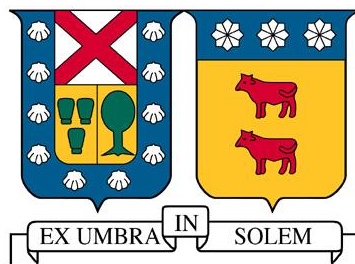


**UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA DEPARTAMENTO
DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL VALPARAÍSO – CHILE**



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

Osvaldo Ignacio Lillo Cámpora

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

PROFESORA GUÍA

DRA. LORNA GUERRERO SALDES

PROFESORA CORREFERENTE

MCs. ANDREA BARAHONA LLORE

NOVIEMBRE – 2017

A mi madre, este logro es tuyo.

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecer al Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la UTFSM, en especial a las profesoras Lorna Guerrero y Andrea Barahona, primero por haberme permitido realizar mi memoria en el laboratorio de tratamientos de RILes, pero además por haber confiado en mí y haberme dado una segunda oportunidad cuando las cosas se complicaron. Además, a todo el grupo de trabajo con quien tuve la oportunidad de compartir dentro del laboratorio, en especial a Diego Jeria por haberme introducido en este mundo de las bacterias, a Paloma por su trabajo y por corregirme constantemente y a Evelyn Gonzáles por su buena disposición siempre a responder mis dudas y ayudarme con la operación del reactor. También al personal del pañol de IQA, quienes realizan un trabajo silencioso pero son vitales para el desarrollo de todas las actividades prácticas que se realizan.

Fuera de esta memoria, agradezco a todos los profesores de la universidad del Campus San Joaquín y Casa Central quienes me dictaron clases y finalmente influyeron en mi formación de ingeniero. Además a mis profesores de matemáticas y química del Liceo Ruiz Tagle, Fernando Villar y Eduardo Morong, que si no fuera por ellos, lo más probable es que hubiera estudiado otra carrera. A los amigos que conocí en mi tiempo en la universidad, sobre todo a Josefa, David y Victor (equipo Rocket) por aquellos bellísimos primeros años de universidad en donde compartimos más que conocimientos, momentos. A Koki, por su amistad y apoyo durante mis primeros años en Valparaíso.

Finalmente, quisiera agradecer a mi familia y amigos de la vida. A mi madre, por su esfuerzo y amor incondicional por sus hijos. A mi padre por sus valores y paciencia. A mis hermanos por la sana relación que tenemos y a Wesly, por volverme a mostrar las cosas esenciales de la vida.

Resumen

Debido al constante desarrollo industrial y el poco cuidado por el medio ambiente, se ha experimentado un aumento en las concentraciones de contaminantes tanto en el aire, como suelos y el agua. Estos contaminantes desequilibran el ciclo natural de los ecosistemas donde se encuentran por lo que surge una necesidad de estudiar nuevas tecnologías para la remoción de ellos, con el fin de restablecer el equilibrio.

Uno de estos contaminantes, tanto en aguas residuales urbanas como en aguas industriales, es el nitrógeno, el cual se elimina tradicionalmente mediante la combinación de los procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación. La nitrificación es la oxidación del amonio a nitrito o nitrato, sucediendo primero la oxidación del nitrógeno amoniacal a nitrito por la acción de bacterias autótrofas amonio-oxidantes y posteriormente la oxidación del nitrito a nitrato, gracias al metabolismo de bacterias nitrito-oxidantes.

Por otro lado, se conoce como desnitrificación al proceso donde el nitrito y nitrato se reducen en condiciones anaeróbicas a nitrógeno gaseoso. Si el donador de electrones para que suceda la reacción es de origen orgánico, el proceso se conoce como desnitrificación heterótrofa siendo realizado durante el metabolismo de ciertas bacterias desnitrificantes heterótrofas. En cambio, si el donador de electrones es un compuesto reducido de azufre, el proceso se llama desnitrificación autótrofa siendo realizado por bacterias oxidantes de azufre.

El siguiente trabajo de investigación forma parte del proyecto FONDECYT N°1130108, cuyo título es *“Simultaneous bio-elimination of nitrogen and sulphur in the presence and absence of complex organic matter”*. El objetivo de esta memoria fue operar un reactor de lecho de lodos expandidos granulados (EGSB por su acrónimo en inglés) a escala de laboratorio de un volumen útil de 2,2 [L], mantenido a 35°C para llevar a cabo el proceso de desnitrificación simultánea autótrofa-heterótrofa a partir de agua residual sintética y eliminar así las fuentes de nitrógeno, azufre y carbono presentes. Para lograr esto, primero se enriquecieron ambas poblaciones de forma separada y lograr así una selección selectiva de bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas. Las bacterias autótrofas fueron enriquecidas en el mismo reactor EGSB mientras que las bacterias heterótrofas lo hicieron en un reactor *batch*. Finalmente el reactor fue inoculado con 27,3 [g/L] de SSV, en una razón 1,8:1 (autótrofos-heterótrofos). El agua residual sintética estaba compuesta por nitrato de sodio (NaNO_3) como fuente de nitrógeno, tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) como fuente de azufre, acetato de potasio (CH_3COOK) como fuente de carbono y otras sales para controlar el pH. La concentración de los compuestos se mantuvo constante y para modificar la velocidad de carga orgánica, nitrogenada y azufrada se modificó el caudal de operación. El reactor operó entre una

velocidad de carga nitrogenada (VCN) de 0,1 y 1,5 [kg N/(m³ d)] con razones C/N, S/N y DQO/N igual a 3,0, 3,9 y 12,3 respectivamente. La máxima remoción de nitrato fue de un 99,4% a una VCN de 0,55 [kg N/(m³ d)] (VCS (velocidad de carga de azufre) 2,13 [kg S/(m³ d)], VCO (velocidad de carga orgánica) 1,66 [kg C/(m³ d)]) y un TRH de 0,3 días, la mayor remoción de azufre fue un 87,3% a una VCN de 0,25 [kg N/(m³ d)] (VCS 0,97 [kg S/(m³ d)], VCO 0,75 [kg C/(m³ d)]) y con un TRH de 0,6 días, mientras que la máxima remoción de ácido acético alcanzó un 86,8% a una VCN de 0,4 [kg N/(m³ d)] (VCS 1,55 [kg S/(m³ d)], VCO 1,21 [kg C/(m³ d)]) y un TRH de 0,4 días. Estos resultados permiten afirmar que la desnitrificación simultánea en el reactor EGSB es un proceso altamente efectivo para remover nitrógeno, azufre y carbono.

Se recomienda continuar la operación desnitrificante simultánea en el reactor EGSB, cambiando la alimentación sintética por un RIL real con relaciones C/N, S/N y DQO/N similares a las que presenta el RIL sintético.

Índice

Agradecimientos	III
Resumen	IV
Índice	VI
Índice de tablas	VIII
Índice de figuras	VIII
Introducción y Objetivos	- 1 -
1.1. Introducción	- 1 -
1.2 Objetivos	- 2 -
1.2.1 Objetivo Principal	- 2 -
1.2.2 Objetivos Secundarios	- 2 -
2. Marco Teórico	- 3 -
2.1. Compuestos de interés	- 3 -
2.1.1. Nitrógeno	- 3 -
2.1.2. Azufre	- 4 -
2.1.3. Ciclo del nitrógeno y azufre combinados	- 6 -
2.2. Procesos para la eliminación de nitrógeno	- 6 -
2.2.1. Nitrificación-desnitrificación	- 7 -
2.2.2. Desnitrificación heterótrofa	- 8 -
2.2.2.1 Parámetros operacionales en la desnitrificación heterótrofa	- 10 -
2.2.3. Desnitrificación autótrofa	- 12 -
2.2.3.1 Parámetros operacionales en la desnitrificación autótrofa	- 13 -
2.2.3.2 Ventajas y desventajas de la desnitrificación autótrofa	- 14 -
2.2.4. Desnitrificación simultánea	- 15 -
2.2.5. Nitrificación parcial	- 16 -
2.2.6. Proceso Anammox	- 18 -
2.3 Reactores para el tratamiento de aguas residuales	- 19 -
2.3.1 Reactores anaerobios	- 19 -
2.3.2 Reactor UASB	- 20 -
2.3.3 Reactor EGSB	- 22 -

3.	Metodología	- 24 -
3.1	Reactor	- 24 -
3.2	Inóculo	- 25 -
3.3	Enriquecimiento	- 26 -
3.4	Equipos	- 27 -
3.5	Operación	- 28 -
3.5.1	Composición de la alimentación durante la operación.....	- 29 -
3.5.2	Muestreo	- 30 -
3.6	Métodos analíticos	- 31 -
3.6.1	Nitrato, nitrito y sulfato.....	- 31 -
3.6.2	Tiosulfato	- 32 -
3.6.3	Potencial de hidrógeno (pH).....	- 33 -
3.6.4	Demanda química de oxígeno (DQO)	- 33 -
3.6.5	Ácido acético	- 34 -
4.	Resultados y Discusión	- 35 -
4.1	Etapa de enriquecimiento	- 35 -
4.2	Etapa de operación.....	- 36 -
4.2.1	Concentración de nitrato y tiosulfato en la alimentación.....	- 36 -
4.2.2	Concentración de productos de nitrógeno	- 39 -
4.2.3	Concentración de productos de azufre	- 41 -
4.2.3	Concentración de materia orgánica	- 44 -
4.2.4	Remoción de nitrato, tiosulfato y ácido acético.....	- 46 -
4.2.5	Potencial de hidrógeno	- 49 -
4.2.6	Velocidad superficial	- 50 -
5.	Conclusiones y Recomendaciones	- 52 -
5.1	Conclusiones.....	- 52 -
5.2	Recomendaciones	- 53 -
6.	Bibliografía.....	- 54 -
7.	Anexos	- 58 -
	Anexo A: Ecuación Henderson-Hasselbalch	- 58 -

Anexo B: Métodos experimentales para determinación de compuestos de interés (APHA, 2012)	- 58 -
Anexo B.1: Método experimental para determinación de nitrato	- 58 -
Anexo B.2: Método experimental para determinación de nitrito	- 60 -
Anexo B.3: Método experimental para determinación de sulfato	- 61 -
Anexo B.4: Método experimental para determinación de tiosulfato	- 63 -
Anexo B.5: Método experimental para determinación de DQO	- 66 -
Anexo C: Calculo de la concentración teórica del ácido acético.	- 69 -

Índice de tablas

Tabla 2.1: Compuestos nitrogenados y sus estados de oxidación.	- 4 -
Tabla 2.2: Compuestos de azufre y sus estados de oxidación.	- 4 -
Tabla 2.3: Clasificación de reactores anaerobios.	- 19 -
Tabla 3.1: Dimensiones generales del reactor EGSB.	- 24 -
Tabla 3.2: Composición de la alimentación de BDA durante la etapa de enriquecimiento	- 26 -
Tabla 3.3: Composición de la alimentación de BDH durante la etapa de enriquecimiento	- 26 -
Tabla 3.4: Composición de la solución de micronutrientes.	- 26 -
Tabla 3.5: Composición de la alimentación durante la operación.	- 30 -
Tabla 3.6: Frecuencia de muestreos realizados.	- 30 -

Índice de figuras

Figura 2.1: Ciclo del nitrógeno. (Fajardo, 2008)	- 3 -
Figura 2.2: Ciclo del azufre. (Lens y Kuenen, 2001)	- 5 -
Figura 2.3: Combinación de los ciclos de nitrógeno y azufre. (Fajardo, 2011)	- 6 -
Figura 2.4: Configuración de los procesos desnitrificación-nitrificación. (Campos <i>et al.</i> , 2013)	- 8 -
Figura 2.5: Comparación entre los procesos nitrificación-desnitrificación y nitrificación parcial-desnitrificación (Van Kempen <i>et al.</i> , 2001).	- 17 -
Figura 2.6: Esquema de reactor UASB. (Montalvo y Guerrero, 2003)	- 20 -
Figura 2.7: Esquema de un reactor EGSB. (Lim, 2006)	- 23 -
Figura 3.1: (a) Fotografía del reactor EGSB; (b) esquema del reactor EGSB [cm] utilizados en este estudio.	- 25 -

Figura 4.1: Remoción y concentración en el efluente de NO_3^- durante el primer período de enriquecimiento de BDA.	- 35 -
Figura 4.2: Remoción de NO_3^- y $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ durante el segundo período de enriquecimiento de BDA.....	- 36 -
Figura 4.3: Concentración de NO_3^- en la alimentación medidas a 205 y 220 [nm].	- 37 -
Figura 4.4: Concentración promedio de NO_3^- en la alimentación.	- 38 -
Figura 4.5: Concentración de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en la alimentación.	- 39 -
Figura 4.6: Concentraciones de productos de nitrógeno.	- 40 -
Figura 4.7: Comparación entre el nitrato reducido por bacterias autótrofas y bacterias heterótrofas.	- 41 -
Figura 4.8: Concentración de productos de azufre.	- 42 -
Figura 4.9: Concentración de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en el efluente de su valor teórico y empírico.	- 43 -
Figura 4.10: Concentración de SO_4^{2-} teórica y experimental en el efluente.....	- 44 -
Figura 4.11: Concentración de DQO en el influente y efluente.	- 45 -
Figura 4.12: Concentración de CH_3COOH en el influente y efluente.	- 46 -
Figura 4.13: Remoción de NO_3^- en función de la velocidad de carga nitrogenada.	- 47 -
Figura 4.14: Remoción de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en función de la velocidad de carga nitrogenada.	- 47 -
Figura 4.15: Remoción de materia orgánica en función de la velocidad de carga nitrogenada.	- 48 -
Figura 4.16: Potencial de hidrógeno en función de la velocidad de carga nitrogenada	- 50 -

Introducción y Objetivos

1.1. Introducción

Debido al poco control de las diversas actividades del hombre, principalmente en el área industrial, de la agricultura y minería, en conjunto con el sobreconsumo del recurso hídrico, han generado distintos problemas ambientales en todas sus dimensiones (aire, suelo y agua), dentro de los cuales se encuentra el desequilibrio de los ciclos de nitrógeno y azufre, que su vez generan problemas como la eutrofización o acidificación.

Los compuestos nitrogenados se han acumulado en las aguas debido al uso principalmente de combustibles fósiles, el desarrollo de la minería y la industria de fertilizantes, que han provocado que el nitrógeno que ya ha sido eliminado del ciclo activo naturalmente, vuelva a activarse (Campos *et al.*, 2009). Tradicionalmente el nitrógeno se ha eliminado de residuos líquidos mediante la combinación de los procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación heterótrofa.

Por otro lado, la mayoría de compuestos de azufre causan problemas al hombre y al medio ambiente. Por ejemplo, el dióxido de azufre contribuye a la acidificación de suelos y a la formación de lluvia ácida (Mahmood *et al.*, 2007) o el sulfuro de hidrógeno, gas corrosivo y tóxico, que con concentraciones menores a 50 [mg/L] en el aire puede llegar a provocar la muerte por sobreexposición. La producción de sulfuros provienen principalmente de las industrias del papel y textil, plantas petroquímicas y de la digestión anaerobia de residuos agrícolas y pecuarios (Ying *et al.*, 2009).

Los efluentes de las industrias agro-alimentarias pueden llegar a tener concentraciones de nitrógeno amoniacal hasta 2 [g N – NH_4^+ /L], los cuales usualmente son tratados mediante digestión anaeróbica, proceso biológico en donde se descompone la materia orgánica a biogás y una mezcla de productos minerales (digestato), por lo que se produce un efluente con baja razón DQO/N. El contenido de DQO suele ser insuficiente para realizar la remoción de nitrógeno por el proceso de desnitrificación heterótrofa convencional y algún compuesto orgánico debe ser añadido (Dapena, 2007), lo que implica un aumento en los costos de tratamiento.

Una solución a este problema es la desnitrificación autótrofa, donde bacterias del género *Thiobacillus* utilizan el nitrato y/o nitrito junto a compuestos reducidos de azufre, produciendo gas nitrógeno y sulfato o azufre elemental, sin embargo, este proceso actúa a niveles de materia

orgánica bajos, situación que usualmente no suele suceder en determinadas aguas con alto contenido orgánico y con compuestos sulfurados.

Para estos casos, resulta interesante un proceso de desnitrificación simultánea, donde bacterias desnitrificantes heterótrofas y autótrofas convivan juntas para la remoción de compuestos nitrogenados, sulfurados y de materia orgánica.

El presente trabajo consiste en la operación de un reactor EGSB (*Expanded Granular Sludge Blanket*), para la remoción de nitrato, tiosulfato y ácido acético, a través de bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas de forma simultánea. Para esto se operó el reactor con un residuo industrial líquido (RIL) sintético a una concentración fija de los compuesto de interés, como fase previa de una futura operación con RIL real.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Principal

- El objetivo principal de esta investigación consiste en poner en marcha y operar un reactor EGSB a VCN creciente, para eliminar nitrógeno como nitrato, azufre como tiosulfato y carbono orgánico como ácido acético de un RIL sintético, mediante la acción simultánea de bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas.

1.2.2 Objetivos Secundarios

- Enriquecimiento de biomasa desnitrificante autótrofa y heterótrofa.
- Puesta en marcha del reactor EGSB desnitrificante simultáneo.
- Operar el reactor EGSB a VCN creciente, a partir de 0,1 [kg N/(m³ d)] para determinar la máxima remoción de N, S y C, trabajando a razones C/N= 3,01 y S/N= 4,57 .
- Determinar la máxima V_s que tolera el reactor.

2. Marco Teórico

2.1. Compuestos de interés

2.1.1. Nitrógeno

El nitrógeno en la naturaleza se encuentra en 7 estados diferentes de oxidación. El cambio entre estos estados se debe al metabolismo de distintos microorganismos que realizan reacciones catabólicas (nitrificación, desnitrificación), reacciones anabólicas (fijación, asimilación) y la amonificación, entre otras (Brock *et al.*, 1997). Así, en la biosfera se produce la rotación natural de compuestos nitrogenados, lo que se conoce como el ciclo del nitrógeno (figura 2.1).

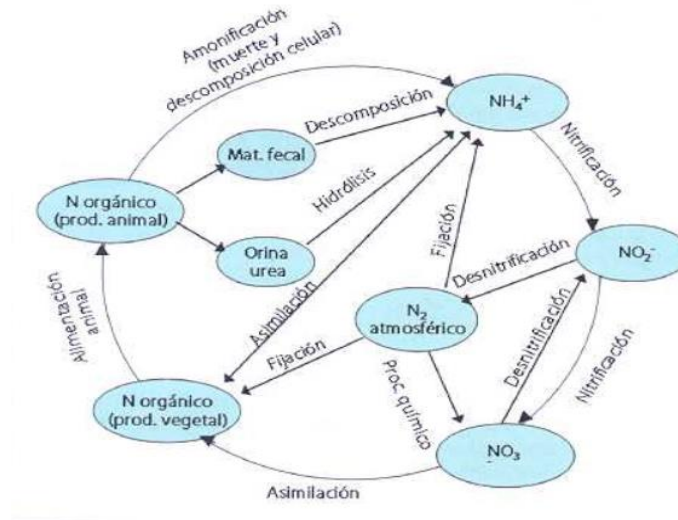


Figura 2.1: Ciclo del nitrógeno. (Fajardo, 2008)

Debido a la diversidad de estados de oxidación del nitrógeno, este puede presentarse en 9 formas distintas (tabla 2.1). De todas ellas, los principales compuestos de nitrógeno que interactúan entre suelos, atmósfera, aguas subterráneas y procesos de tratamiento de agua son el nitrógeno orgánico, nitrógeno gaseoso, nitrato, nitrito y amonio (OEHS, 2005).

El proceso de fijación consiste en la transformación del nitrógeno gaseoso a sus formas orgánicas (amonio y nitrato) que son asimilables por las plantas para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, así el nitrógeno entra en la cadena trófica. Durante el metabolismo de los animales los compuestos nitrogenados terminan transformándose en amonio y este es eliminado en forma de amoniaco (NH_3) y urea ($CO(NH_2)_2$). Finalmente, estos compuestos terminan en el agua o suelos donde pueden volver a ser usados por plantas o bacterias, como las nitrificantes y desnitrificantes (Campos *et al.*, 2011).

Tabla 2.1: Compuestos nitrogenados y sus estados de oxidación.

Compuesto	Fórmula	Estado de oxidación
Nitrógeno orgánico	N_{org}	-3
Amonio	NH_4^+	-3
Amoniaco	NH_3	-3
Gas nitrógeno	N_2	0
Óxido nitroso	N_2O	+1
Óxido nítrico	NO	+2
Nitrito	NO_2^-	+3
Dióxido de nitrógeno	NO_2	+4
Nitrato	NO_3^-	+5

2.1.2. Azufre

El azufre en la naturaleza se encuentra principalmente en forma inorgánica como sulfato de calcio (yeso), sulfuros metálicos (pirita) y azufre elemental (Lens y Kuenen, 2001). Existe en 5 distintos estados de oxidación en el medio ambiente, tal como se presenta en la tabla 2.2.

Tabla 2.2: Compuestos de azufre y sus estados de oxidación.

Compuesto	Fórmula	Estado de oxidación
Azufre orgánico	S_{org}	-2
Sulfuro	S^{-2}	-2
Azufre elemental	S^0	0
Tiosulfato	$S_2O_3^{-2}$	+2
Sulfito	SO_3^{-2}	+4
Sulfato	SO_4^{-2}	+6

El ciclo del azufre incluye tanto procesos de oxidación como de reducción. En las reacciones de reducción los compuestos oxidados de azufre son biológicamente reducidos, mientras que en las reacciones de oxidación existen tanto procesos biológicos como químicos (figura 2.2).

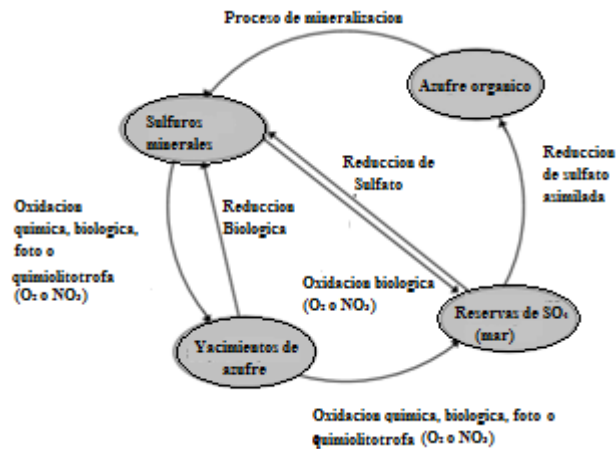
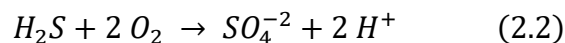
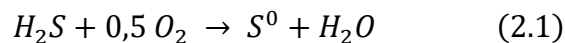


Figura 2.2: Ciclo del azufre. (Lens y Kuenen, 2001)

Durante el proceso de reducción, las bacterias sulfato reductoras (BSR) utilizan para su metabolismo compuestos oxidados de azufre como el sulfato (SO_4^{2-}), tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) o sulfito (SO_3^{2-}) como aceptor de electrones y compuestos orgánicos tales como el lactato ($C_2H_4(OH)COO^-$), etanol (C_2H_5OH) o bicarbonato (HCO_3^-) como donador de electrones.

