

2023-08

Avances en la bio-eliminación simultánea de nitrógeno y azufre en presencia y ausencia de materia orgánica compleja

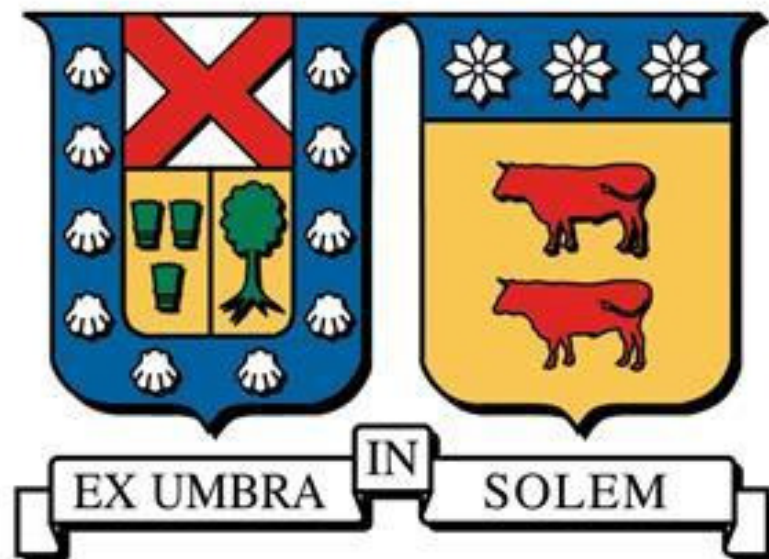
Kemp Pizarro, Felipe

<https://hdl.handle.net/11673/56575>

Repositorio Digital USM, UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL

VALPARAÍSO, CHILE



**“AVANCES EN LA BIO-ELIMINACIÓN SIMULTÁNEA
DE NITRÓGENO Y AZUFRE EN PRESENCIA Y
AUSENCIA DE MATERIA ORGÁNICA COMPLEJA”**

FELIPE KEMP PIZARRO

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL QUÍMICO

PROFESOR GUÍA: DRA. LORNA GUERRERO SALDES.

PROFESOR CORREFERENTE: M.CS. ANDREA BARAHONA LLORÉ.

AGOSTO 2023

Agradecimientos

Este gran paso va dedicado principalmente a mis padres y familia, pilares fundamentales en mi formación y desarrollo a lo largo de las etapas de mi vida. Su aliento, apoyo, consejos y enseñanzas me han entregado herramientas esenciales para afrontar los caminos que he decidido tomar.

A la gran familia del Rugby USM, entrenadores, pañoleros, ex alumnos y los tremendos amigos que conocí gracias a este lindo deporte, que complementó la formación académica con una cuota valórica importante, perseverancia y energía para siempre seguir y salir adelante.

A Gabriel y Felipe, valiosas personas que conocí dentro del mundillo del LOU desde mis inicios.

A los de promoción IQA, que con las constantes actividades me llevaron a desarrollar otras habilidades fuera de laboratorios y auditorios, muy importantes a la hora de enfrentarse al mundo laboral.

A la universidad en general, LOU, profesores, secretarias, auxiliares. De todos ellos siempre obtuve más de alguna enseñanza. A mis profesoras, guía y correferente, por la paciencia, apoyo y oportunidad ofrecida para trabajar en el proyecto Fondecyt N° 1201258, “Desarrollo de procesos biotecnológicos avanzados para la remoción de nitrógeno amoniacal en presencia de azufre y materia orgánica, mediante el uso de zeolita chilena natural”.

A mis amigos de la infancia y no tanto, siempre presentes de una u otra forma.

A todos ustedes, muchísimas gracias!

Resumen

En las últimas décadas el elevado consumo de las reservas acuíferas del planeta por parte del sector doméstico como del industrial, relacionado directamente con el constante crecimiento de la población y de la actividad económica, tiene como consecuencia el aumento de la generación de residuos industriales líquidos (RILes). Para evitar la contaminación, las aguas residuales deben ser depuradas previo a su vertido, a fin de generar el menor impacto posible obedeciendo como mínimo a lo establecido en la normativa vigente.

Dentro de los contaminantes que se presentan en los RILes, especialmente de la agroindustria y el sector pecuario, están la materia orgánica, los compuestos nitrogenados y el azufre. El tratamiento convencional para eliminar N es la nitrificación-desnitrificación heterótrofa, que elimina, además del N, materia orgánica. Sin embargo, también es posible aplicar la desnitrificación autótrofa, que elimina N y compuestos de azufre. Para llevar a cabo la desnitrificación heterótrofa se debe asegurar una relación C/N entre 5 y 6 en el efluente a tratar. Una relación C/N<5 requiere una fuente de carbono externa, lo cual es desfavorable desde el punto de vista económico. Por su lado, la desnitrificación autótrofa no requiere de materia orgánica para la oxidación de compuestos de azufre para relaciones S/N sobre 6, por lo tanto, un crecimiento simultáneo de ambos grupos microbianos permitirá la eliminación conjunta de estos tres contaminantes: materia orgánica, nitrógeno y azufre.

