciones de operación.

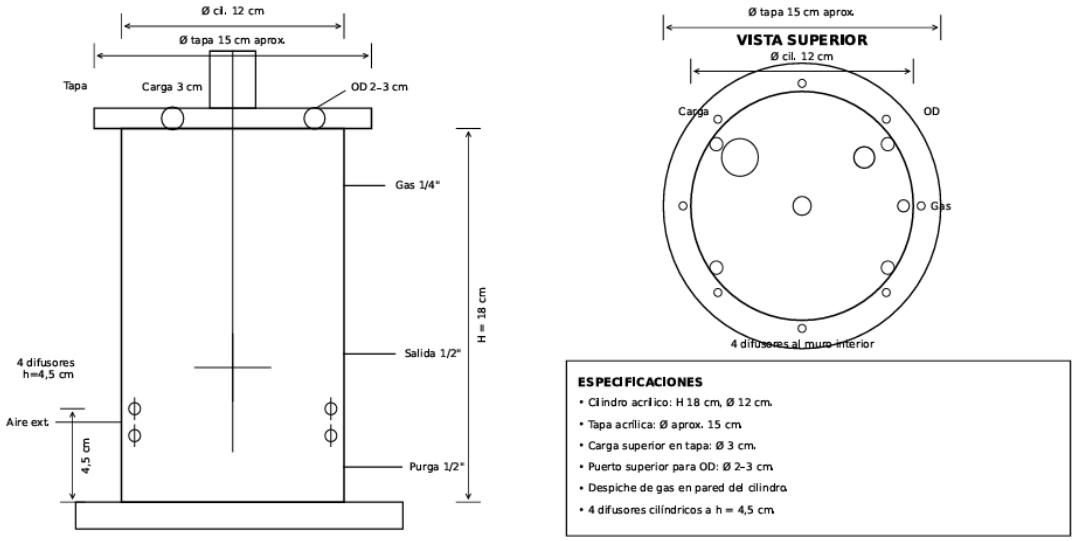


Figura 22: Esquema técnico de reactores. Fuente: Elaboración propia

Los reactores se encuentran aislados en una cámara recubierta de poliestireno expandido a temperatura constante de 40 [°C], como se define en el punto 2.7.1. En la Figura 23 se aprecia el montaje de los reactores, en donde, a la izquierda se tiene al reactor de control (RC) y a la derecha al reactor con zeolita (RZ). Ambos reactores fueron recubiertos con aluminio para disminuir su exposición a la radiación solar, debido a que la irradiancia puede afectar la actividad bacteriana y modificar los procesos asociados al ciclo del nitrógeno en sistemas acuáticos (Niels O.G. Jorgensen, 1998). Además, la exposición a intensidades elevadas de luz puede generar efectos inhibitorios sobre las bacterias nitrificantes, siendo las BNO particularmente sensibles a este efecto (Vergara *et al.*, 2016).



Figura 23: Arreglo de reactores en laboratorio.

3.1.2. Inóculo

Los reactores fueron inoculados con 550 [mL] de una mezcla de lodos cada uno. La mezcla contiene 50 [mL] de lodo nitrificante usado previamente en el laboratorio en reactores de nitrificación-desnitrificación con y sin zeolita, enriquecidos para su funcionamiento mediante nitrificación total y con la condición de sólidos suspendidos totales (SSV) indicada en la Tabla 2.

Tabla 2: Concentración de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en lodo nitrificante anterior.

Origen	SSV RC	SSV RZ
Lodo nitrificante anterior (Nit. Total)	20.512 [mg/L]	20.522 [mg/L]

Los 500 [mL] restantes inoculados son una mezcla compuesta de lodos provenientes de la industria, en base a una proporción 70/30 [v/v] de lodo nitrificante y desnitrificante, respectivamente. En donde, 150 [mL] son de lodo desnitrificante proveniente de una laguna anaerobia de la empresa agrícola AASA y 350 [mL] son una mezcla de lodos nitrificantes. La mezcla nitrificante está conformada por una combinación de igual proporción (175 [mL] c/u) entre un lodo proveniente de efluentes de la empresa Sopraval y de una planta de tratamiento de aguas de Esval. En la Tabla 3 se puede apreciar la concentración de sólidos suspendidos volátiles y los promedios correspondientes de cada lodo.

Tabla 3: Concentración de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en la mezcla de lodos nitrificante y desnitrificante.

Tipo de lodo	Origen	SSV [mg/L]	Promedio SSV [mg/L]
Nitrificante	Esval	14.426	23.663[1]
	Sopraval	32.900	
Desnitrificante	AASA	20.716	20.716
Concentración mezcla total (70/30 v/v Nit. /Des.)			22.779

[1] Se calcula el promedio en proporciones volumétricas iguales entre lodo de Esval y Sopraval.

3.1.3. Zeolita

La zeolita utilizada para la operación proviene de la Región del Maule, según las características de la Tabla 4. Para su utilización en el reactor primero se realiza un tamizado para obtener tamaño de partícula de 1 [mm] y luego se requiere de un proceso de secado, que se realiza mediante una estufa a 105 [°C] por 48 horas.

Tabla 4: Características de la zeolita usada. Fuente: (ZeoMaule, 2025)

Identificación del producto	
Nombre	Zeolita natural
Marca registrada	Fertosa
Descripción	Zeolita natural Clinoptilolita – Mordenita granulada
Nombre químico	Aluminosilicato cálcico potásico magnésico hidratado
Características mineralógicas	
Componente principal de la zeolita	Clinoptilolita - Mordenita
Otros componentes	Plagioclasa, Esmectita y Cuarzo
Color	Marfil
Características fisicoquímicas	
Composición química	SiO_2: 64,19 % TiO_2: 0,51 % Al_2O_3: 11,65 % Fe_2O_3: 2,53 % MnO: 0,03 % MgO: 0,66 % CaO: 3,42 % Na_2O: 0,75 % K_2O: 1,60 % P_2O_5: 0,03 % Cl: 14,64 %
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	86,82 a 112,88 [cmol/kg]
Superficie específica (método BET)	446 a 480 [m^2/g]
Estabilidad térmica	< 450 [°C]
Estabilidad química (pH)	8,9

Para la puesta en marcha del reactor con medio de soporte (RZ) se consideró la adición de zeolita en base a los sólidos suspendidos volátiles de la mezcla de lodos, ya que representa la biomasa suspendida en el reactor disponible para adherirse al medio de soporte. Análogamente, el inóculo de lodo del año 2025 ya contenía zeolita según una proporción de 15 [g de zeolita/g SSV], por lo que, para el cálculo de la

cantidad de zeolita a añadir a RZ, sólo se consideró los SSV de la mezcla nitrificante nueva manteniendo la proporción ya utilizada. En base a esta relación y los SSV de la Tabla 2 del punto 3.1.2, se tiene que el inóculo de lodo del año 2025 contiene 15,4 [g] de zeolita, por lo que fue necesario añadir aproximadamente 150 [g] de zeolita a la mezcla de RZ.

3.1.4. Sustrato

Para la operación de los reactores se utilizó alimentación sintética, la cual fue preparada en laboratorio para reproducir las características típicas de la industria (Bellenger, 2023). Para la nitrificación se diseñó la alimentación simulando la concentración del sobrenadante de un digestor anaerobio, asumiendo que el RIL proviene de tratamiento primario y secundario. Los compuestos y concentraciones respectivas se presentan en la Tabla 5:

Tabla 5: Composición alimentación sintética nitrificación. Fuente: Modificado de (Bellenger, 2023)

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
Cloruro de amonio	NH_4Cl	0,200
Bicarbonato de sodio	$NaHCO_3$	0,614
Fosfato dipotásico	K_2HPO_4	11,952
Fosfato monopotásico	KH_2PO_4	4,278
Cloruro de sodio	NaCl	0,200
Sulfato de magnesio	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,024

Los compuestos de fosfato son agregados en base a la ecuación Henderson-Hasselbalch del punto A del Anexo, que permite obtener las concentraciones de un ácido y su base conjugada para formar la solución tampón fosfato que regula el pH. Por otro lado, con el propósito de representar de manera más cercana las características de un efluente proveniente de una industria salmonera, se modificó la composición de la alimentación sintética utilizada en la presente memoria, eliminando la adición de sulfato de magnesio y disminuyendo la concentración de cloruro de sodio incorporada. Además, para asegurar el desarrollo correcto de las rutas metabólicas se añade bicarbonato en base a la proporción estequiométrica de la reacción global de nitrificación y 1 [mL] de una solución de micronutrientes compuesta según la Tabla 6:

Tabla 6: Composición solución micronutrientes nitrificación. Fuente: Modificado de (Bellenger, 2023)

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
Cloruro de calcio	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	5,5
Cloruro de cobalto	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	1,6
Cloruro de magnesio	$MgCl_2 \cdot 5H_2O$	5,0
Cloruro de manganeso	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	5,0

Cloruro férrico	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	5,0
EDTA	C10H16N2O8	5,0
Molibdato de amonio	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	1,1
Sulfato de cobre	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1,5

Durante la etapa de desnitrificación, se consideran las concentraciones de nitrato y nitrito obtenidas al finalizar la fase aerobia, debido a que estos compuestos constituyen los principales sustratos disponibles para el desarrollo del proceso desnitrificante. A partir de las concentraciones de nitrato y nitrito, expresadas como nitrógeno, se determina la cantidad de acetato de potasio y sulfuro de sodio requerida para la alimentación como en la Tabla 7, considerando relaciones C/N y S/N de 2 y 1,5, respectivamente. Para la dosificación de sulfuro de sodio se contempla, además, un 70 % adicional respecto de la cantidad teórica calculada, con el propósito de compensar la pureza del reactivo y las posibles pérdidas de sulfuro asociadas a su preparación y manipulación. Además, al igual que en la etapa de nitrificación, se añade 1 [mL] de solución de micronutrientes compuesta según la Tabla 8 para favorecer la actividad metabólica de las bacterias desnitrificantes.

Tabla 7: Composición alimentación sintética desnitrificación. Fuente: Modificado de (Palacios, 2023)

Compuesto	**Fórmula**	**Concentración [g/L]**
Acetato de potasio	CH_3CO_2K	Variable
Sulfuro de sodio	Na_2S	Variable
Bicarbonato de sodio	$NaHCO_3$	1,5
Fosfato dipotásico	K_2HPO_4	2,3
Fosfato monopotásico	$KHPO_4$	5,75

Tabla 8: Composición solución micronutrientes desnitrificación. Fuente: Modificado de (Palacios, 2023)

Compuesto	**Fórmula**	**Concentración [g/L]**
Molibdato de sodio dihidratado	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	2,0
Sulfato ferroso (I) heptahidratado	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	30
Cloruro de zinc	$ZnCl_2$	1,0
Carbonato de calcio	$CaCO_3$	2,0
Tetrahidrato de cloruro de magnesio (II)	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1,5
Sulfato de cobre (II) pentahidratado	$CuCSO_4 \cdot 5H_2O$	0,25
Cloruro de cobalto hexahidratado	$CoCl \cdot 6H_2O$	0,25
Ácido clorhídrico	HCl (37%)	50

Cloruro de níquel (II) hexahidratado	$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	0,25
Ácido bórico	H_3BO_3	0,25

3.2. Estrategias de operación

El sistema consiste en la operación de nitrificación-desnitrificación, considerando desnitrificación mixotrófica, y una etapa inicial de nitrificación total seguida de una de nitrificación parcial. El proceso de laboratorio se dividió en dos etapas: una fase inicial de puesta en marcha que considera la adaptación de los microorganismos de nitrificación total, seguido de una etapa de estabilización en nitrificación parcial. Este proceso se realizó adaptando los parámetros de operación favoreciendo la transición desde nitrificación total a parcial, evaluando la diferencia de respuesta entre los sistemas y su relación con la eficiencia de remoción de los compuestos azufrados y nitrogenados.

Para alcanzar los objetivos planteados, los reactores fueron operados durante un período de 83 días, equivalente a 41 ciclos, considerando un TRH de 1 día para cada etapa del proceso según la Tabla 9:

Tabla 9: Distribución de tiempo de operación en procesos de nitrificación y desnitrificación

Etapa	**Tiempo [h]**
Nitrificación	
Llenado	0,25
Reacción (Nit.)	12
Caída de OD	10
Sedimentación	0,5
Vaciado	0,25
Desnitrificación	
Llenado	0,25
Reacción (Des.)	24
Sedimentación	0,5
Vaciado	0,25
Duración total del ciclo	48
TRH total [d]	
2	

En cada ciclo, los reactores fueron alimentados con 1 [L] de solución sintética para la etapa de nitrificación, cuya composición y concentración de micronutrientes se presentan en las Tablas 5 y 6 del punto 3.1.4, respectivamente. Posteriormente, se permitió el desarrollo de la reacción durante el tiempo establecido, seguido de las

etapas de sedimentación y vaciado. Una vez finalizada la etapa de nitrificación, se obtuvo una muestra del efluente para determinar las concentraciones de nitrito y nitrato, expresadas como nitrógeno. A partir de estos resultados se calcularon las cantidades de sulfuro de sodio y acetato de potasio requeridas para la etapa de desnitrificación, considerando las relaciones S/N y C/N establecidas previamente en los puntos 2.7.4 y 2.7.5, respectivamente. La alimentación desnitrificante se preparó incorporando los componentes indicados en la Tabla 7 del punto 3.1.4, junto con los micronutrientes correspondientes, y se completó con agua hasta alcanzar un volumen total de 1 [L].

Durante la etapa de nitrificación se mantuvo la aireación con el propósito de favorecer la oxidación de los compuestos nitrogenados. Asimismo, durante la etapa de disminución del oxígeno disuelto (caída de OD), se activó el agitador mecánico con el objetivo de mantener homogéneo el licor de mezcla y favorecer el contacto entre la biomasa y el sustrato. En la etapa de desnitrificación, la agitación mecánica se mantuvo durante todo el período de reacción, permitiendo una adecuada distribución de los sustratos y facilitando su contacto con la biomasa suspendida y adherida al soporte, según correspondiera a cada configuración del reactor.

La temperatura en los reactores se mantuvo por sobre los 30 [°C] según lo descrito en el punto 2.7.1. durante las dos etapas de trabajo en laboratorio, con el objetivo de que durante la primera etapa las BNO se comenzaran a inhibir adaptando el lodo desde una nitrificación total, y posteriormente lograr mantener la estabilización en nitrificación parcial. Asimismo, se regula el pH con solución tampón fosfato para mantener un ambiente ligeramente básico con valores promedio de 7,5 durante las dos etapas. Este rango de operación de pH permitió trabajar los reactores en la Zona 2 del gráfico de la Figura 21 del punto 2.7.2. (Guerrero, 2023), requiriendo menores concentraciones de amoniaco libre (FA) para inhibir a las BNO.

3.2.1. Estrategia nitrificación total

Esta etapa considera la puesta en marcha del reactor y la adaptación de los microorganismos para la posterior transición a nitrificación parcial en un total de 33 días (16 ciclos), con el objetivo de evaluar la eficiencia de remoción de compuestos nitrogenados y azufrados. Para lograr este objetivo se modificaron los parámetros de operación permitiendo inhibir de manera selectiva las bacterias nitrificantes sin afectar la actividad de las bacterias desnitrificantes de la mezcla. Luego de la caracterización de lodos y la adición de zeolita al reactor correspondiente, se operaron los reactores en las condiciones de temperatura, pH y OD que favorecieran la cinética de las BAO e inhibiera la de las BNO, ya que, al contar con lodos previamente enriquecidos hacia la ruta metabólica de nitrificación total, fue necesario adaptar la mezcla cuidando además no afectar la actividad de las bacterias anaerobias de la desnitrificación durante el ciclo de nitrificación.

Como se menciona en el punto 2.7.3 el nivel de OD puede ser un factor definitorio con respecto a la actividad de las bacterias tanto en la nitrificación, como en la desnitrificación, participando además en la inhibición selectiva de las bacterias nitrificantes. Debido a las limitaciones del arreglo de laboratorio, los niveles de OD marcados en el sensor utilizado son superiores a los reales del interior del reactor, no obstante, las mediciones permitieron representar la tendencia de oxígeno disuelto al interior de los reactores. En base a esto, durante la etapa de nitrificación total se fijó la aireación de los reactores para marcar niveles de 6 [mg O_2/L], lo que equivale a mantener los reactores en concentraciones de oxígeno disuelto entre 0,5-1,5 [mg O_2/L], rango que afecta preferentemente la actividad de las BNO, favoreciendo la acumulación de nitrito y evitando su posterior oxidación. Análogamente, en el periodo de caída de OD se conservó los ajustes para que el OD disminuyera hasta valores promedio de 0,5 [mg O_2/L], favoreciendo el ambiente anóxico para la desnitrificación posterior, en niveles de OD inferiores a 0,2 [mg O_2/L], de modo que el nitrato actúe como el principal aceptor de electrones. Como la mezcla de lodos ya venía con una cinética establecida, se operó con valores inferiores a los recomendados de OD para nitrificación total, con el objetivo de evolucionar a una nitrificación parcial, esto en base a la diferencia en la afinidad entre las BAO y BNO, tal como se puede confirmar con las constantes de afinidad presentes en la Figura 9 del punto 2.2.2. (Campos *et al.*, 2009). Por otro lado, se conservaron los ajustes en el periodo de caída de OD para disminuir a valores promedio que aseguraran una concentración que permita llegar hasta el límite esperado de la reacción en donde la actividad nitrificante es igual entre BAO y BNO.

3.2.2. Estrategia nitrificación parcial

Una vez finalizada la etapa de nitrificación total, se inició la etapa de nitrificación parcial hasta lograr la estabilización de los reactores en un total de 50 días (25 ciclos). Al igual que en la etapa anterior, el objetivo es contrastar el desempeño del reactor RC con el RZ analizando la implicancia del uso de soporte microbiano. Además, se buscó comparar la eficiencia de remoción entre ambas rutas metabólicas de la nitrificación.

Para esta etapa se mantuvo las condiciones de operación de los reactores de la etapa anterior. Con respecto a los parámetros de operación, se mantuvieron los TRH, pH y temperatura, debido a que son las condiciones que favorecen la nitrificación parcial. Por otro lado, se aumentaron los niveles de OD, ya que a pesar de que esta nitrificación requiere de menos OD que la de la etapa anterior, se estaba trabajando en el límite inferior del OD requerido para inhibir selectivamente las bacterias y mantener una actividad adecuada, en base a esto es que los valores marcados en el sensor se aumentaron a niveles de 8 [mg O_2/L], lo que equivale a valores de 1-3[mg O_2/L] al interior de los reactores, rango que permite mantener una adecuada

actividad de las bacterias nitrificantes sin que el oxígeno constituya un factor limitante.

3.2.3. Estrategia desnitrificación

La desnitrificación mixotrófica se llevó a cabo en los reactores RC y RZ durante las Etapas I y II, manteniendo las mismas condiciones operacionales en ambas etapas. Para ello, se utilizó la alimentación sintética que incorpora sulfuro de sodio y acetato de potasio, con el propósito de mantener las relaciones S/N y C/N establecidas en 1,5 y 2, respectivamente. Además, al igual que para la nitrificación, se agregó solución tampón de fosfato para amortiguar las variaciones de pH durante el proceso y mantener dentro del rango de entre 7 y 8.

Respecto al oxígeno disuelto (OD), se buscó mantener concentraciones inferiores a 0,2 [mg O_2/L] para favorecer las condiciones anóxicas requeridas para la desnitrificación. Sin embargo, este parámetro no se midió directamente durante esta etapa. Adicionalmente, se monitorearon las especies nitrogenadas y azufradas, el carbono orgánico total y el nitrógeno total para evaluar el desempeño del proceso en ambos sistemas.

