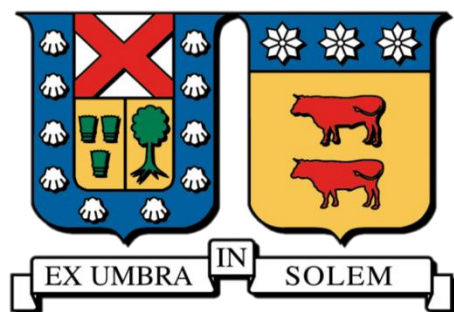


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAÍSO – CHILE



**“DESNITRIFICACIÓN AUTÓTROFA HETERÓTROFA SIMULTÁNEA
DE RIL SINTÉTICO EN FILTRO ANAEROBIO (LECHO FIJO) CON
FLUJO ASCENDENTE”**

DIEGO FERNANDO ALEXIS CASTILLO BRAVO

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO CIVIL QUÍMICO

PROFESOR GUÍA: Dra. LORNA GUERRERO SALDES

PROFESOR CORREFERENTE: M.Cs. ANDREA BARAHONA LLORE

Abril de 2017

Con todo mi amor para mis padres, Fernando y Alicia, y mi hermana Josefa, por ser el pilar fundamental en toda mi educación, tanto académica como personal y por su incondicional apoyo a través del tiempo a pesar de la distancia.

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer infinitamente a Dios por darme salud, protección, fuerza y valor para superar cada escollo que se me presentó, ya que en su amor y compañía todo es posible.

Agradezco a mis padres, Fernando y Alicia, por su esfuerzo y la confianza que siempre han tenido en mí, celebrando cada triunfo y apoyándome en cada caída, por el amor que me entregan día a día, por respetar y darme un empujón en mis decisiones y por hacer de mí una persona de bien. A mi hermana Josefa, por cada consejo y tirón de orejas, por muchas veces ser mi cable a tierra y porque a pesar de todas las dificultades, para mí es un ejemplo a seguir.

A mi familia: mis abuelos, tíos y primos que me apoyan de una u otra forma constantemente, con sus mejores deseos y preocupación, cada uno de ustedes es parte importante de mí.

A mis amigos de la vida: Camilo, Herman, Jorge y Leo, que desde que los conocí han sido un pilar para mí, compartiendo momentos gratos y otros no tanto, pero siempre estando ahí para cuando se les necesita. El sentimiento es mutuo y el afecto hacia ustedes es enorme.

A Rocío, que con su cariño y dedicación me alegra los días.

A mis amistades forjadas en Valparaíso, especialmente a Sofi S., Marcelo, Lore, Pablo, Mauricio y Nacho, por todos los momentos de alegría y compartir que hemos tenido.

Al profesor Medina y a todo el equipo de básquetbol de la USM que orgullosamente he defendido desde mechón, por demostrarme que esto va mucho más allá de la cancha.

A todos con quienes he compartido hogar en Valparaíso: Xavier, Sofi F., Coni, Martín, Seba S., Seba A., Ernesto M., Ernesto V. y los padres franciscanos de Barón, por su paciencia y hacer de mi estadía algo mucho más grato y familiar.

A la profesora Lorna y Andrea, por darme la oportunidad de trabajar con ustedes en un grato ambiente y a toda la gente del laboratorio que me prestó su cooperación.

Y a todos quienes se me quedan en el tintero pero que en su momento han estado ahí, gracias. Infinitas gracias.

RESUMEN

El agua es el recurso por excelencia en la vida humana, ya que se utiliza tanto para consumo como en distintos procesos productivos. El agua dulce proveniente de fuentes naturales como ríos y lagos es contaminada por aguas residuales de estos procesos y actividades del tipo industriales, agrícolas y asentamientos humanos, y debido al crecimiento social y económico mundial, es un problema que aumenta al pasar los años, por lo que encontrar una solución eficiente de bajo costo es necesario para preservar el ecosistema y no generar gastos excesivos en empresas para la purificación de aguas.

Algunos residuos industriales líquidos (RILes) a tratar son ricos en componentes nitrogenados, azufrados y orgánicos, por lo que la desnitrificación es el proceso biológico adecuado para eliminarlos o convertirlos en compuestos no tóxicos. Este proceso es la reducción anóxica del nitrato o nitrito a nitrógeno gaseoso, con consumo de materia orgánica, donde existen dos tipos: la desnitrificación autótrofa, donde se utiliza un compuesto de azufre como donador de electrones; y la desnitrificación heterótrofa, donde el compuesto orgánico se encarga de esta tarea, siendo en ambos casos el compuesto nitrogenado el receptor de estos electrones.

Esta memoria de título es parte del Proyecto Fondecyt 1130108, Simultaneous bio-elimination of nitrogen and sulphur in the presence and absence of complex organic matter, donde por medio de un Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente (UAF, por sus siglas en inglés), se estudia el proceso para eliminar estos contaminantes, la desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea (DAH), que consigue remover los tres componentes en una sola operación unitaria, con la consecuente disminución en costos de inversión y operación al utilizar un solo reactor. El volumen del UAF fue de 1,5 L, con 0,8 L utilizables, el cual se inoculó previo enriquecimiento de un lodo bacteriano, alimentado con agua residual sintética que contiene tiosulfato, nitrito y acetato como fuentes de azufre, nitrógeno y materia orgánica, respectivamente.

Para analizar la remoción de contaminantes y operación del reactor, se midió periódicamente el pH, tiosulfato, nitrito y demanda química de oxígeno (DQO). En primer lugar, se realizó DAH, con una relación DQO/N igual a 4,5, una velocidad de carga de azufre (VCS) de $2,02 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, velocidad de carga nitrogenada (VCN) de $1,01 \text{ kg N-NO}_2^{-}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 5 h. Posteriormente y dado que no tuvo éxito el primer ensayo, se realizó desnitrificación autótrofa (DA), con relación S/N igual a 1,94, VCS de $2,00 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, y VCN de $1,02 \text{ kg N-NO}_2^{-}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ con el fin de obtener biomasa y así retomar el objetivo de la presente memoria que es la DAH con velocidad de carga orgánica (VCO) creciente, desde 0,46 hasta 3,50 $\text{kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, con VCS de $2,02 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, VCN de $0,98 \text{ kg N-NO}_2^{-}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y TRH de 5 horas.

Para esta última parte del experimento, las remociones máximas de cada componente se obtuvieron para distintas VCO: para el nitrito un 99,6% de remoción con una VCO de $0,936 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$; para el acetato un valor de 98,7% con una VCO de $2,15 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$; y para el tiosulfato un 84,5% de remoción con una VCO de $2,82 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$. El pH estuvo siempre en el rango de actividad de las bacterias. El valor de la VCN fue de $1,0 \text{ kg N-NO}_2^{-}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, mientras que el valor óptimo general del proceso fue para una VCO de $2,82 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y VCS de $2,0 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, donde se obtuvo remociones de 99,0% de nitrito, 84,5% de tiosulfato y 93,3% de acetato, mientras que el pH tuvo un valor de 7,57. Luego de analizar el valor óptimo general, se puede concluir que los resultados obtenidos muestran que el proceso desarrollado es una de las mejores opciones de tratamiento biológico para los tres contaminantes, sobre todo considerando las altas remociones de nitrito y acetato. Sin embargo, es necesario avanzar en tecnologías para la remoción de tiosulfato, para así extrapolar este estudio desde un RIL sintético a uno real.

TABLA DE CONTENIDOS

Índice

Agradecimientos	iii
RESUMEN	iv
TABLA DE CONTENIDOS.....	v
Índice	v
Índice de Tablas.....	vii
Índice de Figuras.....	viii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1 Panorama general del problema de tratamiento de aguas	1
1.2 Objetivo General	2
1.3 Objetivos Específicos	2
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Aguas residuales.....	3
2.1.1 Contaminación de aguas residuales.....	3
2.1.2 Normativa Ambiental en Chile	7
2.1.3 Tratamiento de aguas residuales	9
2.2 Compuestos contaminantes.....	10
2.2.1 Contaminación por compuestos de Carbono, Nitrógeno y Azufre	10
2.2.2 Ciclo del Nitrógeno	13
2.2.3 Ciclo del Azufre.....	14
2.2.4 Ciclo del Carbono.....	15
2.3 Procesos biológicos de eliminación de nitrógeno	17
2.3.1 Nitrificación – Desnitrificación	18
2.3.2 Nitrificación SHARON	19
2.3.2 Nitrificación Parcial.....	20
2.3.3 Nitrificación Anammox.....	20
2.3.4 Nitrificación CANON	21
2.4 Proceso de Desnitrificación.....	22
2.4.1 Desnitrificación Autótrofa	23

2.4.2 Desnitrificación Heterótrofa.....	27
2.4.3 Desnitrificación Autótrofa – Heterótrofa Simultánea	30
2.4.4 Uso de Nitrito como fuente de nitrógeno en nitrificación-desnitrificación.....	31
2.5 Sistema utilizado para la operación	33
2.5.1 Reactor de Filtro Anaerobio con Flujo Ascendente.....	33
2.5.2 Zeolita Natural.....	38
2.5.3 Inóculo	38
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA	40
3.1 Equipo para la operación.....	40
3.2 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea.....	41
3.2.1 Enriquecimiento de lodos.....	41
3.2.2 Puesta en marcha desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea	43
3.3 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento de VCO	46
3.3.1 Enriquecimiento lodo autótrofo y heterótrofo	46
3.3.2 Desnitrificación autótrofa	46
3.3.3 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento gradual de la VCO	47
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.1 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea.....	49
4.1.1 Etapa de enriquecimiento e inoculación de reactor UAF	49
4.1.2 Puesta en marcha desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea	50
4.2 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento de VCO	52
4.2.1 Enriquecimiento lodo autótrofo y heterótrofo	52
4.2.2 Desnitrificación autótrofa	53
4.2.3 Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa simultánea con VCO creciente	55
Potencial de Hidrógeno, pH	55
Nitrito	56
Tiosulfato.....	57
Acetato	59
Remociones de todos los componentes	61
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	64

5.1 Conclusiones.....	64
5.2 Recomendaciones	65
CAPÍTULO 6: REFERENCIAS.....	66
ANEXOS	71
A. Demanda Química de Oxígeno (micro):.....	71
B. Determinación de Sólidos:	74
C. Determinación de Tiosulfato.....	76
D. Potencial de Hidrógeno, pH	78
E. Determinación de Nitrito	79

Índice de Tablas

Tabla 1: Alteraciones físicas del agua por contaminación	4
Tabla 2: Alteraciones químicas del agua por contaminación.....	5
Tabla 3: Alteraciones biológicas del agua por contaminación	6
Tabla 4: Sustancias contaminantes del agua.....	6
Tabla 5: Normativa asociada a emisores a cuerpos de agua	8
Tabla 6: D.S. 90, D.S. 46 y D.S. 609 que indica el límite máximo permitido para aguas superficiales, subterráneas y alcantarillado	8
Tabla 7: Parámetros cinéticos bacterias utilizadas en Desnitrificación Autótrofa.....	26
Tabla 8: Ventajas y desventajas desnitrificación autótrofa	27
Tabla 9: Comparación teórica entre eliminación biológica de nitrógeno vía nitrito y nitrato.....	33
Tabla 10: Composición agua residual sintética para enriquecimiento de lodo autótrofo.....	42
Tabla 11: Composición micronutrientes presentes en el agua residual sintética.....	42
Tabla 12: Composición agua residual sintética para enriquecimiento de lodo heterótrofo.	43
Tabla 13: Parámetros de carga en el reactor Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente para desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea.....	44
Tabla 14: Composición agua residual sintética para Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa simultánea	45
Tabla 15: Parámetros de control y métodos analíticos para operación del reactor de Lecho Fijo con Flujo Ascendente ocupado en la experiencia	45
Tabla 16: Parámetros de carga en el reactor de Lecho Fijo con Flujo Ascendente para el proceso de desnitrificación autótrofa.....	47
Tabla 17: Componentes agua residual para desnitrificación autótrofa-heterótrofa en forma gradual con velocidad de carga orgánica creciente.	47
Tabla 18: Parámetros en desnitrificación autótrofa-heterótrofa en reactor de Lecho Fijo con Flujo Ascendente, con adición de acetato en forma gradual a velocidad de carga orgánica creciente.....	48

Tabla 19: Tasa crecimiento bacterias de lodos para desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea	49
Tabla 20: Bacterias inoculadas en el Reactor UAF para desnitrificación autótrofa-heterótrofa	49
Tabla 21: Tasa crecimiento bacterias de lodos para desnitrificación autótrofa	52
Tabla 22: Bacterias inoculadas en el Reactor UAF para desnitrificación autótrofa	52
Tabla 23: Resumen mejores remociones según Velocidad de Carga Orgánica (VCO)	62

Índice de Figuras

Figura 1: Curso de contaminantes nitrogenados en el agua	12
Figura 2: Ciclo del Nitrógeno	13
Figura 3: Ciclo del Azufre	14
Figura 4: Ciclo del Carbono	15
Figura 5: Esquema pre y post desnitrificación	19
Figura 6: Esquema que compara nitrificación-desnitrificación versus nitrificación parcial-desnitrificación	20
Figura 7: Comparación del proceso de nitrificación/desnitrificación con el proceso nitrificación parcial-Anammox durante el tratamiento de aguas residuales con baja relación DQO/N	21
Figura 8: Interacciones biológicas entre los ciclos del Carbono, Nitrógeno y Azufre	23
Figura 9: Transformaciones del nitrógeno amoniacal vía nitrato y nitrito	32
Figura 10: Esquema de metodología de trabajo en la investigación	40
Figura 11: Dimensiones y configuración del sistema utilizado en la experiencia	41
Figura 12: Variación de pH en Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa Simultánea	50
Figura 13: Remoción de nitrógeno como nitrito, azufre como tiosulfato y materia orgánica como DQO, Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa Simultánea	51
Figura 14: Variación del pH Etapa Desnitrificación Autótrofa	53
Figura 15: Remoción de Nitrito en Etapa Desnitrificación Autótrofa	54
Figura 16: Remoción de Tiosulfato en Etapa Desnitrificación Autótrofa	54
Figura 17: Variación del pH desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente	55
Figura 18: Concentración de nitrito en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente	56
Figura 19: Remoción de nitrito en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente	56
Figura 20: Concentración de tiosulfato en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente	58
Figura 21: Remoción de tiosulfato en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente	58
Figura 22: DQO en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente	60

Figura 23: Remoción de DQO según VCO en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente 60

Figura 24: Remoción componentes, desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica (VCO) creciente 62

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1 Panorama general del problema de tratamiento de aguas

El agua es, ha sido y será el recurso por excelencia en la vida humana, ya que es un factor determinante en todos los aspectos del crecimiento social, económico y medioambiental. A pesar de que se declarara al agua y al saneamiento un derecho humano esencial, actualmente se estima que alrededor de mil millones de personas tienen un deficiente acceso al agua potable (Organización de Naciones Unidas, 2010).

El recurso hídrico proveniente de ríos y lagos no es exclusivo para el consumo humano, también cumple un rol fundamental en la agricultura y en la industria, principalmente en la generación de energía eléctrica y en múltiples procesos productivos. En estos últimos, el agua es contaminada por distintos tipos de residuos, donde destacan para este estudio los que poseen cargas de nitrógeno (N), azufre (S) y materia orgánica (C).

El nitrógeno asociado al amonio y los compuestos nitrogenados oxidados (nitrito y nitrato), cuando son directamente vertidos a cuerpos de agua, provoca toxicidad en la fauna acuática, disminuyen el oxígeno disuelto, acidifican el ambiente y aceleran el proceso de eutrofización, lo cual en el largo plazo afecta el pH y por consiguiente daña el ecosistema.

Se han desarrollado técnicas de tratamiento destinadas a minimizar la presencia de los contaminantes. Dentro de estos métodos se destacan los procesos biológicos, en especial la desnitrificación autótrofa-heterótrofa en forma simultánea (DAH) cuando los residuos poseen materia orgánica en su composición. Este proceso es la unión de dos formas de tratamiento: la desnitrificación autótrofa (DA) y la desnitrificación heterótrofa (DH). La primera actúa en la remoción de compuestos de N y S, donde se opera un reactor para llevar a cabo el proceso. La segunda, elimina el N y el C por medio del funcionamiento de otro reactor. Una de las principales ventajas de desarrollar el proceso simultáneo, es la disminución en los costos de inversión debido al requerimiento de sólo un reactor para tratar los compuestos de N, S y C, además de disminuir el tiempo de operación.

Para la DAH se estudian factores como el pH, temperatura óptima de operación, razones molares de los reactivos, tiempos de residencia, velocidades de carga de los componentes y relaciones entre ellos, que afectan este proceso, para así lograr el objetivo planteado.

1.2 Objetivo General

Operar un reactor anaerobio de lecho fijo con flujo ascendente para la desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea usando un RIL sintético, a través de la aplicación de zeolitas naturales chilenas como soportes microbianos y el uso de inóculos que poseen microorganismos desnitrificantes.

1.3 Objetivos Específicos

- Obtener biomasa enriquecida en microorganismos autótrofos y heterótrofos, para inocular el filtro anaerobio y propiciar el proceso de desnitrificación.
- Analizar el comportamiento del nitrito como fuente de nitrógeno en la desnitrificación autótrofa-heterótrofa en forma simultánea.
- Establecer las condiciones óptimas de operación para la eliminación de nitrógeno, compuestos de azufre y materia orgánica del RIL sintético, con una alta eficiencia y bajo costo relativo de proceso.
- Establecer las relaciones óptimas de C/N, S/N a agregar en el reactor y la Velocidad de Carga Orgánica (VCO) en cada etapa del proceso.
- Conocer la operación del reactor para VCO crecientes en el proceso, para la eliminación de materia orgánica junto a compuestos nitrogenados y azufrados, simultáneamente.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Aguas residuales

2.1.1 Contaminación de aguas residuales

El progreso humano y la mejor calidad de vida cada vez generan una mayor cantidad de contaminantes. Esto ha contribuido al desequilibrio de los ciclos naturales de compuestos muy importantes en el medio ambiente. Muchos de los efectos negativos en la salud humana y la naturaleza están asociados a las emisiones de estos compuestos y sus transformaciones (Fajardo, 2011). Las aguas residuales comúnmente presentan compuestos de nitrógeno, azufre, carbono orgánico y fósforo (Beristain-Cardoso *et al.*, 2011; Fajardo *et al.*, 2012).

Las aguas residuales, por lo regular, tienen composiciones altamente complejas y normalmente se necesita modificar su composición para ajustarlas a un uso en particular. En consecuencia, se requiere una variedad de procesos de tratamiento para separar los diversos contaminantes que con seguridad se encontrarán.

Los contaminantes pueden estar presentes como (Tebbutt, 2004):

- Sólidos suspendidos flotantes o grandes: arenas, trapos y papel entre otros.
- Sólidos suspendidos pequeños y coloidales: moléculas orgánicas grandes, partículas de suelo y microorganismos entre otros.
- Sólidos disueltos: compuestos orgánicos y sales inorgánicas entre otros.
- Gases disueltos: Sulfuro de Hidrógeno, entre otros.
- Líquidos no mezclables: grasas y aceites.

El ciclo natural del agua tiene una gran capacidad de purificación. Pero esta misma facilidad de regeneración del agua, y su aparente abundancia, hace que sea el vertedero habitual en el que se arrojan los residuos producidos por actividades humanas. Pesticidas, desechos químicos, metales pesados, residuos radiactivos, etc., se encuentran, en cantidades mayores o menores, al analizar las aguas de los más remotos lugares del mundo. Muchas aguas están contaminadas hasta el punto de hacerlas peligrosas para la salud humana, y dañinas para la vida.

Existe una clasificación con cuatro formas de contaminantes del agua (Echarri, 2007), las cuales se detallan en las tablas 1 a la 4.

Tabla 1: Alteraciones físicas del agua por contaminación

Alteraciones Físicas	Características y contaminación que indica
Color	El agua no contaminada suele tener ligeros colores rojizos, pardos, amarillentos o verdosos debido, principalmente, a compuestos húmicos, férricos o pigmentos verdes de las algas que contienen. Las aguas contaminadas pueden tener muy diversos colores pero, en general, no se pueden establecer relaciones claras entre el color y el tipo de contaminación.
Olor y sabor	Compuestos químicos en el agua como fenoles, hidrocarburos, cloro, materias orgánicas en descomposición o esencias liberadas por diferentes algas u hongos pueden dar olores y sabores muy fuertes al agua, aunque estén en muy pequeñas concentraciones. Las sales o los minerales dan sabores salados o metálicos, en ocasiones sin ningún olor.
Temperatura	El aumento de temperatura disminuye la solubilidad de gases (oxígeno) y aumenta, en general, la de las sales. Aumenta la velocidad de las reacciones del metabolismo, acelerando la putrefacción. La temperatura óptima del agua para beber es de 10-14°C. Las centrales nucleares, térmicas y otras industrias contribuyen a la contaminación térmica de las aguas.
Materiales en suspensión	Partículas como arcillas, limo y otras, aunque no lleguen a estar disueltas, son arrastradas por el agua de dos formas: en suspensión estable (disoluciones coloidales); o en suspensión que sólo dura mientras el movimiento del agua las arrastra. Las suspendidas coloidalmente sólo precipitarán después de haber sufrido coagulación o floculación (reunión de varias partículas).
Radiactividad	Las aguas naturales tienen unos valores de radiactividad, debidos sobre todo a isótopos del K. Algunas actividades humanas pueden contaminar el agua con isótopos radiactivos.
Espumas	Los detergentes producen espumas y añaden fosfato al agua (eutrofización). Disminuyen el poder autodepurador de los ríos al dificultar la actividad bacteriana. Interfieren en los procesos de floculación y sedimentación en estaciones depuradoras.
Conductividad	El agua pura tiene una conductividad eléctrica muy baja. El agua natural tiene iones en disolución y su conductividad es mayor y proporcional a la cantidad y características de esos electrolitos. Por esto se usan los valores de conductividad como índice aproximado de concentración de solutos. Como la temperatura modifica la conductividad las medidas se deben hacer a 20°C.

Fuente: Echarrí, 2007

Tabla 2: Alteraciones químicas del agua por contaminación

Alteraciones químicas	Contaminación que indica
pH	Las aguas naturales pueden tener pH ácidos por el CO ₂ disuelto desde la atmósfera o proveniente de los seres vivos; por ácido sulfúrico procedente de algunos minerales, por ácidos húmicos disueltos del mantillo del suelo. Las aguas contaminadas con vertidos mineros o industriales pueden tener pH muy ácido.
Oxígeno disuelto	Si el nivel de oxígeno disuelto es bajo indica contaminación con materia orgánica, mala calidad del agua e incapacidad para mantener determinadas formas de vida.
Materia orgánica biodegradable: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅)	DBO ₅ es la cantidad de oxígeno disuelto requerido por los microorganismos para la oxidación aerobia de la materia orgánica biodegradable presente en el agua. Se mide a los cinco días. Su valor da idea de la calidad del agua desde el punto de vista de la materia orgánica presente y permite prever cuanto oxígeno será necesario para la depuración de esas aguas e ir comprobando cual está siendo la eficacia del tratamiento depurador en una planta.
Materiales oxidables: Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Es la cantidad de oxígeno que se necesita para oxidar los materiales contenidos en el agua con un oxidante químico. Se determina en tres horas y, en la mayoría de los casos, guarda una buena relación con la DBO por lo que es de gran utilidad al no necesitar los cinco días de la DBO. Sin embargo la DQO no diferencia entre materia biodegradable y el resto y no suministra información sobre la velocidad de degradación en condiciones naturales.
Nitrógeno total	Su presencia en las aguas en exceso causa eutrofización. El nitrógeno se presenta en muy diferentes formas químicas en las aguas naturales y contaminadas. En los análisis habituales se suele determinar el NTK (nitrógeno total Kendahl) que incluye el nitrógeno orgánico y el amoniacal.
Fósforo total	Su exceso en el agua provoca eutrofización. El fósforo total incluye distintos compuestos como diversos ortofosfatos, polifosfatos y fósforo orgánico.
Aniones	Cloruros --> salinidad Nitritos --> contaminación agrícola Fosfatos --> actividad bacteriológica Sulfuros --> acción bacteriológica anaerobia (aguas negras, etc.) Cianuros --> contaminación de origen industrial
Cationes	Sodio --> salinidad Calcio y Magnesio --> dureza del agua Amonio --> fertilizantes y heces Metales pesados --> efectos muy nocivos; se bioacumulan en la cadena trófica.
Compuestos orgánicos	Los aceites y grasas procedentes de restos de alimentos o de procesos industriales son difíciles de metabolizar y flotan formando películas en el agua que dañan a los seres vivos. Los fenoles provenientes de industrias cuando reaccionan con el cloro que se añade como desinfectante forman clorofenoles que son un serio problema porque dan al agua muy mal olor y sabor.

Fuente: Echarri, 2007

Tabla 3: Alteraciones biológicas del agua por contaminación

Alteraciones biológicas	Contaminación que indica
Bacterias coliformes	Desechos fecales
Virus	Desechos fecales y restos orgánicos
Animales, plantas, microorganismos diversos	Eutrofización

Fuente: Echarri, 2007

Tabla 4: Sustancias contaminantes del agua

Sustancias contaminantes	Definición
Microorganismos patógenos	Bacterias, virus, protozoos y otros organismos que transmiten enfermedades como el cólera, tífus, gastroenteritis diversas, hepatitis, etc. La OMS recomienda que en el agua para beber haya 0 colonias de coliformes por 100 ml de agua.
Desechos orgánicos	Son el conjunto de residuos orgánicos producidos por los seres humanos, ganado, etc. Incluyen heces y otros materiales que pueden ser descompuestos por bacterias en procesos con consumo de oxígeno. Cuando se encuentran en exceso, la proliferación de bacterias agota el oxígeno y con ello las formas de vida.
Sustancias químicas inorgánicas	Ácidos, sales y metales tóxicos como el mercurio y el plomo. En cantidades altas pueden causar graves daños a los seres vivos, disminuir los rendimientos agrícolas y corroer los equipos para trabajar con el agua.
Nutrientes vegetales inorgánicos	Nitratos y fosfatos en exceso inducen el crecimiento desmesurado de algas y otros organismos provocando la eutrofización de las aguas. Cuando estas algas y otros vegetales mueren, se agota el oxígeno y se hace imposible la vida de otros seres vivos. El resultado es un agua maloliente e inutilizable.
Compuestos orgánicos	Petróleo, gasolina, plásticos, plaguicidas, disolventes, detergentes, etc. acaban en el agua y permanecen, en algunos casos, largos períodos de tiempo ya que tienen estructuras moleculares complejas.
Sedimentos y materiales suspendidos	Son, en términos de masa total, la mayor fuente de contaminación del agua. La turbidez que provocan en el agua dificulta la vida de organismos, y los sedimentos que se van acumulando destruyen sitios de alimentación o desove de los peces.
Sustancias radiactivas	Isótopos radiactivos solubles se pueden acumular a lo largo de las cadenas tróficas, alcanzando concentraciones dañinas para el ecosistema.
Contaminación térmica	El agua caliente liberada por industrias eleva la temperatura de ríos o embalses con lo que disminuye su capacidad de contener oxígeno y afecta a la vida de los organismos.

