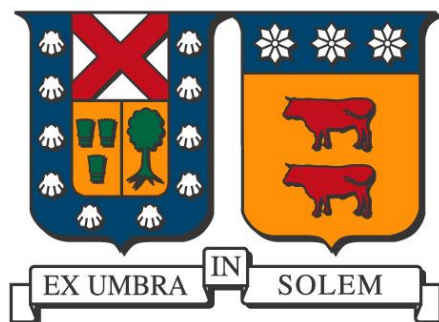


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL  
SANTIAGO – CHILE



## ESTUDIO DE LA REMOCIÓN DE OXITETRACICLINA POR MEDIO DE UN BIOCATALIZADOR EN LODOS ACTIVADOS

BÁRBARA MUÑOZ MADARIAGA

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

PROFESORA GUÍA:

DRA. ANDREA CARVAJAL G.

PROFESORA CO-REFERENTE:

DRA. CAROLYN PALMA T.

MARZO 2021

## Agradecimientos

En primer lugar, agradezco profundamente el apoyo brindado y la confianza de mi profesora guía Andrea Carvajal, ya que durante todos los años de carrera estuvo presente en mi crecimiento académico y personal. Esta investigación fue posible gracias al financiamiento otorgado por medio del Proyecto de Innovación DGIIPPI\_INN\_18\_09 de la Universidad Técnica Federico Santa María.

A Victoria Riquelme y Camila González por enseñarme, guiarme y acompañarme en mi aprendizaje durante el laboratorio, y a Jeniffer Blair por compartir sus conocimientos constantemente. Gracias a quienes fueron compañeros y compañeras del laboratorio de Digestión Anaerobia.

A todas las personas que conocí en la universidad: Tea-K, Topitos, Pandemias, BYJATY. En especial a la Generación 2012 por el cariño y apoyo constante durante todos los años de carrera, destacando la amistad con Annette Reyes quien estuvo presente en los buenos y malos momentos. Además, reconocer a Carolyn Palma, Gonzalo Núñez y Daniel Navia por la docencia ejercida como profesora y profesores durante todos mis años como estudiante, marcando mi enseñanza de manera positiva dentro del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

También, reconocer el apoyo de mi familia, porque aunque sé que la carrera siempre fue difícil de comprender, hubo tranquilidad y entendimiento cuando los ramos se ponían cuesta arriba. En particular, me gustaría mencionar a mi papá por su apoyo genuino, y por llevarme cada fin de semana a la universidad para cuidar a mi reactor.

A mis amigos y amigas de la vida por creer en mí y subirme el ánimo cuando sentía que el titularme cada vez se hacía más difícil. Gracias por las risas y aprendizajes.

Por último, al Movimiento Guía Scout por darme una motivación constante y un motor para creer que es posible construir un mundo mejor desde las niñas, niños y jóvenes.

## Resumen

En los procesos convencionales de tratamiento de aguas residuales, se remueven contaminantes por medio de tratamientos físicos, químicos y biológicos. Los lodos activados son un tipo de tratamiento secundario tradicional, que se caracteriza por la remoción de materia orgánica por medio de la acción de microorganismos aerobios. Sin embargo, no son capaces de remover todas las sustancias presentes. Hoy, debido a la presencia de contaminantes emergentes, principalmente de origen químico como los antibióticos, se ha generado como desafío la creación de nuevas tecnologías.

En los últimos años, este desarrollo ha considerado etapas posteriores a los lodos activados, llamados tratamientos cuaternarios; sin embargo, no se ha reportado nuevos procesos de remoción de estos compuestos realizados directamente dentro del reactor aerobio. El objetivo de esta memoria es estudiar la factibilidad de remover un antibiótico como la Oxitetraciclina en una planta de lodos activados, por medio de la aplicación de un biocatalizador compuesto de enzima lacasa inmovilizada en carbón activado dentro del reactor aerobio.

La metodología utilizada consistió en la puesta en marcha y operación en estado estacionario de una planta de lodos activados a escala de laboratorio, así como la producción del biocatalizador. Además, se modeló la distribución de tiempos de residencia de la Oxitetraciclina y del biocatalizador añadidos al sistema, para predecir su comportamiento en el tiempo durante la aplicación. Luego de alcanzar el estado estacionario, el contaminante emergente se añadió a una concentración constante de 10 mg/L en el afluente, donde se realizaron 3 experimentos de adición de biocatalizador directamente al reactor (inyección en pulso), en concentraciones de 250 mg/L cada una. Diariamente se colectaron muestras del efluente y se midió la concentración del antibiótico.

El principal resultado obtenido corresponde a la remoción efectiva de Oxitetraciclina debido a la presencia del biocatalizador, alcanzando un valor de 51.58 % luego de 86 días de operación. De forma adicional, se obtuvieron valores de operación promedio de: remoción de DQO soluble de  $71.5 \pm 16.6$  %, tiempo de retención celular de  $5.5 \pm 1.6$  d, SST en el reactor de  $1.7 \pm 0.3$  g/L y una relación F/M de  $0.38 \pm 0.09$  kg<sub>DBO5</sub>/kg<sub>SST</sub>·d; lo que demuestra que no se provocó efectos adversos en el proceso de lodos activados, debido a la dosificación de biocatalizador.

En conclusión, es posible remover Oxitetraciclina por medio de la aplicación de un biocatalizador compuesto por enzima lacasa y carbón activado en una planta de lodos activados a escala de laboratorio. La adición de un biocatalizador permitiría reducir la concentración de compuestos farmacéuticos, en una planta de tratamiento de aguas residuales en funcionamiento, sin alterar el resto de los parámetros para la cual la unidad de lodos activados está diseñada.

# Índice

<b>1. Introducción</b> .....	6
<b>1.1. Tratamiento de Aguas Residuales</b> .....	6
Lodos Activados.....	8
<b>1.2. Contaminantes Emergentes</b> .....	10
Remoción de Contaminantes Emergentes.....	11
<b>2. Objetivos</b> .....	13
<b>2.1. General</b> .....	13
<b>2.2. Específicos</b> .....	13
<b>3. Materiales y métodos</b> .....	14
<b>3.1. Operación de la planta de lodos activados</b> .....	15
Inóculo.....	15
Sistema experimental.....	15
Control y mantención diaria .....	17
<b>3.2. Biocatalizador</b> .....	19
Producción del biocatalizador.....	19
<b>3.3. Estudio del efecto del Biocatalizador en la remoción de la OTC</b> .....	21
Distribución de Tiempos de Residencia .....	22
<b>4. Resultados y discusiones</b> .....	24
<b>4.1. Fabricación del Biocatalizador</b> .....	24
<b>4.2. Operación de la planta de lodos activados</b> .....	24
Temperatura, pH y Oxígeno Disuelto .....	25
Demanda Química de Oxígeno .....	26
Sólidos Suspendidos Totales (SST) .....	27
Relación Alimentación/Microorganismos y Productividad .....	28
Nitratos, nitritos y fosfatos .....	30
Tiempo de Retención Celular.....	33
<b>4.3. Estudio del efecto del Biocatalizador en la remoción de la OTC</b> .....	34
<b>5. Conclusiones</b> .....	41
<b>6. Referencias</b> .....	43
<b>Apéndices</b> .....	46

## Índice de Tablas

Tabla 3.1. Compuestos y concentraciones utilizadas para preparar el RIL sintético....	17
Tabla 4.1. pH del afluente, reactor y efluente. ....	25
Tabla 4.2. Medición de Oxígeno Disuelto en el reactor. ....	26
Tabla A.1. Clases de compuestos emergentes (Water & Directive, 2003).....	46
Tabla B. 1. Caracterización de inóculo aerobio utilizado. ....	47

## Índice de Figuras

Figura 1.1 Sistema de Lodos Activados (Spena Group, 2016).....	9
Figura 3.1. Descripción del estudio realizado.....	14
Figura 3.2. Sistema experimental planta de lodos activados a escala de laboratorio...	16
Figura 3.3. Experimento por función escalón (Fogler, 2016).....	23
Figura 3.4. Experimento por función pulso (Fogler, 2016).....	23
Figura 4.1. Remoción de DQO soluble en función del tiempo.....	27
Figura 4.2. Sólidos Suspendidos Totales en función del tiempo.....	28
Figura 4.3. Relación concentración de Alimentación/Microorganismos en función del tiempo. ....	29
Figura 4.4. Productividad en función del tiempo. ....	30
Figura 4.5. Concentración de $\text{NO}_3^-$ en afluente y efluente en función del tiempo.....	31
Figura 4.6. Concentración de $\text{NO}_2^-$ en afluente y efluente en función del tiempo.....	32
Figura 4.7. Concentración de $\text{PO}_4^{3-}$ en afluente y efluente en función del tiempo. ....	33
Figura 4.8. Tiempo de retención celular en función de tiempo de operación.....	34
Figura 4.9. Concentración teórica de OTC en el efluente.....	35
Figura 4.10. Concentración teórica del biocatalizador a la salida del reactor. ....	36
Figura 4.11. Concentración de OTC en efluente en función del tiempo.....	38
Figura D. 1. Apariencia del lodo del reactor antes (izquierda) y después (derecha) de la primera adición del biocatalizador.....	52
Figura D. 2. Apariencia del lodo de la recirculación antes (izquierda) y después (derecha) de la primera adición del biocatalizador. ....	52

# 1. Introducción

En el año 2015, la Organización de la Naciones Unidas, promulgó la Agenda 2030 por el Desarrollo Sostenible, la que determinó que todos los países miembros debían trabajar en torno a 17 objetivos para tener una vida en concordancia con el planeta (CEPAL, 2020). El Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) número 6 es “Agua limpia y Saneamiento” y busca garantizar la disponibilidad de agua, su gestión sostenible y el saneamiento para todas las personas. La tercera meta de este ODS es: *“De aquí a 2030, mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación, eliminando el vertimiento y minimizando la emisión de productos químicos y materiales peligrosos, reduciendo a la mitad el porcentaje de aguas residuales sin tratar y aumentando considerablemente el reciclado y la reutilización sin riesgos a nivel mundial”* (Naciones Unidas, 2020), de la cual se desprende que es necesario desarrollar nuevos procesos que ayuden a mejorar el tratamiento del agua para consumo y del agua residual.

En la actualidad, no todos los procesos productivos son amigables con el medioambiente, ya que con el avance de la tecnología se han creado productos que son beneficiosos para la salud, pero que son de difícil degradación y como consecuencia son vertidos en ríos, lagos y mares. Por lo anterior, se hace necesario estudiar en detalle estas sustancias químicas, para conocer el efecto en las personas, pero también para determinar cómo removerlas en los procesos de tratamiento de aguas residuales.

## 1.1. Tratamiento de Aguas Residuales

Las aguas residuales se definen como una combinación de residuos líquidos, o aguas portadoras de residuos, que provienen tanto de residencias como de instituciones públicas y establecimientos industriales y comerciales (Metcalf & Eddy, 2014). Entre los tipos o composiciones de estas aguas, se tiene:

- Agua residual doméstica o sanitaria, comúnmente llamadas aguas residuales urbanas: Provenientes de instalaciones comerciales públicas o de zonas residenciales.
- Agua residual industrial: Derivada de procesos o vertidos industriales.
- Infiltraciones: Agua que penetra las alcantarillas por filtraciones en la superficie.
- Aguas Pluviales: Agua resultante de la escorrentía superficial producto de las lluvias.

Debido a la naturaleza de las distintas clasificaciones de las aguas residuales, es que se hace necesario el análisis frente a las problemáticas actuales, como por ejemplo, salud e higiene de las personas, uso eficiente de los recursos hídricos y tratamientos amigables con el medioambiente. Esto último, debido a que entre los compuestos presentes en las aguas residuales hay materia orgánica e inorgánica de difícil degradación, por lo que se convierten en un riesgo para el ecosistema. Dentro de las sustancias que se pueden encontrar presentes en los cauces hídricos, se tiene sólidos suspendidos, materia orgánica biodegradable, patógenos, nutrientes, metales pesados, sólidos inorgánicos disueltos, entre otros (Metcalf & Eddy, 2014).

Las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) se caracterizan por la unión de operaciones y procesos unitarios que se conocen como tratamientos primarios (físicos), secundarios (biológicos y químicos), terciarios y cuaternarios (combinaciones extras) o avanzados, los que dependen de la naturaleza propia del agua de cada lugar en donde están ubicadas. A continuación se define cada uno de los tratamientos:

- Tratamientos primarios: Se definen como operaciones unitarias físicas, entre las que se destaca la sedimentación y/o desbaste, que permiten la eliminación de sólidos sedimentables y sobrenadantes presentes en el agua residual. Es común encontrar estanques de sedimentación para poder separar las partículas suspendidas del agua clarificada.

- Tratamientos secundarios: Son procesos químicos y biológicos empleados para eliminar la mayor parte de la materia orgánica, disminuyendo la cantidad de nutrientes y eliminando agentes patógenos. Algunos ejemplos son: procesos aerobios, anaerobios y anóxicos (Lagrille, 2017).
- Tratamientos terciarios y cuaternarios: En general son combinaciones de procesos y operaciones unitarias para eliminar sustancias que no pueden ser eliminadas en las etapas anteriores. Dentro de estos procesos se encuentra la cloración.

### Lodos Activados

El proceso de lodos activados corresponde a uno de los tratamientos secundarios presentados previamente. Entre los objetivos más importantes del tratamiento biológico de un agua residual, está la coagulación y eliminación de sólidos no sedimentables en los procesos físicos, además de la estabilización de la materia orgánica por medio de la eliminación de nutrientes. Este proceso, produce una masa activada de microorganismos capaces de digerir un residuo de manera aerobia. Específicamente, se tiene un reactor aerobio que posee una cantidad de microorganismos en suspensión, que en conjunto con la materia orgánica que ingresa, forma un “licor de mezcla”, el cual es completamente mezclado gracias a la aireación recibida de forma constante. Con el paso del tiempo, la materia orgánica de mayor edad sedimenta y es recirculada al reactor para mantener la concentración de microorganismos deseada, mientras que el resto del lodo es purgado (Metcalf & Eddy, 2014).