Las principales BSR incluyen miembro del género *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* etc (Jansen *et al.*, 2001; Lente y Kuenen, 2001).

La oxidación biológica del azufre se produce mediante dos procesos, por oxidación fotótrofa (capaces de producir energía a través de la fotosíntesis) u oxidación quimiolitotrófica (capaces de producir su energía a partir de materia inorgánica). Durante la oxidación fotótrofa las bacterias purpuras fotosintéticas oxidan sulfuro a azufre elemental y sulfato. Este proceso necesita para su crecimiento solo CO_2 , luz y nutrientes inorgánicos además de condiciones anaeróbicas. Durante la oxidación quimiolitotrófica los compuestos reducidos de azufre puede ser parcialmente oxidado a azufre elemental con oxígeno como reactivo limitante (ecuación 2.1) o totalmente oxidado a sulfato con oxígeno en exceso a través de bacterias aeróbicas de género *Thiobacillus* (ecuación 2.2) (Jansen *et al.*, 2001).



2.1.3. Ciclo del nitrógeno y azufre combinados

En el medio ambiente existen diversos microorganismos capaces de combinar los ciclos del nitrógeno y azufre. Estos microorganismos tienen un importante papel en el control de ecosistemas marinos, principalmente entre la interfaces aeróbicas y anóxicas (Robertson y Kuenen, 1992). La combinación de ambos ciclos implica la reducción de compuestos de óxidos de nitrógeno (nitrato, nitrito) y la oxidación de compuestos de azufre reducidos (figura 2.3) en el proceso de desnitrificación autótrofa.

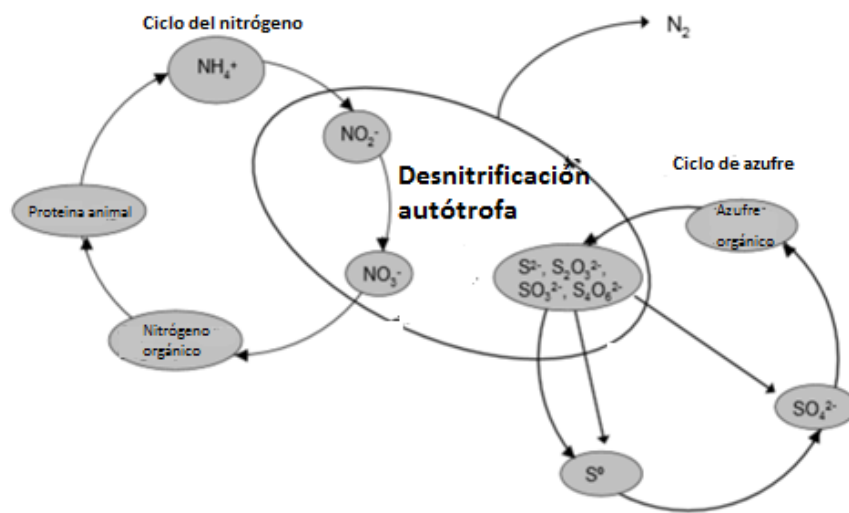


Figura 2.3: Combinación de los ciclos de nitrógeno y azufre. (Fajardo, 2011)

2.2. Procesos para la eliminación de nitrógeno

La eliminación de nitrógeno de aguas residuales se realiza principalmente mediante procesos biológicos debido a su menor costo en comparación a métodos fisicoquímicos (extracción con aire, cloración, intercambio de ion selectivo). Para determinar qué proceso biológico es el más adecuado a utilizar, se considera la relación DQO/N del agua (Campos *et al.*, 2013):

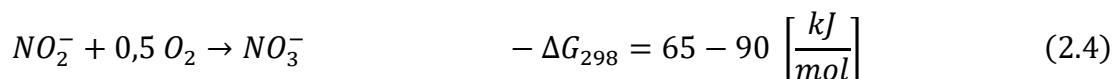
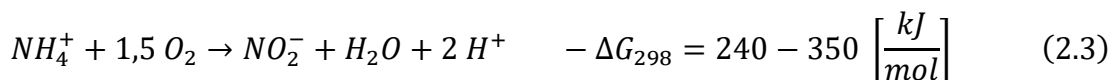
$$\frac{DQO}{N} > 20 : \text{Eliminación por asimilación por bacterias heterótrofas.}$$

$20 > \frac{DQO}{N} > 5$: Eliminación por asimilación, nitrificación y desnitrificación.

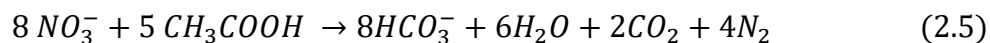
$\frac{DQO}{N} < 5$: Eliminación por nitrificación parcial-desnitrificación o nitrificación parcial-Anammox.

2.2.1. Nitrificación-desnitrificación

La nitrificación se conoce al proceso de oxidación del amonio a nitrato o nitrito en condiciones aeróbicas. Este consta de dos etapas, la oxidación del nitrógeno amoniacal a nitrito y la oxidación de este a nitrato (ecuaciones 2.3 y 2.4), las cuales son realizadas respectivamente por bacterias autótrofas amonio-oxidantes (BAO) (principalmente *Nitrosomonas*) y nitrito-oxidantes (BNO) (principalmente *Nitrobacter* y *Nitrospira*) (Khin y Annachhatre, 2004).



En cambio, la desnitrificación es una forma de respiración anaerobia, en donde el nitrito o nitrato se reducen a compuestos gaseosos de nitrógeno (nitrógeno molecular, óxido nítrico u óxido nitroso) utilizando alguna fuente como donador de electrones (ecuación 2.5).



La disminución del pH que sucede durante el proceso de nitrificación se equilibra con la alcalinidad generada en la desnitrificación. La combinación de ambos procesos permite reducir el total de productos químicos para controlar el pH.

Los procesos de nitrificación y desnitrificación pueden configurarse de dos maneras distintas (figura 2.4).

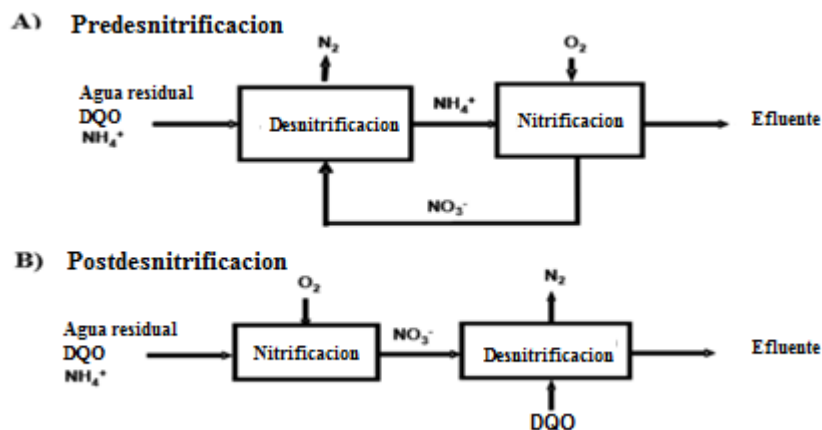


Figura 2.4: Configuración de los procesos desnitrificación-nitrificación. (Campos *et al.*, 2013)

En la configuración postdesnitrificante, primero el amonio es oxidado a nitrato y luego este último reducido a nitrógeno. Un problema de este tipo de configuración es que el carbono orgánico podría ser limitante en la zona de desnitrificación dado que la mayoría de los compuestos orgánicos son oxidados en el reactor aeróbico nitrificante, por lo que se necesita materia orgánica externa (metanol, acetato). Además, la alta cantidad de oxígeno requerida para oxidar el amonio y el carbón orgánico aumenta notablemente los costos de operación de la planta. Las ventajas de esta configuración son su fácil control y que no necesita recirculación entre los reactores.

Para eliminar el problema de limitación de carbono en la zona desnitrificante, los residuos líquidos son primero llevados a un reactor desnitrificante agitado y en ausencia de aire para pasar luego a un reactor con aireación en donde ocurre la nitrificación, esta es la configuración predesnitrificante. El nitrato contenido en el reactor de nitrificación es recirculado al reactor de desnitrificación donde se mezcla con el agua residual rica en carbono orgánico. El porcentaje de nitrógeno removido depende de la razón de recirculación.

2.2.2. Desnitrificación heterótrofa

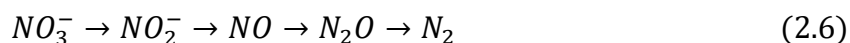
Proceso biológico en donde se reduce el nitrato a nitrógeno gaseoso, utilizando como donador de electrones alguna fuente de carbono orgánico (CH_3OH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, CH_3COOH). Es un proceso anaerobio, fuertemente inhibido por la presencia de oxígeno debido a la mayor afinidad de éste para aceptar electrones en comparación al nitrato.

En la actualidad, esta tecnología es utilizada ampliamente para el tratamiento de aguas contaminadas con compuestos de materia orgánica y nitrógeno debido a su alta eficacia y bajo costo, incluso no estando disponible la materia orgánica, se han realizado aplicaciones donde se ha agregado de forma externa (residuos agrícolas, periódicos, algodón entre otros) (Liu *et al.*, 2014). La tasa de desnitrificación heterótrofa es alta, lo que permite el uso de reactores de poco volumen y bajos costos. Sin embargo, el carbón residual de este proceso genera diversos problemas para el tratamiento de aguas potables.

La desnitrificación puede darse por dos maneras distintas. Una es mediante la reducción diferenciada del nitrato, en donde el nitrógeno es eliminado en forma de gas bajo condiciones anóxicas (Reed *et al.* 1988; Madigan *et al.*, 1997). La otra se conoce como la vía asimilativa y sucede bajo condiciones aeróbicas, aquí el nitrógeno se acumula en la biomasa (Bitton 1994; Madigan *et al.*, 1997). Se prefiere la vía de reducción diferenciada para poder remover el nitrógeno en forma de gas completamente del sistema, en vez de almacenarlo en la biomasa. Para que así suceda, la cantidad de oxígeno molecular disuelto debe ser mínima, de modo que las bacterias desnitrificantes utilicen el nitrato en lugar del oxígeno.

Se conocen más de 50 géneros de bacterias desnitrificantes heterótrofas (BDH) (Delwiche, 1982), dentro de los más citados incluyen: *Thiobacillus*, *Paracoccus*, *Pseudomona* y *Alcaligenes*. No obstante, los géneros más conocidos en aguas y aguas residuales son *Pseudomonas fluorescens*, *P. Aeruginosa*, *P. denitrificans* y *Alcaligenes sp.* (Smith *et al.*, 1994; Bitton, 1994). La mayoría de las bacterias desnitrificantes reducen el nitrógeno hasta su forma molecular, sin embargo algunas especies sólo lo reducen a óxido nitroso e incluso otras son capaces de llevar la reducción sólo hasta nitrito (Robertson y Kuenen, 1992).

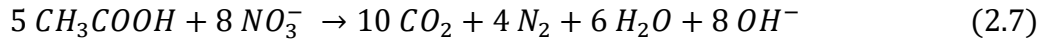
El proceso de desnitrificación heterótrofa sucede en distintas etapas, que implican la actividad de diferentes enzimas, las cuales actúan como agentes catalizadores. Sliekers *et al.*, (2002) propusieron que la acumulación de intermediarios durante el proceso de desnitrificación puede explicarse por la secuencia de reacciones siguiente (ecuación 2.6).



Primero, el nitrato (NO_3^-) es reducido a nitrito (NO_2^-), etapa que es catalizada por la enzima nitrato reductasa. Luego el NO_2^- continúa reduciéndose a óxido nítrico (NO), fase catalizada por la enzima nitrito reductasa. En seguida el NO se transforma a óxido nitroso (N_2O), etapa catalizada por la enzima óxido nitroso reductasa. La última etapa de la desnitrificación es la reducción de N_2O a nitrógeno gaseoso (N_2), catalizado por la enzima óxido nitroso reductasa, la cual es fuertemente inhibida por la presencia de oxígeno, por lo cual durante el proceso de desnitrificación debe

evitarse la entrada de éste, para así no liberar el gas N₂O a la atmósfera, el cual contribuye al efecto invernadero.

La reacción estequiométrica entre el ácido acético y el nitrato presentada por Reyes-Avila *et al.*, (2004) se presenta en la ecuación 2.7 (relación [g C/g N] igual a 1,07).



La cinética de crecimiento (μ) de las BDH puede representarse según el modelo de Monod (ecuación 2.8), en donde μ_{max} es la velocidad máxima de metabolización, S y N representan las concentraciones de sustratos orgánicos y nitrogenados respectivamente. A su vez, K_S y K_N son sus respectivas constantes de saturación.

$$\mu = \mu_{max} \left[\frac{S}{K_S + S} \right] \left[\frac{N}{K_N + N} \right] \quad (2.8)$$

Dado que el valor de la constante de saturación del nitrato (K_N) es bajo (aproximadamente 0,1 [g N-NO₃⁻/L]), se considera la cinética de crecimiento de BDH independiente de la concentración de nitrato, a no ser que éste sea el sustrato limitante en la reacción.

A su vez, la velocidad desnitrificante heterótrofa puede relacionar con la cinética de crecimiento bacteriano, según la ecuación 2.9.

$$\frac{dS}{dt} = \left[\frac{\mu_{max}}{Y_d} \right] \left[\frac{S}{K_d + S} \right] [X_d] \quad (2.9)$$

En donde X_d representa la biomasa desnitrificante e Y_d el rendimiento [g biomasa/g NO₃⁻], por lo que para obtener un proceso desnitrificante eficiente, se deberá tener en consideración la concentración de sustrato asimilable para ajustar la relación C/N.

2.2.2.1 Parámetros operacionales en la desnitrificación heterótrofa

La acumulación de productos intermediarios (NO₂⁻, NO, N₂O) dependerá de la concentración y el tipo de sustrato orgánico empleado, además de ciertos parámetros de operación, tales como:

- **Temperatura:** Los microorganismos desnitrificantes heterótrofos presentan actividad entre 5 y 75 °C (Knowles, 1982). Además, puede estimarse la influencia de la temperatura utilizando la ecuación de Arrhenius (ecuación 2.10).

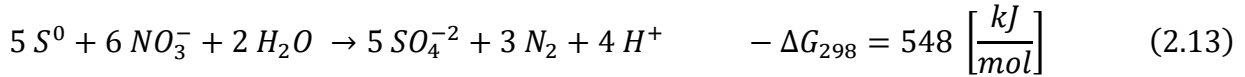
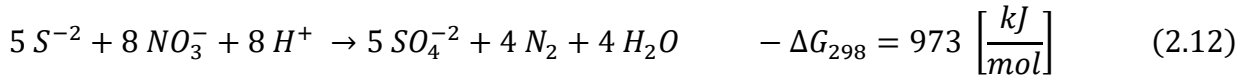
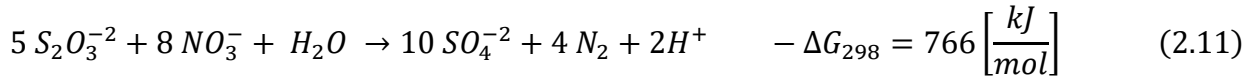
$$S(T) = S_{20^{\circ}\text{C}} * \theta^{T-20} \quad (2.10)$$

En donde S(T) representa la tasa de desnitrificación a la temperatura T [kg N-NO₃/(kg SSV d)], S_{20°C} la tasa de desnitrificación a 20°C y θ un factor de corrección para la temperatura (Suárez y Jácome, 2007).

- **pH:** El pH óptimo para la desnitrificación se encuentra entre 7 y 8 (Ahn, 2006; Cervantes *et al.*, 2000). A valores de pH menores a 6, se inhibe la formación de la enzima óxido nitroso reductasa, por lo que el óxido nitroso es acumulado (Knowles, 1982; Delwiche, 1976). Cervantes *et al.* (2000) reportaron que en cultivos continuos no se observó acumulación de intermediarios entre pH 6 y 9, pero la reacción es inhibida en su totalidad a pH de 5.
- **Alcalinidad:** Por cada miligramo de nitrato reducido a gas nitrógeno, se crean cerca de 3,57 [mg] de alcalinidad en forma de CaCO₃ (Suárez y Jácome, 2007), lo cual a su vez aumenta el pH del medio.
- **Razón C/N:** Se ha reportado un proceso desnitrificante óptimo con una relación C/N igual al valor estequiométrico (C/N=1,07) (Cervantes *et al.*, 2001; Cuervo-Lopez *et al.*, 1999). Aunque depende del donador de electrones, se puede considerar que el proceso desnitrificante se produce sin limitación con una relación C/N menor a 5, pero superior a la relación estequiométrica (Rustrian *et al.*, 1997).
- **Oxígeno:** La presencia de oxígeno resulta en una fuerte inhibición para el proceso desnitrificante, debido a que el oxígeno es termodinámicamente más reducible que el nitrato. Además, la respiración celular produce mayor cantidad de energía que la desnitrificación biológica, por lo que en presencia de oxígeno disuelto, las bacterias escogerán el oxígeno como aceptor de electrones por sobre el nitrato (Gómez y Hontoria, 2002). El ritmo de la reacción de desnitrificación es relativamente rápido en ausencia de oxígeno libre (< 0.5 [mg/L] es lo ideal), pero disminuye a cero en cuanto el nivel de oxígeno disuelto alcanza los 2.0 [mg/L].
- **Presencia de compuestos inhibitorios:** El proceso es principalmente inhibido por nitrito, el cual es un compuesto altamente tóxico. La enzima nitrito reductasa es relativamente sensible a condiciones del medio, lo que vuelve al sistema propenso a la acumulación de nitrito, aunque algunos autores documentan buena remoción del nitrito por parte de las bacterias a pesar de la inhibición (Liu *et al.*, 2014).

2.2.3. Desnitrificación autótrofa

La interacción biológica entre los ciclos del nitrógeno y el azufre se conoce como desnitrificación autótrofa y consta de la reducción de óxidos de nitrógeno (nitratos y/o nitritos) a nitrógeno gaseoso, por la acción de bacterias oxidantes de azufre (BOA), usando compuestos reducidos de azufre ($S_2O_3^{2-}$, S^{2-} , S^0 , $S_4O_6^{2-}$, SO_3^{2-}) como donadores de electrones (Fernández *et al.*, 2006). Se obtiene como producto final sulfato y nitrógeno gaseoso (ecuaciones 2.11, 2.12, 2.13), siendo el sulfato menos perjudicial que el nitrato en ambientes marinos.



Las BOA son quimiolitotrofas (organismos que obtienen su energía de un sustrato inorgánico) obligadas o facultativas y pueden crecer en ambientes mesófilos y termófilos (Krishnakumar y Manilal, 1999).

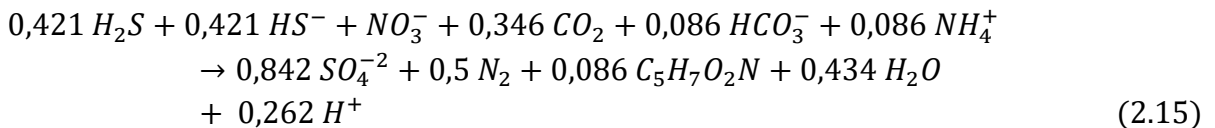
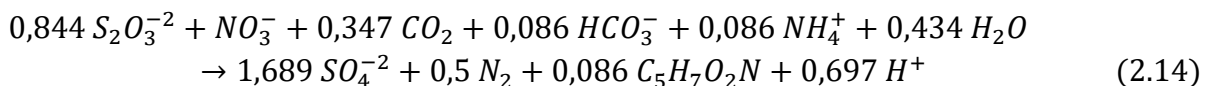
Existen mucho microorganismos capaces de usar la reducción de compuestos de azufre como fuente de energía, por ejemplo las bacterias sulfato reductoras (BSR) (*Desulfovibrio*, *desulfobacter*, *desulfococcus*) pero solo algunos microorganismos son capaces de realizar la desnitrificación autótrofa (bacterias autótrofas desnitrificantes (BAD)) usando compuestos reducidos de azufre como donantes de electrones y al nitrato o nitrito como terminal aceptor de estos (Fajardo *et al.*, 2011).

La especie más estudiada capaz de llevar a cabo la desnitrificación autótrofa utilizando compuestos reducidos de azufre ($S_2O_3^{2-}$, S^{2-} , S^0) es *Thiobacillus denitrificans*, la cual es conocida como la bacteria de azufre incolora (Robertson y Kuenen, 1992). Es una bacteria gram negativa, con forma de bastón y la cual crece en condiciones mesófilas. *Thiobacillus thiophilus* también ha sido reportada como una bacteria autótrofa desnitrificante la cual usa tiosulfato y nitrato (Kellermann y Griebler, 2009). Otro género de BAD es *Sulfurimonas denitrificans*, la cual es una bacteria inmóvil con forma de bastón capaz de oxidar tiosulfato y bisulfuro (HS^-) para la reducción de nitrato a nitrógeno (Tandukar *et al.*, 2009).

2.2.3.1 Parámetros operacionales en la desnitrificación autótrofa

Existen algunos parámetros operacionales básicos que considerar durante la aplicación de esta tecnología para el tratamiento de agua residuales que contienen compuestos de nitrógeno y azufre tales como:

- **Temperatura:** Las BDA han sido encontradas en ambientes mesófilos (25-35°C), siendo su temperatura óptima de operación 35°C. Para temperaturas menores a 15°C (Yamamoto-Ikemoto *et al.*, 2000) o mayores a 40°C (Oh *et al.*, 2000) el proceso de desnitrificación es despreciable.
- **pH:** Como sucede con todos los microorganismos, las BDA tienen un rango de pH óptimo de operación. En el caso de *Thiobacillus denitrificans* su rango es entre 7 y 8 (Oh *et al.*, 2000; Claus y Kutzner, 1985). Entre este rango, los productos finales de la reacción son nitrógeno y sulfato mientras que a valores menores la desnitrificación es incompleta y aparecen productos intermedios como nitrito y/o azufre elemental. A valores mayores a 9 o menores a 6 la desnitrificación es inhibida (Moon *et al.*, 2004).
- **Alcalinidad:** Contrariamente a lo que sucede durante la desnitrificación heterótrofa, en este proceso se requiere de una fuente de alcalinidad (HCO_3^- , CaCO_3) para neutralizar los protones producidos durante la reacción y para proveer de una fuente de carbono inorgánico para el crecimiento bacteriano. De acuerdo a las ecuaciones 2.14 y 2.15, los radios de alcalinidad consumida (gramos consumidos de bicarbonato (HCO_3^-) sobre gramos de nitrato removidos) son 2,49 y 0,93 cuando tiosulfato y sulfuro de hidrogeno (H_2S) son usados, respectivamente (Fajardo *et al.*, 2011).