Fuente: Echarri, 2007

2.1.2 Normativa Ambiental en Chile

El órgano gubernamental encargado del diseño y aplicación de políticas ambientales, planes y programas de todo lo relacionado al ambiente, así como la protección y conservación de la diversidad biológica y los recursos naturales renovables e hídricos, promoviendo siempre el desarrollo sustentable, la integridad de la política ambiental y su regulación en lo que refiere a normas, es en Chile el Ministerio del Medio Ambiente. (Ministerio del Medio Ambiente, 2016)

La principal función del Ministerio es desarrollar todo lo concerniente a la regulación ambiental en el país, para lo cual debe crear y dictar distintos reglamentos que aseguren la puesta en marcha de la institucionalidad ambiental y de los instrumentos de gestión ambiental. La principal Ley aplicable en esta normativa es la Ley N°19.300 (Modificada por la Ley N° 20.417), que establece tanto normas de calidad como normas de emisión. El objetivo de las normas de calidad dice relación, por una parte, con la protección de la vida o salud humana y, por otra, con la conservación del medio ambiente o la preservación de la naturaleza, mientras que las normas de emisión limitan la cantidad de contaminantes medidos en el efluente de una fuente emisora (Sistema Nacional de Información Ambiental, SINIA, 2015).

Las Normas de Calidad establecen los valores de las concentraciones y períodos, máximos o mínimos permisibles de elementos, compuestos, sustancias, derivados químicos o biológicos, energías, radiaciones, vibraciones, ruidos o combinación de ellos, que afecten la salud o la conservación del medio ambiente.

Las Normas de Emisión establecen límites a la cantidad de contaminantes emitidos al aire o al agua que pueden producir las instalaciones industriales o fuentes emisoras en general. Existe una normativa asociada a emisores a cuerpos de agua (Biblioteca del Congreso Nacional, 2015), que se presenta en la Tabla 5 que va dirigida a establecimientos clasificados como emisores a cuerpos de agua cualesquiera sean sus características, además de la identificación de parámetros comunes para la medición de contaminantes en aguas, con sus valores máximos permitidos presentados en la Tabla 6 para el conocimiento de todas las industrias que emiten efluentes.

La Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS) y la Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante de Chile (DIRECTEMAR), según sus competencias, poseen los cuerpos legales adecuados para obtener información de emisiones para descargas a aguas marinas, continentales, superficiales y subterráneas, cuyos resultados permiten la incorporación al Registro de Emisiones y Transferencias de Contaminantes (RETC) de inventarios de residuos líquidos a nivel nacional.

Tabla 5: Normativa asociada a emisores a cuerpos de agua

Materia	Norma	Fecha publicación	Organismo asociado
Ley sobre bases generales del medio ambiente	Ley 19.300	09-mar-94	Ministerio Secretaría General de la Presidencia
Norma de emisión de residuos líquidos a aguas subterráneas	Decreto 46	17-ene-03	Ministerio Secretaría General de la Presidencia
Norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos industriales líquidos a sistemas de alcantarillado	Decreto 609	20-jul-98	Ministerio de Obras Públicas
Norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales	Decreto 90	07-mar-01	Ministerio Secretaría General de la Presidencia

Fuente: Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2015

Tabla 6: D.S. 90, D.S. 46 y D.S. 609 que indica el límite máximo permitido para aguas superficiales, subterráneas y alcantarillado

Parámetro	Unidad	Aguas Superficiales			Aguas Subterráneas		Alcantarillado	
		RSD	RCD	Océano	VM	VB	SCPT	SSPT
DBO₅	mg O ₂ /L	35-25	300	60				
NTK	mg/L	50	75	50	10	15		
N-NO₃ + N-NO₂	mg/L				10	15		
NH₄⁺	mg/L						80	
SO₄⁻²	mg/L	1000	2000		250	500	1000	1000
S⁻²	mg/L	1	10	1	1	5	5	5
pH	-	6 – 8,5	6 – 8,5		6 – 8,5	6 – 8,5	5,5 – 9	5,5 – 9
SST	mg/L	80	300	100				
T	°C	35	40	30			35	35

Nomenclatura: SST: sólidos suspendidos totales; RSD: ríos sin dilución; RCD: ríos con dilución; VM: vulnerabilidad media; VB: vulnerabilidad baja; SCPT: sistema con planta de tratamiento; SSPT: sistema sin planta de tratamiento. Fuente: Basaul, 2013.

2.1.3 Tratamiento de aguas residuales

Hay tres clases principales de procesos de tratamiento (Tebbutt, 2004):

Procesos físicos: dependen esencialmente de las propiedades físicas de la impureza, como tamaño de partícula, peso específico, viscosidad, etc. Ejemplos comunes de este tipo de procesos son: cribado, sedimentación, filtrado, transferencia de gases.

Procesos químicos: dependen de las propiedades químicas de una impureza o que utilizan las propiedades químicas de reactivos agregados. Algunos procesos químicos son: coagulación, precipitación, intercambio iónico.

Procesos biológicos: utilizan reacciones bioquímicas para quitar impurezas solubles o coloidales, normalmente sustancias orgánicas. Los procesos biológicos aeróbicos incluyen filtrado biológico y los lodos activados. Los procesos de oxidación anaeróbica se usan para la estabilización de lodos orgánicos y desechos orgánicos de alta concentración.

En algunas situaciones, un solo proceso de tratamiento puede dar el cambio deseado en la composición, pero en la mayoría de los casos, es necesario utilizar una combinación de varios procesos. Por ejemplo: la sedimentación quitará parte de la materia suspendida. La adición de un coagulante químico seguido de un agitado suave (floculación) causará la aglomeración de partículas coloidales mismas que se pueden remover en gran parte por sedimentación. La mayoría de los sólidos no sedimentables que quedan, se pueden quitar mediante filtrado en un lecho de arena. La adición de un desinfectante sirve para matar los microorganismos dañinos que hayan sobrevivido a los niveles de tratamiento precedentes.

Como los procesos de tratamiento aumentan los costos, a no ser que se disponga de recursos para su correcta operación y mantenimiento, es probable que pronto falle el sistema de tratamiento. Si se necesita una instalación de tratamiento, se debe hacer todo el esfuerzo para que el proceso de tratamiento sea tan simple como sea posible para tratar de asegurar facilidad de construcción, confiabilidad, bajos costos de operación y que ésta y el mantenimiento sean desarrolladas en forma satisfactoria por personal local.

Otra clasificación que incluye estos tres tipos de tratamientos es la reportada por Guerrero (2009), la cual ordena en forma secuencial los mismos de la siguiente forma:

Pretratamiento: Proceso de eliminación de los constituyentes de las aguas residuales de gran tamaño y/o pesados, los cuales provocan problemas de mantenimiento y funcionamiento de los diferentes procesos y equipos.

Tratamiento Primario: Proceso físico/químico de eliminación de una fracción de los sólidos en suspensión y de grasas o aceites presentes en el agua residual.

Tratamiento Secundario: Proceso biológico enfocado en la eliminación de los sólidos en solución y en los compuestos orgánicos biodegradables o biomasa.

Tratamiento Terciario: Proceso avanzado necesario para la eliminación de constituyentes específicos, tales como nutrientes, compuestos tóxicos, desinfección y excesos de materia orgánica o sólidos en suspensión. Se realiza mediante una combinación de factores físicos, químicos y biológicos.

2.2 Compuestos contaminantes

2.2.1 Contaminación por compuestos de Carbono, Nitrógeno y Azufre

En muchas ocasiones se encuentran ríos, lagos y otros cauces contaminados, ofreciendo un paisaje desolador. Las causas de contaminación son variadas (Beristain-Cardoso *et al.*, 2011; Fajardo *et al.*, 2012), donde se destaca la contaminación por parte de materia orgánica (carbono, oxígeno e hidrógeno), con la presencia, en determinados casos, de nitrógeno, azufre, calcio, magnesio, fósforo, hierro, etc., la cual proviene de vertidos urbanos, agricultura y ganadería, actividades industriales con manipulación de compuestos orgánicos, entre otras. Esta contaminación procede de la descomposición de esta materia orgánica, generándose reacciones químicas que requieren de oxígeno disuelto en el agua para su desarrollo. Como este oxígeno que proviene de la atmósfera por intercambio de gases es el que en condiciones normales es requerido por la flora y fauna del medio para subsistir, estas reacciones ocasionan que el equilibrio del medio se altere, afectando de modo significativo a la vida acuática.

La medida de la concentración de materia orgánica en el agua se realiza por medio de diversas técnicas. Un método directo es la medida del Carbono Orgánico Total (COT) mediante técnicas espectrofotométricas. Indirectamente se obtiene midiendo la capacidad reductora del carbono existente en dichas aguas, mediante la determinación de la Demanda Química de Oxígeno, DQO, y la Demanda Bioquímica de Oxígeno, DBO. Estas dos últimas técnicas están basadas en la determinación de la cantidad de materia orgánica descomponible presente en el agua contaminada. La demanda de oxígeno de un agua residual es la cantidad de oxígeno que es consumido por las sustancias contaminantes contenidas en el agua durante un cierto tiempo, ya sean sustancias contaminantes orgánicas o inorgánicas. La DQO es la cantidad de oxígeno en mg/L

consumido en la oxidación por agentes químicos como el dicromato potásico de las sustancias reductoras que están en un agua. En el ensayo, se emplea un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido para la determinación del equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse. Un valor elevado indica un agua con muchas sustancias oxidables, o sea, altamente contaminada. Por otra parte, la DBO es la cantidad de oxígeno en mg/L necesaria para descomponer la materia orgánica presente mediante la acción de los microorganismos aeróbicos presentes en el agua. Normalmente se emplea la DBO₅, que mide el oxígeno consumido por los microorganismos en cinco días. Resulta el parámetro de contaminación orgánica más ampliamente empleado. La determinación del mismo está relacionada con la medición del oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica. Un valor elevado indica una gran presencia de materia orgánica en el agua. Para medir el COT, se emplean aparatos que usan la oxidación en fase gaseosa. Se inyecta una cantidad conocida de muestra en un horno de alta temperatura. En presencia de un catalizador, el carbono orgánico se oxida a anhídrido carbónico, la producción de la cual se mide cuantitativamente con un analizador de infrarrojos. El ensayo puede realizarse en muy poco tiempo, y su uso se está extendiendo muy rápidamente. No obstante, algunos compuestos orgánicos presentes pueden no oxidarse, lo cual conducirá a valores medidos del COT ligeramente inferiores a las cantidades realmente presentes en la muestra. La determinación de la materia orgánica contenida en el agua es una medida primordial en el establecimiento de sus condiciones físicas e índices de contaminación, mediante la cual, posteriormente, se determinan parámetros básicos en la gestión y depuración del agua.

Las aguas residuales provenientes de fábricas o industrias de procesos químicos contribuyen a la contaminación del agua. Los contaminantes más comunes presentes en gran parte de las aguas residuales industriales son compuestos ya identificados, como nitrógenos, sulfuros y carbonos orgánicos, los que no solo son peligrosos para los humanos, sino también para el medio ambiente y especialmente para las formas de vida acuáticas.

Los contaminantes nitrogenados como nitrito, nitrato y amonio se pueden encontrar tanto en aguas superficiales como subterráneas y requieren de especial atención debido a que conducen a la eutrofización, emisiones de gases efecto invernadero y deposiciones ácidas (Sun y Nemati, 2012; Moraes *et al.*, 2012). Además, estos compuestos causan serios daños ecológicos en los cuerpos de agua al ser tóxicos para los organismos acuáticos (Tang *et al.*, 2010; Beristain-Cardoso *et al.*, 2011).

El nitrato es altamente móvil en el suelo (Moon *et al.*, 2004) y difunde con facilidad en las superficies cuando ha sido vertido a cuerpos de agua, por lo que puede resultar significativamente peligroso para la salud (Moon *et al.*, 2006; Sun y Nemati, 2012). Su ingesta puede causar una enfermedad llamada metahemoglobinemia (síndrome del bebé azul) y puede formar nitrosaminas en el estómago e intestinos; éstos metabolitos de nitrato son potentes carcinógenos (Sun y

Nemati, 2012; Moon *et al.*, 2006). Por otra parte, la exposición a altos niveles de nitrato a través del agua y alimentos también podría aumentar la muerte fetal y el bajo peso al nacer.

Los cuerpos de agua contaminados con compuestos de nitrógeno, son resultado directo de las actividades antropogénicas (Figura 1) principalmente por la contaminación difusa provocada por el uso excesivo de fertilizantes que lixivian a las aguas subterráneas, desde donde los compuestos son conducidos a aguas superficiales hasta llegar a ríos, lagos, etc.

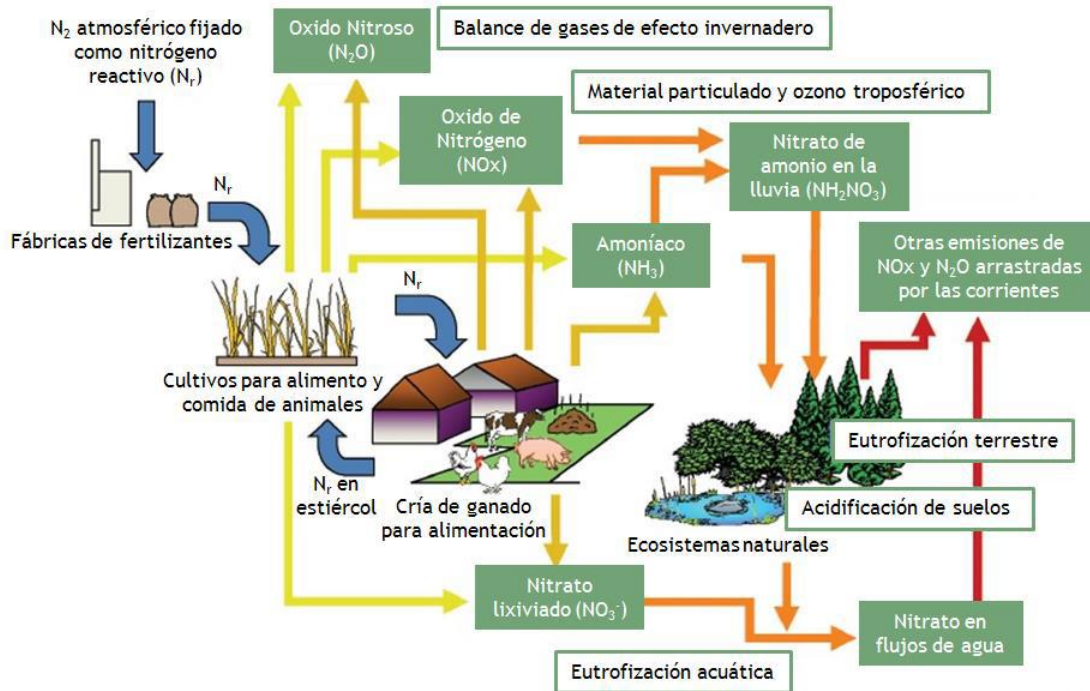


Figura 1: Curso de contaminantes nitrogenados en el agua. Fuente: Garrido, 2014

Los procesos industriales de alimentos, agricultura e instalaciones ganaderas generalmente son grandes fuentes de contaminación de las aguas (Mahmood *et al.*, 2007; Guerrero *et al.*, 2012), así como el inadecuado tratamiento y disposición de residuos, tanto líquidos como en vertederos, que contribuyen a la contaminación por nitrato y otros compuestos nitrogenados (Sun y Nemati, 2012; Mahmood *et al.*, 2007).

Por otra parte, el azufre es uno de los elementos más abundantes en la Tierra, está presente en rocas y sedimentos así como en agua de mar, en forma de sulfato (Muyzer y Stams, 2008). Es posible encontrarlo con distintos estados de oxidación (-2, 0, +2, +4, +6) y puede ser transformado tanto químicamente como biológicamente (Janssen *et al.*, 2001). La emisión de compuestos de azufre al

ambiente es preocupante debido a que algunos al estar en contacto con la humedad se transforman en ácido sulfúrico, el que es arrastrado por la lluvia (lluvia ácida) y tiene efectos corrosivos sobre los recursos naturales, siendo nocivo para plantas, peces y otros seres vivos. Los óxidos de azufre son conocidos por sus efectos toxicológicos sobre la salud humana (Mahmood *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2009), ocasionando desde irritación ocular hasta la muerte por enfermedades cardiorrespiratorias (Beristain-Cardoso *et al.*, 2011). Los efluentes que contienen compuestos de azufre provienen de diversas fuentes industriales: minería, metalurgia, celulosa y papel, petroquímica, curtiembres, fábricas de telas y de la digestión anaerobia de lodos y residuos agrícolas (Tang *et al.*, 2010). Las emisiones de SO_2 resultan del procesamiento de minerales de sulfuro, refinamiento de combustibles y producción de ácido sulfúrico, el sulfuro de hidrógeno (H_2S) es emitido al ambiente como sulfuro disuelto en aguas residuales o en gas natural, biogás, gas de síntesis o gases de refinería (Janssen *et al.*, 2001). Así, son muchas las razones por las que se ha hecho urgente, la eliminación de compuestos de nitrógeno y sulfuro antes de su disposición y descarga al drenaje o al medio ambiente, por lo que se sigue investigando y optimizando las técnicas tanto de reducción como de tratamientos.

2.2.2 Ciclo del Nitrógeno

El nitrógeno se encuentra en la naturaleza en diferentes estados de oxidación (-3, 1, 2, 3, 4, 5). Las reacciones ocurridas en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno permiten las conversiones de reducción y oxidación de compuestos nitrogenados (Campos *et al.*, 2009). Este ciclo está compuesto por distintas y complejas rutas que se llevan a cabo paralelamente (Figura 2), enfocadas en captar el nitrógeno gaseoso desde el suelo y el mar, dejando disponible este nutriente esencial para los seres vivos.

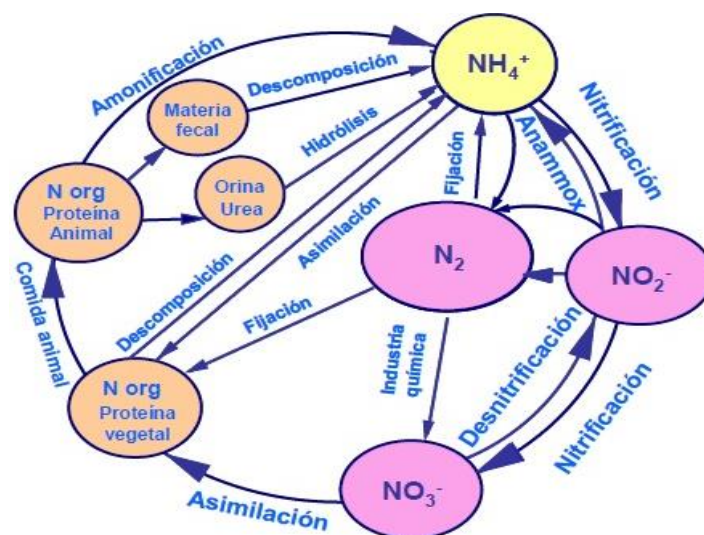


Figura 2: Ciclo del Nitrógeno. Fuente: Campos *et al.*, 2009

La atmósfera es la reserva fundamental del nitrógeno, encontrándose como N_2 en un 78% de abundancia. Esta molécula no puede ser utilizada directamente por la mayoría de los seres vivos, requiriendo de su fijación desde el estado gaseoso a la forma orgánica para poder ser utilizada. La fijación es el proceso biológico llevado a cabo por microorganismos especializados que convierten el N_2 a formas químicas asimilables por las plantas para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, entrando de esta manera el nitrógeno a la cadena trófica. En el metabolismo de los animales los compuestos nitrogenados se transforman en amonio, el cual es eliminado tanto en forma de urea como amoniaco, para luego ir al suelo o al agua de donde pueden ser tomados nuevamente por las plantas o ser usados por algunas bacterias tales como las nitrificantes y desnitrificantes.

2.2.3 Ciclo del Azufre

Los mayores depósitos de azufre en la Tierra son los sulfuros de hierro (pirita; FeS_2) y yeso ($CaSO_4$) en sedimentos y rocas, sin embargo el principal reservorio de azufre en la biósfera lo constituye el mar en forma de sulfato inorgánico (Muyzer y Stams, 2008). El esquema de las transformaciones de estos depósitos a otras formas de compuestos de azufre se encuentra en la Figura 3.

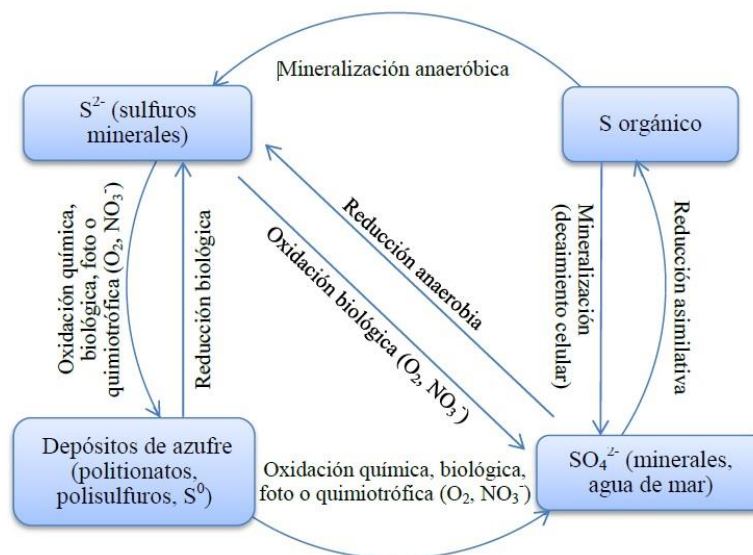


Figura 3: Ciclo del Azufre. Fuente: Fajardo *et al.*, 2008

El ión sulfato, SO_4^{2-} puede ser metabolizado por las plantas superiores y por microorganismos, en lo que se denomina reducción asimilativa de los sulfatos. Bacterias, levaduras, hongos y algas son capaces de utilizar los sulfatos como fuente de azufre, y producir sulfuro de hidrógeno (H_2S).

Las bacterias reductoras de sulfato realizan esta transformación en un medio anaerobio, las plantas superiores absorben sulfatos por las raíces, en una reducción no asimilativa, incorporándolos directamente en los compuestos orgánicos o manteniéndolo libre como ion sulfuro (S^{2-}), cuya finalidad es el suministro de energía a las células. Así mismo, las plantas superiores absorben por las hojas el dióxido de azufre (SO_2) atmosférico que proviene de las emisiones de origen antrópico; de procesos de combustión y, en menor medida, de procesos naturales a través de la emisión de diversos gases sulfurados por volcanes, géiseres y fumarolas.

Otras plantas también pueden oxidar y reducir los sulfatos para incorporar el azufre a compuestos orgánicos (aminoácidos como la cisteína o la metionina) los que pasan a los animales a través de la cadena trófica. Continuando el ciclo, los procesos de descomposición de animales y plantas por parte de los microorganismos generan sulfuro de hidrógeno. Éste puede ser oxidado por bacterias, catalizando su oxidación a azufre elemental, inorgánico, tanto en medios aerobios como anaerobios. Por último, la oxidación de azufre elemental también puede ser realizada por bacterias oxidadoras del azufre, sobre todo del género *Thiobacillus*, originando iones sulfato e hidrógeno, cerrando así el ciclo y equilibrio entre las especies.

2.2.4 Ciclo del Carbono

El carbono es el cuarto elemento más abundante en el universo, después del hidrógeno, el helio y el oxígeno. Es el pilar de la vida como tal. Existen básicamente dos formas de carbono: orgánica (presente en los organismos vivos, muertos y en los descompuestos) y otra inorgánica, presente en las rocas. En la Tierra, el carbono circula a través de los océanos, de la atmósfera y de la superficie y el interior terrestre, en un gran ciclo biogeoquímico. Este ciclo puede ser dividido en dos: el ciclo lento o geológico y el ciclo rápido o biológico, que son explicados más adelante. (Figura 4).

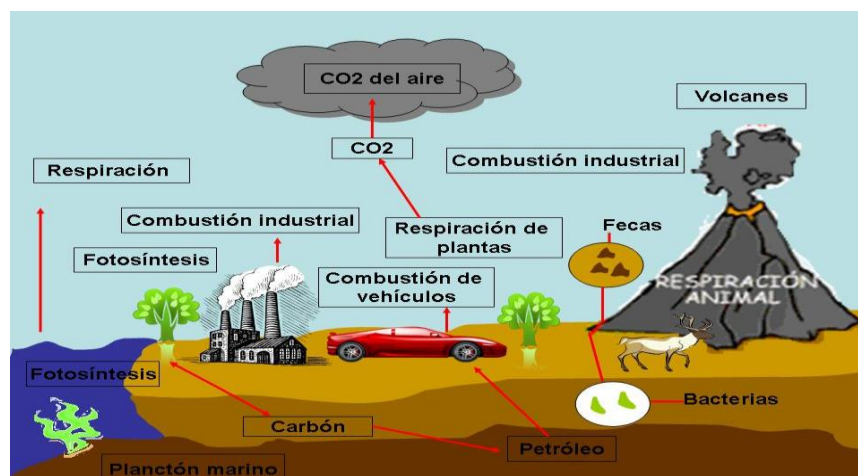


Figura 4: Ciclo del Carbono. Fuente: Natubelalcázar, 2016.

