

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL

VALPARAÍSO – CHILE



**“PUESTA EN MARCHA Y OPERACIÓN DE UN REACTOR EGSB
DESNITRIFICANTE AUTÓTROFO, PARA LA REMOCIÓN DE
NITRÓGENO A PARTIR DE NITRITO”**

CLAUDIO ANDRÉS DURÁN SÁNCHEZ

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL QUÍMICO

PROFESOR GUÍA: LORNA GUERRERO S.

PROFESOR CORREFERENTE: ANDREA BARAHONA LL.

Octubre 2016

Agradecimientos

Quisiera partir agradeciendo al Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad Federico Santa María y a la profesora Lorna Guerrero por permitirme realizar mi memoria de título en el Laboratorio de Tratamiento de Residuos Industriales Líquidos (RILES), junto con todo el personal del Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU), desde el pañol que soportaron mis peticiones de último minuto y los ajustes al reactor cada 5 días, hasta los profesores y compañeros que me ayudaron con las dudas técnicas y más de una asistencia cuando no podía estar presente en el laboratorio al momento de alguna emergencia. En especial a Andrea Barahona que me ayudó tanto en temas de diseño como con temas de investigación.

Tampoco puedo dejar de lado a mi familia y amigos, en especial a mi Padres Juan Durán y Cecilia Sánchez que me apoyaron todo este tiempo tanto en lo económico al sustentar mis estudios como en lo emocional al darme apoyo incondicional y siempre creer en mí (además de hacer un poco de presión social) lo cual me motivo para terminar y siempre seguir adelante. A mis amigos de universidad con los que pase más de una noche de estudios (o fiesta) intensa hasta altas horas de la madrugada y mis amigos de Santiago que a pesar de vernos con poca frecuencia siempre hacían la pregunta que nadie quiere escuchar, “¿y cuando está el título?”.

Por último tengo que agradecer a mi polola Estefanía Aguilera que me apoyó durante todo el proceso de la memoria y tuvo que escuchar todas las veces que me quejaba por tener que reiniciar el experimento por el motivo de turno, ayudándome a escribir la memoria y corrigiendo todos los borradores que le enviaba, sin mencionar las veces que me iba a ver a Valparaíso y se tenía que quedar sola en la casa esperando que terminara de hacer las pruebas del experimento.

Para todos ustedes esta memoria es con cariño.

Resumen

El aumento poblacional y desarrollo industrial actual se traduce en un mayor volumen de procesos para satisfacer las necesidades crecientes, lo que genera problemas ambientales al introducir en los medios residuos contaminantes de varios tipos, ya sean sólidos, líquidos o gaseosos. Alteraciones a los ciclos del nitrógeno y del azufre, provocados por desechos industriales afectan de forma directa las cada vez más escasas reservas de agua dulce, al inducir en ellas eutrofización y acidificación, junto con elevar los niveles de toxicidad, siendo perjudicial para la salud de la fauna y flora contenida, como también a los consumidores inmediatos y zonas urbanas aledañas. Estos motivos vuelven categórico el desarrollo e investigación de nuevas tecnologías que permitan disminuir el impacto de estos residuos con componentes nitrogenados y potencie el manejo de los recursos hídricos en forma óptima y eficiente.

Las tecnologías actuales cubren el sector de residuos industriales líquidos (RILES) con razones de carbono-nitrógeno altas, lo que hace que el tratamiento de estos desechos resulte muy costoso cuando la presencia de materia orgánica es baja o nula. La desnitrificación autótrofa ofrece una alternativa interesante al no necesitar materia orgánica y al mismo tiempo reducir un segundo contaminante como es el azufre en reemplazo de componentes orgánicos, sin mencionar lo innecesario de agregar oxígeno disuelto (OD).

El objetivo general de esta memoria es la puesta en marcha y operación de un reactor anaerobio de lecho expandido (EGSB) a escala laboratorio, para la remoción de nitrito usando tiosulfato como dador de electrones, por medio de desnitrificación autótrofa en un medio anaeróbico. Esto se enmarca dentro del proyecto FONDECYT N°1130108 *"Simultaneous bio-elimination of nitrogen and sulphur in the presence and absence of complex organic matter"*

Se trabajó con un reactor EGSB de 2 [L] de volumen útil, el cual fue cargado con biomasa desnitrificante autótrofa previamente enriquecida, la cual posee 18,11 [g/L] de sólidos suspendidos volátiles. El reactor se alimentó con agua residual sintética, donde la fuente de nitrógeno usada fue nitrito de sodio y la de azufre, tiosulfato penta hidratado. Se operó a una velocidad de carga nitrogenada (VCN) creciente partiendo desde 0,4 [kg N/m³/día] a una razón de C/N de 0,29 [g C/g N] o 0,41 [g NaHCO₃/g NaNO₂] y de S/N de 2,06 [g S/g N] o 1,62 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂].

El reactor operó de manera sucesiva durante 45 días incluyendo los períodos de enriquecimiento bacteriano, puesta en marcha y operación continua. Se aumentó la VCN de forma gradual cambiando la concentración de la alimentación, conservando constante el caudal de ingreso. Se mantuvo mayormente una relación de S/N de 1,62 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂] equivalente a un 20% de exceso estequiométrico de tiosulfato, en un rango de temperatura de 31 – 35°C y un pH fluctuante de 7,3 y 7,9; logrando una remoción de nitrito del 99,99% y una remoción del 100% de tiosulfato a una VCN de 0,73 [kg N/m³/d], para luego bajar la remoción a una media del 96% de nitrito y 80% de tiosulfato, con una VCN de 1,03 [kg N/m³/d], a un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 0,5 [d].

A presentar de los datos anteriores, se presentó inhibición de biomasa desnitrificante autótrofa al operar con 30% de exceso de tiosulfato equivalente a una razón S/N de 1,75 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂], afectando la remoción de ambos compuestos.

Por los resultados obtenidos, se puede concluir que el reactor EGSB califica como una opción viable para la desnitrificación autótrofa para RILES con grandes cantidades de nitrito y tiosulfato, demostrando remociones de VCN mayores a 1 [kg N/m³/d], mientras contengan concentraciones bajas de materia orgánica. Estas remociones alcanzan VCN superiores a tratamientos con otros equipos.

Índice General

Agradecimientos	2
Resumen	3
1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	8
1.1. Introducción	8
1.2. Objetivos	9
2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. Nitrógeno y Azufre.	10
2.1.1. Ciclo Nitrógeno.	10
2.1.2. Ciclo Azufre.	11
2.1.3. Interacción Nitrógeno-Azufre.	12
2.1.4. Contaminación por Nitrógeno.	13
2.1.5. Normativa Ambiental Chilena.....	15
2.2. Tratamiento terciario o avanzado de residuos industriales líquidos.	16
2.2.1. Procesos biológicos de eliminación de nitrógeno.	17
2.3. Desnitrificación Autótrofa.	23
2.3.1. Microbiología de la DNA	23
2.3.2. Parámetros operacionales	25
2.3.3. Equipos utilizados en la desnitrificación autótrofa.....	29
3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1. Desnitrificación en reactor EGSB.....	31
3.1.1. Diseño del reactor	31
3.1.2. Inóculo	33
3.1.3. Instalación de equipos	33
3.1.4. Operación.....	36
3.1.5. Muestreo	38

3.2. Métodos analíticos.....	38
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. Etapa de enriquecimiento.....	39
4.2. Puesta en marcha.....	39
4.3. Operación del reactor	40
4.3.1. Velocidades de cargas nitrogenadas.....	40
4.3.2. Comportamiento del pH.....	41
4.3.3. Compuestos de nitrógeno y azufre.....	42
5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
5.1. Conclusiones	47
5.2. Recomendaciones	48
BIBLIOGRAFÍA	49
A1. Caracterización de solidos suspendidos totales. (APHA, 2012).....	53
A2. Determinación de pH (APHA, 2012)	55
A3. Determinación de nitrito. (APHA, 2012).....	56
A4. Determinación de Tiosulfato (Harris, 2007)	59
A5. Determinación de Sulfato. (APHA, 2012)	61
A6. Pruebas de degradación natural de nitrito.....	65
A7. Ajuste alimentación Henderson – Hasselbalch. (N. Po y Senozan, 2001)	67
A8. Materiales utilizados	68
A9 Contraste mediciones experimentales vs teóricos alimentación.....	69

Índice de Figuras

Figura 1 Ciclo de nitrógeno y sus transformaciones biológicas.....	11
Figura 2 Ciclo del azufre y sus procesos biológicos	12
Figura 3 Acoplamiento de los ciclos de nitrógeno y azufre por desnitrificación autótrofa	13
Figura 4 Aporte antropogénico de nitrógeno reactivo (Nr) y su distribución en los ciclos naturales	14
Figura 5 Conexión del ciclo de carbono, nitrógeno y azufre	18
Figura 6 Esquemas de nitrificación y desnitrificación.....	20
Figura 7 Diferencias de nitrificación total y nitrificación parcial	21
Figura 8 Diferencia de nitrificación total y nitrificación parcial - Anammox	23
Figura 9 Actividad desnitrificante autótrofa (ADA) a diferentes condiciones de pH y temperatura.....	26
Figura 10 Producción de N ₂ gaseoso a diferentes razones de nitrógeno/azufre, a partir de nitrato	27
Figura 11 Actividad desnitrificante autótrofa (ADA) vs concentración de nitrito	28
Figura 12 Reactor <i>Upflow anaerobic sludge blanket</i> (UASB).....	30
Figura 13 Reactor <i>Expanded granular sludge bed digestion</i> (EGSB).....	30
Figura 14 Diseño reactor EGSB	32
Figura 15 Diagrama del montaje de equipos y accesorios	34
Figura 16 Comportamiento del pH y VCN en el tiempo	41
Figura 17 Remanente teórico vs remanente experimental de tiosulfato en el tiempo	43
Figura 18 Tiosulfato, sulfato y nitrito en la descarga en el tiempo	44
Figura 19 Remoción total de nitrito vs VCN en el tiempo	46
Figura 20 Remoción total Tiosulfato vs VCS en el tiempo	46
Figura 21 Curva de absorbancia vs concentración de nitrito para concentraciones bajo 0.4 [mg/L]	57
Figura 22 Curva de absorbancia vs concentración de nitrito para concentraciones sobre 0.4 [mg/L] ..	58
Figura 23 Escala de colores para muestras de nitrito a diferentes concentraciones	58
Figura 24 Curva de absorbancia vs concentración de sulfato de la fecha 4-6-2015.....	63
Figura 25 Curva de absorbancia vs concentración de sulfato de la fecha 24-10-2015	64
Figura 26 Curva concentración vs absorbancia de nitrito	65
Figura 27 Curva de degradación natural de nitrito, concentración en el tiempo.....	66
Figura 28 Contraste de valores teóricos y resultados experimentales de nitrito en alimentación	69
Figura 29 Contraste de valores teóricos y resultados experimentales de tiosulfato en alimentación...	69

Índice Tablas

Tabla 1 Estados de oxidación de compuestos nitrogenados	10
Tabla 2 Estados de oxidación de compuestos de azufre	12
Tabla 3 Contenido de nitrógeno en diferentes aguas residuales industriales.....	15
Tabla 4 Límites máximos permisibles de aguas superficiales, subterráneas y alcantarillado	16
Tabla 5 Razón de degradación de nitrito a diferentes donadores de electrones.....	24
Tabla 6 Estudios previos de reactores para desnitrificación autótrofa	29
Tabla 7 Dimensiones generales del reactor EGSB	31
Tabla 8 Composición de la alimentación	35
Tabla 9 Composición de los micronutrientes	36
Tabla 10 Parámetros de operación del reactor EGSB	37
Tabla 11 Tiempo de caducidad teórico y real de muestras para análisis.	38
Tabla 12 Pruebas realizadas con frecuencia y método.....	38
Tabla 13 Resultado de los principales parámetros operacionales de puesta en marcha.....	39
Tabla 14 Aumentos de VCN y relación de tiosulfato en exceso, caudal y TRH.....	40
Tabla 15 Balance de sulfuros	44
Tabla 16 Materiales necesarios para análisis de SST	53
Tabla 17 Materiales para análisis de nitrito.....	56
Tabla 18 Concentración y absorbancias para generación de curvas	57
Tabla 19 Materiales necesarios para análisis de tiosulfato	59
Tabla 20 Materiales necesarios para análisis de sulfato	61
Tabla 21 Absorbancias y concentraciones, generación de curvas de sulfato de 4-6-2015	63
Tabla 22 Absorbancias y concentraciones, generación de curvas de sulfato de 24-10-2015	64
Tabla 23 Absorbancias y concentraciones de la alimentación en degradación natural.....	65
Tabla 24 Resultado degradación natural de alimentación	66
Tabla 25 Lista de materiales y equipos para el experimento	68

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1. Introducción

En la actualidad existen diferentes tipos de contaminación, que generan diversos impactos ambientales. La alteración de los ciclos naturales como el del nitrógeno puede no ser tan visible o evidente como los demás, mas si su repercusión, alcanzando daños serios tanto al mediano como largo plazo. Sus efectos en el medio ambiente, específicamente a los cuerpos de agua, tanto superficiales como subterráneas (Sun y Nemati, 2012), incluyen eutrofización y acidificación, pudiendo alcanzar niveles tóxicos para el ecosistema (Fajardo *et al.*, 2013), los cuales tienen impactos directos en la flora y fauna contenida.

Los actores principales que contribuyen en las alteraciones de los ciclos naturales son los desechos industriales generados por industrias agropecuarias, como la industria del salmón o industrias alimenticias en general. Éstas aumentan su producción diariamente para suplir la creciente demanda provocada por el incremento sistemático de la población. Los residuos industriales líquidos (RILES) de estas industrias contienen grandes cantidades de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo, que son vertidos en ríos y lagos los que generan desequilibrios en los ciclos naturales de estos compuestos.

Existe una creciente conciencia sobre el cuidado del agua, en especial a nivel industrial debido a la repercusión directa que posee en la imagen de las empresas, sin mencionar las nuevas leyes y normas ambientales mas estrictas. Aún así estos motivos no se comparan con la necesidad real de este recurso escaso, lo que vuelve imperativo el desarrollo e investigación de nuevas tecnologías que permitan mitigar los impactos ambientales y entreguen un manejo más eficiente de los recursos hídricos.

La diversidad de contaminantes y sus diferentes proporciones variables, crean una extensa gama de posibles desechos, dentro de los cuales existen residuos con altas concentraciones de carbono y nitrógeno, como los son los desechos de fertilizantes y de la industria del salmón (Dapena, 2007). Estas condiciones son idóneas para el tratamiento heterótrofo, no así los desechos con bajas relaciones de C/N, ya que implican mayores costos al carecer de materia orgánica. Por lo expuesto, interesa investigar formas más eficientes para el tratamiento de estos últimos residuos.

A pesar de la existencia de diversas investigaciones para desechos sin componentes de carbono orgánico o material orgánico, se vuelve necesario expandir y mejorar ese conocimiento, evaluando diferentes condiciones de operación, con variados tipos de contaminantes, como lo es la remoción de nitrógeno y azufre, por medio de desnitrificación autótrofa. El uso de microorganismos quimiolitóautótrofos presenta la ventaja

de poder eliminar estos dos compuestos de forma simultánea al usar bacterias de las familias *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans*, entre otras, sin la necesidad de agregar material orgánico al tratarse de microorganismos autótrofos. Al cambiar el material orgánico por los componentes de sulfuro, se reemplaza el donador de electrones, junto con no necesitar la inyección de aire u oxígeno al medio (Dogan et al., 2012) abaratando costos de operación.

Dentro de la categoría específica de eliminación de nitrógeno, interesa estudiar la remoción por la vía de nitrito al presentar ventajas de ahorro de energía, debido a la menor cantidad de pasos que posee esta ruta.

En el presente trabajo se estudia tratamiento avanzado de RILES en el marco del proyecto N°1130108, "*Simultaneous bioelimination of nitrogen and sulphur in the presence and absence of complex organic matter*".

1.2. Objetivos

El objetivo general de la memoria es el diseño, puesta en marcha y operación de un reactor granular de lecho expandido o EGSB (*expanded granular sludge bed*), a escala de laboratorio, para la remoción simultánea de nitrito y tiosulfato mediante desnitrificación autótrofa a velocidades de carga nitrogenadas crecientes.

Objetivos específicos:

- Diseñar un reactor anaeróbico a escala de laboratorio EGSB.
- Enriquecer biomasa desnitrificante autótrofa a partir de un lodo anaerobio base, para las necesidades del experimento.
- Encontrar la relación óptima de S/N para la remoción simultánea de ambos compuestos.
- Encontrar la máxima de remoción de nitrito al operar a VCN creciente.
- Evaluar la capacidad de adaptación de las bacterias de desnitrificación autótrofa (BDA) a cambios en la alimentación.

2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Nitrógeno y Azufre.

2.1.1. Ciclo Nitrógeno.

A pesar que el nitrógeno alcanza el 78% del volumen de la atmósfera terrestre en su forma gaseosa, conformando la mayor parte del aire, la fuente más grande de nitrógeno, éste no puede ser asimilado directamente por la gran mayoría de los seres vivos y solo microorganismos lo transforman a formas asimilables.

El nitrógeno presenta siete estados de oxidación lo que da nueve posibles formas para aparecer en el ambiente, las cuales se pueden ver en la tabla 1. Los compuestos más importantes para los tratamientos de aguas, por su mayor abundancia en suelos y napas subterráneas, son el nitrógeno orgánico, amonio, nitrógeno gaseoso, nitrito y nitrato. (OEHS, 2005)

Tabla 1 Estados de oxidación de compuestos nitrogenados (WEF, 1998)

COMPUESTO	FÓRMULA	ESTADO DE OXIDACIÓN
Nitrógeno orgánico	N _{org}	-3
Amoniac	NH ₃	-3
Ion Amonio	NH ₄ ⁺	-3
Gas Nitrógeno	N ₂	0
Óxido Nitroso	N ₂ O	+1
Óxido Nítrico	NO	+2
Ion Nitrito	NO ₂ ⁻	+3
Dióxido de Nitrógeno	NO ₂	+4
Ion Nitrato	NO ₃ ⁻	+5

Las transformaciones entre las diferentes formas del nitrógeno son llevadas a cabo por microorganismos, los cuales obtienen su energía por medio de reacciones catabólicas como la nitrificación, la desnitrificación y la oxidación del amonio, y de reacciones anabólicas como absorción, asimilación y fijación. De esta forma, el nitrógeno está siempre cambiando, transformándose y en movimiento. A esto se le denomina el ciclo del nitrógeno (Dapena, 2007). En la figura 1 están presentes los procesos biológicos del ciclo del nitrógeno y

todas sus interconexiones entre los distintos compuestos, junto con el proceso que los transforma uno en otro.