3.2.4. Parámetros por controlar y mediciones

Durante la operación de los reactores se realizó el seguimiento de los principales parámetros de calidad en los afluentes y efluentes de cada ciclo, con el propósito de evaluar el desempeño de los procesos biológicos y la remoción de los contaminantes de interés. La frecuencia de monitoreo se estableció de acuerdo con el parámetro analizado y la etapa del proceso en la que este resulta relevante. En particular, los compuestos azufrados fueron determinados durante la etapa de desnitrificación, debido a su participación como sustratos en el proceso desnitrificante mixotrófico. Los métodos analíticos utilizados, junto con el objetivo y la frecuencia de medición de cada parámetro, se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10: Parámetros por controlar en la operación de reactores. Fuente: Elaboración propia

Parámetro	Analito	Método analítico	Objetivo	Frecuencia
Compuestos nitrogenados	NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-	Espectrofotometría	Eficiencia de la SND	Diaria
Sulfato	SO_4^{2-}	Espectrofotometría	Eficiencia de la desnitrificación	Diaria (sólo para desnitrificación)
Sulfuro	S^{2-}	Electrodo-Selectivo	Eficiencia de la desnitrificación	Diaria (sólo para desnitrificación)
Potencial de hidrógeno	pH	Electrodo-Selectivo	Control operacional	Diaria

Oxígeno disuelto	OD	Electrodo-Selectivo	Control operacional	Diaria (cada 10 minutos; sólo para nitrificación).
Sólidos suspendidos totales	SST	Gravimetría	Crecimiento microbiológico	Cada 7 días
Sólidos suspendidos volátiles	SSV	Gravimetría	Crecimiento microbiológico	Cada 7 días

Asimismo, los procedimientos de cálculo empleados para la determinación de los distintos parámetros se detallan en el *Anexo*, de acuerdo con los métodos establecidos en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2017).

Por otro lado, se realizó la medición de la actividad microbiana a la mezcla de lodos de cada reactor al final del proceso, mediante los ensayos de actividad desnitrificante autótrofa y heterótrofa con el fin de analizar el crecimiento microbiológico y comprobar que el proceso de desnitrificación funcionara siguiendo ambas rutas metabólicas. Para esto, se realizaron los ensayos ADA y ADH según los procedimientos descritos en el *Anexo*, midiendo con un electrodo selectivo (manómetro) el aumento de presión en los viales, lo que resulta equivalente a la generación de nitrógeno gaseoso por las bacterias desnitrificantes.

4. Resultados y discusiones

4.1. Nitrificación-Desnitrificación

4.1.1. Actividad nitrificante

La actividad nitrificante se operó acorde a las condiciones de operación para nitrificación parcial adaptando una mezcla de lodos previamente enriquecido para nitrificación total. En base al arreglo de laboratorio establecido se operó durante 33 días en nitrificación total (Etapa I) con condiciones que inhibieran la actividad de las BNO sin afectar la de las desnitrificantes, y posteriormente se operó durante 50 días los reactores en condiciones de operación para nitrificación parcial (Etapa II) buscando la estabilización de la actividad nitrificante y la desnitrificante mixótrófica. No obstante, el enriquecimiento previo afectó la concentración de compuestos nitrogenados de interés en los primeros ciclos, conteniendo remanentes en la mezcla de lodos de ambos reactores, por lo que para evitar alterar los resultados finales se descartó los valores de concentración y remoción del primer ciclo. Además, al día 25 de operación, hubo un problema al calibrar los sensores de OD y la bomba de aireación, por lo que se tuvo una aireación deficiente entre los días 25 y 50, aproximadamente. Por otro lado, en la puesta en marcha del reactor RZ se generó una emulsión de color grisáceo, conformada por material inorgánico propio de la zeolita y por proteínas, ADN extracelular y exopolisacáridos, derivados de la liberación de la biopelícula formada en la zeolita del lodo antiguo. Esta emulsión se generó debido a la falta de un periodo de adherencia en la puesta en marcha de RZ, y perduró durante 17 días (8 ciclos), hasta que se purgó completamente en los efluentes de la desnitrificación.

Para identificar el inicio de la Etapa II se analizó diariamente las concentraciones de nitrito y nitrato buscando que comenzara a disminuir la producción de nitrato y a aumentar la de nitrito. Para el análisis se realizaron los gráficos de la Figura 24 que muestran la distribución de nitrito y nitrato al final de la nitrificación en base al total de la concentración de nitrógeno oxidado para RC y RZ, respectivamente. A partir de estos se identificó que ya para el día 33 la distribución de nitrato había comenzado a disminuir y la de nitrito a aumentar en ambos reactores. En base a esto es que se inició la Etapa II de operación.

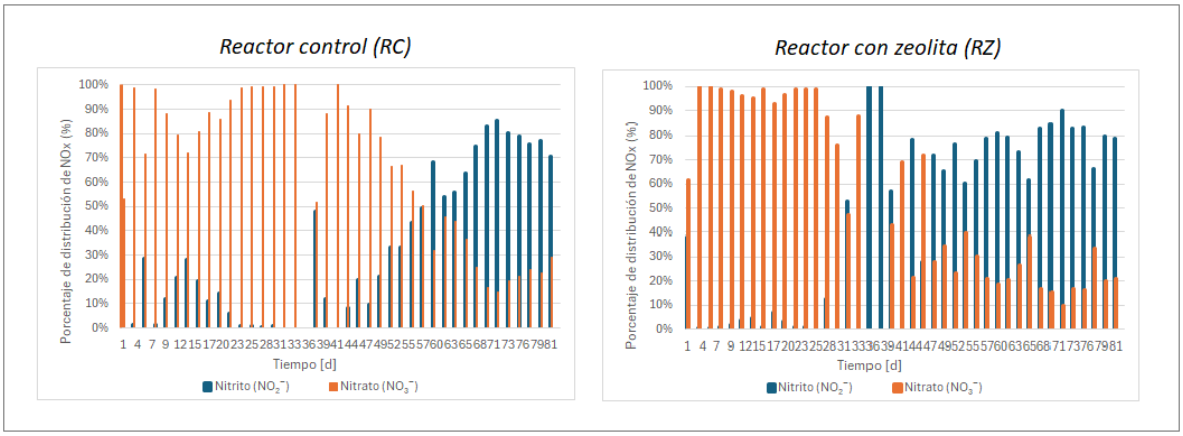


Figura 24: Distribución de nitrógeno oxidado en RC y RZ

Por otro lado, se puede apreciar en los gráficos anteriores, que los niveles de nitrato se mantuvieron por sobre los de nitrito en toda la Etapa I y posterior a los cambios de oxigenación realizados en la Etapa II, los niveles de nitrito comenzaron a aumentar y los de nitrato a disminuir hasta alcanzar la estabilización en nitrificación parcial.

Al comparar el comportamiento entre ambos reactores, se puede apreciar que en la Etapa I (hasta el día 33) los niveles de nitrato son más variables en RC, y que los niveles de nitrito tienden a ser proporcionalmente mayores que en RZ, lo que se puede justificar con la estabilidad que otorga a los microorganismos el uso de soporte microbiano, por lo que se podría decir que la inhibición selectiva inicial tardó más en hacer efecto en RZ debido al uso de zeolita. Análogamente, se puede apreciar que al iniciar la Etapa II (desde el día 34), los niveles de nitrito comienzan a aumentar en ambos reactores, sin embargo, se observa una tendencia de producción proporcional de nitrito mayor en los primeros ciclos de RZ, que también se deriva de la robustez que brinda el uso de soporte microbiano ante el problema de operación de aireación deficiente entre los días 25 y 50, ya que inicialmente en esta etapa se afectó tanto a las BAO como a las BNO alterando la producción de nitrito y nitrato, sin embargo, se puede concluir que el uso de la zeolita permitió afectar en menor grado a las bacterias nitrificantes de RZ.

Por otro lado, para evaluar el comportamiento de la actividad nitrificante se analizó la evolución de las concentraciones de amonio durante la nitrificación y desnitrificación, lo que se puede apreciar en los balances de las Figuras 25 y 26.

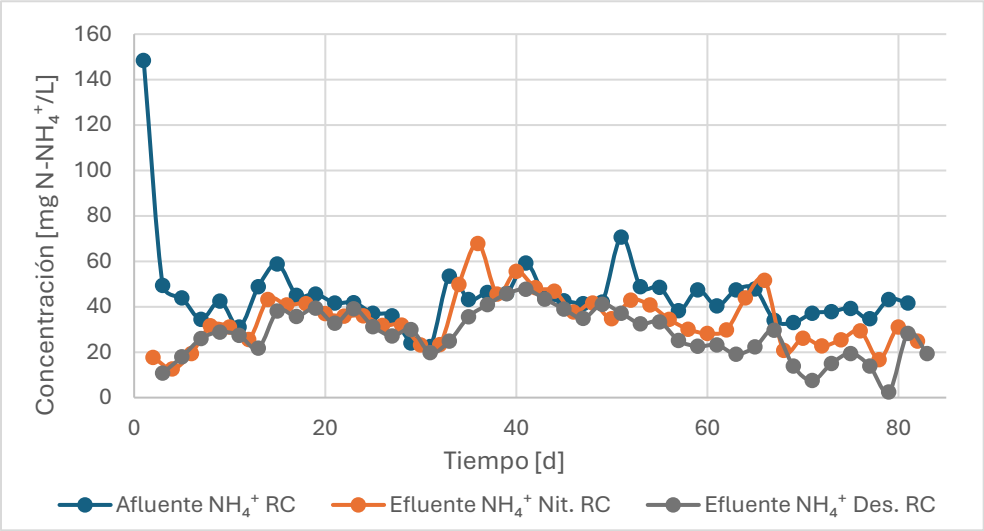


Figura 25: Concentraciones de amonio en el tiempo en RC

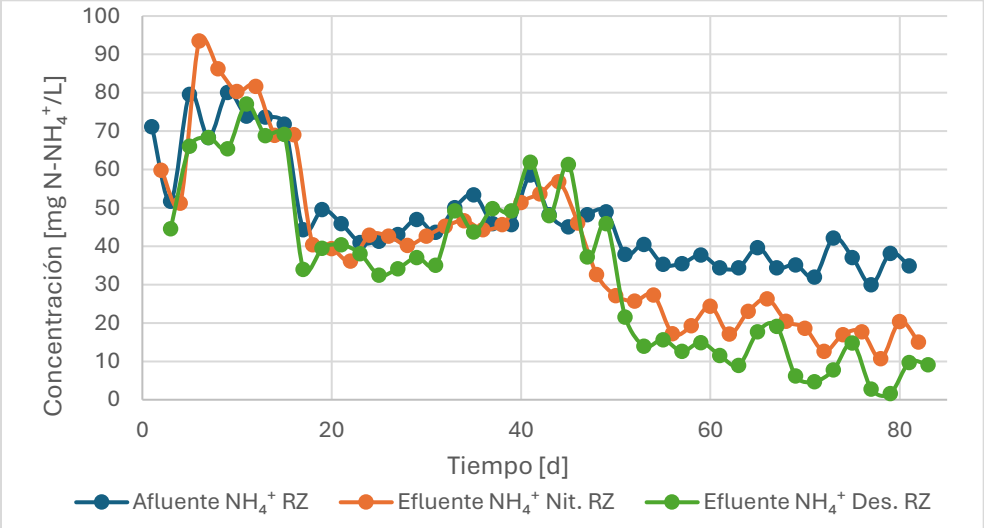


Figura 26: Concentraciones de amonio en el tiempo en RZ

A modo general, de los gráficos previos se puede concluir que los niveles de amonio no aumentan significativamente en la nitrificación o desnitrificación, por lo que se puede asumir que la concentración de azufre no era tan elevada como para generar reducción disimilatoria de nitrato hacia amonio (DNRA). Además, se puede apreciar que en el periodo de los días 25 al 50 aproximadamente, los niveles de amonio se mantienen constantes en los ciclos de ambos reactores, lo que se deriva de la aireación deficiente y refleja una baja actividad nitrificante, sin embargo, conforme se identifica y se soluciona el problema operacional, las concentraciones toman un comportamiento estable de remoción de amonio. Por otro lado, se observa que a

partir del día 50 (posterior a los problemas operacionales), se logra el comportamiento esperado de remoción de nitrógeno amoniacal según el objetivo del proceso, alcanzando los porcentajes de remoción con valores máximos en el ciclo completo de 64 % para RC y de 53 % para RZ en la Etapa I, y de 93 % para RC y de 95 % para RZ en la Etapa II. Estos resultados reflejan un comportamiento estable, el cual resultó afectado por los problemas operacionales, pero que logró retomar la actividad de remoción. Por otro lado, se puede apreciar que RZ inicia con una baja efectividad de remoción de amonio, derivada de los problemas en las condiciones de operación y sedimentación del reactor de la Etapa I, sin embargo, en la Etapa II este logró aumentar la eficiencia de remoción, incluso superando a RC con un máximo alcanzado de 95%. Este comportamiento de mejora de RZ se puede justificar con la influencia que ejerce el uso de soporte microbiano, que permitió a los microorganismos superar las deficiencias en las condiciones de operación con mayor robustez.

A pesar del comportamiento general descrito previamente, se puede apreciar que existen algunos ciclos en ambos reactores en el cual las concentraciones de amonio de los primeros ciclos son mayores en el efluente (remociones de 0%), tanto en la Etapa I como en la Etapa II, lo que se puede explicar con concentraciones de amonio remanentes de ciclos previos, las que pudieron haber quedado entre la mezcla de lodos al interior de los reactores, sumándose además la deficiencia de aireación, lo que afectó la oxidación de amonio en la nitrificación, además, en RZ los iones de amonio tienden a mantenerse más tiempo al interior debido a la atracción por la capacidad de intercambio iónico de la zeolita y a la emulsión formada durante los primeros ciclos, que afectó a la sedimentación.

4.1.1.1. Etapa I: Nitrificación total

El proceso de nitrificación total tuvo un periodo de 33 días, equivalente a 16 ciclos desde el 15 de abril hasta el 17 mayo de 2026. Para el análisis de la actividad nitrificante se consideran los balances de nitrito y nitrato en la entrada y salida de la nitrificación según su concentración en forma de nitrógeno. A partir de la evaluación de los balances se pudo observar que la mezcla de lodos utilizada para alimentar la puesta en marcha de los reactores tenía remanentes de nitrógeno inorgánico en forma de nitrito y nitrato, lo que alteró los balances iniciales. Los reactores iniciaron con concentraciones de aproximadamente 8 [mg $N\text{-}NO_2^-/L$] en RC y RZ, y de 23 [mg $N\text{-}NO_3^-/L$] en RC y 28 [mg $N\text{-}NO_3^-/L$] en RZ. En base a esto se obtuvo que en el efluente del primer ciclo de ambos reactores se alcanzó la mayor concentración de nitrito de toda la etapa. Y con respecto al nitrato, se tuvo que la presencia de este compuesto se mantuvo relativamente constante al interior de los reactores, ya que el enriquecimiento selectivo previo afectó la actividad nitrificante, condicionando los reactores a mantener el nitrógeno inorgánico en forma de nitrato al interior de los

reactores. No obstante, este remanente de nitrógeno inorgánico tanto en su forma de nitrito como de nitrato se fue purgando en los efluentes de cada ciclo. Para efectos de un análisis más representativo no se consideraron los valores del primer ciclo de operación en los cálculos de concentración y remoción de compuestos de interés.

Para el análisis del comportamiento del nitrógeno en forma de nitrito en la Etapa I se cuenta con los datos presentados en el gráfico de la Figura 27.

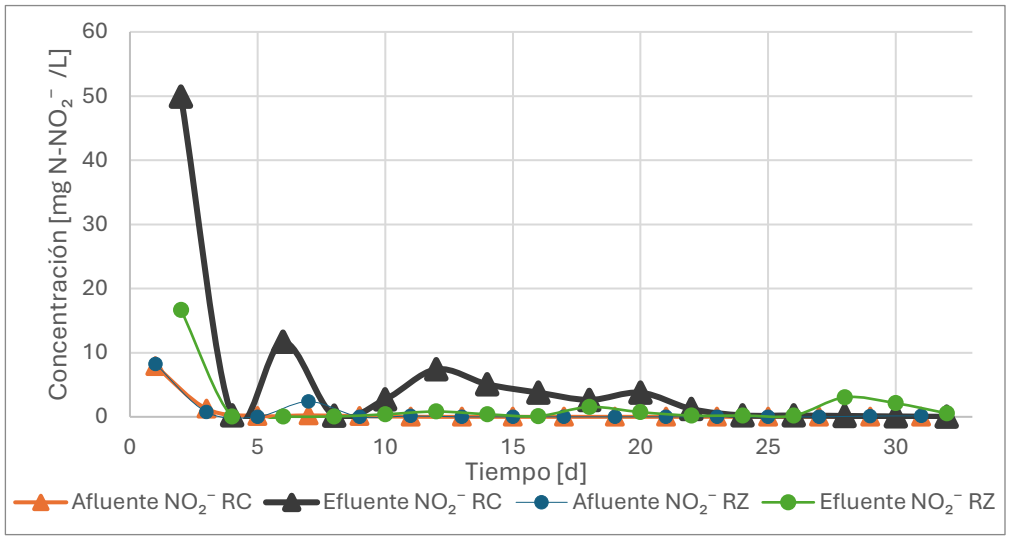


Figura 27: Concentraciones de nitrito en RC y RZ en la Etapa I

Como se puede apreciar en el gráfico anterior, en ambos reactores existe un comportamiento general similar, el cual consiste en un primer ciclo con concentraciones elevadas, derivado de los remanentes de nitrógeno inorgánico del enriquecimiento previo; para luego disminuir las concentraciones en un periodo en el cual comienza a aumentar la concentración en el efluente respecto del afluente (día 10 en adelante), es decir, se logra la producción de nitrito, alcanzando concentraciones máximas de 7,41 [mg N-NO_2/L] en RC (día 12), y de 1,53 [mg N-NO_2/L] en RZ (día 18). Luego, en el periodo de aireación deficiente (día 25 al 50), se mantuvieron valores constantes de nitrito de entre 0,10 y 0,20 [mg N-NO_2/L] a la entrada y salida. En este último periodo existe una diferencia entre RC y RZ, en donde, a pesar de la aireación deficiente, la nitrificación de RZ desde el día 27 comienza a aumentar las concentraciones de nitrito en el efluente alcanzando un máximo de 3,03 [mg N-NO_2/L] (día 28), lo que se puede justificar con la robustez que brinda el uso de soporte microbiano, que permite que la disminución de oxígeno sea menos dañina para las bacterias, y, por lo tanto, se puede concluir que algunas BAO pudieron realizar igualmente la nitrificación de manera efectiva.

Generalmente las concentraciones de nitrito en el afluente se mantuvieron por debajo del efluente o constantes entre sí en ambos reactores. El caso de aumento en las concentraciones corresponde a la reacción efectiva de la nitrificación, en donde, se oxidó el nitrógeno amoniacal hacia nitrito. Por otro lado, en el caso de los ciclos en donde se mantuvo la concentración de nitritos constante en valores cercanos a cero, se puede concluir que estas no aumentaron porque no se logró la reacción de nitrificación efectiva o que las concentraciones alcanzadas están por debajo del límite de detección del equipo de medición. Además, en RZ existe un ciclo en donde la concentración de nitrito es mayor en la entrada que en la salida (día 8), sin embargo, esto sólo ocurre luego de los primeros ciclos, en donde las concentraciones alcanzadas en el efluente son las más altas de toda la etapa, por lo que se puede concluir que, en ese ciclo no hubo una oxidación efectiva de nitrógeno amoniacal hacia nitrito y la concentración marcada corresponde al remanente que pudo haber quedado en el lodo. Esto no se da en el caso de RC debido a que la sedimentación de RZ fue afectada por la emulsión de zeolita formada, lo que provocó que quedara remanente de nitrógeno inorgánico al interior del reactor.

Para el análisis del comportamiento del nitrógeno en forma de nitrato en la Etapa I se cuenta con los datos presentados en el gráfico de la Figura 28.