Suele considerarse que el ciclo del C está constituido por cuatro reservorios principales de este elemento, interconectados por rutas de intercambio. Los reservorios son la atmósfera, la biosfera terrestre (que, por lo general, incluye sistemas de agua dulce y material orgánico no vivo, como el carbono del suelo), los océanos (que incluyen el carbono inorgánico disuelto, los organismos marítimos y la materia no viva), y los sedimentos (que incluyen los combustibles fósiles). Los movimientos anuales de carbono entre reservorios ocurren debido a varios procesos químicos, físicos, geológicos y biológicos. El océano contiene el fondo activo más grande de carbono cerca de la superficie de la Tierra, pero la parte del océano profundo no se intercambia rápido con la atmósfera.

El balance global es el equilibrio entre intercambios (ingresos y pérdidas) de carbono entre los reservorios o entre una ruta del ciclo específica (por ejemplo, atmósfera - biosfera). Un examen del balance de carbono de un fondo o reservorio puede proporcionar información sobre si funcionan como una fuente o un almacén para el dióxido de carbono.

Ciclo lento o geológico: En una escala geológica, existe un ciclo entre la corteza terrestre (litosfera), los océanos (hidrosfera) y la atmósfera. El dióxido de carbono (CO_2) de la atmósfera, combinado con el agua, forma el ácido carbónico, el cual reacciona lentamente con el calcio y con el magnesio de la corteza terrestre, formando carbonatos. A través de los procesos de erosión (lluvia, viento), estos carbonatos son arrastrados a los océanos, donde se acumulan en su lecho en capas, o son asimilados por organismos marinos que, eventualmente, después de muertos, también se depositan en el fondo del mar. Estos sedimentos se van acumulando a lo largo de miles de años, formando rocas calizas.

El ciclo continúa cuando las rocas sedimentarias del lecho marino son arrastradas hacia el manto de la Tierra por un proceso de subducción (proceso por el cual una placa tectónica desciende por debajo de otra). Así, las rocas sedimentarias están sometidas a grandes presiones y temperaturas debajo de la superficie de la Tierra, derritiéndose y reaccionando con otros minerales, liberando CO_2 , el cual es devuelto a la atmósfera a través de las erupciones volcánicas y otro tipo de actividades volcánicas, completándose así el ciclo.

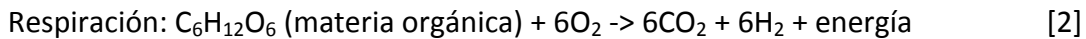
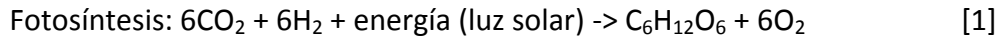
Ciclo rápido o biológico: En ausencia de la influencia del hombre, en el ciclo biológico existen tres depósitos o "stocks": terrestre (20000 Gt), atmósfera (750 Gt) y océanos (40000 Gt).

Este ciclo desempeña un papel importante en los flujos de carbono entre los diversos depósitos, a través de los procesos de fotosíntesis y respiración. Mediante la fotosíntesis, las plantas absorben la energía solar y el CO_2 de la atmósfera, produciendo oxígeno e hidratos de carbono (azúcares como la glucosa), que sirven de base para el crecimiento de las plantas. Los animales y las plantas

utilizan los carbohidratos en el proceso de respiración, usando la energía contenida en los carbohidratos y emitiendo CO₂.

Junto con la descomposición orgánica (forma de respiración de bacterias y hongos), la respiración devuelve el carbono fijado en los reservorios terrestres a la atmósfera.

Las ecuaciones químicas [1] y [2] son las que rigen estos dos procesos:



Otro proceso intermedio del ciclo biológico que provoca remoción de carbono de la atmósfera, ocurre cuando la fotosíntesis excede la respiración y, lentamente, la materia orgánica forma depósitos de sedimentos que, en ausencia de oxígeno y a lo largo de millones de años, se transforman en combustibles fósiles.

Los incendios (naturales) son otro elemento del ciclo rápido que añaden CO₂ a la atmósfera al consumir la biomasa y materia orgánica, y al provocar la muerte de plantas que acaban por descomponerse y formar también CO₂.

2.3 Procesos biológicos de eliminación de nitrógeno

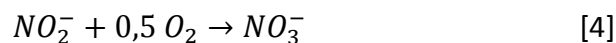
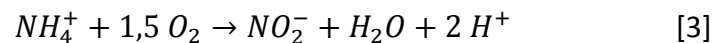
El nitrógeno aparece en la naturaleza en diferentes estados de oxidación. Las principales transformaciones biológicas existentes entre estas diferentes formas en que se encuentra el nitrógeno son la fijación, amonificación, asimilación, nitrificación, desnitrificación y Anammox, realizadas cada una de ellas por un tipo determinado de microorganismos.

La relación DQO/N del agua residual determinará cuál de estos procesos biológicos es el más adecuado para llevar a cabo la eliminación de nitrógeno (Campos, *et al.*, 2009):

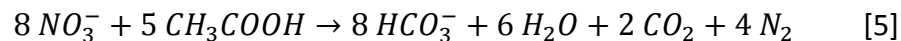
- DQO/N > 20: Eliminación por asimilación por bacterias heterótrofas.
- 20 > DQO/N > 5: Eliminación por asimilación, nitrificación y desnitrificación.
- DQO/N < 5: Eliminación por nitrificación parcial-desnitrificación o nitrificación parcial-Anammox.

2.3.1 Nitrificación - Desnitrificación

La eliminación del nitrógeno presente en las aguas residuales urbanas y en gran parte de las aguas industriales, se lleva a cabo tradicionalmente mediante la combinación de los procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación. La nitrificación es la oxidación del amonio en nitrito o nitrato. Este proceso consta de dos etapas, la oxidación del nitrógeno amoniacal a nitrito y la oxidación de éste a nitrato (Ecuaciones [3] y [4]), y lo llevan a cabo bacterias autótrofas amonio y nitrito oxidantes, respectivamente (Khin y Annachhatre, 2004).



Durante la desnitrificación se reducen el nitrato y el nitrito formados a nitrógeno gas bajo condiciones anóxicas, consumiéndose materia orgánica (Ecuación [5]), proceso que es llevado a cabo por bacterias heterótrofas desnitrificantes.



La integración de la nitrificación y desnitrificación permite también reducir la cantidad de productos químicos para el control del pH durante el tratamiento, dado que la alcalinidad generada en la desnitrificación se emplea para evitar el descenso de pH durante la nitrificación.

Se necesitan condiciones aerobias y anóxicas para que ocurra la nitrificación y la desnitrificación, respectivamente, lo que implica el empleo de dos compartimentos separados. Estos pueden disponerse en dos configuraciones (Figura 5):

a) En la configuración pre-desnitrificante, el agua residual se introduce en el reactor desnitrificante y luego se realiza la nitrificación. Una corriente procedente de la unidad aerobia, conteniendo nitrito y/o nitrato, se recircula a la primera para llevar a cabo la desnitrificación. Esto causa que la eficacia de eliminación de nitrógeno dependa de la relación de recirculación. La materia orgánica excedente del proceso de desnitrificación causa la proliferación de bacterias heterótrofas en la unidad aerobia. Estas compiten en ventaja con las bacterias nitrificantes por el oxígeno disuelto por lo que se debe mantener su concentración en torno a 1-2 mg O₂/L para que la nitrificación se pueda llevar a cabo de forma satisfactoria. El lento crecimiento de las bacterias nitrificantes provoca que su concentración en el tanque aerobio sea baja por lo el volumen requerido es alto. Con el uso de soportes en el tanque aerobio se podrían alcanzar mayores concentraciones de bacterias nitrificantes y, así, poder disminuir el tamaño requerido de tanque aerobio (sistema Pegasus (Tanaka *et al.*, 1996)).

b) En la configuración post-desnitrificante, el agua residual se introduce en el reactor nitrificante y el efluente de éste va al reactor desnitrificante. La ventaja de esta configuración es su simplicidad, con lo que se puede controlar fácilmente el proceso y, además, no se necesita recirculación. Sin embargo, la materia orgánica se oxida en la etapa aerobia, por lo que se tiene que suministrar externamente para realizar la desnitrificación, por lo que involucra un mayor costo, lo que hace que la postdesnitrificación se use sólo cuando la relación DQO/N sea baja.

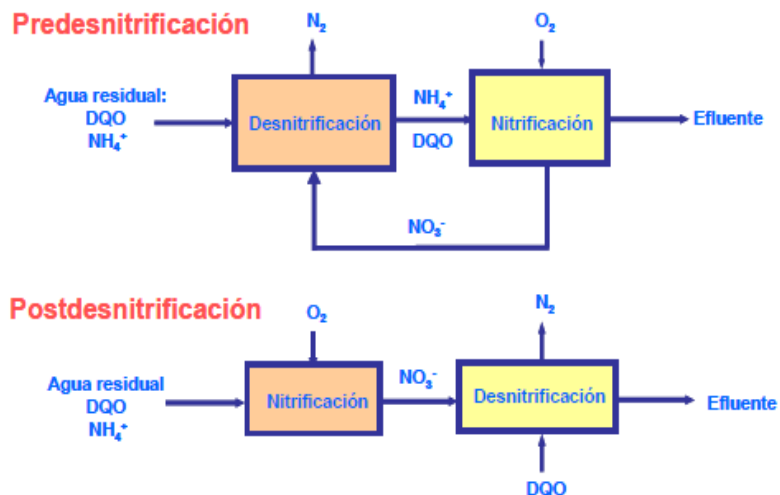


Figura 5: Esquema pre y post desnitrificación. Fuente: Campos *et al.*, 2009

2.3.2 Nitrificación SHARON

El proceso SHARON es uno de los métodos desarrollados para tratar biológicamente corrientes de agua residual con altas concentraciones de nitrógeno amoniacal siguiendo la ruta del nitrito (Hellings *et al.*, 1998). Este proceso se fundamenta en la mayor velocidad de crecimiento que tienen los organismos amonioxidantes (AOB) frente a los organismos nitritoxidantes (NOB) a altas temperaturas ($>25^\circ\text{C}$), lo que permite que operando el proceso con un tiempo de retención celular (TRC) relativamente bajo los organismos NOB sean eliminados del sistema.

La tecnología SHARON se desarrolla en un reactor de flujo continuo y mezcla completa (RCTA), con temperatura de operación entre $30\text{-}40^\circ\text{C}$, pH entre 7-8 y sin recirculación de fangos, por lo que el tiempo de retención celular (TRC) es igual al tiempo de retención hidráulico (TRH). Con estas condiciones de operación y un tiempo de retención hidráulico próximo a 1 día es posible evitar la producción de nitrato al ser los organismos NOB eliminados del reactor (Mulder *et al.*, 2001).

2.3.2 Nitrificación Parcial

Se utiliza cuando las aguas residuales tienen bajas relaciones DQO/N (efluentes de digestores de lodos, lixiviados de vertedero, efluentes de digestores anaerobios de la industria conservera, etc.). Para el tratamiento de estos efluentes se emplea una configuración post-desnitrificante, siendo preciso añadir una fuente de materia orgánica externa (metanol, ácido acético, etc.) para completar la desnitrificación. En estos casos, la oxidación parcial a nitrito supondría un ahorro del 25% del oxígeno necesario durante la nitrificación y, por otro lado, se produciría un 40% menos de lodo (Van Kempen *et al.*, 2001), lo cual se ve en la Figura 6.

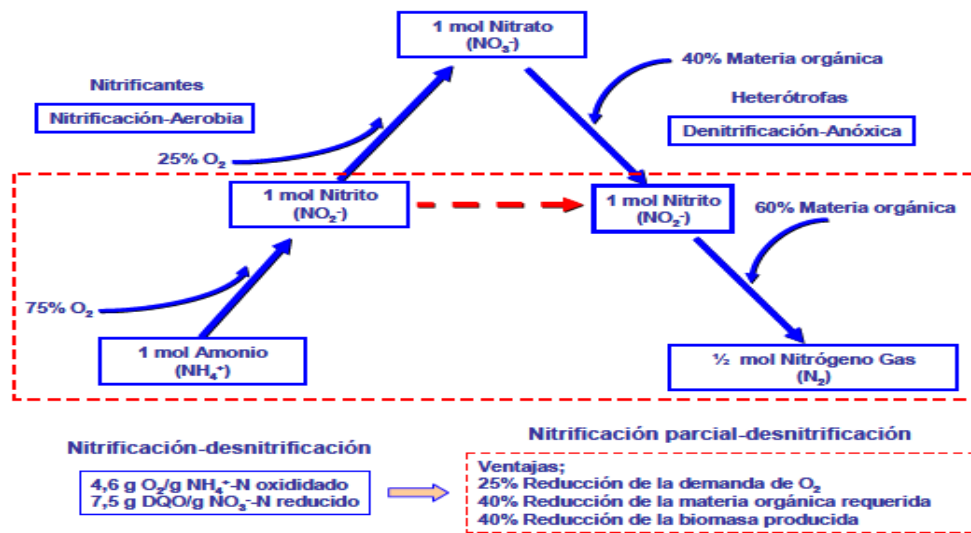
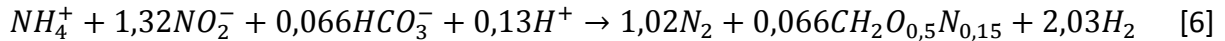


Figura 6: Esquema que compara nitrificación-desnitrificación versus nitrificación parcial-desnitrificación. Fuente: Campos *et al.*, 2009

2.3.3 Nitrificación Anammox

El proceso Anammox (Anaerobic Ammonium Oxidation) es un proceso biológico en el que ciertos microorganismos bajo condiciones anóxicas convierten el amonio en nitrógeno gaseoso, empleando el nitrito como aceptor de electrones. Este proceso es llevado a cabo por un grupo de bacterias autótrofas, principalmente de los géneros "*Candidatus brocadia*" y "*Candidatus kuenenia*", que emplean el dióxido de carbono como fuente de carbono inorgánico sin necesidad de aportar materia orgánica ni oxígeno, por lo que resulta ser un proceso de bajo costo para la eliminación del nitrógeno de las aguas residuales (Van de Graaf *et al.*, 1995). No obstante, debido a las bajas velocidades de crecimiento de las bacterias involucradas en este proceso se requieren altos tiempos de retención celular (TRC) para obtener concentraciones adecuadas de biomasa.

En la Ecuación [6] se representa la reacción bioquímica de este proceso:



Cuando se necesita tratar aguas con alto contenido en amonio pero con baja concentración de materia orgánica, la combinación de la nitrificación parcial y el proceso Anammox presenta las siguientes ventajas frente al proceso convencional de nitrificación/desnitrificación (Campos *et al.*, 2009) (Figura 7):

- 1) Ahorro de un 60% del oxígeno requerido.
- 2) No necesita fuente de materia orgánica.
- 3) Genera sólo el 15% de lodos.

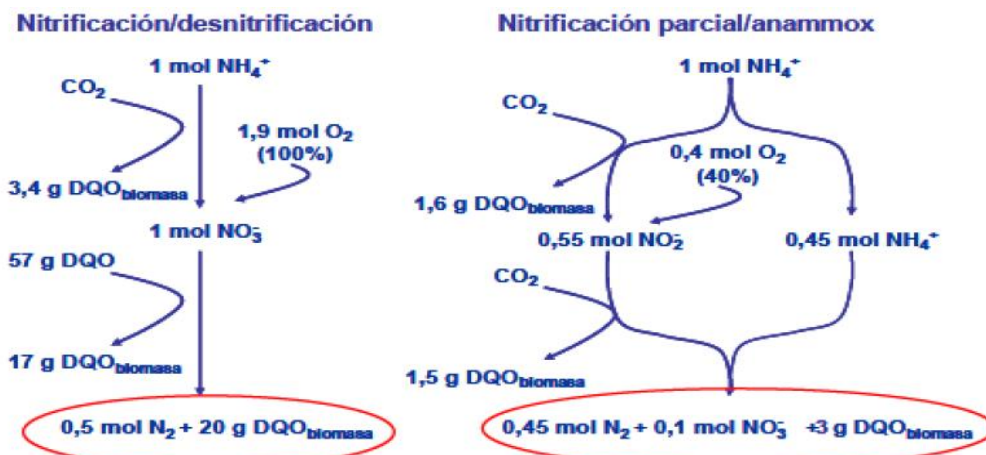


Figura 7: Comparación del proceso de nitrificación/desnitrificación con el proceso nitrificación parcial-Anammox durante el tratamiento de aguas residuales con baja relación DQO/N. Fuente: Campos *et al.*, 2009

2.3.4 Nitrificación CANON

Se utiliza en condiciones limitadas de oxígeno (menos del 0,5% de saturación de aire) donde se obtiene un cultivo mixto de bacterias amonio-oxidantes y Anammox. Este cultivo convierte directamente el amonio a nitrógeno gas con nitrito como intermediato. Las nitrificantes consumen el oxígeno, generando nitrito y un ambiente anóxico para los microorganismos Anammox. De esta forma se elimina el amonio de aguas residuales en un sólo reactor en condiciones autotróficas.

2.4 Proceso de Desnitrificación

La desnitrificación es un proceso metabólico que usa el nitrato como aceptor terminal de electrones en condiciones anóxicas (ausencia de oxígeno) principalmente. El proceso de reducción de nitratos hasta nitrógeno gas ocurre en etapas sucesivas, catalizadas por sistemas enzimáticos diferentes, apareciendo como productos intermedios nitritos, óxido nítrico y óxido nitroso. La realizan exclusivamente ciertos microorganismos, entre los que destacan *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus*, *Rhizobium*, *Thiosphaera*, entre otros (Delwiche, 1982).

El tratamiento de aguas contaminadas por nitrato o nitrito pueden ser logrado a través de procesos fisicoquímicos o biológicos. Los procesos fisicoquímicos como ósmosis inversa, intercambio iónico y destilación son mecánicamente complejos, requieren mantención periódica y tienen costos asociados elevados (Moon *et al.*, 2004), no son selectivos y resulta en residuos secundarios con altos niveles de nitrato o nitrito.

Los tratamientos biológicos son los procesos más ampliamente usados para la eliminación de nitrógeno en aguas residuales, presentando ventajas en cuanto a costos con respecto a los procesos fisicoquímicos (Mahmood *et al.*, 2007; Moraes *et al.*, 2012). La aplicación de este tipo de tratamientos es generalmente llevado a cabo con el objetivo de disminuir las concentraciones de compuestos orgánicos y nitrógeno (Guerrero *et al.*, 2012).

Los procesos biológicos convencionales para la remoción de nitrato y nitrito se basan en bacterias heterótrofas las cuales funcionan bajo condiciones anóxicas en presencia de compuestos orgánicos (Sun y Nemati, 2012). Sin embargo, estos tratamientos presentan ciertas desventajas. Por ejemplo, en la nitrificación total, cuando se tiene altas cargas de nitrógeno se tienen también elevados costos en aireación. Si bien los compuestos orgánicos constituyen las aguas residuales, su nivel original es insuficiente para completar la remoción de nitrato. En la desnitrificación una adecuada razón C/N puede no ser alcanzada, debido a que el proceso anterior es llevado a cabo con el propósito de solo reducir la materia orgánica, dejando un déficit de éste (Guerrero *et al.*, 2012).

Ciertas aguas residuales como las provenientes de curtiembres, industrias de procesos de fertilizantes, lixiviados de vertederos y efluentes de digestores anaerobios que tratan purines, contienen muy bajas concentraciones o nulas de compuestos orgánicos (Manconi *et al.*, 2007). En estos casos, es necesaria una fuente externa de carbón para conseguir completar la desnitrificación heterótrofa, incrementando así los costos y la producción de lodos.

2.4.1 Desnitrificación Autótrofa

La DA es un atractivo tratamiento para aguas contaminadas, ya que puede ser usada para remover óxidos de nitrógeno y compuestos con azufre (Oh *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2010), especialmente para aquellos efluentes con altas concentraciones de nitrato o nitrito y deficientes de materia orgánica (Li *et al.*, 2009; Sun y Nemati, 2012; Fajardo *et al.*, 2012).

Este proceso es llevado a cabo por bacterias desnitrificantes autótrofas como *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans* (Moraes *et al.*, 2012; Tang, *et al.*, 2010; Oh, *et al.*, 2000). La energía requerida por estos microorganismos es derivada de reacciones oxidación-reducción con elementos como hidrógeno o varios compuestos reducidos de azufre (H_2S , S , S^{2-} , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-}) que actúan como donador de electrones (Li *et al.*, 2009) y nitrato como como aceptor de electrones bajo condiciones anaerobias (Mahmood *et al.*, 2007; Fajardo *et al.*, 2012). Además tienen como ventaja el poder reducir simultáneamente nitrato y azufre (Manconi *et al.*, 2007).

En las aguas residuales, conjuntamente con los compuestos de carbono y nitrógeno, pueden estar presentes compuestos de azufre, pudiendo aprovechar las interacciones entre los ciclos de los tres elementos para llevar a cabo la eliminación de dichos compuestos (Figura 8).

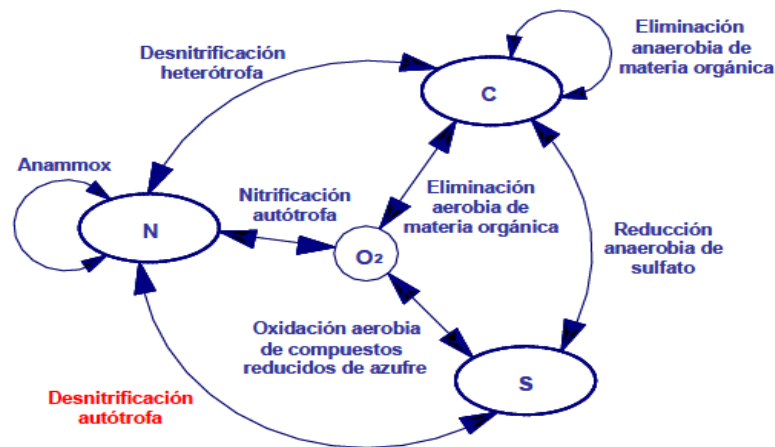
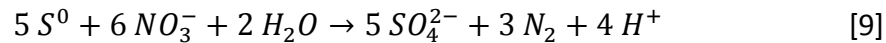
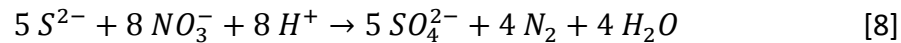
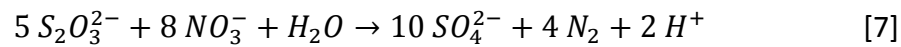


Figura 8: Interacciones biológicas entre los ciclos del Carbono, Nitrógeno y Azufre.

Fuente: Campos *et al.*, 2009

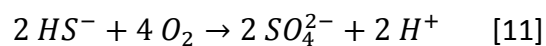
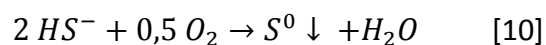
La interacción biológica entre los ciclos del nitrógeno y el azufre viene dada por la desnitrificación autótrofa, que consiste en la reducción de óxidos de nitrógeno (NO_3^- y/o NO_2^-) a N_2 gaseoso, utilizando compuestos reducidos de azufre como dadores de electrones ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, S^0 y/o H_2S) (Ecuaciones [7], [8] y [9]). El producto final obtenido es sulfato, que es menos perjudicial que el nitrato, especialmente cuando se vierte al medio marino.



La DA presenta las siguientes ventajas frente a la desnitrificación heterótrofa convencional (Campos *et al.*, 2008):

- a) No requiere de una fuente de carbono orgánica, como etanol o acetato.
- b) El azufre elemental puede ser usado como fuente de electrones económica.
- c) La producción de lodos es reducida, por lo tanto el coste asociado a la gestión de los mismos es bajo.

Como se mencionó anteriormente, las principales bacterias desnitrificantes pertenecen a los géneros de *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans*, con pH óptimo entre 7 y 8. Estos microorganismos son principalmente mesófilos con un óptimo de temperatura entre 25 y 35°C. En este proceso se requiere de una fuente de alcalinidad (HCO_3^- , $CaCO_3$) para neutralizar los protones producidos (Fajardo *et al.*, 2008). Estas bacterias pueden usar también el oxígeno como aceptor de electrones para la oxidación de compuestos azufrados. El producto final obtenido dependerá de la concentración de oxígeno. A concentraciones de O_2 bajas (< 0,1 mg O_2/L) se produce una oxidación parcial a S^0 mientras que a altas concentraciones se produce sulfato (Ecuaciones 10 y 11). Si el propósito del proceso es la eliminación de nitrato se debe evitar la presencia de oxígeno dado que las bacterias usarán preferentemente éste como aceptor de electrones.



Este proceso biológico ha sido exitosamente aplicado como postratamiento para lograr bajas concentraciones de nitrógeno en instalaciones de tratamiento de aguas residuales a pequeña escala y para remover nitrato de acuíferos, aguas subterráneas y agua para beber (Soares, 2002).

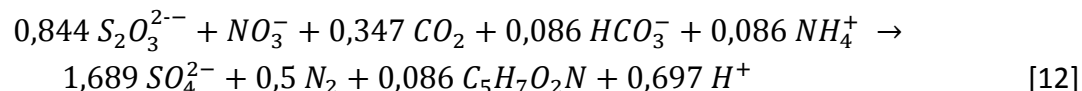
Debido a los bajos costos, el azufre elemental es una fuente de energía atractiva para la desnitrificación (Tang *et al.*, 2010). Además el azufre elemental no es tóxico, es insoluble en agua, estable bajo condiciones normales y fácilmente disponible como mineral o subproducto del procesamiento de combustible (Soares, 2002; Moon *et al.*, 2004).