- **Razón S/N:** Se sabe que la razón en la alimentación entre el azufre y el nitrógeno son importantes. Oh *et al.* (2000) probó con diferentes razones S/N usando tiosulfato como el donador de electrones y al nitrato como el aceptor de estos mismos. Ellos encontraron que a razones menores a 6,51 [g S/(g N)] (limitación por azufre) la desnitrificación era solo

llevada hasta nitrito. Cuando la relación S/N es mayor que la estequiometría, el compuesto de azufre es oxidado solamente a azufre elemental (Gadekar *et al.*, 2006).

- **Oxígeno:** Tanto el nitrato como el oxígeno participan como aceptores de electrones durante la oxidación de compuestos de azufre. Termodinámicamente, la oxidación de estos compuestos es más favorable en presencia de oxígeno que en la de nitrato, por lo tanto la presencia del primero debe ser evitada. Una concentración adecuada de oxígeno la cual no inhiba la reacción es entre 0,1 - 0,3 [mg O₂/L]. Sobre estos valores la desnitrificación es inhibida (Kimura *et al.*, 2000; Gu *et al.*, 2004) y si es menor se produce una oxidación parcial a azufre elemental (Campos *et al.*, 2011).
- **Presencia de compuestos inhibitorios:** Existen reportes de inhibición de desnitrificación por nitrato a concentraciones de 660 [mg N-NO₃⁻/L], mientras que el nitrito parece ser un fuerte inhibidor incluso a bajas concentraciones 36 – 60 [mg N-NO₂⁻/L] (Oh *et al.*, 2002). El sulfato es un producto de la reacción que provoca inhibición parcial a concentraciones de 500 [mg S-SO₄⁻²/L] y la inhibición total a concentraciones de 6400 [mg S-SO₄⁻²/L] (Campos *et al.*, 2008; Claus y Kutzer, 1985). La materia orgánica no tiene efectos de inhibición pero si afecta la oxidación de compuestos de azufre, disminuyendo la formación de sulfato (Kim y Son, 2000).

2.2.3.2 Ventajas y desventajas de la desnitrificación autótrofa

Siendo la desnitrificación autótrofa una buena opción para la eliminación simultánea de compuestos de azufre y nitrógeno en los residuos líquidos, esta presenta ciertas ventajas y desventajas comparándolas a otras tecnologías. Dentro de las ventajas se puede nombrar:

- La concentración de materia orgánica es baja en muchas aguas residuales, por lo tanto se debe añadir una fuente externa de carbono mediante desnitrificación heterótrofa. Sin embargo, al aplicar desnitrificación autótrofa se puede utilizar compuestos de azufre como donantes de electrones, los cuales suelen ser más económicos que otras fuentes de carbono (metanol, ácido acético).
- Debido al hecho que solo unos cuantos microorganismos son capaces de utilizar compuestos de azufre como donador de electrones para su metabolismo, se realiza una fuerte selección de la población, por lo que se obtiene una baja cantidad de lodos.

Dentro de las desventajas se encuentran:

- La formación de sulfuro de hidrógeno provoca la inhibición de la nitrificación incluso a bajas concentraciones (0,5 [mg HS⁻/L]) (Vaninni *et al.*, 2006) mientras que la nitrificación genera amoníaco, el cual debe ser primero nitrificado.
- Cuando son tratadas aguas residuales con altas concentraciones de nitrato, se obtienen efluentes con alta concentración de sulfato. Para estos casos, se podrían generar zonas anaeróbicas donde se podrían formar sulfuros (Oh *et al.*, 2001).
- La aglomeración de lodos por la proliferación de bacterias filamentosas debido a la presencia de compuestos de azufre.

2.2.4. Desnitrificación simultánea

Se conoce como desnitrificación simultánea al proceso de coexistencia entre microorganismos desnitrificantes heterótrofos y autótrofos para la eliminación conjunta de materia orgánica, nitrógeno y azufre.

Los estudios en esta área son numerosos. Furamai *et al.* (1996) argumentaron que la transformación de nitrato a nitrito ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$) es más rápida mediante la desnitrificación autótrofa que mediante desnitrificación heterótrofa. Por el contrario, la velocidad de reacción de nitrito a nitrógeno gaseoso ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$) es mayor por el mecanismo heterótrofo que por la vía autótrofa. Reyes *et al.* (2004) lograron la remoción simultánea de nitrato a nitrógeno, sulfuro a azufre y acetato a dióxido de carbono en el mismo reactor de tanque continuo agitado (CSTR) con suficientes organismos autótrofos y heterótrofos, además de operar con nitrógeno como suministro ilimitado. Las máximas remociones de nitrógeno, sulfuro y DQO logradas fueron a VCN 0,209 [kg N/(m³ d)], VCS 0,294 [kg S/(m³ d)] y VCO 0,303 [kg C/(m³ d)] respectivamente.

Chen *et al.* (2008) operaron un reactor EGSB para la remoción simultánea de nitrógeno, azufre y materia orgánica. Ellos lograron operar a velocidades de carga nitrogenada de 1,45 [kg N/(m³ d)] de carga de azufre de 3,0 [kg S/(m³ d)] y de carga de ácido acético de 2,77 [kg Ac/(m³ d)] logrando remociones mayores al 99% para nitrato, 100% de sulfuro y sobre el 90% para el acetato y no registrándose inhibición por la concentración de sulfuros hasta 800 [mg/L].

Beristain-Cardoso *et al.* (2008) estudiaron el efecto de la razón molar entre acetato y nitrato sobre el estado de oxidación de los compuestos de azufre formados. La remoción total de acetato, nitrato y sulfuros fue lograda con razones molares acetato/nitrato de 0,85 y 0,75, siendo el azufre

el principal producto a razón de 0,85, mientras que el sulfato fue el producto dominante a 0,75. Ellos atribuyeron este cambio en la composición del producto final debido a la disminución de la concentración del donador de electrones orgánico y la disponibilidad de más nitrato para la oxidación de azufre a sulfato a razón de 0,75. Los resultados de una posible preferencia por el sulfuro como donador de electrones ante el acetato no fueron reportados por estos autores.

Tang *et al.* (2010) estudiaron los efectos de la velocidad de carga de nitratos y sulfuros, junto a las distintas razones molares para la remoción simultánea de sulfuros, nitratos y acetatos utilizando cultivos microbianos de un depósito de petróleo con reactores con biopelículas. Según sus observaciones la oxidación de acetato ocurrió solamente cuando la razón molar de carga de nitratos sobre sulfuros era cercana a 0,7 o mayor cuando el nitrato estuvo presente en concentraciones mayores que las requeridas para la oxidación de sulfuro a azufre y solo cuando el sulfuro se haya agotado. Además logro remociones de sulfuros entre 97,6 - 99,7% para todo el rango de velocidad de carga de sulfuros. Con el nitrato, para velocidades de carga hasta 2,5 [mM/h] la remoción estuvo cercana al 100%, aunque disminuyo temporalmente al 83% cuando la velocidad de carga aumento a 4,6 y 8,3 [mM/h], para luego volver a remociones altas (99,7-100%).

2.2.5. Nitrificación parcial

Para relaciones DQO/N bajas, el costo de operación de reactores de nitrificación/desnitrificación aumenta debido a que se debe agregar una fuente externa de materia orgánica (ácido acético, metanol, etc.) para completar la desnitrificación. Una opción para tratar estos residuos es la nitrificación parcial, la cual consiste en oxidar el ion amonio sólo hasta nitrito (ecuación 1.3), para continuar finalmente con la desnitrificación. Este proceso requeriría para la nitrificación un 25% menos de oxígeno que la nitrificación tradicional, mientras que para la desnitrificación equivale un ahorro del 40% de materia orgánica, además de producirse un 40% menos de biomasa (Van Kempen *et al.*, 2001) (figura 2.5).

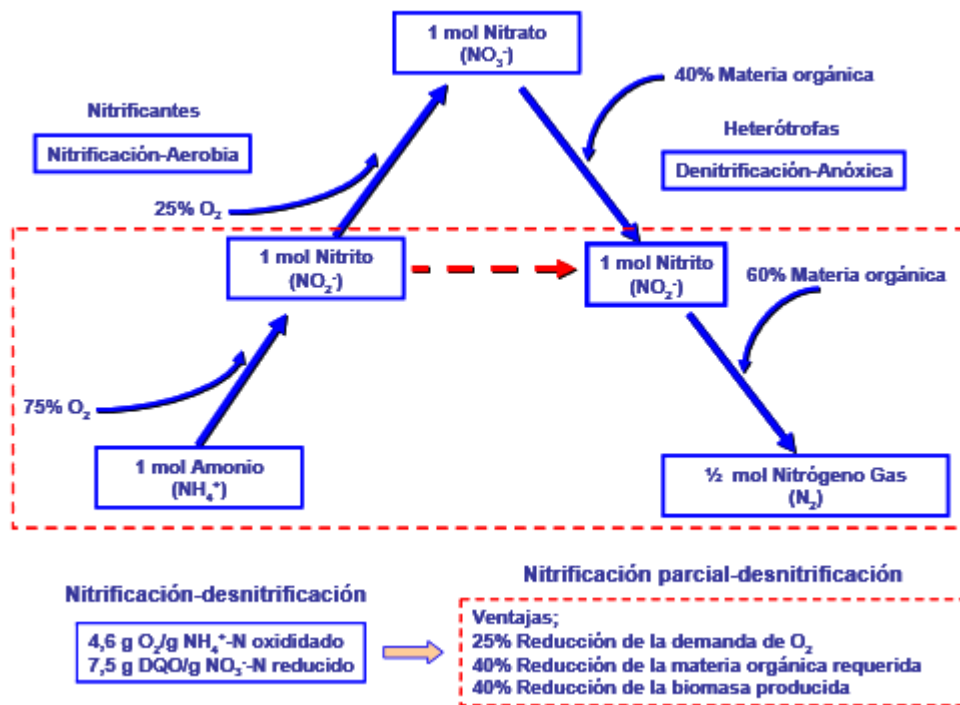


Figura 2.5: Comparación entre los procesos nitrificación-desnitrificación y nitrificación parcial-desnitrificación (Van Kempen *et al.*, 2001).

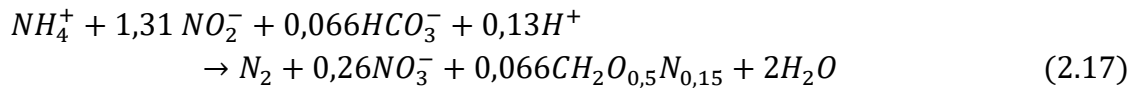
Debido a que el proceso de nitrificación involucra a dos reacciones en series, la acumulación de nitrito sucederá cuando sea mayor la velocidad de oxidación del amonio que la del nitrito. Las velocidades de oxidación de ambos compuestos dependen de la velocidad de crecimiento de sus bacterias y a su vez estas dependen de la temperatura (T) y de las concentraciones de amoniaco (NH_3) y oxígeno disuelto (O_2) (ecuación 2.16):

$$\mu = \mu_{\max}(T) \cdot \frac{O_2}{k_{O_2} + O_2} \cdot \frac{S}{k_S + S} \cdot \frac{1}{1 + \frac{NH_3}{K_{INH_3}}} \quad (2.16)$$

En donde $\mu_{\max}$ es la máxima velocidad de crecimiento bacteriano (d^{-1}), S es la concentración de sustrato (NH_4^+ para las BAO y NO_2^- para las BNO) (mg N/L), k_S es la constante de afinidad por el sustrato (mg N/L), k_{O_2} es la constante de afinidad por el oxígeno ($\text{mg O}_2/\text{L}$) y K_{INH_3} es la constante de inhibición por amoniaco (mg N/L).

2.2.6. Proceso Anammox

El proceso Anammox (Anaerobic Ammonium Oxidation) fue descubierto en una planta piloto de desnitrificación en la Universidad Técnica de Delft por Mulder (1992) tratando aguas residuales de una industria de levaduras. Este proceso anóxico es realizado por un grupo de bacterias autótrofas capaces de oxidar el amonio a gas nitrógeno utilizando como aceptor de electrones al nitrito, sin necesidad de materia orgánica. Strous *et al.* (1998) encontraron la ecuación global del proceso (ecuación 2.17).



Estas bacterias pertenecen al género *Planctomycetes* y se caracteriza por un alto tiempo de duplicación (10.6 d) y una productividad baja ($Y = 0,038 \text{ [g SSV/(g N - NH}_4^+)]$) lo que implica una baja producción de lodos, reduciendo sus costos de operación. Sin embargo la puesta en marcha del sistema será largo por lo que se recomienda iniciar el proceso en reactores con buena retención de biomasa. Además su metabolismo se ve inhibido en presencia de materia orgánica, nitrito u oxígeno (Dapena-Mora *et al.*, 2007).

La velocidad de crecimiento bacteriano (μ) puede ser descrita por la ecuación de Monod, la que muestra la dependencia de esta con la concentración de sustrato y la temperatura (ecuación 2.18).

$$\mu = \mu_{max}(T) \cdot \frac{S}{k_S + S} - K_d \quad (2.18)$$

En donde μ_{max} es la máxima velocidad de crecimiento bacteriano (d^{-1}), S es la concentración de sustrato limitante (mg N/L), k_S y K_d la constante de decaimiento (d^{-1}).

Es necesario tener un efluente con concentraciones ajustadas de amonio y nitrito para realizar el proceso Anammox. Usualmente el nitrógeno contamina las aguas residuales en forma de amonio, pero las concentraciones de nitrito suelen ser bajas, por lo que se necesita oxidar aproximadamente la mitad del amonio a nitrito. Durante la nitrificación parcial también se oxida la materia orgánica presente en las aguas residuales, evitando así su efecto inhibitorio en el proceso Anammox.

2.3 Reactores para el tratamiento de aguas residuales

2.3.1 Reactores anaerobios

Los reactores anaerobios se pueden clasificar en primera y segunda generación. La diferencia entre estos, es que en los reactores de primera generación el tiempo de retención hidráulico (TRH) es igual que el tiempo de retención de sólidos (TRS) mientras que en los reactores de segunda generación, el TRS es mayor que el TRH, logrando procesos más eficientes. En la tabla 2.3 se presentan los distintos tipos de reactores anaerobios utilizados en la industria.

Tabla 2.3: Clasificación de reactores anaerobios (Montalvo y Guerrero, 2017).

Primera generación	Segunda generación		
	Biomasa adherida	Biomasa suspendida	
		Biomasa dispersa	Biomasa granular
Tanques sépticos			
Lagunas anaerobias	Lecho fijo	Reactor de contacto	UASB
Minidigestores	Filtro anaerobio (FA, SD)*	Reactor con membrana	EGSB
Digestores convencionales	FA y SO; FD y SD; FD y SO*	Proceso anaerobio	Circulación interna
	Flujo horizontal	Secuencial	
	Lecho fluidizado o expandido		

* FA = Flujo ascendente, FD = Flujo descendente, SD = Soporte desordenado, SO = Soporte ordenado

Los sistemas de tratamientos anaerobios más usados con reactores de segunda generación a escala real son los siguientes:

- Reactor o digestor anaerobio de flujo ascendente con manto de lodo (UASB) (65%).
- Reactor anaerobio de lecho fijo (10%).
- Contactor rotatorio anaerobio (9%).
- Reactor anaerobio con circulación interna (5%).
- Reactor anaerobio con lecho granular expandido (EGSB) (5%)
- Reactor híbrido (3%).
- Lecho expandido (3%).

2.3.2 Reactor UASB (Montalvo y Guerrero, 2003)

El reactor UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) o reactor anaerobio de flujo ascendente con manto de lodo en español, fue desarrollado en Holanda por G. Lettinga desde la década de los años 70. Este tipo de reactor es en la actualidad el sistema anaerobio más aplicado a escala real.

Su principal característica es la capacidad de retener biomasa sin necesidad de ningún medio de soporte, gracias a la formación de gránulos entre bacterias, lo cual le da ventajas técnicas y lo hace más económico que otros tipos de reactores. Sin embargo, el proceso de formación de gránulos es su principal limitante, dado que la selección y correcta operación de reactor UASB dependerá del grado de sedimentabilidad que logren sus bacterias, ya sean como flóculos o gránulos. En general, los TRS en este tipo de reactor son mayores de 30 días y son usualmente utilizados para degradar materia orgánica.

En la figura 2.6 se presenta un esquema del reactor UASB, donde se observa la existencia de tres zonas bien definidas.

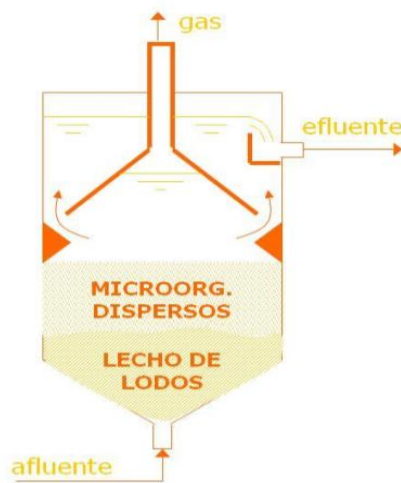


Figura 2.6: Esquema de reactor UASB. (Montalvo y Guerrero, 2003)

1. Zona de lecho de lodos, en la cual se concentran los microorganismos que biodegradarán el material orgánico presente en las aguas residuales a tratar.
2. Zona donde se hallan dispersos los microorganismos a lo largo del reactor.
3. Zona de separación gas-líquido-sólido.

La idea principal en este proceso es que el lodo tenga buenas condiciones de sedimentación, para esto debe contar con favorables condiciones físicas y químicas del proceso de floculación. Si estas condiciones son logradas, la retención del lodo dependerá principalmente de una separación efectiva del gas producido en el proceso (sobre todo de gas atrapado en el lodo). Una vez que el gas se encuentre separado, la sedimentación del lodo resultará favorable.

Existen distintos factores que son de interés para poder lograr una buena operación de este reactor. Algunos de estos se comentan a continuación:

La **concentración de biomasa** en el reactor debe ser tan alta como se pueda. El valor máximo se ve limitado por las condiciones de operación propias del sedimentador, incluyendo la recirculación por gravedad del lodo sedimentado en el reactor.

La **actividad biológica** dentro del lodo también debe ser elevada, la cual depende principalmente, del número de microorganismos presentes en el lodo, los cuales son los responsables de la degradación de la materia orgánica del agua residual tratada. Debido a que las bacterias anaerobias tienen una tasa de crecimiento muy baja, para lograr altas concentraciones de microorganismos se requiere de un tiempo considerable (entre 6 y 12 meses).

El **TRS** debe ser elevado para desarrollar una mezcla apropiada de microorganismos en el reactor, esto puede obtenerse mediante una operación efectiva de las tres secciones del reactor.

El **TRH** debe ser tan pequeño como se pueda. En estas circunstancias, el contacto entre el afluente y la biomasa debe ser muy bueno. Para cumplir con esto, deben tenerse en cuenta dos aspectos:

- El sistema de distribución del afluente debe ser diseñado de manera tal que todo el lodo en la parte inferior del reactor se mantenga en íntimo contacto con el afluente.
- El líquido en el lecho y en la zona de dispersión debe estar adecuadamente mezclado. Para evitar el uso de un agitador debe garantizarse que la turbulencia que produce el gas resultante del proceso, provoque un mezclado adecuado.

Para conseguir buenas eficiencias en el UASB es primordial la formación de un lodo granulado, lo cual depende, principalmente, de los factores siguientes:

- Disponibilidad de nutrientes
- pH
- Temperatura
- Tipo de agua residual
- Sedimentación por gravedad

La velocidad típica de flujo ascendente o velocidad superficial (v_s) en estos reactores es de 0,5 –1 [m/h], la cual se define como la velocidad con que el caudal se mueve internamente dentro del reactor (verticalmente hacia arriba). De manera general, este parámetro influye en la capacidad de tratamiento de los reactores de flujo ascendente y en la sedimentabilidad de los lodos granulados. Este parámetro relaciona el caudal (Q) a tratar con el área transversal (A) del reactor, según la ecuación 2.19:

$$v_s [m/h] = \frac{Q[m^3/h]}{A [m^2]} \quad (2.19)$$

2.3.3 Reactor EGSB

El reactor EGSB es perteneciente a la familia de los reactores granulares y es una modificación al reactor UASB. Gracias a un reciclo alto, la velocidad superficial de este equipo se mantiene alrededor de los 6 [m/h], muy superior a la velocidad de flujo ascendente que alcanzan los reactores UASB, además de caracterizarse por una alta relación altura-diámetro (cercana a 20/1). Debido a estas altas velocidades de flujo, aumenta la mezcla hidráulica, provocando un mejor y mayor contacto de los gránulos con el agua residual.

Las altas V_s son conseguidas utilizando altos caudales de reflujo, provocan fuerzas de corte superiores a las producidas en reactores UASB, que pueden llegar a desgastar más rápido los gránulos de microorganismos, además de provocar un mayor empuje a los gránulos suspendidos, lo que representa un problema para lodos que no posean una sedimentabilidad adecuada. Para disminuir este problema, los reactores EGSB pueden ser diseñados con una zona de separación más ancha que el resto del reactor a modo de disminuir la v_s para favorecer la sedimentabilidad y mejora el proceso de separación sólido-líquido.

Las características de este reactor, lo hacen capaz de tratar alta cargas orgánicas superiores a 35 [kg DQO/(m³ d)], con TRH bajos (entre 0,2 y 1 día) y tiempos de puesta en marcha entre 30 a 60 días (Lim, 2006; Guerrero y Montalvo, 2003).

En la figura 2.7 se muestra el esquema básico de un reactor EGSB. Se puede identificar en la parte inferior del reactor una zona de lecho de lodo donde ingresa el agua residual, y la zona de separación triple (gas, líquido y sólido) en el tope del reactor por donde se obtiene el efluente tratado.