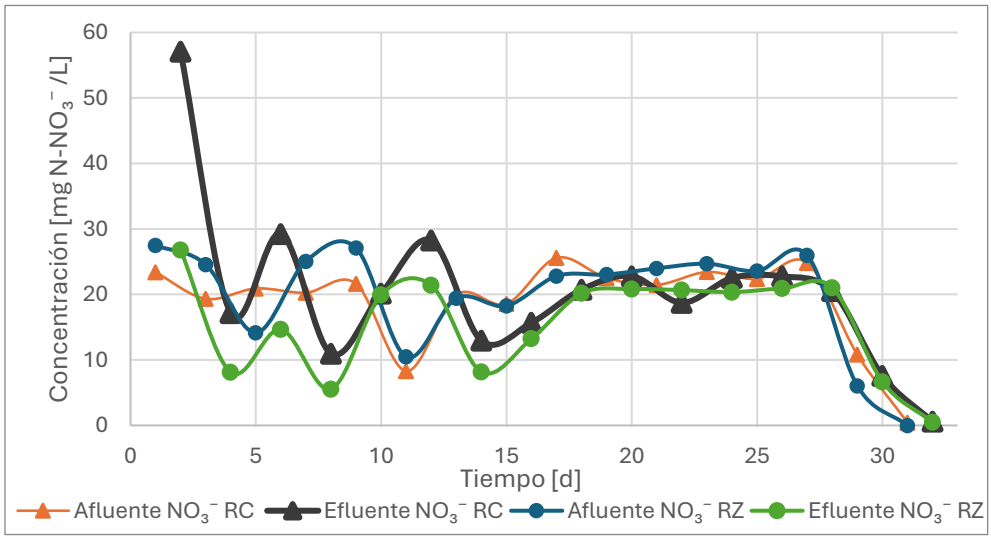


Figura 28: Concentraciones de nitrato en RC y RZ en la Etapa I

Al analizar los balances de nitrato del gráfico anterior, se observa un comportamiento general similar entre ambos reactores, iniciando con oscilaciones hasta mostrar indicios de estabilización debido a la adaptación de los microorganismos, para luego, a causa del periodo de deficiencia de aireación, disminuir las concentraciones de nitrógeno en forma de nitrato en el afluente hasta cero y en el efluente hasta 0,49 [mg N-NO_3/L] aproximadamente. Al analizar el comportamiento individual de cada reactor se puede observar que en RC la concentración de nitrato inicial tiende a mantenerse hasta el día 27 en el afluente entre 20 y 26 [mg N-NO_3/L], lo que se

deriva de los remanentes de nitrógeno inorgánico del enriquecimiento previo que no lograron ser purgados completamente con el efluente de la desnitrificación. En estos ciclos de RC se puede observar que hubo tanto aumento como diminución de la concentración de nitrato en el efluente de la nitrificación, alcanzando un máximo en el efluente de 29,24 [mg N-NO_3/L] (día 6) y un mínimo de 10,96 [mg N-NO_3/L] (día 8). Este comportamiento se debe al enriquecimiento selectivo previo y las condiciones de operación de inhibición selectiva, en donde, los ciclos de aumento de la concentración en el efluente de RC reflejan generación efectiva de nitrato mediante nitrificación completa, y la presencia de ciclos con disminución de concentración de nitrato en el efluente reflejan la ausencia de oxidación de nitrito a nitrato a causa de la afectación por los remanente de nitrato y la inhibición selectiva de las BNO, alterando la nitrificación general de forma en que no se pudo estabilizar el proceso en toda la etapa. Por otro lado, en RZ se mantuvo un comportamiento oscilatorio en las concentraciones del afluente, con un comportamiento general de disminución de las concentraciones de nitrato en el efluente, lo que se debe, al igual que en RC, a los condiciones operacionales deficientes de la Etapa I, además de la afectación por la emulsión de zeolita en los primeros 17 días de operación, análogamente, la formación de biopelícula en la zeolita permitió además, la nitrificación-desnitrificación simultánea durante el ciclo de nitrificación de RZ, lo que se refleja en una disminución de los niveles de nitrito y nitrato en el efluente para formar nitrógeno gaseoso.

4.1.1.2. Etapa II: Nitrificación parcial

El proceso de nitrificación parcial tuvo un periodo de 50 días, equivalente a 25 ciclos desde el 18 de mayo hasta el 6 de julio de 2026. Para el análisis de la actividad nitrificante se consideran los balances de nitrito y nitrato en la entrada y salida de la nitrificación según su concentración en forma de nitrógeno. Los reactores inician la etapa con el problema operacional de aireación deficiente que perduró hasta el día 50, lo que derivó en una puesta en marcha de la Etapa II con concentraciones muy bajas de los compuestos nitrogenados de interés, sin embargo, tanto el nitrito como el nitrato se fueron estabilizando conforme se solucionó el problema de aireación, alcanzando al final ciclos con producción efectiva de compuestos oxidados de nitrógeno, tal como se aprecia en los gráficos de las Figuras 29 y 30.

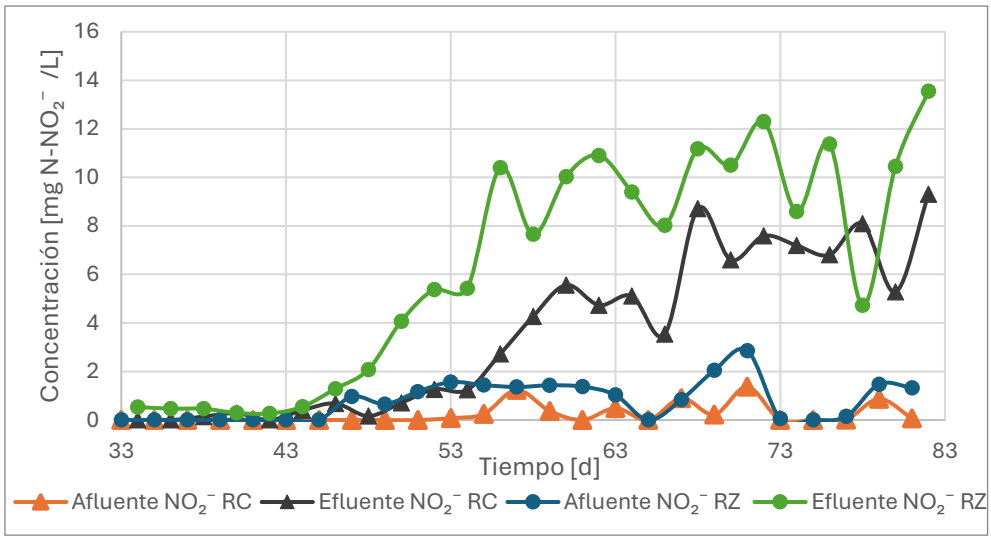


Figura 29: Concentraciones de nitrito en RC y RZ en la Etapa II

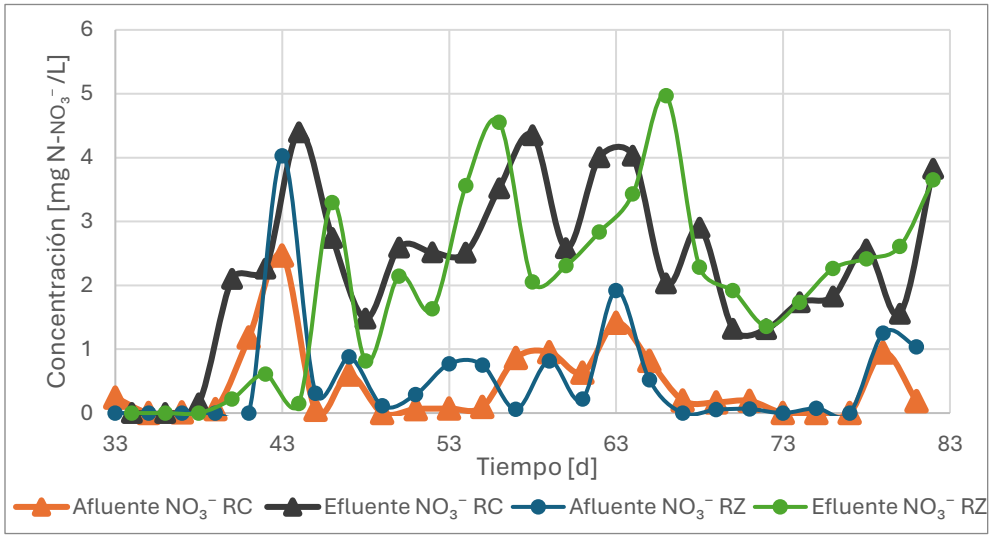


Figura 30: Concentraciones de nitrato en RC y RZ en la Etapa II

Al comparar las concentraciones alcanzadas entre etapas se puede apreciar que aumentaron las concentraciones de nitrito y disminuyeron los niveles de nitrato generales, tanto en RC como en RZ. Este comportamiento se deriva de la transición hacia nitrificación parcial, lo que implica la reducción de la producción de nitrato reduciendo el consumo de oxígeno llevando la reacción hasta sólo formar nitrito, además, tal como se puede observar en las Figuras 29 y 30, en esta etapa se logró alcanzar la estabilización del proceso de nitrificación, aumentando las concentraciones del efluente respecto del afluente hasta valores máximos de 9,30 [mg N-NO_2/L] para RC (día 82) y de 13,55 [mg N-NO_2/L] para RZ (día 82), y de 4,35 [mg N-NO_3/L] para RC (día 58) y de 4,97 [mg N-NO_3/L] para RZ (día 66). Análogamente, se puede apreciar que luego del periodo de deficiencia de oxígeno,

en ambos reactores existe una tendencia de aumento en la producción de compuestos nitrogenados de interés en el efluente de la nitrificación, lo que podría implicar una estabilización de la actividad de los microorganismos nitrificantes y un aumento de su población.

4.1.2. Actividad desnitrificante

Para la operación del ciclo de desnitrificación se mantuvieron las mismas condiciones en ambas etapas del proceso y fueron fijadas de forma en que se favoreciera la desnitrificación mixotrófica, agregando en la alimentación sintética los nutrientes y sustratos necesarios para la nitrificación autótrofa y heterótrofa. Para la evaluación se analizó las concentraciones de compuestos nitrogenados de interés, según los resultados que se pueden apreciar en los gráficos de las Figuras 31 a la 34.

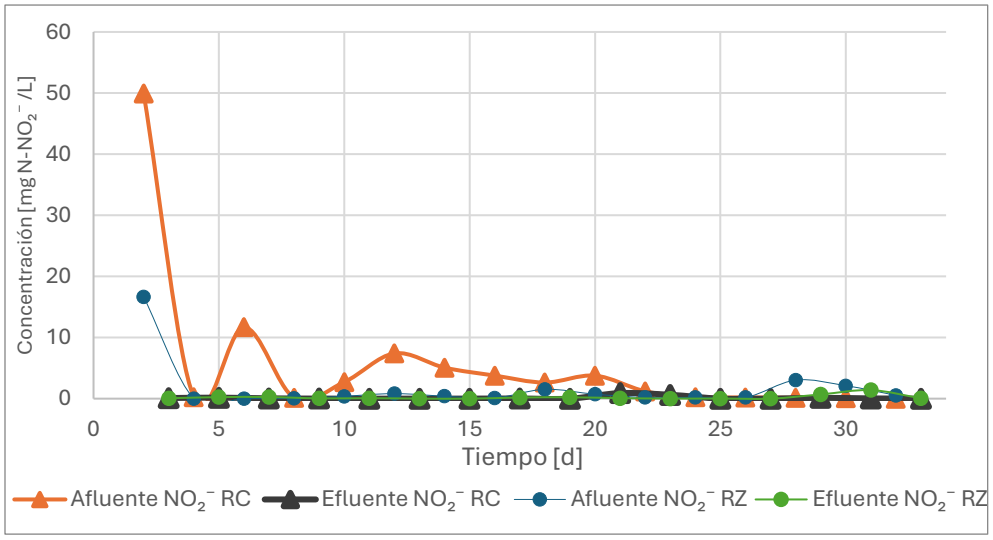


Figura 31: Concentraciones de nitrito durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa I

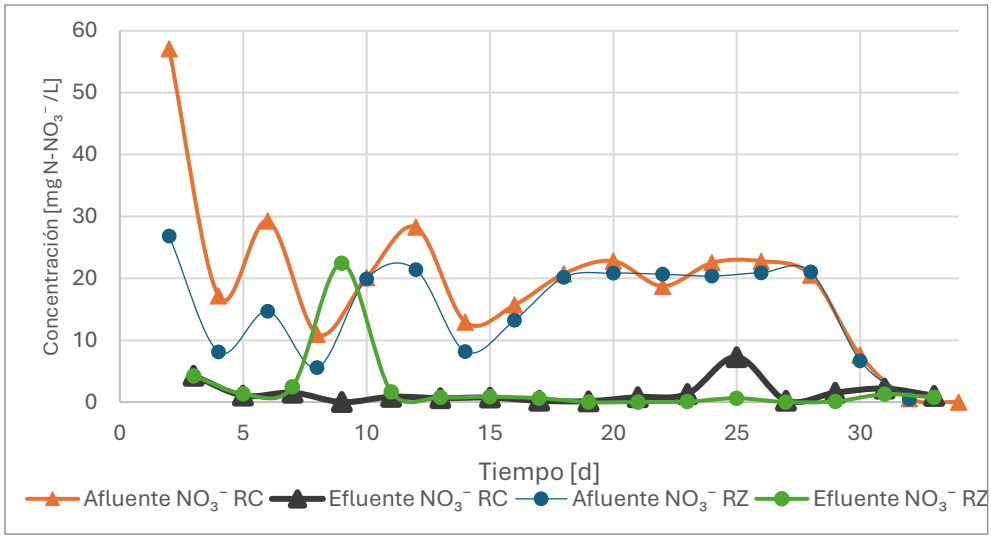


Figura 32: Concentraciones de nitrato durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa I

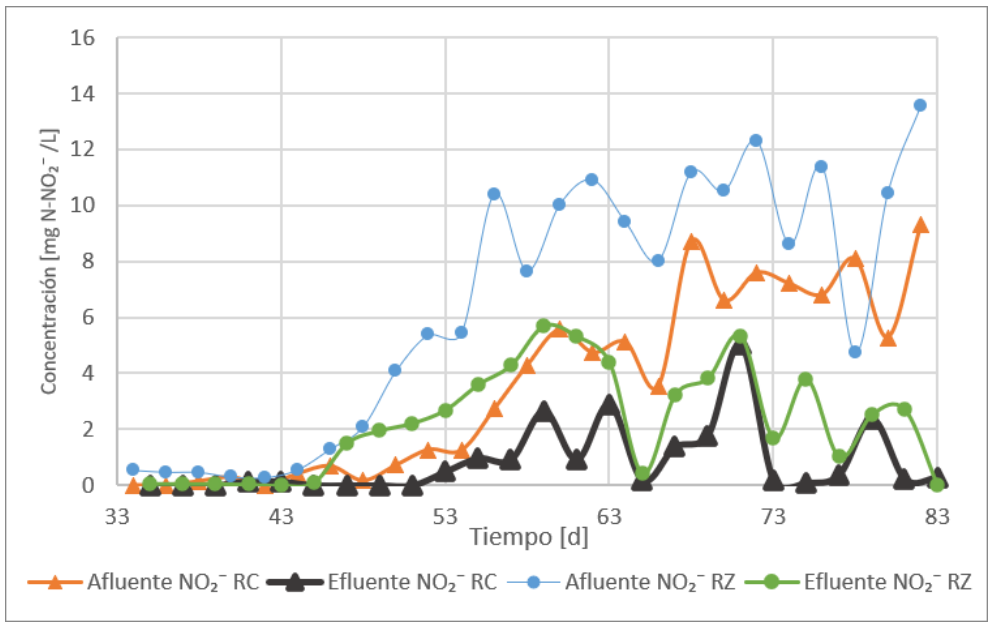


Figura 33: Concentraciones de nitrito durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa II

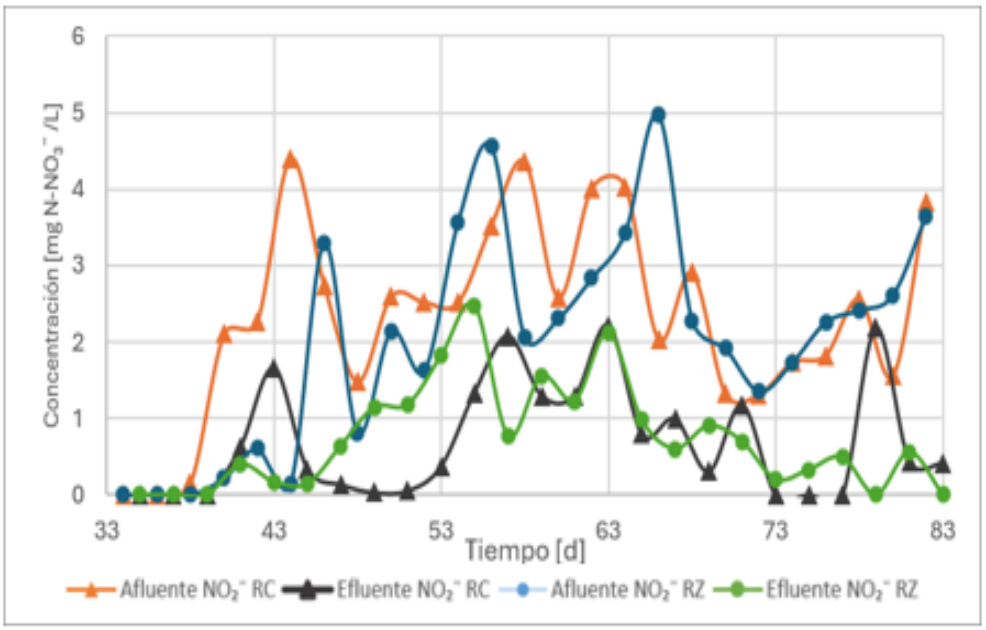


Figura 34: Concentraciones de nitrato durante la desnitrificación en RC y RZ en la Etapa II

Como se puede apreciar en los gráficos previos, hay un comportamiento general similar entre ambos reactores. Respecto a la remoción de compuestos nitrogenados en la Etapa I, se puede apreciar que el comportamiento errático causado por los problemas operacionales que afectaron la nitrificación no generó un gran impacto en la eficiencia de remoción de nitrito o nitrato, sin embargo, la presencia de periodos con concentraciones cercanas o iguales a cero de nitrito pudo haber inhibido la actividad de los microorganismos nitrificantes. En la Etapa II se puede apreciar que luego del periodo de deficiencia de oxígeno, existe al principio una tendencia de aumento en las concentraciones de entrada y en conjunto a estas, las

de salida, manteniendo el comportamiento de remoción de los compuestos nitrogenados de interés. Y luego, se logra apreciar que la concentración de los afluentes tiende a disminuir mientras que las del afluente siguen subiendo, lo que implica una tendencia a la estabilización del proceso, y al igual que en el caso de la nitrificación, un posible aumento en la población desnitrificante.

En la Etapa I y II se alcanzaron porcentajes de remoción de un máximo de 100% y mínimo del 0% en ambos reactores, equivalente a lo que se aprecia en las Tablas resumen 12 y 13.

Tabla 11: Resumen de porcentajes de remoción de nitrito.

Etapa I	Promedio	Máximo	Desv. Est. (%)
RC	68%	100%	0,41
RZ	65%	100%	0,40
Etapa II	Promedio	Máximo	Desv. Est. (%)
RC	70%	100%	0,33
RZ	62%	100%	0,28

Tabla 12 Resumen de porcentajes de remoción de nitrato.

Etapa I	Promedio	Máximo	Desv. Est. (%)
RC	81%	100%	0,33
RZ	77%	100%	0,38
Etapa II	Promedio	Máximo	Desv. Est. (%)
RC	68%	100%	0,32
RZ	51%	100%	0,36

Estos resultados reflejan un comportamiento general de remoción de compuestos nitrogenados similar entre ambos reactores, sin embargo, RZ reactivó la producción de concentraciones de nitrito y nitrato en la nitrificación más rápido durante todo el proceso, lidiando además con problemas en la sedimentación, lo que facilitó la presencia de compuestos remanentes, y análogamente pudo haber afectado los resultados generales de eficiencia, demostrando la robustez que brinda el uso de zeolita para el proceso.

Por otro lado, también se evaluó el comportamiento de los compuestos azufrados de interés, analizando las concentraciones de sulfuro y sulfato con el objetivo de oxidar el sulfuro a sulfato, que es un contaminante menos perjudicial, mediante la desnitrificación autótrofa, en la cual se usa al sulfuro como donador de electrones. Los resultados se pueden ver en los gráficos de las Figuras 35 y 36.