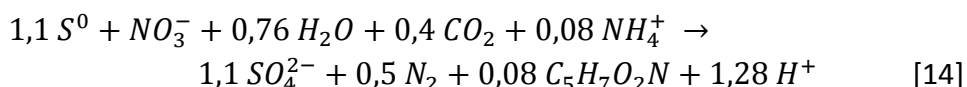
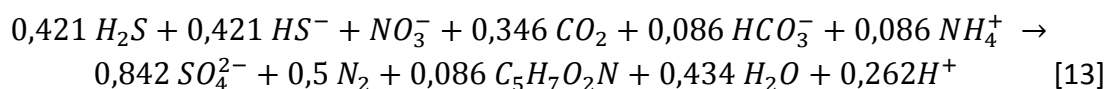
Se ha observado que la relación S/N en la alimentación juega un papel importante en la desnitrificación autótrofa. Se probaron diferentes relaciones S/N con tiosulfato como dador de electrones y nitrato como aceptor (Oh *et al.*, 2000) y se encontró que relaciones menores a 6,51 g S/g N (azufre como limitante) llevaban a cabo la desnitrificación sólo hasta nitrito. En el caso de relaciones mayores que la estequiométrica, los compuestos de azufre son oxidados a azufre elemental (Gadekar *et al.*, 2006). Es necesario controlar la relación S/N de entrada para conducir el proceso hacia la obtención de productos de interés.

La tasa de DA depende del estado de oxidación de los compuestos de azufre presentes en el agua residual. Las tasas de oxidación de tiosulfato se mide en la masa de nitrógeno presente en el nitrato por gramo de sólidos suspendidos volátiles (SSV) al día, que son alrededor de 212 mg N-NO₃⁻/(g SSV d), lo que representa diez veces más que los 22 mg N-NO₃⁻/(g SSV d), reportados en otros trabajos utilizando azufre elemental (Beristain *et al.*, 2006).

La inhibición de la DA por nitrato ha sido reportada a concentraciones de 660 mg N-NO₃⁻/L, mientras que el nitrito aparece como un fuerte inhibidor de la desnitrificación, incluso en bajas concentraciones, de 36 – 60 mg N-NO₂⁻/L (Oh *et al.*, 2002). La inhibición de la desnitrificación autótrofa por metales pesados tales como el Zn y el Cu a concentraciones de 0,5 y 1,0 mg/L ha sido también reportada (Oh *et al.*, 2000; Moon *et al.*, 2006). La materia orgánica no tiene un efecto inhibitorio en el proceso, pero afecta la oxidación de las especies de azufre, disminuyendo la formación de sulfato (Kim y Son, 2000; Oh *et al.*, 2002). El sulfato es un producto del proceso y se ha reportado que provoca inhibición parcial a concentraciones de 500 mg S-SO₄²⁻/L y un agotamiento total de la actividad a una concentración de 6.400 mg S-SO₄²⁻/L (Campos *et al.*, 2008). Por consiguiente, su presencia debe ser evitada. Varios trabajos de investigación coinciden en que la concentración máxima de O₂ disuelto que no causa inhibición está entre 0,1 – 0,3 mg O₂/L. Sobre este rango, la DA es inhibida (Sublette y Sylvester, 1987; Kimura *et al.*, 2002; Gu *et al.*, 2004).

La presencia y uso de compuestos azufrados y nitratos en relación estequiométrica es de principal importancia para el crecimiento de la biomasa y la operación del sistema de desnitrificación autótrofa. La estequiometría de las reacciones de desnitrificación, que usan compuestos de azufre como fuente de energía, está dada por las ecuaciones [12], [13] y [14]:





Un importante número de investigaciones en DA se ha enfocado en la determinación de parámetros cinéticos de culturas axénicas, así como se ha estudiado la desnitrificación autótrofa bajo condiciones mixotróficas, ya que es posible encontrar bacterias en la naturaleza que soportan ambas condiciones: autótrofa y heterótrofa (Oh *et al.*, 2002), y mezcladas a diferentes razones S/N en la presencia de sulfuro, nitrito, nitrato y materia orgánica (Fajardo *et al.*, 2012). Estos estudios fueron realizados con colonias puras de *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans*. Los parámetros cinéticos estimados desde las diferentes poblaciones bacterianas estudiadas presentan un amplio rango de valores (Tabla 7) que indican su gran diversidad.

Tabla 7: Parámetros cinéticos bacterias utilizadas en desnitrificación autótrofa

	μ máx [1/h]	r máx [1/h]	Ks [mg N-NO ₃]/L	Y [mg SSV/mg N-NO ₃]	Referencia
Lodo	0,12 – 0,2	0,3 – 0,4	3 – 10	0,4 – 0,5	Oh <i>et al.</i> , 2000
Enriquecido	0,006		0,398	0,81 – 1,1	Zeng y Zhang, 2005
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	0,11		0,2	0,4 – 0,57	Claus <i>et al.</i> , 1985
	0,02 – 0,08				Justin y Kelly, 1978
<i>Thiomicrospira denitrificans</i>	0,19 – 0,22	0,36	0,22	0,5	Gadekar <i>et al.</i> , 2006

Nomenclatura: μ máx: tasa máxima de crecimiento específico en 1/h; r máx: Tasa máxima de consumo de O₂ (mg O₂/(L·h) ; Ks: constante de saturación de sustrato, constante de Monod o “velocidad media” en mg de nitrógeno por litro; Y: coeficiente de rendimiento de crecimiento en mg de biomasa por mg de sustrato.

Aun sabiendo que la DA es una buena opción para la remoción simultánea de compuestos de nitrógeno y azufre, ésta posee ciertas ventajas y desventajas (Campos *et al.*, 2008), detalladas en la Tabla 8.

Tabla 8: Ventajas y desventajas desnitrificación autótrofa

Ventajas	Desventajas
Muchas aguas residuales tienen una baja concentración de materia orgánica, por lo tanto, es necesaria la adición de una fuente de carbono externa, como etanol o acetato, para remover nitrógeno por desnitrificación heterótrofa.	Aunque un gran número de aguas residuales contiene altas concentraciones de compuestos de azufre y nitrógeno en diferentes formas, los primeros en muchos casos están como sulfuros, el cual provoca la inhibición de la desnitrificación a bajas concentraciones (0,5 mg S ²⁻ /L), mientras que los últimos están en forma de NH ₃ , que primero debe ser nitrificado.
El azufre elemental puede ser usado como fuente de electrones económica, dado que éste es más barato que el metanol y el ácido acético, es posible obtener una reducción en los costos operacionales.	Cuando el agua residual contiene altas concentraciones de nitrato, se genera un efluente con altas concentraciones de sulfatos. En estos casos, el desarrollo de zonas anaerobias podría conducir a la generación de sulfuros.
Debido a que sólo unos pocos microorganismos son capaces de utilizar HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ o S ⁰ como dadores de electrones para el crecimiento, se desarrolla una fuerte selección de la población, asimismo, la producción de lodos es reducida, por lo tanto el costo asociado a la gestión de ellos es bajo.	Los compuestos de azufre en aguas residuales pueden causar aumento de volumen de lodos, debido a la proliferación de bacterias filamentosas.

Fuente: Campos *et al.*, 2008

2.4.2 Desnitrificación Heterótrofa

En la DH, un sustrato orgánico, como metanol, etanol, ácido acético, glucosa, etc. actúa como fuente de energía (donador de electrones) y fuente de carbono la materia orgánica biodegradable presente en el medio, mientras que se usa el nitrato (NO₃⁻) como aceptor de electrones, reduciéndolo a nitrógeno gas (N₂) en condiciones anóxicas por la acción de bacterias heterótrofas (*Pseudomonas*, *Paraccocus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus*, *Bacillus*).

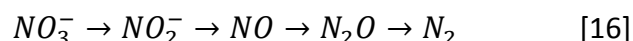
La DH es ampliamente aplicada por su alta eficiencia y bajo costo. La tasa de desnitrificación heterotrófica es alta, permitiendo el uso de reactores de poco volumen y bajos costes. Sin embargo el carbón residual de este proceso causa diversos problemas para el tratamiento de aguas potables, lo que convierte a la desnitrificación autótrofa en una buena alternativa.

La cinética de la DH se puede representar por el modelo de Monod (Ecuación [15]), teniendo en cuenta ambos sustratos: orgánicos y nitrogenados.

$$\mu = \mu_m \left[\frac{S}{K_s + S} \right] \left[\frac{N}{K_n + N} \right] \quad [15]$$

Donde S y N son, respectivamente, las concentraciones de los sustratos orgánicos y nitrogenados, mientras que K_s y K_n sus respectivas constantes de saturación. Se ha mencionado que el valor de la constante de saturación K_n del nitrato es muy baja (alrededor de 0,1 g N- NO_3^- /L), por lo que, a menos que el nitrato sea el sustrato limitante, la desnitrificación heterótrofa se considera como independiente de la concentración de nitrato. Esto no ha quedado claro, sin embargo, en el caso de aguas residuales con un alto contenido de nitrógeno, dado que se ha encontrado acumulación de intermediarios durante su tratamiento.

Es un proceso que se da lugar por etapas, que involucran la actividad de enzimas diferentes, a lo largo del cual se pasa por diversas formas reducidas del nitrógeno, productos nitrogenados intermedios en forma de nitritos (NO_2^-) y óxidos de nitrógeno (NO_x). Sliemers, *et al.* (2002) propusieron que la acumulación de intermediarios durante el proceso desnitrificante es explicada por la secuencia de reacciones mostradas en la Ecuación [16]:



El primer paso de la desnitrificación es la reducción de nitrato a nitrito, catalizado por la nitrato reductasa. El segundo paso es la reducción de nitrito a óxido nítrico (NO) por medio de la nitrito reductasa. La reducción de NO a N_2O está catalizada por la óxido nítrico reductasa, localizada en la membrana citoplasmática. De las enzimas de la desnitrificación, ésta es la menos caracterizada. La última etapa de la desnitrificación es la reducción de N_2O a N_2 . Es llevada a cabo por la enzima óxido nitroso reductasa, localizada en el periplasma. Esta enzima es severamente inhibida por la presencia de oxígeno. Debido a esto, es importante evitar la entrada de oxígeno en el proceso desnitrificante, para no liberar N_2O , gas que contribuye al efecto invernadero del planeta. Evidencias recientes han mostrado que la concentración de cobre en el influente de un reactor continuo desnitrificante juega un papel importante para evitar la acumulación de N_2O durante la eliminación de concentraciones altas de nitrato (Cervantes-Carrillo *et al.*, 2000).

Al ser un proceso por etapas, en el proceso de desnitrificación existe además la posibilidad de acumulación de intermediarios (NO_2^- , N_2O , NO) debido al tipo y concentración del sustrato empleado o a las condiciones de operación (temperatura, pH, tiempo de residencia hidráulico, tiempo de retención celular). En base a esto, para que la transformación culmine en N_2 , deberán controlarse las condiciones ambientales como el nivel de O_2 disuelto, la fuente de carbono orgánico, la concentración de nitratos, la relación C/N, la disponibilidad de fósforo, pH, temperatura y posible presencia de tóxicos. (Decheco y Egusquiza, 2011)

Las evidencias han mostrado que la velocidad desnitrificante heterótrofa está asociada con el crecimiento microbiano y puede quedar descrita por la Ecuación [17]:

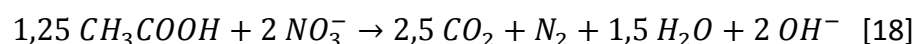
$$\frac{dS}{dt} = \left[\frac{\mu_{max}}{Y_d} \right] \left[\frac{S}{K_d + S} \right] [X_d] \quad [17]$$

Donde X_d es la biomasa desnitrificante e Y_d el rendimiento (g biomasa/g NO_3^-). En consecuencia, será importante considerar la concentración de sustrato asimilable (y soluble) al ajustar la relación C/N para tener un proceso desnitrificante eficiente. De hecho, hay resultados que indican que la acumulación de N_2O en un proceso de DH está también relacionada con la concentración de carbono orgánico en las reacciones.

Una variable ambiental que también puede influir en la acumulación de intermediarios indeseables en este tipo de procesos es el pH. Se ha descrito que en condiciones ácidas (pH 6 o menor) se acumula ácido nitroso (HNO_2), muy tóxico para las bacterias. A valores de pH ligeramente alcalinos, el nitrato es convertido en N_2 . Cabe decir que estos estudios del efecto del pH sobre la desnitrificación han sido realizados en cultivos batch. En cultivos en continuo, por el contrario, no se observó acumulación de intermediarios de la desnitrificación en el intervalo de pH de 6 a 9, aun cuando se utilizó una velocidad de carga alta (1.000 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L d}$), pero el proceso si fue totalmente inhibido a un pH de 5 (Pérez, 1998). El proceso de desnitrificación tiende a aumentar la alcalinidad, puesto que necesita los protones de hidrógeno para su ejecución (Sánchez y Sanabria, 2009).

A partir de esto, puede establecerse que la acumulación de intermediarios indeseables en un proceso desnitrificante no sólo es resultado de la inhibición de una enzima de la secuencia respiratoria, sino también a las condiciones de cultivo, tales como una relación C/N baja, la insuficiencia de iones cobre, tiempo de retención hidráulico corto respecto de la velocidad desnitrificante, el valor del pH y la presencia de oxígeno, entre otras (Cervantes-Carrillo *et al.*, 2000).

La reacción estequiométrica entre acetato y nitrato (relación C/N igual a 1,07) se muestra en la Ecuación [18] (Reyes-Avila *et al.*, 2004):



Cuando se utiliza al nitrito como aceptor de electrones, la velocidad máxima de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) es menor que cuando se utiliza nitrato (1,5 y 2,6 d^{-1} , respectivamente), lo que implica una menor producción de biomasa (Ciudad, 2007). Por otro lado, Gee y Kim (2004) mostraron que la desnitrificación a partir de nitrito es de 3 a 5 veces más rápida que cuando se utiliza nitrato, reduciendo además el requerimiento de materia orgánica.

2.4.3 Desnitrificación Autótrofa – Heterótrofa Simultánea

A menudo, las aguas residuales industriales vienen con altas concentraciones de sulfuros y nitratos o nitritos. Para eliminar estos compuestos, la alternativa más económica y amigable con el medio ambiente es el tratamiento biológico, en desmedro de los tratamientos físicos y/o químicos. La remoción biológica de sulfuro puede lograrse mediante la oxidación parcial del sulfuro a azufre elemental utilizando bacterias desnitrificantes autótrofas. La remoción biológica del nitrito se puede alcanzar reduciéndolo a gas nitrógeno por medio de bacterias desnitrificantes heterótrofas. Por una parte, es una ventaja que ambas sean desnitrificantes, pero por otro lado, cuando están presentes bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas en el mismo reactor, compiten significativamente por el suministro limitado de nitrito (Chen *et al.*, 2008), es por esto que se debe estudiar un equilibrio donde convivan ambos tipos para lograr remociones de todos los compuestos.

Existen muy pocos estudios referidos a la DAH. En evidencias anteriores donde se utilizó un reactor de lecho fluidizado para estudiar el efecto del sulfuro y el acetato en desnitrificación bajo condiciones limitadas de ambos sustratos, se observó que la reducción de nitrato fue parcial, debido a que se acumuló nitrito en el sistema (Gommers *et al.*, 1988). El acetato fue consumido a altas eficiencias y el sulfuro fue completamente oxidado a sulfato. No obstante, no se determinaron todos los productos finales de las reacciones biológicas.

Reyes-Avila *et al.* (2004) argumentaron que la velocidad de reacción ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$) es mayor vía DA ($\text{S}^{2-} \rightarrow \text{S}^0$) que vía DH (acetato $\rightarrow \text{CO}_2$). Por el contrario, la velocidad de reacción ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$) es mayor vía DH. Por tanto, con un inóculo suficiente de heterótrofos y autótrofos simbióticos, y suministro de nitrato ilimitado, se logró remover simultáneamente nitrógeno ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$), sulfuro ($\text{S}^{2-} \rightarrow \text{S}^0$) y carbono (acetato $\rightarrow \text{CO}_2$) en el mismo reactor continuo de tanque agitado (CSTR) a velocidades de carga de 0,209 kg N/(m³ d), 0,294 kg S/(m³ d), y 0,303 kg C/(m³ d).

Chen *et al.* (2008) trabajaron con un reactor EGSB donde sulfuro, nitrato y acetato fueron simultáneamente convertidos a S^0 , N_2 y CO_2 a velocidades de carga de 3,0 kg S/(m³ d), 1,45 kg N/(m³ d), y 2,77 kg Ac/(m³ d), respectivamente. No se registró inhibición por sulfuro hasta concentraciones de 800 mg/L. Se observó que los gránulos contenían *Pseudomonas spp.* y *Azoarcus*, heterótrofos y autótrofos trabajando juntos en desulfurización y DAH.

Li *et al.* (2009) operaron un bio-reactor anaeróbico de crecimiento adherido (AAGBR), llegando a remover un 99,9% de azufre y un 91,8% de carbono orgánico, a velocidades de carga de 1,8 kg S^{2-} /(m³ d), 0,302 kg C/(m³ d), y 0,180 kg N- NO_2^- /(m³ d). Este proceso de DAH demostró la posibilidad de eliminar carbono orgánico en presencia de nitrato y nitrito.

En otras dos publicaciones (Tang *et al.*, 2010; An *et al.*, 2010) fue utilizada una colonia microbiana de un yacimiento petrolífero. Tang *et al.* (2010) estudiaron el efecto de la velocidad de carga de azufre (VCS), la velocidad de carga nitrogenada (VCN) y la proporción molar en las tasas de remoción de sulfuro, nitrato y acetato. La remoción de sulfuro y nitrato bajo condiciones autótrofas fue de 30 y 24,4 mM/h, respectivamente, y las mismas para nitrato y acetato bajo condiciones heterótrofas fueron 183,2 y 88 mM/h, respectivamente. Por otro lado, An *et al.* (2010) estudiaron el efecto de la VCS y de la relación sulfuro/nitrato (S/N). Los resultados obtenidos indicaban que cortos tiempos de residencia y relaciones altas S/N promueven la formación de S^0 .

Como la desnitrificación es un proceso redox, las reacciones termodinámicas involucradas (utilizando acetato y sulfuro) influyen en la eficiencia del proceso. La actividad biológica de la biomasa también determinará la velocidad de la reacción (Reyes-Avila *et al.*, 2004).

2.4.4 Uso de Nitrito como fuente de nitrógeno en nitrificación-desnitrificación

La nitrificación-desnitrificación es el proceso más común para la eliminación biológica de nitrógeno. Consiste en 2 etapas: nitrificación, la oxidación aerobia de amonio a nitrato, y desnitrificación, la reducción anóxica del nitrato a nitrógeno gaseoso, con consumo de materia orgánica. En la mayoría de los casos, la ruta elegida es esta, aunque se ha descubierto que la eliminación de nitrógeno puede ser optimizada por medio de la ruta del nitrito como aceptor final de electrones, que involucra una nitrificación parcial hasta nitrito y una desnitrificación de ese nitrito en lugar de nitrato.

Durante los últimos años se ha realizado esfuerzos tendientes a optimizar la eliminación biológica de nitrógeno. Esto se ha traducido en el desarrollo de nuevos procesos, como la nitrificación-desnitrificación vía nitrito. Este proceso se basa en el hecho de que el nitrito es un compuesto intermediario en ambas etapas (nitrificación y desnitrificación). Por lo tanto, sería factible realizar la nitrificación hasta nitrito, el que sería sustrato para la etapa de desnitrificación posterior. Esto produciría importantes ahorros en los requerimientos de aireación durante la nitrificación, reduciría el requerimiento de materia orgánica en la desnitrificación y disminuiría la producción de lodos. Para implementar un proceso de estas características es necesario contar con biomasa desnitrificante adaptada a nitrito, el que es inhibitorio a altas concentraciones, por lo que es necesario que la concentración de nitrito se mantenga baja al interior del reactor (Jeison *et al.*, 2003).

Se consigue una reducción de las necesidades de materia orgánica durante el proceso de desnitrificación. Tal y como se muestra en la Figura 9, la desnitrificación a partir de nitrito (NO_2^-)

representa un ahorro del 40% del consumo de materia orgánica externa en comparación con la desnitrificación realizada a partir de nitrato (NO_3^-). Por otra parte, es posible reducir completamente las necesidades de materia orgánica cuando la oxidación de amonio se realiza empleando el nitrito (NO_2^-) como aceptor de electrones (proceso ANAMMOX). En este último caso se hace necesario, como paso previo, la oxidación del 50% de amonio a nitrito, lo cual se puede conseguir mediante un proceso de nitrificación parcial, comúnmente realizado en un sistema SHARON.

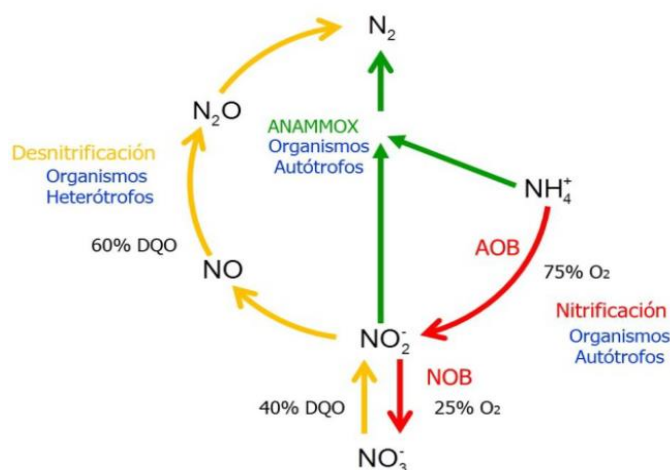
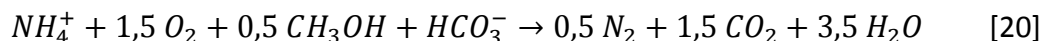
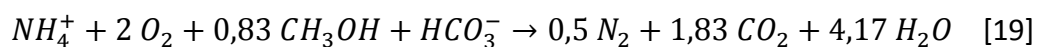


Figura 9: Transformaciones del nitrógeno amoniacal vía nitrato y nitrito. Fuente: Claros, 2012

Al igual que en el proceso de desnitrificación a partir de nitrato, la mitad de los protones (H^+) producidos durante la nitrificación pueden ser neutralizados mediante la desnitrificación a partir de nitrito. Las Ecuaciones [19] y [20] representan las reacciones de eliminación total del nitrógeno amoniacal mediante los procesos de nitrificación y desnitrificación vía nitrato y vía nitrito, respectivamente (empleando metanol como fuente de carbono orgánico).



En estas reacciones químicas se puede observar la menor emisión de dióxido de carbono vía nitrito. Además, mediante esta ruta se produce menos fango (Mulder, 2003). En la Tabla 9 se encuentra recogido un análisis comparativo entre la eliminación biológica de nitrógeno vía nitrito y vía nitrato, que incluye el consumo de oxígeno, la demanda de materia orgánica, las emisiones de dióxido de carbono y la producción de fango. Esta información se basa en la estequiometría de las ecuaciones anteriores, y ha sido obtenida asumiendo una corriente de agua residual con concentración equimolar entre el amonio y el bicarbonato.

Tabla 9: Comparación teórica entre eliminación biológica de nitrógeno vía nitrito y nitrato.

Parámetro	Oxígeno	Materia Orgánica ¹	Emisión de CO ₂	Producción de Fango (Mulder, 2003)
	$\frac{kg O_2}{kg N - NH_4^+}$	$\frac{kg DQO}{kg N - NH_4^+}$	$\frac{kg CO_2}{kg N - NH_4^+}$	$\frac{kg peso seco}{kg N - NH_4^+}$
Nitrificación y desnitrificación vía nitrato	4.57	2.86	5.76	1-1.2
Nitrificación y desnitrificación vía nitrito	3.43	1.71	4.72	0.8-0.9

¹ 1 g CH₃OH equivale a 1.5 g DQO

Fuente: Volcke, 2006.

2.5 Sistema utilizado para la operación

2.5.1 Reactor de Filtro Anaerobio con Flujo Ascendente

Este tipo de reactor es un componente ocasional de plantas de tratamiento. La función del filtro, también llamado reactor anaerobio es reducir la carga contaminante de las aguas servidas. El agua servida es alimentada al filtro a través del fondo, construido de forma que permita distribuir el flujo en forma uniforme en toda la sección del filtro. El agua a ser tratada se hace pasar a través de un cuerpo poroso (piedra), llevándola al contacto con una fina biopelícula de microorganismos adheridos a la superficie, o floculados, donde se realiza el proceso de degradación anaerobia.

Los filtros anaerobios generalmente operan, con una razonable eficiencia de remoción de carga contaminante, en el rango mesófilo de temperaturas, es decir, entre 25 y 38°C.

Este tipo de reactor permite la realización de un buen tratamiento incluso a altas tasas de cargas orgánicas, lo cual es primordial para procesos biológicos de remoción como la DAH, ya que además se requiere un menor volumen para la reacción y acción de las bacterias en el proceso y por otra parte la elevada concentración de biomasa en el reactor lo hace más tolerante a la presencia de tóxicos.

A nivel de laboratorio y planta piloto se han aplicado a estos reactores cargas de hasta 45 kg DQO/(m³ d). Sin embargo, en instalaciones a escala real, la Velocidad de Carga Orgánica, VCO, no ha sido superior a los 15 kg DQO/(m³ d) (Aguirre, 2014).

La penetración del sustrato en los gránulos o en biopelículas puede ser menor a bajas concentraciones de materia orgánica y como resultado, la biomasa que se encuentra en lo más profundo de la biopelícula o en el centro del gránulo se ve desprovista de esta materia orgánica, lo que hace que se reduzca también la VCO que pueda soportar el reactor.

El UAF se aplica en general a cualquier agua residual biodegradable, lográndose buenas eficiencias trabajando con VCOs de hasta 15 – 20 kg DQO/(m³ d) (Aguirre, 2014).

De los sistemas de tratamiento anaerobio, este tipo de reactores son los más sencillos de mantener, porque la biomasa permanece como una biopelícula adherida al material de soporte. No obstante, pueden presentar problemas de obstrucción y altas caídas de presión, debido al exceso de biomasa que provoca el atrapamiento del gas, limitando así la transferencia de masa desde el líquido a la biopelícula (Fajardo, 2011), aunque si el flujo es ascendente el riesgo de obstrucción disminuye considerablemente.