El presente trabajo consiste en la evaluación y comparación de diferentes tecnologías aplicadas a la desnitrificación, estudiadas en los últimos 5 años en el Laboratorio de Tratamiento de RILes de la Universidad Técnica Federico Santa María y elección de la mejor en términos de eficiencias de remoción, abordadas bajo el marco del proyecto Fondecyt N°1201258.

Se analizaron 9 investigaciones de alumnos, entre memorias y tesis, donde se aplicaban las tecnologías *UASB* híbrido, *EGSB*, *RALEF* y *UAF*. Como objetivo general se tiene la puesta en marcha y operación de los distintos reactores, buscando la remoción de nitrito, nitrato y tiosulfato mediante la desnitrificación autótrofa para los tres primeros casos y para el último se busca la remoción de nitrato, tiosulfato y acetato como materia orgánica a través de la desnitrificación autótrofa-heterótrofa.

Las tecnologías *RALEF* y *UAF* utilizan zeolita chilena como medio de soporte microbiano, presentando buena adherencia dada su estructura porosa para así retener altas concentraciones de biomasa y lograr altas VCN. Lo anterior se refleja en remociones de nitrato de 90% para una VCN de 1,1 kg N/m³/d para el caso de *RALEF* y remociones de nitrato de 98% para una VCN de 0,6 kg N/m³/d para el caso del *UAF*. Sin embargo, para este último el sistema favoreció la desnitrificación heterótrofa por sobre la autótrofa al tener como resultado mayor remoción de acetato que de tiosulfato. El sistema *UASB híbrido* presenta remociones de nitrato de 83% para una VCN de 0,5 kg N/m³/d, lo cual es bajo en comparación al resto de las investigaciones.

De las mejores condiciones analizadas, la tecnología *RALEF* logra una VCN de 1,1 kg N/m³/d con remociones de nitrito y tiosulfato de 78%, sin embargo, los resultados máximos obtenidos en la tecnología *EGSB* indican que para una VCN de 1,03 kg N/m³/d se presentan remociones de nitrito y tiosulfato del 96% y 80% respectivamente, lo cual presenta condiciones más favorables para el *EGSB*.

Por lo tanto, la tecnología que presenta un mejor comportamiento según los criterios establecidos es el reactor *EGSB*, alcanzando una remoción de nitrito y tiosulfato cercanas al 100% para una VCN de 0,73 kg N/m³/d, con un TRH de 0,5 d y razones de C/N de 0,41 y S/N de 1,62.

La desnitrificación autótrofa en reactores *EGSB* se presenta como una alternativa factible para tratamiento de RILes a escala real con concentraciones elevadas de nitrito y tiosulfato, hasta 5 g/L de nitrato y VCN de 1 kg N/m³/d mientras mantengan una baja concentración de materia orgánica en la alimentación. Su relación altura/diámetro de 20:1, permite una mejor estabilización de los microorganismos del reactor para aumentos de VCN más bruscos, además de permitir operar a TRH bajos en comparación a otros equipos estudiados.