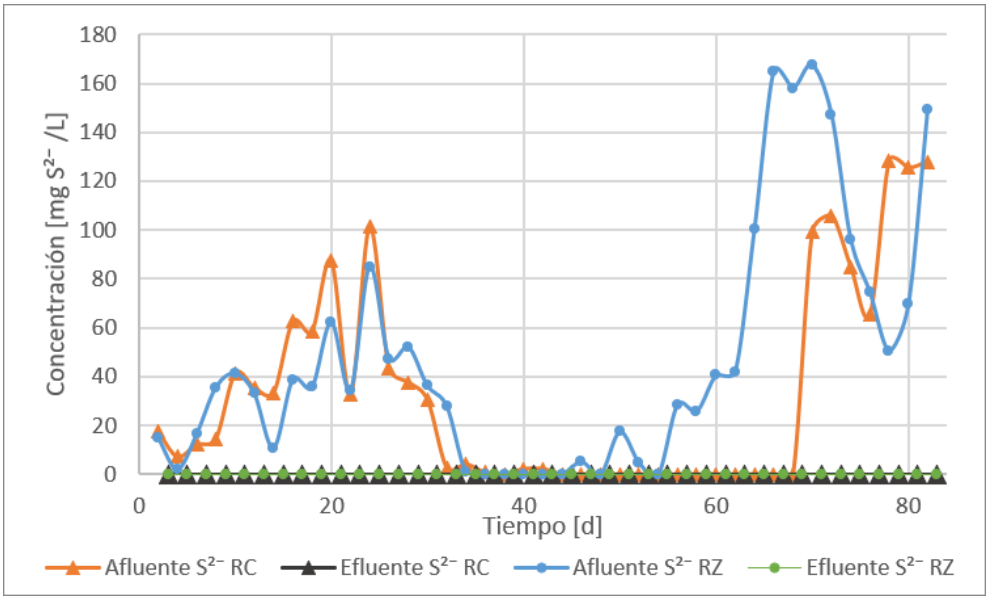


Figura 35: Concentraciones de sulfuro durante la desnitrificación en RC y RZ

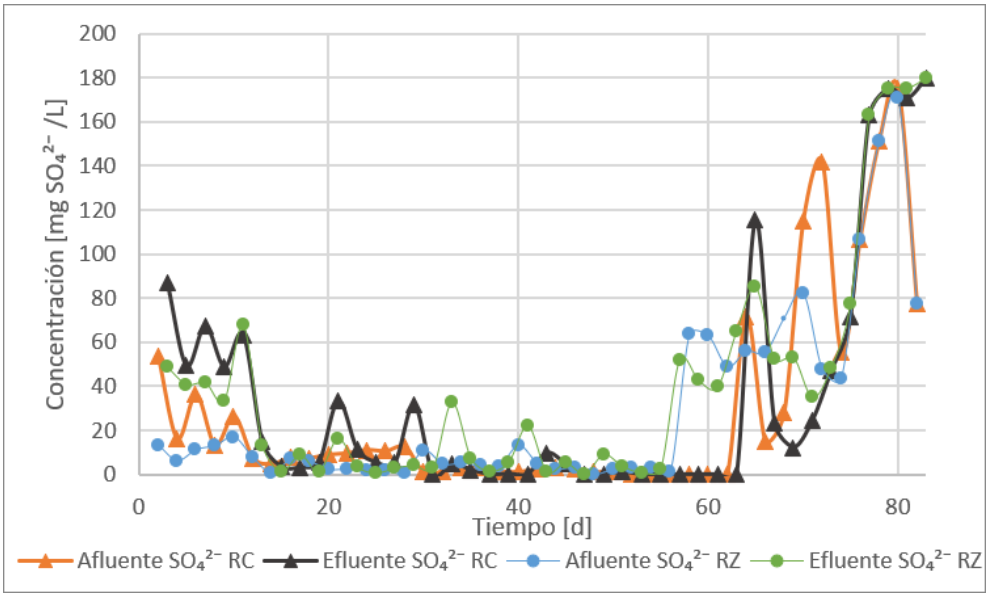


Figura 36: Concentraciones de sulfato durante la desnitrificación en RC y RZ

Tal como se aprecia en los gráficos previos, en ambos reactores existe gran variabilidad en las concentraciones de sulfuro en el afluente, con una remoción completa durante la desnitrificación. Lo primero se puede explicar con que las concentraciones variables de nitrito y nitrato alcanzadas en la nitrificación requirieron de distintas cantidades de sulfuro de sodio en la alimentación sintética para mantener la relación de S/N en la desnitrificación. Y la alta eficiencia de

remoción, se puede explicar con la participación del sulfuro como donador de electrones en la desnitrificación autótrofa y con la volatilidad del sulfuro de hidrógeno, el cual se libera en forma gaseosa al ambiente, reduciendo las concentraciones de azufre en forma de sulfuro de la mezcla.

Con respecto al sulfato, se mantuvo un comportamiento de generación durante los ciclos. En base a estos resultados y el gráfico de la Figura 36, se puede asumir un comportamiento general similar entre ambos reactores, con una tendencia de producción efectiva en los primeros ciclos, para luego disminuir las concentraciones y mantenerse relativamente constante en cero durante el periodo de problemas operacionales, y, por último, aumentar las concentraciones con una tendencia de estabilización al final del proceso.

Según la composición de la alimentación sintética y las reacciones esperadas en el lodo de mezcla, no debería de haber sulfato en el afluente de la desnitrificación, sin embargo, como se puede apreciar en los gráficos analizados en este punto y en el 4.1.1., el sulfato en el afluente aumenta conforme aumentan los niveles de sulfuro (agregado en forma de cloruro de azufre), y los niveles de sulfuro a agregar aumentan conforme aumentan los niveles de nitrógeno al interior del reactor (nitrito y nitrato generados en la nitrificación). Como hubo desnitrificación efectiva en todos los ciclos en que se generó nitrificación efectiva, se puede concluir que las concentraciones de sulfato de la entrada no son indicio de problemas con la desnitrificación autótrofa, ya que, tal como se puede comprobar más adelante con los balances de TOC y las pruebas de ADA y ADH (puntos 4.1.6 y 4.2. respectivamente), existe desnitrificación efectiva tanto por la vía autótrofa, como heterótrofa. En base a esto se puede afirmar que la presencia de sulfato en el afluente de ambos reactores es a causa de sulfato remanente de ciclos anteriores, que pudo haber quedado al interior después del proceso de sedimentación, lo que además permite explicar los ciclos en que el sulfato era menor en el efluente y la desnitrificación sí ocurrió.

Además, los ciclos en que hay presencia de sulfato en el afluente, también coinciden con los ciclos en que quedaron concentraciones de nitrito y nitrato remanentes en el afluente de la desnitrificación anterior, lo que podría implicar que ese remanente de nitrógeno inorgánico se desnitrificó por la vía heterótrofa en el periodo de caída de OD de la nitrificación, lo que explicaría las bajas concentraciones de nitrito y nitrato que se alcanzaron en ciertos ciclos al final de la nitrificación. Esto se vuelve un círculo vicioso, combinado al hecho de que el sulfato remanente de ciclos anteriores puede ser transformado por bacterias sulfato reductoras a sulfuro, permitiendo la generación de donadores de electrones para la desnitrificación por la vía autótrofa en la nitrificación.

4.1.3. Potencial de hidrógeno (pH)

Para favorecer la reacción de nitrificación-desnitrificación es necesario mantener el reactor en un pH ligeramente básico en valores de entre 7 y 8. Por otro lado, lo que se espera que ocurra por la reacción es que en el ciclo de nitrificación se aumente los niveles de pH ya que la oxidación del amoniaco a nitrato libera protones (H^+), acidificando el medio. En la desnitrificación el pH debería de aumentar, ya que la reducción del nitrato a N_2 consume protones, lo que quiere decir que aumenta la alcalinidad o la capacidad del medio de consumir sustancias que acidifican. Es por estas reacciones por lo que se le agrega solución tampón en la alimentación, lo que permite mantener el pH en un valor promedio de 7,5 durante todo el ciclo.

Las mediciones de pH se realizaron al inicio y final de cada parte del ciclo, y se logró mantener las condiciones óptimas buscadas para la operación tanto para RC como para RZ, tal como se puede apreciar en las Tablas 14 y 15, respectivamente.

Tabla 13: Resumen de valores de pH en RC.

Etapa RC	Promedio	Máximo	Mínimo	Desv. Est.
Etapa I (Nit. Total)	7,504	7,764	7,332	0,090
Etapa II (Nit. Parcial)	7,493	7,685	7,319	0,077

Tabla 14: Resumen de valores de pH en RZ.

Etapa RZ	Promedio	Máximo	Mínimo	Desv. Est.
Etapa I (Nit. Total)	7,499	7,692	7,362	0,089
Etapa II (Nit. Parcial)	7,497	7,740	7,302	0,091

A partir de las tablas previas se puede concluir que en general se logró mantener las condiciones esperadas de pH en ambos reactores, resultando efectivo el uso de solución tampón de fosfato para regular el pH, logrando mantener los reactores entre 7 y 8, con un promedio en cada ciclo de 7,5.

Por otro lado, al analizar el comportamiento individual de cada ciclo, se poseen los gráficos de ejemplo de a continuación, contando con uno representativo por cada etapa, correspondientes a las Figuras 37 y 38, respectivamente.

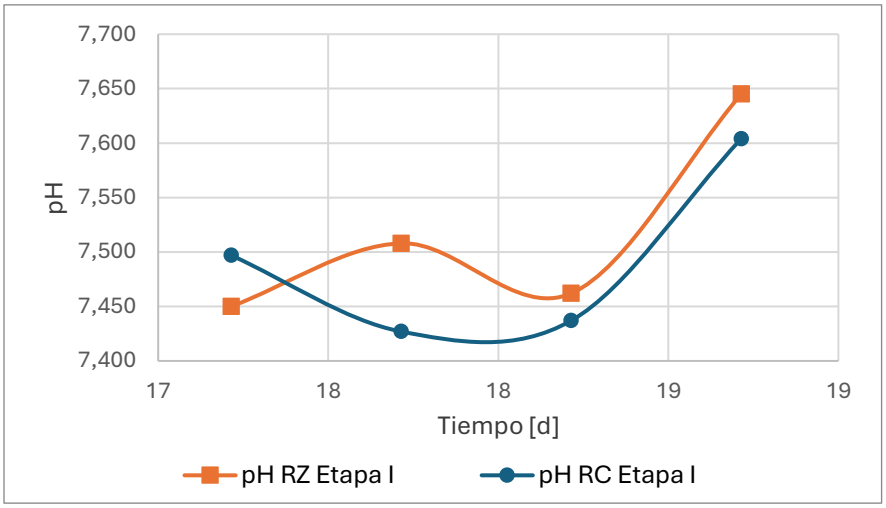


Figura 37: Comportamiento del pH en ciclo de ejemplo de Etapa I

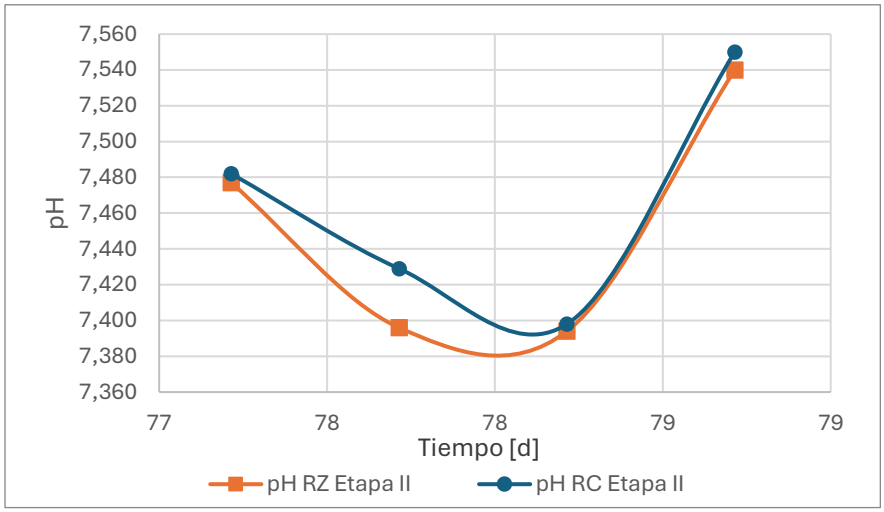


Figura 38: comportamiento del pH en ciclo de ejemplo de Etapa II

De las Figuras 37 y 38, se puede concluir que en RC las reacciones alteraron el pH al interior del reactor según lo esperado, comenzando con una disminución de los niveles en el periodo de nitrificación (primeros dos puntos de la curva) y aumentando en la desnitrificación (últimos dos puntos de la curva), tanto para la Etapa I como para la II, correspondientes a los ciclos de nitrificación total y parcial, respectivamente. En cambio, al analizar RZ, se pude apreciar una alteración de los niveles esperados en la Etapa I del ciclo, lo que se puede justificar con el problema ocurrido con la zeolita en la puesta en marcha del reactor, en donde, la emulsión con zeolita y su propiedad de intercambio iónico, pudo haber contribuido a amortiguar parcialmente la acidificación del medio asociada a la nitrificación, mediante la interacción e intercambio de H^+ con los sitios catiónicos y la liberación de especies alcalinas del mineral, tal como se aprecia entre los puntos iniciales de las curvas de

RZ. Este periodo alterado de flujo de pH se mantuvo durante 17 días, sin embargo, no significó un problema significativo para la eficiencia de remoción de compuestos de interés en el proceso en general, ya que, no se presentan alteraciones del ciclo de desnitrificación, además, se puede observar que conforme la emulsión se fue purgando del reactor en las descargas de la desnitrificación, la relación de pH se fue regulando, hasta estabilizarse y funcionar de manera correcta en la Etapa II.

4.1.4. Oxígeno disuelto (OD)

Al adaptar el proceso de bacterias ya condicionadas en nitrificación total hacia una mezcla de nitrificación parcial se tiene una tendencia de aumento de concentraciones de oxígeno disuelto en ambos reactores durante todo el proceso (desde el 15 de abril hasta el 5 de julio de 2026). Iniciando con valores de OD que inician en 6 [mg O_2/L] y aumentan hasta valores de 8 [mg O_2/L], lo que se justifica con la equivalencia entre la medición del sensor y la concentración al interior de los reactores.

Por otro lado, en los gráficos de las Figuras 39 y 40, se puede apreciar una medición de ejemplo de las concentraciones de OD de la Etapa II, que muestra la tendencia de comportamiento del oxígeno disuelto al interior del reactor durante el periodo de nitrificación en ambas etapas del proceso de laboratorio.

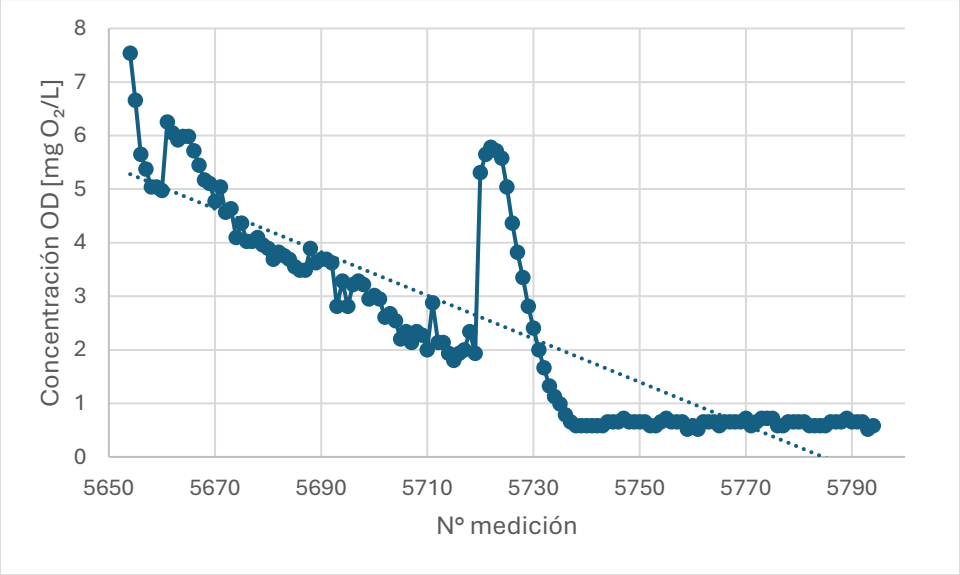


Figura 39: Concentraciones de oxígeno disuelto (OD) en RC en ciclo de ejemplo de Etapa II

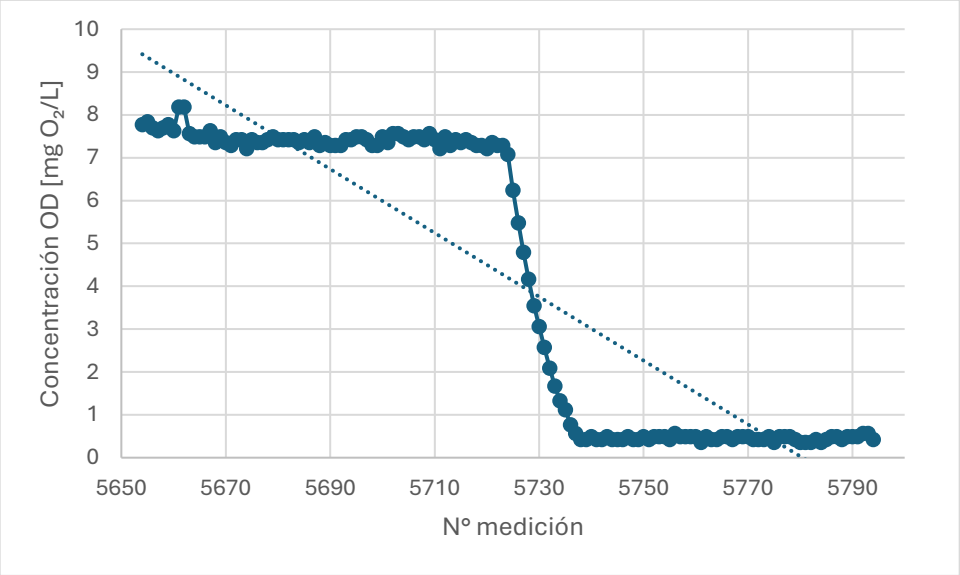


Figura 40: Concentraciones de oxígeno disuelto (OD) en RZ en ciclo de ejemplo de Etapa II

En estos gráficos se puede apreciar una clara diferencia en la forma de las curvas entre el gráfico del reactor RC con el de RZ (Figuras 39 y 40, respectivamente), esto a causa de las limitaciones del laboratorio, que hacían que el sensor de medición del reactor RZ quedara directo en el flujo de burbujas generado por la bomba de aireación, lo que se refleja en un periodo de valores constantes hasta el momento de apagar las bombas. Sin embargo, el gráfico de la Figura 39 permite observar adecuadamente el comportamiento de las concentraciones de oxígeno disuelto en ambos reactores, presentando inicialmente una tendencia de disminución de OD desde el encendido de las bombas de aireación hasta el momento de su apagado, lo que se justifica con el comportamiento bacteriano aerobio, que utiliza el oxígeno disuelto para su metabolismo, lo que a su vez sirve como una representación de la oxidación de los compuestos de nitrógeno. Luego, se aprecia un aumento repentino del nivel de OD y una nueva tendencia de disminución del OD hasta valores aproximados de 0,5 [mg O_2/L]. Este aumento repentino refleja el momento de encendido de los agitadores mecánicos y el inicio del periodo de caída de OD de la nitrificación, ya que la agitación dispersa las burbujas que quedan atrapadas entre las partículas más grandes de biomasa suspendida y adherida, permitiendo que las bacterias nitrificantes utilicen la mayor parte del oxígeno que queda al interior del reactor, disminuyendo los niveles de OD hasta dar las condiciones para iniciar la desnitrificación. Esto también se puede corroborar, comparando entre los gráficos de ambos reactores, ya que se observa que el periodo de caída de OD inicia exactamente en el mismo punto entre ambos (punto 5720 de los gráficos). Esta similitud entre ambos gráficos permite además confirmar que la tendencia de mantener las concentraciones de OD en el periodo de aireación en RZ se debe solamente a las limitaciones del laboratorio y que es correcto considerar el

comportamiento del gráfico del reactor RC como representativo del comportamiento del reactor RZ en el periodo de aireación de la nitrificación.