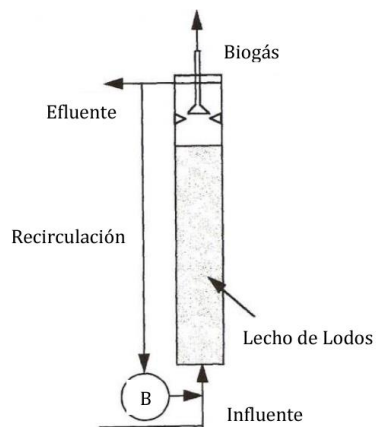


Figura 2.7: Esquema de un reactor EGSB. (Lim, 2006)

Considerando que los reactores EGSB proveen un mayor mezclado que los reactores UASB, debido a su alta recirculación, es posible asumir que el comportamiento de un reactor EGSB es más similar a un reactor de mezclado perfecto.

3. Metodología

3.1 Reactor

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó un reactor EGSB a escala de laboratorio de un volumen total de 3,0 [L], un volumen útil de 2,2 [L] y 1 [m] de altura. Su material de construcción es acrílico y este consta con 5 boquillas distintas, una para la entrada de la alimentación, otra para la salida del efluente, dos para la recirculación y la quinta para la salida de gases.

El reactor está compuesto de dos secciones, la base o sección cilíndrica del reactor en donde se encuentra la mayor parte del lodo expandido, por lo tanto donde sucede principalmente la reducción del nitrato y la zona superior o campana, la cual posee un diámetro dos veces mayor a la base, por lo que se produce una disminución de la velocidad superficial del flujo, lo que conlleva la decantación de cúmulos bacterianos, separando el efluente del lodo.

En la tabla 3.1 se muestran las dimensiones del reactor, mientras que una imagen real se muestra en la figura 3.1.a y su esquema en la figura 3.1.b

Tabla 3.1: Dimensiones generales del reactor EGSB.

Característica	Sección	Valor	Unidad
Altura	Cuerpo	85	[cm]
	Campana	15	[cm]
	Total	100	[cm]
Altura boquillas	Entrada reflujo	0	[cm]
	Entrada alimentación	5	[cm]
	Salida reflujo	95	[cm]
	Salida efluente	98	[cm]
	Salida Gases	100	[cm]
Diámetro	Cuerpo	5,5	[cm]
	Campana	10	[cm]
	Boquillas	7	[mm]
	Boquilla superior	10	[mm]
Volumen	Cuerpo	1,9	[L]
	Campana	1,1	[L]
	Campana útil	0,3	[L]
	Útil	2,2	[L]

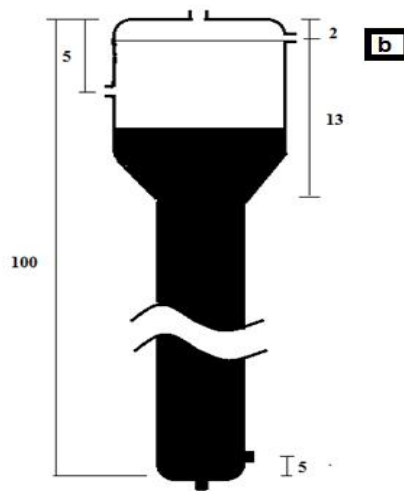


Figura 3.1: (a) Fotografía del reactor EGSB; (b) esquema del reactor EGSB [cm] utilizados en este estudio.

El volumen útil corresponde a la suma del volumen del cuerpo y el volumen útil de la campana. Como se representa en la figura 3.1b, durante la operación del reactor las bacterias alcanzaron aproximadamente un nivel medio entre la boquilla superior de recirculación y el comienzo de la campana, además el ángulo de inclinación de la campana es 45° .

3.2 Inóculo

Las bacterias desnitrificantes autótrofas usadas en la experiencia provienen de la purga de una laguna anaerobia de la agrícola AASA. Se utilizó un volumen de 720 [mL] para inocular el reactor, el cual logró una concentración de SSV de 24,5 [g/L].

Las bacterias desnitrificantes heterótrofas se obtuvieron de un lodo de purga de un reactor UASB de una planta de tratamiento de residuos de tabaco (British American Tobacco Chile) y alcanzó una concentración de SSV de 20,2 [g/L] al momento de inocular. Se usó un volumen de 480 [mL] de este lodo el cual se enriqueció en un reactor *batch*. Considerando ambos lodos, el volumen total inoculado es 1,2 [L], es decir, aproximadamente la mitad del volumen útil del reactor.

3.3 Enriquecimiento

Las BDA fueron enriquecidas en el mismo reactor EGSB (operado como un reactor *batch* con recirculación) durante 10 días, tiempo donde se controló la remoción de nitrato hasta alcanzar un 98,2%. El cambio de alimentación se realizaba cada 2 días. La composición de la alimentación utilizada se presenta en la tabla 3.2 y tiene un exceso molar de $S_2O_3^{2-}$ del 55%¹:

Tabla 3.2: Composición de la alimentación de BDA durante la etapa de enriquecimiento (Fajardo *et al*, 2012).

Compuesto	Concentración [g/L]
$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	5
KNO_3	1,43
$NaHCO_3$	1,5
K_2HPO_4	1,5
KH_2PO_4	0,3
NH_4Cl	0,1
Micronutrientes	1 [mL]

Las BDH fueron enriquecidas en un reactor *batch* de 1,5 [L] durante 7 días y el cambio de su alimentación se realizaba cada 3 días. La composición de la solución de minerales y micronutrientes usadas se muestra en la tabla 3.3 y 3.4 respectivamente. El exceso molar del acetato de potasio utilizado fue de un 43%².

Tabla 3.3: Composición de la alimentación de BDH durante la etapa de enriquecimiento (Fajardo *et al*, 2012).

Compuesto	Concentración [g/L]
KNO_3	1,43
K_2HPO_4	0,3
KH_2PO_4	1,84
NH_4Cl	0,1
CH_3COOK	1,52
Micronutrientes	1 [mL]

Tabla 3.4: Composición de la solución de micronutrientes (Fajardo *et al*, 2012).

Compuesto	Concentración [g/L]
-----------	---------------------

¹ Definido según lo planteado por Fajardo y proyecto Fondecyt 1130108.

² Definido según lo planteado por Fajardo y proyecto Fondecyt 1130108.

Na₂MoO₄ *7H₂O	1,0
FeSO₄*7H₂O	30,0
ZnCl₂*4H₂O	1,0
CaCO₃	2,0
MnCl₂*4H₂O	1,5
CuSO₄*5H₂O	0,25
CoCl₂*6H₂O	0,25
HCl (32%)	50,0
NiCl₂*6H₂O	0,25
H₂BO₃	0,25

3.4 Equipos

Un esquema del montaje utilizado durante la operación del reactor se muestra en la figura 3.2. La alimentación se carga al contenedor E-1 (figura 3.3a), lugar donde se asegura la mezcla con la ayuda de un agitador. Luego la bomba peristáltica B-1 (figura 3.3b) conectada a un temporizador desplaza la alimentación hacia el interior del reactor EGSB, además para lograr la suspensión y mezclado de los gránulos de bacterias la bomba B-2 (figura 3.3b) recirculaba el efluente tratado desde la campana hacia la zona inferior del reactor. El efluente descargaba por rebalse y era almacenado en el contenedor E-2. En caso que el reactor perdiera un gran volumen de bacterias, el efluente almacenado en el contenedor E-2 era tratado en sedimentadores para recuperar los microorganismos, los cuales eran reintroducidos directamente al reactor. En la zona superior del reactor existía una boquilla para la salida de gases.

Para controlar la temperatura de la cámara donde se encontraba el reactor, se aisló térmicamente las paredes de ésta con poliestireno expandido y se conectó el controlador de temperatura TIC-1 a un calefactor (figura 3.3c) para mantener la temperatura de la cámara a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

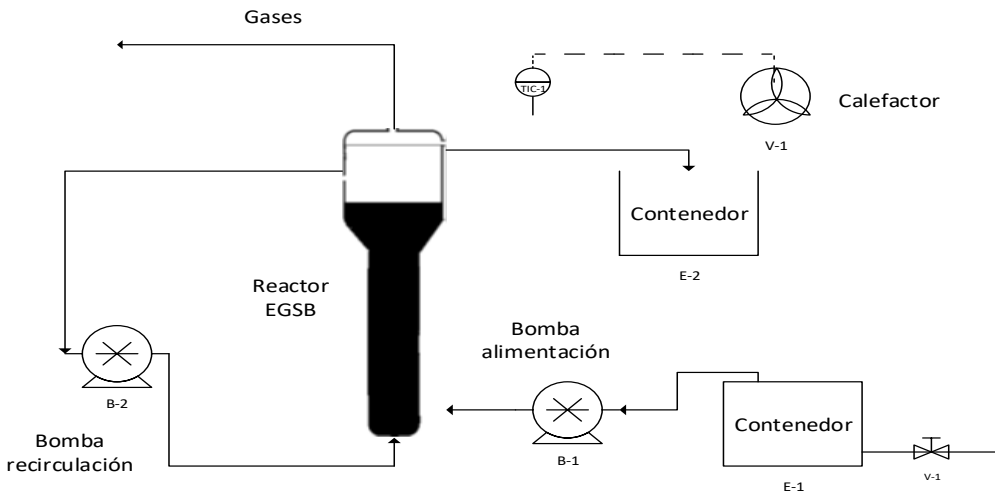


Figura 3.2: Esquema del montaje utilizado.

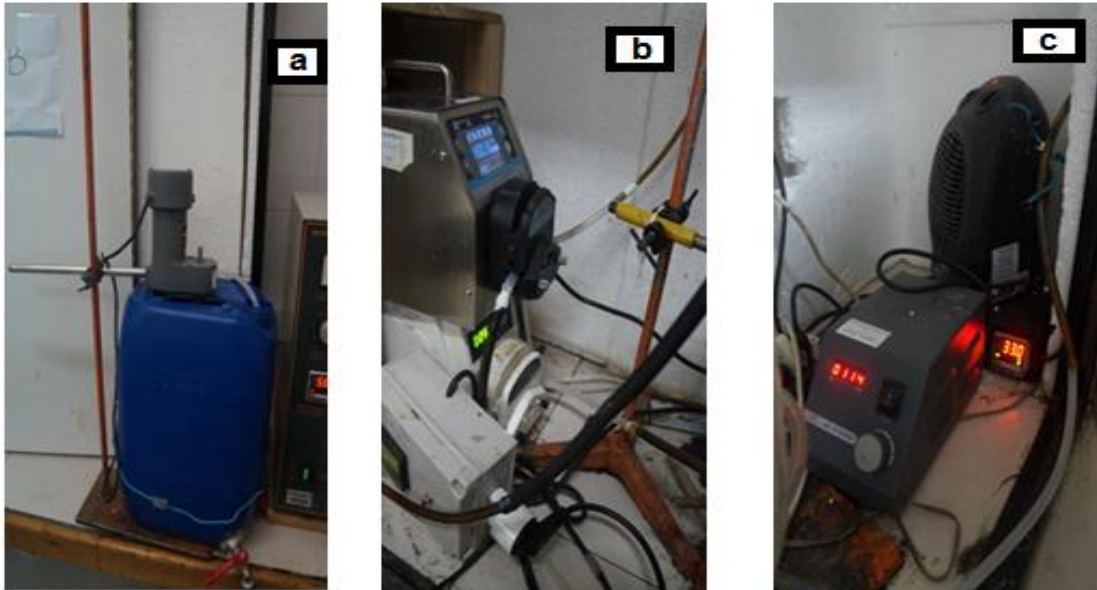


Figura 3.3: (a) Fotografía del contenedor de la alimentación; (b) bomba de alimentación (abajo) y recirculación (arriba); (c) calefactor con controlador de temperatura.

3.5 Operación

Se operó el reactor EGSB de forma continua durante 77 días bajo condiciones nitrato limitante. La variable modificada durante el desarrollo de la experiencia fue la velocidad de carga nitrogenada (VCN) (ecuación 3.1), la cual se modificó desde 0,1 hasta 1,5 [kg N/(m³ d)]. A su vez, ésta depende del caudal (Q) y la concentración (C) de la alimentación, dado que el volumen del reactor es fijo (V_r).

$$VCN \left(\frac{kg N}{m^3 d} \right) = \frac{Q \left(\frac{m^3}{d} \right) \cdot C \left(\frac{kg N}{m^3} \right)}{V_r(m^3)} \quad (3.1)$$

Se optó por variar el caudal y fijar la concentración de la alimentación, debido a que las variaciones de caudal generadas por la operación de la bomba peristáltica, genera mayores errores entre los valores máximos de VCN si la concentración es variable. Sin embargo, operar con el flujo variable implica llegar a un máximo caudal de operación, debido a que los reactores de lecho expandido operan hasta un límite de velocidad superficial. Sobre este valor, los cúmulos bacterianos comienzan a ascender y aglomerarse junto a la boquilla de descarga, donde finalmente son eliminados hacia el contenedor del efluente, por lo que el reactor comienza perder sus bacterias y las remociones disminuyen de forma considerable. Los caudales utilizados variaron entre 1,6 [L/d] y 24,5 [L/d].

Con el objetivo de aumentar la remoción de azufre, el día 9 de experimentación se redujo el exceso de tiosulfato desde un 37% a un 26%. Además 700 [mL] de otro cultivo de lodo con BDA fue enriquecido en un reactor *batch* de 1,5 [L] durante 16 días, tiempo donde se controló la remoción de nitrato y tiosulfato. El segundo lodo enriquecido fue introducido dentro del reactor EGSB el día 30 de operación.

El pH inicial de la alimentación se ajustó a 7,5 según la ecuación de Henderson – Hasselbalch (anexo A), pero debido a la presencia de bicarbonato de sodio y la formación de ácido acético a partir del acetato de potasio, el pH empírico era de $8,2 \pm 0,1$.

3.5.1 Composición de la alimentación durante la operación

Se preparó un RIL sintético cuya composición está basada en la composición de Fajardo *et al.* (2012) y se muestra en la tabla 3.5. El azufre está presente en forma de tiosulfato, el nitrógeno como nitrato de potasio, el acetato de potasio es la fuente de materia orgánica para las bacterias heterótrofas mientras que el bicarbonato de sodio es una fuente de alcalinidad para neutralizar los protones producidos durante la desnitrificación autótrofa y para proveer de una fuente de carbono inorgánico para las BDA. Como agente tampón se utilizaron el fosfato de potasio monobásico y dibásico, los cuales se ajustaron a un pH 7,5. Con estos valores la razón C/N y S/N son 3,01 y 4,57 respectivamente.

Tabla 3.5: Composición de la alimentación durante la operación (Fondecyt 1130108).

Compuesto	Concentración [g/L]
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2,6
KNO_3	1,06
CH_3COOK	1,81
NaHCO_3	1,5
K_2HPO_4	0,7
KH_2PO_4	0
NH_4Cl	0,056
Micronutrientes³	1 [mL]

En un principio el cambio de la alimentación se realizaba cada 2 días, pero debido al aumento de pH y a la disminución de la concentración de nitratos en la alimentación se decidió por preparar una nueva alimentación diariamente desde el día 28 de operación.

3.5.2 Muestreo

La toma de muestra se realizaba tanto al efluente como a la alimentación. Se extraía un volumen cercano a 40 [ml] de muestra, que eran almacenados dentro de tubos Falcón y luego filtrados en filtros cuantitativos.

La tabla 3.6 muestra la frecuencia de medición de los análisis realizados. Cabe señalar que la medición de acetato comenzó a realizarse desde el día 28 hasta el final de la operación.

Tabla 3.6: Frecuencia de muestreos realizados (APHA, 2012).

Compuesto	Muestras semanales	Periodo de almacenaje máximo
Nitrato	5	2 días
Tiosulfato	5	2 días
Nitrito	5	2 días
Sulfato	2	28 días
DQO	5	
pH	5	1 hora
Acetato	2	60 días

³ La composición de los micronutrientes se entrega en la tabla 3.4

3.6 Métodos analíticos

En esta sección se presentan los diversos métodos utilizados para la determinación cuantitativa de los compuestos y parámetros de interés. En la sección anexo B se encuentra el desarrollo experimental de los métodos aquí descritos.

3.6.1 Nitrato, nitrito y sulfato (Anexos B.1, B.2 y B.3)

La medición de los 3 compuestos utiliza el método de espectrofotometría en el rango de longitudes visibles y ultravioletas (entre 19 y 800 [nm]). El principio de este método está basado en la diferencia de intensidad de luz (P) de una longitud de onda al pasar por una muestra en una celda transparente (de longitud l). Esta intensidad de luz absorbida por la muestra se conoce como absorbancia (A) y su recíproco como transmitancia (T). La ley de Beer-Lambert (ecuación 3.2) establece una relación entre la absorbancia y la concentración del compuesto:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon l [C] \quad (3.2)$$

En donde ϵ es el coeficiente de extinción molar y $[C]$ la concentración del compuesto de interés.

Para disminuir posibles errores de interferencia en la medición, debido a refracción de la luz por el aire y paredes de la celda o por la energía absorbida por la celda misma, se realiza una medición de la absorbancia solamente con solvente, el cual se resta del valor de la absorbancia de la solución.

Para el caso del nitrato, la longitud de onda que ha de ser utilizada es de 220 [nm] según la APHA, la cual aplica para muestras de bajo contenido orgánico. Dado que a esta longitud de onda la luz es absorbida tanto el nitrato como la materia orgánica se realiza una segunda lectura a 275 [nm] para corregir una posible absorbancia por parte de la materia orgánica, ya que a esta longitud el nitrato no absorbe y si lo hace la materia orgánica. Además, resultados teóricos de operaciones similares anteriores se diferenciaban de los resultados experimentales a 220 [nm], por lo que se realizó una tercera lectura a 205 [nm].

El fundamento en la medición de nitrito está basado en la formación de un colorante azo púrpura rojizo, el cual se forma en un medio ácido (pH entre 2 y 2,5) por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con diclorhidrato de NED. La longitud de onda de la luz aplicada debe ser de 543 [nm].

El principio de la medición del sulfato se basa en que el ion sulfato precipita en presencia de cloruro de bario en un medio ácido, produciendo cristales de sulfato de bario, el cual es proporcional a la concentración de sulfatos presentes y su absorbancia puede ser medida por el espectrofotómetro a 420 [nm].

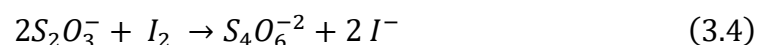
En la figura 3.4 se muestra el espectrofotómetro usado durante el desarrollo de la experiencia.



Figura 3.4: Espectrofotómetro utilizado para la medición de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-) y sulfato (SO_4^{2-}).

3.6.2 Tiosulfato (Anexo B.4)

Es determinado por un procedimiento conocido como yodimetría, el cual es un método volumétrico indirecto que consiste en determinar la cantidad de oxidante (tiosulfato) al hacerlo reaccionar con un exceso de iones de yoduro y finalmente midiendo el exceso de yodo usando tiosulfato de sodio como agente reductor, se puede determinar el tiosulfato original de la muestra según la siguiente ecuación.



3.6.3 Potencial de hidrógeno (pH)

El potencial de hidrógeno fue medido directamente tanto en la alimentación como en el efluente por el equipo *pH Termo Orion Perphect LogR Meter 370*, el cual se basa en el método potenciométrico. Este método mide la diferencia de potencial entre un electrodo de referencia (potencial constante e independiente de la composición de la solución) y otro electrodo dependiente del pH, que según la ecuación de Nerst (3.5) pueden ser relacionados el pH con la temperatura (T) y el potencial medido (E):

$$E(T, pH) = E^0(T) + C \cdot T \cdot pH \rightarrow \Delta E = C \cdot T \cdot pH \quad (3.5)$$

3.6.4 Demanda química de oxígeno (DQO) (Anexo B.5)

La DQO se calculó por titulación directa, cuyo principio se basa en la oxidación de sustancias orgánicas e inorgánicas oxidables en una solución fuertemente ácida (H_2SO_4) con un exceso conocido de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) sin reducir, el cual finalmente se titula con sulfato ferroso de amonio ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$), utilizando ferroína como indicador final de la reacción. En la figura 3.5 se puede observar el cambio de color a un rojizo de las muestras sin titular.



Figura 3.5: Proceso de titulación de las muestras digeridas de DQO.

3.6.5 Ácido acético (Anexo C)

Para la medición del CH_3COOH se aplicó la técnica de cromatografía líquida en el *Cromatógrafo Líquido Agilent Technologies 1100*, la cual consiste separar físicamente los distintos componentes de una solución por adsorción selectiva. Existen 2 fases que se encuentran en contacto, una fase fija o estacionaria y otra fase móvil (solución 1% ácido nítrico y 99% fosfato de sodio), la cual fluye constantemente durante el análisis. La fase estacionaria usualmente es de alúmina, sílice o resinas de intercambio iónico. De esta forma, los compuestos se fijan a la fase estacionaria por afinidad electrostática. Dependiendo de la relación carga/tamaño algunos compuestos de la mezcla se retendrán por mayor tiempo a la fase estacionaria que otros, lo que provocará su separación.

4. Resultados y Discusión

4.1 Etapa de enriquecimiento

La figura 4.1 muestra el porcentaje de remoción de nitratos y la concentración en el efluente del mismo durante la primera etapa de enriquecimiento de las bacterias autótrofas.

Se puede apreciar una tendencia constante a la disminución de la concentración de NO_3^- en el efluente, pero no así mismo con el incremento del porcentaje de remoción que entre los días 4 y 6 se redujo levemente. Esto se puede explicar debido a que el día 4 hubo una disminución de la concentración de NO_3^- en la alimentación desde 1283 [mg/L] (promedio) a 833 [mg/L].

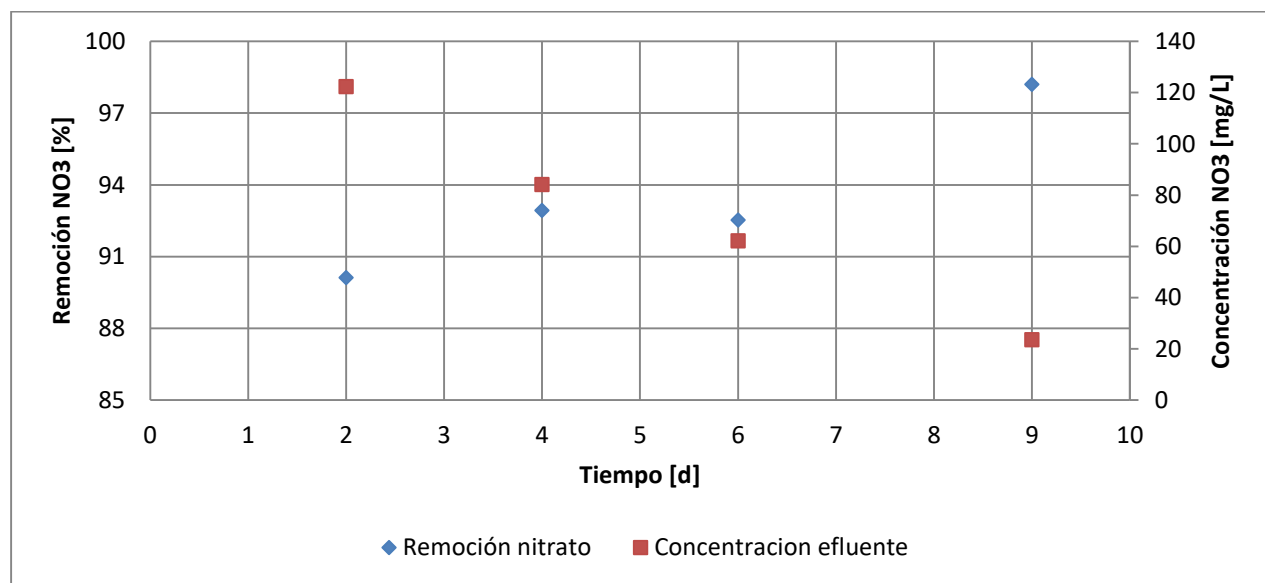


Figura 4.1: Remoción y concentración en el efluente de NO_3^- durante el primer período de enriquecimiento de BDA.