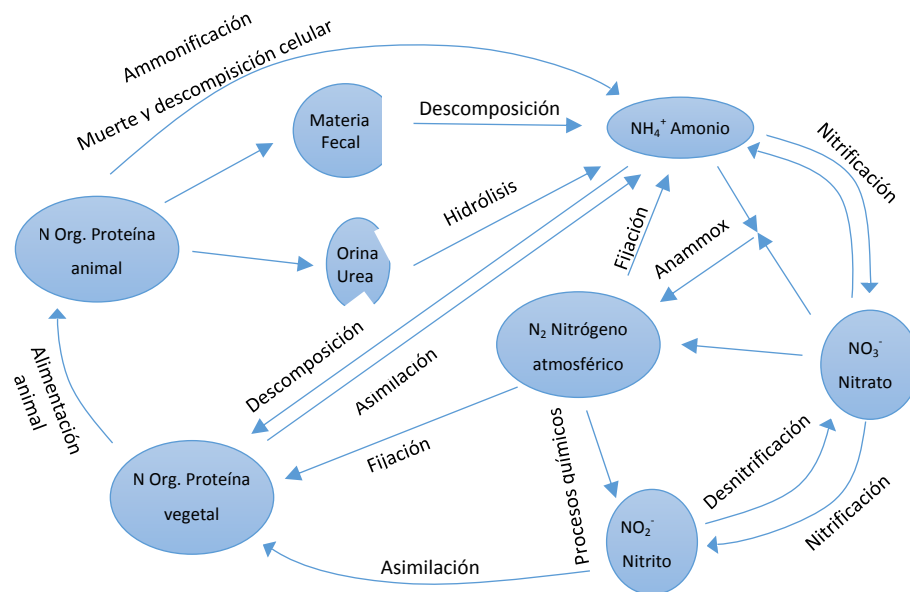


Figura 1 Ciclo de nitrógeno y sus transformaciones biológicas. (Dapena, 2007)

2.1.2. Ciclo Azufre.

La mayor abundancia del azufre se encuentra en forma inorgánica como sulfato de calcio, complejos metálicos y el azufre elemental. Presenta cinco estados de oxidación con seis posibles formas de aparecer en la naturaleza y estas transformaciones son producto tanto de agentes químicos como por la participación de agentes biológicos.

Los distintos compuestos con sus estados de oxidación se encuentran en la tabla 2.

Los procesos involucrados en el ciclo del azufre son biológicos y químicos, para los cuales existen procesos de reducción y oxidación. Las bacterias que participan en este proceso de forma biológica son las sulfo-reductoras y las sulfo-oxidantes, respectivamente, para la reducción y la oxidación. En la Figura 2 se muestran todas las conexiones entre los distintos compuestos posibles del azufre y los procesos que conectan y transforman cada compuesto en otro.

Tabla 2 Estados de oxidación de compuestos de azufre (Lens y Kuenen, 2001)

COMPUESTO	FÓRMULA	ESTADO DE OXIDACIÓN
Azufre Orgánico	S_{org}	-2
Sulfuro	S^{-2}	-2
Azufre elemental	S^0	0
Ion Tiosulfato	$S_2O_3^{-2}$	+2
Ion Sulfito	SO_3^{-2}	+4
Sulfato	SO_4^{-2}	+6

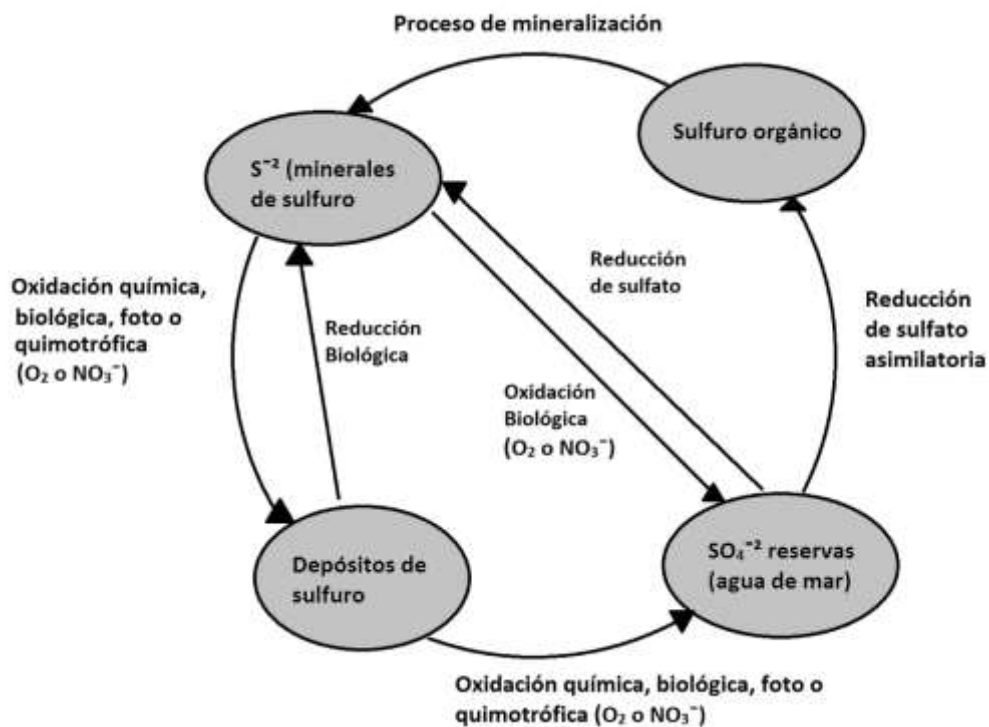


Figura 2 Ciclo del azufre y sus procesos biológicos. (Lens y Kuenen, 2001)

2.1.3. Interacción Nitrógeno-Azufre.

Existen bacterias que tienen la particular capacidad de utilizar tanto azufre como nitrógeno en sus procesos biológicos, de esta forma se acoplan ambos ciclos (nitrógeno y azufre), para lo que sería la remoción simultánea de estos dos compuestos del agua, siendo fundamental para ecosistemas acuáticos. (Fernández-Polanco *et al.*, 2001).

La relación se da tras la oxidación de compuestos reducidos de azufre, convirtiéndolos en dadores de electrones, y la reducción de compuestos oxidados de nitrógeno como el nitrito y el nitrato, los que se comportan como aceptores de electrones, compuestos presentes en la desnitrificación autótrofa.

La Figura 3 muestra la relación de estos 2 ciclos y las partes en las que interactúan.

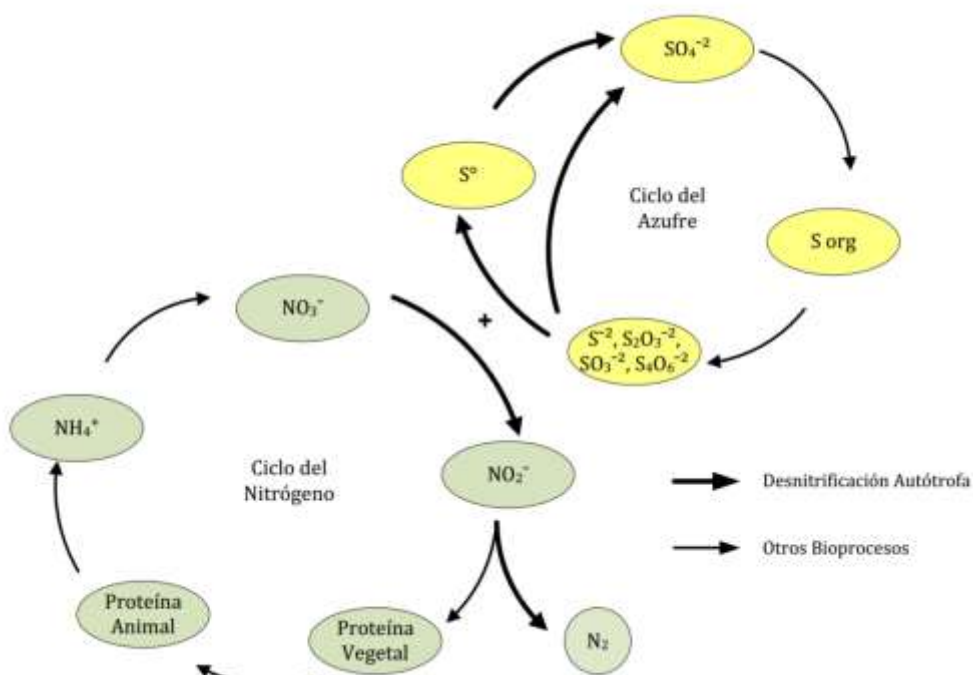


Figura 3 Acoplamiento de los ciclos de nitrógeno y azufre por desnitrificación autótrofa. Modificado de: (Fajardo, 2011)

2.1.4. Contaminación por Nitrógeno.

Antes de mencionar los efectos del nitrógeno como contaminante es necesario señalar las fuentes que generan este exceso, lo que se debe a una desestabilización de los ciclos naturales por causas antrópicas.

Las principales causas de estos desequilibrios son:

- La industria minera
- La industria de fertilizantes
- La industria agropecuaria

Varios autores han reportado antecedentes respecto al denominado “nitrógeno reactivo” (Nr), nitrógeno oxidado o reducido susceptible a reaccionar tanto de forma biológica como química, que engloba aquellos compuestos capaces de afectar el clima, la química de la atmósfera, y la función y composición de los ecosistemas terrestres y acuáticos. Este nitrógeno ha aumentado por causas antropogénicas como la quema de combustibles fósiles y la fijación de nitrógeno a escala industrial (Galloway *et al.*, 2008; Gruber y Galloway, 2008). La Figura 4 muestra la contribución antropogénica y su distribución en los diversos ecosistemas.

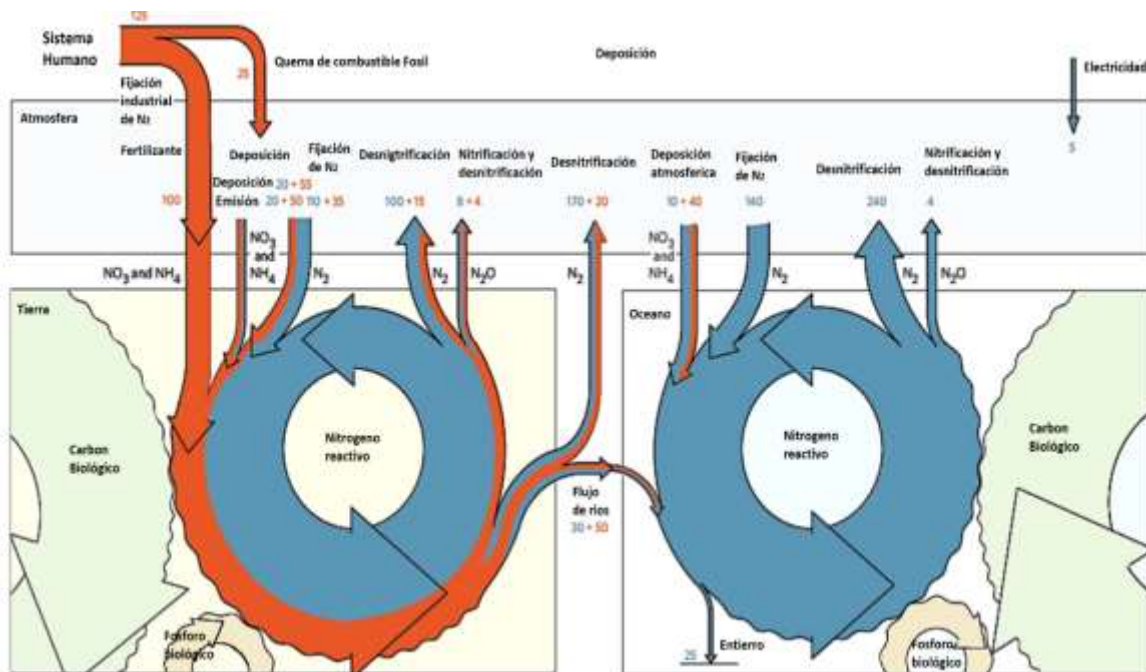


Figura 4 Aporte antropogénico de nitrógeno reactivo (Nr) y su distribución en los ciclos naturales. (Gruber y Galloway, 2008)

Además del desbalance en los ciclos naturales, también se ha producido una redistribución de Nr en diversas regiones del mundo. Se estima que un 35% del Nr introducido a la biosfera terrestre termina depositado en ecosistemas costeros o el fondo marino, mientras que el 65% restante queda acumulado en suelos,

vegetación o aguas subterráneas (Galloway *et al.*, 2008). Las aguas residuales nitrogenadas generadas por las actividades humanas (industriales, agropecuarias y/o domésticas) en altas concentraciones o por acumulación, son capaces de contaminar el entorno natural y afectar, directa o indirectamente, la salud de la población. Por ejemplo, el nitrato es uno de los compuestos que trae problemas a la salud humana, al encontrarse en altos niveles en agua potable, donde al ser ingerido es transformado en nitrito, formando nitrosaminas, que son cancerígenas, o bien, provocan metahemoglobinemia en niños. Mientras que ciertas aves que beben aguas con nitrato podrían sufrir malformaciones (Campos *et al.*, 2009; OEHS, 2005).

Debido a que el nitrógeno es generalmente un factor limitante del crecimiento, la presencia de nitrato en las aguas residuales vertidas a cuerpos de agua puede ocasionar eutrofización, por la sobre estimulación del crecimiento de algas y plantas acuáticas, provocando una fuente de contaminación. En el mismo contexto, el amonio genera la proliferación de bacterias amonio-oxidantes que consumen y disminuyen el oxígeno disuelto disponible para el resto del ecosistema, mientras que en ciertas especies de peces resulta altamente tóxico (OEHS, 2005).

El tratamiento empleado para remover el nitrógeno dependerá del tipo agua residual en cuestión. En primer lugar se encuentran las aguas residuales urbanas (ARU), caracterizadas por una baja carga orgánica (250-1000 [mg DQO/L]) y una carga nitrogenada de entre 20 y 85 [mg TKN/L]. Mientras tanto, las concentraciones de compuestos contaminantes en los RILES varían de acuerdo al tipo de proceso que se desarrolle, tal como muestra la Tabla 3.

Tabla 3 Contenido de nitrógeno en diferentes aguas residuales industriales (Dapena, 2007)

Industria	N total (MGTKN/L)
Refinerías	20-900
Fertilizantes	1000
Destilería	100-400
Conservera de pescado	900
Digestor de lodos	1000
Tratamiento de estiércol	500-2300
Vidrio	300-650
Lixiviados	950-1700

2.1.5. Normativa Ambiental Chilena.

La legislación ambiental se inició en Europa, a partir de problemas de salud y malestares en las comunidades producto del crecimiento desmedido y sin restricciones de las industrias. Los límites establecidos para las aguas residuales urbanas (ARU) en nitratos residuales son 10 ppm. Luego creció fuertemente en USA, en donde la US-EPA presenta los siguientes límites para el nitrito y nitrato son 1 y 10 [mg/L], respectivamente (Dapena, 2007).

La normativa actual aplicable en Chile conforme a los acuerdos internacionales se muestra en la tabla 4, de la cual se extraen mayormente de decretos supremos (D.S.) específicamente para el D.S. 90 (2001), D.S. 46 (2003), y D.S. 609 (1998), que son para aguas superficiales, aguas subterráneas y alcantarillados, respectivamente.

Tabla 4 Límites máximos permisibles para aguas superficiales, subterráneas y alcantarillado según D.S. 90, D.S. 46 y D.S. 609.

PARÁMETRO	UNIDAD	AGUAS SUPERFICIALES			AGUAS SUBTERRÁNEAS		ALCANTARILLADO	
		RSD	RCD	Océano	VM	VB	SCPT	SSPT
DBO₅	mgO ₂ /L	35-25	300	60	-	-	-	-
TKN	mg/L	50	75	50	10	15	-	-
N-NO₃⁻	mg/L	-	-	-	10	15	-	-
N-NO₂⁻	mg/L	-	-	-	10	15	-	-
N-NH₃	mg/L	-	-	-	-	-	80	-
pH	-	6-8,5	6-8,5	-	6-8,5	6-8,5	5,5-9	5,5-9
SSV	mg/L	80	300	100	-	-	-	-
Temperatura	°C	35	40	30	-	-	35	35

Nota: 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.

2.2. Tratamiento terciario o avanzado de residuos industriales líquidos.

Los tratamientos para los residuos industriales líquidos se pueden separar en 4 etapas fundamentales, que son el:

- Pre-tratamiento: Elimina todo lo macro, como ramas u objetos grandes, siendo un proceso mayormente realizado por rejas y tamices.
- Tratamiento primario: Procesos físicos. Se retira todo lo que no necesite reaccionar para ser eliminado, como los sólidos suspendidos (SS) o los sólidos solubles (SSol). Prima la decantación y la flotación.
- Tratamiento secundario: Procesos químicos y/o biológicos. Se eliminan los contaminantes que requieren reaccionar, ya sea por medios de oxidación u otros, como son las cargas biológicas, material orgánico, etc., los cuales se miden en demanda química de oxígeno (DQO). Priman los tratamientos con bacterias como las lagunas activas y reactores biológicos.
- Tratamiento terciario (avanzado): Puede ser de cualquier tipo, químico, físico, biológico. Elimina los contaminantes más específicos de cada residuo industrial líquido (RIL) a tratar, y/o alcanza las concentraciones reglamentarias de contaminantes tratados en etapas anteriores de forma más fina y exacta.

En el último punto (tratamiento terciario) es en donde se tratan los contaminantes como el nitrito y nitrato, junto con otros compuestos como el fósforo y compuestos recalcitrantes, además de procesos de desinfección.

Además de los procesos biológicos existen procesos físico-químicos para la remoción de nitrito, como es el caso de la ósmosis inversa, filtración por membranas, intercambio iónico, desorción, etc., los cuales también remueven contaminantes como lo es la materia orgánica, compuestos de fosfato y SS. Sin embargo, la mayoría de estos procesos son para caudales bajos, además de concentraciones bajas de contaminantes, sin mencionar las condiciones específicas de cada medio de tratamiento, volviéndolos muy difíciles de utilizar en medios generales.

2.2.1. Procesos biológicos de eliminación de nitrógeno.

Los procesos biológicos del tratamiento terciario son en su mayor parte pensados para la remoción de compuestos nitrogenados, especialmente compuestos como el NH_4^+ , el NO_3^- y el NO_2^- .

En los tratamientos biológicos actúan microorganismos como bacterias en su mayor parte, las que trabajan a distintas concentraciones y parámetros dependiendo de su cepa, por lo que la elección del tratamiento depende tanto del costo, las concentraciones del RIL a tratar y los contaminantes que éste pueda contener.

La primera selección del tipo de tratamiento muestra la relación entre la demanda química de oxígeno (DQO) y el nitrógeno presente en el RIL

- $DQO/N > 20$: eliminación por asimilación con bacterias heterótrofas.
- $20 > DQO/N > 5$: eliminación por asimilación o nitrificación – desnitrificación.
- $DQO/N < 5$: eliminación por nitrificación parcial – desnitrificación o nitrificación parcial – Anammox, desnitrificación autótrofa.