En este tipo de reactor existen tres zonas bien definidas (Tratamiento mediante reactores anaerobios, 2002):

1. Zona de entrada, en la parte inferior del reactor, donde además se debe poder evacuar los lodos producidos en el tratamiento del afluente.
2. Zona de empaque, donde se encuentran adheridos los microorganismos a un soporte.
3. Zona de salida, en la parte superior, donde además de la correcta distribución del caudal a la salida, también se cuenta con una línea de purga para la recolección de los gases.

El reactor consiste esencialmente en una columna abierta, a través de la cual el líquido residual se pasa a una baja velocidad ascensional. El manto de fangos se compone de gránulos o partículas además del agua residual. El fenómeno de granulación que rige la formación de los gránulos constituye la parte fundamental del proceso. El tratamiento del agua se da cuando se pone en contacto el agua con los gránulos. Los gases producidos bajo condiciones anaerobias provoca la recirculación interna, lo que ayuda en la formación y mantenimiento de las partículas biológicas, sobre las cuales algunas partículas de gas se adhieren. El gas libre y el gas adherido a gránulos se retienen en el colector de gas en la parte alta del reactor. El líquido que ha pasado a través del manto contiene algunos sólidos residuales y gránulos biológicos que pasan a través del sedimentador donde los sólidos se separan del futuro efluente. Los sólidos retornan por tanto al caer a través del sistema de baffle en la parte alta del manto de lodos.

Para lograr una operación correcta del sistema se requiere la formación de biomasa floculenta, y la puesta en marcha suele requerir la inoculación previa del reactor con grandes cantidades de

fangos de algún otro sistema de operación. Un fango granular es un agregado de microorganismos formados durante el tratamiento de agua residual en un medio en el que exista un régimen hidráulico constante de flujo ascendente. En ausencia de algún tipo de soporte, las condiciones del tipo de flujo crean un ambiente selectivo en el cual sólo esos organismos capaces de anclarse a los otros, sobreviven y prolifera. La configuración de los agregados dentro de la biopelícula densa y compacta es a lo que se denomina gránulo. La granulación depende en gran medida del crecimiento bacteriano, por lo que optimizando las condiciones de crecimiento se mejorará considerablemente (Tratamiento mediante reactores anaerobios, 2002).

El elemento más importante de los reactores UAF es el material de soporte y es el responsable de la eficiencia el proceso anaerobio. Debe cumplir los siguientes objetivos:

- Separar los sólidos de los gases.
- Promover la homogeneización del líquido en el reactor.
- Mejorar el contacto entre el sustrato y los microorganismos dentro del reactor.
- Acumular grandes cantidades de biomasa con el consecuente aumento del tiempo de retención de sólidos.
- Actuar como barrera física (filtración) para evitar que los sólidos salgan en el efluente del reactor.

Los medios de soporte utilizados, como relleno, deben ser: resistentes, inertes, ligeros, presentar una alta porosidad, tener capacidad de adsorción de los microorganismos en superficies, no ser planos y tener un bajo costo. Los materiales más utilizados son: zeolitas, algas calcáreas, materiales volcánicos, anillos y esferas de cerámica o vidrio, plásticos especiales, paneles modulares o tubulares, gomas o cauchos de automóviles, entre otros (Montalvo y Guerrero, 2003).

El tiempo de retención de sólidos (TRS) debe ser elevado para que pueda desarrollarse una mezcla apropiada de microorganismos en el UAF, esto puede obtenerse mediante una operación efectiva de las tres funciones del separador.

El tiempo de retención hidráulico (TRH), debe ser tan pequeño como sea posible. En estas condiciones, el contacto entre el afluente y la biomasa debe ser muy bueno. Para cumplir con este objetivo deben tenerse en cuenta dos aspectos muy importantes: el sistema de distribución del afluente debe ser diseñado de forma tal que todo el lodo en la parte inferior del reactor se mantenga en íntimo contacto con el afluente y por otra parte que el líquido en el lecho y en la zona de dispersión debe estar debidamente mezclado.

La producción de gas debe ser tal que la distribución del lodo sobre el lecho y en la zona dispersa, sea óptima. La concentración del lodo en la zona dispersa aumenta con el incremento de la

producción de gas y mientras mayor sea la cantidad de lodos en la zona de dispersión, mayor será la capacidad de biodegradación, por lo tanto, la producción de gas será máxima. Con este máximo, la concentración de lodo en la zona de dispersión debe ser tal que garantice una operación adecuada de las funciones del separador. A muy altas concentraciones de lodo en la zona de dispersión, el sistema de recirculación de éste puede bloquearse y sobrecargarse el sedimentador.

Para obtener buenas eficiencias en el reactor, es fundamental la formación de un lodo granulado, lo cual depende, principalmente, de los factores siguientes (Tratamiento mediante reactores anaerobios, 2002):

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

Para el diseño de este tipo de reactor deben tenerse en cuenta los parámetros siguientes (Tratamiento mediante reactores anaerobios, 2002):

- La carga orgánica, que depende principalmente de la temperatura del proceso y del tipo de agua residual.
- La velocidad superficial en el sedimentador, la cual debe ser pequeña para que no se cree turbidez y evitar la salida de sólidos en el efluente.
- La alimentación al reactor, la cual debe ser uniforme.

El volumen necesario del reactor dependerá de varios factores, tales como (Tratamiento mediante reactores anaerobios, 2002):

- La carga máxima diaria de DQO.
- La velocidad superficial.
- La temperatura del agua residual.
- Las características del agua residual (la fracción insoluble, la biodegradabilidad de los contaminantes, la presencia de proteínas, etc.)

La velocidad superficial máxima (v_s) debe ajustarse a 1 – 1,25 m/h (promedio diario). Temporalmente (2 a 4 horas), velocidades superficiales de hasta 2 m/h pueden ser toleradas si el reactor contiene lodo con buenas propiedades de sedimentación. Para lodos floculentos voluminosos las cargas superficiales máximas son, aproximadamente, 0,5 m/h. A escala de laboratorio no se debe sobrepasar una v_s de 1 m/h.

En general, cuando los niveles de DQO son inferiores a 1.000 mg/L, el volumen del reactor viene determinado por el TRH y no por la VCO. El factor determinante del tamaño del reactor es la VCO admisible (en términos de DQO biodegradable). Este parámetro presenta grandes variaciones dependiendo de la temperatura y de la composición y naturaleza de los contaminantes.

Para el tratamiento de aguas residuales diluidas, como las aguas residuales domésticas, se recomiendan alturas del reactor de 3 a 5 m, mientras que para aguas cuya DQO supera los 3.000 mg/L puede aceptarse una altura de 5 – 7 m. No se recomienda construir reactores de este tipo más altos de 7 m. Este factor es determinado por la velocidad superficial máxima vista anteriormente.

Debe conseguirse un contacto óptimo entre el lodo y el agua residual, evitando la canalización del agua residual a través del lecho de lodo y la formación de zonas muertas en el reactor, por lo que el sistema de distribución del afluente al reactor depende de esto, además de ser capaz de limpiarse fácilmente, ya que las tuberías tienden a taparse prontamente.

La recirculación del efluente trae las mismas ventajas comunes a otros reactores anaerobios (dilución del agua residual de entrada, disminución de toxicidad eventual en el afluente, mejora del contacto microorganismo-sustrato, aprovechamiento de la alcalinidad producida en el reactor, mayor estabilidad del proceso, etc.). Adicional a estas ventajas, se favorece la granulación y adaptación del lodo durante el arranque.

Por otra parte, se debe calcular la carga de arranque. Mientras más inóculo se utilice, mayor será la carga de arranque. En los reactores con lodo no granular se debe asegurar una concentración mínima de 10 a 20 g SSV/L en la zona de lodos. Como regla general, se puede iniciar la alimentación del volumen de agua necesario para suministrar la carga orgánica deseada, con una velocidad ascendente no mayor a un 25% de la de diseño. Si la alimentación se hace durante una fracción del día, el instalar una recirculación con objeto de someter la cama de lodos al efecto hidráulico acelerará la formación del grano. En aguas residuales industriales con DQOs elevadas, el parámetro a controlar durante el arranque será la VCO, mientras que en aguas diluidas, es la carga hidráulica.

La evolución del período de puesta en marcha puede seguirse mediante la medición de varios parámetros, tales como el pH, SST, SSV y la DQO en el afluente y efluente. Un criterio simple y valioso para definir en qué momento debe incrementarse la VCO durante esta etapa es el de alcanzar remociones mínimas de 70% de DQO.

2.5.2 Zeolita Natural

Las zeolitas, cuya palabra de origen griego significa “piedra que hierve” pertenecen a una familia de minerales llamado alúminosilicatos hidratados, con estructuras tridimensionales formadas por tetraedros de AlO_4 y SiO_4 . Éstos se unen entre ellos compartiendo todos los átomos de oxígeno lo que forma huecos y canales que permiten la movilidad de moléculas de agua y cationes alcalinos y/o alcalinos térreos. Son estos cationes los que le otorgan a la zeolita su principal propiedad: la de facilitar el intercambio iónico (Englert y Rubio, 2005).

Presentan como característica relevante una estructura microporosa, que le otorga una superficie interna extremadamente grande en relación a su superficie externa y le confiere propiedades adsorbentes, donde las moléculas, átomos o iones, son atrapados o retenidos en la superficie de un sólido formando una película líquida o sólida en la superficie. Otra propiedad que posee es una gran capacidad de intercambio iónico, catiónico principalmente (Curi *et al.*, 2006), ya que se produce debido a la sustitución de los átomos de silicio de su estructura cristalina por otros átomos. La última gran propiedad que posee es ser un muy buen soporte para la actividad microbiana, ya que ayuda a incrementar la eficiencia de remoción de materia orgánica y compuestos nitrogenados, pues mientras mayor sea la superficie específica de contacto que posea la zeolita debido a sus cavidades, mayor será la cantidad de microorganismos que podrá adherirse a ella (Basaul, 2013).

2.5.3 Inóculo

Para la eliminación de compuestos azufrados, nitrogenados y orgánicos presentes en los riles contaminados, se utilizan inóculos provenientes de lodos principalmente encontrados en el suelo, barro, agua dulce y sedimentos marinos, también en aguas residuales domésticas, así como en las lagunas de tratamiento de residuos industriales y tanques de digestión, especialmente bajo condiciones anóxicas, que son enriquecidos para aumentar la cantidad de microorganismos, los cuales son bacterias del tipo gram negativas, quimiolitioautótrofas obligadas y pertenecientes a la beta subclase de las proteobacterias. Poseen la particularidad de reducir el nitrato y/o el nitrito utilizando compuestos azufrados como el tiosulfato, sin consumir carbono orgánico, por lo que son especiales para la desnitrificación.

Dentro de las bacterias presentes, las más encontradas luego del enriquecimiento en estos procesos son del tipo *Thiobacillus denitrificans*, seguidos de *Thiomicrospira denitrificans* y *Castellaniella denitrificans*, las cuales tienen las características antes mencionadas.

Poseen una relación con el oxígeno de anaerobia facultativa, en una amplia variedad de ambientes (Moon *et al.*, 2004), las cuales utilizan la oxidación de compuestos de azufre inorgánico reducido (S_2 , S^0 , $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_2^{6-}$, SO_2^{3-}) (Manconi *et al.*, 2007) para la respiración por reducción de oxígeno o bien, bajo condiciones anaeróbicas de nitrato a nitrógeno gaseoso (Justin y Kelly, 1978). Para el crecimiento óptimo microbiano se debe tener ciertas condiciones, especialmente una temperatura adecuada, de entre 28 y 32°C y un pH neutro entre 6 y 8,5.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

En la Figura 10 se resume esquemáticamente la metodología llevada a cabo en esta investigación.

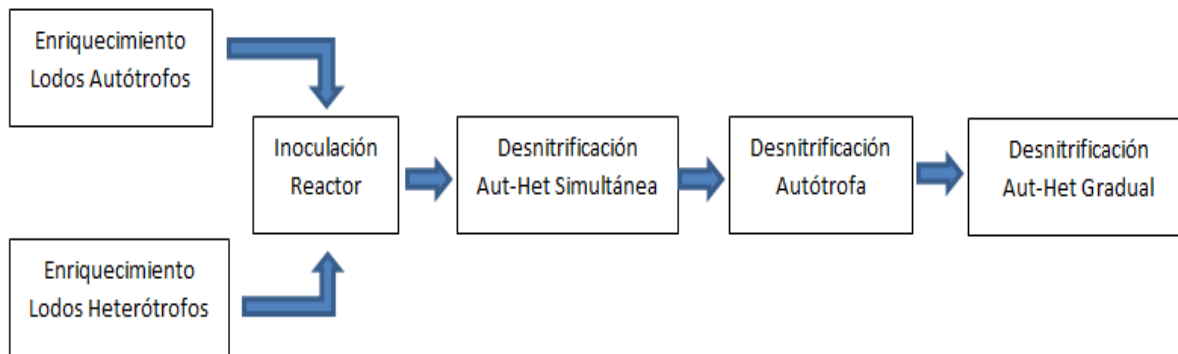


Figura 10: Esquema de metodología de trabajo en la investigación

Para comenzar se inocula el reactor UAF con lodos autótrofos y heterótrofos, previo enriquecimiento de los mismos para aumentar la concentración de microorganismos desnitrificantes. Una vez estabilizado el sistema, se introduce el RIL sintético para realizar el proceso de desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea. Posteriormente, se opta por realizar proceso de sólo desnitrificación autótrofa, con motivo de recuperar el óptimo funcionamiento del reactor. Una vez hecho esto, se opera con desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea nuevamente, esta vez con adición gradual de acetato, es decir, con VCO crecientes, hasta encontrar los puntos óptimos de operación.

3.1 Equipo para la operación

Para llevar a cabo la experiencia se utilizó un reactor, el cual fue diseñado y operado en un trabajo anterior (Muñoz, 2015) para desarrollar el proceso de DA vía nitrato. El equipo utilizado es un UAF con recirculación. Se trata de un reactor cilíndrico de 1,5 L, con volumen efectivo de 0,8 L. Como medio de soporte se agregó zeolita natural chilena chancada de granulometría promedio de 5 mm, la cual se encuentra en el lecho empacado al centro del reactor. Para asegurar la condición anaerobia del reactor, éste fue sellado herméticamente con silicona, además de permanecer siempre aislado a 32°C para asegurar la actividad de las bacterias.

El equipo tiene las medidas presentadas en la Figura 11, además de poseer en total 5 aberturas: 2 en la parte inferior para la entrada del afluente (corriente de alimentación) y para la recirculación,

y 3 en la parte superior, una centrada para la salida del gas que se controla con una válvula anti-retorno y dos para la salida del efluente y la corriente de recirculación. Se presenta además una fotográfica del reactor real utilizado.

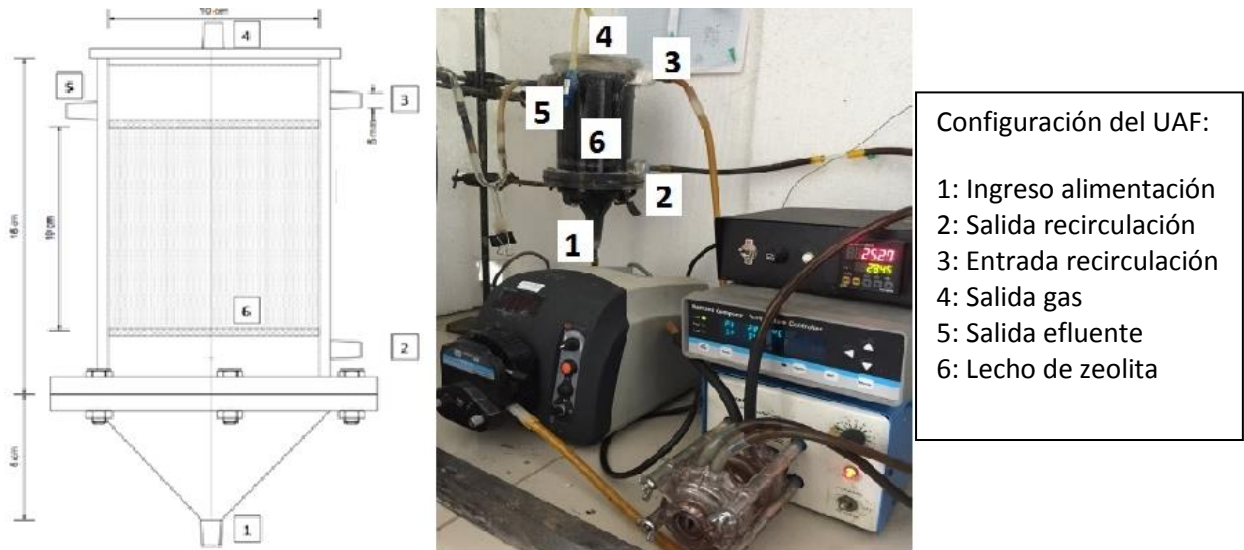


Figura 11: Dimensiones y configuración del sistema utilizado en la experiencia.

3.2 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea

Para realizar este proceso, es necesario en primer lugar inocular el reactor UAF con un lodo enriquecido con microorganismos desnitrificantes y luego de esto, comenzar la eliminación de contaminantes del RIL sintético.

3.2.1 Enriquecimiento de lodos

La primera etapa consistió en el enriquecimiento de los lodos autótrofos y heterótrofos, que serán utilizados como inóculos para la eliminación de nitrito, tiosulfato y acetato del afluente sintético en el desarrollo del proceso de DAH en el reactor.

El reactor UAF se inoculó en primer lugar con un lodo autótrofo disponible en el laboratorio, procedente de la empresa Agrícola AASA, el cual fue caracterizado y enriquecido por 10 días con agua residual sintética con composición detallada en la Tabla 10 (técnica analítica para determinación de SSV en Anexo B), mientras que en la Tabla 11 se indica la composición de los micronutrientes que son ingresados en el agua residual sintética en el filtro anaerobio.

Paralelo a lo anterior, se realizó en otro reactor, del tipo continuo de tanque agitado (CSTR, por sus siglas en inglés), el enriquecimiento por un periodo de 10 días del lodo heterótrofo, el cual proviene de la empresa Chiletabacos y es caracterizado en la Tabla 12, para así realizar la puesta en marcha del proceso donde se adiciona la biomasa heterótrofa en el reactor UAF que ya poseía microorganismos desnitrificantes autótrofos, en proporción según sus concentraciones y cinética de crecimiento para la DAH.

Tabla 10: Composición agua residual sintética para enriquecimiento de lodo autótrofo.

Alimentación Autótrofa	
Compuesto	[g/L]
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,6
NaNO_2	0,97
NaHCO_3	0,1
NH_4Cl	0,1
KH_2PO_4	0,3
K_2HPO_4	1,84
Micronutrientes [mL/L]	1

Fuente: Fajardo, 2011

Tabla 11: Composición micronutrientes presentes en el agua residual sintética.

Solución Micronutrientes	
Compuesto	[g/L]
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,73
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	30
$\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1
CaCO_3	2
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,5
$\text{CuCO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25
H_3BO_3	0,5
HCl (32%)	50

Fuente: Fajardo, 2011

Tabla 12: Composición agua residual sintética para enriquecimiento de lodo heterótrofo.

Alimentación Heterótrofa	
Compuesto	[g/L]
CH ₃ COOK	1,38
NaNO ₂	0,97
NH ₄ Cl	0,1
KH ₂ PO ₄	0,3
K ₂ HPO ₄	1,84
Micronutrientes [mL/L]	1

Fuente: Adaptado de Aguirre, 2014

El detalle de los micronutrientes utilizados en la alimentación heterótrofa es el mismo que en el enriquecimiento autótrofo y se encuentra en la Tabla 11.

Se estudió la cinética de proliferación del inóculo autótrofo antes mencionado en comparación con el heterótrofo, donde según Aguirre (2014), el crecimiento de bacterias heterótrofas es aproximadamente 4 veces mayor que las autótrofas. Sin embargo, se estudiará una nueva relación para este proceso con el fin de mejorar las remociones alcanzadas por dicho autor.

3.2.2 Puesta en marcha desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea

Se inoculó el reactor UAF con 150 mL de microorganismos autótrofos y con 50 mL de lodo enriquecido heterótrofo extraído desde el CSTR, para comenzar así la desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea.

La velocidad de carga nitrogenada es un parámetro muy importante para saber cuánto nitrógeno contaminante entra al reactor en forma de NO₂⁻. Se calcula según la Ecuación [21] y se mide en kg N-NO₂⁻/(m³·d)

$$VCN = \frac{[NO_2^-] \cdot Q \cdot \left(\frac{PA N}{PM NO_2^-} \right)}{V_{reactor}} \quad [21]$$

Donde [NO₂⁻] es la concentración de nitrito en kg/m³; Q es el caudal alimentado al reactor en m³/d; PA N es el peso atómico del nitrógeno en g/mol; PM NO₂⁻ es el peso molecular del nitrito en g/mol; V_{reactor} es el volumen del UAF en m³.

La velocidad de carga azufrada indica la cantidad de azufre en forma de tiosulfato que entra como afluente al reactor, el cual es calculado según la Ecuación [22] y sus unidades son $\text{kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$:

$$VCS = \frac{[S_2O_3^{-2}] \cdot Q \cdot \left(\frac{2 \cdot PA S}{PM S_2O_3^{-2}} \right)}{V_{reactor}} \quad [22]$$

Donde $[S_2O_3^{-2}]$ es la concentración de tiosulfato en kg/m^3 ; PA S es el peso atómico del azufre en g/mol ; $PM S_2O_3^{-2}$ es el peso molecular del tiosulfato en g/mol .

Además de los parámetros antes descritos, se calcula la velocidad de carga orgánica que ingresa al reactor, en forma de acetato esta vez por la alimentación introducida en él. Se mide a través de la DQO, que es una aproximación muy buena del carbono que posee el agua residual sintética. Es calculada a través de la Ecuación [23] y sus unidades son $\text{kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$:

$$VCO = \frac{DQO_{afluente} \cdot Q}{V_{reactor}} \quad [23]$$

Donde $DQO_{afluente}$ es la concentración de DQO en la alimentación en $\text{kg DQO}/\text{m}^3$.

El Tiempo de Retención Hidráulico en el reactor, que indica el tiempo de permanencia del agua residual sintética en el sistema, se calcula a partir de la Ecuación [24] y tiene unidades de tiempo:

$$TRH = \frac{V_{reactor}}{Q} \quad [24]$$

Se detalla el valor de cada uno de los parámetros antes mencionados para esta etapa de la investigación en la Tabla 13, además de otras condiciones importantes para este tipo de procesos.

Tabla 13: Parámetros de carga en el reactor Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente para desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea.

Parámetro	Valor	Unidades
Velocidad carga nitrogenada	1,01	$\text{kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$
Velocidad carga azufrada	2,02	$\text{kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$
Velocidad carga orgánica	4,56	$\text{kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$
Tiempo de retención hidráulico	5	h
Relación C/N	4,5	$\text{kg DQO}/\text{kg N}$
Relación S/N	2,0	$\text{kg S}/\text{kg N}$

El agua residual sintética a tratar se detalla en la Tabla 14 a continuación.

Tabla 14: Composición agua residual sintética para desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea

Alimentación Híbrida	
Compuesto	[g/L]
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,6
NaNO_2	0,97
CH_3COOK	1,38
NaHCO_3	3
NH_4Cl	0,08
K_2HPO_4	0,1
Micronutrientes [mL/L]	5

Fuente: Adaptado de Aguirre, 2014

El detalle de los micronutrientes es el mismo que en el enriquecimiento autótrofo y heterótrofo se encuentra en la Tabla 11.

En la operación del reactor UAF para la desnitrificación simultánea, el primer día se produce la adaptación en la coexistencia de los microorganismos, para así el segundo día introducir el agua residual sintética para comenzar el proceso, aunque aún sin realizar mediciones.

El tercer día comienza a realizarse las mediciones de pH, DQO, nitrito y tiosulfato, para así ver las remociones de cada uno de los componentes orgánico, nitrogenado y azufrado, además del pH que controla la actividad de las bacterias. Los métodos analíticos utilizados en esta y las posteriores secciones, son presentados en la Tabla 15.

Tabla 15: Parámetros de control, métodos analíticos y periodicidad de las mediciones en el reactor de Lecho Fijo con Flujo Ascendente ocupado en la experiencia

Parámetro de control	Método analítico	Periodicidad de mediciones	Referencia
Nitrito (NO_2^-)	Espectrofotometría UV	4-5 veces a la semana	Standard Methods APHA, 2012
Tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)	Yodometría	4-5 veces a la semana	Harris, 2007
DQO	Digestión por $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	4-5 veces a la semana	Standard Methods APHA, 2012
pH	Potenciometría	4-5 veces a la semana	Standard Methods APHA, 2012

Los análisis se realizan al afluente y efluente para lograr la determinación de la eficiencia de remoción de los compuestos de nitrógeno, azufre y materia orgánica durante toda la experiencia, además del control del pH.

En los Anexos del A, C, D y E se encuentran los procedimientos realizados en el laboratorio para obtener las mediciones antes descritas.

En este proceso se efectúan sólo 6 mediciones, pues surgen problemas con las remociones y el pH se eleva hasta inhibir la actividad de las bacterias, por lo que se paraliza la actividad y se busca una nueva alternativa, que será mencionada en el apartado siguiente.

3.3 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento de VCO

Debido a que el trabajo de la puesta en marcha no pudo seguir pues las condiciones no son aptas para ello además de las remociones muy por debajo de lo esperado, se opta por cambiar la metodología de trabajo. Para esto, se retira el inóculo mixto presente en el reactor UAF, ya que se comenzará por enriquecer nuevas bacterias, para luego realizar desnitrificación autótrofa para así recuperar el reactor y su funcionamiento y una vez que este proceso funcione óptimamente se realizará DAH con aumento de la VCO.

3.3.1 Enriquecimiento lodo autótrofo y heterótrofo

Se ingresó al reactor UAF nuevamente lodo autótrofo procedente de la empresa Agrícola AASA, el cual fue caracterizado y enriquecido por 7 días con agua residual sintética con composición detallada en la Tabla 10, apartado 3.2.1, mientras que en la Tabla 11 del mismo apartado, se indica la composición de los micronutrientes del agua residual sintética en el filtro anaerobio.

Paralelo a lo anterior, al igual que en el proceso de puesta en marcha, se realizó en el reactor CSTR el enriquecimiento del lodo heterótrofo por el mismo periodo de tiempo, el cual proviene de la empresa Chiletabacos y es caracterizado en la Tabla 12, apartado 3.2.1, para continuar con el proceso de desnitrificación.