En la *Figura 1.1* se presenta visualmente el proceso de Lodos Activados. Este proceso comienza con una corriente afluyente, proveniente de un tratamiento previo (primario), que ingresa al reactor aerobio. Luego, se obtiene el licor de mezcla en el reactor, que posteriormente es llevado a un sedimentador, donde el producto es una corriente clarificada (que corresponde al efluente) y otra rica en sólidos suspendidos, la que se subdivide en recirculación (de regreso al reactor) y purga.

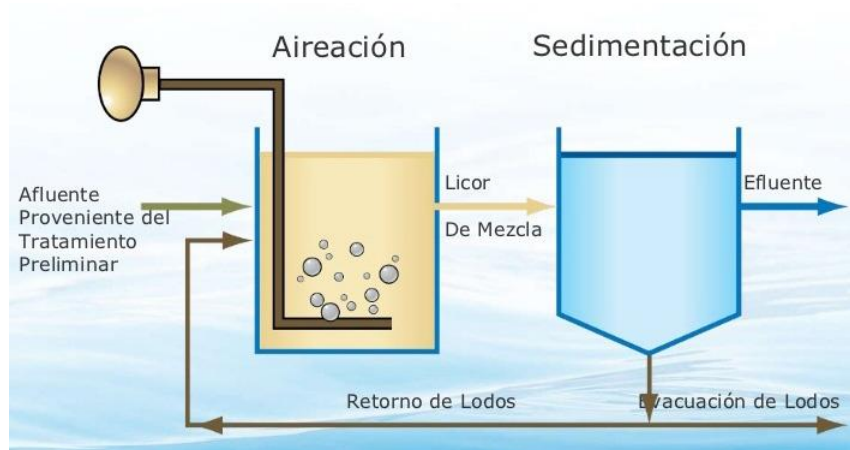


Figura 1.1 Sistema de Lodos Activados (Spena Group, 2016).

La operación, mantención y control del proceso de lodos activados requiere de un monitoreo constante a ciertas variables, las que aseguran el éxito del tratamiento. A continuación, se detallan las variables operacionales características en el monitoreo y control de una planta de lodos activados (Metcalf & Eddy, 2014):

- Oxígeno Disuelto (OD): Como lo indica su nombre, corresponde a la cantidad de oxígeno que está disuelto en el licor del reactor y permite regular la aireación de las bacterias ahí presentes. Esta variable indica el comportamiento de los microorganismos frente a la aireación u otras sustancias que podrían afectar su respiración (actividad microbiana). Su valor óptimo va entre los 1.5 y 4 mg/L, siendo 2 mg/L la concentración normalmente empleada.
- Demanda Química de Oxígeno (DQO): Es un indicador de la cantidad de materia orgánica presente en las aguas residuales. Corresponde a la oxidación química de la materia orgánica y determina cuánto oxígeno se requiere para esta acción., La eficiencia de eliminación de DQO para un sistema de lodos activados puede alcanzar hasta el 85%.
- Iones  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ : Corresponden a la concentración de iones nitrato, nitrito y fosfato, los que representan macronutrientes para las bacterias. Estos compuestos se miden a la entrada y salida del sistema, para verificar la degradación y respiración de los microorganismos presentes en el reactor.

- Sólidos Suspendidos (SS): Se componen de materia inorgánica y orgánica, incluyendo microorganismos, y corresponde a los sólidos en suspensión presentes en el sistema o reactor. Estos pueden ser totales en el caso de todos los sólidos suspendidos (SST), o volátiles si sólo se contempla la materia orgánica suspendida (SSV), y su valor va entre los 2500 y 4000 mg/L.
- Tiempo de retención hidráulica (TRH): Se define como el tiempo de residencia del agua residual a tratar, desde su entrada a la salida del reactor o sistema. El valor del TRH para un sistema de lodos activados varía entre 3 y 6 h.
- Tiempo de retención celular (TRC): Corresponde al tiempo de residencia promedio de los microorganismos en el reactor. También se conoce como Tiempo de Retención de Sólidos, y representa la edad del lodo en el reactor expresada como la masa de microorganismos en el reactor sobre la masa purgada diariamente. El valor del TRC para un sistema de lodos activados varía entre 3 y 15 d.
- Relación Alimentación/Microorganismos (F/M): Es la relación entre la cantidad de materia orgánica, sustrato o alimento que ingresa diariamente al sistema por medio del afluente y la cantidad de microorganismos presentes en el reactor. Su valor óptimo se encuentra entre 0.2 y 0.6  $\text{kg}_{\text{DBO5}}/\text{kg}_{\text{SST}}\cdot\text{d}$ .
- Productividad (Y): Es un indicador de la producción celular, debido a que relaciona la cantidad de células producidas en el reactor por la cantidad de materia orgánica eliminada. Es la relación directa entre los microorganismos producidos según el alimento proporcionado y condiciona la purga necesaria del sistema. El valor óptimo para la productividad es de 0.4  $\text{gSSV}/\text{gDQO}$ .

## **1.2. Contaminantes Emergentes**

Los contaminantes emergentes son sustancias comúnmente denominadas “microcontaminantes” ya que se encuentran presentes en las aguas residuales en bajas concentraciones y son difíciles de remover con los sistemas de tratamiento tradicional. Estos compuestos pueden tener diferente naturaleza química, lo que hace más

desafiante el proceso de remoción de ellos, debido a la especificidad que requiere cada uno (Water & Directive, 2003).

A raíz de los problemas medioambientales generados por los contaminantes, es importante que exista una regulación y un cuidado por los cursos de agua tanto superficiales como subterráneos. En el caso de los contaminantes emergentes, corresponden en su mayoría a compuestos no regulados, pero existen investigaciones que indican cómo podrían impactar en la salud de las personas o animales. Algunos ejemplos pueden ser los compuestos farmacéuticos, productos de cuidado personal y aditivos de gasolina, entre otros. En la Tabla A.1 del Apéndice A se detalla cada categoría.

En relación a los compuestos farmacéuticos, uno de los antibióticos más utilizados es la Oxitetraciclina (OTC) la cual es del tipo tetraciclina y se utiliza como antimicrobiano en tratamientos médicos humanos y animales (C. Andrade, 2018). Los avances tecnológicos han permitido que con el tiempo los fármacos humanos sean de mejor calidad y más selectivos, pero debido al bajo costo de la OTC, esta se sigue usando en medicina veterinaria para fortalecer el crecimiento, particularmente en aspectos oftalmológicos y dermatológicos (Cheng et al., 2013). Entre las características químicas de la OTC se tiene que es un polvo amarillo cristalino, hidrosoluble y que posee una estructura molecular de gran tamaño, con un peso molecular de 460.4 g/mol. Entre sus principales propiedades está la de ser un agente quelante, es decir, evita que se formen compuestos dañinos, y el mecanismo por el que lo realiza es a través de la unión de iones metálicos formando anillos, impidiendo la precipitación de compuestos no deseados (Xuan et al., 2010).

### Remoción de Contaminantes Emergentes

Dado el escenario actual de contaminación ambiental, especialmente de aguas residuales, se ha establecido una preocupación especial en la remoción de los contaminantes en los tratamientos actuales. Si bien los lodos activados, como

tratamiento secundario, intentan remover la materia orgánica por medio de microorganismos, la remoción de OTC es del 40% (Gao et al., 2012). Lo anterior indica que un porcentaje significativo de este compuesto no se remueve efectivamente en los tratamientos convencionales (Leal et al., 2017), llegando junto con otras sustancias a ríos, mares, lagos y recursos hídricos en general, por lo que se requiere de una siguiente fase o de la aplicación de tratamientos avanzados.

Entre los tratamientos terciarios y cuaternarios o avanzados que se han desarrollado en los últimos años, se tienen los biofiltros de arena con carbón activado, los que se sitúan después de los tratamientos biológicos. Este proceso consiste en tanques o columnas que tienen capas de arena y carbón activado, donde se retiene los contaminantes emergentes en el carbón activado de forma selectiva, debido a su capacidad como material adsorbente (Paredes et al., 2016). También se han estudiado reactores de membrana con carbón activado, que se caracterizan por el uso de membranas en vez de un sedimentador o decantador secundario; de esta forma es posible ahorrar espacio y retener en ellas los contaminantes emergentes (Alvarino et al., 2017). Una de las técnicas más modernas es el tratamiento por medio de enzimas, las que aportan a la remoción de los contaminantes emergentes ya sea en reactores de membranas o post tratamientos luego de los sistemas conocidos. Una de ellas es la enzima lacasa, la cual de acuerdo con los estudios actuales permite la degradación de varios contaminantes a temperatura ambiente y usando oxígeno disuelto en agua (Cazes et al., 2014).

Aun cuando los tratamientos mencionados previamente, han tenido buenos resultados, en la literatura aún no se presentan estudios que incorporen de manera activa los principios de cada uno, como las propiedades de los microorganismos en conjunto con la capacidad de adherencia del carbón activado y los beneficios de las enzimas. En palabras simples, aún no se ha reportado el desarrollo de tecnologías donde se aplique directamente mejoras a los reactores aerobios del sistema de lodos activados, sino que lo que se reporta es la acción de membranas y tratamientos posteriores.

## **2. Objetivos**

### **2.1.General**

Estudiar la remoción de Oxitetraciclina en una planta de lodos activados por medio de la aplicación de un biocatalizador compuesto de enzima lacasa inmovilizada en carbón activado.

### **2.2.Específicos**

- Monitorear y controlar una planta de lodos activados a escala de laboratorio para la remoción de materia orgánica por medio de microorganismos.
- Producir y concentrar enzima lacasa para obtener un biocatalizador capaz de remover la Oxitetraciclina presente en el reactor.
- Estudiar el efecto que tiene un contaminante como la Oxitetraciclina y un biocatalizador en la planta de lodos activados y sus microorganismos.

### 3. Materiales y métodos

Para estudiar la remoción de Oxitetraciclina en una planta de lodos activados por medio de la aplicación de un biocatalizador compuesto de enzima lacasa inmovilizada en carbón activado, la metodología se dividió en tres partes (*Figura 3.1*): **1) operación de la planta de lodos activados, 2) fabricación del biocatalizador y 3) estudio del efecto del biocatalizador.** En una primera etapa, se comenzó con la puesta en marcha de la planta de lodos activados a escala de laboratorio, donde se realizó control y monitoreo periódico, para asegurar una operación en estado estacionario. De forma paralela se procedió con la fabricación del biocatalizador, que incluyó el cultivo del hongo *Trametes versicolor* para la obtención de enzima lacasa y su posterior concentración por medio de ultra filtración. Finalmente, se inmovilizó la enzima lacasa en carbón comercial que fue activado previamente por medio de un baño en ácido clorhídrico (CCA). En la etapa final, se adicionó el contaminante emergente en el afluente de planta de tratamiento de aguas a una concentración constante durante 20 d. Una vez alcanzado el estado estacionario, se agregó el biocatalizador producido a base de enzima lacasa y carbón activado, en 3 pulsos desfasados por 7 d cada uno. El monitoreo del proceso se realizó por medio de muestras diarias del efluente, o agua tratada de la planta, en las que se cuantificó el contenido de contaminante, para su posterior análisis.

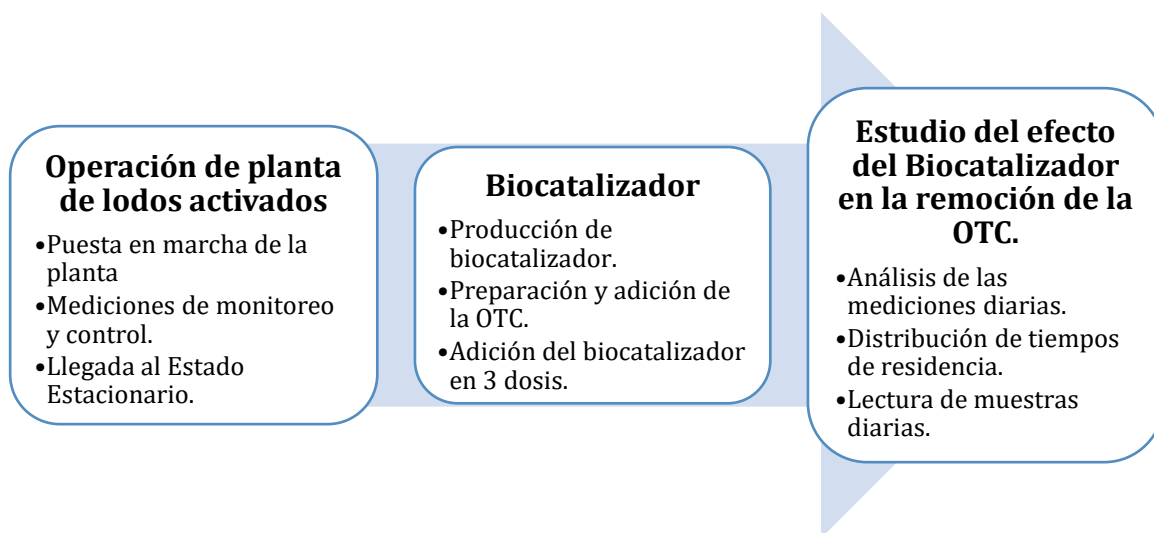


Figura 3.1. Descripción del estudio realizado.