4.1.5. Sólidos suspendidos volátiles (crecimiento microbiano-biomasa suspendida)

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) sirven como representación de la biomasa suspendida presente en los reactores, lo que refleja una equivalencia de los microorganismos presentes en la mezcla de lodos disponibles para realizar la remoción de compuestos nitrogenados y de azufre. Las mediciones se iniciaron unos días después partir la primera etapa con fecha 20 de abril de 2026, dándole unos ciclos de adaptación a los microorganismos al arreglo de reactores y a la zeolita en RZ. Posteriormente, se fue registrando semanalmente su evolución con el fin de analizar el crecimiento bacteriano y la adherencia a la zeolita de los microorganismos.

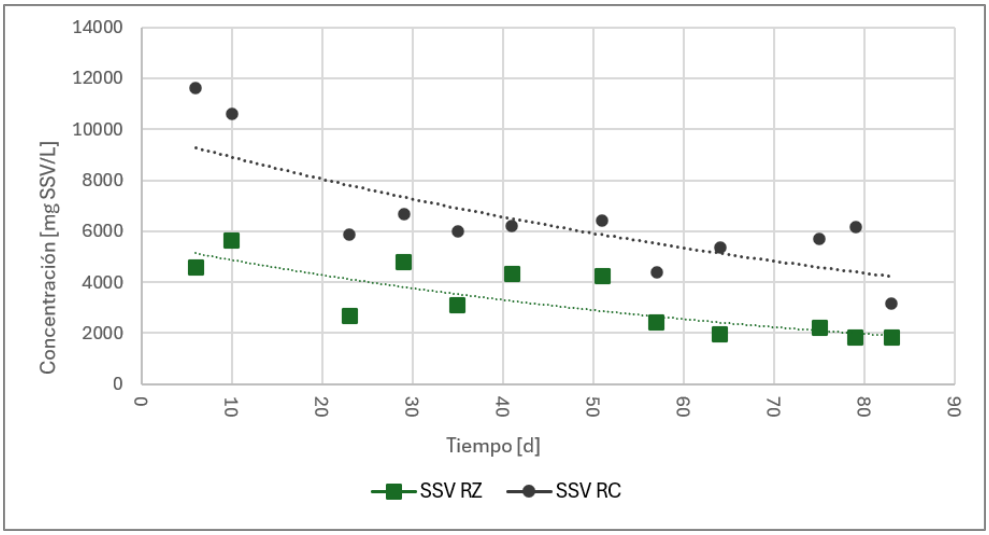


Figura 41: Evolución de la biomasa suspendida en RC y RZ

Del gráfico de la Figura 41 se puede concluir generalmente que existe una tendencia de disminución general de la concentración en ambos reactores de hasta más de un 50% del SSV inicial hasta alcanzar la estabilización. Se puede apreciar que la estabilización inicia en ambos reactores desde aproximadamente el día 34 (18 de mayo), fecha que corresponde al primer ciclo de la segunda etapa del proceso, en la cual se termina la adaptación de los microorganismos y se busca la estabilización. Es por esto por lo que se puede justificar que la inhibición de bacterias a partir de las condiciones de operación fue efectiva y generó una disminución selectiva de la biomasa suspendida, y luego se logró mantener una población estable de microorganismos.

La Figura 41 muestra la evolución de los SSV de RC iniciando con concentraciones aproximadas de 11,60 [g SSV/L] hasta alcanzar la estabilidad en concentraciones aproximadas de 3,16 [g SSV/L]. Además, muestra la evolución de los SSV de RZ, el cual inicia con concentraciones aproximadas de 4,57 [g SSV/L] y alcanza la estabilidad en concentraciones aproximadas de 1,83 [g SSV/L]. Al comparar el comportamiento entre ambos reactores se puede apreciar que las concentraciones RC se encuentran en todo el proceso por sobre los niveles de RZ, lo que se justifica con el hecho de que en RZ la biomasa suspendida disminuye drásticamente porque los microorganismos suspendidos se adhieren al material de soporte, generando una biopelícula en la zeolita. Por otro lado, se puede apreciar que la biomasa suspendida de RZ tiene un comportamiento errante y de gran dispersión en los inicios comparado a la tendencia suave de disminución de RC, lo que se deriva de que la zeolita no pasó por un periodo de adherencia en la puesta en marcha del reactor, por lo que en los primeros ciclos se generó una emulsión de color gris, correspondiente a liberación de polvillo de la zeolita y restos de la biopelícula del lodo antiguo. Como se puede apreciar en la Figura 42, el líquido del reactor RZ (a la izquierda de la imagen) posee un color grisáceo, atribuible a la emulsión generada por la zeolita, en cambio, el líquido de RC (a la derecha de la imagen) es del color café esperable para un efluente de este tipo de tratamientos. Aunque, esta sustancia liberada en RZ puede no tener inferencia en las reacciones de nitrificación-desnitrificación, puede haber afectado el área de contacto entre los microorganismos y el sustrato, la velocidad de sedimentación y la estabilidad de pH al interior del reactor. No obstante, se aprecia que con el paso del tiempo se logra la estabilización conforme se purga los sólidos suspendidos de la zeolita en el efluente de la desnitrificación, lo que análogamente se puede atribuir a la estabilidad y robustez que brinda el uso de soporte microbiano.

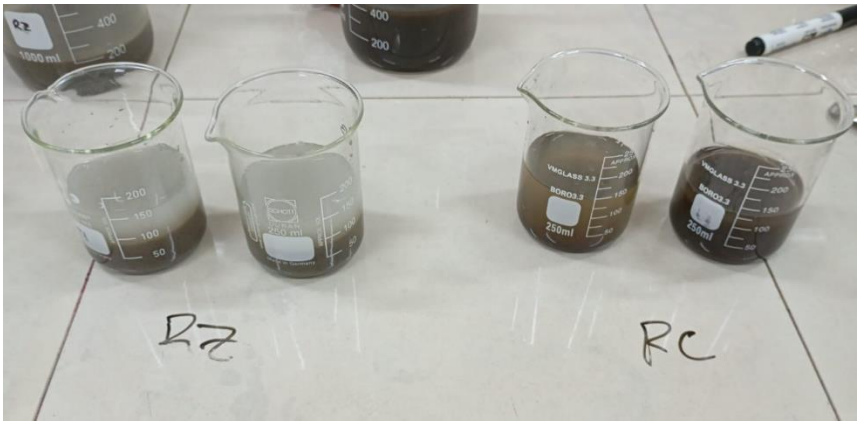


Figura 42: Fotografía con comparación del efluente de RZ y RC.

4.1.6. Carbono orgánico total (TOC) y Nitrógeno total (TN)

La concentración de carbono orgánico total (TOC) al interior de los reactores permite analizar el comportamiento de las bacterias desnitrificantes heterótrofas, ya que este es utilizado como donador de electrones en la reducción de los compuestos oxidados de nitrógeno para formar nitrógeno gaseoso. Como consecuencia, se espera que ocurra una reducción de los niveles en la desnitrificación. Por otro lado, la medición del nitrógeno total (TN) corresponde a la concentración de todas las especies conformadas por nitrógeno junto al nitrógeno orgánico en el licor de mezcla, lo que permite analizar el comportamiento de los compuestos nitrogenados de interés al interior del reactor. En base a esto es que se espera que en la desnitrificación disminuyan los niveles de TN, ya que el nitrito y nitrato son reducidos a nitrógeno gaseoso (N_2) y liberado a la atmósfera. Para el análisis del TOC y el TN se consideró los valores de la desnitrificación de cada ciclo, midiendo con el equipo multi N/C 3100, resultando en los datos de los gráficos de las Figuras 43 y 44:

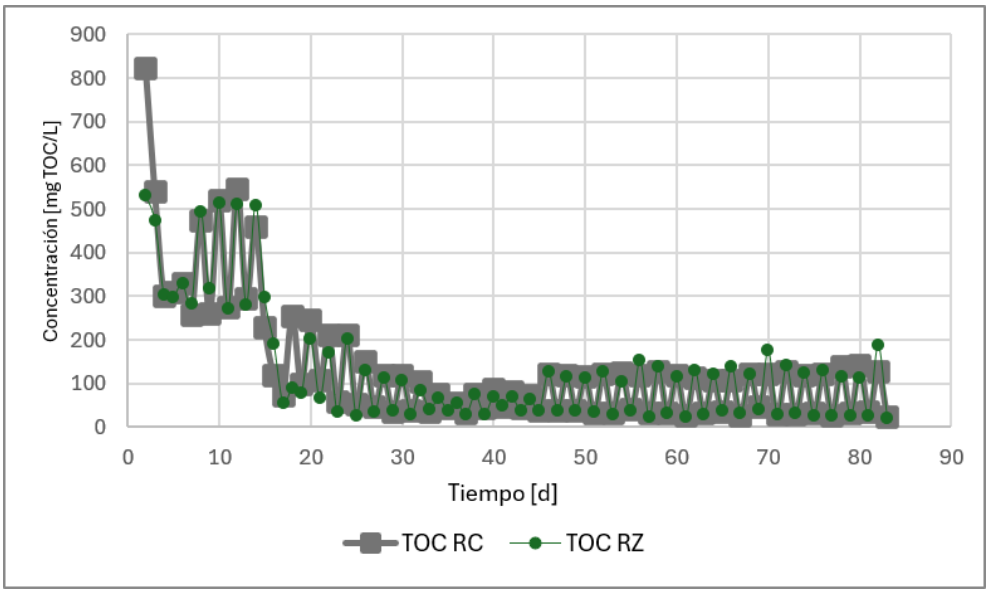


Figura 43: Concentraciones de carbono orgánico total (TOC) en RC y RZ

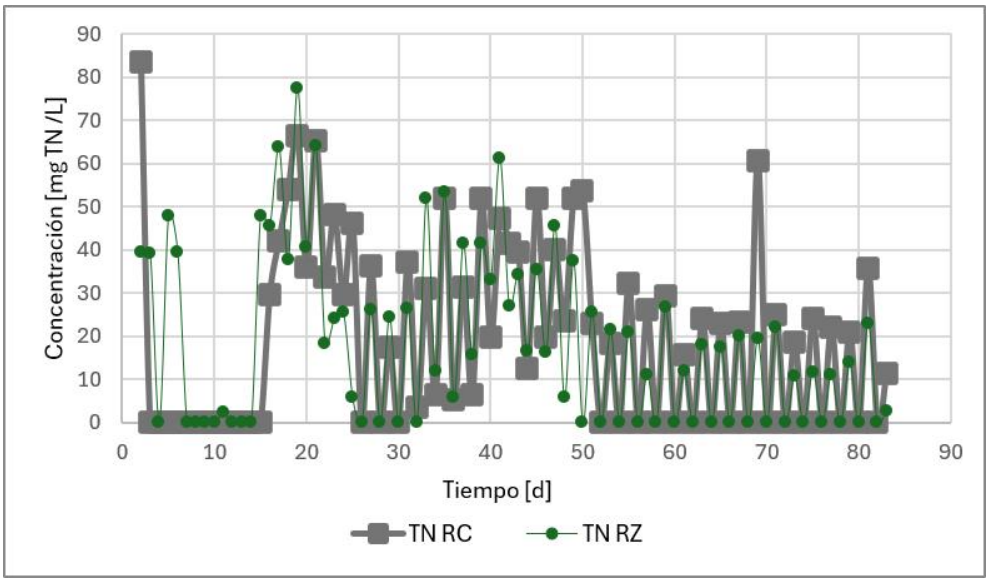


Figura 44: Concentraciones de nitrógeno total (TN) en RC y RZ

Como se puede apreciar en los gráficos previos, el comportamiento general de ambos reactores tanto del TOC como del TN sigue la misma tendencia, lo que refleja que se mantuvieron condiciones de operación similares entre sí y que las diferencias en la eficiencia de remoción de los compuestos de interés se pueden deber al uso de soporte microbiano y las concentraciones variables alcanzadas en la nitrificación de cada ciclo.

Con respecto al TOC, se logró el comportamiento esperado de remoción a causa de la desnitrificación heterótrofa en ambos reactores, alcanzando porcentajes máximos de remoción de más del 70% en la Etapa I y de más del 80% en la Etapa II. Análogamente, se puede observar que, tanto en la Etapa I, como en la Etapa II, RZ alcanzó un mayor nivel de eficiencia comparado con RC, lo que evidencia que los problemas operacionales enfrentados no lograron afectar de forma crítica la remoción de materia orgánica, y podría implicar que la zeolita fue una contribución favorable para los microorganismos asociados, logrando alcanzar una mejora en la eficiencia de remoción del TOC superando el valor máximo de RC con un 89% por sobre un 82% en la Etapa II.

Con respecto a los niveles de TN se puede observar que en ambos reactores el periodo del día 4 al 14 se obtuvieron valores de cero constante entre el inicio y final de la desnitrificación), lo que no es consistente con los niveles de nitrógeno inorgánico (NH_4^+, NO_2^- y NO_3^-) en cada ciclo. Esto se puede atribuir a que, en la medición de las fechas correspondientes, las concentraciones de nitrógeno inorgánico son muy bajas y las concentraciones de nitrógeno orgánico son casi nulas, por lo que están por debajo del límite de detección del equipo. Por otro lado, se tiene

un comportamiento de aumento en los niveles de TN en casi todos los ciclos de ambos reactores (remoción de 0%), lo que se puede atribuir a la porción de nitrógeno orgánico, ya que como se menciona previamente, el nitrógeno inorgánico posee un comportamiento general de remoción efectiva. Este aumento de nitrógeno orgánico se puede atribuir a una muerte celular, lisis o degradación de materia celular, lo que genera la liberación del nitrógeno presente en la biomasa, lo que análogamente podría explicar la disminución en los niveles de SSV de ambos reactores en el tiempo. Además, se puede asumir que la inhibición selectiva de bacterias nitrificantes y la operación en condiciones anóxicas durante la desnitrificación afectó a las bacterias provocando un aumento en los niveles de nitrógeno orgánico.

4.2. Test ADA y ADH

Para comprender el comportamiento metabólico de las bacterias en la desnitrificación se realizó la prueba de actividad desnitrificante, la cual permite comprender la capacidad metabólica de una comunidad bacteriana específica a través de la equivalencia del aumento de presión y la respectiva producción de nitrógeno gaseoso. El ensayo batch se realizó mediante el arreglo de laboratorio que se observa en la Figura 45, el cual permite diferenciar en la mezcla mixotrófica la actividad autótrofa de la heterótrofa según el test ADA y ADH, respectivamente.

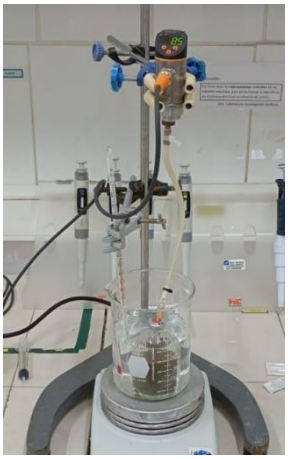


Figura 45: Fotografía del arreglo de laboratorio para el ensayo ADA y ADH.

En los gráficos de las Figuras 46 y 47 se puede observar los resultados de aumento de presión hasta la estabilización para ambos reactores, diferenciando la actividad heterótrofa de la autótrofa según la alimentación sintética selectiva realizada.

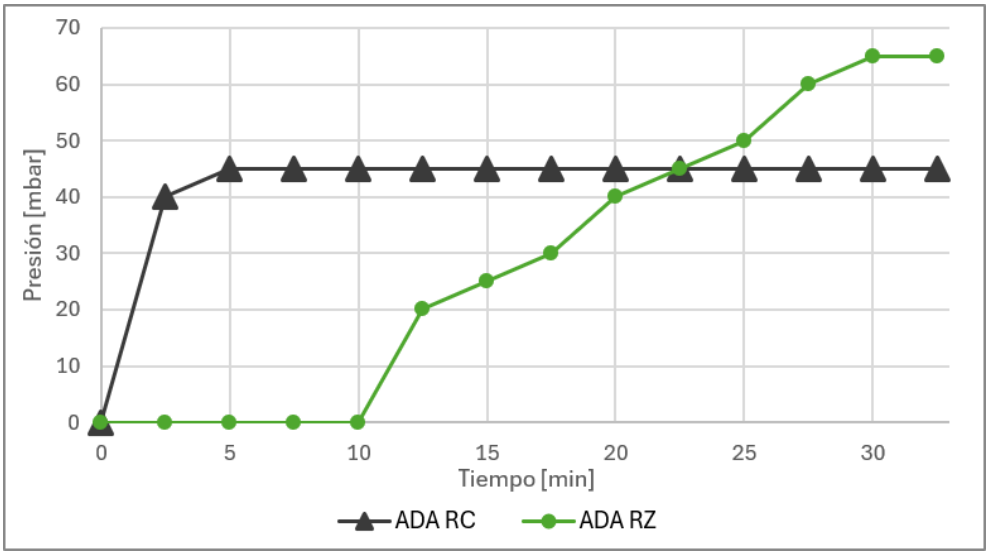


Figura 46: Resultados de ensayo ADA en RC y RZ

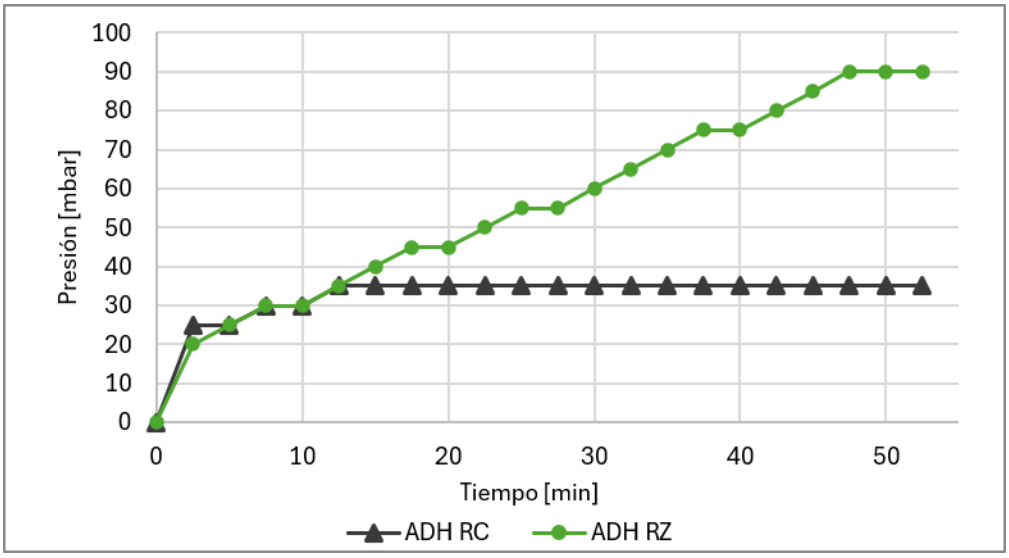


Figura 47: Resultados de ensayo ADH en RC y RZ

A modo general se puede observar que existe una clara diferencia entre RC y RZ, demostrando que en RC la actividad del inóculo comienza y se estabiliza más rápido que en RZ, lo que se refleja en pendientes positivas de mayor magnitud. A partir de las curvas obtenidas, se realizó la Tabla 18, que representa la producción diaria de N_2 según la cantidad de biomasa suspendida en cada reactor.

Tabla 15: Producción diaria de nitrógeno gaseoso (N_2).

Reactor	ADA	ADH
RC [g N - N_2/g SSV·d]	5,270	0,333
RZ [g N - N_2/g SSV·d]	0,892	0,531

A partir de la tabla anterior se puede concluir que efectivamente los reactores funcionaron con una mezcla desnitrificante mixotrófica, además, se puede observar la diferencia de actividad autótrofa ante la heterótrofa en ambos reactores, con una clara predominancia de la actividad autótrofa de RC. Sin embargo, estos resultados no son suficientes para afirmar que la actividad autótrofa predomina ante la actividad heterótrofa, debido a la baja sensibilidad del transductor de presión utilizado y la inestabilidad de temperatura en el arreglo de laboratorio, no obstante, se logró el objetivo de comprobar la coexistencia de ambos tipos de bacterias desnitrificantes en el inóculo de cada reactor.