3.3.2 Desnitrificación autótrofa

Se inocula el reactor UAF con 160 mL de bacterias autótrofas de AASA, que son medidas en su concentración de SSV, mezcladas con los microorganismos desnitrificantes heterótrofos, pero esta vez sólo 40 mL, debido a que la desnitrificación se realizará en primer lugar con agua residual sintética sólo con compuestos contaminantes nitrogenados y azufrados (es decir, desnitrificación

autótrofa) para luego, cuando se alcance remociones adecuadas y estables medidas con los mismos métodos analíticos expresados en el apartado 3.2.2, Tabla 15, introducir gradualmente el agua residual sintética con materia orgánica, es decir, subiendo el valor de la VCO, para dar paso a la DAH con aumento de VCO.

La composición del agua residual sintética a tratar y el detalle de los micronutrientes se encuentran en el apartado 3.2.1, Tablas 10 y 11.

En la Tabla 16 se detalla el valor de cada uno de los parámetros para esta etapa de la investigación, además de las condiciones importantes para este tipo de procesos.

Tabla 16: Parámetros de carga en el reactor de Lecho Fijo con Flujo Ascendente para el proceso de desnitrificación autótrofa.

Parámetro	Valor	Unidades
Velocidad carga nitrogenada	1,03	kg N-NO ₂ ⁻ /(m ³ ·d)
Velocidad carga azufrada	2,00	kg S-S ₂ O ₃ ⁻² /(m ³ ·d)
Tiempo de retención hidráulico	5	h
Relación S/N	1,94	kg S/kg N

3.3.3 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento gradual de la VCO

Para esta parte de la investigación, se ocupó un inóculo mixto con 160 mL de lodo autótrofo de concentración 8.066,7 [mg/L] de SSV, junto a 40 mL de lodo heterótrofo de concentración 19.516,7 [mg/L] de SSV.

Durante 20 días se realizó la desnitrificación del agua residual introducida al reactor, tomando de ésta 15 mediciones a través de los métodos analíticos mencionados en el apartado 3.2.2, Tabla 15, donde se detalla en las Tablas 17 y 18 la introducción en el reactor del RIL orgánico y los parámetros para esta etapa de la investigación.

Las remociones alcanzadas durante los días de trabajo permitieron determinar la correcta operación del reactor en el proceso de desnitrificación, por lo que se detuvo en la VCO que mostraba deficiencias operativas, pero no sin antes realizar mediciones para asegurar la no remoción de compuestos orgánicos en concentraciones más altas de acetato.

Tabla 17: Componentes agua residual para desnitrificación autótrofa-heterótrofa en forma gradual con velocidad de carga orgánica creciente.

Alimentación Híbrida	
Compuesto	[g/L]
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	1,6
NaNO ₂	0,97
CH ₃ COOK (VCO creciente)	0,138 a 1,035
NaHCO ₃	3
NH ₄ Cl	0,08
K ₂ HPO ₄	0,1
Micronutrientes [mL/L]	5

Tabla 18: Parámetros en desnitrificación autótrofa-heterótrofa en reactor de Lecho Fijo con Flujo Ascendente, con adición de acetato en forma gradual a velocidad de carga orgánica creciente.

Día	CH ₃ COOK	VCN	VCS	VCO	Relación C/N	Relación S/N
1	0,138	1,00	2,03	0,46	0,458	2,043
2	0,138	0,98	1,94	0,46	0,466	1,980
3	0,138	0,98	1,97	0,46	0,472	2,010
4	0,276	0,98	2,07	0,93	0,942	2,104
5	0,276	0,99	1,90	0,94	0,945	1,918
6	0,414	0,97	1,99	1,38	1,420	2,045
7	0,414	0,97	2,10	1,40	1,437	2,151
8	0,621	0,97	2,03	2,14	2,201	2,095
9	0,621	0,97	2,02	2,04	2,100	2,077
10	0,828	0,97	2,03	2,75	2,826	2,093
11	0,828	1,00	2,02	2,82	2,822	2,021
12	0,966	0,98	2,11	3,22	3,288	2,151
13	0,966	0,99	2,00	3,26	3,283	2,013
14	1,035	0,98	2,05	3,48	3,557	2,091
15	1,035	0,99	2,06	3,50	3,542	2,084

Nomenclatura: CH₃COOK: acetato, componente orgánico, medido en g/L; VCN: velocidad de carga nitrogenada, medida en kg N-NO₂⁻/(m³·d); VCS: velocidad de carga azufrada, medida en kg S-S₂O₃⁻²/(m³·d); VCO: velocidad de carga orgánica, medida en kg DQO/(m³·d); Relación C/N medida en kg DQO/kg N; Relación S/N medida en kg S/kg N.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea

4.1.1 Etapa de enriquecimiento e inoculación de reactor UAF

En esta, la etapa previa de la investigación, se enriqueció por 10 días un lodo autótrofo en el reactor UAF y otro heterótrofo en el CSTR simultáneamente, para inocular el primero para la desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea, con el fin de tener las bacterias desnitrificantes listas y en óptimas condiciones para el proceso, que deben estar presentes en un volumen de 200 mL dentro del reactor.

Se trabajó utilizando las condiciones establecidas en el apartado 3.2.1 de esta investigación.

Posteriormente, se midió la concentración de los inóculos, expresados en mg/L de SSV, estableciéndose los siguientes resultados para los microorganismos para la desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea, expresados en las Tablas 19 y 20.

Tabla 19: Crecimiento bacterias de lodos para desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea.

Tasa Crecimiento		
	Inicial [mg/L]	10 días [mg/L]
Bacterias Autótrofas	5222,2	8833,3
Bacterias Heterótrofas	5383,3	28566,7

A partir de estas concentraciones, es posible establecer el volumen de inóculo a ingresar en el reactor UAF, además de la masa de bacterias, lo cual se presenta en la Tabla 20:

Tabla 20: Bacterias inoculadas en el Reactor UAF para desnitrificación autótrofa-heterótrofa

Inoculación Reactor			
	[mL] ingresados al reactor	masa bacterias [mg]	Razón A/H
Bacterias Autótrofas	150,00	1325,00	0,93
Bacterias Heterótrofas	50,00	1428,33	

Según lo establecido en las mediciones de esta investigación, se vio una razón de crecimiento en la concentración de 3,14 veces H:A, por lo que se optó por utilizar esta relación para inocular el

reactor híbrido, aproximando a 150 mL de lodo autótrofo y 50 mL de lodo heterótrofo, para así completar los 200 mL disponibles para los microorganismos.

Se midió también en esta etapa de enriquecimiento, el pH para principalmente controlar la actividad de las bacterias, teniendo como resultados que siempre estuvo dentro del rango óptimo, pues varió entre 6,9 y 7,4 en el lodo autótrofo y 7,1 hasta 7,5 en los microorganismos heterótrofos.

4.1.2 Puesta en marcha desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea

Este proceso se llevó a cabo bajo las condiciones expresadas en la Tabla 13 apartado 3.3, por un periodo de 13 días (desde el día 0 con la alimentación hasta la última medición día 12) y no tuvo los resultados esperados, ya que las remociones de materia orgánica y tiosulfato fueron en promedio en torno al 50%, bajando hasta 32,9 y 32,0%, respectivamente, el pH se elevó a un valor que inhibió la actividad de las bacterias y el proceso no pudo seguir su curso.

Se presenta en los gráficos a continuación la variación del pH y de remoción de contaminantes en los días donde se realizó mediciones.

En primer lugar, en la Figura 12 se aprecia la variación del de pH.

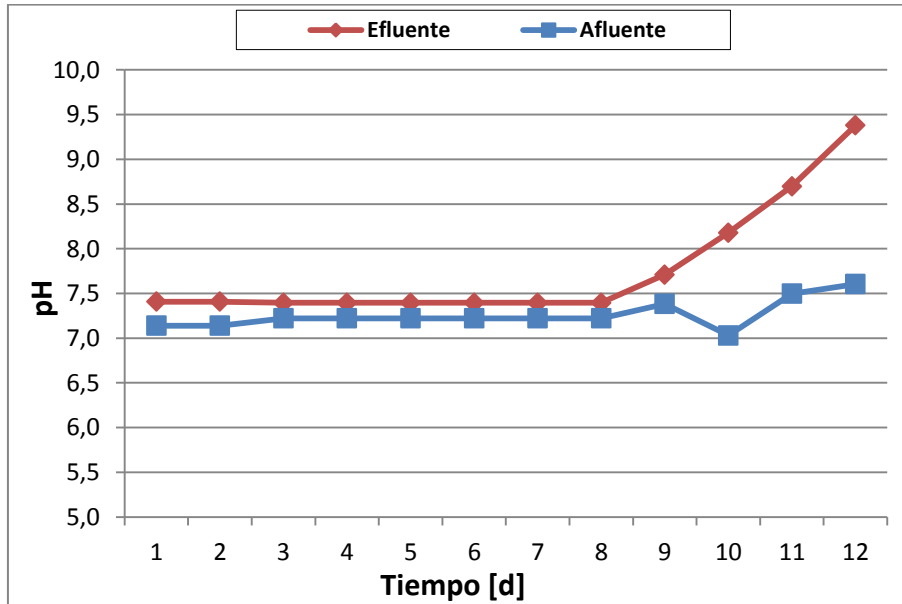


Figura 12: Variación de pH en Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa Simultánea

En los primeros 9 días de operación, el pH se mantuvo en el rango de actividad de las bacterias (mayor a 6 y menor a 8), pero a partir del día 10 se elevó sobre este valor hasta llegar a 9,4 en el

efluente del proceso en el día 12, por lo que se paraliza el trabajo, pues a este valor de pH la actividad de los microorganismos desnitrificantes es inhibida fuertemente (Mahmood *et al.*, 2008).

A partir de lo anterior, se prevé una disminución considerable en la remoción de compuestos en la Figura 13, donde se presenta la remoción de todos los componentes contaminantes del proceso: nitrito, tiosulfato y materia orgánica.

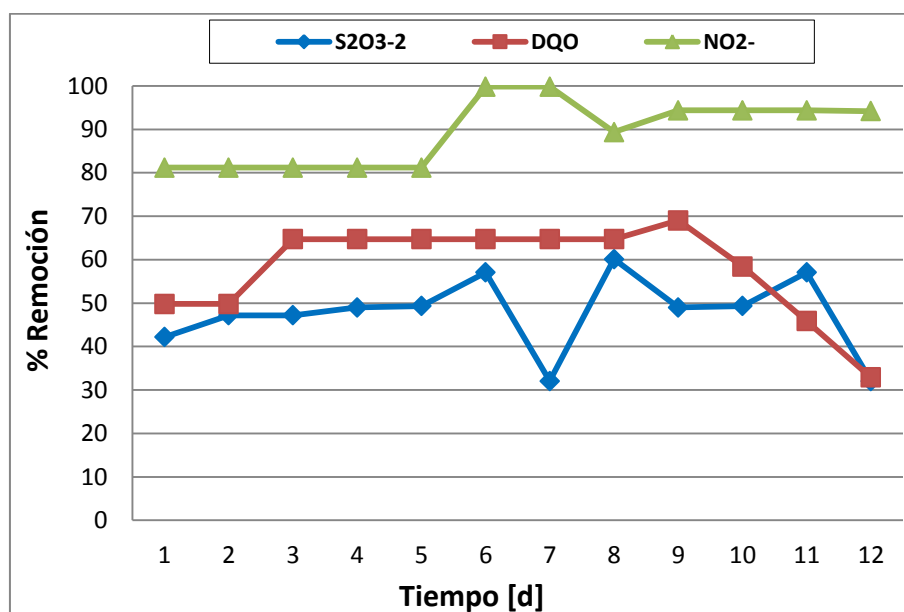


Figura 13: Remoción de nitrógeno como nitrito, azufre como tiosulfato y materia orgánica como DQO, Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa Simultánea.

A partir del gráfico de la Figura 13, se aprecia una remoción promedio de 94% de nitrito, llegando a un máximo de 99,8%, el cual está cerca del óptimo esperado y conseguido por autores como Muñoz (2015), Garrido (2014), Guerrero *et al.* (2015), superior al 99%, pero, por otra parte, las remociones de tiosulfato y acetato tienen una tendencia clara a la baja, llegando ambas a apenas sobre el 32%, por lo que se puede afirmar la fuerte inhibición de la actividad de las bacterias. Lo anterior es reforzado por el alza del pH en esta etapa del proceso visto en la Figura 12. Esto pudo ser causado por una mala estrategia de operación, pues la VCO inicial fue elevada respecto a otros autores (VCO promedio de 4,56 kg O₂/(m³·d) comparada a 1 kg O₂/(m³·d) en su primera etapa y 3 kg O₂/(m³·d) en su segunda etapa de Guerrero, *et al.* (2015)). Por otra parte, pudo deberse al poco tiempo de enriquecimiento de lodos que existió, pues éste fue de 10 días, el cual es sustancialmente menor a otras referencias como Garrido (2014), Muñoz (2015) y Fajardo (2011), todas en torno a los 90 días.

Otra causa de las bajas remociones pudo ser la muy baja relación entre microorganismos autótrofos y heterótrofos inoculados en el reactor UAF, pues esta razón fue de 0,93, muy lejana a la relación A/H igual a 4 utilizada por Aguirre (2015).

Debido al mal resultado anterior, se finaliza esta primera parte de la operación de DAH, para seguir a continuación con la recuperación del reactor.

4.2 Desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento de VCO

Corresponde a una segunda etapa de esta investigación, donde la primera finalidad es recuperar el inóculo y el funcionamiento correcto del reactor para proseguir con el trabajo de DAH.

4.2.1 Enriquecimiento lodo autótrofo y heterótrofo

Desde el día 1 hasta el día 7 de esta segunda etapa, se produce el enriquecimiento de lodo autótrofo y de lodo heterótrofo que será usado posteriormente, una vez recuperada la correcta operación del proceso. Se obtuvieron los resultados expresados en la Tabla 21.

Tabla 21: Crecimiento bacterias de lodos para desnitrificación autótrofa-heterótrofa con aumento de VCO.

Tasa Crecimiento		
	Inicial [mg/L]	7 días [mg/L]
Bacterias Autótrofas	5200,0	8066,7
Bacterias Heterótrofas	5366,7	19516,7

A partir de estas concentraciones, es posible establecer el volumen de inóculo a ingresar en el reactor UAF, además de la masa de bacterias, lo cual se presenta en la Tabla 22.

Tabla 22: Bacterias inoculadas en el Reactor UAF para desnitrificación autótrofa y desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con aumento de VCO.

Inoculación Reactor			
	[mL] ingresados al reactor	masa bacterias [mg]	Razón A/H
Bacterias Autótrofas	160,00	1290,67	1,65
Bacterias Heterótrofas	40,00	780,67	

4.2.2 Desnitrificación autótrofa

Posterior al enriquecimiento y caracterización de inóculos, se inocula el reactor UAF con las bacterias desnitrificantes autótrofas, para así comenzar la operación de la DA con sus respectivas mediciones. En primer lugar, se muestra el resultado del potencial de hidrógeno en la Figura 14, cuya finalidad es ser el indicador de la concentración de protones en el medio acuoso, ya que cualquier variación del nivel óptimo de pH repercute en la disminución de la actividad de los microorganismos presentes, incluso hasta que ésta desaparezca.

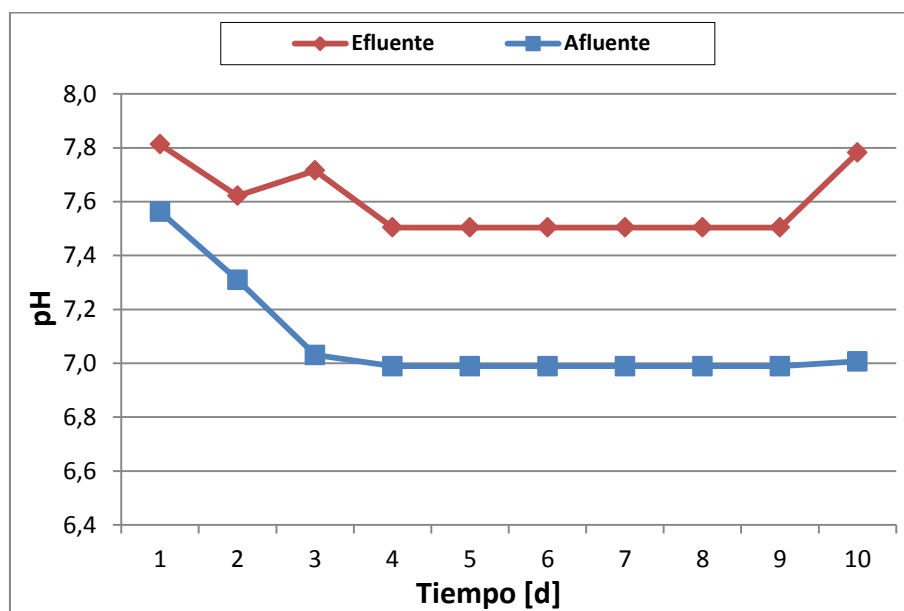


Figura 14: Variación del pH Etapa Desnitrificación Autótrofa

A partir del gráfico anterior, es posible ver el valor pH dentro del rango óptimo en esta etapa del proceso, por lo que los microorganismos desnitrificantes se encuentran en plena actividad.

Siguiendo a lo ya mencionado, al ser un proceso autótrofo, existen 2 parámetros a medir para ver la eficiencia de remociones, los cuales son nitrito y tiosulfato.

Se presentan los resultados de la eficiencia de remoción de nitrito en la Figura 15 y de remoción de tiosulfato en la Figura 16.

Se aprecia a partir de estos gráficos las óptimas remociones de los dos contaminantes en el RIL sintético, muy cercanas al 100%, donde con 7 días, a pesar de ser un corto tiempo de enriquecimiento de los microorganismos comparado con los autores mencionados en el apartado 4.1.2, se llegó a estos valores. Esto se debe a que la DA es un proceso altamente estudiado y

principalmente a que la VCN es baja (siempre en torno a $1 \text{ kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3\cdot\text{d})$) lo cual es necesario para que la desnitrificación vía nitrito sea exitosa (Ciudad, *et al.*, 2003).

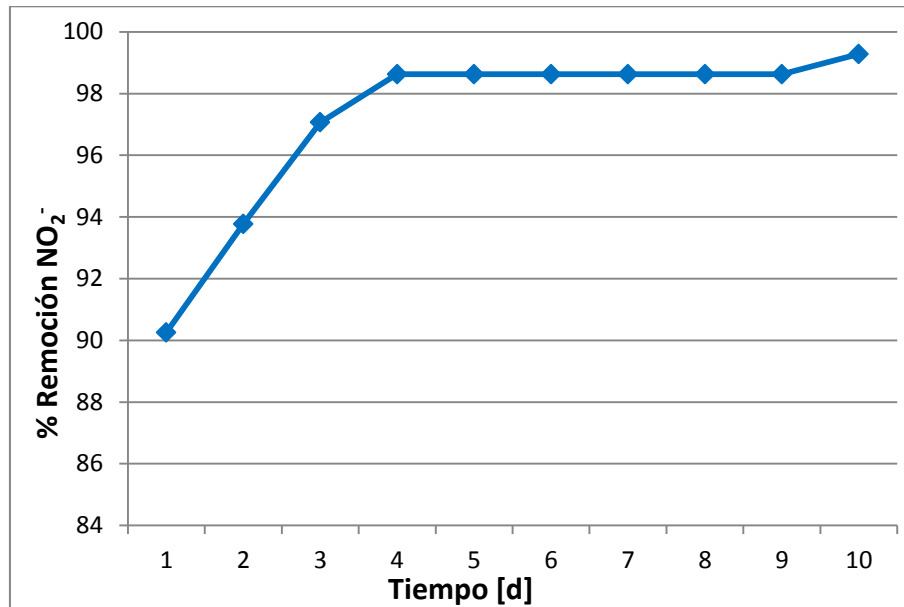


Figura 15: Remoción de Nitrito en Etapa Desnitrificación Autótrofa

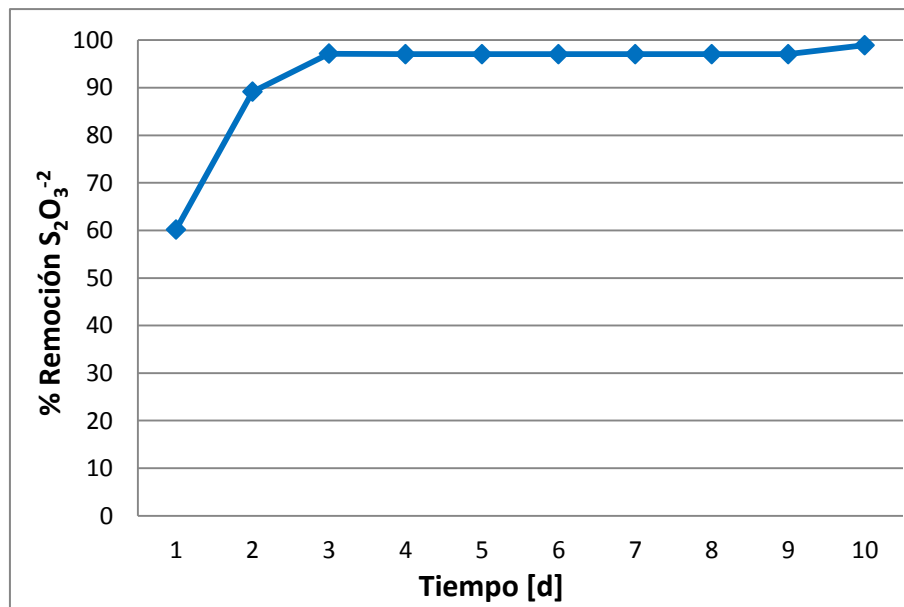


Figura 16: Remoción de Tiosulfato en Etapa Desnitrificación Autótrofa

Por lo anterior, se decide volver a hacer DAH, esta vez con VCO creciente, proceso que fue descrito en el apartado 3.3.3 y los resultados se verán en lo que sigue.

4.2.3 Desnitrificación Autótrofa-Heterótrofa simultánea con VCO creciente

En esta parte de la investigación, se siguen los parámetros mencionados en el apartado 3.3.3 y se obtuvieron los siguientes resultados.

Potencial de Hidrógeno, pH

Se midió el pH en esta etapa de la investigación, pues es el parámetro clave para ver la actividad o inhibición de las bacterias desnitrificantes que remueven los compuestos contaminantes. Los resultados son expresados a través del gráfico de la Figura 17.

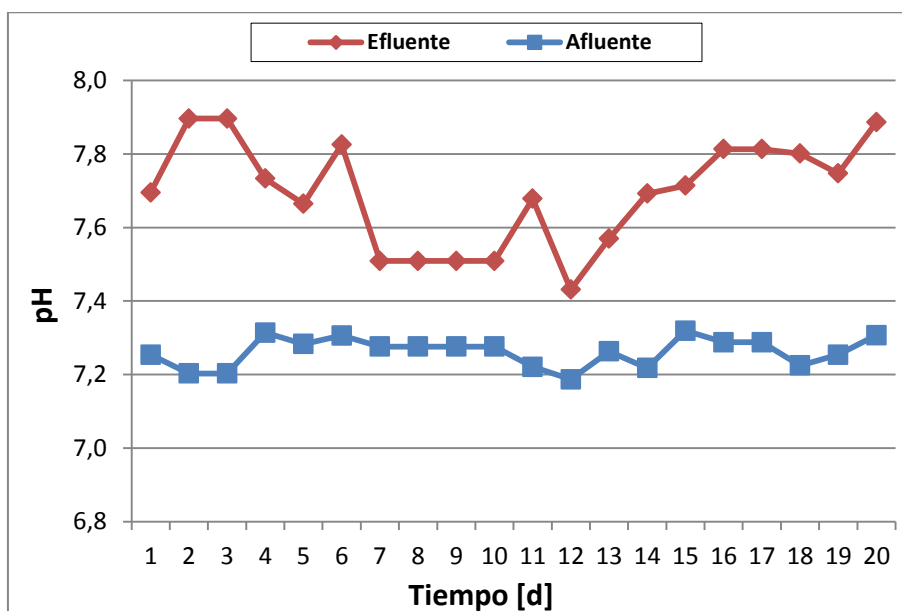


Figura 17: Variación del pH desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

A partir del gráfico anterior, al igual que para la DA, se observa el valor de pH dentro del rango óptimo en esta etapa del proceso, pues su valor se mueve entre 7,1 en la entrada y 7,9 en la salida del reactor, por lo que los microorganismos se encuentran en plena actividad desnitrificante, lo cual es concordante con otros autores como Oh *et al.* (2000) o Fajardo (2011).

Siguiendo a lo ya mencionado, al ser un proceso autótrofo-heterótrofo en forma simultánea, existen 3 parámetros a medir: concentración y eficiencia de remoción de nitrito, tiosulfato y DQO, todos de acuerdo a la VCO en el momento en que se realizó la medición.

Nitrato

Se presenta en la Figura 18 el gráfico comparativo de la concentración de entrada y salida de nitrato en el reactor, el cual fue ingresado por medio del agua residual sintética descrita en el apartado 3.3.3, mientras que en la Figura 19, el porcentaje de remoción de nitrato en cada día de operación.