Para evaluar el efecto del biocatalizador sobre la operación de planta de lodos activados a escala de laboratorio, se operó el sistema experimental durante 86 d, sin interrupciones.

### **3.1. Operación de la planta de lodos activados**

#### Inóculo

El inóculo aerobio que se utilizó se obtuvo de la Planta de Tratamientos de Aguas Servidas (PTAS) El Trebal, ubicada en la comuna de Padre Hurtado, en la Región Metropolitana. Antes de su utilización, se almacenó en una cámara de refrigeración a 4°C y se caracterizó. Los valores de la caracterización se presentan en la Tabla B. 1 del Apéndice B.

De acuerdo con la literatura, la planta de lodos activados se diseñó considerando que los valores característicos deben oscilar entre 2500 y 4000 mg/L de SST (Metcalf & Eddy, 2014), por lo que el inóculo fue añadido directamente, es decir, sin dilución, al reactor de escala de laboratorio (2 L de volumen).

#### Sistema experimental

El sistema experimental se ubicó en la Universidad Técnica Federico Santa María, Campus San Joaquín, específicamente en el Laboratorio de Digestión Anaerobia del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

La *Figura 3.2* muestra el sistema experimental de la planta de lodos activados utilizada, la cual se compone de un estanque plástico de alimentación E-1, reactor aerobio de acrílico R-1, cono Imhoff de acrílico S-1 como sedimentador, y un estanque de almacenamiento de plástico de salida E-2.

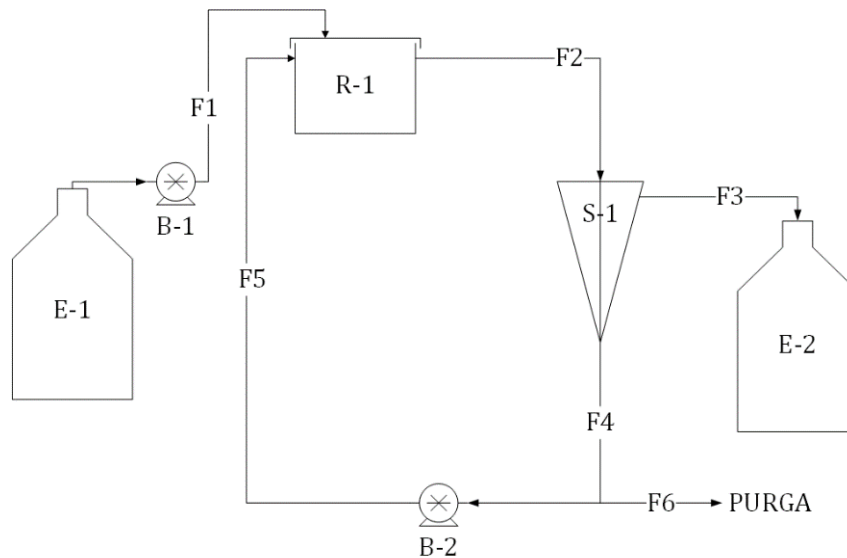


Figura 3.2. Sistema experimental planta de lodos activados a escala de laboratorio.

El funcionamiento de la planta se inició con un flujo de alimentación F1 desde E-1 a R-1 controlado por la bomba B-1, el que se estableció en un valor de 6.5 L/d de afluente, obteniendo un tiempo de retención hidráulico en planta de 11.16 h. De R-1 la corriente F2 que llegaba al sedimentador S-1 separaba por gravedad las corrientes de efluente F3 y de recirculación F4 que fue controlada por la bomba de recirculación B-2. El efluente F3 fue depositado en E-2, mientras que la corriente F4 se subdividía en F5 que recirculaba a R-1 y F6 como corriente de purga que se realizó de manera diferida para mantener la carga orgánica estable dentro del reactor.

El bombeo de la corriente de alimentación y de recirculación se realizó por medio de bombas peristálticas marca Watson Marlow modelo 323, las que en el caso de B-1 estaba encendida permanentemente, y B-2 se encendía 8 veces al día por un lapso de 15 minutos por cada recirculación. Además, como se mencionó anteriormente en la teoría de los lodos activados, el reactor R-1 se mantuvo con aireación constante gracias a un compresor de aire marca Marina 75, con un flujo de aire de hasta 60 L/h manteniendo una concentración de oxígeno disuelto entre 1.7 y 3.1 g/L.

### Control y mantención diaria

La planta de lodos activados se alimentó y controló diariamente de manera que su mantenimiento fuera el adecuado para poder realizar las pruebas posteriores. Se utilizó un Residuo Industrial Líquido (RIL) sintético acorde a lo estipulado según la normativa vigente que permitiera simular una planta de tratamiento de aguas servidas a escala industrial (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 2010). En la Tabla 3.1 se detalla la composición del RIL sintético utilizado, los cuales fueron disueltos en agua tipo III (ASTM, 2001).

Tabla 3.1. Compuestos y concentraciones utilizadas para preparar el RIL sintético.

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración mg/L</b>
Peptona	180
Extracto de carne	124
Urea	34
$K_2HPO_4$	124
NaCl	23
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	13
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	7

Las variables de operación monitoreadas fueron establecidas según lo propuesto por la literatura (Metcalf & Eddy, 2014). Todas estas fueron medidas diariamente, para garantizar el estado estacionario y actuar frente a posibles perturbaciones, como las variaciones en la temperatura ambiente. Estas se presentan a continuación:

Temperatura del reactor: Esta se reguló entre 18 y 22 °C, ya que ese valor permite tener una adecuada actividad de los microorganismos. Para mantener la temperatura del laboratorio constante, se utilizó un equipo de aire acondicionado.

pH: En el caso del afluente, se ajustó en un valor de 7.0 para simular una planta a escala industrial, y se consideró como un indicador del estado de la alimentación, indicando si está fresca o ya degradada. Además, se ajustó el pH del reactor para monitorear la actividad de los microorganismos en cuanto a su acidificación o alcalinidad. Este se ajustó entre 6.5 y 7.5 utilizando bicarbonato de sodio en solución, a una concentración de 2 g/L, y fue medido con un medidor de pH marca HANNA Instrument.

Oxígeno disuelto en el reactor: Este valor se controló para mantenerlo en torno a 2 mg/L, para favorecer la actividad microbiana. El equipo utilizado fue el medidor multiparámetro modelo HI 2020 EDGE marca HANNA Instrument, el que se caracteriza por tener un electrodo que al sumergirse en una solución entrega la concentración en mg/L de oxígeno disuelto (HANNA Instruments, n.d.). Para el caso en estudio, se procuró que la concentración estuviese alrededor de los 2 mg/L (Metcalf & Eddy, 2014), y por medio del compresor se reguló la válvula de aire para mantener una concentración uniforme de oxígeno disuelto en el reactor. Es importante recalcar que el funcionamiento del medidor de OD depende del estado de la membrana del electrodo y de la calibración correspondiente, aspectos que fueron revisados regularmente.

Demanda Química de Oxígeno (DQO): Como se describió en la teoría, la DQO se define como la oxidación química de la materia orgánica y determina cuánto oxígeno se requiere para esta acción. El método utilizado para su medición fue el indicado por la Asociación Americana de Salud Pública (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1999), el que se caracteriza por la utilización de una solución catalítica compuesta por ácido sulfúrico y sulfato de plata, y una solución digestora compuesta por dicromato de potasio, ácido sulfúrico y sulfato de mercurio. La digestión se realizó a reflujo cerrado. Se midió la DQO total y soluble de cada muestra, donde la diferencia corresponde a la utilización de un filtro de membrana de nitrato de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$ . Se monitoreó 7 muestras de forma periódica: afluente, afluente soluble, reactor (dilución 2.5:50), reactor soluble, recirculación (dilución 2.5:50), efluente y efluente

soluble. Inicialmente, las mediciones se realizaron dos veces por semana; luego de agregar el contaminante emergente se cambió a 3 veces por semana (ASTM, 2001).

Sólidos Suspendidos Totales (SST): Los sólidos medidos fueron suspendidos totales, y el método utilizado también se basa en el indicado por la Asociación Americana de Salud Pública (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1999), el que se caracteriza por el uso de papel filtro de fibra de vidrio, que permite filtrar y someter las muestras a temperaturas de 105°C. El volumen utilizado para cada medición fue de 10 mL, las cuales fueron: afluente, efluente, reactor y recirculación. Estas mediciones se realizaron inicialmente una vez por semana, y luego de agregar la OTC en la alimentación se midió 3 veces por semana (ASTM, 2001).

Iones  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ : Para medir nitratos, nitritos y fosfatos se utilizó el equipo QUANTOFIX ® Relax junto a tiras reactivas marca Macherey-Nagel. Estas tiras reaccionan con el compuesto a cuantificar. Estos compuestos fueron medidos inicialmente 2 veces por semana, pero luego de agregar el antibiótico en la alimentación se midió 3 veces por semana (ASTM, 2001). Para cada uno de los iones, los rangos de medición del equipo son los siguientes (Macherey-Nagel, 2020):

- Nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ): 10 – 500 mg/L
- Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ): 0.5 – 80 mg/L
- Fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ): 3 – 80 mg/L

### **3.2. Biocatalizador**

#### Producción del biocatalizador

El biocatalizador utilizado estuvo constituido de enzima lacasa inmovilizada en carbón activado (CCA). Para la obtención de esta enzima se desarrolló el siguiente proceso de producción: producción de la enzima, filtrado del cultivo para remover sólidos

suspendidos, concentración de la enzima por ultrafiltración e inmovilización en el soporte (CCA).

La etapa de producción de enzima se realizó por medio de un caldo de cultivo compuesto por 1 L de una solución de salsa de tomate marca Mutti Pomodoro al 15%v/v con 400  $\mu$ M de ion cobre en forma de sulfato de cobre pentahidratado como inductor (Blair, 2018) y 10 plugs de hongo *Trametes versicolor*. El cultivo se incubó en matraces de 2 L con 100 mL de caldo durante 2 semanas, hasta que se observó crecimiento del hongo en forma de micelio. Posteriormente, este micelio observado se trituró en una juguera durante 1 min obteniendo un micelio homogéneo y se utilizó como inóculo para el cultivo agitado.

El cultivo agitado se realizó en dos reactores de tanque agitado de volumen 2 L cada uno, con aireación en cámara caliente a 30 °C. Se inoculó un 10% del volumen del reactor con el micelio homogeneizado preparado previamente y se monitoreó diariamente la actividad enzimática de lacasa y de azúcares reductores, con el objetivo de determinar el avance del proceso. Luego de 9 d de cultivo, se midió la actividad enzimática, procurando que estuviese cercana a las 1000 U/L y que la concentración de azúcares reductores fuese menor de 2 g/L. Alcanzados estos valores, se procedió a detener el reactor para pasar a la etapa de filtrado.

Los azúcares reductores se cuantificaron por medio del método DNS, el que se caracteriza por el uso del reactivo DNS-Fenol a una longitud de onda de 640 nm (Miller, 1959). La actividad enzimática de la lacasa se cuantificó utilizando ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS) con buffer acetato de sodio 400 mM a pH 5 (Muñoz et al., 1997), donde se midió la velocidad de transformación de ABTS a 436 nm. Ambas mediciones se realizaron en un espectrofotómetro modelo SPECORD 200 plus, marca Analytik Jena.

El caldo de cultivo producido en los reactores, tras 9 d de cultivo, fue filtrado utilizando un filtro Whatman 1 y una bomba de vacío, para poder separar los sólidos en

suspensión. El líquido obtenido se guardó en frascos estériles de plástico que se congelaron, para la posterior etapa de concentrado. Para concentrar la enzima se preparó una celda Amicon Modelo 8400 de 400 mL con una membrana de 10 kDa marca Millipore. Después de cada proceso de concentración, la enzima contenida en la membrana fue nuevamente suspendida utilizando un buffer fosfato 100 mM pH 7, para luego medir la actividad enzimática de la lacasa. Un último análisis de esta etapa fue la cuantificación de la concentración de proteínas de acuerdo con el método Bradford (Bradford, 1976) en donde por medio del reactivo Azul de Coomassie se determinó la concentración de proteínas en la solución, a una longitud de onda 595 nm.

La última etapa en la producción del biocatalizador fue la inmovilización de la enzima en carbón activado, proceso en que se agregó 10 mg/mL de carbón activado en una solución de enzima 0.15 mg/mL de proteína. Para poder llegar a la concentración determinada de proteína se utilizó buffer fosfato 500 mM, lo que permitió inmovilizar 1.5021 g del carbón comercial granular de 12-20 Mesh con un área superficial de 600 m<sup>2</sup>/g, marca Sigma Aldrich, el cual fue previamente activado con HCl (CCA). La mezcla de enzima y carbón se dejó en tubos falcón de 50 mL y se agitó por 24 h en roller a una temperatura de 4°C. Luego que se cumplió el tiempo establecido, se centrifugó a 5000 RPM por 5 min a una temperatura de 4°C, donde se separó la fase sólida de la líquida, y se midió la actividad enzimática de la lacasa en el sobrenadante remanente, observando que fuera menor a 10 U/L. Luego de haber concluido la etapa de inmovilización, se realizó una última medición de la actividad enzimática de la lacasa y el biocatalizador se refrigeró para su posterior uso.

### **3.3. Estudio del efecto del Biocatalizador en la remoción de la OTC**

Se utilizó Oxitetraciclina (OTC) marca Sigma Aldrich con 95% de pureza. Su cuantificación se realizó mediante cromatografía líquida (HPLC). La solución madre utilizada tenía una concentración de 250 mg/L, la que se adicionó para alcanzar una concentración de 10 mg/L en el afluente de la planta de tratamiento de aguas a partir

de los 44 d de operación (Huang et al., 2011), con el objetivo de simular una concentración de traza como microcontaminante.