La última sección con la relación de DQO/N menor a 5 es la que compete a este trabajo, y a la que más espacio se otorgará.

La figura 5 muestra la relación entre los ciclos del carbono, el nitrógeno y el azufre, con sus respectivos procesos, los cuales son explicados en los puntos siguientes.

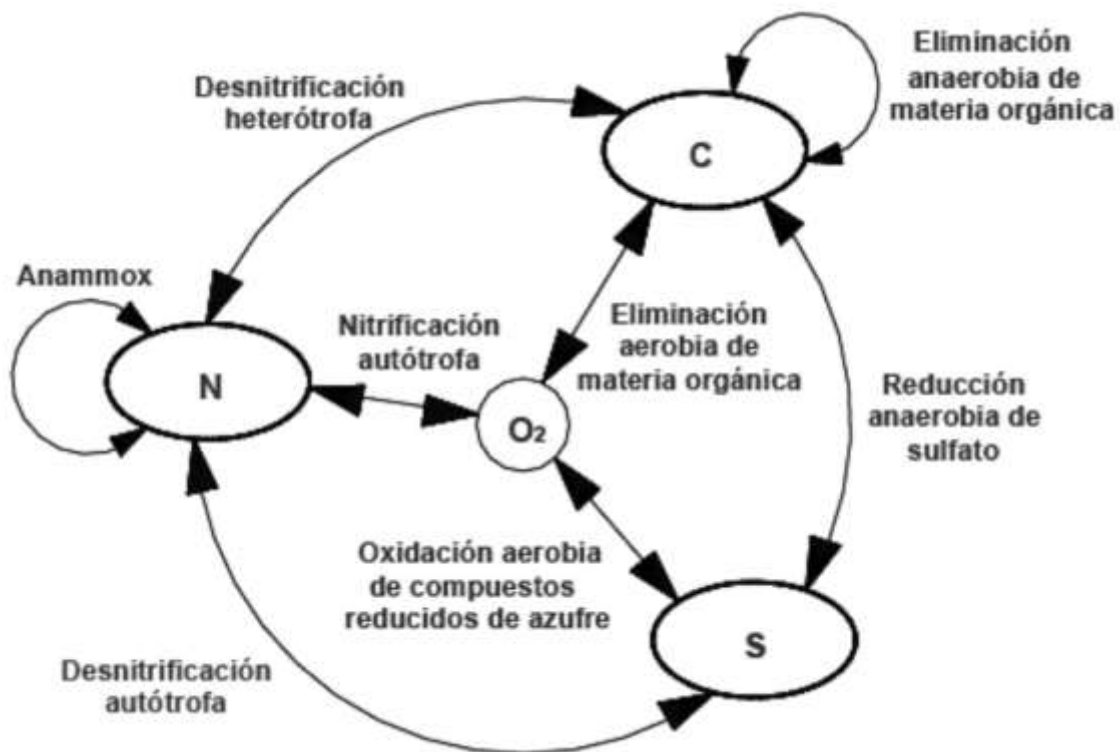


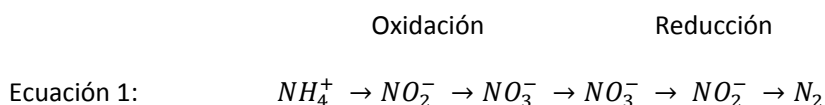
Figura 5 Conexión del ciclo de carbono, nitrógeno y azufre. (Campos *et al.*, 2009)

2.2.1.1. Nitrificación – desnitrificación.

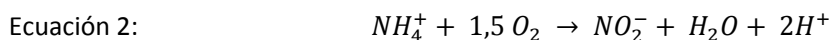
Es el proceso que combina 2 etapas, una nitrificante la cual oxida amonio a nitrato, y una segunda etapa desnitrificante la cual transforma el nitrato a nitrógeno molecular por medio de reducción.

Este proceso es uno de los más utilizados debido a sus parámetros de operación, con temperaturas ambientales en un rango de 10-20°C, pH entre 6,5 y 8,5 y oxígeno disuelto (OD) con concentraciones entre 1-2 [mg/L].

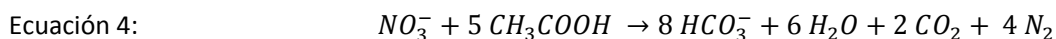
Los pasos de la reacción son los mostrados en la ecuación 1.



La nitrificación transforma aeróbicamente el amonio en nitrito y luego en nitrato, por medio de microorganismos amonio-oxidantes y nitrito-oxidantes. El proceso acidifica el ambiente al generar dos protones por cada ion de amonio. (Ec. 2 y 3).



La desnitrificación transforma el nitrato en nitrógeno molecular anóxicamente por medio de una reducción realizada por bacterias heterótrofas desnitrificantes. Este proceso requiere materia orgánica, generando bicarbonato, aumentando el nivel de pH en la solución. (Ec. 4).



La principal diferencia entre ambas etapas son los medios aerobios y anaerobios, lo que complica realizar ambas reacciones en un mismo reactor, forzando al uso de dos reactores. Sin embargo, el acople de estos dos procesos amortigua las fluctuaciones de pH, reduciendo costos en aditivos.

La diferencia entre ambos procesos es la inversión de los estanques y la adición de la recirculación en la pre-desnitrificación (Campos *et al.*, 2009), lo que elimina la necesidad de agregar carga orgánica al RIL, reduciendo los costos. La recirculación transporta microorganismos y RIL a medio tratar

La Figura 6 compara la post-desnitrificación y pre-desnitrificación (Campos *et al.*, 2009).

2.2.1.2. Nitrificación Parcial

Para desechos con razón de DQO/N más baja, la opción de reducción con materia orgánica involucrada resulta costosa puesto que al carecer de materia orgánica propia, es necesario agregar materia al proceso, aumentando los costos. Para estos casos es recomendable oxidar el amonio solo hasta nitrito. La ecuación 5 muestra el orden del proceso de reacción.

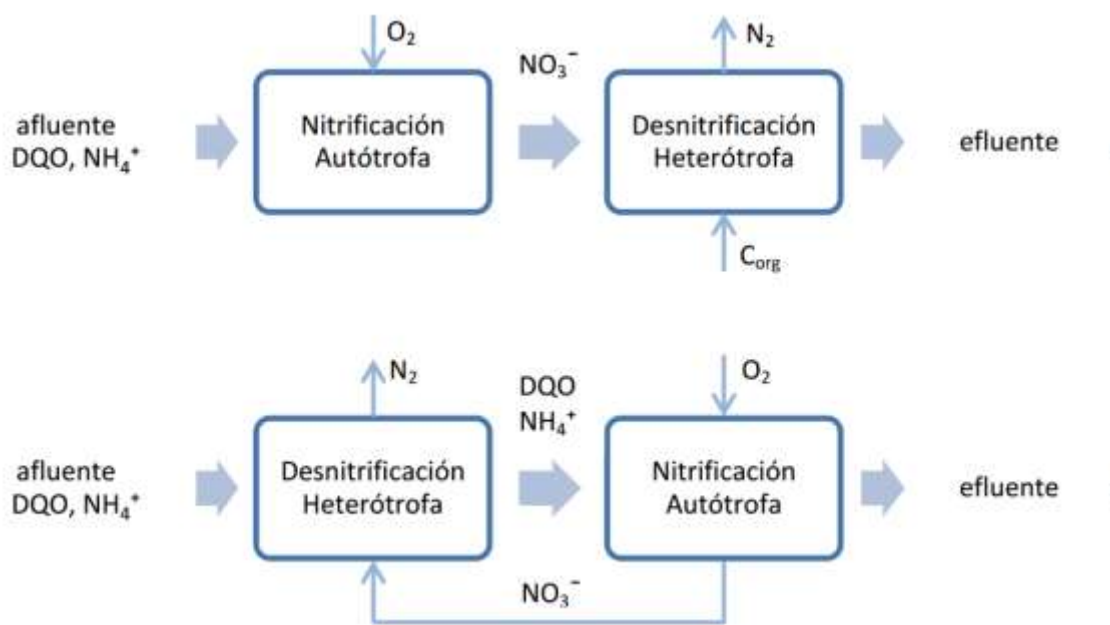


Figura 6 Esquemas de nitrificación y desnitrificación (Campos *et al.*, 2009)



La relación de las velocidades de oxidación y reducción controlan la acumulación de productos intermedios, si la oxidación es mayor que la reducción se forman compuestos residuales de nitrato. La velocidad de la oxidación es controlada por la temperatura, el oxígeno disuelto y la concentración de amonio (reactivo). Según los estudios de Jianlong y Ning (2004), el nivel de máxima oxidación se alcanza a pH igual a 7,5; temperatura de 30°C; 1,5 [mg OD/L] y un K_a de 0,115 [mg N-NH₄⁺/mg VSS/h].

En la Figura 7 se aprecia el recorte de la ruta normal de la nitrificación desnitrificación y los pasos que se evitan por medio de este proceso, junto con las ventajas que presenta sobre el proceso anterior (Peng y Zhu, 2006), tanto en la reducción de la producción de la biomasa como la menor cantidad de recursos necesarios, como son el oxígeno disuelto, y la materia orgánica. Esto es posible por la ausencia del proceso heterótrofo de la desnitrificación del nitrato a nitrato.

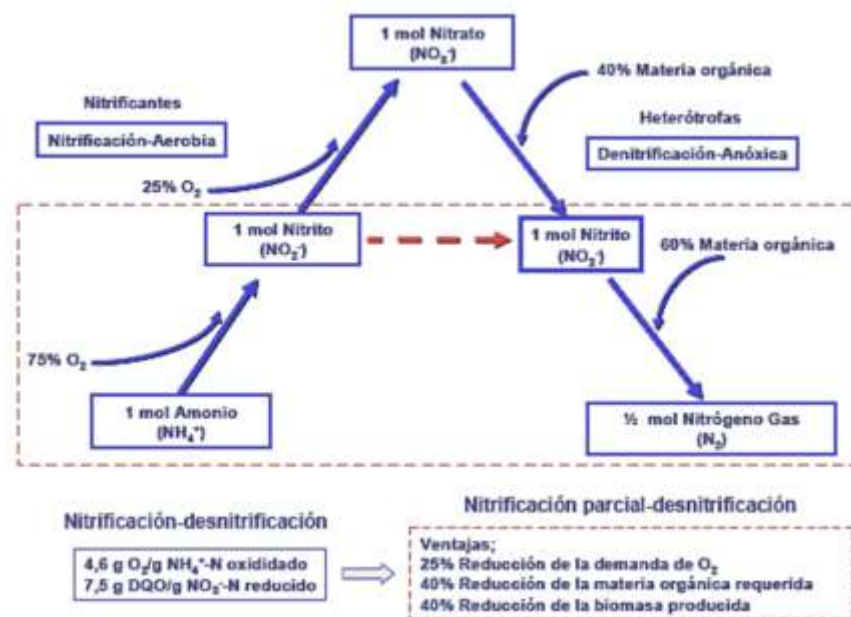
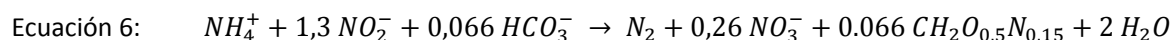


Figura 7 Diferencias de nitrificación total y nitrificación parcial. (Van Kempen *et al.*, 2001)

2.2.1.3. Anammox.

El proceso Anammox (*anaerobic ammonium oxidation*) es un proceso anaeróbico que utiliza microorganismos autótrofos. Esto es posible al tener nitrito como aceptor de electrones. El proceso genera nitrógeno molecular y nitrato (Strous *et al.*, 1998), como se muestra en la ecuación 6.



La familia de estas bacterias son del genero *Planctomycetes*, y al igual que la mayoría de las bacterias autótrofas operan en su punto óptimo a 35°C, y un pH de 8,0. Generan bajos niveles de lodo, debido a su baja tasa de duplicación, lo que requiere una larga fase de puesta en marcha en reactores con buena retención celular. Su desarrollo se ve afectado negativamente por la materia orgánica, oxígeno disuelto y nitrito (Dapena, 2007).

Una desventaja, es la necesidad de nitrito como reactivo, lo que obliga oxidar a nitrito la mitad del amonio total en una etapa previa por medio de nitrificación parcial, para luego continuar con el proceso anammox en otro reactor. Aun así, este proceso presenta considerables ventajas al proceso convencional de nitrificación-desnitrificación, con una demanda 60% menor de oxígeno, un consumo nulo de materia orgánica, y una generación de biomasa de solo un 15%. La Figura 8 muestra las diferencias entre los 2 procesos, el convencional y el anammox.

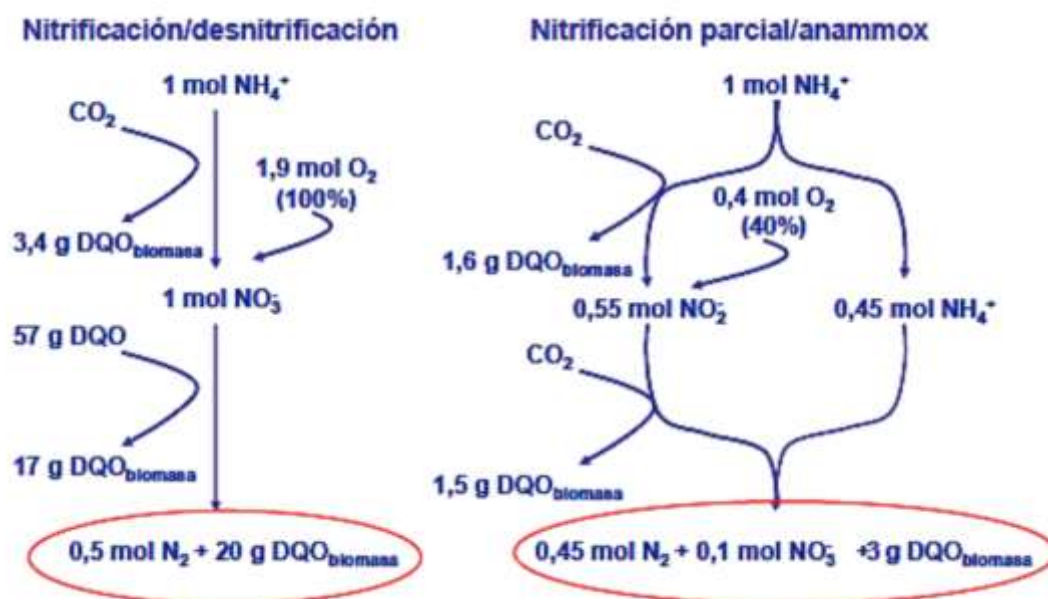


Figura 8 Diferencia de nitrificación total y nitrificación parcial - Anammox.
(Flux y Siegrist, 2004)

2.3. Desnitrificación Autótrofa.

Para la reducción del nitrógeno de forma autótrofa, existe una gran cantidad de microorganismos quimiolitótrofos, en lo cual utilizan compuestos inorgánicos como fuente de energía o electrones, al tiempo que utilizan materia inorgánica como el HCO_3^- para todos sus procesos metabólicos, de ahí su definición autótrofa. Para la donación de electrones, existen 3 elementos predominantes, los cuales son el hierro reducido, el hidrógeno y finalmente el azufre (Tandukar *et al.*, 2009). Como el experimento utiliza compuestos de sulfuro como dadores de electrones, el trabajo se centra en las bacterias sulfato oxidantes (BSO), las cuales reducen nitrito al tiempo que oxidan compuestos sulfurados como lo es el tiosulfato ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

2.3.1. Microbiología de la DNA

2.3.1.1. Bacterias sulfato oxidantes

Las BSO se encuentran presentes en varios grupos, los cuales pueden ser tanto anóxicos como facultativos, siendo capaces de oxidar compuestos reducidos de azufre para obtener energía. Sus condiciones térmicas abarcan los ambientes termófilos como también mesófilos. Sin embargo, las bacterias capaces de oxidar sulfato, y que a la vez puedan utilizar el nitrito o nitrato como agente oxidante o aceptor de electrones, cubren un espectro menor. A este reducido grupo se le conoce como bacterias desnitrificantes autótrofas (BDA).

Las BDA pertenecen a las protobacterias, eso incluye a las familias *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans*, *Thiobacillus versutus*, *Tiosphaera pantatrophia*, *Thioploca* y *Thiobacillus thioparus* (Madigan y Martinko, 2006; Tandukar *et al.*, 2009; Reijerse *et al.*, 2007).

Dentro de este grupo de protobacterias destaca la *Thiobacillus denitrificans*, perteneciente a la clase β -Proteobacteria, bacteria quimiolitótrofa obligada capaz de crecer en ambientes microaerobios caracterizada por tener forma de vástago (bacilo), ser incolora, no filamentosa, gram-negativa, con movilidad a partir de flagelos polares o sin movilidad (Fajardo, 2011; Madigan y Martinko, 2006).

2.3.1.2. Reacciones involucradas

Cardoso *et al.* (2006) experimentaron con distintas formas de azufre como posible donador de electrones para la remoción o degradación de nitrógeno, experimentando con el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$), sulfuro (S^{2-}) y azufre elemental (S_0). Todo esto analizando la degradación de nitrato (NO_3^-) a su forma de nitrógeno molecular, además de medir la generación de sulfuro. La tabla 5 muestra los resultados.

Las reacciones se muestran en el a continuación a partir de los estudios (Campos *et al.*, 2009), en las ecuaciones 7, 8 y 9.

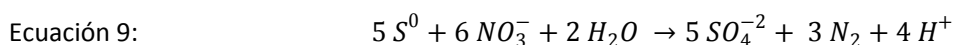
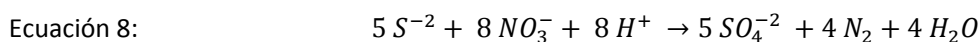
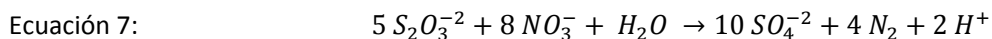
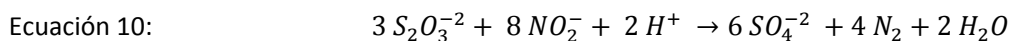


Tabla 5 Razón de degradación de nitrato a diferentes donadores de electrones. (Cardoso *et al.*, 2006)

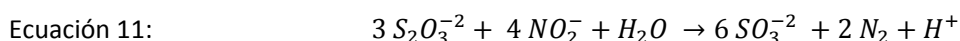
	Razón de degradación de nitrato (mM NO_3^- /d)	Razón de generación de Sulfato (mM SO_4^{2-} /d)	Estequiometría final (mol N_2 /mol SO_4^{2-})	Estequiometría teórica (mol N_2 /mol SO_4^{2-})
Tiosulfato	-7,56 ± 0,04	4,33 ± 0,08	0,39	0,40
Sulfuro	-1,65 ± 0,03	0,91 ± 0,04	0,86	0,80
Azufre elemental	-0,80 ± 0,03	0,17 ± 0,04	0,45	0,60

A partir de los resultados de Cardoso *et al.*, (2006) se determinó que el donador de electrones más eficiente es el tiosulfato, por lo que este trabajo utiliza dicho compuesto. Luego se tiene la reacción con nitrato como reactivo a degradar, la cual es una semi-reacción considerando la degradación de nitrato como la reacción completa mostrada en la ecuación 10 (Dogan *et al.*, 2012).