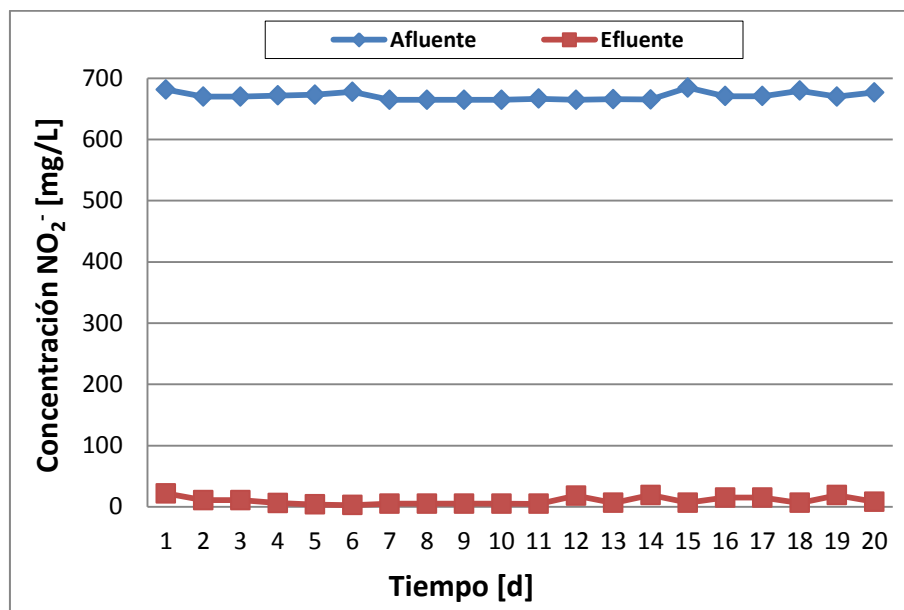


Figura 18: Concentración de nitrato en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

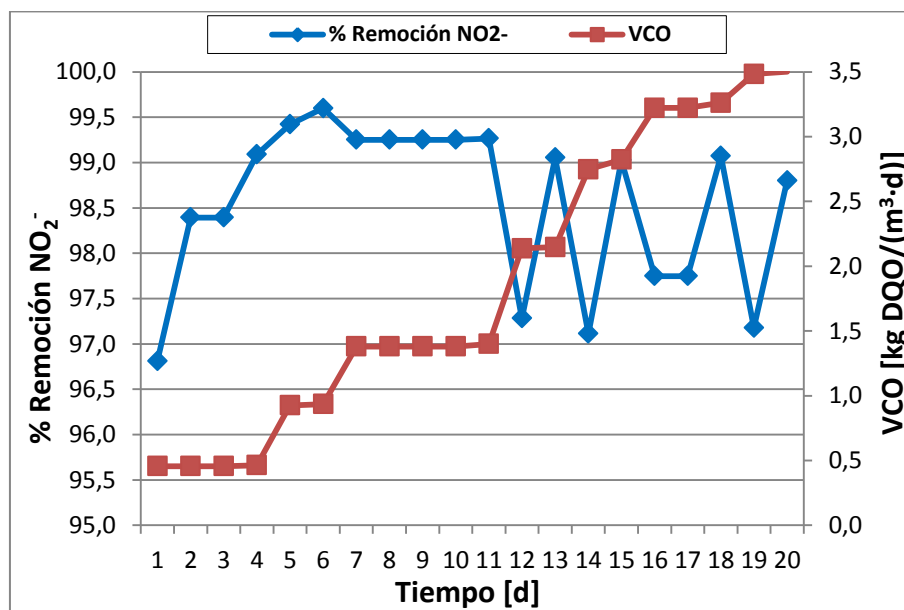


Figura 19: Remoción de nitrato en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

A partir de la Figura 18 se desglosa la alta disminución en la concentración de este compuesto, ya que desde en promedio en torno a 670 mg/L baja hasta un valor de 2,72 mg/L en el día 6, situación que era de esperarse pues los microorganismos utilizados son especialistas en la remoción de nitrito por sobre los demás contaminantes, ya que el tiosulfato y el acetato son utilizados como fuente para la remoción del NO_2^- . El descenso en la concentración de nitrito es similar al de otros autores como Guerrero *et al.* (2015) o Peirano (2016), situación que para ser mejor representada, es analizada en el gráfico de la Figura 19, el cual muestra una remoción porcentual de nitrito a lo largo de todo el proceso mayor a 96,80%, lo cual concuerda con investigaciones de DA de Muñoz (2015) y Garrido (2014), que llega a un máximo de 99,60% en el día 6 de medición a una VCN de 0,991 kg $\text{N-NO}_2^-/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ y VCO de 1,40 kg $\text{DQO}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, lo cual es óptimo pues llegar a estos porcentajes de remoción en un proceso de DAH es aún más complicado y es logrado en este caso. Siguiendo a lo anterior, es necesario destacar el 99,05% de remoción del día 13 de medición, pues este es a una VCO mayor, igual a 2,15 kg $\text{DQO}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, lo que involucra una mayor concentración de entrada del agua residual sintética al reactor con una alta remoción, al igual que el 99,03% de remoción en el día 15, a una VCO de 2,82 kg $\text{DQO}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, lo cual es alcanzado en estudios de DA y también en DAH con Guerrero *et al.* (2015), donde se llegó a remociones en torno al 100%, aunque en este trabajo de investigación las velocidades de carga de todos los compuestos son mayores, no así comparado a Chen *et al.* (2008), quienes utilizando un reactor EGSB, con un TRH de 11,2 h y una VCN de 1,45 kg $\text{N-NO}_3^-/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, obtuvieron un porcentaje de remoción de nitrato del 99%, el símil al nitrito en este trabajo.

En resumen, a lo largo de toda esta etapa del proceso, se observa que la concentración de nitrito es un factor importante pero no relevante como los que se verán luego, pues a lo largo de toda la investigación se alcanzó remociones óptimas de este compuesto.

Tiosulfato

En primer lugar, se presenta en el gráfico de la Figura 20 la concentración de entrada y de salida de tiosulfato en el reactor UAF, que es ingresado por medio del agua residual sintética descrita en el apartado 3.3.3 y es calculada mediante la técnica de la yodometría.

Según este gráfico de la Figura 20, se observa la linealidad de las concentraciones en la entrada y salida del reactor, y por supuesto la notable disminución de tiosulfato luego de pasar por el mismo, desde en promedio 750 mg/L hasta un promedio de 130 mg/L a lo largo de los últimos 10 días, que son las mediciones realizadas a más alta VCO, por lo que se podrá comparar con Aguirre (2015) en su segunda etapa de trabajo, donde si bien la concentración que alcanzó es menor a la de este trabajo, la VCS también fue menor, por lo que para ver de mejor manera las remociones y la VCO en cada una de ellas, se presenta la Figura 21.

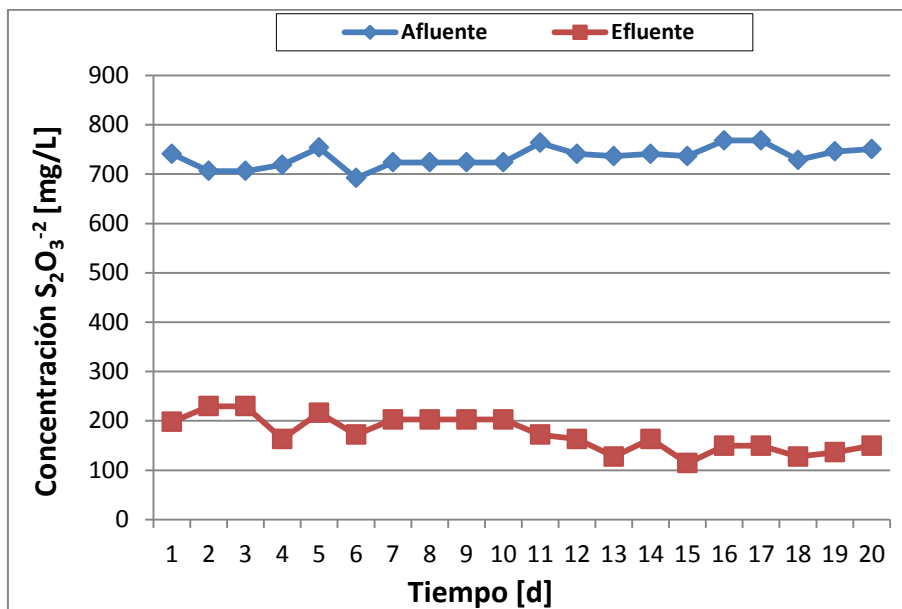


Figura 20: Concentración de tiosulfato en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

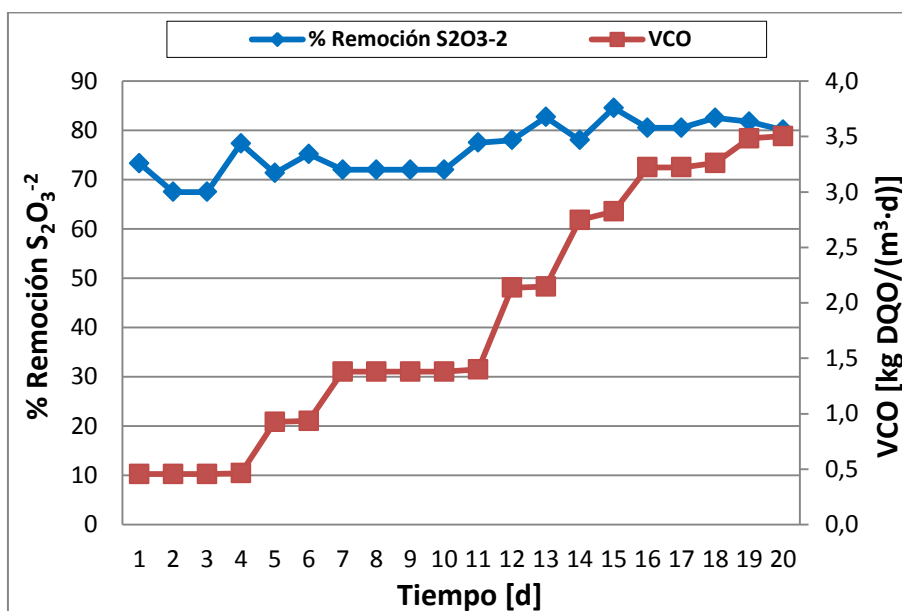


Figura 21: Remoción de tiosulfato en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

Del gráfico en la Figura 21 se ve la alta remoción de tiosulfato a lo largo del proceso, llegando a un máximo de 84,52% en el día 15 de operación a una VCO de 2,82 kg DQO/(m³·d), mientras que también es necesario destacar el 82,69% de remoción del día 13 de operación, pues aunque éste es a una VCO menor, igual a 2,15 kg DQO/(m³·d), es la segunda mejor remoción y se debe

encontrar un punto de equilibrio entre las remociones de los 3 compuestos. Durante todo este proceso de DAH, se observa una concentración prácticamente constante en la entrada (afluente) y salida (efluente) del reactor, a pesar del cambio en la VCO. Chen *et al.* (2008) utilizando un reactor EGSB, con un TRH de 11,2 horas y una VCS de $3,0 \text{ kg S-S}_2^-/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, obtuvieron un porcentaje de remoción de sulfuro del 100%, mientras que por otro lado, Reyes-Avila *et al.* (2004), utilizando un reactor CSTR de 1,3 L, un TRH de 2 días y una VCS de $0,294 \text{ kg S-S}_2^-/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ obtuvieron una remoción de sulfuro del 99%. Adicionalmente, Aguirre (2015) utilizando un reactor UASFB, alcanzó una remoción de sólo 32,5% de tiosulfato, el mismo compuesto que en este estudio, pero con nitrato en vez de nitrito como fuente de nitrógeno, por lo que se mejora sustancialmente la remoción, además de operar a una VCS mayor, de $2,02 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ en comparación a los $0,75 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ del autor mencionado.

En resumen, a lo largo de toda esta etapa del proceso, se observa que la concentración de tiosulfato es un factor muy importante, pues en toda la investigación no se alcanzaron remociones muy altas y es el factor clave en este tipo de procesos, pues se usa en exceso en la reacción estequiométrica, y por esto tiende a quedar remanente del mismo.

Acetato

Es importante señalar que este parámetro es el más variable en esta investigación, pues al ser introducido en forma gradual y creciente, la VCO va a variar constantemente y en cada medición, por lo que encontrar un punto de equilibrio no sólo dependerá de la remoción alta de este compuesto, sino también de la alimentación que haya del mismo, ya que puede existir remociones muy altas pero si se introduce muy poco acetato, no es algo conveniente para extrapolar a escala industrial, ya que no será realista.

Se presenta en la Figura 22 la DQO de la alimentación y descarga del reactor según la VCO, donde el acetato fue ingresado por medio del agua residual sintética descrita en el apartado 3.3.3.

De este gráfico se aprecia que la DQO de ingreso aumenta sustancialmente, esto debido a que aumenta la VCO, ya que al tener mayor cantidad de acetato el afluente, mayor será su concentración. Esta alza de la concentración también fue vista en el estudio realizado por Aguirre (2015) donde la VCO aumentó de $0,62 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ a $1 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$.

Además, se ve la alta remoción de acetato en gran parte de esta parte del proceso, desde el día 1 al 18, mientras que en los días 19 y 20 los valores de DQO del efluente son altos y cercanos a la alimentación, por lo que es muy probable que el límite de carga orgánica se establezca en el día 18,

a una VCO de 3,261 kg DQO/(m³·d), la cual es mayor a todos los autores antes mencionados (Aguirre, 2015; Peirano, 2016; Chen *et al.*, 2008; Reyes-Ávila *et al.*, 2004). Esta situación que será analizada teniendo las remociones reales de DQO según la VCO, en el gráfico de la Figura 23.

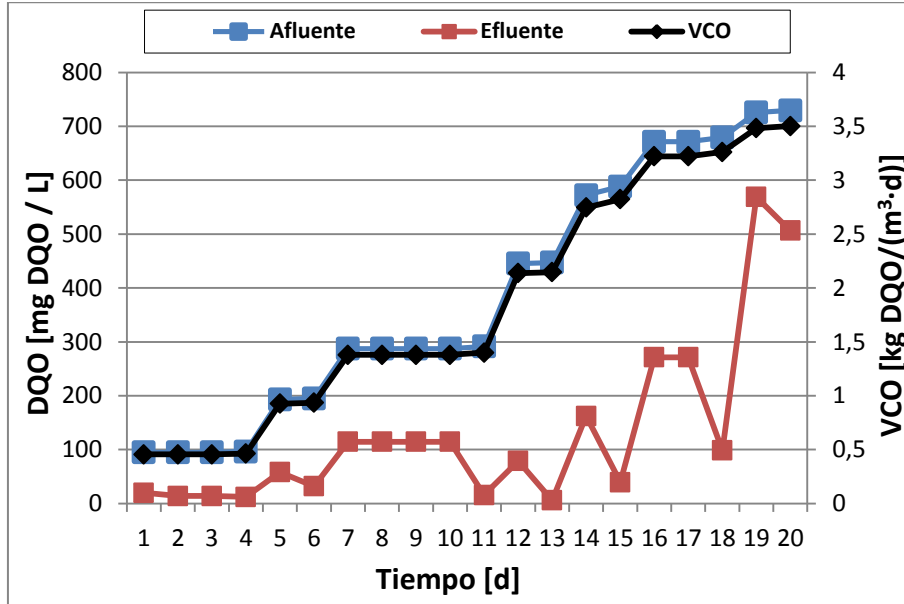


Figura 22: DQO en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

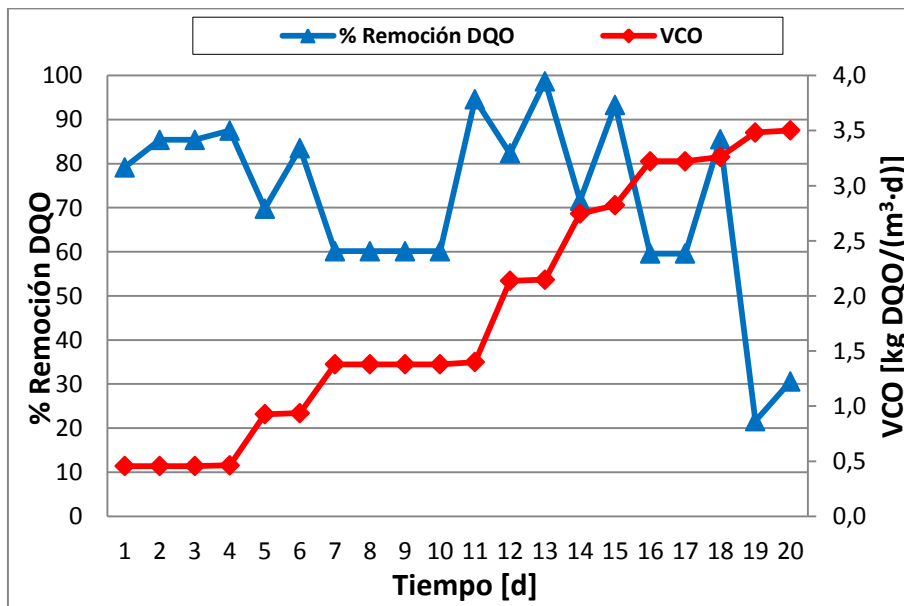


Figura 23: Remoción de DQO según VCO en desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica creciente

Según la Figura 23, la mejor remoción de DQO se establece en el día 13 de operación, igual a 98,68% a una VCO de 2,15 kg DQO/(m³·d). Además de este valor, es necesario mencionar el 93,27% de remoción en el día 15, pues aunque es menor porcentaje, se encuentra a una VCO mayor, con un valor de 2,82 kg DQO/(m³·d). Estos dos valores son mejores comparados a los alcanzados por Chen *et al.* (2008), quienes utilizando un reactor EGSB, con un TRH de 11,2 horas y una VCO de 2,77 kg Acetato/(m³·d), obtuvieron un porcentaje de remoción de materia orgánica del 90%, y aún mejores a los encontrados por Reyes-Ávila *et al.* (2004), que con una menor VCO llegaron al 69% de remoción.

En resumen, para la DQO se observa que existen remociones muy altas, cercanas al 100% entre los días 1 y 18 del proceso, mejorando significativamente las remociones alcanzadas en la Etapa de DAH, donde fue alimentado acetato de una vez a la concentración máxima estequiométrica para las reacciones involucradas.

En el apartado siguiente, se verán las remociones de todos los compuestos para así obtener los puntos de VCO más recomendables para la operación del reactor UAF de esta investigación.

Remociones de todos los componentes

Para conocer las óptimas condiciones de operación del reactor, es necesario comparar las remociones de todos los compuestos, según la VCO en el momento de la medición, para así analizar la cantidad removida de todos los compuestos con la cantidad alimentada de carga orgánica en el reactor, pues este parámetro es muy importante para principalmente darle realidad a este proceso de desnitrificación autótrofa-heterótrofa en forma simultánea en el reactor UAF.

Se presenta en el gráfico de la Figura 24, las remociones de nitrito, tiosulfato y DQO alcanzadas en la DAH con VCO creciente, además de la VCO correspondiente a cada medición, para así compararlas y analizar los mejores resultados.

A partir del gráfico anterior que muestra las remociones de todos los contaminantes estudiados, es posible ver en primer lugar que el nitrito es el compuesto con mayor porcentaje de remoción, siempre superior a un 97% y con un tope en las mediciones de 99,60% en el día 6 a una VCO de 0,936 kg DQO/(m³·d), lo cual contrastado con los autores mencionados en los anteriores apartados a una similar VCO, es totalmente acorde.

Para continuar el análisis de los resultados, el tiosulfato es el compuesto con menor tasa de remoción, desde un 67,5% en el día 3, llegando a un máximo de 84,5% en el día 15. Sin duda alguna es el compuesto más complicado de controlar, en parte porque las mediciones por

yodometría no son muy exactas debido a la poca graduación de los implementos de laboratorio y a que se agrega en exceso en el RIL sintético ocupado. Por otra parte, es una mejora significativa con respecto a Aguirre (2015) que llegó al 32,5% de remoción, pero no tan buena como Chen *et al.* (2008) que llega al 100% de remoción de sulfuro en su reactor EGSB a una VCS mayor en $1 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{-2}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$.

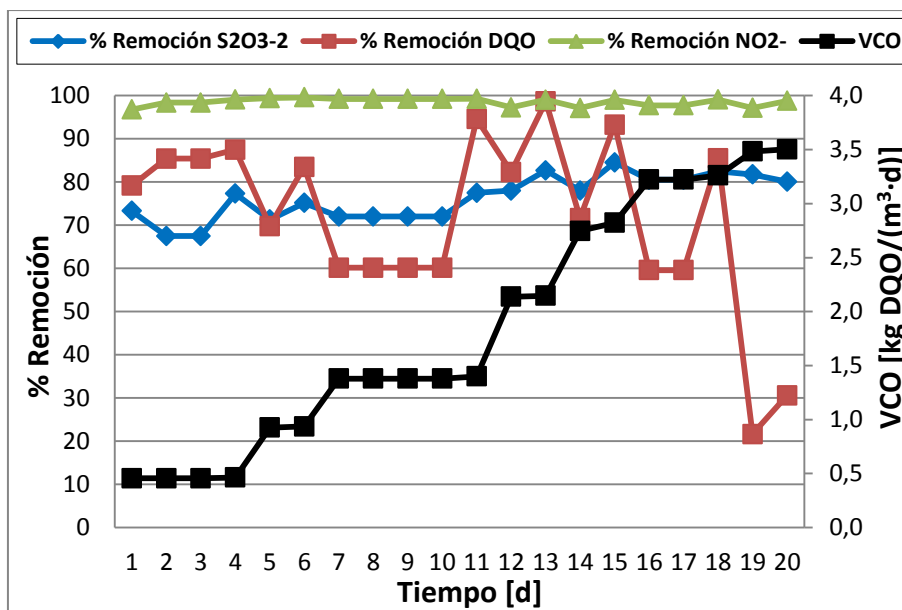


Figura 24: Remoción componentes, desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea con velocidad de carga orgánica (VCO) creciente

El acetato es el compuesto clave en esta etapa pues se introduce en distinta proporción de carga orgánica en cada medición del proceso, por lo que existen remociones altas pero la alimentación al cambiar mucho el porcentaje de remoción por sí sola no explica mucho.

La VCO se varió constantemente y este parámetro junto a las remociones permitirá obtener el punto óptimo de operación. Para ayudar a esto, se presenta la Tabla 23 con los valores obtenidos para las VCO más significativas del proceso.

Tabla 23: Resumen mejores remociones según Velocidad de Carga Orgánica (VCO)

Día	VCO kg DQO/(m ³ ·d)	% Remoción Nitrito	% Remoción Tiosulfato	% Remoción DQO
6	1,400	99,26	77,49	94,59
13	2,147	99,05	82,69	98,68
15	2,823	99,03	84,52	93,27

A partir de la Tabla 23, se ve que todas las mejores remociones se encuentran en mediciones distintas, por lo que un análisis más profundo es necesario para ver la mejor opción.

En primer lugar, se descarta la medición del día, ya que posee la mejor remoción de nitrito pero la peor de tiosulfato, además de ser realizada a la VCO más baja, por lo que la alta remoción de DQO no es tan importante ya que se elimina en gran cantidad pero se alimenta poco.

A continuación, se comparan las mediciones de los días 13 y 15, donde en la primera de ellas existe apenas mayor remoción de nitrito y 5,4% más remoción de DQO, lo cual es un valor bastante importante. En la medición del día 15, existe un 1,8% mayor remoción de tiosulfato y como se mencionó anteriormente menor remoción de DQO, pero la carga orgánica es de 2,823 kg DQO/(m³·d) contra 2,147 kg DQO/(m³·d) del día 13, lo que sumado a una VCN mayor (1,00 contra 0,97 kg N-NO₂⁻/(m³·d)), hacen del día 15 el punto óptimo de operación en este proceso.

La VCN ocupada en este trabajo de investigación fue siempre en torno a 1,0 kg N-NO₂⁻/(m³·d)

Sin duda alguna ambas opciones son muy beneficiosas para un proceso de desnitrificación autótrofa-heterótrofa simultánea, y el parámetro que mandará cuál de las dos es mejor, es la carga orgánica aplicada.

Si se desea aumentar la carga orgánica, incluso hasta un máximo de 3,261 kg DQO/(m³·d), correspondientes a DQO de 0,966 mg/L de acetato en el día 18, las remociones siguen siendo muy buenas, pero si se prefiere eliminar principalmente toda la carga orgánica y dejar en segundo plano el tiosulfato removido, se debe volver al punto anterior.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La desnitrificación a partir de nitrito es factible siempre que su concentración se mantenga en un nivel bajo al interior del reactor. Es por esto que la VCN promedio fue sólo de aproximadamente $1 \text{ kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, para asegurar las altas remociones. Lo anterior se debe a que el nitrito es un compuesto intermedio en la transformación desde nitrato a nitrógeno gaseoso, por lo que una alta concentración del mismo involucra la creación de otros compuestos en esta cadena.
- La DA consiguió remociones máximas de 99,3% y 98,9% de nitrito y tiosulfato, respectivamente, la cual fue realizada con parámetros de VCN igual a $1,03 \text{ kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y VCS de $2,00 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{2-}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$.
- Un punto muy importante de operación ocurrió en el día 13, donde para una VCO de $2,15 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y una VCN de $0,97 \text{ kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ se alcanzaron remociones máximas de nitrito (99,1%) y de DQO (98,7%), mientras que la remoción de tiosulfato fue de 82,7%. Las relaciones de alimentación C/N y S/N corresponden a 2,15 y 2,08 respectivamente.
- La VCN ocupada en el punto óptimo de proceso fue de $1,0 \text{ kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, correspondiente al día 15 en la etapa de DAH con VCO creciente, donde para una VCO de $2,82 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ se obtienen remociones que llegan a 99,0% de nitrito, 84,5% de tiosulfato y 93,3% de DQO. Las relaciones de alimentación C/N y S/N corresponden a 2,82 y 2,09 respectivamente.
- Se observó que el límite de carga orgánica corresponde a una concentración de $0,966 \text{ mg/L}$ de acetato, equivalentes a una VCO de $3,261 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, donde se obtuvo remociones de 99,1% de nitrito, 82,5% de tiosulfato y 85,5% de acetato. En este punto, la VCN fue de $0,99 \text{ kg N-NO}_2^-/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y la VCS de $2,02 \text{ kg S-S}_2\text{O}_3^{2-}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$.

5.2 Recomendaciones

Se puede plantear las siguientes mejoras para este tipo de procesos:

- Se propone modificar la relación S/N, a una más cercana a la estequiométrica para reducir el porcentaje en exceso del tiosulfato en el agua residual sintética de alimentación al reactor UAF y tener mejores remociones del mismo.
- Realizar mediciones de tiosulfato de forma más exacta, donde los instrumentos de laboratorio para la yodometría tengan una mejor resolución.
- Hacer el proceso con un RIL real para llevarlo a una escala industrial de mejor forma, ocupando diluciones para usar la gradualidad en la concentración de los contaminantes.
- Usar ojalá otra técnica para la medición de DQO, ya que la actual (digestión con dicromato de potasio) presenta compuestos altamente reactivos y que pueden provocar quemaduras. Una opción viable es a través de espectrofotometría.
- Subir todos los parámetros de Velocidad de Carga para ver cómo se comporta el proceso en condiciones de mayor concentración de contaminantes.