Luego de 20 d de operación (desde que se comenzó a adicionar OTC), se realizaron 3 experimentos, desfasados por 7 d cada uno, en los que se adicionó 250 mg/L de biocatalizador al reactor. Durante esta operación, diariamente se tomaron muestras del efluente de la planta, las cuales fueron filtradas con un filtro de nitrato celulosa de 0.2  $\mu\text{m}$  y dispuestas en viales ámbar para evitar la fotodegradación de la OTC. Cada muestra fue congelada para su posterior análisis en el equipo de HPLC.

### Distribución de Tiempos de Residencia

Para predecir y analizar el comportamiento del reactor durante la operación en presencia del biocatalizador, se utilizó la técnica de Distribución de Tiempos de Residencia (DTR), la que corresponde a un seguimiento del tiempo que permanecen las moléculas en estudio (OTC) dentro de un volumen determinado. Específicamente, se estudió la concentración del contaminante emergente (OTC) a la salida del sistema, que corresponde a la corriente F3 según la Figura 3.2, y la concentración a la salida del sistema del biocatalizador, en este caso la purga que corresponde a la corriente F6 según la Figura 3.2.

Para realizar el estudio de DTR se realizó el supuesto de que la OTC era un compuesto que actuaba como trazador, es decir, que no reaccionaría dentro del reactor y tampoco se adsorbería de ninguna forma en el sistema. Para el caso del biocatalizador, el supuesto utilizado consistió en que éste saldría completamente por la purga del sistema, junto con los sólidos. Se obtuvieron ecuaciones a partir de un balance de materia al reactor y sedimentador las que se adjuntan en el Apéndice C.

De forma más específica, para el caso de la OTC, se utilizó un experimento en escalón; esta función corresponde a la densidad de distribución de tiempos de residencia, indicando la fracción de antibiótico que sale del reactor teniendo como referencia la

concentración inicial. La curva y respuesta esperada para la función escalón en el tiempo se describe en la *Figura 3.3*.

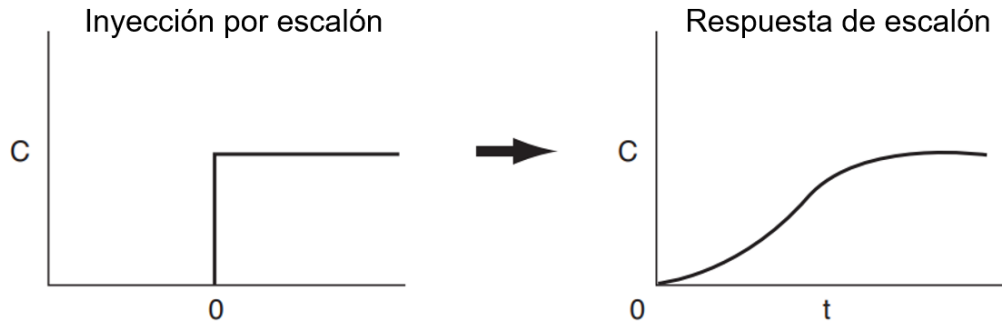


Figura 3.3. Experimento por función escalón (Fogler, 2016).

En cuanto al biocatalizador, la opción utilizada fue el experimento por función pulso; esta función corresponde a la fracción de la sustancia que permanece una cantidad de tiempo definida en el reactor. La curva y respuesta esperada para la función pulso en el tiempo se describe en la *Figura 3.4*.

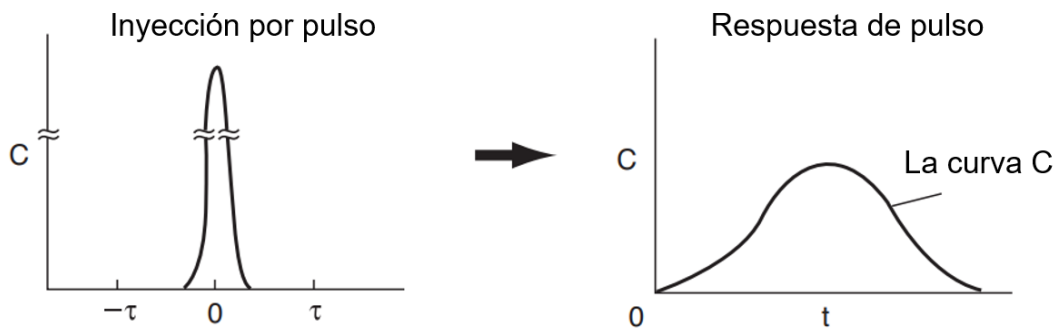


Figura 3.4. Experimento por función pulso (Fogler, 2016).

Debido a que el sistema de lodos activados se caracteriza por la recirculación, esto complejiza la resolución de los balances de materia, por lo que se necesitó de un software para la resolución y gráfica de las ecuaciones diferenciales que representarían las funciones escalón y pulso descritas. Para este estudio, se utilizó el software matemático MATLAB versión R2020b.

## 4. Resultados y discusiones

### 4.1. Fabricación del Biocatalizador

Como primera etapa del desarrollo de este trabajo, fue necesario fabricar el biocatalizador a utilizar. La actividad enzimática obtenida a partir del cultivo del hongo *Trametes versicolor* en los reactores fue de 701.57 (U/L) para el primer reactor y 1007.51 (U/L) para el segundo. Luego de filtrar y concentrar la enzima lacasa se midió la concentración de proteínas resultantes, alcanzando un valor de 0.3295 (g/L), así como la actividad enzimática del crudo la cual correspondió a 13,023.89 (U/L). Al comparar los valores de la actividad enzimática luego de la etapa de producción enzimática en el caldo de cultivo inicial y posterior a la etapa de concentración, se obtuvo una recuperación del 61.18 %. Posteriormente, la enzima fue inmovilizada en el carbón activado granular (CCA), la que fue utilizada para evaluar la remoción de OTC en la planta de lodos activados. Si bien hay estudios anteriores que han presentado una recuperación con respecto a la actividad enzimática superior a la obtenida con valores de 67 % (Arcos, 2019), en las últimas investigaciones los valores han sido del orden de 55% (Salinas, 2020) por lo que se concluye que la producción del crudo enzimático fue exitosa.

### 4.2. Operación de la planta de lodos activados

Atendiendo a las diversas etapas internas de la experimentación, para efectos de este documento, se separará el tiempo de experimentación en cinco tramos, de acuerdo con los distintos hitos establecidos a alcanzar en lo que respecta a la operación del reactor:

- **Tramo I (44 d):** Puesta en marcha de la planta y estado transitorio.
- **Tramo II (21 d):** Llegada al estado estacionario y operación con adición de OTC en la alimentación.
- **Tramo III (7 d):** Adición de la primera dosis de biocatalizador.
- **Tramo IV (7 d):** Adición de la segunda dosis de biocatalizador.
- **Tramo V (8 d):** Adición de la tercera dosis de biocatalizador.

### Temperatura, pH y Oxígeno Disuelto

La temperatura del reactor se mantuvo en promedio en  $21 \pm 1.8$  °C durante toda la experimentación, valor que se encuentra dentro de los rangos considerados como apropiado en la literatura (Metcalf & Eddy, 2014). Sin embargo, es importante mencionar que dentro del segundo tramo de operación (entre 45 y 65 d), se produjo un incremento significativo de la temperatura ambiente del laboratorio debido a una falla del equipo calefactor, lo que alteró la temperatura del reactor en 7 °C. Este efecto perturbó el sistema durante un par de días, pero al regresar la operación a la temperatura correcta el sistema volvió a su funcionamiento habitual.

Respecto al pH del afluente, reactor y efluente, el control de la planta permitió que estos valores se mantuvieran en torno a pH 7.0 (*Tabla 4.1*), prácticamente durante toda la operación; lo que confirma un correcto funcionamiento del sistema de lodos activados de acuerdo con lo planteado en la metodología. Específicamente en el caso del reactor, el pH es un indicador de la actividad de los microorganismos presentes en él, y su control se obtuvo gracias a la adición de la solución de bicarbonato de sodio indicada en la sección 3.1.

Tabla 4.1. pH del afluente, reactor y efluente.

<b>Sustancia</b>	<b>Tramo I (<math>\Delta t = 44</math> d)</b>	<b>Tramo II (<math>\Delta t = 21</math> d)</b>	<b>Tramo III (<math>\Delta t = 7</math> d)</b>	<b>Tramo IV (<math>\Delta t = 7</math> d)</b>	<b>Tramo V (<math>\Delta t = 8</math> d)</b>
Afluente	$6.8 \pm 0.4$	$7.0 \pm 0.3$	$7.2 \pm 0.1$	$7.2 \pm 0.1$	$7.2 \pm 0.1$
Reactor	$7.1 \pm 0.2$	$7.1 \pm 0.1$	$7.1 \pm 0.1$	$7.0 \pm 0.1$	$7.1 \pm 0.1$
Efluente	$6.9 \pm 0.3$	$7.0 \pm 0.3$	$7.1 \pm 0.1$	$7.1 \pm 0.1$	$7.1 \pm 0.1$

Para evaluar el efecto de la OTC y el biocatalizador sobre los microorganismos y su respiración, se midió diariamente la concentración de oxígeno disuelto en el reactor, variable que entregó un valor promedio para cada tramo como se muestra en la *Tabla 4.2*. El promedio global fue de  $2.4 \pm 0.7$  mg/L, lo que indicó que la aireación suministrada fue la adecuada según la literatura (Metcalf & Eddy, 2014). Además, no se

observó variaciones significativas de la concentración de oxígeno al agregar el antibiótico en la alimentación, o al dosificar el biocatalizador en el reactor.

Tabla 4.2. Medición de Oxígeno Disuelto en el reactor.

Oxígeno Disuelto mg/L	<b>Tramo I</b> <b>(<math>\Delta t = 44</math> d)</b>	<b>Tramo II</b> <b>(<math>\Delta t = 21</math> d)</b>	<b>Tramo III</b> <b>(<math>\Delta t = 7</math> d)</b>	<b>Tramo IV</b> <b>(<math>\Delta t = 7</math> d)</b>	<b>Tramo V</b> <b>(<math>\Delta t = 8</math> d)</b>
	2.3 $\pm$ 0.9	2.4 $\pm$ 0.3	2.5 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.2

### Demanda Química de Oxígeno

En función de los resultados obtenidos, fue posible indicar que al igual que con la concentración del oxígeno disuelto, la DQO tampoco se vio afectada por la adición de OTC o biocatalizador. Lo anterior se observa de acuerdo con la eficiencia de remoción de la DQO soluble en la *Figura 4.1*, donde es posible observar que no hubo variación significativa en la remoción de la DQO soluble en ninguno de los tramos de operación. En resumen, se obtuvo un promedio global de remoción de  $71.5 \pm 16.6$  %, resultado similar al obtenido en investigaciones anteriores utilizando el mismo sistema experimental (González, 2019). Sin embargo, en el caso del día 21 de operación, se obtuvo un valor de 1% de remoción, lo que se explica debido a que los días 19 y 20 se produjo una descomposición del afluente debido a problemas de temperatura en el laboratorio. Lo anterior, provocó una reducción de la DQO de entrada y por lo tanto insuficiencia de nutrientes. Luego de este episodio, se reguló la situación, y se determinó que el componente que promovía la descomposición era el extracto de carne, por lo que se comenzó a añadir a la preparación justo antes de alimentar la planta y no con mucho tiempo de anticipación, para evitar repetir el episodio.

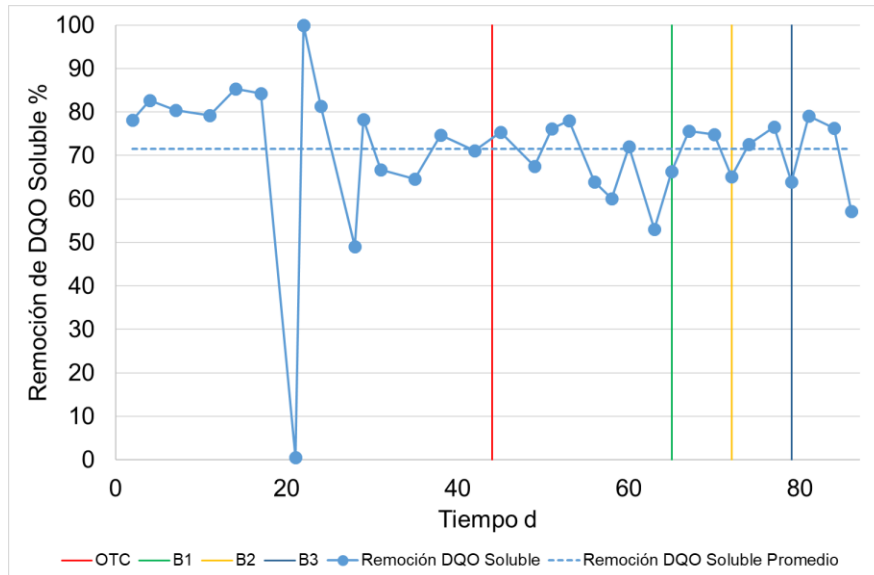


Figura 4.1. Remoción de DQO soluble en función del tiempo.

### Sólidos Suspendedos Totales (SST)

Se monitorearon los sólidos suspendidos totales presentes en el reactor con el objetivo de verificar que su concentración estuviese en el rango recomendado en la literatura, así como corroborar los efectos de la operación de la planta. Mediante la *Figura 4.2* es posible observar que en el primer tramo de operación (entre los días 1 y 44), previo a la adición de la OTC, los valores máximos y mínimos de SST presentaron grandes diferencias entre ellos, lo que se debe probablemente a que aún no se había alcanzado el estado estacionario. No obstante, una vez que este se alcanzó, los SST no se vieron influenciados por la adición del contaminante emergente o biocatalizador, manteniendo un promedio global de sólidos suspendidos de  $1,737 \pm 335$  mg/L.