Se observa que en este caso se consume 0,25 [mol] de ácidos (H^+) por cada mol de nitrito convertido en N_2 , lo que implica una tendencia a la basificación del medio. Tal como proponen Mahmood *et al.* (2008), donde cada mol de nitrito reducido consume unos 0,6 [mol] de protones, convirtiéndolos en productos alcalinos durante el proceso de desnitrificación autótrofa (DNA), lo que podría aumentar el pH del sistema en reactores de oxidación anóxica del sulfuro.

Por último, si no se alcanzase la oxidación de todo el tiosulfato debido a su presencia en exceso, se podría producir otra reacción en paralelo, como la del sulfito, mostrada en la ecuación 11.



2.3.2. Parámetros operacionales

2.3.2.1. Potencial de hidrógeno (pH)

Todas las bacterias, al igual que las BDA tiene un rango de pH en el que pueden actuar y vivir, y uno más acotado en donde sus procesos son óptimos. Para el caso de las BDA, numerosos estudios concuerdan que el rango de pH óptimo es de 7,0 a 8,0 y según Fajardo *et al.* (2014) su valor óptimo se presenta a los 7,5 con tendencia a pH 8,0. Ahora bien, las bacterias pueden seguir trabajando sin verse dañadas en un rango de pH de 6,0 a 9,0, pero fuera de ese rango, la remoción de nitrito se vuelve prácticamente nula.

2.3.2.2. Temperatura.

La temperatura es uno de los factores más importantes dentro de un proceso, puesto que es uno de los que puede cambiar de forma más abrupta, significando un cambio radical y casi instantáneo en una operación, además de presentar costos extras cuando se aleja de la temperatura ambiente o si se trata de un rango muy acotado.

A pesar que las BDA utilizan un rango mesófilo (de 15 a 35°C), el punto óptimo de su operación no es muy claro. Aun así, se discute que éste se encuentra entre 30°C (Koenig y Liu, 2001) y 35°C (Oh *et al.*, 2000; Fajardo *et al.*, 2014). La Figura 9 muestra la actividad desnitrificante autótrofa (ADA) bajo diferentes

temperaturas y distintos pH, así encontrando el óptimo recomendado. Valores superior significan daños irreversibles a las bacterias.

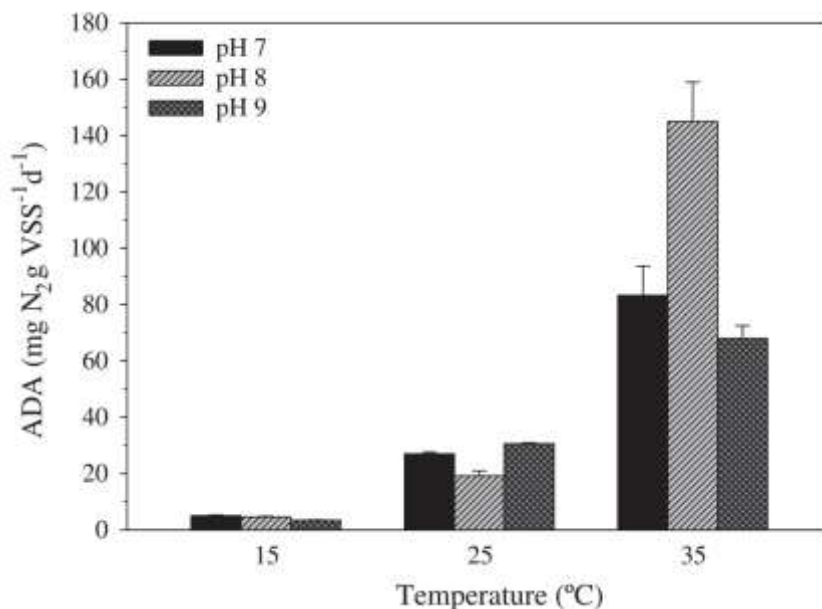


Figura 9 Actividad desnitrificante autótrofa (ADA) a diferentes condiciones de pH y temperatura. (Fajardo *et al.*, 2014)

2.3.2.3. Alcalinidad

Como las BDA son bacterias autótrofas, no obtienen carbono a partir de compuestos orgánicos, por lo que se vuelve necesario encontrar una fuente extra para sus procesos metabólicos naturales, como puede ser el bicarbonato (HCO_3^-) o el dióxido de carbono (CO_2) disuelto en el RIL.

Además de los procesos metabólicos está la forma *buffer*, que es un compuesto que amortigua las variaciones de pH, aunque esta función no es particularmente útil para este proceso en específico, ya que la degradación de nitrito tiende a llevar el pH a puntos básicos en vez de ácidos, por lo que el uso primario de estos compuestos de carbono inorgánicos son para procesos metabólicos.

2.3.2.4. Razón azufre nitrógeno (S/N)

El objetivo fundamental del trabajo es la remoción de nitrito, por lo que resulta lógico es dejar al nitrito como el reactivo limitante. Existen diversos estudios en los que se muestra relaciones menores a 6,51 [g S/g N] marcando limitación por azufre, mientras que relaciones mayores llegan a limitación por nitrógeno, como lo muestra la Figura 10.

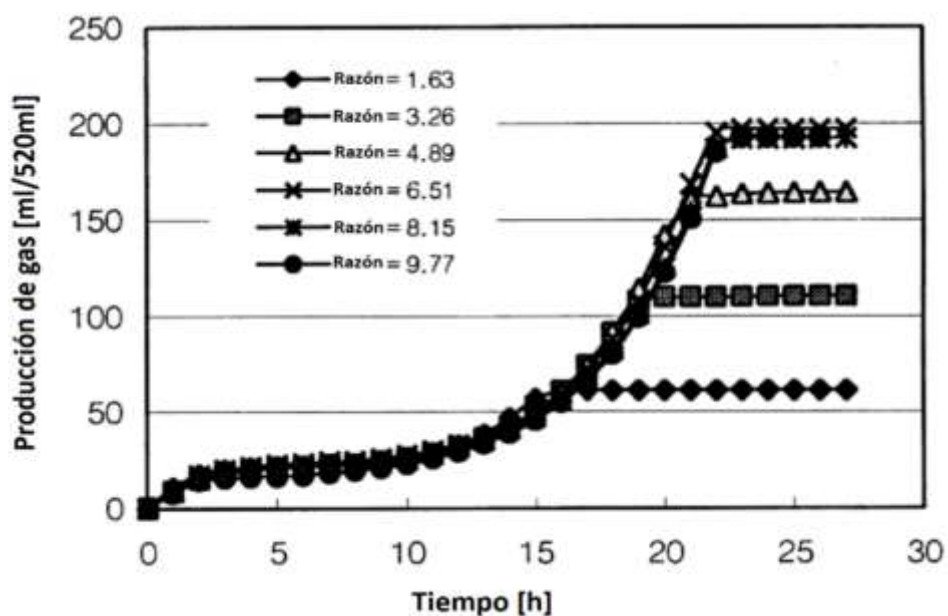


Figura 10 Producción de N₂ gaseoso a diferentes razones de nitrógeno/azufre, a partir de nitrato (Oh *et al.*, 2000)

Sin embargo,

estos estudios se realizan en base a nitrato como reactivo y no nitrito, por lo que es necesario realizar un ajuste. A partir del balance estequiométrico de la reacción primaria, se llega a la relación de 1,35 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂]. Recordando que al existir tiosulfato en exceso, ocurre una segunda reacción. A fin de moderar aquello se decide agregar un 20% de exceso de tiosulfato, lo que se traduce en una relación de 1,6 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂], para garantizar que el nitrito sea el reactivo limitante. En caso de ser una suposición correcta, el tiosulfato debería ser removido en su totalidad o cerca del 100%.

2.3.2.5. Inhibición por sustrato.

La inhibición provocada por nitrito no está muy documentada. Según Fajardo *et al.* (2014) la inhibición empieza a los 48 [mg NO₂ N/L]. La Figura 11 muestra diferentes ADA a distintas concentraciones de nitrito.

Los resultados concuerdan con los datos presentados por Claus y Kutzner (1985) y Oh *et al.* (2000) al mostrar una reducción de un 40% en la remoción de nitrito al haber más de 80 [mg NO₂⁻-N /L] quienes también reportaron una inhibición completa con exceso de nitrito en un rango de 100 a 150 [mg NO₂⁻-N/L].

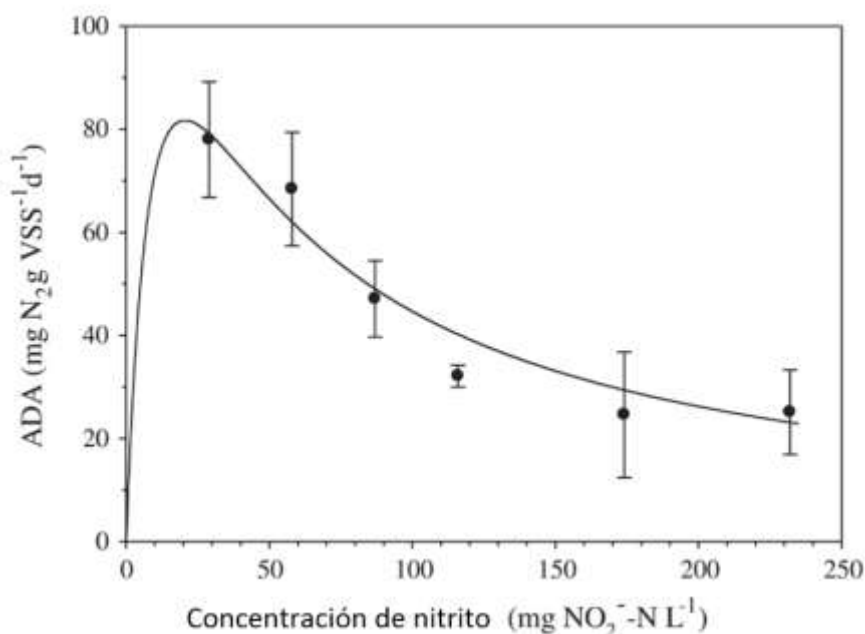
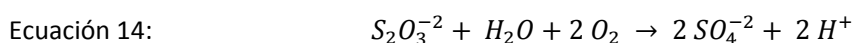
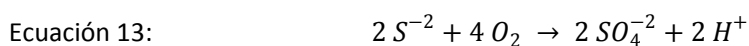
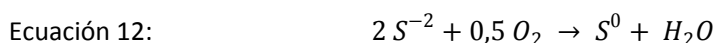


Figura 11 Actividad desnitrificante autótrofa (ADA) vs concentración de nitrito (Fajardo *et al.*, 2014)

2.3.2.6. Oxígeno disuelto

Las BDA que contiene el reactor son una mezcla de varias familias, de las cuales algunas son facultativas y otras anóxicas, por lo que el oxígeno puede no solo ser inhibidor, si no también tóxico, sin mencionar que el oxígeno reacciona con los compuestos sulfurados comportándose como un aceptor de electrones, siendo además una reacción favorecida termodinámicamente. Fajardo (2011), encontró el rango óptimo de operación de 0,1 a 0,3 [mg O₂/L]. Las posibles reacciones son las presentadas en las ecuaciones 12 a 14.



2.3.3. Equipos utilizados en la desnitrificación autótrofa

Varios equipos y reactores han sido estudiados en pro de mejorar la remoción de nitrito y nitrato, bajo diferentes condiciones de operación. Se utilizan azufre elemental y tiosulfato como donador de electrones. La Tabla 6 presenta algunos de los estudios más recientes sobre reactores de desnitrificación autótrofa, ordenados de acuerdo al tipo de reactor utilizado.

En general, el tipo de reactor más usado corresponde a los reactores de mezcla completa (CSTR), seguidos de aquellos con lecho empacado o fijo. La principal aplicación de este proceso ha sido a escala piloto, en producción de agua para consumo, mediante la adición de azufre elemental como donador de electrones (Manconi *et al.*, 2007), mientras otras han sido para aguas subterráneas y lixiviados de rellenos sanitarios (Mahmood *et al.*, 2008).

2.3.3.1. Reactor anaeróbico de lecho expandido (EGSB)

Los reactores EGSB son esencialmente reactores anaeróbicos de flujo ascendente (UASB) que fueron modificados para tener una relación de altura vs diámetro mayor, superando una relación de H/D de 20. Esto permite tener cargas más altas y velocidades superficiales mayores, alcanzando valores de 5 a 6 [m/h] y en ciertas situaciones de 10 [m/h], mientras que los UASB alcanzan velocidades superficiales no mayores a 1 [m/h] (Lim, 2011). Las velocidades superficiales más altas son posibles al recircular gran parte de los desechos tratados, lo cual se puede lograr solo por su gran altura. Esto es lo que permite las VCN tan altas en comparación al resto de los equipos conservando altas remociones cercanas al 99% (Sun y Nemat, 2012), volviendo al EGSB un reactor ideal para tratar desechos concentrados de pocos componentes. En el caso de presentar concentraciones bajas, no es conveniente la inversión de este equipo, puesto que sus costos de construcción son más elevados.

Tabla 6 Estudios previos de reactores para desnitrificación autótrofa

Reactor	Inóculo	Donador/Aceptor Electrones	Remoción Máxima	Referencia
CSTR	<i>T. Denitrificans</i> <i>bioaumentado</i>	$S_2O_3^{2-}/NO_3^-$	95% S; 100% N	(Manconi <i>et al.</i> , 2007)

CSTR	Lodo activado	S^{-2}/NO_2^{-}	80% S; 100% N	(Dogan <i>et al.</i> , 2012)
Fed Batch	Lodo enriquecido	$S^{-2}, S^{\circ}, S_2O_3^{-2}/NO_3^{-}$	100% S; 100% N	(Beristain <i>et al.</i> , 2006)
UAF	Lodo metanogénico	S^{-2}/NO_3^{-}	99% S; 94% N	(Mahmood <i>et al.</i> , 2009)
UAF	-	$S_2O_3^{-2}/NO_2^{-}$	90% N	(Yamamoto-Ikemoto <i>et al.</i> , 2000)
UAF	Lodo enriquecido	S^{-2}/NO_3^{-}	100% S; 100% N	(Kleerebezem y Méndez, 2002)
UAF	Lodo anaerobio	$S^{\circ}/NO_3^{-}, NO_2^{-}$	90% N	(Zhou <i>et al.</i> , 2011)
Lecho Fijo Flujo Vertical	Lodo enriquecido	$S^{-2}/NO_3^{-}, NO_2^{-}$	87% S; 95% N	(Moraes <i>et al.</i> , 2012)
Lecho Empacado Flujo Ascendente	Lodo enriquecido	$S^{-2}, S^{\circ}/NO_3^{-}, NO_2^{-}$	99% N	(Sun y Nemati, 2012)
Lecho Empacado Flujo Ascendente	<i>Denitrificans</i> de proceso <i>Bardenpho</i>	$S^{\circ}/NO_3^{-}, NO_2^{-}$	100% N	(Uyanik <i>et al.</i> , 2013)

Su geometría es la de un cilindro largo con una expansión para reducir la velocidad del flujo ascendente, evitando así la salida de lodos por el efluente. Las figuras 12 y 13 muestran las diferencias visuales de tamaño entre ambos equipos



Figura 13 Reactor *Upflow blanket* (UASB) (C



Figura 12 Reactor *Expanded granular sludge bed digestion* (EGSB) (Fundamentals, 2016)

3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Desnitrificación en reactor EGSB

3.1.1. Diseño del reactor

El reactor diseñado para este estudio es un reactor EGSB a escala de laboratorio. El reactor cuenta con 4 boquillas de 7 [mm], lo que incluye reflujo, alimentación, salida de gas y efluente. En la tabla 7 se indican las dimensiones del reactor, mientras que en la figura 14 se muestra su diseño.

Tabla 7 Dimensiones generales del reactor EGSB

Características	Sub-características	Valor	Unidad
Altura	Total	100	[cm]
	Cuerpo	85	[cm]
	Campana	15	[cm]
	Expansión	2,5	[cm]
Alturas relativas de boquillas	Entrada	5	[cm]
	Salida	98	[cm]
	Entrada reflujo	0	[cm]
	Salida reflujo	95	[cm]
	Salida gases	100	[cm]
Diámetro	Cuerpo	5	[cm]
	Campana	10	[cm]
	Boquillas RIL	7	[mm]
	Boquilla Gases	10	[mm]
Volumen	Total	3,12	[L]
	Cuerpo (útil)	2,02	[L]
	Campana	1,10	[L]

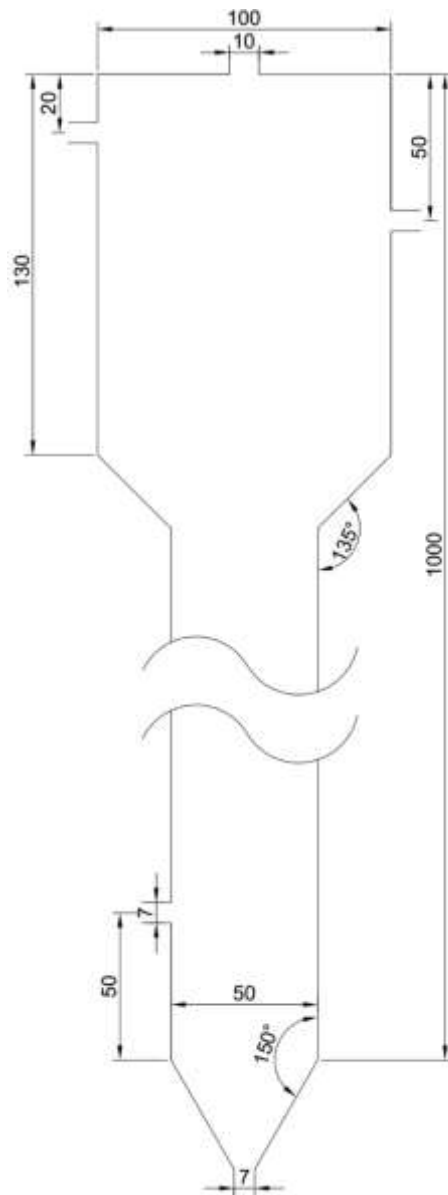


Figura 14 Diseño reactor EGSB (medidas en [mm])

Como se puede apreciar, el reactor tiene una altura de 100 [cm], pero se considera como el área útil solo hasta el inicio de la campana de expansión de flujo, dado que la campana tiene el fin de evitar que los flóculos microbianos abandonen el reactor junto con el efluente. Por tanto para el cálculo de volumen del reactor solo se considera una altura de 85 [cm]. El diámetro interno del reactor útil es de 5,5 [cm] y la campana tiene una expansión de 10 [cm]. La campana presenta una inclinación de 45°.