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

La operación de los reactores secuenciales con y sin zeolita permitió evaluar comparativamente los procesos de nitrificación total, nitrificación parcial y desnitrificación mixotrófica. En términos generales, el reactor control (RC) presentó mejores eficiencias de remoción de compuestos nitrogenados durante la Etapa I, principalmente debido a las dificultades operacionales experimentadas durante la puesta en marcha del reactor con zeolita (RZ). Sin embargo, RZ mostró una mayor capacidad de recuperación frente a las perturbaciones y alcanzó una remoción máxima de amonio de 95 % durante la Etapa II, superando el 93 % obtenido por RC. En consecuencia, la zeolita favoreció las eficiencias de remoción bajo las condiciones evaluadas, aunque las diferencias no fueron generalizadas ni de gran magnitud. Su principal aporte se relacionó con la retención potencial de biomasa y una mayor capacidad de recuperación operacional.

El pH se mantuvo en un promedio de 7,5, dentro del intervalo de 7–8, favorecido por el uso de una solución tampón de fosfato. Las condiciones operacionales equivalentes de oxígeno disuelto (OD) fueron de 0,5–1 [mg O_2/L] durante la Etapa I y de 1–3 [mg O_2/L] durante la Etapa II. Durante un periodo de deficiencia de aireación se observó una estabilización de las concentraciones de amonio, junto con concentraciones nulas o cercanas a cero de nitrito, nitrato, sulfuro y sulfato, evidenciando la importancia de mantener una aireación adecuada para sostener la actividad biológica. Asimismo, el primer ciclo se excluyó de los cálculos pertinentes debido a la presencia de nitrógeno residual asociado al enriquecimiento previo del lodo bajo condiciones de nitrificación total.

Considerando el ciclo completo de nitrificación-desnitrificación, RC alcanzó remociones máximas de amonio de 64 % en la Etapa I y 93 % en la Etapa II, mientras que RZ alcanzó 53 % y 95 %, respectivamente. El menor desempeño inicial de RZ puede relacionarse con su adaptación, los fenómenos de intercambio iónico de la zeolita y las dificultades de sedimentación. No obstante, la mejora durante la Etapa II evidencia la recuperación de su desempeño operacional.

Durante la desnitrificación, ambos reactores alcanzaron remociones máximas de 100 % para nitrito y nitrato. El análisis de la evolución de las remociones mostró un comportamiento estable durante el periodo experimental y una tendencia hacia mejores resultados en la Etapa II. Hacia el final de la operación, las concentraciones de salida de ambas especies tendieron a disminuir incluso cuando aumentaron sus concentraciones de entrada, bajo condiciones en que se ajustaron las concentraciones de los sustratos para mantener las relaciones S/N y C/N establecidas.

El sulfuro disuelto presentó consumo completo al finalizar los ciclos, aunque sus concentraciones de entrada fueron variables debido a los ajustes de sulfuro de sodio (Na_2S). La formación de sulfato también varió entre etapas y reactores, con concentraciones nulas o cercanas a cero durante el periodo de deficiencia operacional y un posterior incremento hacia el final de la experimentación. La presencia de sulfato al inicio de determinados ciclos puede relacionarse con la acumulación de especies oxidadas provenientes de ciclos anteriores o con la oxidación de sulfuro durante la nitrificación. La disminución simultánea de sulfuro, nitrito y nitrato es compatible con una desnitrificación impulsada por compuestos reducidos de azufre. Sin embargo, al no disponer de un balance completo de las especies de azufre, no es posible atribuir todo el sulfato a un único ciclo ni afirmar que todo el sulfuro consumido se transformó directamente en sulfato.

Respecto del carbono orgánico total (TOC), ambos reactores alcanzaron remociones máximas superiores al 70 % durante la Etapa I y al 80 % durante la Etapa II. RZ presentó mayores eficiencias que RC en ambas etapas, alcanzando una remoción máxima de 89 % durante la Etapa II, frente al 82 % de RC. Este comportamiento es compatible con el desarrollo de la desnitrificación heterótrofa y podría indicar una contribución favorable de la zeolita como soporte microbiano. Por otra parte, las variaciones del nitrógeno total (TN) durante determinados ciclos podrían relacionarse con la incorporación y liberación de nitrógeno asociado a la biomasa, incluida su liberación por muerte, lisis y degradación celular. Por ello, los aumentos de TN no pueden explicarse exclusivamente a partir del comportamiento de las especies nitrogenadas inorgánicas.

Los sólidos suspendidos volátiles disminuyeron desde 11,60 hasta aproximadamente 3,16 [g SSV/L] en RC y desde 4,57 hasta aproximadamente 1,83 [g SSV/L] en RZ. Esta variación puede relacionarse con la adaptación de la biomasa y las perturbaciones operacionales. En RZ, también podría reflejar la retención de microorganismos sobre la zeolita, por lo que la concentración de SSV suspendidos no representa necesariamente la biomasa total presente en el reactor. Los ensayos de actividad desnitrificante autótrofa (ADA) y heterótrofa (ADH) evidenciaron la coexistencia de ambas capacidades metabólicas, con una mayor actividad asociada a la ruta autótrofa. No obstante, estos resultados constituyen evidencia complementaria y no permiten cuantificar de manera concluyente la contribución relativa de cada ruta al proceso global.

En relación con los objetivos planteados, fue posible comparar el desempeño de ambos reactores, determinar las concentraciones de especies nitrogenadas y azufradas y de materia orgánica, evaluar las eficiencias de remoción y analizar las diferencias operacionales entre RC y RZ. Si bien se presentaron desviaciones asociadas principalmente a deficiencias de aireación y dificultades de sedimentación, se considera que los objetivos fueron cumplidos. En conjunto, los resultados muestran que la incorporación de zeolita favoreció determinadas eficiencias de remoción y,

especialmente, la recuperación del sistema frente a perturbaciones operacionales, aunque no fue posible cuantificar individualmente la contribución de las rutas desnitrificantes.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda incorporar un sistema de soporte fijo para la zeolita en el reactor RZ, ubicado a una altura intermedia, que evite su desplazamiento durante las distintas etapas del ciclo. Esto permitiría reducir la altura de descarga del efluente y retirar una mayor proporción del líquido, disminuyendo los remanentes entre ciclos y favoreciendo condiciones operacionales más reproducibles. Esta modificación también debería implementarse en RC, con el propósito de minimizar la influencia del líquido residual sobre las concentraciones iniciales de cada etapa y facilitar la comparación entre ambos reactores.

Se recomienda establecer un periodo previo de adherencia y adaptación de la biomasa a la zeolita antes de iniciar la experimentación. Este acondicionamiento permitiría favorecer la formación de biopelícula y aumentar la proporción de biomasa asociada al soporte, lo que podría reducir los problemas de emulsión y sedimentación observados en RZ durante la puesta en marcha.

Se recomienda extender el periodo experimental y aumentar el número de ciclos evaluados, especialmente en RZ, para caracterizar su desempeño una vez superada la etapa inicial de adaptación. Esto permitiría distinguir entre una menor eficiencia inicial y una mayor capacidad de recuperación o robustez operacional, evaluando con mayor claridad el efecto de la zeolita a largo plazo.

Se recomienda incorporar el seguimiento de especies intermedias de nitrógeno y azufre, como el óxido nítrico (NO), el sulfuro de hidrógeno (H_2S) y otras formas intermedias de oxidación del azufre. Estas mediciones permitirían complementar los análisis realizados, esclarecer las transformaciones del sulfuro durante la desnitrificación y el origen del sulfato detectado al inicio de algunos ciclos, además de distinguir entre oxidación, acumulación de intermediarios, volatilización e incorporación a la biomasa.

Se recomienda complementar los ensayos ADA y ADH mediante pruebas de respirometría que permitan caracterizar el consumo de oxígeno de la biomasa frente a distintos sustratos y condiciones operacionales. En particular, la adición controlada de amonio durante estos ensayos podría ayudar a evaluar la actividad nitrificante y posibles efectos inhibitorios, aportando información adicional sobre las capacidades metabólicas de la biomasa presente en RC y RZ. Además, se recomienda realizar os ensayos más frecuentemente en el proceso.

6. Bibliografía

Allewell, N. (2016). Introduction to Biofilms Thematic Minireview Series. *Journal of Biological Chemistry, 291*(24), 12527–12528. https://doi.org/https://doi.org/10.1074/jbc.R116.734103

Anthonisen, A., Loehr, R., Prakasam, T., & Srinath, E. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Water Pollution Control Federation, 48*(5), 835-852.

APHA, AWWA, & WEF. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Vol. 23° ed.). Wahington D.C.: American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation.

Baeza, E. (2022). *bcn.cl*. obtienearchivo.bcn.cl: https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/33830/1/PR_Contaminacion_N.pdf

Balatti y Saparrat. (2025). Capítulo 4: Ciclo del Nitrógeno. En P. A. Balatti, *Los microorganismos y su rol en la producción agrícola*. Facultad de ciencias agrícolas y forestales UNLP.

Barraud, N., Kelso, M., Rice, S., & S., K. (2015). Nitric oxide:a key mediator of biofilm dispersal with applications in infectious diseases. *Current Pharmaceutical Design, 21*, 31- 42. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/1381612820666140905112822

Basaul, C. (2013). *Diseño, puesta en marcha y operación de un proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea en un reactor SBR, usando zeolita natural*. Valparaíso: Universidad Técnica Federico Santa María.

BCN Chile. (2018). *Ley 21.075 Regula la recolección, recolección y disposición de aguas grises*. Biblioteca del Congreso Nacional: https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/37436/1/Presentacion_Reuso_Aguas_Residuales.pdf

Bedoya, J. C. (2012). *Estudio del proceso de nitrificación y desnitridficación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga denitrogeno amoniacal*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

Bellenger, A. M. (2023). *Enriquecimiento y puesta en marcha de un sistema SBR para evaluar el efecto de la zeolita como soporte microbiano en la eliminación de nitrógeno amoniacal mediante el proceso de nitrificación parcial*. Valparaíso: Universidad Técnica Federico Santa María.

Bhagavan, N. (2002). Chapter 1- Water, Acids, Bases and Buffers. En N. Bhagavan, *Medical Biochemistry* (págs. 1-16). San Diego: Academic Press.

Biobox. (2025). *biobox-water.com*. https://biobox-water.com/noticias/el-ciclo-del-nitrogeno-entendiendo-su-papel-fundamental-en-la-naturaleza/

Britannica. (2026). *britannica.com*. Enciclopedia británica : https://www.britannica.com/technology/Haber-Bosch-process

Brouwer, N., Connuck, H., Dubniczki, H., Houston, E., Howard, A., & Nath, L. (2024). Ecología para todos. In H. C. Nathan Brouwer, *Capitulo 20.7 Ciclo del azufre.* libretext.org.

Burghate y Ingole. (2014). Biological denitrification. *Enviromental science, computer science ans engineering & technology, 3*(1), 9 - 28.

Campos, J., Vázquez-Padín, J., Fernandez, I., Fajardo, C., Seca, I., Mosquera-Corral, A., & Pampín, R. (2009). Capítulo 4: Procesos avanzados de eliminación de nitrógeno: nitrificación parcial, Anammox, desnitrificación autótrofa. In J. V.-P.-C. J.L. Campos. Universidad de Santiago de Compostela.

Cardenas y Sanchez. (2012). *scielo.org*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072013000100007

Cheung, G., Hwang-Soo, J., Chatterjee, S., & Otto, M. (2014). Phenol-soluble modulins - critical determinants of staphylococcal virulence. *FEMS Microbiology Review, 38*(4), 698-719. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1574-6976.12057

Curi, A., Granda, W., Lima, H. M., & Sousa, W. (2006). Zeolites and their application in the decontamination of mine wastewater. *Información Tecnológica, 17*(6), 111-118. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642006000600017

Dapena, A., Fernández, I., Campos, J., Mosquera-Corral, A., Méndez, R., & 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*(4), 859-865. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.06.018

Di Capua, F., Pirozzi, F., Lens, P. N., & Esposito, G. (2019). Electron donors for autotrophic denitrification. *Chemical Engineering Journal, 362*, 922 - 937. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.069

Dolejs, P., Paclik, L., Maca, J., Pokorna, D., Zabranska, J., & Bartacek, J. (2014). Effect of S/N ratio on sulfide removal by autotrophic denitrification. *Applied Microbiology and Biotechnology, 99*(5), 2383-2392. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00253-014-6140-6

Englert y Rubio. (2005). Characterization and environmental application of a Chilean natural zeolite. *International Journal of Mineral Processing, 75*(1-2), 21-29. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.minpro.2004.01.003

EPA. (2026). *espanol.epa.gov.* https://espanol.epa.gov/espanol/contaminacion-por-nutrientes

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2025). *ourworldindata.org*. https://ourworldindata.org/fertilizers

Fu, X., Hou, R., Yang, P. Q., Feng, Z., Chen, Z., & Wang, F. (2022). Application of external carbon source in heterotrophic denitrification of domestic sewage: A review. *Science of the Total Environment, 817*, 151696. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153061

Ge, S., Wang, S., Yang, X., Qui, S., Li, B., & Peng, Y. (2015). Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. *Chemosphere, 140*, 85-98. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.004.

Gómez, E. B. (2018). *bcn.cl*. obtienearchivo.bcn.cl: https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/25552/2/Informe_Tratamiento_Aguas_Residuales.pdf

Guerrero. (2023). *aidis.cl*. https://www.aidis.cl/wp-content/uploads/2023/08/04.-Sra.-Lorna-Guerrero-UTFSM.pdf

Guerrero, L., Huiliñir, C., Montalvo, S., & Barahona, A. (2017). *Tratamiento anaerobio de residuos*. Santiago: Universidad de Santiago de Chile.

Gul y Rias. (2026). Chapter 14 - Implications of nitrogen cycling on soil microbial activity. In T. A. Kurniawan, & A. Anouzla (Eds.), *Nonpoint Source Nitrogen Pollution: Challenges, Solutions, and Sustainable Approaches* (pp. 289-310). Amsterdam: Elsevier. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-443-29070-1.00010-0

Huiliñir, C., Fuentes, V., Esposito, G., Montalvo, S., & Guerrero, L. (2020). Nitrification in the presence of sulfide and organic matter in a sequencing moving bed biofilm reactor (SMBBR) with zeolite as biomass carrier. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 95*(1), 173–182. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jctb.6219

Huynh, V. V., Tra Ngo, M. T., Itayama, T., & Nguyen, M. T. (2023). Dynamic of microbial community in simultaneous nitrification and denitrification process: A review. *Bioresource Technology Reports, 22*(101415). https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101415

Interfaint Center for Sustainable Development. (2026). *interfaithsustain.com*. https://interfaithsustain.com/nitrogen-pollution/

Knobelsdorf. (2005). Capítulo 3: Depuración biológica de las aguas residuales urbanas. En J. Knobelsdorf Miranda, *Eliminación biológica de nutrientes en un ARU de baja carga orgánica mediante el proceso VIP*. Barcelona: UPC. https://doi.org/https://www.tdx.cat/handle/10803/5909#page=1

Kopriva y Kopriva. (2003). Sulphate assimilation: A pathway which likes to surprise. In *Sulphur in plants* (pp. 87-112). Kluwer Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0289-8_5

Lewandowski y Boltz. (2011). Biofilms in Water and Wastewater Treatment. En P. A. Wilderer, *Treatise on Water Science* (págs. 529-570). Oxford: Elsevier.

Metcalf y Eddy. (2001). *Ingeniería de aguas residuales: Tratamiento, vertido y reutilización*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.

Mohan, K., Nancharaiah, Y., Venugopalan, V., & Satya Sai, P. (2016). Effect of C/N ratio on denitrification of high-strength nitrate wastewater in anoxic granular sludge sequencing batch reactors. *Ecological Engineering, 91*, 441- 448. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.02.033

Montalvo, S., Guerrero, L., Borja, R., Sánchez, E., Milán, Z., Cortés, I., & De la Rubia, M. A. (2012). Application of natural zeolites in anaerobic digestion processes: A review. *Applied Clay Science, 58*, 125-133. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clay.2012.01.013

Münch, E., Lant, P., & Keller, J. (1996). Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. *Water Research, 30*(2), 277-284. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354(95)00174-3

National Geographic. (2025). *nationalgeographic.com.es*. https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/propiedades-azufre-s_18220

Niels O.G. Jorgensen, L. T. (1998). Effects of sunlight on occurrence and bacterial turnover of specific carbon and nitrogen compounds in lake water. *FEMS Microbiology Ecology, 25*(3), 217-227. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1998.tb00474.x

Ortega y Hernández. (2018). Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México, 75*(2), 79-88. https://doi.org/https://doi.org/10.24875/bmhim.m18000012

Pacheco, J., Pat Canul, R., & Cabrera, A. (2002, septiembre 3). Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos. *Ingeniería Revista Académica, 6*(3), 73-81. https://doi.org/https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46760308

Palacios, M. (2023). *Estudio de la influencia de la fuente de azufre y de la relación S/N en la desnitrificación simultánea* . Valparaíso: Universidad Técnica Federico Santa María.

Pochana y Keller. (1999). Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification. *Water Science and Technology, 39*(6), 61-68. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00123-7

Rahimi, S., Modin, O., & Mijakovic, I. (2020). Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. *Biotechnology Advances, 43*(107570), 9. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107570

Rekabi, W., Khafaji, S., Hassan, A., & Janna, H. (2021). Effectiveness of Sequencing Batch Biofilm Reactor Technology to Treat a Domestic Wastewater in Basrah City. *Journal of*

Ecological Engineering, 22(8), 234-242. https://doi.org/https://doi.org/10.12911/22998993/138999

Spira, R. (2019). *ebsco.com*. https://www.ebsco.com/research-starters/earth-and-atmospheric-sciences/sulfur-cycle#full-article

Tam, N., Wong, Y., & Leung, G. (1992). Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrients by the nitrification-denitrification process. *Water Research, 26*(9), 1229-1236. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354(92)90183-5

Tantak, N. P., Chandan, N. K., & Raina, P. (2014). An Introduction to Biological Treatment and Successful Application of the Aqua EMBR System in Treating Effluent Generated from a Chemical Manufacturing Unit. In V. V. Ranade, *Industrial Wastewater Treatment, Recycling and Reuse* (pp. 369-397). Oxford: Elsevier Inc.

Tauseef, S., Abbasi, T., & Abbasi, S. (2013). Energy recovery from wastewaters with high-rate anaerobic digesters. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 19*, 704-741. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.056

UNEP. (2008). *unep.org*. https://www.unep.org/cep/wastewater-sewage-and-sanitation

UNEP. (2026). *unep.org*. https://www.unep.org/facts-about-nitrogen-pollution

Varjani y Gnansounou. (2017). Microbial dynamics in petroleum oilfields and their relationship with physiological properties of petroleum oil reservoirs. *Bioresource Technology, 245*(A), 1258-1265. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.028

Vásquez, M. (2010). *Desnitrificación vía nitrito en un reactor UASB utilizando zeolita chilena*. Valparaíso: Universidad Técnica Federico Santa María.

Velázquez, C., Velázques, I., Delgado, F., & Guevara, F. (2026). Dinámica del azufre en el sistema suelo planta y las transformaciones microbianas asociadas. *e-CUCBA, 13*(28), 13-18. https://doi.org/http://e-cucba.cucba.udg.mx/index.php/e-Cucba/article/view/425

Vergara, C., Muñoz, R., Campos, J. L., Seeger, M., & Jeison, D. (2016). Influence of light intensity on bacterial nitrifying activity in algal-bacterial photobioreactors and its implications for microalgae-based wastewater treatment. *International Biodeterioration & Biodegradation, 114*, 116-121. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.06.006

Yuan, Z., Kang, D., Li, G., Lee, J., Han, I., Wang, D., Zheng, P., Reid, M. C., & Gu, A. Z. (2021). Combined Enhanced Biological Phosphorus Removal (EBPR) and Nitrite Accumulation for Treating High-Strength Wastewater. *bioRxiv*. https://doi.org/https://doi.org/10.1101/2021.01.16.426983

ZeoMaule. (2025). *Ficha técnica zeolita natural*. Zeolita del Maule: www.zeolitadelmaule.com

Zhang, J., Feng, D., Zhao, M., Wang, Z., Jiang, S., & Jin, Z. (2023). A comprehensive review on mixotrophic denitrification processes for biological nitrogen removal. *Chemosphere, 313*(137474). https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137474

Zhao, H., Guo, Y., Wang, Q., Zhang, Z., Wu, C., Gao, M., & Liu, F. (2022). The Summary of Nitritation Process in Mainstream Wastewater Treatment. *Sustainability, 14*(24), 16453. https://doi.org/https://doi.org/10.3390/su142416453

Zhou y Wang. (2024). Sulfur-based mixotrophic denitrification: A promising aproach for nitrogen removal from low C/N ratio wastewater. *Science of the total environment, 957*(177419). https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177419

Zhu, G., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q., & Wang, S. (2008). Biological Removal of Nitrogen from wastewater. In G. P. Zhu, *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 159-195). New York: Springer.