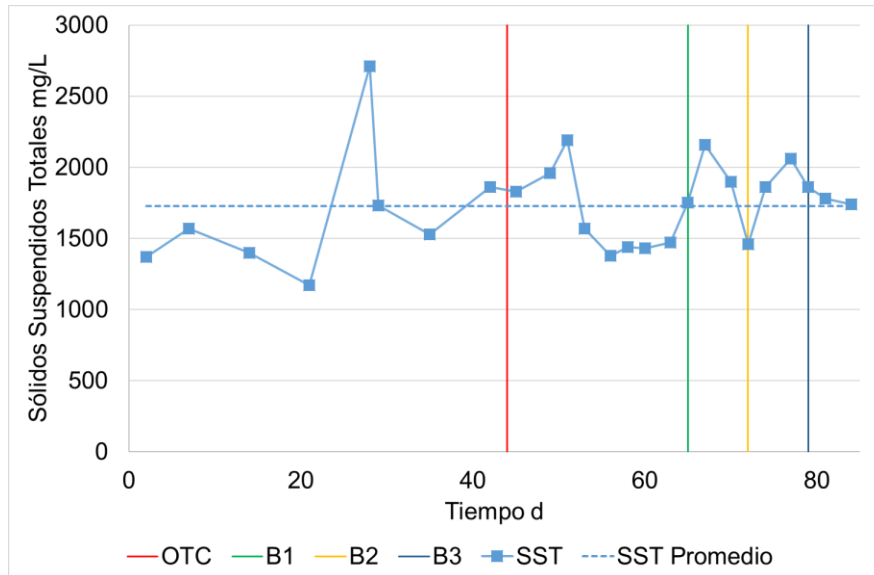


Figura 4.2. Sólidos Suspensidos Totales en función del tiempo.

#### Relación Alimentación/Microorganismos y Productividad

La *Figura 4.3* muestra la relación que se obtuvo entre la alimentación y los microorganismos en el tiempo de operación. Es posible observar que inicialmente hubo una alta variación (correspondiente con la puesta en marcha de la planta de lodos activados). Posteriormente, la relación F/M se estableció en un valor promedio de  $0.38 \pm 0.09 \text{ kg}_{\text{DBO5}}/\text{kg}_{\text{SST}} \cdot \text{d}$ , y permaneció particularmente estable en el Tramo II (después de la adición de OTC); en el que se puede notar que la relación F/M estuvo por sobre el valor promedio. Lo anterior indica que hubo una disminución en la concentración de microorganismos, debido a que la dosificación de alimentación fue constante. Podría inferirse que este resultado obtenido fue producto de la adición de antibiótico, debido a que una vez que se agregó el biocatalizador (Tramo III), la variable volvió a estabilizarse en el valor promedio antes mencionado de  $0.38 \pm 0.09 \text{ kg}_{\text{DBO5}}/\text{kg}_{\text{SST}} \cdot \text{d}$ .

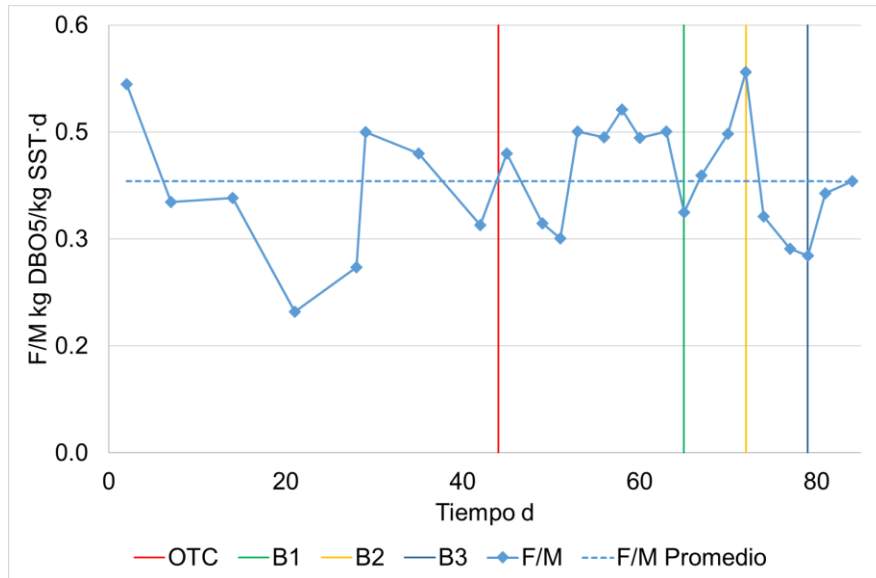


Figura 4.3. Relación concentración de Alimentación/Microorganismos en función del tiempo.

En el caso de la productividad, en la *Figura 4.4* se observa que ésta tuvo grandes variaciones entre los máximos y mínimos antes de la adición de la OTC, mientras que luego del día 44 esta brecha disminuyó, probablemente debido a que se alcanzó el estado estacionario en el sistema. El valor promedio obtenido de la productividad para todo el proceso de estudio fue de  $0.30 \pm 1.39$  gSST/gDQO lo que corresponde a un valor cercano al óptimo de 0.4 gSST/gDQO, indicando que la cantidad de microorganismos que se generaron estuvo acorde al alimento proporcionado.

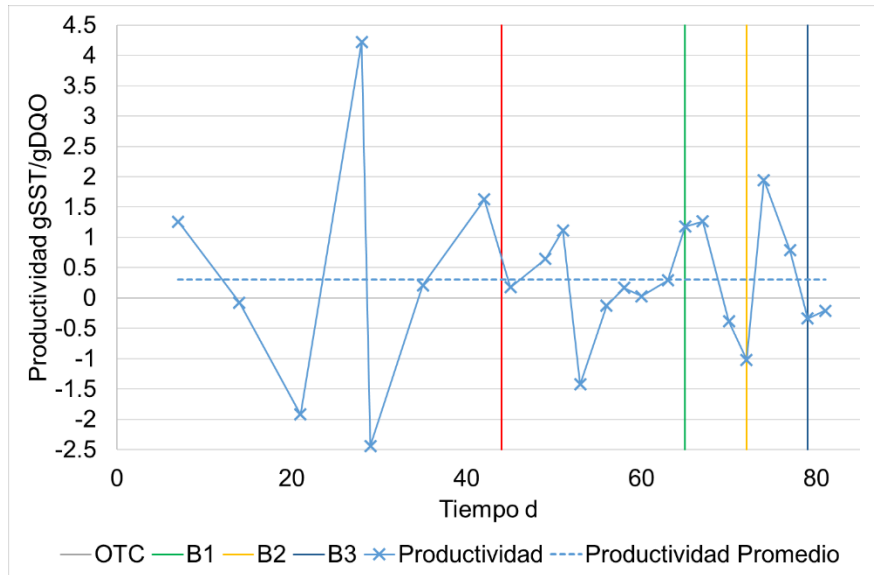


Figura 4.4. Productividad en función del tiempo.

### Nitratos, nitritos y fosfatos

El análisis de la concentración de nitratos depende directamente de la temperatura ambiente del sistema, debido a la acción de las bacterias nitrificantes. En la *Figura 4.5*, se observa que en el caso de la curva azul (concentración en el afluente), hubo una variación de la concentración de nitratos hasta el día 57, donde posteriormente se volvió constante y en torno a un valor menor a 10 mg/L, por lo que no fue posible de cuantificar debido a que se encontraba en el límite inferior de lectura del equipo utilizado. En cuanto a la concentración de nitratos en el efluente (la curva naranja), se obtuvo un resultado similar en función del tiempo de operación, pero con valores mayores a 500 mg/L, los que se encuentran por sobre el límite superior de lectura del equipo utilizado.

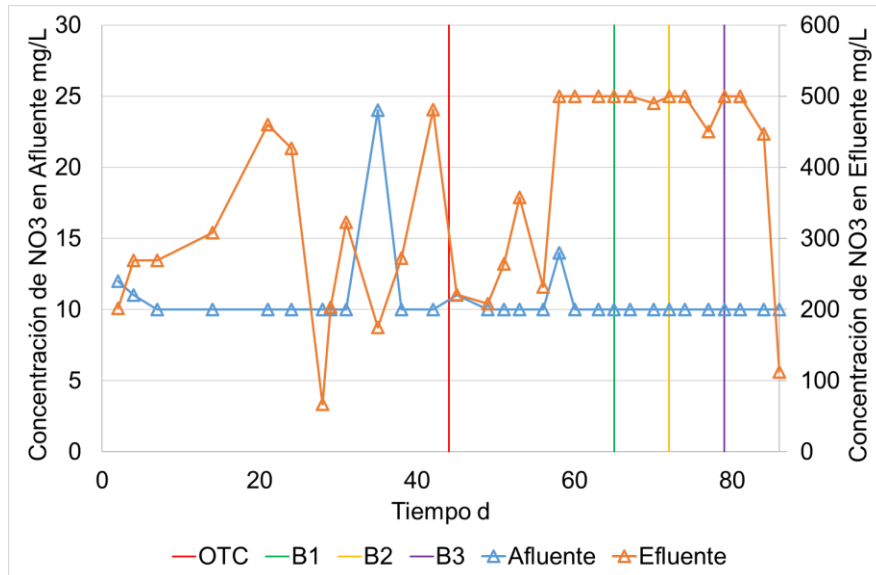


Figura 4.5. Concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en afluente y efluente en función del tiempo.

En la *Figura 4.6*, la concentración de nitritos en el afluente (representados con la curva azul) permanecieron durante la mayor parte de la operación en valores menores al límite inferior del equipo utilizado, el que corresponde a 0.5 mg/L, con excepción del día 21, momento en que se descompuso la alimentación. Respecto a la concentración de nitritos en el efluente (curva naranja), estos fueron detectados por el equipo en valores menores a 10 mg/L hasta el día 56, para luego elevarse hasta los 80 mg/L, valor correspondiente al límite superior del equipo utilizado, y comenzar a decaer lentamente hasta el final de la operación, luego de regular la temperatura del laboratorio.

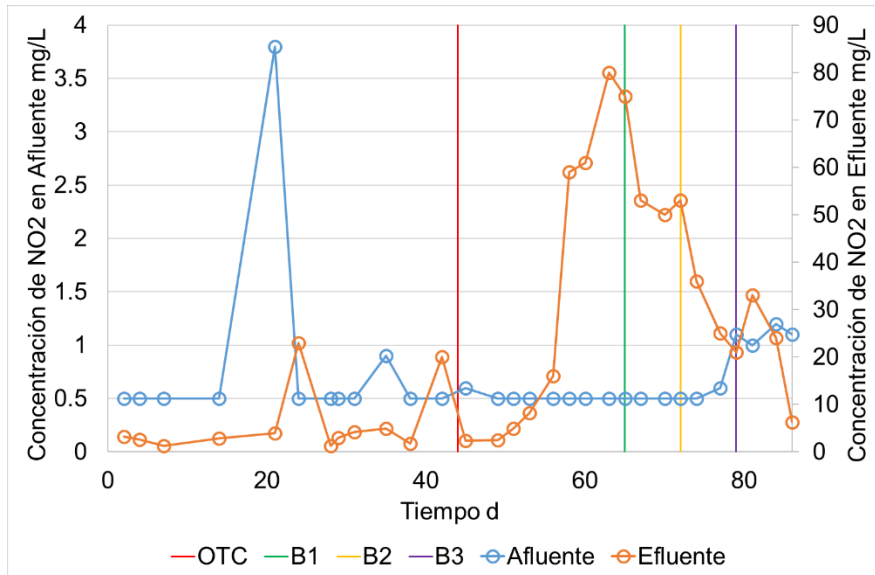


Figura 4.6. Concentración de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en afluente y efluente en función del tiempo.

En el caso de la concentración de fosfato (*Figura 4.7*), se observa que el promedio para el afluente (curva azul), fue de  $62 \pm 14$  mg/L y para el efluente (curva naranja)  $68 \pm 11$  mg/L. Si bien, se observa que la curva del afluente y la del efluente tienden al valor promedio enunciado, el día 56 se produce, al igual que con los nitritos y nitratos, un aumento en los fosfatos, llegando a valores mayores al límite superior de lectura del equipo utilizado correspondiente a 80 mg/L los que no pudieron ser leídos.

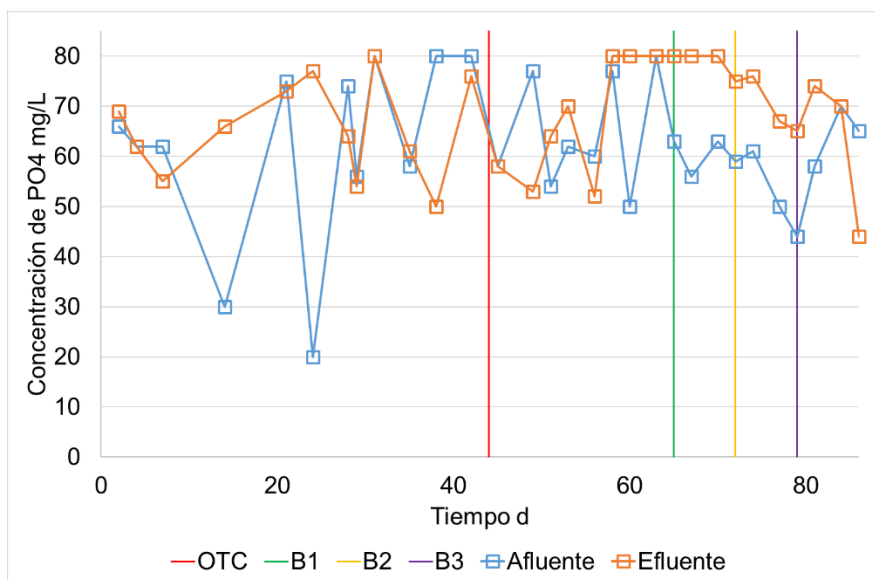


Figura 4.7. Concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$  en afluente y efluente en función del tiempo.