3.1.2. Inóculo

Las BDA utilizadas a lo largo de la experiencia fueron obtenidas de un lodo anaeróbico mixto proveniente de una planta de tratamiento de residuos del proceso del tabaco, por lo que se debió enriquecer los lodos para garantizar la supervivencia de las bacterias útiles para este caso. Esta etapa se realiza dentro del mismo reactor, previo a la puesta en marcha.

El reactor se inoculó con 700 [ml] del lodo anaeróbico mencionado, con una concentración de SSV de 18,11 [g/L], el equivalente a más de 1/3 del volumen del reactor, considerando que se perderá lodo en la etapa de enriquecimiento, lo que resulta en un volumen ideal de ¼ del volumen del reactor (Zhou *et al.*, 2011)

3.1.3. Instalación de equipos

Se preparó una cámara térmica con un calefactor para mantener la temperatura óptima del reactor. Luego de la instalación de equipos, se procede al enriquecimiento bacteriano.

La Figura 15 muestra el diagrama de flujo de los equipos y accesorios instalados, con la alimentación, la salida de gas, efluentes, y reflujo.

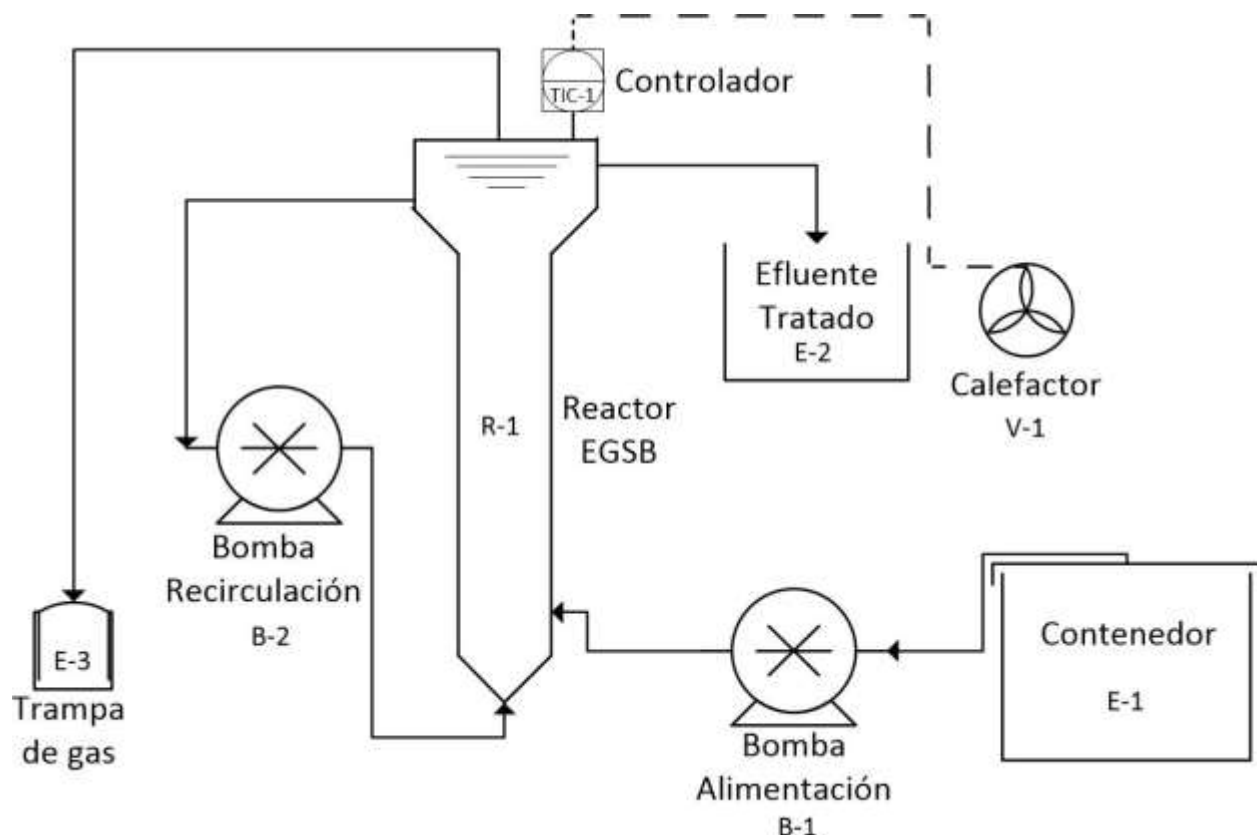
3.1.3.1. Materiales

Previo al arranque del experimento se realizaron pruebas hidráulicas con todo el equipo instalado, el fluido utilizado fue agua con ligeras trazas de ferroína. Todas las fugas fueron selladas, las pruebas se repitieron hasta no mostrar más fugas. Materiales adicionales son presentados en el Anexo A8.

Todo, exceptuando la alimentación, se encuentra al interior de una cámara térmica que conserva la temperatura de operación en $33 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

La alimentación se ingresa al contenedor E-1, el cual incluye un medidor de nivel análogo externo y un agitador. La alimentación ingresa por pulsos de 10 minutos cada 2 horas al reactor EGSB R-1 con la bomba B - 1. La salida inferior ubicada en la campana del reactor conecta la recirculación, la cual alimenta al reactor por el fondo, generando agitación de flóculos y aumento de velocidad superficial. La salida superior se encuentra a 3 cm de la salida de recirculación, la cual por rebalse va a un depósito de desecho E-2. El tope del reactor R-

1 cuenta con una salida de gas y trampa de agua. Finalmente, un controlador de temperatura TIC-1, regula un calefactor, mantiene la cámara térmica a $33 \pm 2^\circ\text{C}$.



El contenedor E-1 de alimentación incluye un agitador que asegura la durabilidad de la alimentación por 4 TRH y un medidor de nivel análogo, previniendo falta de alimentación y alertando fallas en la bomba al no haber cambios de nivel en el tiempo. La alimentación es preparada cada 2 días.

3.1.3.2. Enriquecimiento bacteriano.

El reactor es cargado con exceso de lodos, abarcando $1/3$ de su volumen y $2/3$ de alimentación fresca. El exceso de lodos considera la pérdida de bacterias en el acondicionamiento.

El reactor es alimentado con muestras que favorecen el crecimiento de las bacterias autótrofa. La alimentación es modificada de Garrido, (2014) mostrada en la tabla 8. No posee compuestos orgánicos, no obstante, las bacterias heterótrofas pueden alimentarse de otras bacterias, tanto heterótrofas muertas como autótrofas, lo que vuelve necesario prolongar el periodo de exposición a la fase de muerte celular para las bacterias heterótrofas, asegurando la muerte de cantidades significativas que no entorpezcan el experimento.

Tabla 8 Composición de la alimentación (modificada de Garrido, 2014)

Compuesto	Valor	Unidad
NaS₂O₃ · 5 H₂O	1593	[mg/L]
NaNO₂	985	[mg/L]
NaHCO₃	400	[mg/L]
Na₂HPO₄	3875	[mg/L]
KH₂PO₄	1512	[mg/L]
NH₄Cl	100	[mg/L]
Micronutrientes	1	[ml/L]

Los compuestos Na₂HPO₄ y KH₂PO₄ actúan como agentes *buffer*, amortiguando las variaciones de pH, el nitrito y el tiosulfato son los agentes reductores y oxidantes que aportan la energía a las bacterias.

Las concentraciones de los compuestos en la solución de micronutrientes se muestran en la tabla 9, los cuales aportan todos los elementos necesarios para el metabolismo de las bacterias.

Al mismo tiempo se necesitó monitorear la concentración de nitrito para garantizar la permanencia de las fases exponencial y estacionaria. Por lo que al alcanzar una remoción mayor al 90% de nitrito se procedería a iniciar la alimentación continua. También utilizando mediciones de tiosulfato como parámetro de contraste al exceso del mismo.

Las únicas fuentes de carbono en la alimentación son: el bicarbonato, el cual es una fuente de carbono inorgánica, el resto de los componentes es útil para ambas bacterias, por lo que esta es la única diferencia sustancial para la potenciación de las BDA.

Tabla 9 Composición de los micronutrientes (Garrido, 2014)

Compuesto	Valor	Unidad
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1.000	[mg/L]
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	30.000	[mg/L]
$\text{ZnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1.000	[mg/L]
CaCO_3	2.000	[mg/L]
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1.500	[mg/L]
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	250	[mg/L]
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	250	[mg/L]
HCl (32%)	50.000	[mg/L]
$\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	250	[mg/L]
H_2BO_3	250	[mg/L]

3.1.4. Operación

Una vez finalizada la etapa de enriquecimiento, empieza la operación continua. Es esta la etapa que cubre el mayor porcentaje del trabajo, la cual busca encontrar la máxima remoción de nitrito a la mayor VCN posible. A diferencia de la fase de enriquecimiento, la alimentación va cambiando a lo largo de la experiencia no necesariamente de forma proporcional, ya que las concentraciones de bicarbonato y ácido clorhídrico son para la alimentación y metabolismo de las bacterias, no estando enlazadas así a la concentración de tiosulfato y nitrito. Mientras que las concentraciones de los agentes tampones si están relacionadas con la concentración del nitrito y el bicarbonato, se va ajustando cada vez que se modifique la alimentación, siguiendo la ecuación de Henderson – Hasselbalch, (Po y Senozan, 2001) mostrada en el Anexo 7. El cálculo de la VCN se realiza siguiendo la ecuación 15. El cálculo de la remoción es hecho a partir de los datos experimentales de entrada y salida de cada compuesto. La ecuación 16 muestra el cálculo realizado.

Ecuación 15:

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

Ecuación 16:

$$\% \text{ Remoción} = \frac{[Conc]_{ini} - [Conc]_{fin}}{[Conc]_{ini}}$$

- Q: caudal de alimentación [m^3/d].
- C: concentración de nitrógeno en alimentación [$\text{kg N}/\text{m}^3$].
- Vr: Volumen del reactor [m^3].

De los tres parámetros solo se modificó la concentración, al no poder cambiar el volumen del reactor, y el caudal afecta el tiempo de residencia hidráulica. El mayor problema referente al caudal es la baja precisión de las bombas peristálticas, lo cual genera dependencia de un *timer*, el cual programa horarios de alimentación. Al ser un reactor a escala piloto, el valor del tiempo de residencia hidráulica (TRH) es un parámetro muy significativo, por lo que el aumento del caudal para subir la VCN no es siempre la mejor opción. Por otro lado, el aumento de la VCN modificando la concentración, provoca que las diferencias de caudal entregadas de forma natural por la bomba peristáltica, aumente los puntos máximos de diferencias de VCN.

Aun así se eligió modificar la VCN por medio de la concentración, sin embargo para amortiguar el efecto de los *peaks* de VCN, se decidió duplicar el caudal programado en un inicio. Con esto y a partir de los resultados mostrados en el Anexo 6, se decide alimentar al reactor cada 2 días con un margen de 2 litros, el cual equivale a un día de consumo por parte del reactor, evitando así la posible entrada de aire al sistema por parte de la alimentación.

Los criterios de aumento de VCN son la estabilidad del reactor, lo que se traduce en un periodo relativamente constante de 3 TRH. Parámetros como la velocidad de carga de azufre (VCS) son modificados de acuerdo a los resultados de remoción de tiosulfato, el cual siempre debe estar en exceso para garantizar la remoción máxima de nitrito.

La tabla 10 muestra las condiciones de operación ideales y los rangos que se espera encontrar en los parámetros más importantes.

Tabla 10 Parámetros de operación del reactor EGSB

PARÁMETRO	MÍNIMO	MÁXIMO	UNIDAD
Temperatura	30	36	$^{\circ}\text{C}$
pH	7	8	[-]
TRH	10	20	[h]
VCS	$0,86 \cdot \text{VCN}$	$1,05 \cdot \text{VCN}$	[Kg S/L]
VCN_{i+1}	VCN_i	$0.15 + \text{VCN}_i$	[Kg N/L]

3.1.5. Muestreo

Las mediciones se realizan tanto a la alimentación como al efluente. La tabla 11 muestra los periodos máximos teóricos y los máximos reales que se alcanzaron, entre la toma de una muestra y el análisis de la misma.

Tabla 11 Tiempo de caducidad teórico y real de muestras para análisis.

PARÁMETRO	TEÓRICO	REAL	UNIDAD
Nitrito	2	1	[d]
Tiosulfato	10	4	[d]
Sulfato	28	14	[d]
SST	7	2	[d]
pH	60	30	[min]

Las muestras se tomaron diariamente y fueron almacenadas hasta su posterior análisis. Cabe destacar que el tiempo de almacenamiento se encontraba acorde a lo indicado por APHA (2013).

3.2. Métodos analíticos.

La tabla 12 presenta los distintos métodos analíticos utilizados con sus respectivas frecuencias. Los detalles de cada metodología se presentan en los anexos.

Tabla 12 Pruebas realizadas con frecuencia y método

PARÁMETRO	METODOLOGÍA	FRECUENCIA	PRUEBA	REFERENCIA
Sólidos Suspendidos	Caracterización de sólidos	Vez única	Afluente	2540 <i>solids</i> (APHA, 2012)
pH	Diferencia de potencial	Diariamente	Efluente	pH (APHA, 2012)
Nitrito	Colorimetría	Diariamente	Afluente, efluente	4500 NO ₂ ⁻ (APHA, 2012)
Tiosulfato	Yodimetría	Diariamente	Afluente, efluente	(Harris, 2007)
Sulfato	Colorimetría	Diariamente	Efluente	4500 - SO ₄ ⁻²

4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Etapa de enriquecimiento

El periodo de enriquecimiento duró nueve días, finalizando con una remoción de nitrógeno del 99,8% a una concentración inicial de 1311,7 [mg NaNO₂/L] o 250 [mg N/L], valor experimental.

Tal como se indicó en el capítulo anterior, se debía superar un 90% de remoción de nitrito para dar por finalizada esta etapa. Esto se logró a los 9 días de operación batch alcanzando un 99,7% de remoción en esta etapa. El pH final fue de 8,4.

4.2. Puesta en marcha

La puesta en marcha considera la operación del reactor de forma continua hasta la estabilización de los parámetros principales por al menos 3 TRH, fase que duró 4 días. La tabla 13 muestra los parámetros finales de esta fase. El inicio de esta fase comenzó con una remoción baja debido al proceso de adaptación de una alimentación fresca, sin embargo, el ajuste fue rápido al tratarse de una concentración de nitrógeno más baja a la utilizada en la fase de enriquecimiento.

Tabla 13 Resultado de los principales parámetros operacionales de puesta en marcha

VCN	Remoción nitrito	Remoción tiosulfato
0.4	99,7%	100%

Según la tabla 13, la remoción del reactivo limitante (nitrito) es muy cercana al 100, mientras que la remoción del tiosulfato es de un 100%, lo que comprueba que la hipótesis de alimentar al reactor con un exceso del 20% de tiosulfato estequiométrico es correcta.

4.3. Operación del reactor

El reactor operó de forma continua durante 45 días en total, alimentado con VCN crecientes partiendo desde 0,4 [kg N/m³/d] a una razón de C/N de 0,41 [g NaHCO₃/g NaNO₂] y de S/N de 1,62 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂].

4.3.1. Velocidades de cargas nitrogenadas

La tabla 14 presenta las diferentes velocidades de carga nitrogenada y el exceso estequiométrico de tiosulfato con respecto al nitrito, el cual es modificado únicamente en el caso que la remoción de tiosulfato siga en 100% y que la remoción de nitrito empiece a descender. La VCN es teórica.

Tabla 14 Aumentos de VCN y relación de tiosulfato en exceso, caudal y TRH

Nivel	VCN	Exceso S ₂ O ₃ ²⁻	Caudal	TRH
[-]	[KgN-NO ₂ /m ³ /d]	[%]	[L/d]	[d]
1	0,400	20	4,0	0,5
2	0,550	20	4,0	0,5
3	0,753	20	4,3	0,47
4	0,753	30	4,3	0,47
5	1,009	30	4,3	0,47
6	0,400	20	4,0	0,5
7	0,076	20	4,0	0,5

Tal como se observa en la tabla 14, se disminuyó el exceso de S₂O₃²⁻, porque hubo un corte de luz, esto conllevó a un descenso brusco de temperatura (aproximadamente 18°C) y luego al volver la corriente eléctrica, la temperatura del reactor subió hasta 40°C aproximadamente, lo que originó la muerte de los microorganismos

4.3.2. Comportamiento del pH

Se registró la variación de pH de forma diaria en el reactor en el efluente. La figura 16 presenta la evolución del pH con las VCN experimentales a lo largo de los 36 días de operación continua.

El pH se mueve dentro de un rango normal con leves tendencias a la basificación a lo largo del experimento, debido al consumo de protones por la reacción de desnitrificación del nitrito. El aumento de la VCN está directamente relacionado con el aumento del pH, controlado por el *buffer*.

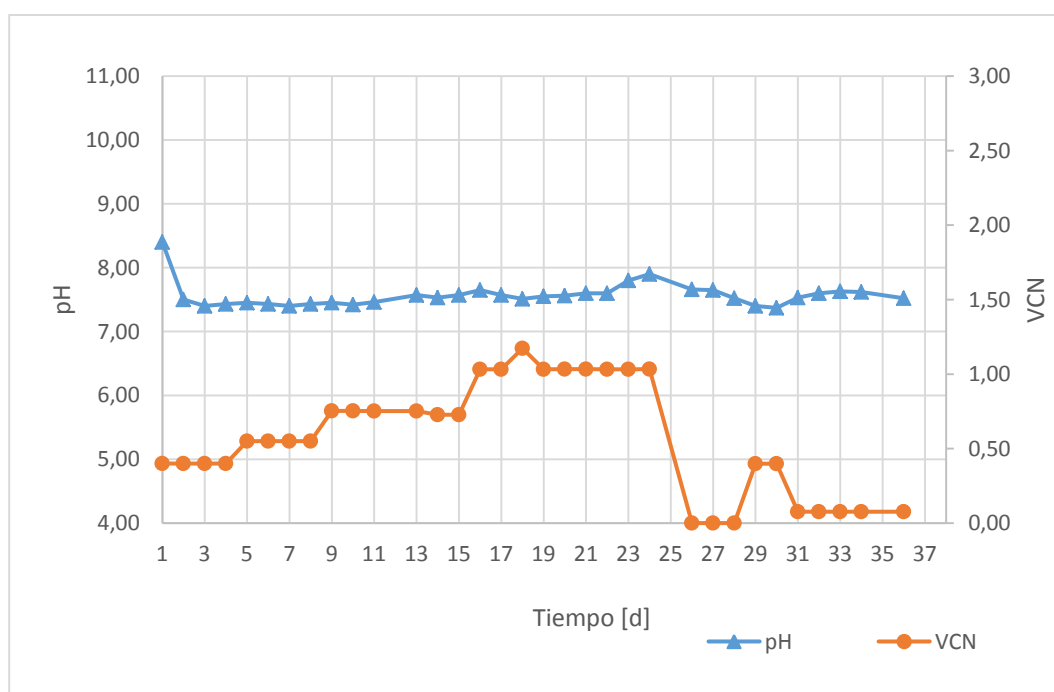


Figura 16 Comportamiento del pH y VCN en el tiempo

La evolución del pH en el tiempo sigue el comportamiento de las VCN con una tendencia a la basificación debido al consumo de protones en el proceso de desnitrificación mostrado en la ecuación 10. Las variaciones se limitan por a la adición de *buffers*, cuya concentración aumenta de forma directa en relación a los incrementos de VCN, relación que está determinada según la ecuación de Henderson-Hasselbalch explicada en el anexo 7.