CAPÍTULO 6: REFERENCIAS

Aguirre, J., 2014. Tesis de Magíster: "Diseño y puesta en marcha de un reactor UASB híbrido para la desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa". UTFSM, Valparaíso, Chile.

American Public Health Association, 2002. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

An S., Tang K., 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*, 44:1531-1541.

Basaul, C., 2013. Tesis de Magíster: "Diseño, puesta en marcha y operación de un proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea en un reactor SBR, usando zeolita natural". UTFSM, Valparaíso, Chile.

Beristain-Cardoso, R., Gómez, J. y Méndez-Pampín, R., 2011. Sulfide and ammonium oxidation, acetate mineralization by denitrification in a multipurpose UASB reactor. *Bioresource Technology*, Vol. 102, pp. 2549–2554.

Beristain C., Sierra-Alvarez R., Rowlette P., Razo-Flores E., Gómez J., Field J., 2006. Sulfide Oxidation Under Chemolithoautotrophic Denitrifying Conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 95(6):1148-1156.

Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2015. Ley sobre bases generales del medio ambiente, Ley 19.300. Decreto Supremo 46/2003.

Campos J.L., Carvalho S., Portela R., Mosquera-Corral A. and Méndez R., 2008. Kinetics of denitrification using sulfur compounds: Effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. *Bioresource Technology*, 99, 1293-1299.

Campos J.L., Vázquez-Padín J.R., Fernández I., Fajardo C., Seca I., Mosquera-Corral A., Pampín R., 2009. Procesos avanzados de eliminación de nitrógeno: nitrificación parcial, Anammox, desnitrificación autótrofa. Universidad de Santiago de Compostela.

Cervantes-Carrillo F., Pérez J., Gómez J., 2000. Avances en la Eliminación Biológica del Nitrógeno de las Aguas Residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42:73-82.

Chen C., Ren N., Wang A., Yu Z., Lee D., 2008. Simultaneous biological removal of sulfur, nitrogen and carbon using EGSB reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, 78:1057-1063.

Ciudad G., Rubilar O., Vergara C., Ruiz G., Chamy R., Jeison D., 2003. Desnitrificación de aguas residuales con alto contenido de nitrito como parte de una estrategia de nitrificación-desnitrificación vía nitrito. UFRO, Temuco, Chile.

- Claros J., 2012. Tesis Doctoral: Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno amoniacal. UPV, Valencia, España.
- Claus G., Kutzner J., 1985. Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Applied and Microbiology Biotechnology*, 22:283-288.
- Decheco I., Egusquiza F., 2011. Respiración Anaerobia, Capítulo 20: 177– 180.
- Delwiche CC., 1982. Denitrification, Nitrification and Atmospheric Nitrous Oxide. edition F, editor. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Echarri, L., 2007. Población, ecología y ambiente. Universidad de Navarra. Consultado el 4 de mayo de 2016.
- Englert, A. y Rubio, J., 2005. Characterization and environmental application of a Chilean natural zeolite. *International Journal of mineral processing*, Vol. 75, pp. 21-29.
- Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J. y Méndez, R., 2012. Autotrophic denitrification with sulphide in a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Management*, Issue 113, pp. 552-556.
- Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J. L. y Méndez, R., 2008. Depuración conjunta de aguas ricas en nitratos y efluentes con compuestos reducidos del azufre. *Revista Técnica del Medio Ambiente RETEMA*, Vol. 127, pp. 39-51.
- Fajardo, M., 2011. Tesis Doctoral: Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.
- Fux C. and Siegrist H., 2004. Nitrogen removal from sludge digester liquids by nitrification/denitrification or partial nitritation/anammox: environmental and economical considerations. *Water Science and Technology*, 50(10), 19-26.
- Gadekar S., Nemati M., Hill G., 2006. Batch and continuous biooxidation of sulphide by *Thiomicrospira sp.* CVO: Reaction kinetics and stoichiometry. *Water Research*, 40:2436-2446.
- Gee C., Kim J., 2004. Nitrite accumulation followed by denitrification using sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*, 49:47-55.
- Gommers P., Bijleveld W., Gijs J., 1988. Simultaneous sulfide and acetate oxidation in a denitrifying fluidized bed reactor. *Water Research*, 22(9):1075-1083.
- Gu J., Qiu W., Koenig A., Fan Y., 2004. Removal of high NO_3^- concentration in saline water through autotrophic denitrification by the bacterium *Thiobacillus denitrificans* strain MP. *Water Science and Technology*, 49(5-6):105-112.

- Guerrero, L., Aguirre, J., Barahona, A., Huiliñir, C., Montalvo, S., (2015). Eliminación de nitrato, azufre y materia orgánica compleja mediante desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, UTFSM, Valparaíso, Chile.
- Guerrero, L., Vasquez, M., Barahona, A., Montalvo, S. y Borja, R., 2012. Denitrification via Nitrite in a Modified UASB reactor using Chilean zeolite as Microbial Support. *International Journal of Environmental Research*, Issue 7, pp. 17-26.
- Hellinga, C., Schellen, A.A.J.C., Mulder, J.W., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., 1998. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste Water. *Wat. Sci. Tech.* 37 (9), 135-142.
- Janssen, A., Ruitenberg, R. y Buisman, C., 2001. Industrial applications of new sulphur biotechnology. *Water Science and Technology*, Vol. 44, pp. 85-90.
- Jeison D., Chamy R., Ruiz G., Ciudad G., Rubilar O., Vergara C., 2003. Desnitrificación de aguas residuales con alto contenido de nitrito como parte de una estrategia de nitrificación-desnitrificación vía nitrito. XV Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental AIDIS-Chile.
- Justin P., Kelly D., 1978. Growth Kinetics of *Thiobacillus denitrificans* in Anaerobic and Aerobic Chemostat Culture. *Journal of General Microbiology*, 107:123-130.
- Khin T. and Annachatre P., 2004. Novel microbial nitrogen removal processes. *Biotechnology Advances*, 22, 519-532.
- Kim, H.-R., Lee, I.-S. y Bae, J.-H., 2004. Performance of a sulphur-utilizing fluidized bed reactor for post-denitrification. *Process Biochemistry*, Vol. 39, pp. 1591-1597.
- Kim I., Son J., 2000. Impact of COD/N/S ratio on denitrification by the mixed culture of sulphate reducing bacteria and sulphur denitrifying bacteria. *Water Science and Technology*, 42(3-4):69-76.
- Kimura K., Nakamura M., Watanabe Y., 2002. Nitrate removal by a combination of elemental sulphur-based denitrification and membrane filtration. *Water Research*, 36:1758-1766.
- Li, W., Zhao, Q.-I. y Liu, H., 2009. Sulfide removal by simultaneous autotrophic and heterotrophic desulfurization–denitrification process. *Journal of Hazardous Materials*, Vol.162, pp. 848-853.
- Mahmood, Q., Zheng, P., Cai, J., Wu, D., Hu, B. y Li, J., 2007. Anoxic sulfide biooxidation using nitrite as electron acceptor. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 147, pp. 249-256.
- Mahmood, Q., Zheng, P., Hayat, Y., Islam, E., Wu, D., Ren-cun, J., 2008. Effect of pH on anoxic sulfide oxidizing reactor performance. *Biosource Technology*, 99, 3291-3296.

- Manconi, I., Carucci, A. y Lens, P., 2007. Combined Removal of Sulfur Compounds and Nitrate by Autotrophic Denitrification in Bioaugmented Activated Sludge System. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 98, pp. 551-560.
- Montalvo S., Guerrero L., 2003. Tratamiento anaerobio de residuos. UTFSM, Valparaíso, Chile.
- Moon, H. Ahn, K., Lee, S., Nam, K. y Kim, J., 2004. Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. *Environmental Pollution*, Vol. 129, pp. 499-507.
- Moon, H. Chang, S., Nam, K., Choe, J. y Kim, J., 2006. Effect of reactive media composition and co-contaminants on sulfur-based autotrophic denitrification. *Environmental Pollution*, Vol. 144, pp. 802-807.
- Moraes, B., Souza, T. y Foresti, E., 2012. Effect of sulfide concentration on autotrophic denitrification from nitrate and nitrite in vertical fixed-bed reactors. *Process Biochemistry*, Vol. 47, pp. 1395-1401.
- Mulder, A., 2003. The quest for sustainable nitrogen removal technologies. *Wat. Sci. Tech.* 48 (1), 67-75.
- Mulder J.W., Van Loosdrecht M.C.M., Hellinga C., Van Kempen R., 2001. Full-scale application of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Wat. Sci. Tech.* 43 (11), 127-134.
- Muñoz, C., 2015. Tesis: "Operación de un reactor anaerobio de lecho fijo desnitrificante autótrofo para la remoción simultánea de azufre y nitrógeno a partir de nitrato". UTFSM, Valparaíso, Chile.
- Muyzer, G. y Stams, A. J. M., 2008. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature reviews: Microbiology*, Vol. 6, pp. 441-454.
- Natubelalcázar, 2016. Institución Educativa El Madroño. Recuperado el 7 de Agosto de 2016 desde <https://natubelalcazar.files.wordpress.com/2012/04/imagen-ciclo-del-carbono2.jpg>
- Oh, S., Bum, M., Yoo, Y., Zubair, A. y Kim, I., 2002. Nitrate removal by simultaneous sulfur utilizing autotrophic and heterotrophic denitrification under different organics and alkalinity conditions: batch experiments. *Water Science and Technology* , Vol. 47, pp. 237-244.
- Oh S., Kim K., Choi H., Cho J., Kim I., 2000. Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying sulfur bacteria. *Water Science and Technology*, 42(3-4):59-68.
- Parra, L., 2006. Tesis de grado: Operación de un filtro anaerobio de flujo ascendente (FAFA) hasta alcanzar el estado estable. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales.

- Ramírez I., 2012. ADM1 applications for a hybrid up-flow anaerobic sludge-filter bed reactor performance and for a batch thermophilic anaerobic digestion of thermally pretreated waste activated sludge. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 65:167-179.
- Reyes-Avila J., Razo-Flores E., Gomez J., 2004. Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, 38:3313-3321.
- Sánchez J., Sanabria J., 2009. Metabolismos microbianos involucrados en procesos avanzados para la remoción de Nitrógeno, una revisión prospectiva. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XI(1):114-124.
- Soares M., 2002. Denitrification of groundwater with elemental sulphur. *Water Research*, 36:1392-1395.
- Sublette K., Sylvester N., 1987. Oxidation of Hydrogen Sulfide by Mixed Cultures of *Thiobacillus denitrificans* and Heterotrophs. *Biotechnology and Bioengineering*, XXIX:759-761.
- Sun, Y. y Nemati, M., 2012. Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitritation for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters. *Bioresource Technology*, Vol. 114, pp. 207-216.
- Tanaka K., Sumino T., Nakamura H., Ogasawara T. and H. Emori, 1996. Application of nitrification by cells immobilized in polyethylene glycol. In: Wijffels R.H., Buittelaar R.M., Bucke C. and Tramper J. (eds). *Immobilized Cells: Basics and Applications*. Amsterdam: Elsevier Science, 622-632.
- 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*, Vol. 101, pp. 8109-8118.
- T. H. Y. Tebbutt, 2004: "Fundamentos de control de la calidad del agua". Editorial LIMUSA, Edición 1. Capítulo 2, pág. 28-29.
- Tratamiento mediante reactores anaerobios. 2002. Curso Tratamiento de Aguas Residuales. Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Uruguay.
- Van de Graaf, A. A., Mulder, A., de Bruijn, P., Jetten, M., Robertson, L. A., Kuenen, J. G., 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Appl. Environ. Microbiol*, 61(4), 1246-1251.
- Van Kempen R., J., Uitjerlinde C., 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.
- Zeng H., Zhang T., 2005. Evaluation of kinetic parameters of sulphur-limestone autotrophic denitrification biofilm process. *Water Research*, 39:4941-4952.

ANEXOS

A. Demanda Química de Oxígeno (micro):

1. Reactivos:

- a) *Solución Digestora*: Disolver en 500 mL de agua las siguientes cantidades de reactivos: 10,216 g de $K_2Cr_2O_7$, 250 mL de H_2SO_4 conc, 17,0 g de $HgSO_4$ (esta cantidad se puede aumentar o disminuir en función de la cantidad de cloruros presentes en la muestra. En todo caso debe mantenerse la relación $HgSO_4 : Cl^-$ igual o superior a 10 : 1). Una vez disuelto el reactivo, homogenizada la mezcla y enfriada a temperatura ambiente aforar a 1 L con agua destilada.
- b) *Solución Catalítica*: Disolver en 1 L de H_2SO_4 conc, 10,7 g de Ag_2SO_4 , dejándolo reposar dos días hasta su total disolución.
- c) *Solución valoradora de sulfato ferroso amoniacal de concentración aproximada 0,025N (FAS)*: Disolver 9,8 g de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ en agua destilada añadiendo 20 mL de H_2SO_4 conc, enfriar y diluir a 1 L. Esta disolución debe valorarse diariamente con una solución de dicromato como patrón.
- d) *Solución patrón de dicromato (0,025N)*: Disolver 1,2258 g de $K_2Cr_2O_7$ que previamente se ha secado durante dos horas a $105^\circ C$, en agua destilada y diluir a 1 L.
- e) *Indicador (solución de ferroína)*: Disolver 1,485 g de 1,10 fenantrolina monohidratada junto con 0,695 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en agua destilada y diluir a 100 mL.

2. Procedimiento:

- a) Colocar 2,5 mL de muestra con una DQO inferior a 900 (mgDQO/L) (en caso que la muestra original tenga una DQO más elevada, debe diluirse hasta el rango de análisis) en un tubo de ensayo para DQO. En cualquier caso deberá hacerse paralelamente y de modo sistemático un blanco, usando 2,5 mL de agua destilada como si fuese una muestra problema.
- b) Añadir 1,5 mL de solución digestora.
- c) Añadir 3,5 mL de solución catalítica. La adición debe hacerse con cuidado dejando escurrir lentamente sobre la pared del tubo que se mantiene inclinado de forma que se separen dos capas que no se mezclan antes de cerrar el tubo.
- d) Colocar teflón y tapar, cerrando herméticamente.
- e) Agitar el contenido de los tubos y ponerlos en el digestor que previamente debe estar a $150^\circ C$.

- f) Mantener esta temperatura por 2 horas. En el caso de muestras fácilmente degradables, este tiempo se puede reducir, lo que se puede comprobar experimentalmente.
- g) Después de las dos horas se sacan los tubos y se dejan enfriar a temperatura ambiente.
- h) Vaciar el contenido de los tubos en un matraz Erlenmeyer de 25 mL, se lavan con 1 o 2 mL de agua destilada, que se vierten en el Erlenmeyer. A continuación se añade una gota de ferroína y se valora con FAS hasta el viraje de azul a rojo (inicialmente la solución tiene el color del dicromato que irá perdiendo hasta azul).
- i) Valoración del FAS: Se pipetea 10 mL de solución patrón de dicromato 0,025 N y se pasan a un matraz Erlenmeyer al que se adicionan 3 mL de H_2SO_4 , se enfría, se añade una gota de ferroína y se valora con FAS cuya Normalidad queremos determinar.

3. Cálculos:

$$N_{FAS} = \frac{10 \cdot 0,025}{C}$$

$$DQO = \frac{(B - A) \cdot 8000 \cdot N_{FAS}}{V}$$

- donde: C = mL de FAS consumidos en la valoración del FAS
 B = mL de FAS consumidos en la valoración del blanco
 A = mL de FAS consumidos en la valoración de la muestra
 V = mL de muestra utilizados (aquí, 2,5 mL)
 DQO: medida en mg DQO/L

Observaciones:

- i. Se debe poner especial cuidado en el lavado de los tubos. Idealmente deben lavarse con sulfúrico del 20%. Posteriormente conviene revisar las tapas de los tubos en las que se puede acumular materia difícil de lavar que falsearía los resultados.
- ii. Tanto la cantidad de muestra como la de la disolución digestora deben medirse con la mayor exactitud posible, ya que debido a los pequeños volúmenes utilizados, un pequeño error de operación puede llevar a malos resultados.
- iii. Se ha comprobado experimentalmente que el error medio cometido es del orden de ± 10

(mgDQO/L) independientemente de la concentración, por lo que el error relativo será tanto menor cuanto mayor es la concentración.

- iv. Factores determinantes en la adopción de este método han sido el gran ahorro de reactivos y la considerable reducción de material a manejar con respecto al método tradicional de digestión abierta.
- v. Se ha desechado la adopción del método colorimétrico debido a que en algunas de las aguas a analizar puede aparecer turbidez, lo que lleva a una baja precisión en las medidas y a una mala reproducibilidad de los resultados.

Referencia: Standars Methods for the examination of water and wastewater 20th edition, method 5220-COD D. Closed Reflux,Colorimetric Method.

B. Determinación de Sólidos:

1.- Sólidos Suspendidos Totales (SST):

- Coloque a secar papel filtro cuantitativo (según norma debe ser filtros de fibra de vidrio de 1,5 µm tipos Whatman 934 AH, Millipore AP40, Gelman A/E o equivalentes) por una hora a 105°C.
- Luego Coloque en desecador y pese una vez frío.
- Homogeneizar la muestra y tomar un volumen adecuado de muestra (2, 5, 10, 20, 25 mL), dependiendo de la cantidad de sólidos suspendidos que se aprecien a simple vista. El volumen de muestra debe ser tal, que el residuo seco obtenido tenga una masa entre 2,5 y 200 mg.
- Filtre la muestra al vacío y ponga el papel filtro en estufa por una hora a 105°C.
- Después ponga el papel filtro en desecador y pese una vez frío.

Observación: El papel debe manejarse con pinzas.

Los SST se calculan a partir de la siguiente ecuación:

$$SST = \frac{T_{ps} - T_p}{V_m} \cdot 1000$$

Donde: T_p = Tara del papel filtro, mg
 T_{ps} = Tara del papel filtro más sólidos, mg
 V_m = Volumen de muestra, mL
 SST: medido en mg/L

2.- Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV):

- Doble cuidadosamente el papel filtro obtenido en determinación de SST y colóquelo en un crisol (o canoa de papel aluminio) previamente tarado.
- Ponga el crisol en la mufla por una hora a 550°C.
- Deje en desecador y pese cuando esté frío.

Los SSV se calculan a partir de la siguiente ecuación:

$$SSV = \frac{M_{sst} - (T_{cm} - T_c)}{V_m} \cdot 1000$$

Donde: M_{sst} = Tara del papel filtro obtenida de SST, mg
 T_{cm} = Tara de crisol más muestra calcinada, mg
 T_c = Tara de crisol, mg
 V_m = Volumen de muestra, mL
SST: medido en mg/L

Referencia: Standars Methods for the examination of water and wastewater. Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C 2540 E. APHA. 21st edition, New York, 2005.pp 2-59.

C. Determinación de Tiosulfato

Solución estándar tiosulfato de sodio 0,1 N

Pesar 25 g de tiosulfato de sodio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y disolver en agua deionizada. Aforar a un litro. Agregar 0,01 g de yoduro de mercurio.

Valoración tiosulfato de sodio con yodato de potasio

Se pesan 0,14 – 0,15 g de yodato de potasio puro y seco, se disuelven en 25 mL de agua deionizada y se agregan 2 g de yoduro de potasio libre de yodato (se prueba agregando ácido sulfúrico diluido sin obtener coloración amarilla o agregando almidón sin obtener coloración azul) y 5 mL de ácido sulfúrico 2N. Se titula el yodo liberado con la solución de tiosulfato agitando continuamente. Cuando el color de la solución es amarillo pálido, se diluye a unos 200 mL con agua deionizada, se agregan 2 mL de solución de almidón y se continúa titulando hasta que el color vire de azul a incoloro. Se repite la valoración con otras dos porciones similares de yodato de potasio.

Se calcula la normalidad de la solución de tiosulfato de sodio como:

1 mL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \approx 0,036$ g de KIO_3

Solución estándar de yodo 0,1 N

Se pesan 20 g de yoduro de potasio libre de yodato y se disuelven en 30 – 40 mL de agua deionizada. Se pesan 12,7 g de yodo resublimado sobre vidrio reloj y se traspasa, mediante un embudo, a la solución de yoduro de potasio. Se agita hasta que el yodo se haya disuelto. Esto debe realizarse en un matraz con tapa esmerilada. Se deja la solución en reposo por unos 20 minutos y se afora a un litro. Debe conservarse en frascos pequeños, con tapa de vidrio esmerilado en un lugar frío y oscuro.

Valoración yodo con tiosulfato de sodio

En un vaso cónico de 250 mL agregar 25 mL de solución de yodo, diluir a unos 100 mL y agregar, mediante una bureta, la solución valorada de tiosulfato hasta que la solución tenga color amarillo pálido. Se agregan 2 mL de solución de almidón y se continúa hasta la decoloración. Repetir 2 veces el procedimiento. Los resultados no deben diferir en más de 0,1 mL.

Se calcula la normalidad de la solución de yodo como:

1 mL de $\text{I}_2 \approx 0,16$ g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Solución indicador de almidón

Se hace una pasta con 1 g de almidón soluble y una pequeña cantidad de agua deionizada y se agrega con agitación continuada, 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.

Determinación de tiosulfato en una muestra líquida

1. Llenar una bureta con solución estándar de tiosulfato de sodio.
2. Añadir a un matraz de titulación 5 mL de muestra y 7 mL de solución de yodo.
3. Iniciar la titulación, cuando la solución en el matraz adquiera un tono amarillo pálido, agregar dos gotas de solución indicador de almidón. Continuar titulando hasta que la solución en el matraz se vuelva incolora.

Cálculos para establecer la cantidad de tiosulfato en la muestra

1. Se conoce el volumen de yodo agregado a la muestra, por lo tanto se conocen los moles totales de yodo (A).
2. Se conoce el volumen de yodo consumido por la solución estándar, por lo tanto también se conocen los moles de yodo consumidos por la solución estándar (B).
3. Restando ambas cantidades (A) – (B) se conoce la cantidad de moles de yodo consumidos por el tiosulfato de la muestra.

Referencia: Daniel C. Harris, 2007. Análisis químico cuantitativo. Reverté. P 353. ISBN 84 291 7224 6.

D. Potencial de Hidrógeno, pH

Para la determinación de pH se utilizó el equipo Orion Perphect LogR Meter 370 de la siguiente manera:

- *Calibración:*

1. Encender el equipo y presionar la tecla "CAL" y seleccionar el rango (4–7 o 7–10)
2. Extraer el electrodo de la solución de mantención, enjuagar con agua destilada y secar con papel.
3. Sumergir el electrodo en solución patrón correspondiente hasta que aparezca en pantalla la palabra "READY", luego se presiona la tecla "YES".
4. Se enjuaga el electrodo y se seca, luego se sumerge en la siguiente solución patrón y se procede como indica el punto 3.

- *Medición de pH en la muestra:*

Una vez calibrado el equipo se procede a medir el pH de la muestra, como sigue:

1. Lavar el electrodo con agua destilada y secar con papel.
2. Sumergir el electrodo en la muestra, esperar que el equipo muestre la palabra "READY" y leer el resultado.
3. Enjuagar el electrodo con agua destilada, secar con papel y dejar en la solución de mantención.

Referencia: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA. AWWA. WEF. 21th edition 2005, Part. 4500-H +-B: Electrometric Method.

E. Determinación de Nitrito

Principio

Se fundamenta en la base de la formación de un colorante azo purpura rojizo (compuesto azo), el cual se desarrolla en un pH ácido por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidroclorada (diclorhidrato de NED). El rango de aplicación de este método va desde los 10 a 1000 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.

Muestras

Las muestras pueden colectarse en frascos de plástico o vidrio, no agregar preservantes ácidos, analizar dentro de un plazo máximo de 48 horas para prevenir la conversión bacteriana de nitrito a nitrato, refrigerada a 4°C, de lo contrario congelar no más allá de 1-2 días.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro ultravioleta UV-VIS para trabajar entre 500-600 nm.
- Celda de 1 cm de diámetro (se pueden utilizar celdas plásticas).
- Material de vidrio de uso habitual en laboratorio.

Reactivos y soluciones

- Agua exenta de nitrito
- Ácido fosfórico (Sigma Aldrich art. 100317)
- Sulfanilamida (Merck art. 100731)
- Permanganato de potasio (Merck art. 105084)
- N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidroclorada (Merck art. 106237)
- Patrón Nitrito (Merck art. 106549)

Procedimiento

- Preparación del reactivo: Disolver 100 mL ácido fosfórico al 85% en 800 mL de agua destilada y 10 g de sulfanilamida, luego de disolver completamente agregar 1 gramo de N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidroclorada, aforar a 1 L en botella ámbar. Refrigerar.
- Solución stock de nitrito: Pipetear 0,1 mL de la solución patrón de NO_2^- (1000 mg/L), y se aforan a 500 mL (esta solución tiene una concentración 200 ug/L).preparar en el

momento. En caso de no contar con solución patrón, se deben disolver 1,232 g de NaNO_2 (1mL = 250 ug), previamente secado a 105°C , por una hora, al menos y enfriar en desecador (20 min) y ser retrovalorado con permanganato de potasio. Aforar a 1000 mL.

- Tratamiento de la muestra: Filtrar para eliminar cualquier sólido suspendido con un filtro de membrana (filtro pirinola) de $0,45\ \mu\text{m}$, en caso de ser necesario. Posteriormente, tomar 50 mL de muestra de agua y agregar 2 mL de reactivo de color (reactivo de NED), dejar actuar por 10 min, para finalmente medir la absorbancia a 543 nm de la muestra y de los estándares.

Cálculo:

Directamente de la curva de calibración realizada, se debe contar dilución en caso de ser necesario.

Referencia: Standards Methods for the examination of water and wastewater 20th edition, method 4500- NO_2^- Colorimetric Method.