De acuerdo con el análisis de las *Figura 4.5* y *Figura 4.6*, se observa que no en todos los tramos de operación se obtuvo la medición precisa de los nitratos, nitritos y fosfatos en el afluente o efluente, lo que se vio principalmente afectado por el aumento de la temperatura ambiente que se produjo en el laboratorio el día 56 de operación. Sin embargo, a pesar de la desestabilización mencionada, se observa la acción de bacterias nitrificantes, transformando el nitrógeno amoniacal de la alimentación en nitritos y nitratos durante el mayor tiempo de operación de la planta. No se observó un efecto asociado a la adición del contaminante emergente o el biocatalizador.

Para el caso de los fosfatos en la *Figura 4.7*, las curvas del afluente y efluente son similares en cuanto a los rangos y promedios obtenidos, por lo que no es posible destacar una diferencia entre los fosfatos de la alimentación y el agua clarificada obtenida; no obstante, tampoco se observó un efecto provocado por la dosificación del contaminante emergente o el biocatalizador.

#### Tiempo de Retención Celular

Uno de los parámetros fundamentales de operación en una planta de lodos activados es el tiempo de retención celular; de forma adicional en este estudio, esta variable de operación se ve afectada por la adición del biocatalizador en el reactor. Desde el punto de vista experimental, el valor promedio de TRC obtenido en la planta, una vez alcanzado el estado estacionario, fue de  $5.5 \pm 1.6$  d, lo que se encuentra dentro del rango indicado por literatura (Metcalf & Eddy, 2014) con una operación adecuada. Así mismo, se entiende que previo a la adición de OTC (día 44), transcurrieron más de 3 tiempos de residencia (tres veces tiempo de retención de sólidos), lo que permitió asegurar un estado estacionario adecuado, de acuerdo con la edad del lodo. En la *Figura 4.8* se muestra el TRC en función del tiempo de operación, donde se observa que no hubo un efecto sobre el TRC debido a la adición del contaminante emergente o del biocatalizador.

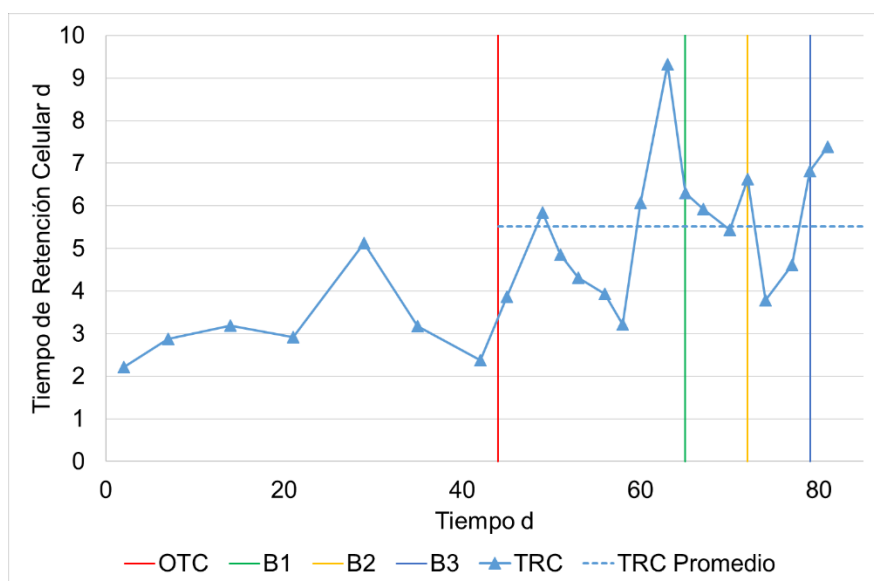


Figura 4.8. Tiempo de retención celular en función de tiempo de operación.

### 4.3. Estudio del efecto del Biocatalizador en la remoción de la OTC

Para evaluar el efecto del biocatalizador en la remoción de la OTC, en una primera etapa se estudió teóricamente lo que debería ocurrir si el antibiótico no se degradaba en el reactor, es decir, si actuaba como un trazador y salía sin modificación en el efluente. La *Figura 4.9* muestra la curva teórica de la concentración de OTC en el efluente obtenida a partir de una distribución de tiempos de residencia con una inyección en escalón, siendo la concentración esperada a la salida de 10 mg/L, correspondiente con la concentración en la alimentación. Se observa que durante las primeras 10 h se obtuvo un aumento de la concentración a velocidad constante, mientras que alrededor de las 15 h la velocidad disminuyó y la concentración se mantuvo en un valor constante, alcanzando el 90% de la concentración inicial a las 17.8 h de operación. Por lo tanto, en función de los datos obtenidos teóricamente, el tiempo en el que se alcanzaría el estado estacionario estaría 6.64 h retrasado respecto al TRH del sistema (que tuvo un valor de 11.16 h). Este retraso obtenido se debe a la recirculación instalada en el sedimentador. A partir de este resultado obtenido, es que se define el tiempo experimental del sistema, siendo mayor al que fue planteado en un principio de la operación.

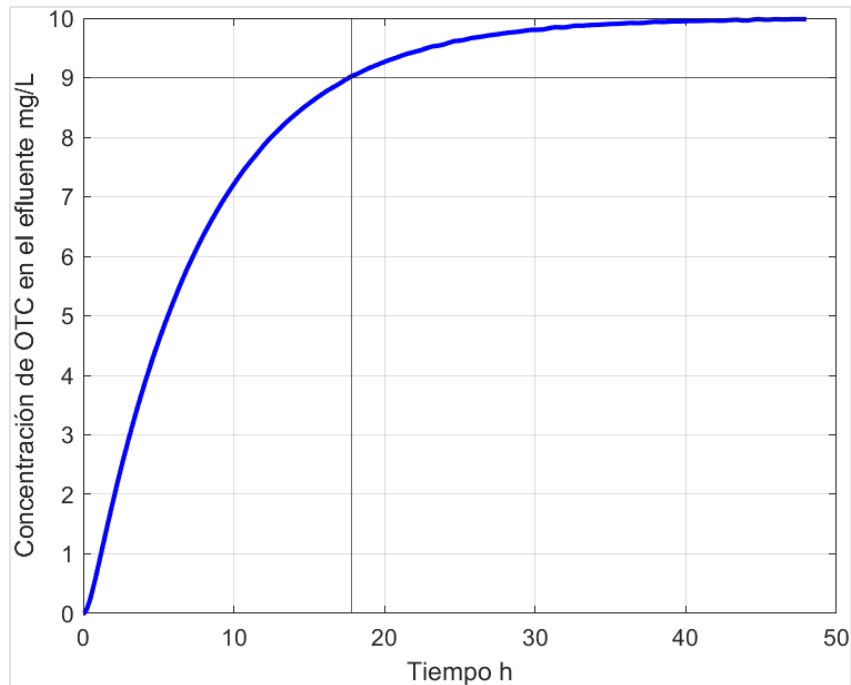


Figura 4.9. Concentración teórica de OTC en el efluente.

En el caso del efecto del biocatalizador, también se realizó el estudio teórico de distribución de tiempo de residencia en la planta de lodos activados, que permitiera determinar el momento adecuado de operación de nuevas dosificaciones; sin embargo, este nuevo estudio consideró un experimento en pulso, debido a la forma en que se añade el biocatalizador. La *Figura 4.10* muestra la concentración del biocatalizador a la salida del reactor para un experimento, considerando una concentración inicial de 250 mg/L de biocatalizador en el reactor. Siguiendo la simulación, el 10% de la concentración residual se obtiene luego de 7.4 d de operación, considerando sólo el reactor y 9 d de operación, considerando el sistema completo (incluyendo en el sistema el sedimentador). Este resultado implica, que la adición del biocatalizador realizada una vez a la semana de forma experimental se corresponde con la simulación realizada, es decir, se decidió agregar una nueva dosis de biocatalizador previo a que la totalidad de este dejara de actuar en el sistema descrito. Cabe destacar, que el valor de tiempo de residencia medio del biocatalizador obtenido fue mayor al Tiempo de Retención

Celular, correspondiente con 5.5 d; desde este punto de vista, se aseguró que el biocatalizador estuviera retenido y se renovara más lentamente que la biomasa.

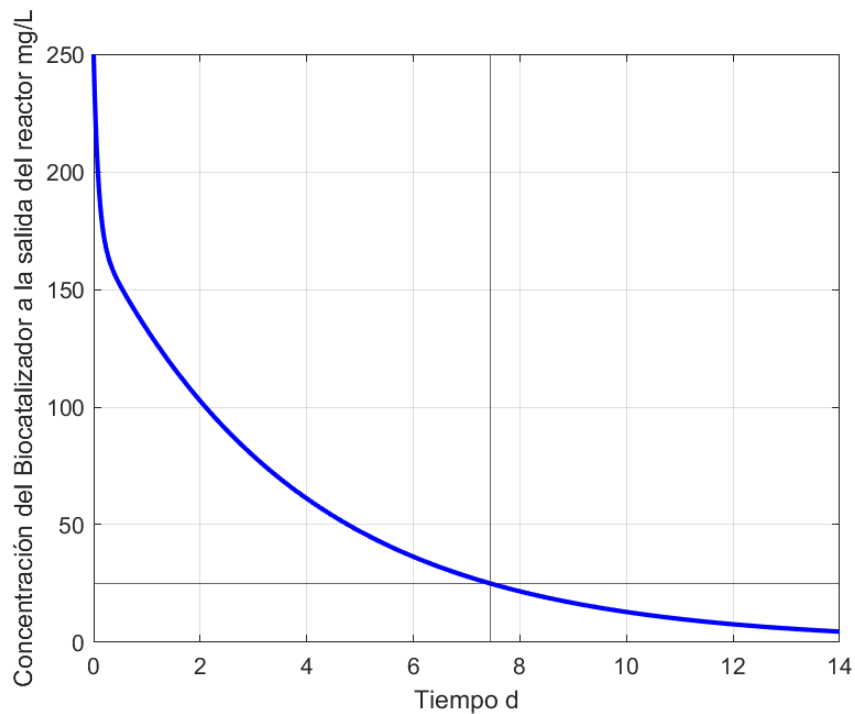


Figura 4.10. Concentración teórica del biocatalizador a la salida del reactor.

Las muestras colectadas diariamente del efluente de la planta de lodos activados permitieron cuantificar la concentración de OTC en el sistema (entre los días 40 y 86 de operación); los resultados se presentan en la *Figura 4.11*. Una vez que se añadió el antibiótico en la alimentación con una concentración de 10 mg/L, se observó como la concentración del mismo en el efluente aumentó hasta alcanzar 3.15 mg/L, pero luego decayó a 0.30 mg/L, manteniéndose en ese orden de magnitud hasta el día 55 cuando aumentó a 1.52 mg/L. El período de tiempo que abarcó entre 47 y 55 d de operación, la concentración de OTC en el efluente fue baja en comparación con el valor de la alimentación, y si bien de acuerdo con el análisis teórico en la *Figura 4.9* el 90% de la concentración del contaminante debió dejar el sistema a las 17.8 h, la lectura de las muestras diarias evidenció que sí hubo remoción de contaminante en el reactor; sin embargo, no es posible indicar si se debió a biodegradación o adsorción de los microorganismos presentes en el reactor, ya que durante 8 días el valor de la

concentración del efluente se mantuvo prácticamente constante. Desde el día 55 y hasta el día 64, se observó un aumento de la concentración de OTC en el efluente, que se estabilizó en un valor promedio de  $3.56 \pm 0.33$  mg/L, lo que indica un proceso de adsorción y saturación en la biomasa del reactor y probablemente ausencia de biodegradación.

En el día 65 de operación se realizó el primer experimento de dosificación de biocatalizador, añadiendo 250 mg/L de biocatalizador en el reactor, el cual se extendió durante 7 d, provocando una significativa disminución en la concentración de OTC en el efluente, con un promedio de  $2.88 \pm 1.21$  mg/L (*Figura 4.11*). Sin embargo, en esta primera inyección se obtuvo una gran dispersión de los valores obtenidos (diferencia entre máximos y mínimos), lo que se puede explicar como una posible adaptación del sistema biológico a la presencia de esta sustancia (el biocatalizador). Luego, se realizó el segundo experimento, agregando otra dosis de 250 mg/L de biocatalizador en el reactor el día 72 de operación, donde se observa que la concentración de antibiótico a la salida del sistema fue en promedio de  $1.95 \pm 0.71$  mg/L, valor menor al obtenido en el tramo anterior y que presenta una desviación estándar menor, lo que se podría explicar como una estabilización del sistema y adaptación positiva al biocatalizador. Finalmente, el día 79 se añade la última dosis de 250 mg/L de biocatalizador en el reactor, con el cual se observó una concentración promedio del contaminante emergente en el efluente de  $1.62 \pm 0.73$  mg/L, valor menor que los dos tramos anteriores, y finalizando el último día de operación con una concentración de 0.41 mg/L. A partir de los resultados anteriores es posible indicar que el biocatalizador actuó sobre el contaminante emergente, removiendo un 51.58 % de la OTC desde el momento en que se agregó al sistema y de forma adicional a la acción propia de adsorción de los microorganismos.