En la figura 4.2 se presenta el gráfico de remoción de NO_3^- y $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ durante el segundo período de enriquecimiento de BDA. Se aprecia que el nitrato comienza con remociones más altas que el tiosulfato durante los primeros días, pero que la remoción de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ aumenta más rápido durante el enriquecimiento. Para el día 14 de operación, ambas remociones superaron el 99%.

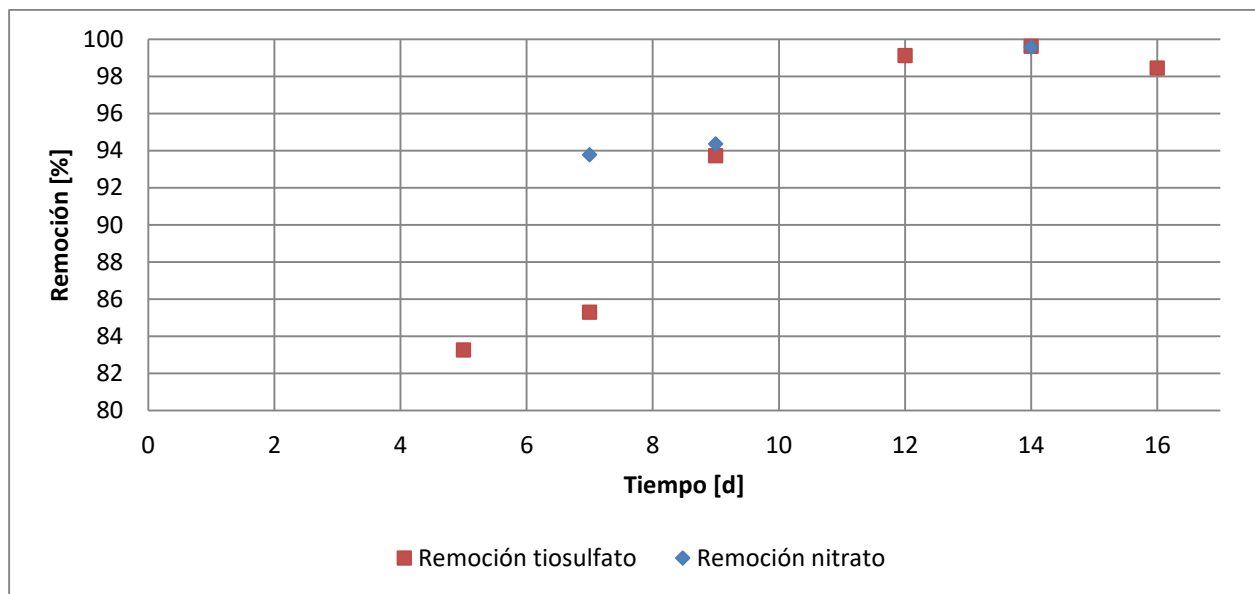


Figura 4.2: Remoción de NO_3^- y $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ durante el segundo período de enriquecimiento de BDA.

4.2 Etapa de operación

4.2.1 Concentración de nitrato y tiosulfato en la alimentación

Comparar las diferencias entre los valores de concentración experimentales y teóricos de los reactivos en la alimentación permitirá determinar fuentes de errores de medición y/o manipulación, permitiendo así tener una validación sobre los resultados de remoción de dichos compuestos.

La figura 4.3 presenta las diferencias de concentración de NO_3^- en la alimentación medidas por el espectrofotómetro en 2 longitudes de ondas distintas (205 [nm] y 220 [nm]), junto a la concentración teórica de nitrato (650 [mg/L]).

Durante los primeros días de operación, la alimentación se remplazaba cada 2 días, pero se puede ver en ambas curvas experimentales que al segundo día de haber alimentado, la concentración de nitrato disminuía considerablemente respecto a su concentración inicial, esto debido a su reactividad. Como se había optado por operar con la concentración fija de nitrógeno, desde el día 30 de operación se comenzó a reemplazar la alimentación diariamente para eliminar este error.

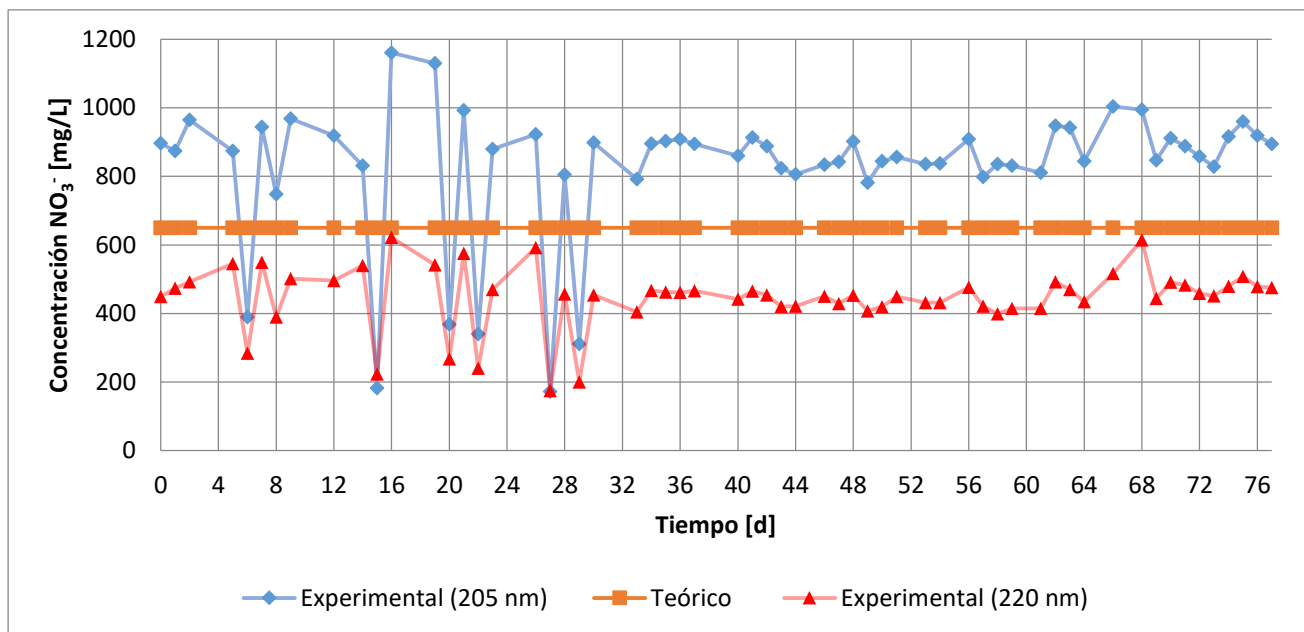


Figura 4.3: Concentración de NO_3^- en la alimentación medidas a 205 y 220 [nm].

El cálculo del error relativo porcentual de la concentración se muestra en la ecuación 4.1. Se realizó un análisis del intervalo de confianza de aquellos errores con un 95% de confiabilidad y se determinó un error del $38,76 \pm 3,35 \%$ para las concentraciones de nitrato a 205 [nm], las cuales eran generalmente mayores que la concentración teórica (650 [mg NO_3^-/L]). Para las concentraciones medidas a 220 [nm] se obtuvo un error del $34,67 \pm 2,64\%$, las cuales usualmente estaban bajo el valor teórico.

$$\% \text{ Error} = \frac{\text{Concentración teórica} - \text{Concentración experimental}}{\text{Concentración teórica}} \times 100\% \quad (4.1)$$

Debido a que los intervalos de error son muy altos para ambas longitudes de ondas, se optó por trabajar con el promedio de ambas concentraciones. Estos resultados son presentados en la figura 4.4, donde además se han eliminado los puntos cuya concentración de nitrato ha disminuido debido a la reactividad de este y no por la actividad bacteriana.

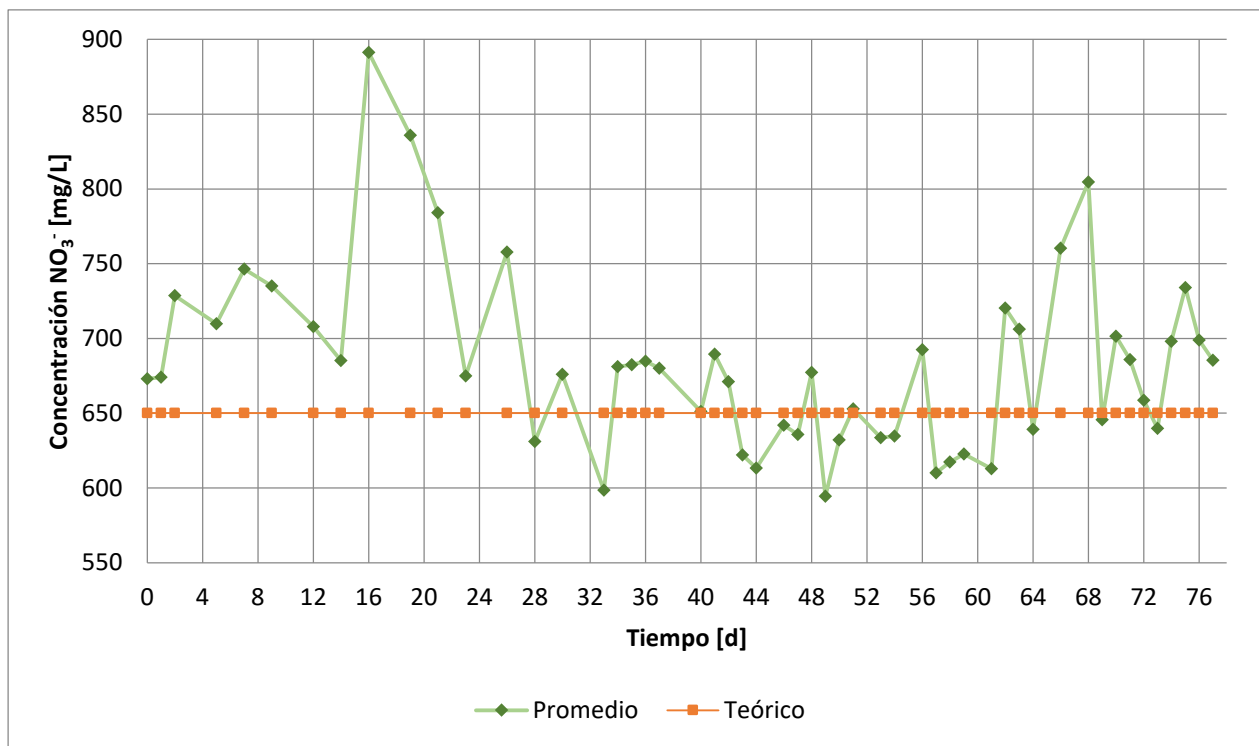


Figura 4.4: Concentración promedio de NO_3^- en la alimentación.

El valor promedio de las concentraciones se aproxima más al valor teórico que ambas mediciones por separado. Esto es confirmado por un análisis de confianza de los errores relativos entre la concentración promedio y teórica que con un 95% de confiabilidad obtuvo un error del $7,61 \pm 2,24\%$, intervalo esperable debido a errores experimentales y de medición.

La figura 4.5 representa una comparación entre la concentración de tiosulfato experimental y su valor teórico en la alimentación. Debido a que hubo una reducción en el exceso de tiosulfato existen 2 rectas teóricas, la primera con 37% de exceso molar mientras que la otra un 26% de exceso.

Existe una notoria diferencia entre las concentraciones experimentales y los valores teóricos esperados hasta el día 48 de operación. El día 49 se volvió a preparar el yodo y el tiosulfato para el análisis de yodimetría, por lo que una disminución en la molaridad del yodo debido a su volatilidad incrementaría los valores experimentales medidos de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$.

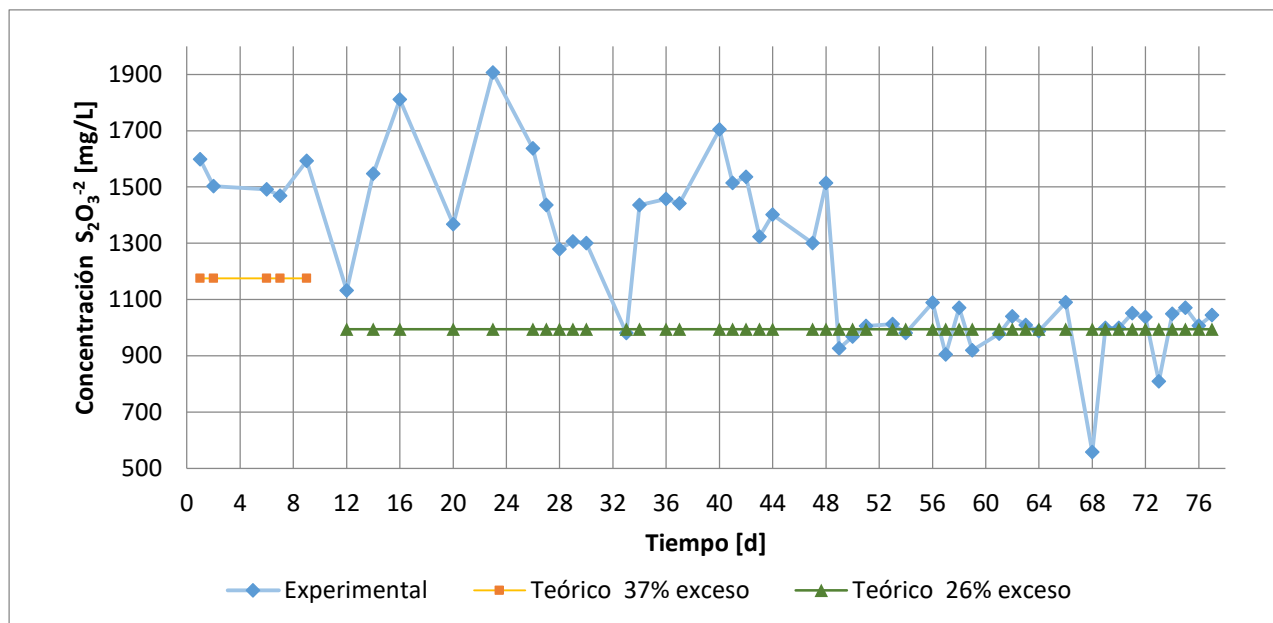


Figura 4.5: Concentración de $S_2O_3^{2-}$ en la alimentación.

Un análisis al error relativo entre la concentración de $S_2O_3^{2-}$ experimental y teórica fue realizada para los primeros 48 días de operación y desde el día 49 en adelante. Con un 95% de confiabilidad el intervalo de error varía entre $44,4 \pm 6,9\%$ para el primer grupo de datos, mientras que el error desde el día 49 hasta el final de la operación del reactor fue de $6,6 \pm 3,6\%$.

4.2.2 Concentración de productos de nitrógeno

En la figura 4.6 se graficaron las concentraciones de nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) medidas durante la operación. Al analizar las concentraciones de nitrato en el efluente, existe un notorio aumento entre los días 64 y 66 de operación. Esto se debe a que el día 63 hubo un aumento de la VCN a $1 [kg N/(m^3 d)]$, lo que produjo sobrepasar el límite de la velocidad superficial tolerada por el reactor EGSB, debido a esto los cúmulos bacterianos comenzaron a escaparse por la salida del efluente, dejando a este sin bacterias y disminuyendo la remoción de los contaminantes. Esto además se corrobora en la cantidad de nitrito medido el día 66, el cual sobrepasó los $50 [g/L]$.

Para corregir este problema de operación hubo que disminuir el caudal de recirculación, lo que pudo afectar en la eficiencia de mezclado y finalmente la remoción de nitratos. Después de solucionar este problema, se aprecia que la concentración de NO_3^- en el efluente se redujo desde

los 400 a 150 [mg/L], pero no pudo volver a los valores anteriores del lavado del reactor (< 50 [mg/L]).

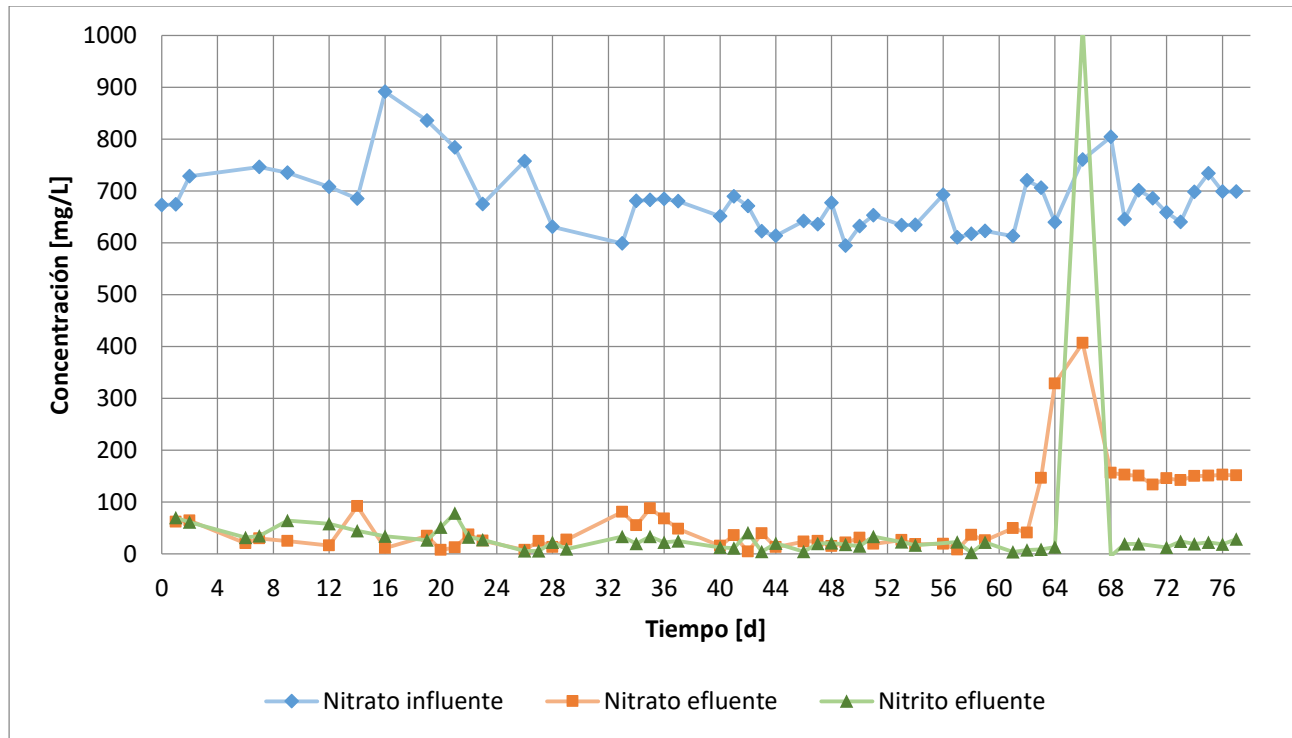


Figura 4.6: Concentraciones de productos de nitrógeno.

La figura 4.7 muestra una comparación entre el nitrato total consumido y el nitrato consumido separadamente por las bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas, el cual se calculó estequiométricamente según el tiosulfato y ácido acético consumido respectivamente.

El consumo de nitrato por las BDA no puede ser mayor al nitrato total consumido por ambos grupos de bacterias desnitrificantes, por lo que aquellos puntos donde el consumo de NO_3^- sea mayor por parte de las bacterias autótrofas se debe a errores de medición en la concentración del tiosulfato, tal como se discutió en la sección anterior. Se observa que desde el día 49 en adelante el nitrato total reaccionado fue siempre mayor que el nitrato reaccionado por las BDA.

Además, se observa que el consumo promedio del NO_3^- durante la experimentación fue del orden de los 600 [mg/L], con excepción entre los días 19 y 20 donde hubo un aumento en el gasto de nitrato sobre los 800 [mg/L] al igual que lo muestra el nitrato consumido estequiométricamente

por las BDA. En general el consumo de nitrato por parte de las bacterias heterótrofas fue mayor que las autótrofas durante el mayor tiempo de la operación.

Desde el día 66 en adelante, el consumo de nitrato por parte de las BDA se redujo aproximadamente a un 15% del total de nitrato reaccionado. La posible exposición al aire de las bacterias debido al lavado del reactor y el posterior reingreso de estas al mismo, pudo haber afectado mayormente a las bacterias autótrofas que a las bacterias heterótrofas.