Anexos

A) Procedimientos experimentales

Sólidos Suspendidos Totales

Principio

Una muestra homogenizada se hace pasar a través de un filtro de fibra de vidrio, los residuos retenidos en el filtro son secados en una estufa a una temperatura de 103-105 [°C], la diferencia de peso hace referencia a los sólidos suspendidos totales (SST).

Su cuantificación se realiza en base a lo establecido en el método 2540 D – Total Suspended Solids Drie at 103-105 [°C] de "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater"* (APHA *et al.*, 2017).

Equipo y materiales

- Filtro fibra de vidrio diámetro 47 [mm]
- Bomba de vacío Rocker 6000
- Matraz Kitasato
- Embudo Büchner
- Placa Petri
- Pinzas
- Piseta con agua destilada
- Micropipeta
- Estufa con un rango de temperatura 103-105 [°C]
- Desecador con sílica gel
- Balanza analítica con precisión 0,1 [mg]

Procedimiento

1. Poner el papel filtro en el aparato de filtración, aplicando vacío y lavando con 20 [mL] de agua destilada tres veces hasta eliminar por completo el agua de lavado, se retira el filtro con ayuda de pinzas y se coloca sobre una placa Petri para ser llevado a la estufa a 103 - 105 [°C] por un periodo de 30 minutos, posteriormente se espera hasta alcanzar una temperatura templada y se enfría en el desecador para luego ser pesado en la balanza analítica, este valor corresponde al peso A.
2. Colocar filtro de vidrio en aparato de filtración y, humedecer levemente con agua destilada, adicionar un volumen conocido de muestra homogenizada en [mL] aplicando vacío hasta eliminar el agua residual del filtro.

3. Retirar el filtro con la ayuda de una pinza y colocarlo sobre una placa Petri, llevándolo a la estufa a 103-105 [°C] durante un periodo de una hora.
4. Transcurrido el tiempo, se retiran de la estufa hasta alcanzar la temperatura templada y se lleva al desecador para enfriarlo, finalmente se utiliza la balanza analítica para el registro del peso del filtro post estufa, este valor corresponde al peso B.

Cálculo

Para la obtención de los sólidos suspendidos totales (SST) se utiliza la siguiente ecuación:

$$SST\ \left[\frac{mg}{L}\right] = \frac{(B-A)[mg]}{V[mL]} \cdot 1000[\frac{mL}{L}]$$

En donde:

- SST: Sólidos suspendidos totales
- A: Masa del filtro inicial
- B: Masa del filtro con muestra homogeneizada seca
- V: Volumen de muestra

Sólidos Suspendidos Volátiles

Principio

La muestra que queda adherida en los filtros correspondiente a los sólidos suspendidos totales (SST), se almacena en crisoles de porcelana para ser llevados a una mufla a 550 [°C], la muestra calcinada corresponde a la materia inorgánica de la muestra, mientras que la pérdida de peso, es decir, la parte que se volatilizó corresponde a los sólidos suspendidos volátiles (SSV).

Su cuantificación se realiza a través de lo establecido en el método 2540 E – Fixed and Volatile Solids Ignite at 550 [°C] de "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater"* (APHA *et al.*, 2017)

Equipos y materiales

- Filtro fibra de vidrio diámetro 47 [mm]
- Bomba de vacío Rocker 6000
- Matraz Kitasato
- Embudo Büchner
- Placa Petri
- Pinzas
- Piseta con agua destilada
- Micropipeta

- Crisol de porcelana para un volumen de 20 [mL]
- Estufa con un rango de temperatura 103-105 [°C]
- Desecador con sílica gel
- Mufla con set-point de 550 [°C]
- Balanza analítica con precisión 0,1 [mg]

Procedimiento

- Poner el papel filtro en el aparato de filtración, aplicando vacío y lavando con 20 [mL] de agua destilada tres veces hasta eliminar por completo el agua de lavado, se retira el filtro con ayuda de pinzas y se coloca sobre una placa Petri para ser llevado a la estufa a 103 105 [°C] por un periodo de 30 minutos, posteriormente se espera hasta alcanzar una 65 temperatura templada y se enfría en el desecador para luego ser pesado en la balanza analítica, este valor corresponde al peso A.
- Colocar filtro de vidrio en aparato de filtración y, humedecer levemente con agua destilada, adicionar un volumen conocido de muestra homogenizada en [mL] aplicando vacío hasta eliminar el agua residual del filtro.
- Retirar el filtro con la ayuda de una pinza y colocarlo sobre una placa Petri, llevándolo a la estufa a 103-105 [°C] durante un periodo de una hora.
- Transcurrido el tiempo, se retiran de la estufa hasta alcanzar la temperatura templada y se lleva al desecador para enfriarlo.
- Retirar crisoles de la estufa hasta alcanzar una temperatura templada y colocar en desecador para enfriarlos, posteriormente pesar en balanza analítica, este valor corresponde al peso B.
- Con la ayuda de unas pinzas, doblar cuidadosamente el filtro con muestra homogenizada y, colocarlo en un crisol previamente tarado, posteriormente cerrar el crisol con una tapa de porcelana.
- Llevar crisoles con muestra a la mufla y esperar hasta que la temperatura alcance los 550 [°C], posteriormente dejar los crisoles durante un periodo de una hora.
- Transcurrido el tiempo, se dejan a la intemperie hasta alcanzar una temperatura templada y son llevados al desecador para ser enfriados, finalmente, utilizando la balanza analítica se registra el peso del crisol con la muestra calcinada, este valor corresponde al peso C.

Cálculo

Para la obtención de los sólidos suspendidos totales (SSV) se utiliza la siguiente ecuación:

$$SSV\ \left[\frac{mg}{L}\right] = \frac{A-(C-B)[mg]}{V[mL]} \cdot 1000[\frac{mL}{L}]$$

En donde:

- SSV: Sólidos suspendidos volatiles
- A: Masa del filtro inicial
- B: Masa del crisol sin muestra
- C: Masa del crisol con muestra calcinada
- V: Volumen de muestra

Concentración de amonio NH4+

Principio

Se forma un compuesto de un color azul intenso, indofenol, el cual es proporcional a la cantidad de amonio presente en la muestra, este se genera a partir de la reacción del amonio con el hipoclorito y el fenol, utilizando como catalizador el nitroprusiato de sodio.

Su cuantificación se realiza a través de lo establecido en el método 4500 NH_3 F – Phenate Method de "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*" (APHA *et al.*, 2017)

Equipos y materiales

- Vaso precipitado
- Piseta con agua ultrapura
- Piseta con alcohol etílico al 95%
- Matraces aforados de 25 [mL]
- Matraces Erlenmeyer de 50 [mL]
- Matraz aforado de 100 [mL]
- Vaso precipitado de 1000 [mL]
- Micropipeta
- Probeta de vidrio de 100 [mL] con margen de error de 0,75 [mL]
- Probeta de vidrio de 10 [mL] con margen de error de 0,2 [mL]
- Parafilm
- Botella ámbar
- Celdas de plástico de 1 [cm] de paso de luz
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS Optizen con un rango de operación de 600-700 [nm] con celdas de paso óptico de 1 [cm]
- Centrifuga Hermle Z 206 A
- Campana de extracción de aire

Reactivos y soluciones

- Solución patrón de NH_4^+ (1000 [mg/L])
- Fenol liquificado
- Nitroprusiato de sodio 0,5 %
- Citrato alcalino
- Hipoclorito de sodio solución comercial al 5%

Preparación soluciones:

1. Solución fenol liquificado 90%: A 10 [g] de fenol se les adiciona 1 [mL] de agua destilada, posteriormente se extrae una alícuota de 11,1 [mL] de la muestra preparada y depositar en un matraz de 100 [mL] y aforar con etanol al 95%, es importante realizar este procedimiento bajo campana para minimizar la exposición a la sustancia, finalmente se almacena refrigerado.
2. Nitroprusiato de sodio 0,5% m/v: En una balanza, pesar 0,5 [g] de la sustancia y trasvasijar a un matraz de 100 [mL] para aforarlo, este debe ser almacenado en una botella ámbar y tiene una duración máxima de un mes refrigerado.
3. Citrato alcalino: A un vaso precipitado de 1000 [mL] se añaden 200 [g] de citrato de sodio y 10 [g] de hidróxido de sodio, posteriormente añadir 500 [mL] de agua destilada y homogenizar la mezcla, finalmente se incorpora agua hasta los 1000 [mL] y se almacena la solución en una botella ámbar.
4. Solución oxidante: Utilizando una probeta de vidrio de 100 [mL] se añade el citrato alcalino, incorporando 2 [mL] por cantidad de muestras, luego utilizando una probeta de vidrio de 10 [mL] se añade el hipoclorito de sodio, incorporando 0,5 [mL] por cantidad de muestra, finalmente todo se trasvasija en un vaso precipitado y se agita levemente para su homogenización.

Procedimiento

- Curva de calibración:
    - Utilizando una pipeta se extrae 1 [mL] de la solución patrón de NH_4^+, posteriormente trasvasijar a un matraz de 100 [mL] y completar el aforo con agua destilada (esta solución posee una concentración de 10 [mg/L]).
    - Calcular los volúmenes de muestra correspondientes para realizar la curva de calibración en un rango de 0-0,6 [mg N – NH_4^+ /L].
- Medición:

- Tomar 25 [mL] de muestra previamente filtrada, la cual puede ser diluida o no, e incorporar en un matraz Erlenmeyer de 50 [mL], posteriormente adicionar en el siguiente orden:
  - 1 [mL] de fenol liquidificado
  - 1 [mL] de nitroprusiato de sodio 0,5 % m/v
  - 2,5 [mL] de solución oxidante
- Entre cada reactivo agitar levemente el matraz, todo el procedimiento debe ser realizado bajo campana extractora de aire, finalmente sellar los matraces con parafilm y dejar reposar durante un periodo de una hora a luz tenue a una temperatura de 22-27 °C, la coloración de la muestra tiene una duración de 24 horas desde la adición de los reactivos.
- Transcurrido el tiempo de reposo, se procede a realizar la medición en el espectrofotómetro, ingresando la longitud de onda correspondiente al amonio (635 [nm]), medición realizada en el modo Single Wave.
- Se lava tres veces la celda de plástico para acondicionamiento de esta y finalmente se coloca en las celdas de paso óptico para medir la absorbancia de la muestra.
- Posteriormente al tener los resultados de absorbancia, se ingresa a la curva de calibración ajustada mediante una regresión lineal, esta tiene la siguiente forma:

$$Absorbancia = m \cdot Concentración\ N - NH_4{}^+ [\frac{mg}{l}] + b$$

En donde:

- m: pendiente de la curva
- b: intercepto de la curva

- Finalmente, a partir de los parámetros obtenidos en la curva de calibración y considerando el factor de dilución aplicado (*fd*), se determina la concentración de amonio correspondiente mediante la siguiente expresión:

$$Concentracion\ N - NH_4{}^+ \left[\frac{mg}{L}\right] = fd \cdot \frac{Absorbancia - b}{m}$$

Concentración de nitrito NO_2^-

Principio

Se determina a partir de la formación de un colorante azo rojizo púrpura, generado en un ambiente acido en un rango de pH entre 2,0 – 2,5 por

acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con N – (1 – Naftil) etilendiamina dihidriclorada (diclorhidrato de NED).

Su cuantificación se realiza a través de lo establecido en el método 4500 NO_2 B – Colorimetric Method de "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*" (APHA *et al.*, 2017).

Equipos y materiales

- Vaso precipitado
- Piseta con agua ultrapura
- Piseta con alcohol etílico al 95%
- Matraces aforados de 25 [mL]
- Vaso precipitado de 1000 [mL]
- Micropipeta
- Botella ámbar
- Celdas de plástico de 1 [cm] de paso de luz
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS Optizen con un rango de operación de 500-600 [nm] con celdas de paso óptico de 1 [cm]
- Centrifuga Hermle Z 206 A

6.1.1.1. Reactivos y soluciones

- Agua exenta de nitrito
- Ácido fosfórico
- Sulfanilamida
- Permanganato de potasio
- N-(1-Naftil)- etilendiamina dihidriclorada
- Patrón Nitrito

Preparación del reactivo: Comenzar disolviendo 100 [mL] de ácido fosfórico al 85% en 800 [mL] destilada, adicionando 10 [g] de sulfanilamida, posteriormente disolver la solución y adicionar 1 [g] de N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidriclorada, aforar hasta completar un litro y trasvasijar a una botella ámbar. Guardar reactivo refrigerado.

Procedimiento

- Curva de calibración:
    - Utilizando una pipeta se extrae 1 [mL] de la solución patrón de NO2, posteriormente trasvasijar a un matraz de 500 [mL] y completar el aforo con agua destilada (esta solución posee una concentración de 0,2 [mg/L]).
    - Calcular los volúmenes de muestra correspondientes para realizar la curva de calibración en un rango de 0-1 [mg N – NO_2^-/L].

- Medición:
    - Tomar un volumen de muestra conocido previamente filtrado, la cual puede ser diluida o no, e incorporar en un matraz aforado de 25 [mL], completando el aforo con agua ultrapura.
    - Añadir 1 [mL] de reactivo de nitrito a la muestra aforada, luego esperar un periodo de 10 minutos, tiempo necesario para que ocurra la coloración respectiva de la muestra.
    - Transcurrido el tiempo de reacción, se procede a realizar la medición en el espectrofotómetro, ingresando la longitud de onda correspondiente al nitrito (543 [nm]), medición que es realizada en el modo Single Wave.
    - Se lava tres veces la celda de plástico para acondicionamiento de esta y finalmente se coloca en las celdas de paso óptico para medir la absorbancia de la muestra.
    - Posteriormente al tener los resultados de absorbancia, se ingresa a la curva de calibración ajustada mediante una regresión lineal, esta tiene la siguiente forma:

$$Absorbancia = m \cdot Concentración\ N - NO_2^- [\frac{mg}{l}] + b$$

En donde:

- m: pendiente de la curva
- b: intercepto de la curva

    - Finalmente, a partir de los parámetros obtenidos en la curva de calibración y considerando el factor de dilución aplicado (*fd*), se determina la concentración de nitrito correspondiente mediante la siguiente expresión:

$$Concentración\ N - NO_2^- \left[\frac{mg}{L}\right] = fd \cdot \frac{Absorbancia - b}{m}$$

Concentración de nitrato NO_3^-

Principio

La medición de la muestra se basa en la técnica con luz ultravioleta, proceso en el cual se mide la absorbancia a 200 [nm], rango apropiado para muestras con un bajo contenido de materia orgánica disuelta, esto permite una medición rápida para estimar la cantidad de nitrato, ya que la materia orgánica no absorbe esta longitud de onda, y por su contraparte el nitrato no absorbe la longitud a 275 [nm], por lo que se realiza una segunda medición a esta longitud para corregir el valor de nitrato obtenido.

Su cuantificación se realiza a través de lo establecido en el método 4500 NO_3 B – Ultraviolet Spectrophotomectric Screening Method de "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*" (APHA *et al.*, 2017).

Equipos y materiales

- Vaso precipitado
- Piseta con agua ultrapura
- Piseta con alcohol etílico al 95%
- Matraces aforados de 25 [mL]
- Vaso precipitado de 1000 [mL]
- Micropipeta
- Botella ámbar
- Celdas de cuarzo de 1 [cm] de paso de luz
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS Optizen con un rango de operación de 200-300 [nm] con celdas de paso óptico de 1 [cm]
- Centrifuga Hermle Z 206 A

6.1.1.2. Reactivos y soluciones

- Solución stock de nitratos
- Solución intermedia de nitratos
- Solución HCl

Preparación soluciones:

1. Solución intermedia de nitrato: Se extraen 100 [mL] de la solución stock y se diluye en un litro de agua destilada, en donde cada mililitro de solución contiene 10 microgramos de nitrato, al igual que solución stock, es necesario añadir cloroformo para su preservación. Esta mezcla es utilizada para realizar la curva de calibración.
2. Solución HCL 1N: La solución se prepara a partir de 83 [mL] de HCl concentrado, el cual posteriormente es aforado hasta completar un litro almacenándolo en botella ámbar, en paralelo se seca carbonato de sodio en la estufa en un rango de temperatura de 206 – 270 [°C] durante una hora, producto que será utilizado como patrón primario para estandarizar la solución de HCl. El proceso debe realizarse bajo campana.

6.1.1.3. Procedimiento

- Curva de calibración:
    - Se preparan estandarizados de nitrato con la solución intermedia de nitratos añadiendo mediante una bureta volúmenes conocidos para realizar la curva de calibración en un rango de 0-7 [mg N – NO_3^- /L].
- Medición:

- Tomar un volumen de muestra conocido previamente filtrado, la cual puede ser diluida o no, e incorporar en un matraz aforado de 25 [mL], completando el aforo con agua ultrapura.
- Añadir 0,5 [mL] de HCl a la muestra aforada, luego se procede a realizar la medición en el espectrofotómetro, ingresando la longitud de onda correspondiente al nitrato (210 - 275 [nm]), medición que es realizada en el modo Multi Wave.
- Se lava tres veces la celda de cuarzo para acondicionamiento de esta y finalmente se coloca en las celdas de paso óptico para medir la absorbancia de la muestra.
- Posteriormente al tener los resultados de absorbancia, se ingresa a la curva de calibración ajustada mediante una regresión lineal, esta tiene la siguiente forma:

$$Absorbancia = m \cdot Concentración\ N - NO_3^- [\frac{mg}{l}] + b$$

En donde:

- m: pendiente de la curva
- b: intercepto de la curva

- Finalmente, a partir de los parámetros obtenidos en la curva de calibración y considerando el factor de dilución aplicado (*fd*), se determina la concentración de nitrato correspondiente mediante la siguiente expresión:

$$Concentración\ N - NO_3^- \left[\frac{mg}{L}\right] = fd \cdot \frac{Absorbancia - b}{m}$$

Concentración de sulfuro S^{2-}

Principio

Se utiliza un electrodo selectivo para la medición del sulfuro contenido en la muestra.

Equipos y materiales

- Agitador magnético
- Matraces aforados de 50 [mL]
- Vasos precipitados de 100 [mL]
- Matraz Erlenmeyer 1000 [mL]
- Botella ámbar
- Piseta con agua ultrapura
- Electrodo específico para sulfuro

6.1.1.4. Reactivos y soluciones

- Hidróxido de sodio
- Ácido ascórbico
- EDTA disódica

Preparación soluciones:

1. Solución SAOB: Se añade 80 [g] de hidróxido de sodio a un matraz Erlenmeyer 1000 [mL] y luego añadir 800 [mL] de agua ultrapura agitándolo hasta disolver. Luego, añadir 35 [g] de ácido ascórbico y 67 [g] de EDTA, agitando y completando con agua hasta alcanzar el litro, la solución debe ser almacenada sin acceso a luz. El producto final es de color transparente o amarillo pálido, si es torna de color oscuro, se debe descartar.

Procedimiento

Para la preparación, en un matraz de 25 [mL] se añade 12,5 [mL] de la solución SAOB, para la toma de muestra, si se trata del inicio de la desnitrificación se toma un volumen de muestra de 2,5 [ml], y si se trata del efluente de este proceso, la muestra es de 10 [mL], finalmente se completa el aforo y se trasvasija a un vaso precipitado de 100 [ml] aplicando agitación. Medir la concentración hasta que el electrodo marque un valor estable.

Concentración de sulfato SO_4^{2-}

Principio

El ion sulfato, en un medio ácido, reacciona con el cloruro de bario formando cristales de tamaño uniforme. La cantidad de estos cristales es directamente proporcional a la concentración de sulfato presente en el sistema, lo que permite realizar su cuantificación mediante la medición de absorbancia a una longitud de onda de 420 [nm].

Su cuantificación se realiza a través de lo establecido en el método 4500 SO42- E – Turbidimetric Method de "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*" (APHA *et al.*, 2017).