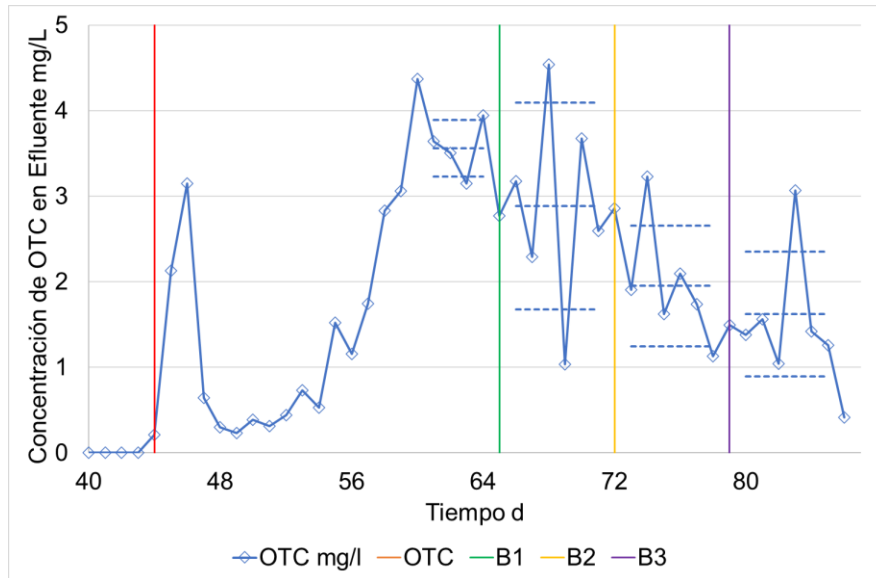


Figura 4.11. Concentración de OTC en efluente en función del tiempo.

Si bien en la literatura aún no se han encontrado estudios referentes a la remoción de contaminantes emergentes directamente desde la etapa de los lodos activados de las plantas de tratamiento de aguas residuales, es posible destacar investigaciones como las que se mencionaron en la sección 1.2. En una de ellas se estudió la remoción de microcontaminantes orgánicos farmacéuticos como el diclofenaco, carbamazepina y roxitromicina en reactores de membrana con diferentes tecnologías como láminas, microfiltración y ultrafiltración, añadiendo carbón activado en polvo en concentraciones de 250 mg/L cada 35 d (Alvarino et al., 2017). Los resultados evidenciaron que la operación fue mejor cuando se utilizó la ultrafiltración y su funcionamiento estuvo sujeto a los procesos que ocurrieron en la torta que se formó en la membrana. Con base en esta investigación, los resultados expuestos en la *Figura 4.11* muestran que la remoción de Oxitetraciclina fue exitosa, lo que se observa en los valores de remoción por medio de un biocatalizador añadido en pulsos cada 7 d sin la necesidad de una membrana, sino que utilizando carbón granular comercial activado añadido directamente en el reactor de lodos activados.

Aunque en la actualidad los procesos convencionales no están diseñados para la remoción de contaminantes emergentes, su presencia es algo que se ha evidenciado

constantemente en la literatura (Pesqueira et al., 2020), por lo que su investigación y desarrollo es necesario y como se observó en este estudio, al agregar el biocatalizador directamente al reactor de lodos activados, la remoción se pudo llevar a cabo sin alterar los parámetros para los cuales fue diseñado el tratamiento.

Desde otro punto de vista, es necesario considerar el efecto de la capacidad de adsorción del Carbón Activado (CCA) del que está constituido el biocatalizador. Tal como se presentó en la teoría (Capítulo 1), una alta capacidad de adsorción es una de las características principales de este material, permitiendo la remoción de sustancias presentes en soluciones acuosas. En estudios anteriores, se determinó que la capacidad de adsorción de OTC por medio de carbón activado granular activado con HCl se describía apropiadamente con la ecuación de Freundlich (Moyano, 2020), donde se obtuvo una capacidad de adsorción de 86.08 mgOTC/gCA cuando se tenía una concentración inicial de antibiótico de 10 mg/L. Por otra parte, considerando la misma concentración inicial de OTC, una concentración de carbón activado en el reactor de 250 mg/L y un volumen de alimentación de 6.5 L/d, luego de 7 d de operación se obtiene una capacidad de adsorción calculada de 910 mgOTC/gCA, lo que permitiría obtener una remoción efectiva del antibiótico. De esto se desprende que el carbón activado por sí sólo habría adsorbido sólo un 9.46 % del antibiótico alimentado al sistema. Además, previo a la dosificación del biocatalizador fue posible cuantificar la capacidad de remoción del antibiótico por medio de la adsorción en la biomasa (microorganismos), donde se obtuvo una remoción del 87.11 % de antibiótico durante los primeros 17 d, momento en que se observó la saturación de la biomasa y una reducción de la remoción hasta un 68.57 %. Sin embargo, todos los valores obtenidos previamente consideran la acción de carbón activado libre de enzima, es decir, no para el biocatalizador que tiene gran parte de su superficie ocupada por la enzima lacasa. Desde este punto de vista, la enzima inmovilizada reduciría la disponibilidad de sitios activos del carbón activado, reduciendo la capacidad de adsorción de OTC. En conclusión, si el carbón activado del que está fabricado el biocatalizador efectivamente hubiese absorbido el 9.46% de la OTC alimentada, en el efluente se debería haber detectado una concentración estable de 9.054 mg/L de

antibiótico; sin embargo, el valor de la corriente de salida, luego de la primera dosificación de biocatalizador, fue de 2.86 mg/L, mostrando una remoción de 73.42 %, llegando hasta un 88.28 % luego de la tercera y última dosis de biocatalizador. Esta concentración de OTC, indica que aunque la superficie del carbón activado estaba siendo utilizada por la enzima, no sólo hay un efecto de adsorción por parte del material adsorbente, sino también una biodegradación por parte de la lacasa.

Por último, dado que las variables de operación monitoreadas diariamente no se vieron afectadas como se indicó en la sección 4.2, observando una remoción de DQO constante, un valor de oxígeno disuelto en el reactor que indicó que hubo actividad microbiana y respiración por parte de los microorganismos, y un valor de pH uniforme para todo el proceso, es posible inferir que no hubo un efecto tóxico del biocatalizador sobre los microorganismos.

## 5. Conclusiones

La planta de lodos activados a escala de laboratorio se mantuvo operando por 86 días donde por medio de la acción de microorganismos se logró una operación adecuada con remoción de materia orgánica. La estabilidad del proceso se vio reflejada en los valores alcanzados para las variables operacionales monitoreadas, siendo  $71.5 \pm 16.6$  % de remoción de DQO soluble,  $0.38 \pm 0.09$  kg<sub>DBO5</sub>/kg<sub>SST</sub>·d para la relación F/M,  $1737 \pm 335$  mg/L de SST de SST y  $5.5 \pm 1.6$  d de TRC.

La producción del biocatalizador se realizó en 4 etapas, las que permitieron inmovilizar la enzima en carbón activado. Del proceso de producción de enzima, se obtuvo una inmovilización del 61.18 % de la enzima producida.

La adición de 10 mg/L de OTC en el afluente el día 44 no tuvo efectos significativos en las variables de operación del sistema. Sin embargo, se observó que hubo remoción del contaminante por parte de los microorganismos probablemente por mecanismo de adsorción hasta el día 64, donde se observó la saturación del sistema y aumento de la concentración de antibiótico en el efluente de  $3.56 \pm 0.33$  mg/L.

La adición del biocatalizador no presentó efectos significativos en las variables de operación y actividad de los microorganismos en el sistema. No obstante, al analizar el efecto sobre la remoción de OTC, se observó que el biocatalizador permitió la remoción progresiva, luego de 3 experimentos diferidos por 7 días, alcanzando una eliminación de un 51.58% del contaminante adicional a la acción de adsorción de la biomasa presente en la planta de lodos activados. La remoción de la OTC se debió a la adsorción del carbón activado presente en el biocatalizador en conjunto con la biodegradación por parte de la lacasa.

Finalmente, la adición de un biocatalizador permitiría reducir la concentración de compuestos farmacéuticos como la Oxitetraciclina, en una planta de tratamiento de

aguas residuales en funcionamiento, sin alterar el resto de los parámetros para la cual la unidad de lodos activados está diseñada.

## 6. Referencias

- Alvarino, T., Torregrosa, N., Omil, F., Lema, J. M., & Suarez, S. (2017). Assessing the feasibility of two hybrid MBR systems using PAC for removing macro and micropollutants. *Journal of Environmental Management*, 203, 831–837. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.03.023>
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, (1999).
- Arcos, C. (2019). *Biodegradación in vitro de Oxitetraciclina mediante un crudo enzimático de Trametes versicolor*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- ASTM. (2001). Reagent Water 1. *ASTM International*, 51(7916), 4–6.
- Blair, J. (2018). *Biodegradation of oxytetracycline by laccase immobilized on biomass residues*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quatitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
- C. Andrade. (2018). *Remoción de oxitetraciclina presente en soluciones acuosas usando cenizas de cáscara de arroz*. Instituto Politécnico de Leiria.
- Cazes, M. De, Belleville, M., Petit, E., Llorca, M., Rodríguez-mozaz, S., & Gunzburg, J. De. (2014). Design and optimization of an enzymatic membrane reactor for tetracycline degradation. *Catalysis Today*, 236, 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2014.02.051>
- CEPAL, N. U. (2020). *Agenda 2030-ODS*. <https://www.cepal.org/es/temas/agenda-2030-desarrollo-sostenible/acerca-la-agenda-2030-desarrollo-sostenible>
- Cheng, D. H., Yang, S. K., Zhao, Y., & Chen, J. (2013). Adsorption Behaviors of oxytetracycline onto sediment in the weihe river, Shaanxi, China. *Journal of Chemistry*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/652930>
- Fogler, H. S. (2016). Residence Time Distributions of Chemical Reactors. In *Elements of Chemical Reaction Engineering Fifth Edition* (pp. 767–806). <http://weekly.cnbnews.com/news/article.html?no=124000>

- Gao, P., Ding, Y., Li, H., & Xagorarakis, I. (2012). Chemosphere Occurrence of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant: Mass balance and removal processes. *Chemosphere*, 88(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.017>
- González, C. (2019). *Estudio de la aplicación de enzima inmovilizada sobre la toxicidad de oxitetraciclina en lodos activados*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- HANNA Instruments. (n.d.). *Instructivo HI 2020 EDGE*.
- Huang, M., Yang, Y., Chen, D., Chen, L., & Guo, H. (2011). Removal mechanism of trace oxytetracycline by aerobic. *Process Safety and Environmental Protection*, 90(2), 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2011.08.008>
- Lagrille, M. C. (2017). *Análisis de ciclo de vida para una planta de tratamiento de aguas residuales*. Universidad de Chile.
- Leal, J. F., Henriques, I. S., Correia, A., Santos, E. B. H., & Esteves, V. I. (2017). Antibacterial activity of oxytetracycline photoproducts in marine aquaculture's water. *Environmental Pollution*, 220, 644–649. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.021>
- Macherey-Nagel. (2020). *Dip & Read Tests for more than 40 substances Rapid Tests*.
- Metcalf & Eddy. (2014). Wastewater Engineering. In *Environmentally Conscious Materials and Chemicals Processing*. <https://doi.org/10.1002/9780470168219.ch8>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Moyano, N. (2020). *Efecto de la activación química de un carbón comercial en la remoción de oxitetraciclina*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Muñoz, C., Guillén, F., Martínez, A. T., & Martínez, M. J. (1997). Laccase isoenzymes of *Pleurotus eryngii*: Characterization, catalytic properties, and participation in activation of molecular oxygen and Mn<sup>2+</sup> oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6), 2166–2174. <https://doi.org/10.1128/aem.63.6.2166-2174.1997>
- Naciones Unidas. (2020). *ODS 6: Agua limpia y Saneamiento*.

- <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>  
OECD guidelines for the testing of chemicals, (2010).
- Paredes, L., Lema, J. M., Omil, F., & Carballa, M. (2016). Science of the Total Environment Understanding the fate of organic micropollutants in sand and granular activated carbon bio filtration systems. *Science of the Total Environment, The*, 551–552, 640–648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.008>
- Pesqueira, J. F. J. R., Pereira, M. F. R., & Silva, A. (2020). Effluent with. *Journal of Cleaner Production*, 121078. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121078>
- Salinas, P. (2020). *Degradación de Oxitetraciclina mediante lacasa inmovilizada en dos tipos de carbones activados*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Spena Group. (2016). *Digestión de lodos y sistemas de digestión de residuos*. <https://spenagroup.com/digestion-de-lodos-y-sistemas-de-digestion-de-residuos/>
- Water, E., & Directive, F. (2003). *Editorial Emerging pollutants in water analysis*. 22(10). [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)01106-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01106-3)
- Xuan, R., Arisi, L., Wang, Q., Yates, S. R., & Biswas, K. C. (2010). Hydrolysis and photolysis of oxytetracycline in aqueous solution. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 45(1), 73–81. <https://doi.org/10.1080/03601230903404556>

## Apéndices

### Apéndice A. Clases de compuestos emergentes.

Tabla A.1. Clases de compuestos emergentes (Water & Directive, 2003)

Clase	Ejemplos
Antibióticos veterinarios y humanos	Trimetoprima, eritromicina, lincomicina, sulfametoxazol
Analgésicos y antiinflamatorios	Codeína, ibuprofeno, acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, diclofenaco, fenoprofeno
Drogas psiquiátricas	Diazepam
Reguladores de lípidos	Bezafibrato, ácido clofíbrico, ácido fenofíbrico
Beta-bloqueante	Metropolol, propanolol, timolol
Medios de contraste de rayos X	Iopromida, iopamidol, diatrizoato
Esteroides y hormonas (anticonceptivos)	Estradiol, estrona, estriol, dietilestilbestrol
Fragancias	Almizcles nitro, policíclicos y macrocíclicos
Agentes de protección solar	Benzofenona, alcanfor de metilbencilideno
Repelente de insectos	N, N-dietiltoluamida
Antisépticos	Tricolsán, clorofeno
Tensioactivos y metabolitos de tensioactivos	Etoxilatos de alquifenol, alquifenoles (nonifenol y octilfenol), carboxilatos de alquifenol
Retardantes de llama	Éteres de difenilo polibromados (PBDE), Tetrabromo bisfenol A, fosfato de tris (2-cloroetilo)
Aditivos y agentes industriales	Agentes quelantes (EDTA), sulfonatos aromáticos
Aditivos para gasolina	Éteres de diaquilo, éter de metil-t-butilo (MTBE)
Subproductos de desinfección	Yodo-THM, bromoácidos, bromoacetnitrilos, bromoaldehidos, cianoformladehido, bromato, NDMA.