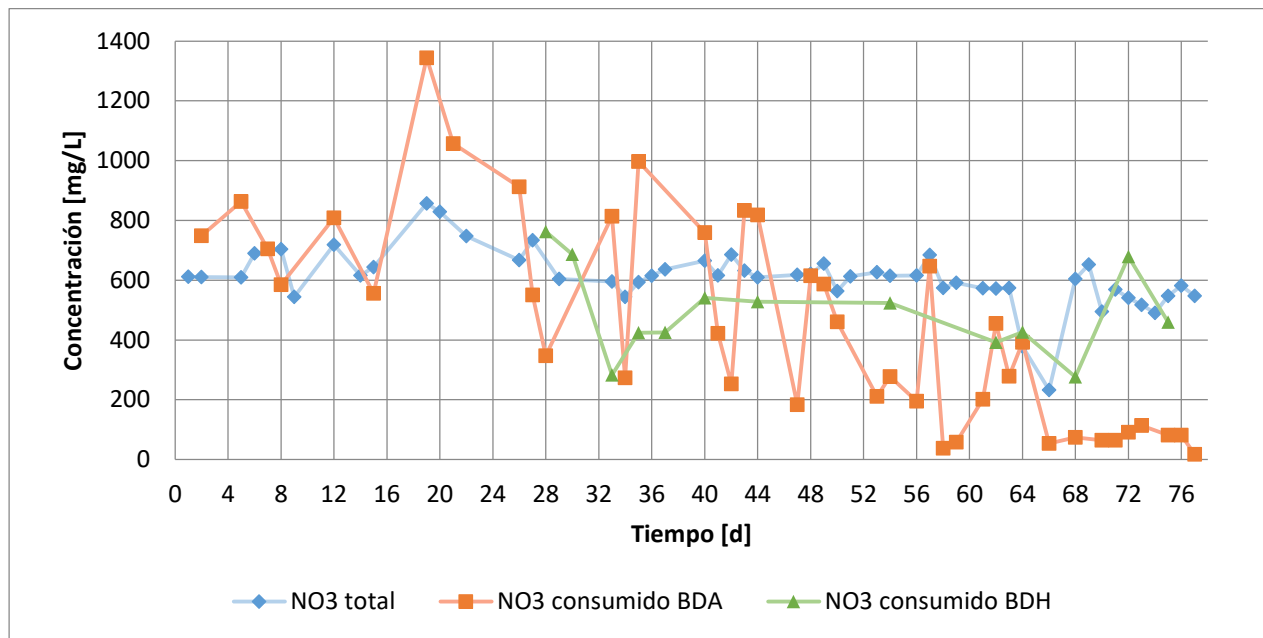


Figura 4.7: Comparación entre el nitrato reducido por bacterias autótrofas y bacterias heterótrofas.

4.2.3 Concentración de productos de azufre

En la figura 4.8 se presenta el comportamiento de los compuestos de azufre involucrados durante la operación. Debido a que el aumento de VCN fue realizado incrementando el caudal y con concentración fija, es de esperarse que la concentración de sulfato (SO_4^{2-}) se encuentre en un rango constante. Se observa una clara disminución entre el SO_4^{2-} medido el día 8 y 12 de operación, esto se debe por una parte que durante la primera semana el reactor operó solo con BDA, por lo que la competencia por el NO_3^- con las BDH aún no se generaba y el nitrato era reducido totalmente por el tiosulfato, aumentando así la concentración de sulfato en el medio. Además desde el día 9 de operación se redujo el exceso de tiosulfato, por lo que es de esperarse

menores concentraciones de SO_4^{2-} y de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en el efluente. Luego del lavado del reactor, la concentración de SO_4^{2-} medida fue nula y de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en el efluente similar a la concentración en la alimentación.

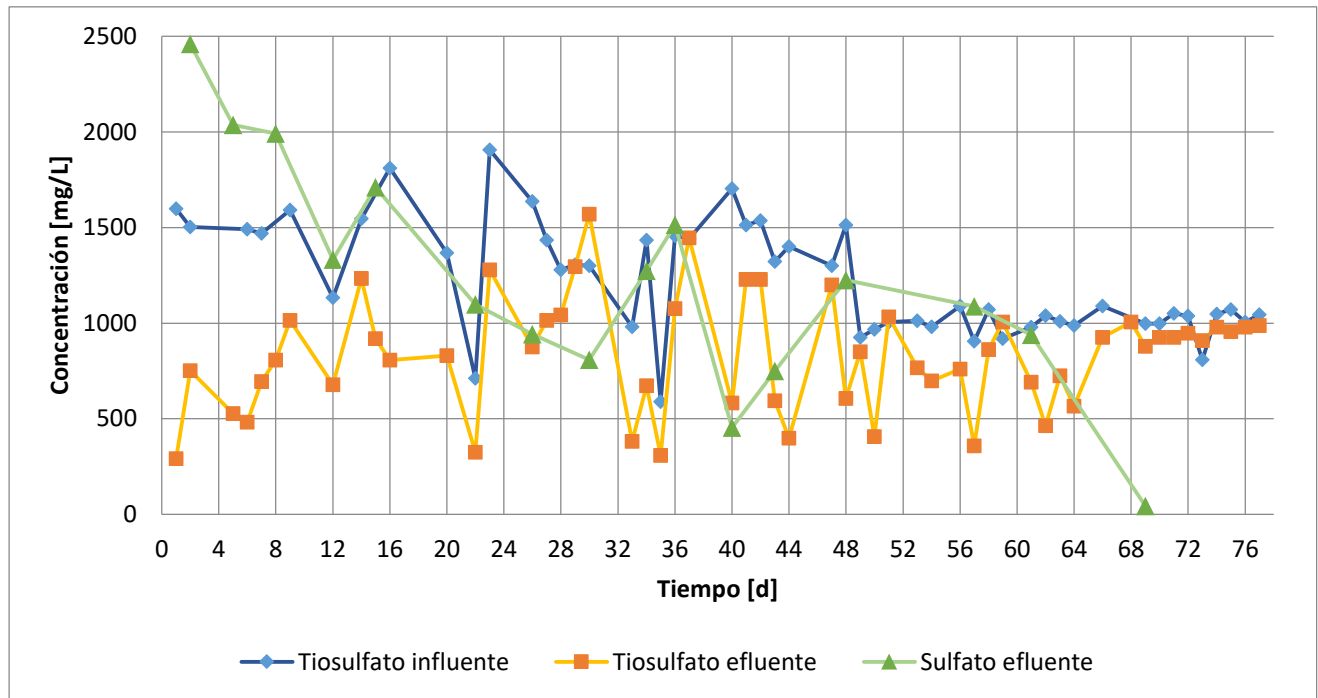


Figura 4.8: Concentración de productos de azufre.

La figura 4.9 compara las concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ del efluente entre su valor teórico y empírico. La concentración teórica de tiosulfato remanente se obtuvo como la diferencia entre el tiosulfato alimentado y el tiosulfato consumido estequiométricamente según los moles de nitrato consumidos.

Debido a la suposición de que solo el $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ha reaccionado con el NO_3^- , es de esperarse que los valores de concentración teóricos sean menores a los valores experimentales, dado que parte del NO_3^- ha reaccionado también con el ácido acético mediante las BDH por lo que el valor real de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ consumido debe ser menor al supuesto. Además se justifica esta teoría debido a que durante los 7 primeros días de operación, solo había bacterias autótrofas dentro del reactor y en el gráfico se observa que durante este periodo de tiempo la curva teórica está sobre los valores experimentales, a diferencia del resto de la operación donde las concentraciones experimentales de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ son por lo general mayores. Mientras mayor sea la diferencia entre la curva experimental

y la curva teórica, se asume que mayor fue el proceso desnitrificante heterótrofo. Se observa que después del lavado del reactor, la concentración experimental de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ aumenta y no así la concentración teórica, esto significa que el proceso de desnitrificación continuaba solo por las bacterias heterótrofas.

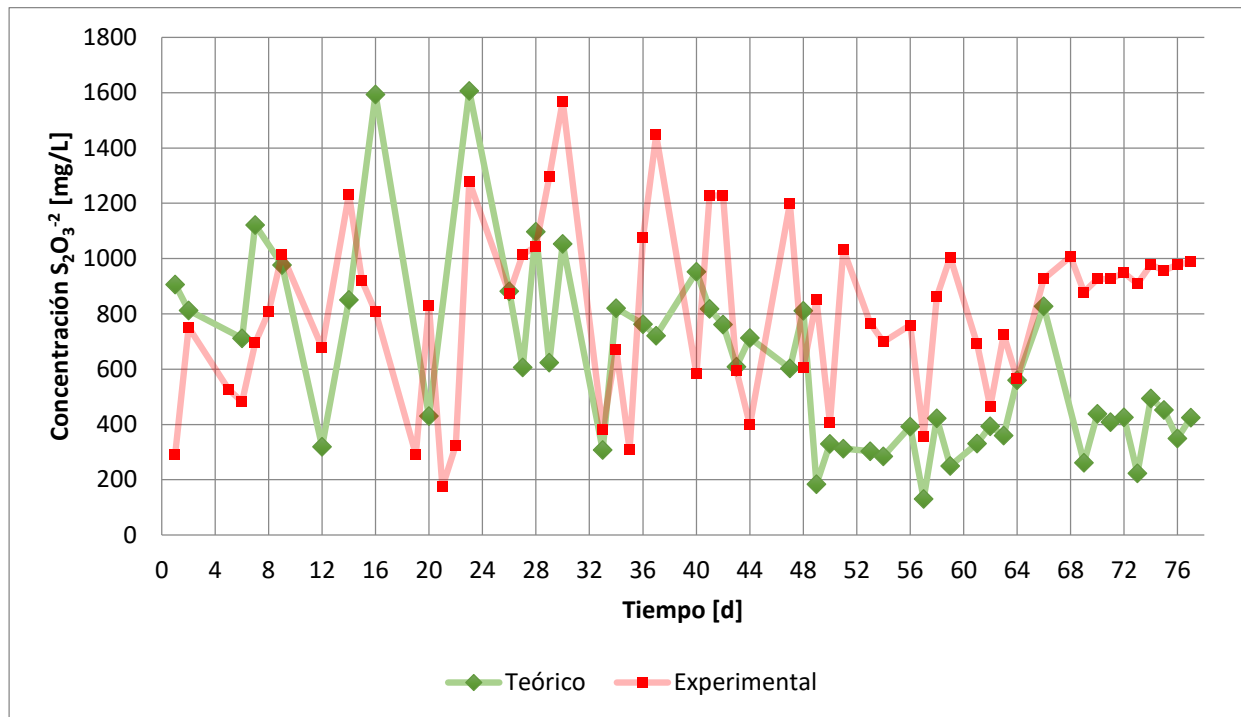


Figura 4.9: Concentración de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en el efluente de su valor teórico y empírico.

La figura 4.10 presenta la concentración de sulfato teórica y experimental en el efluente. La concentración teórica de SO_4^{2-} se obtuvo a partir de los moles consumidos de tiosulfato y de la reacción desnitrificante autótrofa.

Se observa una tendencia a la disminución de la concentración de SO_4^{2-} en ambas curvas y con concentraciones superiores a los 2000 [mg/L] para antes del día 9 de trabajo, operando con un exceso de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ del 37%. Cuando el exceso de tiosulfato se redujo a un 26% la concentración de SO_4^{2-} disminuyó entre los 500 y 1500 [mg/L].

Desde el día 66 en adelante ambas curvas disminuyen drásticamente (aproximadamente a los 100 [mg/L] de SO_4^{2-}) al igual que aumenta la concentración remanente de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en el efluente hasta

valores cercanos a los de la alimentación 1000 [mg/L] (figura 4.9). Esto indica la detención del proceso de desnitrificación autótrofa.

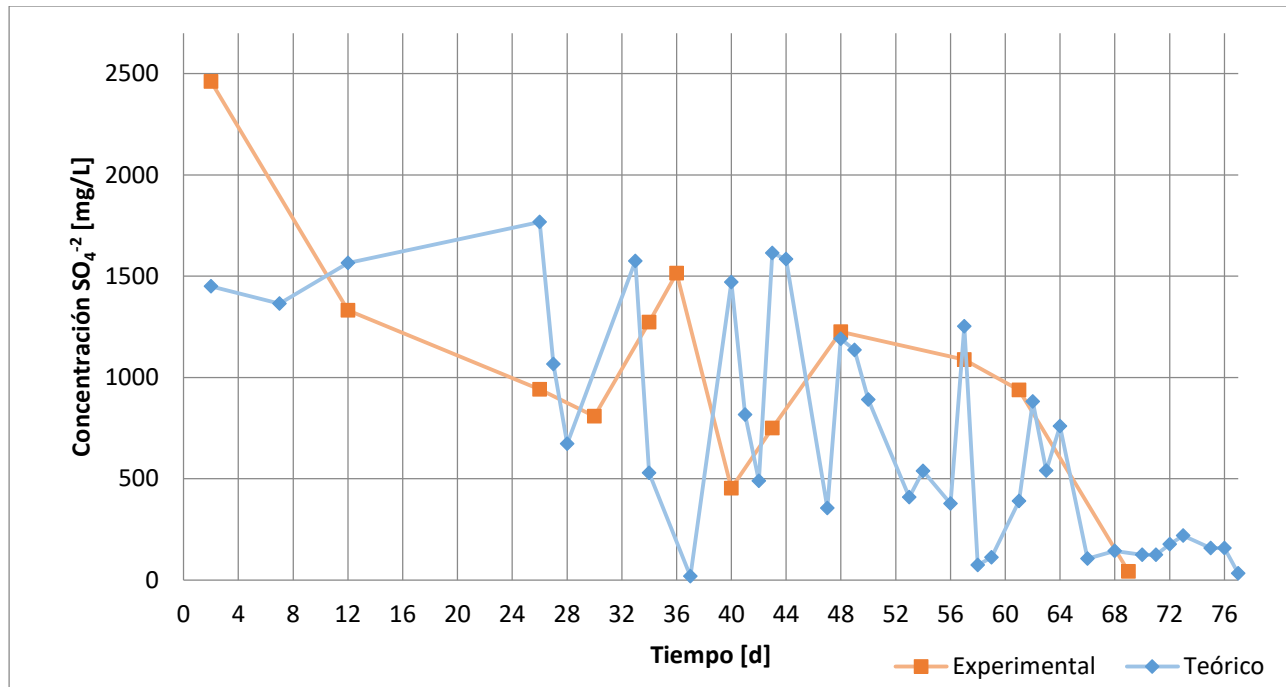


Figura 4.10: Concentración de SO_4^{2-} teórica y experimental en el efluente.

4.2.3 Concentración de materia orgánica

Se determinó la concentración de ácido acético (CH_3COOH) mediante dos formas distintas. Un método indirecto en donde se midió la demanda química de oxígeno (DQO), el cual se define como la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual y otro método directo en donde se determina la concentración de ácido acético por un análisis de cromatografía líquida a la muestra.

Los resultados de la concentración de DQO se presentan en la figura 4.11. Se observa que hasta el día 16 de operación, la DQO en la descarga presenta valores muy cercanos a la alimentación, lo que es una señal de que la desnitrificación heterótrofa aún no ha comenzado, esto puede deberse a que las bacterias heterótrofas que fueron introducidas a la semana de operación, no fueron enriquecidas por el tiempo suficiente. Desde el día 19 en adelante se presenta una diferencia en la

alimentación y descarga, llegando a ser máxima esta diferencia entre los días 26 y 33 de operación, en donde se observa la menor concentración de DQO en el efluente.

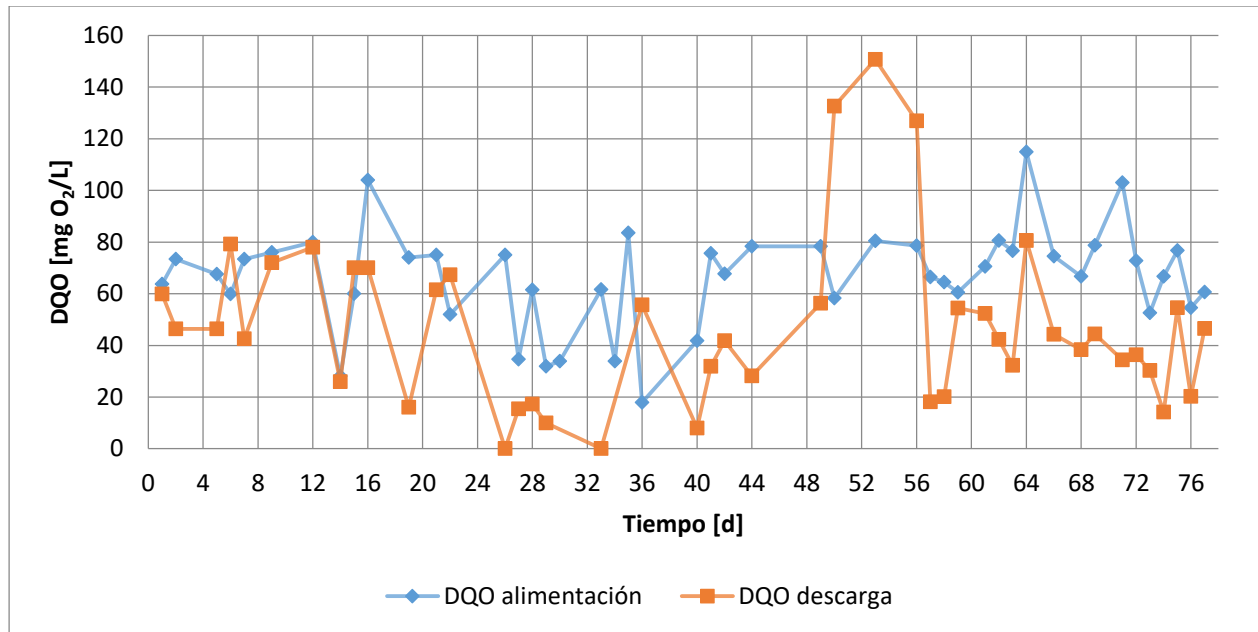


Figura 4.11: Concentración de DQO en el influente y efluente.

La concentración directa de ácido acético medida por el cromatógrama líquido se midió desde el día 28 de operación. Las concentraciones de la alimentación y descarga se presentan en la figura 4.12.

El valor teórico de la concentración de CH_3COOH (448 [mg/L]) se obtuvo suponiendo una disociación total del acetato de potasio (CH_3COOK) al ion acetato y la posterior hidrolización parcial de este para formar CH_3COOH (ácido débil). Además se incluyeron las concentraciones de protones $[\text{H}^+]$ iniciales libres del bicarbonato de sodio (NaHCO_3), cloruro de amonio (NH_4Cl) y fosfato de potasio dibásico (K_2HPO_4), ya que estos influyen en la concentración de equilibrio que alcanza el ácido acético, estos cálculos se presentan en la sección anexo C.

La concentración de CH_3COOH del efluente es aproximadamente 100 [mg/L] hasta el día 62 de operación. Al igual que en los otros compuestos ya analizados, se observa un aumento en la cantidad del ácido hasta los 180 [mg/L] promedio desde el día 64. Pese que a este aumento no fue

tan notorio como si lo fue en el tiosulfato, se deduce que el lavado del reactor también afecto en menor manera a las BDH.

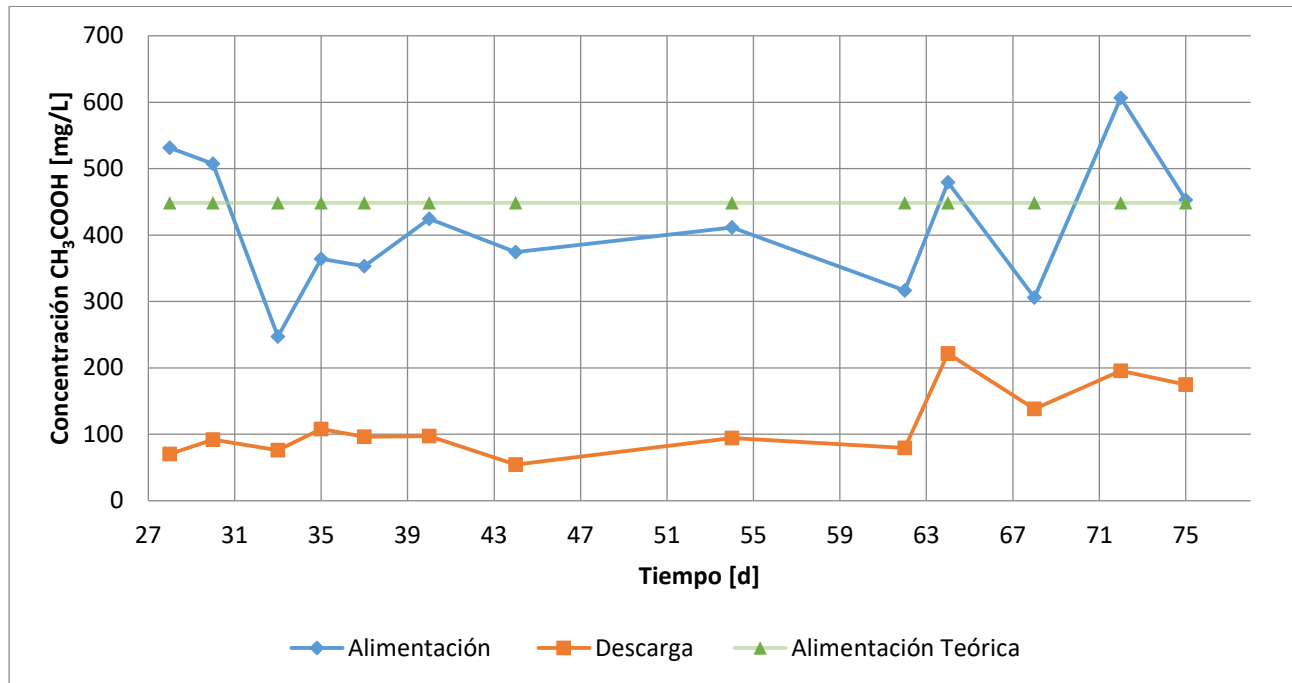


Figura 4.12: Concentración de CH_3COOH en el influente y efluente.

4.2.4 Remoción de nitrato, tiosulfato y ácido acético

La remoción de NO_3^- junto a la modificación de la velocidad de carga nitrogenada es presentada en la figura 4.13. Se observa una operación normal del reactor hasta el día 63 (sobre un 90% de remoción), es decir que el aumento de VCN provoca una disminución en la remoción del NO_3^- , la cual vuelve a aumentar con el pasar de los días debido al crecimiento bacteriano. Pero entre los días 63 y 66, hubo una gran disminución en la remoción del contaminante, debido al aumento de VCN a 1 $[\text{kg N}/(\text{m}^3 \text{ d})]$ lo que superó la velocidad superficial tolerada por el reactor, por lo que los flóculos comenzaron a salir del reactor. Luego de haber solucionado este problema de operación, la remoción de NO_3^- se mantuvo próxima al 80%.

La máxima eliminación del NO_3^- se produjo el día 42, donde se logró un 99,4% de remoción a una VCN de 0,55 $[\text{kg N}/(\text{m}^3 \text{ d})]$, mientras que la remoción promedio del contaminante antes del lavado fue de un 94,2% y posterior a este evento bajo a un 73,7%. Además, la VCN con mayor promedio de remoción de NO_3^- fue de 0,7 $[\text{kg N}/(\text{m}^3 \text{ d})]$ con una remoción promedio del 96,4%.