Equipos y materiales

- Vaso precipitado
- Piseta con agua ultrapura
- Piseta con alcohol etílico al 95%
- Matraces aforados de 50 [mL]
- Vaso precipitado de 1000 [mL]
- Micropipeta

- Varilla de vidrio
- Vaso precipitado de 100 [mL]
- Probeta de 100 [mL]
- Botella ámbar
- Celdas de plástico de 1 [cm] de paso de luz
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS Optizen con un rango de operación de 400-500 [nm] con celdas de paso óptico de 1 [cm]
- Centrifuga Hermle Z 206 A

6.1.1.5. Reactivos y soluciones

- Solución trazable de sulfatos P.A. Merck
- Cloruro de bario di hidratado P.A. Merck
- Solución acondicionadora para sulfato

Preparación soluciones:

1. Solución acondicionadora de sulfato: Su preparación debe seguir un orden específico, comenzando con la adición de 300 [mL] de agua destilada a un vaso precipitado de 1 [L], luego 30 [mL] de ácido clorhídrico concentrado, 100 [mL] de alcohol isopropilico y 75 [g] de cloruro de sodio, por último, añadir 50 [mL] de glicerol medido en una probeta y completar el aforo en el vaso precipitado hasta alcanzar los 500 [mL]. Es importante que después de cada componente, la solución debe ser agitada.
   La adición de este indicador a la hora de realizar la medición es de vital importancia, permitiendo la suspensión de los iones sulfatos al ser leídos en el espectrofotómetro, de lo contrario, se produciría la precipitación de estos al adicionar el cloruro de bario.

Procedimiento

- Curva de calibración:
  - Con la ayuda de una bureta, se añaden concentraciones de sulfato conocidas a matraces de 100 [mL], para al menos obtener 6 calibraciones que vayan desde 0 [mg/L] a 40 [mg/L].
- Medición:
  - Se toma un volumen de muestra conocida y se deposita a un matraz aforado de 50 [mL], completando el aforo con agua ultrapura.
  - La solución se trasvasija a un vaso precipitado de 100 [mL], añadiendo 2,5 [mL] de indicador agitando con una varilla de vidrio.
  - A la solución previamente homogenizada, se le añade una pizca de cloruro de bario, y nuevamente con la varilla de agitación se

mezcla, importante que luego de este paso, la muestra debe ser medida dentro de un periodo de 5 minutos.

- Luego se procede a realizar la medición en el espectrofotómetro, ingresando la longitud de onda correspondiente al sulfato (420 [nm]), medición que es realizada en el modo Single - Wave.
- Se lava tres veces la celda de plástico para acondicionamiento de esta y finalmente se coloca en las celdas de paso óptico para medir la absorbancia de la muestra.
- Posteriormente al tener los resultados de absorbancia, se ingresa a la curva de calibración ajustada mediante una regresión lineal, esta tiene la siguiente forma:

$$Absorbancia = m \cdot Concentración\ S - {SO_4}^{2-}[\frac{mg}{l}] + b$$

En donde:

- m: pendiente de la curva
- b: intercepto de la curva

- Finalmente, a partir de los parámetros obtenidos en la curva de calibración y considerando el factor de dilución aplicado (*fd*), se determina la concentración de sulfato correspondiente mediante la siguiente expresión:

$$Concentración\ S - {SO_4}^{2-}\left[\frac{mg}{L}\right] = fd \cdot \frac{Absorbancia - b}{m}$$

Ensayo de actividad desnitrificante autótrofa y heterótrofa (Test ADA y ADH)

Principio

La estimación de la actividad desnitrificante autótrofa/ heterótrofa se realiza en un vial de vidrio, proceso llevado a cabo mediante ensayos batch. El objetivo es medir la variación de presión en un tiempo determinado mediante un transductor de presión, variación que corresponde a la generación de nitrógeno en el medio.

Equipo y materiales

- Vial de vidrio de 120 [mL]
- Sellos de aluminio
- Jeringa ultrafina de 1 [mL] con aguja 30Gx5/16´´
- Barra magnética de agitación
- Placa de agitación con calefactor
- Gas helio

- Vaso precipitado de 1000 [mL]
- Termómetro
- Transductor de presión en [mbar]
- Soporte metálico
- Crimper

6.1.1.6. Reactivos y soluciones

- Tampón fosfato
- Alimentación desnitrificante autótrofa
- Alimentación desnitrificante heterótrofa

Preparación soluciones:

1. Tampón fosfato: Se añade a un matraz aforado de 1 [L] 8,80 [g] de K2HPO4 y 6,74 [g] de KH2PO4, luego con un agitador magnético se agita la solución junto con agua ultrapura diluyendo los componentes, finalmente se completa el aforo con agua ultrapura.
2. Alimentación desnitrificante autótrofa: Se prepara una solución, la cual contiene nitrito de sodio (NaNO2) y sulfuro de sodio (Na2S), compuestos que entregaran la fuente de nitrógeno y azufre a la solución.
3. Alimentación desnitrificante heterótrofa: Se prepara una solución, la cual contiene nitrito de sodio (NaNO2) y acetado de potasio (C2H3KO2), compuestos que entregaran la fuente de nitrógeno y carbón a la solución.

Concentraciones para los ensayos:

En las Tablas 19 y 20 se detallan las concentraciones para ambos ensayos y la concentración respectiva en los viales.

Tabla 16: Reactivos de test ADA y concentración en el vial

Parámetro	**Unidad**	**Fuente de N**	**Fuente de S**
Concentración Vial	*[g/L]*	*100*	*150*
Masa de reactivo	*[g]*	*0,493*	*0,365*

Tabla 17: Reactivos de test ADH y concentración en el vial

Parámetro	**Unidad**	**Fuente de N**	**Fuente de C**
Concentración Vial	*[g/L]*	*100*	*200*
Masa de reactivo	*[g]*	*0,493*	*0,818*

Procedimiento

El proceso se inicia con el lavado del inóculo extraído del reactor. Este se enjuaga tres veces con la solución tampón, con el objetivo de eliminar impurezas y residuos de compuestos presentes. La concentración de lodo en el vial debe mantenerse en un rango de 1–3 [g SSV/L], por lo que es necesario calcular la cantidad de lodo a emplear. Para el montaje experimental, se considera un espacio de cabeza del 30%, correspondiente al volumen ocupado por el nitrógeno generado en la desnitrificación, dejando así 72 [mL] de fase líquida y 48 [mL] de fase gaseosa.

Una vez completado el llenado, se incorpora el agitador magnético, la septa y el sello de aluminio, cerrando herméticamente el vial con la ayuda de un crimper. Posteriormente, se realiza un barrido con helio, introducido mediante una aguja conectada al cilindro de gas inerte. Este procedimiento desplaza el oxígeno por diferencia de pesos moleculares, mientras que una segunda aguja permite la salida del oxígeno, evitando sobrepresiones en el sistema. El flujo de helio se mantiene por aproximadamente 3 minutos, hasta que cesa el burbujeo en el líquido, garantizando así condiciones estrictamente anóxicas.

Posteriormente, el vial se coloca en un soporte metálico provisto de un controlador de presión y un termómetro de mercurio para registrar la temperatura. Para mantener este parámetro dentro del rango operativo de la desnitrificación, se utiliza un baño maría con agua en un vaso precipitado de 1000 [mL], cuya temperatura se regula con un calefactor entre 36 ± 3 [°C].

La alimentación, compuesta por las fuentes de nitrógeno y azufre en proporción a la razón S/N definida en la operación de los reactores, se inyecta con una jeringa fina. Seguidamente, se libera levemente la presión interna del vial para estabilizarla en 0 [mbar] antes del registro de datos. El monitoreo y la toma de datos se realizan cada 2,5 minutos, registrando la presión registrada en el sistema, valor atribuido a la generación de nitrógeno gaseoso. El proceso finaliza cuando la presión del sistema alcanza valores constantes.

Medición

A partir de los datos obtenidos, se obtiene la ADA máxima que corresponde a la mayor pendiente registrada en los resultados de presión en el tiempo obtenidos en el experimento, valores que se fundamentan en la ley de gases ideales.

$$\frac{dN_2}{dt} = \alpha \cdot \frac{V_G}{R \cdot T}$$

En donde:

- dN_2/dt: Generación de nitrógeno en el tiempo [mol/min]
- α: Valor de la pendiente obtenida del experimento [atm/min]
- VG: Volumen ocupado por el gas en el vial [L]
- R: Constante de los gases ideales [atm L/mol K]
- T: Temperatura del experimento [K]

Con la obtención de este parámetro, se obtiene el valor de la ADA de acuerdo con la siguiente expresión:

$$ADA \text{ ó } ADH\ [\frac{g\ N_2 - N}{g\ SSV\ \cdot d}] = \frac{\frac{dN_2}{dt}}{X \cdot V_L} \cdot 28\ \left[\frac{g\ N}{mol\ N_2}\right] \cdot 1440[\frac{min}{d}]$$

En donde:

- X: Concentración del inóculo [g SSV/L]
- V_L: Volumen ocupado por el líquido en vial [L]

Ecuación Henderson-Hasselbalch

La ecuación de Henderson-Hasselbalch permite relacionar el pH de una solución con las concentraciones de un ácido y su base conjugada (Bhagavan, 2002). Para el desarrollo del experimento se utiliza para evaluar el sistema de amortiguamiento del proceso biológico, empleando una solución de fosfato para su control, la expresión se muestra a continuación:

$$pH = pK_a + \log(\frac{[A^-]}{[HA]})$$

En la experiencia la solución tampón cuenta con un pKa de 7,21, y se trabaja con un pH amortiguado en 7,4 con una solución 0,1 [M] para favorecer la actividad de la nitrificación parcial.

B) Resultados experimentales

Balance de nitrógeno

Tabla 18: Balance de Nitrógeno en RC

Balance RC [mg N/L]					
Ciclo	Afluente N-NH_4^+	Efluente N-NH_4^+	Efluente N-NO_2^-	Efluente N-NO_3^-	Balance (FNit-INit)
1	148,4697582	10,80925761	49,91010054	57,05995937	-30,69044066
2	49,34450337	17,95887868	0,226958433	17,15734582	-14,00132044
3	43,89140256	25,95675988	11,69647803	29,23933914	23,00117449
4	34,43936114	28,86508031	0,159322622	10,96074773	5,545789519
5	42,43724234	27,41092009	2,722036158	20,13207902	7,827792936
6	31,04632064	21,71545924	7,40667064	28,25538893	26,33119817
7	48,78707529	38,12323369	5,071770142	12,94695421	7,354882755
8	58,84501679	35,76022334	3,776129277	15,69286178	-3,615802392
9	45,09108474	39,33503388	2,638969485	20,75001232	17,63293095
10	45,63639482	32,73072289	3,765113061	22,79152359	13,65096473
11	41,69804423	39,15326385	1,206778754	18,73143938	17,39343775

12	41,81922425	31,27656267	0,226328286	22,51626365	12,19993036
13	37,15379355	27,15644206	0,210751035	22,76858527	12,98198481
14	35,96219004	29,94358247	0,141111563	20,52062903	14,64313303
15	24,00576159	19,76446095	0,062309002	7,5879992	3,409007568
16	22,43042135	24,91461172	0	0,580339721	3,064530092
17	53,46462399	35,52998131	0	4,165600528	-13,76904215
18	43,16432245	40,98308212	0	0	-2,181240326
19	46,31500292	45,70910283	0,140195254	0,151392971	-0,314311866
20	45,83028285	47,64798312	0,283139434	2,101150927	4,201990633
21	59,28126485	43,40668248	0	2,26171923	-13,61286314
22	44,8608427	38,92302181	0,404092202	4,394983817	-1,138744867
23	42,67960237	34,92408122	0,680817475	2,743424136	-4,331279547
24	41,34662218	41,10426214	0,163102975	1,481816047	1,402558986
25	42,07370228	37,10532154	0,710139358	2,590196099	-1,668045285

26	70,67218656	32,50048085	1,265422521	2,516793447	-34,38948973
27	48,8597833	33,34874098	1,243431108	2,512205781	-11,75540543
28	48,61742326	25,10849975	2,718688355	3,521492253	-17,2687429
29	38,31712172	22,56371937	4,269999237	4,349107159	-7,134295957
30	47,40562308	23,16961946	5,561994714	2,582855834	-16,09115307
31	40,37718203	19,17067886	4,732735206	4,005032226	-12,46873574
32	47,40562308	22,32135933	5,108421834	4,027970555	-15,94787136
33	47,89034315	29,71334044	3,546115246	2,032335941	-12,59855153
34	34,07582109	13,83875807	8,709515611	2,903992439	-8,623554973
35	32,98520093	7,537397126	6,602005258	1,321247745	-17,5245508
36	37,10532154	15,05055825	7,587037271	1,312072413	-13,15565361
37	37,83240165	19,4130389	7,193024466	1,734137665	-9,492200621
38	39,28656187	13,83875807	6,808174749	1,82589098	-16,81373807

39	34,68172118	2,447836366	8,084134821	2,564505171	-21,58524482
40	43,16432245	28,25918022	5,277938971	1,555218699	-8,071984556
41	41,71016223	19,4130389	9,298244047	3,82611326	-9,172766023

Tabla 19: Balance de Nitrógeno en RZ

Balance RZ [mg N/L]					
Ciclo	Afluente N-NH_4^+	Efluente N-NH_4^+	Efluente N-NO_2^-	Efluente N-NO_3^-	Balance (FNit-INit)
1	71,15690663	59,88716495	16,65379226	26,80921094	32,19326152
2	51,76810373	51,28338366	0,025516037	8,118733391	7,659529355
3	79,6395079	93,57520998	0,026370641	14,66314644	28,62521916
4	68,36976621	86,30440889	0,049444952	5,555886323	23,53997395
5	80,12422797	80,366588	0,392629543	19,92613595	20,56112553
6	73,94404704	81,6995682	0,826646341	21,39061999	29,97278749
7	73,70168701	68,9756663	0,402701662	8,164498517	3,841179474
8	71,88398674	69,09684632	0,114272777	13,24442753	10,57155989

9	44,37612263	40,37718203	1,530235778	20,1765541	17,70784928
10	49,58686341	39,40774189	0,7248003	20,81882731	11,36450609
11	45,95146286	36,1358814	0,200671638	20,65825901	11,04334918
12	40,98308212	42,92196241	0,203420565	20,36006073	22,50236159
13	41,34662218	42,67960237	0,19883902	20,91058063	22,44239984
14	43,04314243	40,25600201	3,032982291	21,02527227	21,27111414
15	47,04208303	42,67960237	2,122171295	6,681935209	4,441625851
16	43,64904252	45,22438276	0,547036383	0,488586406	2,610963024
17	50,07158348	46,67854297	0,536040677	3,867402253	1,010402422
18	53,46462399	44,37612263	0,468233822	0	-8,620267536
19	45,95146286	45,70910283	0,463652278	0	0,221292241
20	45,70910283	51,40456368	0,292302523	0,220207957	6,207971331
21	58,55418475	53,70698402	0,271227419	0,610159549	-3,965813756

22	48,25388321	56,85766449	0,548869001	0,151392971	9,304043257
23	45,10320274	46,07264288	1,291079168	3,29394403	5,554463343
24	48,25388321	32,62166087	2,082770014	0,816604509	-12,73284781
25	48,98096332	27,16856006	4,073909143	2,145192519	-15,5933016
26	37,95358167	25,71439984	5,376900327	1,631373951	-5,23090755
27	40,49836205	27,28974008	5,419966843	3,562781245	-4,225873886
28	35,28762127	17,23179857	10,40010544	4,553717053	-3,102000206
29	35,52998131	19,29185888	7,65117889	2,055274269	-6,531669266
30	37,71122163	24,38141964	10,0335819	2,307595887	-0,988624206
31	34,43936114	17,11061856	10,9040753	2,835177452	-3,589489832
32	34,43936114	23,04843944	9,401328792	3,431574003	1,441981094
33	39,65010192	26,32029993	8,022283974	4,96844204	-0,339075977

34	34,43936114	20,50365906	11,17896796	2,284657558	-0,472076564
35	35,16644125	18,68595879	10,50548096	1,917644296	-4,05735721
36	32,01576078	12,62695789	12,29686476	1,357949071	-5,73398907
37	42,1948823	16,98943854	8,594977005	1,734137665	-14,8763291
38	37,10532154	17,71651865	11,37597436	2,26171923	-5,751109305
39	29,95570047	10,6880776	4,732735206	2,415406033	-12,11948164
40	38,19594171	20,38247904	10,45508397	2,610381829	-4,747996863
41	34,92408122	15,05055825	13,54991711	3,654075794	-2,669530068

Balance de azufre

Tabla 20: Balance de azufre en RC

Balance RC [mg S/L]			
Ciclo	Afluente	Efluente	Balance (FDes-IDes)
1	71,17	86,89	15,72
2	23,41	49,29	25,88
3	48,29	67,44	19,15
4	27,53	48,81	21,27

5	67,57	63,23	-4,34
6	42,99	14,78	-28,21
7	37,98	3,44	-34,55
8	70,31	3,11	-67,20
9	66,01	5,70	-60,31
10	96,44	33,25	-63,19
11	42,09	11,54	-30,56
12	112,30	5,38	-106,92
13	54,06	5,38	-48,69
14	50,10	31,63	-18,47
15	31,57	0,10	-31,47
16	3,90	4,80	0,90
17	7,00	2,04	-4,96
18	3,60	0,00	-3,60
19	1,39	0,26	-1,13
20	3,27	0,19	-3,08
21	4,75	9,75	5,00
22	2,85	4,73	1,88
23	2,55	0,42	-2,13
24	1,15	0,00	-1,15

25	1,07	1,07	0,00
26	0,00	0,00	0,00
27	0,42	0,00	-0,42
28	0,00	0,00	0,00
29	0,00	0,00	0,00
30	0,00	0,00	0,00
31	0,00	0,00	0,00
32	71,77	115,38	43,61
33	15,15	23,43	8,28
34	28,08	12,23	-15,86
35	214,10	24,52	-189,59
36	248,00	47,28	-200,71
37	140,55	71,43	-69,12
38	172,22	162,95	-9,27
39	279,62	175,26	-104,36
40	300,76	170,89	-129,88
41	205,23	179,96	-25,27

Tabla 21: Blance de azufre en RZ

Balance RZ [mg S/L]			
Ciclo	Afluente	Efluente	Balance (FDes-IDes)

1	28,48170339	48,80635889	20,3246555
2	8,426956403	40,86641339	32,43945698
3	27,72518723	41,67661191	13,95142468
4	48,65762398	33,5746267	-15,08299728
5	58,29657688	67,77310626	9,476529384
6	40,71308992	13,48170339	-27,23138653
7	11,40834293	1,231501752	-10,17684118
8	46,05799066	8,944591669	-37,11339899
9	41,55565317	1,312521604	-40,24313157
10	64,61577968	16,38221409	-48,23356559
11	37,10883924	3,662097314	-33,44674192
12	87,04170027	0,745382639	-86,29631763
13	49,33568042	2,851898793	-46,48378163
14	52,99538264	4,148216426	-48,84716621
15	47,30110782	2,949122616	-44,35198521
16	32,73155936	32,76442818	0,032868818
17	6,072678474	7,486234332	1,413555858
18	4,083400545	1,490765278	-2,592635266
19	3,92136084	5,703797586	1,782436746
20	13,31966368	22,23184741	8,912183728
21	5,055638769	1,328725574	-3,726913195
22	2,463003503	5,217678474	2,754674971

23	8,23616232	0,194447645	-8,041714675
24	0,194447645	9,106631373	8,912183728
25	19,6509638	3,597281432	-16,05368237
26	7,925978201	0,907422343	-7,018555858
27	3,094958349	2,527819385	-0,567138965
28	29,89354146	52,04252327	22,14898181
29	89,29734226	42,69051748	-46,60682478
30	103,4751106	39,73213546	-63,74297516
31	90,98055157	64,93625401	-26,04429756
32	156,4777732	85,09862291	-71,37915031
33	220,4694315	52,53327209	-167,9361594
34	229,1400598	53,29254384	-175,847516
35	249,8647816	35,04918801	-214,8155936
36	195,1408346	48,62001323	-146,5208213
37	139,8062725	77,42257064	-62,38370183
38	181,2193492	162,9471265	-18,27222266
39	201,6182281	175,262144	-26,35608408
40	240,1440124	175,262144	-64,88186843
41	226,478123	179,9612954	-46,51682757