**Apéndice B.** Caracterización del inóculo aerobio utilizado.

Tabla B. 1. Caracterización de inóculo aerobio utilizado.

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
DQO	mg/L	2900
SST	mg/L	2270
SSV	mg/L	2090

### Apéndice C. Balances de materia para el estudio DTR.

A partir de la Figura 3.2, se realizó un balance de materia para el estudio de la Distribución de Tiempo de Residencia aplicado a la OTC y Biocatalizador desde la ecuación (C.1):

$$\text{Entrada} - \text{Salida} \pm \text{Reacción} = \text{Acumulación} \quad (\text{C.1})$$

La nomenclatura de las ecuaciones es la siguiente:

- $TRH_R$ : Tiempo de Retención Hidráulica del reactor.
- $TRH_S$ : Tiempo de Retención Hidráulica del sedimentador.
- $q_i$ : Caudal de la corriente i.
- $C_i$ : Concentración de OTC/biocatalizador en la corriente i, según el análisis.
- $a$ : Relación entre el caudal de recirculación y el caudal de entrada.
- $b$ : Relación entre el caudal de lodo del sedimentador y el caudal de recirculación.
- $e$ : Relación entre el caudal de biocatalizador agregado al reactor y el caudal de entrada.

- OTC:

Para este balance se utilizan las siguiente relaciones de caudal:

$q_5 = a \cdot q_1$ (C.2)	$q_4 = b \cdot q_5$ (C.5)	$q_3 = q_2 - q_4$ (C.7)
$q_2 = q_1 + q_5$ (C.3)	$q_4 = a \cdot b \cdot q_1$ (C.6)	$q_3 = q_1 \cdot (1 + a - a \cdot b)$ (C.8)
$q_2 = q_1 \cdot (1 + a)$ (C.4)		

*BM. Reactor:*

$$F_1 + F_5 - F_2 = \frac{d(V \cdot C)}{dt} \quad (\text{C.9})$$

$$q_1 C_1 + q_5 C_5 - q_2 C_2 = V_R \cdot \frac{d(C_2)}{dt} \quad (\text{C.10})$$

Reemplazando las ecuaciones (C.2), (C.3) y (C.4) en la ecuación (C.10), se obtiene:

$$q_1 C_1 + a q_1 C_1 - q_1 C_2 \cdot (1 + a) = V_R \cdot \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.11)$$

Dividiendo toda la ecuación por el volumen del reactor  $V_R$ , se tiene:

$$\frac{1}{TRH_R} \cdot [C_1 + a C_1 - C_2 \cdot (1 + a)] = \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.12)$$

Asumiendo que la concentración es homogénea en el punto de mezcla después del sedimentador, se tiene  $C_4 = C_5 = C_6$  por lo tanto  $C_3 = C_6$ . Reemplazando se obtiene:

$$\frac{1}{TRH_R} \cdot [C_1 + a C_3 - C_2 \cdot (1 + a)] = \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.13)$$

*BM. Sedimentador:*

$$F_2 - F_3 - F_4 = \frac{d(V \cdot C)}{dt} \quad (C.14)$$

$$q_2 C_2 - q_3 C_3 - q_4 C_4 = V_S \cdot \frac{d(C_3)}{dt} \quad (C.15)$$

Reemplazando las ecuaciones (C.4), (C.6) y (C.8) en la ecuación (15), se obtiene:

$$q_1 \cdot (1 + a) \cdot C_2 - q_1 \cdot (1 + a - a \cdot b) \cdot C_3 - a \cdot b \cdot q_1 \cdot C_4 = V_S \cdot \frac{d(C_3)}{dt} \quad (C.16)$$

Dividiendo toda la ecuación por el volumen del sedimentador  $V_S$ , se tiene:

$$\frac{1}{TRH_S} \cdot [(1 + a) \cdot C_2 - (1 + a - a \cdot b) \cdot C_3 - a \cdot b \cdot C_4] = \frac{d(C_3)}{dt} \quad (C.17)$$

Asumiendo que la concentración es homogénea en el punto de mezcla después del sedimentador, se tiene  $C_4 = C_5 = C_6$  por lo tanto  $C_3 = C_4$ . Reemplazando se obtiene:

$$\frac{1}{TRH_S} \cdot [(1 + a) \cdot C_2 - (1 + a) \cdot C_3] = \frac{d(C_3)}{dt} \quad (C.18)$$

Las ecuaciones (C.13) y (C.18) son las que se ingresan al software para estudiar la función escalón.

- Biocatalizador:

En este caso, se asume que se añade una corriente B directamente al reactor que corresponde a la adición de biocatalizador de un experimento.

Para este balance se utilizan las siguiente relaciones de caudal:

$q_5 = a \cdot q_1$ (C.21)	$q_2 = q_1 + q_B + q_5$ (C.23)	$q_4 = b \cdot q_5$ (C.25)
$q_B = e \cdot q_1$ (C.22)	$q_2 = q_1 \cdot (1 + e + a)$ (C.24)	$q_4 = a \cdot b \cdot q_1$ (C.26)

*BM. Reactor:*

Asumiendo el ingreso del Biocatalizador "B" directo al reactor, se tiene:

$$F_B + F_5 - F_2 = \frac{d(V \cdot C)}{dt} \quad (C.27)$$

$$q_B C_B + q_5 C_5 - q_2 C_2 = V_R \cdot \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.28)$$

Reemplazando las ecuaciones (C.21), (C.22) y (C.24) en la ecuación (C.28), se obtiene:

$$eq_1 C_B + aq_1 C_5 - q_1 C_2 \cdot (1 + e + a) = V_R \cdot \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.29)$$

Dividiendo toda la ecuación por el volumen del reactor  $V_R$ , se tiene:

$$\frac{1}{TRH_R} \cdot [eC_B + aC_5 - C_2 \cdot (1 + e + a)] = \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.30)$$

Asumiendo que la concentración es homogénea en el punto de mezcla después del sedimentador, se tiene  $C_4 = C_5 = C_6$ . Reemplazando, se obtiene:

$$\frac{1}{TRH_R} \cdot [eC_B + aC_6 - C_2 \cdot (1 + e + a)] = \frac{d(C_2)}{dt} \quad (C.31)$$

BM. Sedimentador:

$$F_2 - F_4 = \frac{d(V \cdot C)}{dt} \quad (C.32)$$

$$q_2 C_2 - q_4 C_4 = V_S \cdot \frac{d(C_4)}{dt} \quad (C.33)$$

Reemplazando las ecuaciones (C.24) y (C.26) en la ecuación (C.33), se obtiene:

$$q_1 \cdot (1 + e + a) \cdot C_2 - a \cdot b \cdot q_1 \cdot C_4 = V_S \cdot \frac{d(C_4)}{dt} \quad (C.34)$$

Dividiendo toda la ecuación por el volumen del sedimentador  $V_S$ , se tiene:

$$\frac{1}{TRH_S} \cdot [(1 + e + a) \cdot C_2 - a \cdot b \cdot C_4] = \frac{d(C_4)}{dt} \quad (C.35)$$

Asumiendo que la concentración es homogénea en el punto de mezcla después del sedimentador, se tiene  $C_4 = C_5 = C_6$ . Reemplazando, se obtiene:

$$\frac{1}{TRH_S} \cdot [(1 + e + a) \cdot C_2 - a \cdot b \cdot C_6] = \frac{d(C_6)}{dt} \quad (C.36)$$

Las ecuaciones (C.31) y (C.36) son las que se ingresan al software para estudiar la función pulso.

**Apéndice D.** Lodo de la planta antes y después de agregar el biocatalizador.

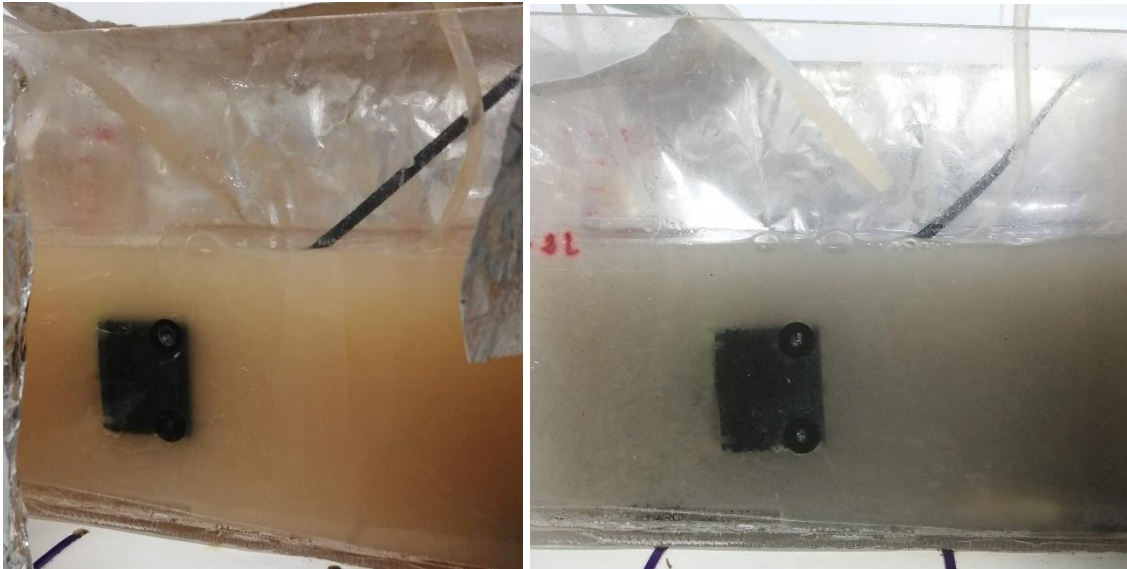


Figura D. 1. Apariencia del lodo del reactor antes (izquierda) y después (derecha) de la primera adición del biocatalizador.

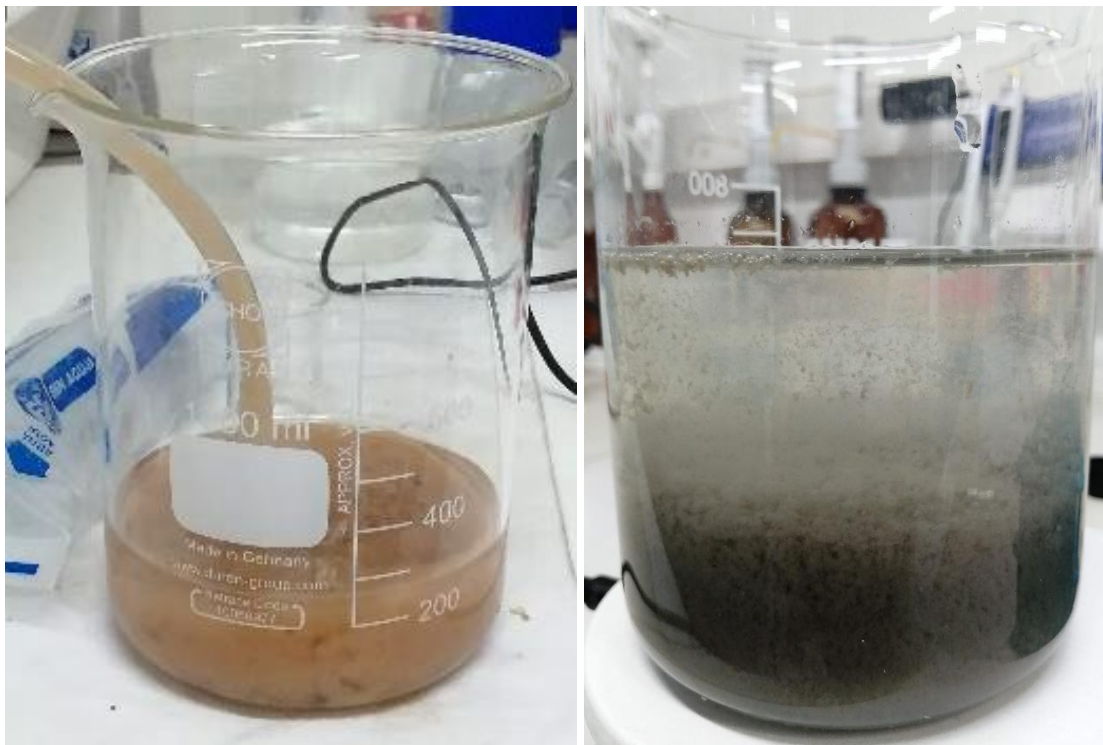


Figura D. 2. Apariencia del lodo de la recirculación antes (izquierda) y después (derecha) de la primera adición del biocatalizador.