4.3.3. Compuestos de nitrógeno y azufre

4.3.3.1. Alimentación

En el anexo A9 se muestra la comparación entre los valores teóricos y experimentales de alimentación, tanto para el tiosulfato y el nitrito. No existen diferencias significativas para ningún compuesto, lo que comprueba la precisión de los análisis de ambos compuestos. Esto reduce los posibles errores experimentales.

4.3.3.2. Efluente

No existe valor teórico esperado de nitrito en la descarga debido a que la remoción es el parámetro a evaluar. El valor teórico de tiosulfato remanente es la diferencia entre el tiosulfato consumido estequiométricamente a partir del consumo de nitrito y el tiosulfato en la alimentación.

Se aprecia un valor inferior de tiosulfato en la salida con respecto a los valores calculados. Esto confirma la presencia de reacciones secundarias por parte de las BDA.

A partir de la figura 17 se ve la respuesta lógica de los compuestos remanentes en la salida, la cual es que la presencia de los reactivos se muestre en proporción inversa a los productos. Si se conserva la misma remoción de nitrito y aumenta el VCN los niveles de SO_4^- aumentan, mientras que si a una misma VCN la remoción disminuye, la presencia de reactivos en el efluente aumenta mientras el nivel de productos disminuye.

El aumento de la VCN desestabiliza el reactor, alterando la remoción, lo que vuelve necesario mayores periodos de ajuste antes de los aumentos de VCN. Debido a la alta remoción de Tiosulfato y con la remoción de nitrito tendiendo a disminuir, se aumenta el exceso estequiométrico de tiosulfato a un 30%, lo cual significa un aumento muy violento de VCS lo que desestabiliza el reactor.

Después del día 13, la remoción de tiosulfato decae, denotando el error del exceso estequiométrico del 30% de tiosulfato. Posteriormente el sistema tiende a la estabilidad pero no logra alcanzarla debido al corte de luz mencionado anteriormente

Desde el día 20 la bomba de alimentación pierde precisión, sumado al 30% de exceso de tiosulfato genera inhibición por sustrato en las BDA, desestabilizándolas.

La irregularidad presente en el día 23 es debido al corte de luz ya mencionado. Se debió mantener el reflujo total, evitando la purga de SO_4^- . Para recuperar la remoción de nitrito, se procede a detener la alimentación como forma de contención, disminuyendo la VCN. Esto devuelve la tendencia a la estabilización, sin embargo por el golpe térmico, la remoción bajó a un punto irreparable.

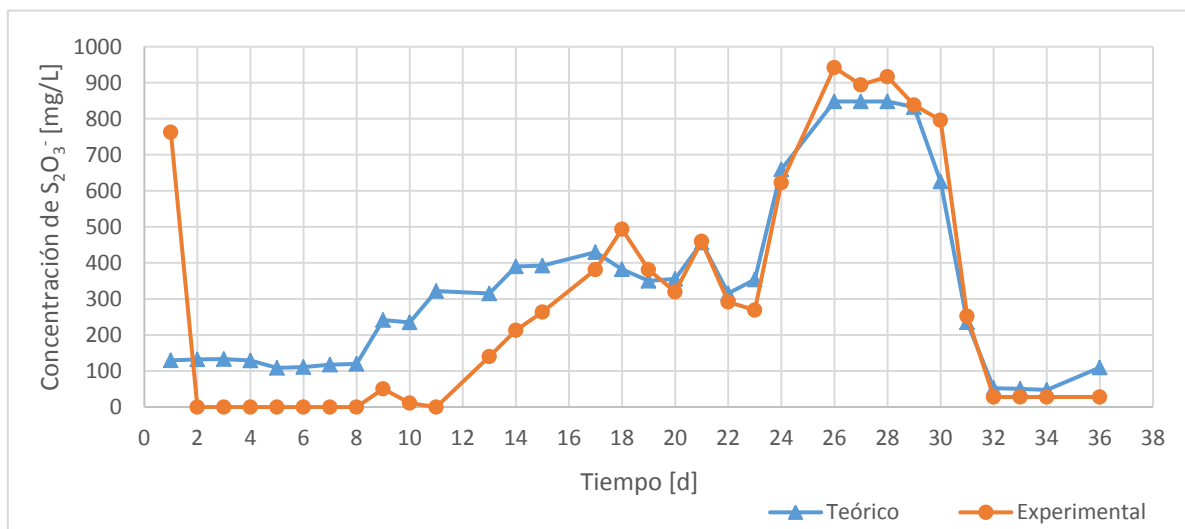


Figura 17 Remanente teórico vs remanente experimental de tiosulfato en el tiempo

A partir de las ecuaciones 10 y 11 presentadas en el punto 2.3.1.2 se estima la producción de sulfato, bajo la suposición que el nitrito es removido solo con la ecuación 10 o ecuación principal.

La Figura 18 presenta las concentraciones de tiosulfato, sulfato y nitrito en la descarga contrastado con la VCN.

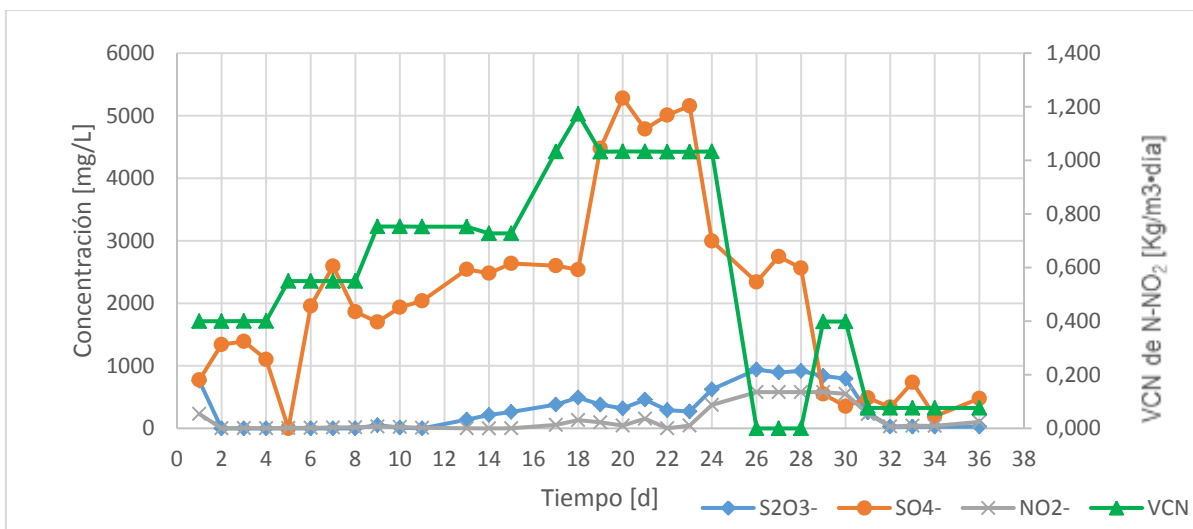


Figura 18 Concentraciones de tiosulfato, sulfato y nitrito en la descarga vs VCN

La muestra el sulfato esperado y el sulfato real bajo esta suposición, a las diferentes VCN. tabla 15

Tabla 15 Balance de sulfuros

Nivel	VCN	Exceso S ₂ O ₃ ⁻	SO ₄ ⁻² Esperado	SO ₄ ⁻² Real
[-]	[KgN-NO ₂ ⁻ /L]	[%]	[g]	[g]
1	0,400	20	1,03	1,10
2	0,550	20	1,43	1,86
3	0,753	20	1,71	1,94
4	0,753	30	1,77	2,54
5	1,009	30	2,35	5,16
6	0,400	20	0,16	0,35
7	0,076	20	0,16	0,19

El cálculo realizado involucra solo el nitrito removido, por lo que el sulfato estimado y real fluctúan en el tiempo y no son fijos para cada VCN, por esto solo se considera el valor previo al aumento de VCN al ser el momento de mayor estabilidad en el reactor.

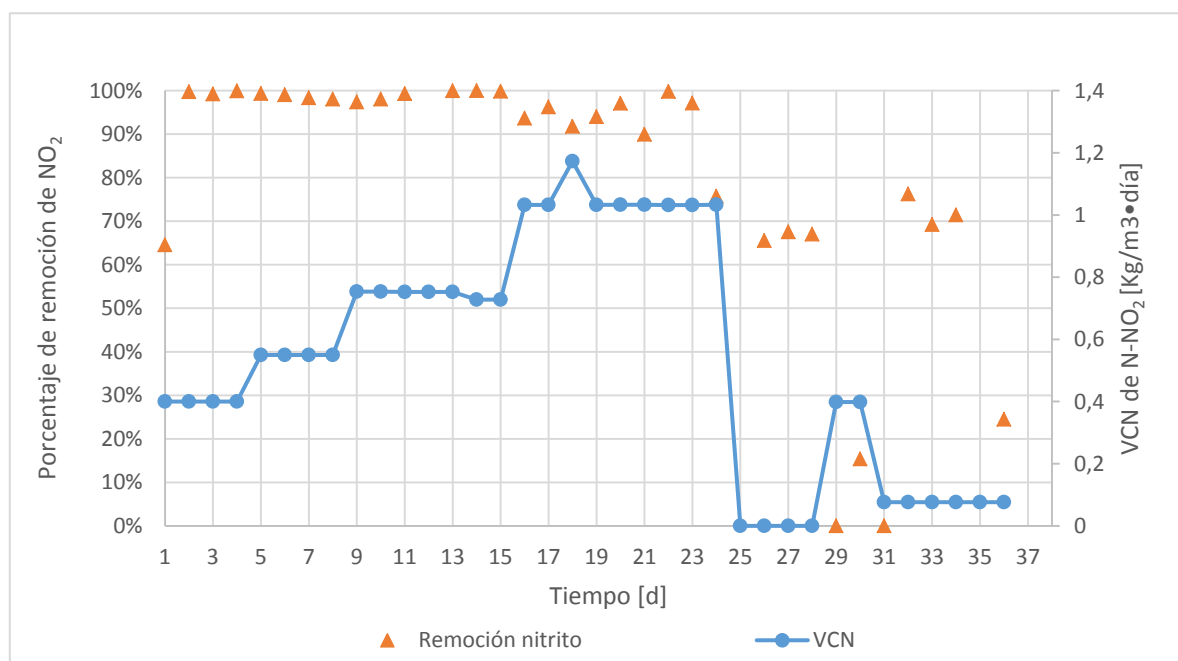
El sulfato producido es mayor al calculado estequiométricamente por el consumo de nitrito y tiosulfato, lo cual se contradice con la hipótesis de la existencia de una reacción secundaria, la cual fue comprobada previamente por la necesidad de exceso de tiosulfato, además de no corresponder al balance de la ecuación

primaria. Esto puede deberse a una medición imprecisa producto de interferencias de agentes en las muestras, o a una ecuación de reacción no balanceada. La posibilidad de una reacción nueva por parte de bacterias heterótrofas no eliminadas queda descartada ya que el balance de azufre refleja generación de materia, lo cual es imposible.

La figura 19 muestra la remoción de nitrito contrastada con la VCN en el tiempo. En el día 11, debido a la disminución de remoción de nitrito, se aumenta el exceso de un 20% equivalente a una razón de S/N de 1,62 [$\text{g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}/\text{g NaNO}_2$] a un exceso del 30% estequiométrico de Tiosulfato, equivalente a una razón de S/N de 1,75 [$\text{g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}/\text{g NaNO}_2$] disminuyendo abruptamente su remoción en comparación a los valores anteriores, denotando un exceso de sustrato.

La remoción de nitrito a pesar de mostrar oscilación desde el día 15, se mantuvo sobre el 90% hasta el día 23 (día del corte de luz no programado), forzando al reactor a un reflujo total. El día 29 se aumenta la VCN, sin un ajuste efectivo por parte de las BDA, demostrando la muerte de las bacterias.

El error de elevar el exceso de tiosulfato al 30% queda comprobado al analizar la figura 20, la cual muestra la tendencia a la disminución en la remoción de tiosulfato. El aumento de este exceso más la inestabilidad de la bomba peristáltica de alimentación, creó *peaks* de alimentación excesivos para el reactor y las bacterias. Generando desestabilización en el reactor desde el día 11 hasta el día 19 en la remoción del tiosulfato. Desde el día 16 no vuelve a estabilizarse la remoción del nitrito, a pesar de mantener remociones sobre el 90% en promedio. Aun así se estima que de no ser por el corte de luz, el reactor hubiese podido seguir operando, pero se desconoce si en algún momento este llegaría a la misma remoción que la del inicio.



Después del día 19 la remoción de tiosulfato muestra la superación de la inhibición por sustrato, marcando un mínimo de remoción de un 71% de tiosulfato en operación continua con una VCS de 1,15 [kg N/m³/d] y una VCN de 1,03 [kg N/m³/d].

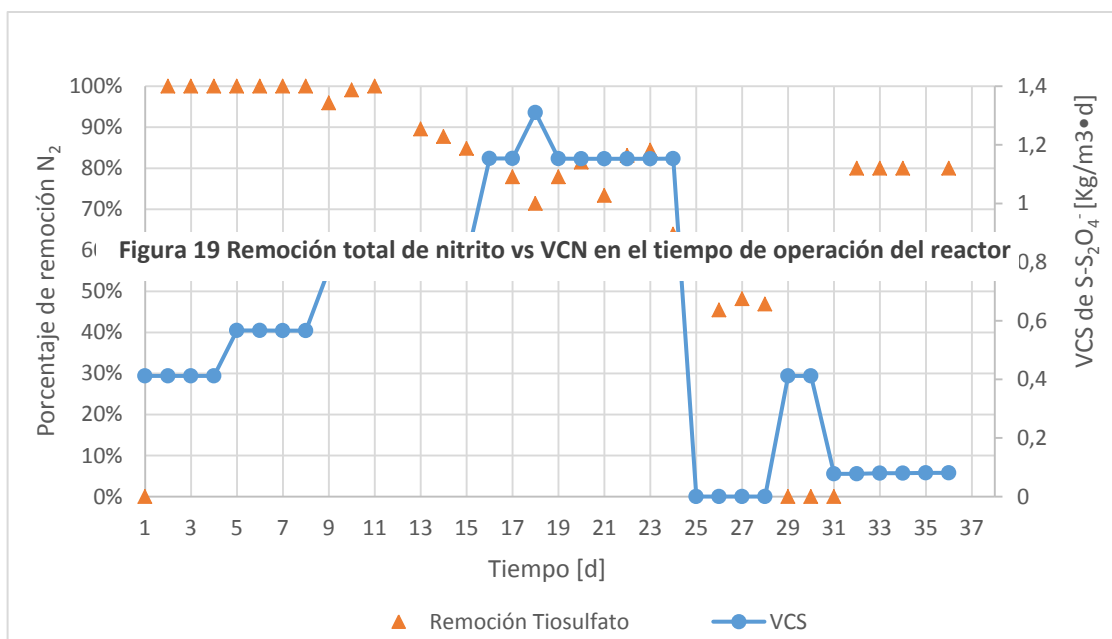


Figura 20 Remoción total Tiosulfato vs VCS en el tiempo de operación del reactor

Otro parámetro que afecta de mayor manera al reactor es la poca precisión de la bomba peristáltica, lo que se traduce en cargas inesperadas de alimentación y tiempos de TRH más variables. Estos efectos se acentúan con las VCN más altas ya que a mayor concentración, la misma variación de caudal significa mayor variación de sustrato.

5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

El reactor logró operar, utilizando biomasa autótrofa desnitrificante previamente enriquecida, durante un periodo de 45 días, incluyendo en este tiempo el periodo de puesta en marcha y acondicionamiento, convirtiendo el nitrito en nitrógeno gaseoso utilizando el tiosulfato como dador de electrones y el sulfato como principal producto de éste. Todo a partir de agua residual sintética.

La VCN más alta que se registra con operaciones normales es de 1,03 [kg N/m³/d] con una remoción media de nitrito del 96% y remoción media de tiosulfato del 80%. A razones C/N de 0,41 [g NaHCO₃/g NaNO₂] y S/N de 1,75 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂].

El aumento paulatino de la VCN mantuvo una remoción tanto de tiosulfato como de nitrito cercanas al 100% hasta el día 15 de operación continua, en el cual la VCN óptima de remoción de tiosulfato y nitrito alcanzada fue de 0,73 [kg N/m³/d], con un TRH constante de 0,5 [d], con razones C/N de 0,41 [g NaHCO₃/g NaNO₂] y S/N de 1,62 [g Na₂S₂O₃•5H₂O/g NaNO₂].

La remoción se potencia con el nitrito como compuesto limitante. Se registra inhibición por sustrato a una VCN de 0,75 [kg N/m³/d] y 30% de exceso estequiométrico de tiosulfato, marcando el 20% de exceso estequiométrico como el punto óptimo de operación. A mayor VCN, el exceso estequiométrico de tiosulfato necesario tiende a aumentar.

La relación alta que posee el reactor EGSB con respecto a su diámetro y altura, permite la estabilización de bacterias de una forma más eficiente a aumentos de VCN más bruscos, además de permitir operar a TRH bajos en comparación a otros equipos como los UASB o los reactores anaerobios de lecho fijo (RALF), dado que soporta velocidades superficiales más altas.

El granulo o floculo formado es poco denso, debido a la producción de N₂ a altas VCN, provocando el lavado del reactor.

Por lo anteriormente mencionado, el reactor EGSB califica como una opción viable para la desnitrificación autótrofa para RILES con concentraciones elevadas de nitrito y tiosulfato, demostrando remociones de VCN mayores a 1 [kg N/m³/d], mientras contengan concentraciones bajas de materia orgánica.