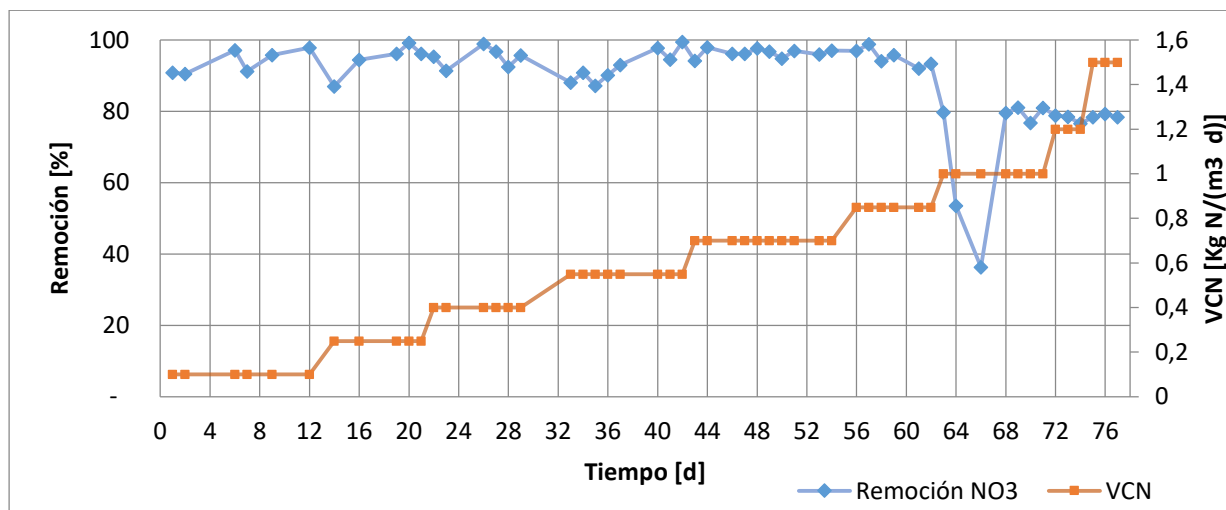


Figura 4.13: Remoción de NO_3^- en función de la velocidad de carga nitrogenada.

En la figura 4.14 se presenta la remoción de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en función de la VCN. En general la remoción del compuesto de azufre se encontró entre 20 y 70%, su comportamiento es más oscilante respecto a la remoción de NO_3^- , debido posiblemente a errores de medición debido a la caducidad en los reactivos, tal como se discutió en la sección 4.2.1 y además a una competencia natural por el nitrato entre ambos grupos de bacterias.

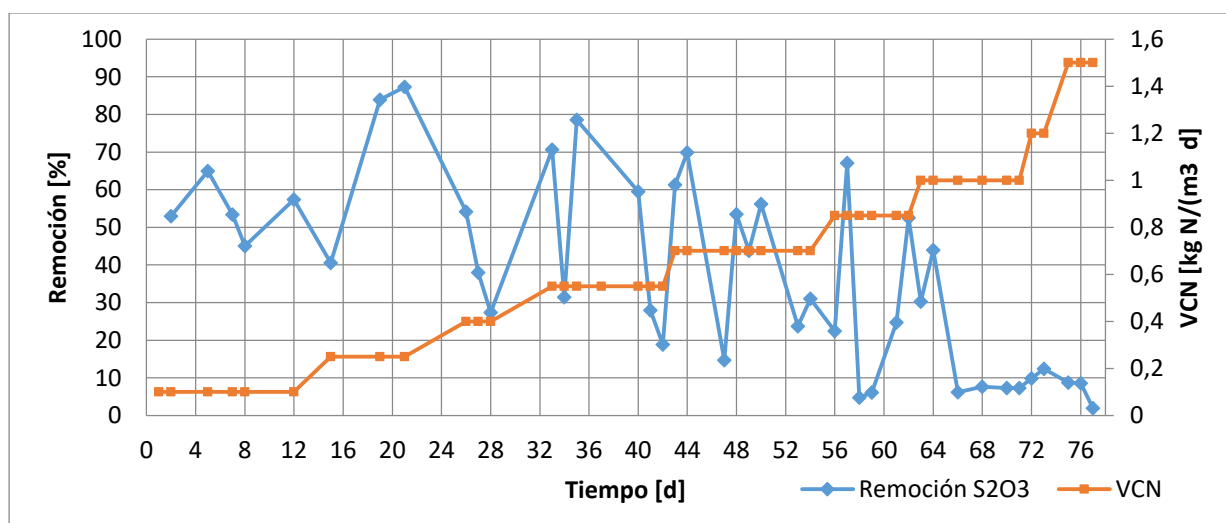


Figura 4.14: Remoción de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en función de la velocidad de carga nitrogenada.

La máxima remoción de tiosulfato sucedió el día 21 de operación, donde a una VCN de 0,25 [kg N/(m³ d)] se logró un 87,3% de remoción, mientras que la remoción promedio de S₂O₃⁻² antes del lavado fue de un 44,5% y posterior a este evento bajo a un 13,1%. Además, la VCN con mayor promedio de remoción de S₂O₃⁻² fue de 0,25 [kg N/(m³ d)] con una remoción promedio del 70,6%.

La remoción de materia orgánica se muestra en la figura 4.15. Se aprecia una remoción de DQO cercana al 35% durante la primera semana de operación, periodo de tiempo en donde aún se enriquecían las BDH y estas no habían ingresado al reactor. La mínima remoción de DQO se obtuvo el mismo día que la mayor remoción de tiosulfato, es decir el día 21 de operación. Luego de eso, el aumento de VCN fue mejor tolerado por las bacterias heterótrofas que las autótrofas. Las máximas remociones de DQO se obtuvieron los días 26 y 33 de operación (100%) a VCN de 0,4 y 0,55 [kg N/(m³ d)] respectivamente mientras que la remoción promedio de DQO antes de lavado del reactor fue de un 49,9% y luego de este suceso, la remoción promedio subió levemente a un 51,1%. Además, la VCN con mayor promedio de remoción de DQO fue de 1,2 [kg N/(m³ d)] con una remoción promedio del 65,7%.

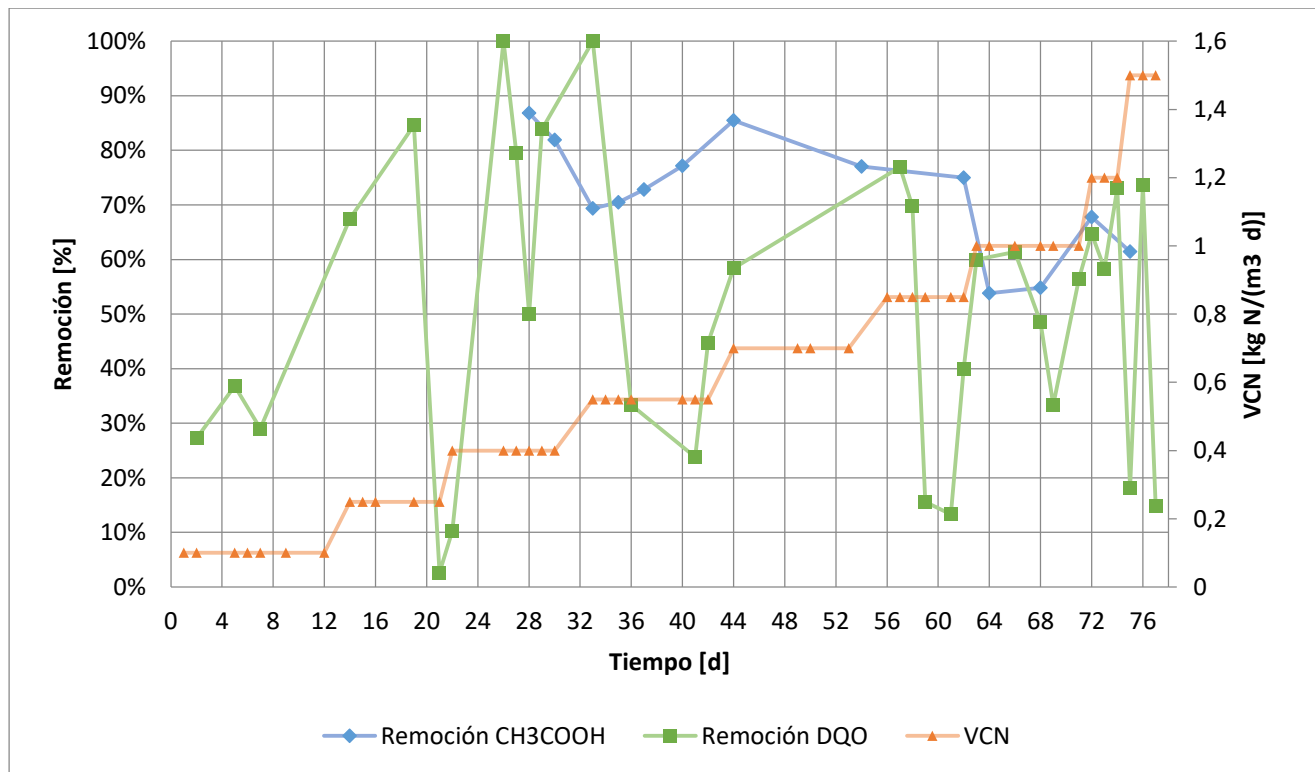


Figura 4.15: Remoción de materia orgánica en función de la velocidad de carga nitrogenada.

La medición de ácido acético se realizó a partir de una VCN de 0,4 [kg N/(m³ d)], momento en donde se logró la máxima eliminación del ácido (86,8%). La remoción promedio del CH_3COOH fue de un 77,3% hasta antes del lavado del reactor, luego a esto la remoción disminuyó a un 59,5%. Además, la VCN con mayor promedio de remoción de CH_3COOH fue de 0,4 [kg N/(m³ d)] con una remoción promedio del 84,4%.

4.2.5 Potencial de hidrógeno

Se controló el pH diariamente tanto en la alimentación como en la descarga, estos resultados se presentan en la figura 4.16 junto al valor de VCN correspondiente. Respecto al potencial de hidrógeno en la alimentación se observa un aumento de pH desde los 8,1 sobre 9,2 entre un día y otro durante los primeros 29 días de operación, lo cual se debe posiblemente a la formación de ácido acético, en donde el ion acetato reacciona con el ion hidrógeno del agua, liberando hidróxido y basificando el medio. Para solucionar este problema se optó por reemplazar la alimentación diariamente.

En el efluente se observa que durante la primera semana de operación, y solo con BDA, se produjo una acidificación del medio del reactor en comparación con la alimentación, dicha acidificación cada vez fue más débil, por lo que se observa un aumento de pH en la descarga. Posterior a esto, se observa una clara pero regulada basificación en el efluente, el cual en general se encontró en un valor de pH 8,5 aproximadamente. Esto hasta el día 64 de operación, momento en donde aumenta la velocidad de basificación llegando a un pH 9,3 el día 68 de operación. Posiblemente la detención del proceso autótrofo, detuvo el equilibrio ácido-base que sucedía entre ambas reacciones. Debido a esto, se disminuyó la cantidad de bicarbonato de sodio agregada a 1,4 [g/L] así como también se comenzó a agregar fosfato de potasio monobásico a la alimentación con la intención de acidificar el medio del reactor. Se puede ver una disminución del pH a 7,3 en la alimentación así como también el pH en el efluente se redujo a 8,8.

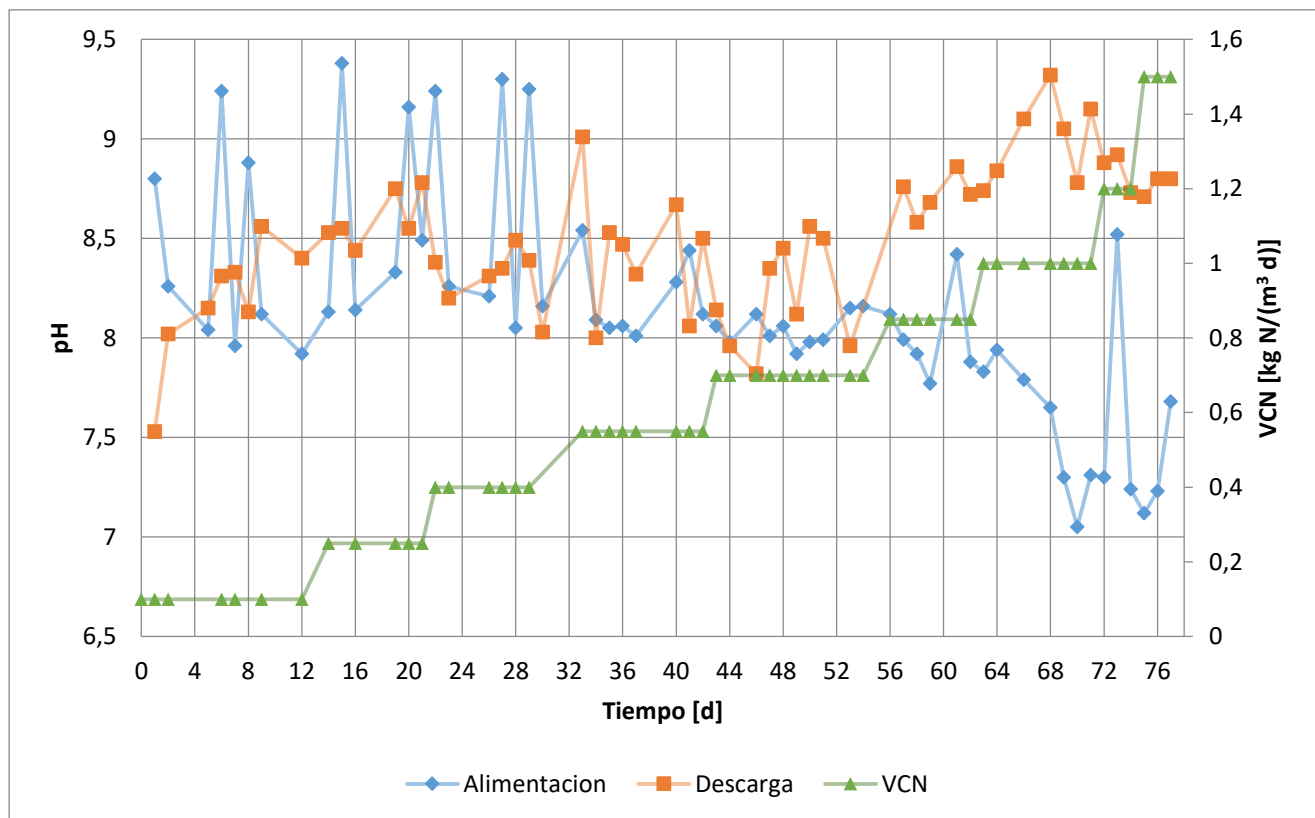


Figura 4.16: Potencial de hidrógeno en función de la velocidad de carga nitrogenada

4.2.6 Velocidad superficial

Se refiere a la velocidad del fluido que se mueve a través de un objeto, y se define como la tasa de flujo volumétrico del fluido dividido por el área de la sección transversal del objeto (ecuación 2.19).

En la figura 4.17 se muestra un gráfico de la velocidad superficial con que operó el reactor en función de la velocidad de carga nitrogenada. Se observa que el reactor operó de forma normal, con un reciclo equivalente a 120 [mL/m] (70 rpm), hasta llegar a una VCN de 1 [kg N/(m³ d)], momento en donde se experimentó la salida de las bacterias del reactor. Para seguir operando el reactor a VCN creciente, se disminuyó el caudal de reflujo a 90 [mL/m] (50 rpm), de esta forma se logró estabilizar el reactor hasta una VCN de 1,5 [kg N/(m³ d)], momento en donde las bacterias volvieron a salir del reactor. La máxima velocidad superficial tolerada por el reactor EGSB es la cual operó satisfactoriamente a un mayor caudal de reflujo y a mayor VCN posible, es decir la máxima velocidad superficial tolerada es 3,27 [m/h].

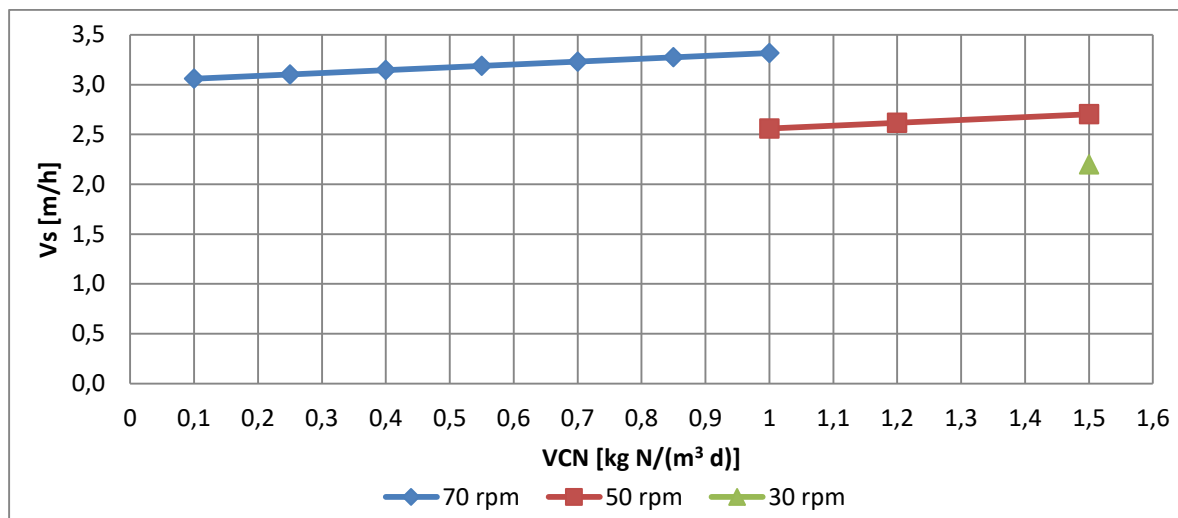


Figura 4.17: Velocidad superficial en función de la velocidad de carga nitrogenada.

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

El reactor EGSB fue operado de forma exitosa durante un periodo total de 87 días, incluyendo la operación y el periodo de enriquecimiento inicial (10 días), logrando remociones promedios de nitrato de un 94,2% desde la puesta en marcha ($VCN = 0,1 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$) hasta una VCN de $0,85 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$. La máxima remoción de nitrato fue de 99,4% para una VCN de $0,55 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$ y un TRH igual a 0,3 días, mientras que el promedio de la remoción de nitrato a una VCN de $0,85 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$ (mayor VCN antes del lavado) fue de un 95,2%.

Respecto al tiosulfato, la razón S/N utilizada fue $3,87 \text{ [g S - Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O/(g N - KNO}_3\text{)]}$ y la máxima remoción alcanzada fue de un 87,3% a una VCN de $0,25 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$ y un TRH de 0,6 días, mientras que el promedio de remoción de tiosulfato durante toda la experiencia fue de un 44,5%. Además, los mejores promedios de remoción por VCN fueron de 70,6% a VCN de $0,25 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$ y un 47,8% a una VCN de $0,55 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$.

La remoción del ácido acético estuvo en un rango alto (69,3% y 86,8%) midiéndose la mayor remoción a una VCN $0,4 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$, equivalente a un TRH de 0,4 días y logrando una remoción promedio antes del lavado del reactor del 77,3%. Además, para la mayor VCN operada satisfactoriamente ($0,85 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$ $[\text{kg N/(m}^3 \text{ d)]}$) se alcanzó eliminar un 75,0% del compuesto orgánico. La razón C/N utilizada fue $3,01 \text{ [g C - CH}_3\text{COOK/(g N - KNO}_3\text{)]}$.

Se observa que las remociones de nitrato son comparativamente mayores tanto al tiosulfato como al ácido acético, esto es esperable debido a que el reactivo limitante era el nitrato. A la vez, las remociones de ácido acético fueron mayores en promedio que las de tiosulfato, por lo que se puede concluir una mayor afinidad del nitrato por el compuesto orgánico que por el compuesto de azufre.

Al haber aumentado la VCN a $1 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$ en el reactor, significó la salida de las bacterias de este, debido a que alcanzó la velocidad superficial máxima tolerada por el reactor, disminuyendo las remociones de todos los contaminantes, reduciendo casi totalmente la actividad de las bacterias autótrofas y desestabilizando el equilibrio del potencial de hidrógeno. Si bien el reactor llegó a operar a VCN de $1,5 \text{ [kg N/(m}^3 \text{ d)]}$, esto se logró disminuyendo el caudal de flujo de recirculación, reduciendo así la calidad de mezclado y por lo tanto, los contaminantes removidos. Por lo tanto, la V_s máxima con la que puede operar el reactor EGSB es de $3,27 \text{ [m/h]}$.

Por tal, se concluye que el reactor EGSB es una opción factible para la desnitrificación simultánea de RILES con concentraciones elevadas de nitrato, tiosulfato y ácido acético.

5.2 Recomendaciones

- El pH óptimo para ambos cultivos de bacterias es 7,5 según diversas literaturas. Con las concentraciones actuales de los sustratos el pH real es $8,2 \pm 0,1$. Se recomienda ajustar la concentración de los compuestos buffer (KH_2PO_4 y K_2HPO_4) tal que el pH sea 6,8 según la ecuación de Henderson – Hasselbalch. Con una capacidad molar de 0,05 [M], se obtuvo un pH real de $7,3 \pm 0,1$.
- Medir la concentración de los compuestos intermediarios, para poder realizar un balance de materia más detallado.
- Medir la concentración del ácido acético por el método de cromatografía líquida en vez de por el método de titulación directa de DQO. Resultó ser un método más directo, más simple de medir, con menos errores de medición y mucho más exacto, considerando la concentración teórica del ácido acético.
- Cambiar diariamente la alimentación ya que debido a la alta reactividad del nitrato, se produce una disminución en la concentración de este compuesto en la alimentación, por lo que se obtiene una reducción en la remoción. Además, se observa un aumento en el pH debido a la formación del ácido acético a partir de acetato de potasio.
- Se recomienda continuar este estudio utilizando un RIL real, con razones C/N y S/N menores a las del RIL sintético utilizadas, para así lograr aumentar la remoción de carbono y azufre.