5.2. Recomendaciones

Las recomendaciones del presente trabajo son:

- Comenzar la experiencia con un exceso del 20% de tiosulfato y aumentarlo de forma gradual (2% cada vez) una vez que la remoción de NO_2^- baje al menos a un 90%.
- Mejorar el sistema de control de temperatura, y tener un *back up* para posibles cortes de luz. Esto disminuirá la probabilidad de muerte de las BDA, evitando la necesidad de re-inocular.
- Incluir una conexión en “Y” en la entrada de reflujo, que permita realizar tomas de muestra de lodos para análisis de ADA.
- Utilizar todos los equipos de vidrio o *Pyrex*, para evitar problemas relacionados con fugas o filtraciones.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Vol. 22). (APHA, AWWA, y WEF, Eds.) Washington DC: APHA, AWWA, WEF.
- Basaul, C. (2013). Diseño, puesta en marcha y operación de un proceso de nitrificación-desnitrificación simultánea en un reactor SBR, usando zeolita natural. Memoria para la obtener título de Ingeniero Civil Ambiental, UTFSM, Chile.
- Beristain, C. R., Sierra-Alvarez, R., Rowlette, P., Razo-Flores, E., Gomez, J., Field, J. (2006). Sulfide Oxidation Under Chemolithoautotrophic Denitrifying Conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 1148-1156.
- 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*. Santiago de Compostela: Universidade de Santiago de Compostela.
- Cardoso, R., Sierra-Alvarez, R., Rowlette, P., Razo-Flores, E., Gómez, J., Field, J. (2006). Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Biotechnol Bioeng*, 1148–1157.
- Claus, G., y Kutzner, H. (1985). Physiology and kinetics of autotrophicdenitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 238-288.
- Cluster. (10 de Octubre de 2016). Cluster 2 hostgator. Obtenido de <http://www.cluster2.hostgator.co.in/files/writeable/uploads/hostgator96882/image/upflow-anaerobic-sludge.jpg>
- Dapena, A. (2007). Wastewater treatment by anammox process: A short-circuit in the natural nitrogen cycle. Ph.D., España: Universidad de Santiago de Compostela.
- Dogan, E. C., Türker, M., Dagasan, L., Arslan, A. (2012). Simultaneous Sulfide and Nitrite Removal from Industrial Wastewaters under Denitrifying Conditions. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 661-668.
- Fajardo, C., Mora, M., Fernández, I., Mosquera-Corral, A., Campos, J. L., y Méndez, R. (2013). Cross effect of temperature, pH and free ammonia on autotrophic denitrification process with sulphide as electron donor. *Chemosphere*, 10-15.
- Fajardo, C., Mora, M., Fernández, I., Mosquera-Corral, A., Campos, J. L., y Méndez, R. (2014). Cross effect of temperature, pH and free ammonia on autotrophic denitrification process with sulphide as electron donor. *Chemosphere*, 10-15.
- Fajardo, M. C. (2011). Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds. Ph.D, España: Universidade de Santiago de Compostela.
- Fdz-Polanco, F., Fdz-Polanco, M., Fernández, N., Ureña, M. A., García, P. A., y Villaverde, S. (2001). Combining the biological nitrogen and sulfur cycles in anerobic condition. *Water Science and Tecnology*, 77-84.
- Flux, C., y Siegrist, H. (2004). Nitrogen removal from sludge digester liquids by nitrification/denitrification or partial nitrification/anammox: environmental and economical considerations. *Water Science and Tecnology*, 19-26.
- Fundamentals, E. (10 de Octubre de 2016). Engineering fundamentals. Obtenido de <http://www.engineeringfundamentals.net/EGSBs/ICreator.JPG>

- Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erisman, J. W., Belkunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., Sutton, M. A. (2008). Transformation of the Nitrogen Cycle. *Science*, 889-892.
- Garrido, M. (2014). Otención de biomasa enriquecida en bacterias desnitrificantes autótrofas y formación de biopelícula sobre zeolita natural chilena como soporte. Memoria para la obtener título de Ingeniero Civil Ambiental, UTFSM, Chile.
- Gruber, N., y Galloway, J. N. (2008). An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 293-296.
- Hao, O. J., Kim, M. H., Seagren, E. A., y Kim, H. (2002). Kinetics of phenol and clorophenol utilization by *Acinetobacter* sp. *Chemosphere*, 797-807.
- Harris, D. (2007). *Análisis Químico Cuantitativo* (Sexta edición ed.). Grupo Editorial Iberoamérica.
- Jianlong, W., y Ning, Y. (2004). Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions. *Process Biochemistry*, 1223-1229.
- Kleerebezem, R., y Méndez, R. (2002). Autotrophic denitrification for combined hydrogen sulphide removal from post-denitrification. *Water Science and Tecnology*, 349-356.
- Koenig, A., y Liu, L. H. (2001). *Microbial aspects of autotrophic denitrification of wastewaters* (Vol. 21). China: Elsevier.
- Lens, P. N., y Kuenen, J. G. (2001). The biological sulphur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology. *Water Science and Tecnology*, 57-66.
- Lim, S. (2011). Comparisons Between the UASB and the EGSB Reactor. 7. USA.
- Madigan, M. T., y Martinko, J. M. (2006). *Brock Biology of Microorganisms*. New York, EE. UU: Prentice-Hall.
- Mahmood, Q., Zheng, P., Hayat, Y., Islam, E., Wu, D., y RenCun, J. (2008). Effect of pH on anoxic sulfide oxidizing reactor performance. *Bioresource Technology*, 3291-3296.
- Mahmood, Q., Zheng, P., Hayat, Y., Ren-cun, J., Azim, M. R., Jilani, G., Ahmed, M. (2009). Effect of nitrite to sulfide ratios on the performance of anoxic sulfide oxidizing reactor. *Arabian J. for Science and Engineering*, 45-54.
- Manconi, I., Carucci, A., y Lens, P. (2007). Combined removal of sulphur conpuonds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. *Biotechnology Bioengineering*, 551-560.
- N. Po, H., y Senozan, N. (2001). The Henderson–Hasselbalch Equation: Its History and Limitations. *Journal of Chemical Education*, 1499-1503.
- OEHS, O. (2005). Nitrogen Reducing Technologies for Onsite Wastewater Treatment Systems. 88. United States: Washington State Department of Health.
- Oh, S. E., Kim, K. S., Choi, H. C., y Kim, I. S. (2000). Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying sulfur bacteria. *Water Science and Tecnology*, 59-68.
- Peng, Y., y Zhu, G. (2006). Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification. *Appl. Microbiol. Technologies*, 15-26.
- Reijerse, E. J., Sommerharlter, M., Hellwing, P., Quentmeier, A., Rother, D., Laurich, C., Friedrich, C. G. (2007). The unusual redox centers of SoxXA, a novel c-type heme-enzyme essential for chemolithotrophic sulphuroxidation of *Paracoccus pantotrophus*. *Biochemistry*, 7804-7810.
- Strous, M., Heijnen, J. J., Kuenen, J. G., y Jetten, M. (1998). The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium oxidizing mircoorganisms. *Appl. Microbiol. Technologies*, 589-596.

- Sun, Y., y Nemati, M. (2012). Evaluation of sulphur-based autotrophic denitrification and denitritation for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters. *Bioresource Technology*, 207-216.
- Tandukar, M., Pavlostathis, S., y Cervantes, F. (2009). *Autotrophic denitrification for the removal of nitrogenous and sulphurous contaminants from wastewaters* (Vol. 12). Londres: IWA Publishing.
- Uyanik, I., Demirel, S., y Çelikten, H. (2013). *Complete removal of nitrate and nitrite by autotrophic denitrification in sulfur-limestone packed column reactor*. Turkey: Ozdemir, Şahinkaya, S., Kalıpcı, E., Oden, M.K.
- Van Kempen, R., Mulder, J. W., Uijerlinde, C. A., y Van Loosdrecht, M. C. (2001). Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Science and Tecnology*, 145-152.
- WEF. (1998). Biological and Chemical Systems for Nutrient Removal. *Special Publication*, 28.
- Widdel, F. (2007). Theory and Measurement of Bacterial Growth. 8. Bremen, Germany: Universität Bremen.
- Yamamoto-Ikemoto, R., Komori, T., Nomura, M., Ide, Y., y Matsukami, T. (2000). Nitrogen removal from hydroponic culture wastewater by autotrophic denitrification using tiosulfate. *Water Science and Tecnology*, 369-376.
- Zhou, W., Sun, Y., Wu, B., zhang, Y., Huang, M., Miyanagaa, T., y Zhang, Z. (2011). Autotrophic denitrification for nitrate and nitrite removal using sulphurlimestone. *J. of Enviromental Sciences*, 1761-1769.

ANEXOS

A1. Caracterización de sólidos suspendidos totales. (APHA, 2012)

Materiales

Tabla 16 Materiales necesarios para análisis de SST

Estufa de secado	Aparato de filtración por membrana
Balanza Analítica	Varilla de vidrio de 30-40 [cm]
Pipeta de 10 [ml]	Filtro
Pro pipeta	Desecadora
Pinza	Agua destilada
Mufla	Aluminio o crisol

El siguiente procedimiento fue utilizado para todas las réplicas en la caracterización de inóculo.

1. Se coloca un filtro en el aparato de filtración, se aplica vacío y se lava el filtro 3 veces con 20 ml de agua destilada cada vez.
2. Continuar hasta que no se pueda filtrar nada más de agua con la bomba de vacío.
3. Con las pinzas se toma el filtro y se ubica en la estufa a 105 [°C] por 2 horas.
4. Sacar el filtro nuevamente con las pinzas y ubicarlo en el desecador por 15 minutos.
5. Finalizado el tiempo de desecado, lo más rápido posible, trasladar el filtro con las pinzas a la balanza analítica y pesar. Registrar el peso como B.
6. El filtro ya pesado se vuelve a ingresar al aparato de filtración y ajustarlo con una dosis de agua destilada de 20 [ml].
7. Con la pipeta de 10 [ml] y la pro pipeta, tomar 10 [ml] de la muestra homogénea a medir. (este volumen es “v”, cambiar en caso de ser muy diluido o muy espeso).
8. Pasar por el filtro en el aparato filtrador la muestra de 10 [ml] de muestra homogénea teniendo cuidado de no botar contenido por los bordes del filtro.
9. Lavar con 3 porciones de 10 [ml] de agua destilada y continuar por 3 minutos más.
10. Sacar el filtro con las pinzas y ubicarlo en la estufa por una hora a 105 [°C].
11. Sacar el filtro con las pinzas y ubicarlo en el desecador por 15 minutos.
12. Con las pinzas ubicar el filtro en la balanza analítica. Registrar el peso como A.

Cálculos:

$$SSt = \frac{(A - B) * 1000}{v} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

- SSt: Solidos suspendidos totales [mg/L]
- A: Masa filtro más muestra seca [mg]
- B: Masa filtro seco [mg]
- V: Volumen de muestra analizado [ml]

Nota: Realizar todo en triplicado. Tener en cuenta que al pesar en la balanza analítica, el filtro comenzará a ganar humedad del ambiente, por lo que no se puede esperar a que se estabilice el valor.

Caracterización de solidos suspendidos volátiles

1. Pesar un cono de aluminio o crisol en la balanza analítica. Registrar el peso como C.
2. Doblar cuidadosamente el filtro con la muestra previamente tarada para los SSt e ingresarlo al crisol. (En el caso de usar aluminio dejar un pequeño hueco para dejar salir el vapor, o de lo contrario la muestra no será real).
3. Ingresar el crisol en la mufla a 550 [°C] por una hora.
4. Con unas pinzas ubicar el crisol en el desecador por 15 minutos. (Cuidado con el calor del crisol, puede dejar el desecador sellado al vacío por el cambio de temperatura).
5. Pesar el crisol frio con la balanza analítico. Registrar el peso como D.

Cálculos:

$$SSv = SSt - \frac{(D - C) * 1000}{v} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

- SSv: Solidos suspendidos volátiles [mg/L].
- SSt: Solidos suspendidos totales [mg/L].
- D: Peso crisol más muestra de cenizas [mg].
- C: Peso crisol [mg].
- V: Volumen de muestra utilizado en la medición de los SSt [ml].

Nota: El cálculo realizado al restar la tara a la muestra, da las cenizas (componentes no orgánicos). Al restarlo a los sólidos totales da los volátiles.

A2. Determinación de pH (APHA, 2012)

El procedimiento corresponde al pH-metro Orios Star A211 de Arquimed.

1. Extraer el electrodo de su solución de mantención, enjuagar con agua destilada y secar con papel.
2. Introducir el electrodo en la muestra, hasta que la pantalla del instrumento indique “ready”.
3. Registrar valor de pH indicado en pantalla.
4. Retirar el electrodo, lavar, secar y devolver a solución de mantención.

Para la calibración del equipo se utilizaron los siguientes reactivos:

- Solución patrón pH 4,01.
- Solución patrón pH 7,01.
- Solución patrón pH 10,01.

A3. Determinación de nitrito. (APHA, 2012)

Materiales

Tabla 17 Materiales para análisis de nitrito

Espectrofotómetro	2 Matraces aforados de 50 [ml]
Reactivo Nitrito	Micro pipeta
Agua destilada	Capsulas de cuarzo
Alcohol	Pañuelos suaves
Guantes sin talco	

Para el análisis de las muestras, primero se debe crear el reactivo de nitrito, el cual le dará el color purpura rojizo que será detectado por el colorímetro. Dependiendo de la cantidad de nitrito presente en la muestra, mayor color tomara la muestra.

Para la preparación del reactivo de nitrito se mezcla sulfanilamida diazotada (amina de un derivado azoico) con NED dihidroclorato [N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride] a un pH de 2,0 a 2,5.

El rango de trabajo para la muestra es de 10 a 1000 [$\mu\text{g NO}_2^-$ - N/L], lo que vuelve necesario la preparación de las muestras primero, diluyéndolas a un punto de análisis.

Para encontrar la dilución correcta, no existe otro método más que el de iteración, aun cuando existan predicciones teóricas para la concentración de la muestra.

La dilución se lleva a cabo con la micro pipeta y matraces aforados, y una muestra previamente filtrada.

1. Agregar 1 [ml] de muestra con micro pipeta a un matraz aforado de 50 [ml].
2. Aforar con agua destilada el matraz y agitar para homogeneizar la muestra. Recordar la dilución previa.
3. Aforar un matraz sin muestra con agua destilada.
4. Agregar 2 [ml] de reactivo de nitrito con una micro pipeta y una nueva puntilla previamente ambientada a ambos matraces.
5. Agitar el matraz hasta homogeneizar.
6. Esperar 10 minutos para que el reaccione el reactivo con el nitrito en la muestra.
7. Programar el espectrofotómetro en la sección ATC y onda simple de 543 [nm].

8. Ambientar 3 veces las capsulas de cuarzo con cada muestra e ingresarlas al espectrofotómetro.
Color el blanco en la celda 1.
9. Crear 0 y medir absorbancias.
10. Repetir con las muestras luego de 2 horas y promediar los resultados.

Curvas utilizadas

A lo largo del experimento se utilizó una sola corva, debido a la poca varianza de las lecturas a lo largo del tiempo.

Aun así se generaron 2 curvas, para 2 rangos de absorbancia para altas y bajas concentraciones, aumentando la exactitud en las lecturas.

Tabla 18 Concentración y absorbancias para generación de curvas

Concentración	Abs 1	Abs 2	Promedio
3,521	2,914	2,932	2,923
0,880	0,785	0,787	0,786
0,352	0,296	0,296	0,296
0,088	0,078	0,08	0,079
0,035	0,032	0,037	0,0345

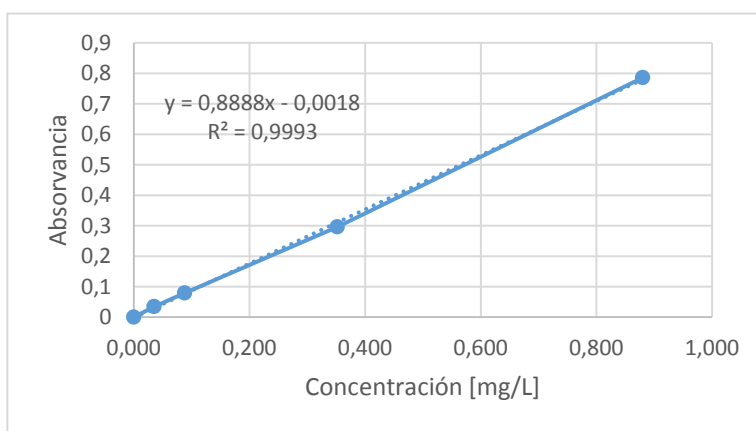


Figura 21 Curva de absorbancia vs concentración de nitrito para concentraciones bajo 0.4 [mg/L]

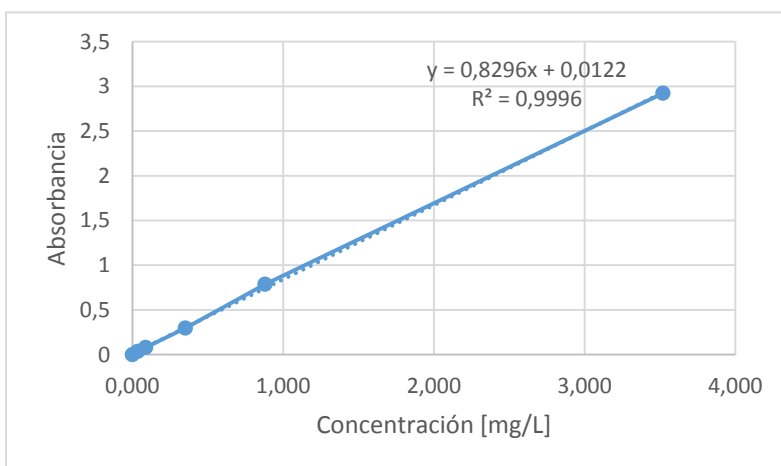


Figura 22 Curva de absorción vs concentración de nitrato para concentraciones sobre 0.4 [mg/L]

Problemas típicos

Nota: Tener cuidado con los lados de las capsulas para no interferir con el haz de luz. Después de convertir la absorbancia en concentración se debe multiplicar por la dilución para obtener el resultado real.

El valor máximo recomendado para la medición es de una absorbancia igual a 1.1, de lo contrario el resultado no se considera muy confiable.



Figura 23 Escala de colores para muestras de nitrato a diferentes concentraciones

A4. Determinación de Tiosulfato (Harris, 2007)

Materiales

Tabla 19 Materiales necesarios para análisis de tiosulfato

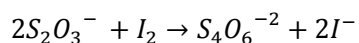
Micro buretas	Matraces 50 [ml]
Vasos precipitados 50 y 100 [ml]	Micro pipeta
Yodo	Tiosulfato
Almidón	Ferroína
Agua destilada	

Previo al análisis de las muestras, es necesario preparar el equipo, tanto el yodo como el tiosulfato, ambientando 3 veces cada bureta con el compuesto específico y un pozo para cada compuesto que permita aforar las buretas.

Además se debe tener un pozo común para las limpiezas y posibles desechos generados en las mediciones.