6. Bibliografía

- Aguirre, J.P. (2014). *Diseño y Puesta en marcha de un reactor UASB híbrido para la desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa*. Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.
- An, S., Tang, K., y Nemati, M. (2010). Simultaneous biodesulphurization and denitrification using an oil reservoir microbial culture: Effects of sulphide loading rate and sulphide to nitrate loading ratio. *Water Research*, 44(5), 1531–1541.
- APHA. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (22a, ed.) Washington DC. EEUU.: WEF.
- Borkenstein, C., y Fischer, U. (2006). Sulfide removal and elemental sulfur recycling from a sulfide-polluted medium by *Allochromatium vinosum* strain. *International Microbiology*, 9, 253-258.
- Campos, J.L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A., y Méndez, R. (2008). Kinetics of denitrification using sulphur compounds: Effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. *Bioresource Technology*, 99(5), 1293–1299.
- Campos, J.L., Fernández, I., Fajardo, C., Seca, I., y Vázquez, J.R. (2009). Procesos avanzados de eliminación de nitrógeno: nitrificación parcial, Anammox, desnitrificación autótrofa. *Tecnologías avanzadas para el tratamiento de aguas residuales*.
- Cardoso, R.B, Sierra-Alvarez, R., Rowlette, P., Flores, E.R, Gomez, J., y Field, J.A. (2006) Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Wiley InterScience*, 96(5), 1148-1157.
- Cervantes, F., Pérez, J., y Gómez, J. (2000). Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(2), 73–82.
- Chen, C., Ren, N., Wang, A., Yu, Z., y Lee, D. J. (2008). Simultaneous biological removal of sulfur, nitrogen and carbon using EGSB reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(6), 1057–1063.
- Dapena Mora, A. (1989). Wastewater treatment by anammox process: A short-circuit in the natural nitrogen cycle. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53).
- Dapena-Mora, A., Campos, J., Mosquera-Corral, A., Jetten, M., y Méndez, R. (2004). Stability of the ANAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR. *Journal of Biotechnology*, 110, 159-170.
- Dapena-Mora, A., Fernández, I., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Méndez, R., y Jetten, M. (2007). Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 859-865.
- Duran, C. (2016). *Puesta en marcha y operación de un reactor EGSB desnitrificante autótrofo, para la remoción de nitrógeno a partir de nitrito*. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María.

- Fajardo, C. (2011). *Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds*. Universidad de Santiago de Compostela, La Coruña, España.
- Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J., y Méndez, R. (2008). Depuración conjunta de aguas ricas en nitratos y efluentes con compuestos reducidos de azufre.
- Furumai, H., Tagui, H., y Fujita, K. (1996). Effects of pH and alkalinity on sulfur-denitrification in a biological granular filter. *Water Science and Technology*, 34(1–2–2 pt 1), 355–362.
- Guiot, S.R., y Van den Berg, L. (1985). Performance of an upflow anaerobic reactor combining a sludge blanket and a filter treating sugar waste. *Biotechnology and Bioengineering*, 27(6), 800–806.
- Heertjes, P.M., Kuijvenhoven, L.J., y Van der Meer, R.R., (1982) Fluid Flow Pattern in Upflow Reactors for Anaerobic Treatment for Beer Sugar Factory Wastewater. *Biotechnologie and bioengineering.*, 24, 443.
- Hernández A. (1991). Eliminación de nutrientes en las aguas residuales. *II Congreso de Ingeniería Ambiental*, Bilbao, España.
- Jeria, D. (2016). Puesta en marcha de un reactor EGSB para la desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea, eliminación de nitrógeno, azufre y materia orgánica. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Jing, C., Ping, Z., y Mahmood, Q. (2009). Simultaneous sulfide and nitrate removal in anaerobic reactor under shock loading. *Bioresource Technology*, 100(12), 3010–3014.
- Khin, T., y Annachatre, A. P. (2004). Novel microbial nitrogen removal processes. *Biotechnology Advances*, 22(7), 519–532.
- Krishnakumar, B., Majumdar, S., Manilal, V. B., y Haridas, A. (2005). Treatment of sulphide containing wastewater with sulphur recovery in a novel reverse fluidized loop reactor (RFLR). *Water Research*, 39(4), 639–647.
- Leon, C. (2009). Estandarización y validación de una técnica para la medición de la demanda bioquímica de oxígeno por el método respirométrico y la demanda química de oxígeno por el método colorimétrico.
- Lettinga, G., Field, J., Van Lier, J., Zeeman, G., y Hulshoff Pol, L. W. (1997). Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future. *Water Science and Technology*, 35(10), 5–12.
- Lim, S. J. (2011). Comparisons between the UASB and the EGSB reactor. *Iowa State University Publication*, 17(1969), 1–17.
- Mahmood, Q., Zheng, P., Cai, J., Wu, D., Hu, B., Islam, E., y Azim, M. R. (2007). Comparison of anoxic sulfide biooxidation using nitrate/ nitrite as electron acceptor. *Environmental Progress*, 26(2), 169–177.

- Montalvo, S., & Guerrero, L. (2003). *Tratamiento anaerobio de residuos*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Muñoz, C. (2015). *Operación de un reactor anaerobio de lecho fijo desnitrificante autótrofo para la remoción simultánea de azufre y nitrógeno a partir de nitrato*. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Peirano, C. (2016). *Eliminación biológica de azufre, nitrógeno y carbono mediante desnitrificación autótrofa/heterótrofa simultánea*. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Reyes-Avila, J., Razo-Flores, E., y Gomez, J. (2004). Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, 38(14–15), 3313–3321.
- Rodriguez, P. (2016). *Puesta en marcha y operación de un reactor UASBF híbrido para desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa*. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Sánchez, J., y Sanabria, J. (2009). Metabolismos microbianos involucrados en procesos para la remoción de Nitrógeno , una revisión prospectiva. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1), 114–124.
- Soto, G. (2016). *Desnitrificación autótrofa a partir de nitrato en un reactor egsb, usando tiosulfato como agente reductor*. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Severiche, C., y González, H. (2012). Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. *Ingeniería USBMed*, 3, 6.
- Suárez, C. (1998). *Efecto de las velocidades de carga nitrogenada y de fosfato sobre la estabilidad de sedimentación de un lodo activado nitrificante*. Iztapalapa, México. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Syed, M., Soreanu, G., Falletta, P., y Béland, M. (2006). Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes. *Canadian Biosystems Engineering*, 48(1993), 1–14.
- Tandukar M., Pavlostathis S., y Cervantes F. (2009) Autotrophic denitrification for the removal of nitrogen and sulphur compounds contaminants from wastewaters. *Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution*, 12:319-365.
- Tang, K., An, S., y Nemati, M. (2010). Evaluation of autotrophic and heterotrophic processes in biofilm reactors used for removal of sulphide, nitrate and COD. *Bioresource Technology*, 101(21), 8109–8118.
- Tang, K., Baskaran, V., y Nemati, M. (2009). Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 73–94.

- Van Kempen R., Mulder J., Uitjerlinde C., y Loosdrecht M. (2001). Overview: full scale experience of the SHARON® process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Science and Technology*, 44(1):145-152.
- Vannini, C., Munz, G., Mori, G., Lubello, C., Verni, F., y Petroni, G. (2008). Sulphide oxidation to elemental sulphur in a membrane bioreactor: Performance and characterization of the selected microbial sulphur-oxidizing community. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(6–8), 461–473.
- Van Steenberghe K., Feyaerts M., Vriens L., y Verachtert H. (1992). Microbial and biochemical aspects of the biological nutrient removal. *Jornadas sobre Biotecnología en el Tratamiento de Aguas*. Bilbao, España.

7. Anexos

Anexo A: Ecuación Henderson-Hasselbalch

La ecuación de Henderson-Hasselbalch es una expresión utilizada para calcular el potencial de hidrógeno de una solución tampón a partir de la constante de disociación del ácido o la base y de las concentraciones en equilibrio del ácido o base con su respectiva base conjugada o ácido conjugado, tal como en la ecuación 7.1:

$$pH = pk_a + \log\left(\frac{[base]}{[ácido]}\right) \quad (7.1)$$

En donde el pKa del fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) es igual a 7,2 y las concentraciones iniciales del KH_2PO_4 y K_2HPO_4 eran iguales a 0,002 [M] y 0,004 [M] respectivamente. Reemplazando en la ecuación 7.1:

$$pH = 7,2 + \log\left(\frac{0,004}{0,002}\right)$$

$$pH = 7,5$$

Anexo B: Métodos experimentales para determinación de compuestos de interés (APHA, 2012)

Anexo B.1: Método experimental para determinación de nitrato

Este procedimiento se basa en la técnica con luz ultravioleta, donde se mide la absorbancia del nitrato a 220 [nm], la cual es adecuada para aguas que presentan una carga orgánica baja. La medida de 220 [nm] hace posible una rápida determinación del nitrato, dado que la materia orgánica no absorbe a tal longitud y el nitrato no lo hace a 275 [nm] por lo que se puede utilizar una segunda medida a 275 [nm] para corregir a concentración de nitrato. La corrección puede variar dependiendo de los distintos tipos de aguas. Además, se le agrega 1 [mL] de ácido clorhídrico 1 [N] para eliminar posibles interferencias. La curva de calibrado verifica la Ley Lambert-Beer hasta los 1 [mg N/L].

Equipos y materiales

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

Reactivos

- Agua exenta de nitrato: Utilizar agua destilada o redestilada, desionizada de la máxima pureza posible para preparar todas las soluciones y diluciones
- Solución madre de nitratos: Secar nitrato de potasio (KNO_3) en horno a 105°C durante 24 horas, se disuelven 0.7218 [g] en agua y se diluye a 1L. Se conserva con 2 [mL] de cloroformo. Estable al menos durante seis meses.
- Solución intermedia de nitratos: Se toman 100 [mL] de la solución madre de nitratos y se diluyen a 1 [L] de agua destilada, se conserva con 2 [mL] de cloroformo.
- Solución HCl (1 [N]): Se prepara a partir de 83 [ml] de HCl concentrado, llevándose a volumen de 1 [L] y almacenándolo en una botella ámbar para posteriormente estandarizarlo con carbonato de sodio como patrón primario, previamente secado en estufa durante 1 hora a 206-270°C.

Procedimiento

Tratamiento de la muestra

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

Preparación curva de calibración

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

Medida espectrofotométrica

Leer a 220 [nm] frente a blanco de agua destilada y a 275 [nm] para obtener las interferencias debidas a materia orgánica disuelta.

Anexo B.2: Método experimental para determinación de nitrito

Se basa en la formación de una coloración purpura rojiza, el cual se produce en un pH ácido por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidriclorada (diclorhidrato de NED). El rango de aplicación de este método va desde los 10 a 1000 [ug/L]. El sistema de color obedece la ley de Lambert-Beer hasta 180 [ug/L] con 1 [cm] de paso de luz a 543 [nm].

Aparatos y equipos

- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS para trabajar entre 500-600 [nm].
- Celda de 1 [cm] de diámetro.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos y soluciones

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

- Patrón Nitrito.
-

Procedimiento

Preparación del reactivo

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

Solución madre de nitrito

Se pipetea 0,1 [mL] de la solución patrón de NO_2 (1 [g/L]), y se afora a 500 [mL]. En caso de no contar con solución patrón, disolver 1,232 [g] de NaNO_2 previamente secado a 105°C , por al menos una hora y después pasar 20 minutos por el desecador y ser retro valorado con permanganato de potasio. Aforar a 1 [L].

Tratamiento de la muestra.

Se toman 50 [ml] de muestra de agua, la cual se filtra para eliminar cualquier sólido suspendido con un filtro de membrana de $0,45\ \mu\text{m}$. Luego se agregan 2 [ml] de reactivo de color (reactivo de NED), dejar actuar por 10 minutos. Finalmente se debe medir la absorbancia a 543 [nm] de la muestra y de los estándares.

Anexo B.3: Método experimental para determinación de sulfato

El ion sulfato precipita en medio ácido con cloruro de bario formando cristales de Sulfato de bario de tamaño uniforme, tal cantidad es proporcional a la concentración de sulfatos presentes en la muestra y la absorbancia luminosa puede ser medida espectrofotométricamente a 420 [nm], siendo la concentración de sulfatos determinada respecto a una curva de calibración de acuerdo con los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales preparados por la APHA.

Este método nos permite determinar hasta una concentración de 40 [mg/L] de sulfatos, en caso de presentar una concentración mayor es necesario diluir y de presentar turbidez filtrar o centrifugar.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS para trabajar a 420 [nm].
- Celdas de paso óptico de 1 [cm].
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos y soluciones

- Solución trazable de sulfatos.
- Cloruro de bario dihidratado.

Solución acondicionadora para sulfato

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

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

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

Procedimiento

Preparación de la curva de calibración

Se utilizó el método de adiciones estándar para la curva de calibración, de esta manera se agregaron volúmenes crecientes de solución trazable de sulfatos mediante bureta a matraces

aforados de 100 [mL] para obtener al menos seis calibraciones que van desde los 0 [mg/L] a 40 [mg/L].

Tratamiento de la muestra.

Se afora 1 [mL] del agua de análisis en matraz de 50 [mL], luego se transfieren a vasos precipitados de 100 [mL] y se adicionaron 2,5 [mL] de solución acondicionan y se agita en cada vaso con la varilla de vidrio, luego se adiciona una cucharadita de cristales de cloruro de bario y se agita nuevamente hasta la disolución de los cristales. Una medida crítica de este método es que debe ser leído antes de cinco minutos en espectrofotómetro a 420 [nm] en celda de 1 cm de paso óptico.

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

Anexo B.4: Método experimental para determinación de tiosulfato

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

Materiales

- Matraces Erlenmeyer de 50 [mL]
- Bureta 30 [mL] para el tiosulfato
- Bureta 30 [mL] para yodo
- Pipeta aforada de 10 [mL] y 20 [mL]
- Gotario
- Matraz de aforo de 1 [L]
- Botella ámbar 1 [L]
- Matraces de aforo 100 [mL]

Soluciones

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

Procedimiento

Preparación tiosulfato de sodio

Se pesa en balanza 25 [g] de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y se transfieren a una botella ámbar de un litro, mediante un embudo de vástago largo, utilizando agua recién hervida y previamente enfriada, se agregan diez gotas de cloroformo y se lleva a volumen de homogeniza la solución y se deja reposar un par de días para su posterior estandarización.

Estandarización tiosulfato de sodio con Yodato de Potasio

Se tomó una alícuota de 20 [mL] de yodato de potasio (patrón primario, el cual se preparó pesando una cantidad de 0,3567 [g] previamente desecados a 110°C durante una hora, luego se aforaron a 100 [mL] y se traspasaron cuantitativamente a matraz Erlenmeyer, luego se agregaron 10 [mL] de HCl (1 [N]) o 5 [mL] de H_2SO_4 (2 [N]) y 10 [mL] de yoduro de potasio al 10%. Se valoró con tiosulfato desde bureta hasta cambio de color a amarillo pálido y luego se agregó 5 [mL] de almidón y se continuo valorando hasta cambio el color de azul vinoso a incoloro, se realiza duplicado.

Solución Iodo 0,1 [N]

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

Estandarización solución de Yodo con Tiosulfato

A un matraz Erlenmeyer se agregan 25 [mL] de la solución de yodo preparada y se agrega mediante bureta, la solución valorada de tiosulfato de sodio (patrón secundario) hasta que esta tenga un color amarillo pálido, luego se agregan 2 [mL] del almidón y se prosigue lentamente hasta la decoloración, se anota el gasto y se realiza duplicado.

Solución de almidón

Se realiza una pasta con 1 [g] de almidón soluble y una pequeña cantidad de agua y se agrega con buena agitación 100 [mL] de agua a ebullición y se hace hervir durante un minuto. Se deja enfriar y se agregan 3 [g] de yoduro de potasio.

Tratamiento de la muestra

La muestra es tomada en envases de polipropileno y su análisis debe realizarse en el transcurso de unos minutos (no almacenar). Se toman 10 [mL] de muestra previamente filtrada (en duplicado) y se vacía en un matraz Erlenmeyer, el cual se titula con una solución de iodo 0,1 [N] aproximadamente, hasta que la muestra varíe de incolora a amarillo pálido, luego esta se valora con tiosulfato de sodio 0,1 [N] aproximadamente hasta que esta vire a un color incoloro, luego se agregan unas gotas de almidón para ver si quedan trazas de iodo de ser así se observara una color verdoso y se debe continuar titulando hasta que la muestra quede incolora.

Cálculo

Conociendo el volumen utilizado de iodos consumido por el iodo de la solución de tiosulfato como patrón primario se calculan los moles totales consumidos por la solución estándar. Al saber el volumen de iodo agregado a la muestra se tiene los moles totales de iodo.

Al restar ambas cantidades sabremos la cantidad de moles consumidos por la muestra y de acuerdo con la relación (7.2):

$$1[\text{mL}] \text{ de } \text{I}_2 = 0,1581 [\text{g}] \text{ de } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \quad (7.2)$$

Anexo B.5: Método experimental para determinación de DQO

La demanda química de oxígeno (DQO) se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con la muestra bajo condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumido se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno. Por sus propiedades químicas, el dicromato es el oxidante utilizado comúnmente. Cuando una muestra es digerida, el ión dicromato oxida la materia orgánica presente en la muestra. Esto resulta en un cambio del cromo en estado hexavalente ($\text{Cr}+6$) a un estado trivalente ($\text{Cr}+3$).

Equipos y materiales

- Bureta graduada 50 [mL]
- Tubos digestores
- Digestor con la capacidad de llegar a 150°C
- Matraz Erlenmeyer 50 [mL]
- Material de uso común en laboratorio

Reactivos y soluciones

- Ácido sulfúrico concentrado

- Dicromato de potasio
- Sulfato de hierro II y amonio (FAS)
- Ferroína indicador

Solución digestora

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

- 10,216 [g] de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) , previamente secado por dos horas a 105°C
- 167 [mL] de ácido sulfúrico concentrado
- 33,3 [g] de sulfato de mercurio ($HgSO_4$) (esta cantidad depende de la cantidad de cloruros presentes en la muestra la cual debe ser de una relación $HgSO_4 : Cl^-$ igual o superior a 10:1)
- Dejar enfriar y aforar

Solución catalítica

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

Solución patrón dicromato de potasio (0,0250 N)

Disolver 1,2258 [g] de $K_2Cr_2O_7$, previamente secado en estufa durante dos horas a 105°C, aforar a 1 [L].

Solución sulfato ferroso amoniacal (FAS) (0,0250 N)

Disolver 9,8 [g] de $Fe(NH_4)_2(SO_4) \cdot 6H_2O$ en 500 [mL] de agua destilada, añadir cuidadosamente 20 [mL] de H_2SO_4 concentrado, dejar enfriar y aforar a 1 [L]. Esta solución debe ser valorada diariamente con la solución patrón de dicromato de potasio.

Solución ferroína (indicador)

Disolver 1,486 [g] de 1,1-monohidrato de fenatrolina, junto con 0,695 [g] de sulfato de hierro heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), en 50 [mL] de agua destilada, aforar a 100 [mL].

Procedimiento

En un tubo de digestión limpio y seco se depositan, en el orden indicado:

- 1,5 [mL] de solución digestora
- 3,5 [mL] de solución catalítica
- 2,5 [mL] de muestra con DQO inferior a 900 [mgO_2 /L], en caso que la muestra presente una DQO elevada se debe diluir hasta el rango que el análisis permite
- Sellar el tubo con teflón y luego cerrar herméticamente con la tapa
- Agitar el contenido del tubo suavemente, colocar este en digestor durante dos horas a 150°C. (La cantidad de tiempo puede variar en el caso que las muestras se degraden fácilmente, esto se comprueba experimentalmente)
- Concluido el tiempo de digestión, enfriar los tubos a temperatura ambiente, posteriormente traspasar cuantitativamente a matraz Erlenmeyer de 50 mL, enjuagando el tubo con pequeñas porciones de agua (1 ó 2).
- Agregar al matraz una gota del indicador ferroína y valorar con FAS (0,025 [N]), hasta el viraje del indicador de verde-calipso o rojo rubi.
- Realizar el mismo procedimiento para el blanco, tomando 2,5 [mL] de agua destilada en lugar de muestra. Las muestras y los blancos son tratados de la misma manera.

Valoración del FAS

Se pipetea 10 [mL] de la solución patrón de dicromato (0,025 [N]). Agregar 3 [mL] de H_2SO_4 , una gota de indicador y titular hasta el viraje de este. Anotar gasto. Realizar duplicado.

Cálculo

Conociendo el volumen utilizado de iodos consumido por el iodo de la solución de tiosulfato como patrón primario se calculan los moles totales consumidos por la solución estándar. Al saber el volumen de iodo agregado a la muestra se tiene los moles totales de iodo.

Al restar ambas cantidades sabremos la cantidad de moles consumidos por la muestra y de acuerdo con la relación (7.3):

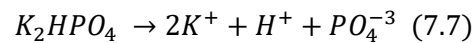
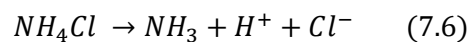
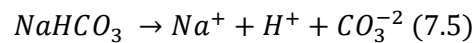
$$DQO \left[\frac{mg O_2}{L} \right] = \frac{(Volumen_{blanco} - Volumen_{muestra}) * 8000 * N_{FAS}}{2,5} \quad (7.3)$$

Donde N_{FAS} se define como (ecuación 7.4):

$$N_{FAS} = \frac{10 * 0,025}{V_{FAS}} \quad (7.4)$$

Anexo C: Calculo de la concentración teórica del ácido acético.

Primero se consideró la disociación de las especies que aportan con protones libres, es decir la disociación del bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) (7.5), del cloruro de amonio (NH_4Cl) (7.6) y el fosfato de potasio dibásico (K_2HPO_4) (7.7).

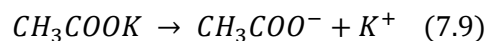


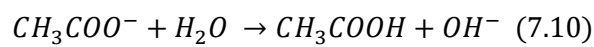
La concentración final de protones disueltos es igual a $[H^+] = 0,0193 [M]$, con lo que es posible determinar la concentración final de hidroxilos, con la constante del agua (7.8):

$$[H^+] \cdot [OH^-] = 10^{-14} \quad (7.8)$$

Con estos valores, la concentración de iones hidroxilo es igual a $[OH^-] = 5,18 \cdot 10^{-13}$

Luego se debe considerar la disociación total del acetato de potasio (CH_3COOK) al ión acetato (CH_3COO^-) (ecuación 7.9) y la posterior formación del ácido acético (CH_3COOH) (ecuación 7.10)





$$\begin{array}{llll} n_i & C & 0 & [OH^-] \\ n_r & C \cdot a & C \cdot a & C \cdot a \\ n_f & C(1-a) & C \cdot a & C \cdot a + [OH^-] \end{array}$$

La formación del ácido acético (ácido débil) dependerá de su constante de disociación, y de las concentraciones en equilibrio, las cuales se relacionan en la ecuación 7.11:

$$K_b = \frac{[CH_3COOH] \cdot [OH^-]}{[CH_3COO^-]} \quad (7.11)$$

$$K_b = \frac{[C \cdot a] \cdot [C \cdot a + [OH^-]]}{C(1-a)}$$

Desarrollando, se obtiene:

$$0 = Ca^2 + ([OH^-] + K_b) a - K_b$$

Finalmente, resolviendo la ecuación cuadrática se puede obtener la concentración en equilibrio del ácido acético $[CH_3COOH] = 448[\text{mg/L}]$.