1. Pipetear con una micro pipeta de 10 a 20 [ml] en un matraz Erlenmeyer a partir de una muestra previamente filtrada.
2. Titular con yodo mientras se agita el matraz hasta que el contenido tome un color amarillo claro. Anotar el volumen (En el caso que el color se formara a medias con una gota aun en suspensión en la bureta, cortar la gota con agua destilada y ver si termina de cambiar el color. Así se evita la sobre titulación y el exceso de error).
3. Agregar 3 gotas de almidón. (Agitar previamente el almidón, ya que este forma fases cuando está en reposo). La muestra tomara un color verdoso azulado.
4. Titular con el tiosulfato hasta que la muestra vuelva a tomar un color transparente. Anotar el volumen de tiosulfato.

La reacción llevada a cabo en la valoración con yodo y que será ocupada en los cálculos posteriores, es la siguiente:



El procedimiento de cálculo es como sigue:

1. Conocido el volumen consumido por el yodo de la solución de tiosulfato 0,1 N (patrón primario, solución estándar), por la reacción se puede conocer la cantidad de moles de yodo consumido por la solución estándar (tiosulfato 0,1 N).
2. Conocido el volumen agregado de yodo a la muestra en primer momento, se tienen entonces los moles totales de yodo.
3. entonces la resta entre los moles totales de yodo conocidos (punto 2) y los moles de yodo consumidos por la solución estándar (punto 1), da como resultado el yodo consumido por el tiosulfato de la muestra.
4. Finalmente ocupando la reacción entre el yodo y tiosulfato se conocerá la cantidad de moles de tiosulfato que se tienen en la muestra.
5. Los moles de tiosulfato en la muestra son convertidos en concentración de miligramos de tiosulfato en un litro de solución de muestra.
6. Si es que es necesario conocer el porcentaje de remoción de tiosulfato, se debe conocer también la cantidad de tiosulfato presente en la alimentación del reactor. La remoción viene dada por la siguiente relación:

$$\%Remocion = \left(\frac{[Tio]_i - [Tio]_f}{[Tio]_i} \right) * 100\%$$

A5. Determinación de Sulfato. (APHA, 2012)

Materiales

Tabla 20 Materiales necesarios para análisis de sulfato

Espectrofotómetro	2 Matraces aforados de 50 [ml] o probetas de 100 [ml]
Solución acondicionadora	Micro pipeta
Agua destilada	Capsulas de cuarzo
Alcohol	Pañuelos suaves
Guantes sin talco	Cloruro de bario
Varilla de agitación	Vaso precipitado de 100 [ml]

Al igual que con los otros análisis, es necesario diluir la muestra a una concentración que se sepa que es capaz de medir el espectrofotómetro. Para esto se utiliza un matraz aforado y una micro pipeta, pipeteando la cantidad deseada para la dilución.

Previamente a la muestra se debe filtrar para eliminar cualquier interferencia producida por solidos suspendidos en la muestra, ya sean bacterias, precipitados de otros compuestos, etc.

1. De la solución diluida, tomar 50 [ml] a partir de un matraz aforado de 50 [ml], o midiéndolo en una probeta de 100 [ml].
2. Traspasar la muestra a un vaso precipitado de 100 [ml].
3. Agregar 5 [ml] solución acondicionadora y mezclar suavemente.
4. Agregar una cucharadita rasa de cloruro de bario y agitar vigorosamente. (Esta medida no tiene que ser exacta).
5. Realizar lo mismo en un vaso precipitado con 50 [ml] de agua destilada o des ionizada.
6. Realizar lo mismo con una solución con concentración conocida de sulfato para tener una solución patrón de contraste.
7. Calibrar el espectrofotómetro en ATC onda simple a 420 [nm].

8. Ambientar las celdas de cuarzo 3 veces.
9. Llenar y limpiar con pañuelos suaves.
10. Ingresar todas las capsulas con el blanco, el patrón y las muestras.
11. Fijar el auto cero e iniciar medición.
12. Corroborar la concentración de la solución patrón. En el caso de haber una diferencia del más del 10% se debe volver a crear una nueva curva y realizar los análisis de nuevo.

Nota: Todo el análisis no puede durar más de 5 minutos desde que se agrega la solución acondicionadora, puesto que esta se desestabiliza.

Creación de la solución acondicionadora.

- 300 [ml] de agua destilada.
- 30 [ml] de ácido clorhídrico.
- 100 [ml] de alcohol isopropílico.
- 75 [gr] de cloruro de sodio p.a.
- 50 [ml] de glicerol.
- Aforar a 500 [ml] con agua destilada y conservar a temperatura ambiente.

Verificación de la curva de calibración:

Cada vez que se analicen muestras basta con verificar la validez de la curva existente. Para este caso, se prepara un patrón de concentración 20 [mg/L] y se lee como si fuera muestra. Si el resultado es coincidente $\pm$ 10%, se considera que la curva es válida y se procede a preparar y leer las muestras. En caso negativo, repetir el patrón. Si el problema persiste, verificar los reactivos, en particular, la solución madre de sulfato y, si es necesario, prepararlos y construir una nueva curva de calibración.

Curvas utilizadas.

4-6-2015

Tabla 21 Absorbancias y concentraciones, generación de curvas de sulfato de 4-6-2015

CONCENTRACIÓ	
N	ABS
0	0,004
5	0,018
10	0,043
15	0,071
20	0,098
30	0,182
40	0,259

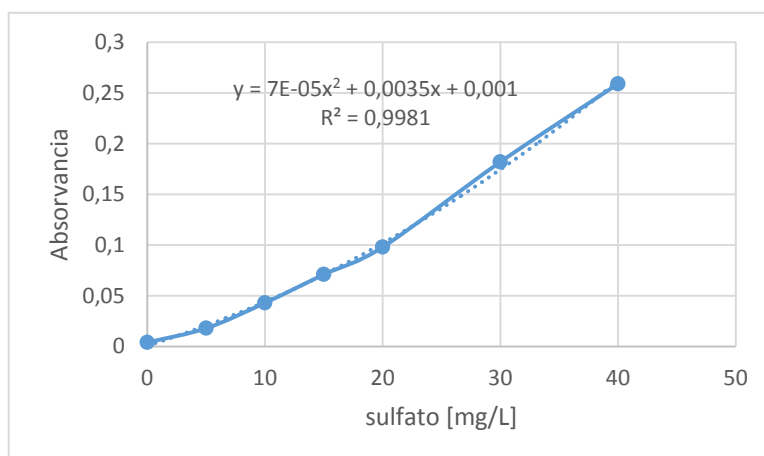


Figura 24 Curva de absorbancia vs concentración de sulfato de la fecha 4-6-2015

24-10-2015

Tabla 22 Absorbancias y concentraciones, generación de curvas de sulfato de 24-10-2015

CONCENTRACIÓ	
N	ABS
0	0
5	0,017
10	0,059
15	0,109
20	0,136
50	0,473
100	0,939
150	1,307

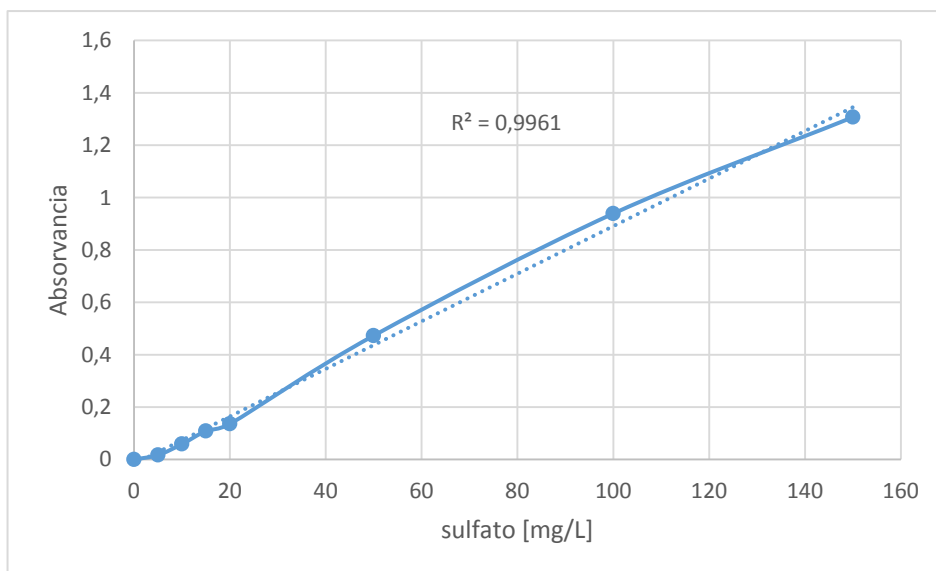


Figura 25 Curva de absorvancia vs concentració de sulfato de la fecha 24-10-2015

A6. Pruebas de degradación natural de nitrito.

Para determinar el tiempo que soporta la alimentación en el estanque de alimentación antes de que esta se degrade alterando los resultados del experimento.

Se inició con la hipótesis de una degradación natural de un 10% de la concentración total.

Los resultados son los siguientes.

Tabla 23 Absorbancias y concentraciones de la alimentación en degradación natural

FECHA	MUESTRA 1		MUESTRA 2		PROMEDI O	DILUCIÓ N
	Abs	Con [mg/l]	Abs	Con [mg/l]	[mg/l]	1 : x
12-05-2015	1,07	977,40	1,09	1000,00	988,70	500
13-05-2015	1,19	1083,17	1,20	1095,82	1089,50	500
14-05-2015	1,258	1148,26	1,23 7	1129,27	1138,76	500
15-05-2015	1,365	1244,98	1,43 2	1305,55	1275,27	500
16-05-2015	1,541	1404,09	1,50 5	1371,54	1387,81	500

La conversión de la absorbancia a concentración de nitrito es determinada por la siguiente curva hecha previamente en el espectrofotómetro con concentraciones conocidas.

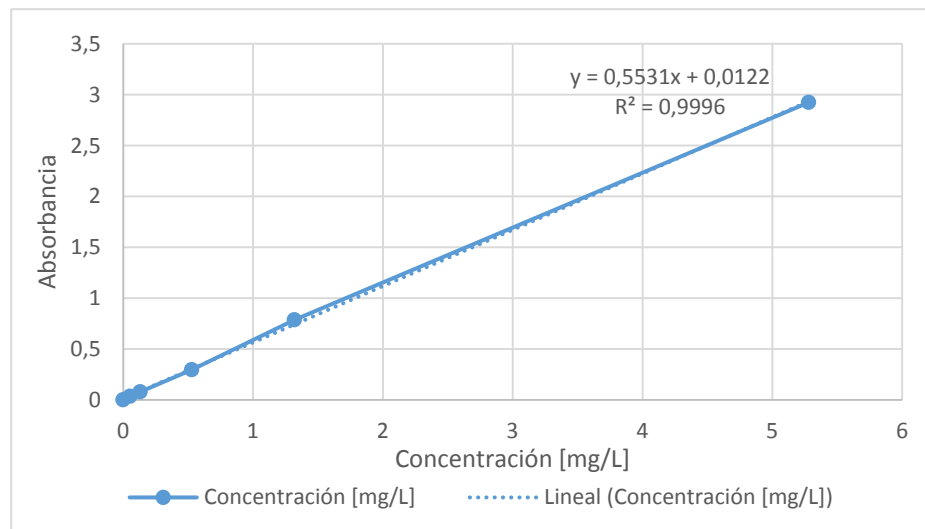


Figura 26 Curva concentración vs absorbancia de nitrito

Tabla 24 Resultado degradación natural de alimentación

FECHA	$\text{NANO}_2^{\text{TEO}}$	NO_2^{TEO}	$\text{NANO}_2^{\text{EXP}}$	NO_2^{EXP}	$\Delta\%$
12-05-2015	1000	666,79	988,70	659,26	0
13-05-2015	900	600,11	1089,50	726,47	10%
14-05-2015	810	540,10	1138,76	759,32	5%
15-05-2015	729	486,09	1275,27	850,34	12%
16-05-2015	656,1	437,48	1387,81	925,38	9%

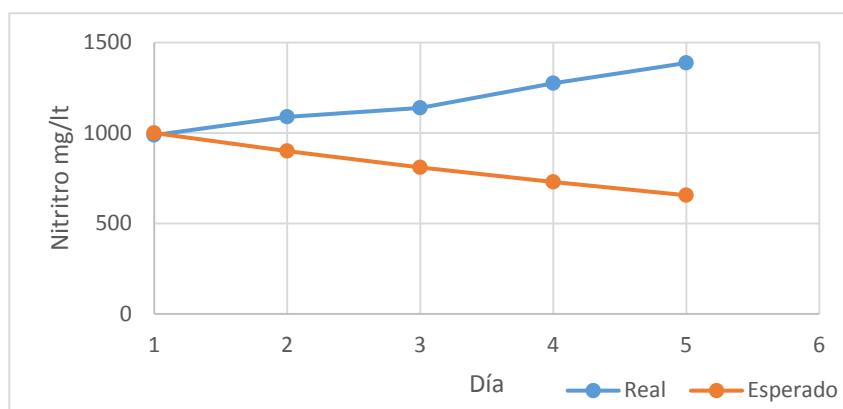


Figura 27 Curva de degradación natural de nitrito, concentración en el tiempo

Como se puede apreciar tanto en la tabla de resultados como en la figura 27, la concentración de nitrito no solo no disminuyó, sino que esta aumentó, posiblemente producto a la evaporación de agua dentro de la cámara térmica al estar a más de 31 [°C]. Esto deja en claro que el nitrito no se degrada, al menos no de forma considerable o importante dentro de los primeros días, pero si, por medio de inspección visual se ve sedimentación de ciertos compuestos. Por estos motivos se agrega un agitador a la alimentación.

Como conclusión se puede decir que el nitrito no varía de forma importante para los resultados de los análisis del reactor, pero para evitar que la precipitación de otros compuestos, la alimentación se mantiene por 2 días en el estanque con la ayuda de un agitador.

A7. Ajuste alimentación Henderson – Hasselbalch. (N. Po y Senozan, 2001)

La ecuación de Henderson – Hasselbalch permite calcular la cantidad de tampón requerida y la relación de estos compuestos para alcanzar y mantener un pH específico. Las ecuaciones que permiten esto son las siguientes.

$$pH = pKa + \log\left(\frac{B}{A}\right)$$

$$A + B = \text{capacidad de amortiguación}$$

- A: Concentración del ácido
- B: Concentración de la base.

A partir de estas 2 ecuaciones se puede calcular las concentraciones de los agentes tampones que en este caso son los compuestos HPO_4^{2-} actuando como base y H_2PO_4^- actuando como ácido.

Para esto es necesario conocer la capacidad de amortiguación necesaria, la cual va cambiando en el tiempo a medida que aumenta la VCN. Se consideró que cada 4 moléculas de NO_2^- se consume 1 protón H^+ , y que cada molécula de HCO_3^- equivale a liberar un grupo hidroxilo OH^- , por lo que la capacidad de amortiguación necesaria sigue la siguiente fórmula.

$$\frac{[\text{NO}_2^-]}{4} + [\text{OH}^-] = \text{capacidad de amortiguación}$$

Con este resultado es solo cuestión de una sustitución simple para resolver las ecuaciones superiores, además de tener el pH deseado que es 7.5. Lo cual nos da no solo la relación molar entre los tampones, sino que también la suma molar de ambos, pudiendo modificar la alimentación cada vez que se aumente la VCN.

A8. Materiales utilizados

La tabla 24 muestra los materiales necesarios para realizar el experimento, tanto como para mantener las condiciones de operación y muestreo.

Tabla 25 Lista de materiales y equipos para el experimento

EQUIPO O MATERIAL	CANTIDAD
BOMBAS PERISTÁLTICAS	2
REACTOR EGSB	1
POZO DE DESECHOS	1
TRAMPA DE GAS	1
ESTANQUE DE ALIMENTACIÓN	1
AGITADOR	1
TERMOCUPLA	1
CALEFACTOR	1
TIMER	1
TUBOS FALCON	2
CONTROLADOR TÉRMICO	1

A9 Contraste mediciones experimentales vs teóricos alimentación

La comparación de los valores teóricos con los experimentales, permiten comprobar la exactitud de la prueba de Tiosulfato y nitrito.

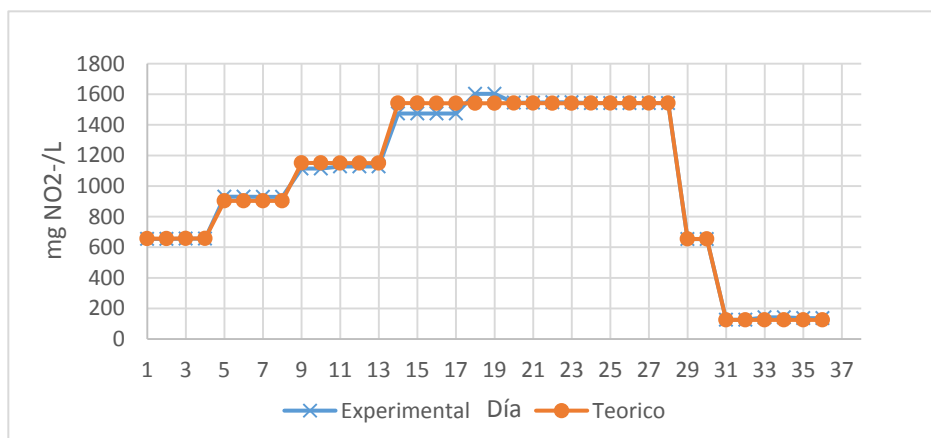


Figura 28 Contraste de valores teóricos y resultados experimentales del nitrito en la alimentación en el tiempo

Las diferencias son mínimas entre ambos valores.

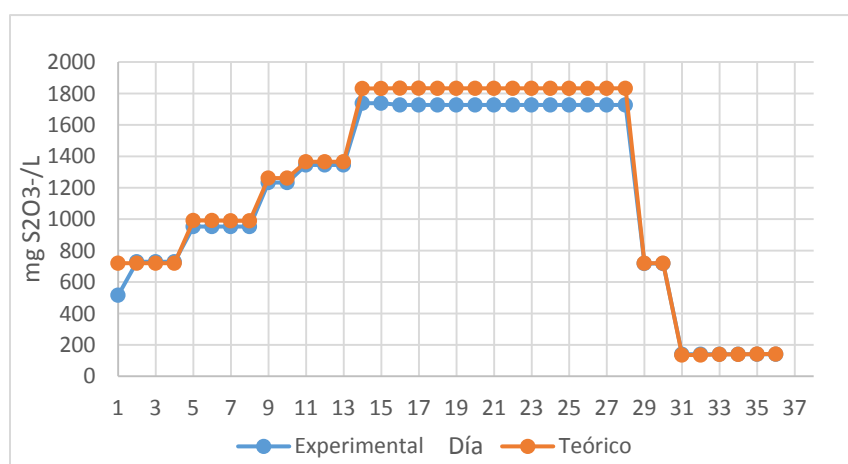


Figura 29 Contraste de valores teóricos y resultados experimentales del tiosulfato en la alimentación en el tiempo

Las diferencias son mínimas entre ambos valores.