Índice de contenidos

Agradecimientos i

Resumen..... ii

Índice de contenidos iii

Índice de figuras v

Índice de tablas vi

Capítulo I: Introducción y Objetivos..... 1

1.1 Introducción 1

1.2 Objetivo general 2

1.2.1 Objetivos específicos 2

Capítulo II: Marco Teórico..... 3

2.1 Problemática asociada al Nitrógeno y Azufre 3

2.1.1 Contaminación por Nitrógeno y Azufre en la naturaleza 3

2.1.2 Normativa Ambiental Chilena..... 4

2.2 Procesos de eliminación biológica de nitrógeno..... 5

2.2.1 Desnitrificación Autótrofa (DNA)..... 6

2.3 Reactores Anaerobios..... 7

2.3.1 Reactor *UASB* Híbrido 7

2.3.2 Reactor anaerobio de lecho expandido (*EGSB*) 9

2.3.3 Reactor de lecho fluidizado (RALEF) 10

2.3.4 Reactor *UAF* 11

Capítulo III: Materiales y Métodos..... 13

3.1 Reactor 13

3.1.1 Reactor *UASB* Híbrido 13

3.1.2 Reactor *EGSB*..... 14

3.1.3 Reactor RALEF 16

3.1.4 Reactor *UAF* 18

3.2 Inóculo y sustratos..... 19

3.3 Soporte microbiano	20
3.4 Instalación de Equipos	21
3.4.1 Reactor <i>UASB</i> híbrido.....	21
3.4.2 Reactor anaerobio de lecho expandido (<i>EGSB</i>)	23
3.4.3 Reactor de lecho fluidizado (RALEF)	24
3.4.4 Reactor <i>UAF</i>	25
3.5 Puesta en Marcha y Operación	26
3.5.1 Reactor <i>UASB</i> híbrido.....	26
3.5.2 Reactor anaerobio de lecho expandido (<i>EGSB</i>)	32
3.5.3 Reactor de lecho fluidizado (RALEF)	36
3.5.4 Reactor <i>UAF</i>	38
3.6 Control del Proceso	39
3.7 Resultados y criterios de comparación	40
Capítulo IV: Resultados y Discusión	41
4.1 Primera Etapa: Puesta en Marcha.....	41
4.1.1 <i>UASB</i> híbrido	41
4.1.2 Reactor <i>EGSB</i>	42
4.1.3 Reactor RALEF	44
4.1.4 Reactor <i>UAF</i>	46
4.2 Segunda Etapa: Operación	49
4.2.1 Reactor <i>UASB</i> híbrido.....	49
4.2.2 Reactor <i>EGSB</i>	51
4.2.3 Reactor RALEF	52
4.2.4 Reactor <i>UAF</i>	53
Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones.....	54
Capítulo VI: Bibliografía.....	56
Anexos	60
A. Nitrato: Espectrofotometría UV-VIS (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016).....	60

B. Nitrito: Espectrofotometría UV-VIS (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016).....	61
C. DQO: Espectrofotometría UV-VIS/Volumetría por reflujo cerrado (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016)	62
C.1. Espectrofotometría UV-VIS (Rivera y Barahona, 2016)	63
C.2. DQO: Volumetría por reflujo cerrado (APHA, 2012)	64
D. Tiosulfato: Titulación Yodométrica (Harris, 2007; Rivera y Barahona, 2016).....	65
E. Sulfato: Espectrofotometría UV-VIS (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016).....	67
F. pH: Potenciometría (APHA, 2012)	68
G. Medición ADA.....	68

Índice de figuras

Figura 1 Clasificación de sistemas anaerobios de interés.....	7
Figura 2 Esquema de un Reactor UASB híbrido	8
Figura 3 Esquema básico de un reactor EGSB.....	9
Figura 4 Esquema de reactor de lecho fluidizado	10
Figura 5 Esquema reactor UAF	12
Figura 6 Partes y diseño del reactor UASB híbrido utilizado	14
Figura 7 Diseño reactor EGSB utilizado.....	15
Figura 8 Reactor RALEF.....	17
Figura 9 Configuración del reactor UAF	18
Figura 10 Diagrama de flujo de proceso de UASB híbrido	22
Figura 11 Diagrama de flujo de proceso de EGSB, montaje de equipos y accesorios	24
Figura 12 Diagrama de flujo de proceso de RALEF utilizado.....	25
Figura 13 Diagrama de flujo de proceso de UAF instalado.....	26
Figura 14 Remoción de nitrógeno y producción de sulfato en la etapa de enriquecimiento.	43
Figura 15 Comportamiento de compuestos nitrogenados durante la puesta en marcha VCN cte de 0,018 kg N/m ³ /d.....	45
Figura 16 Comportamiento de los compuestos del tiosulfato durante la puesta en marcha a VCN constante.....	45
Figura 17 Proceso de formación de biopelícula. Enriquecimiento del reactor UAF en operación fed batch, inóculo (a): día 1-5, acondicionamiento de la superficie (b): día 6-11, adherencia a la	

superficie (c): día 11-16, maduración de la biopelícula (d): día 17-24, desprendimiento de las bacterias en el relleno (e): día 25-35.	46
Figura 18 Comportamiento del pH.....	47
Figura 19 Remoción de nitrato en la puesta en marcha UAF	47
Figura 20 Concentración de nitrito y nitrato en la alimentación y efluente, nitrito únicamente en efluente	48
Figura 21 Remoción de tiosulfato en la puesta en marcha	48
Figura 22 Remoción de acetato en la puesta en marcha de UAF	49

Índice de tablas

Tabla 1: Límites máximos permitidos por normativa para aguas superficiales, subterráneas y alcantarillado.....	5
Tabla 2 Dimensiones generales de reactor a escala laboratorio	13
Tabla 3 Dimensiones generales de reactor EGSB utilizado.....	16
Tabla 4 Dimensiones reactor RALEF utilizado	17
Tabla 5 Dimensiones reactor UAF utilizado	19
Tabla 6 Composición de macronutrientes basal.....	19
Tabla 7 Composición de micronutrientes basal.....	20
Tabla 8 Especificaciones mineralógicas y fisicoquímicas de la zeolita.....	20
Tabla 9 Composición química de la zeolita	21
Tabla 10 Equipos principales necesarios para montaje UASB híbrido.....	22
Tabla 11 Equipos necesarios para montaje EGSB.....	23
Tabla 12 Equipos necesarios para montaje UAF.....	26
Tabla 13 Parámetros de operación del reactor UASB híbrido	27
Tabla 14 Composición de macronutrientes, medio mineral sintético (alimentación)	28
Tabla 15 Composición de la solución de micronutrientes	28
Tabla 16 Velocidad de cargas de los sustratos para la puesta en marcha del reactor UASB híbrido	28
Tabla 17 Solución de macronutrientes para reactor UASB híbrido para DNA vía nitrato	29
Tabla 18 Solución de micronutrientes para reactor UASB híbrido para DNA vía nitrato	30
Tabla 19 Solución final de macronutrientes para reactor UASB híbrido para DNA vía nitrito	31
Tabla 20 Composición de macronutrientes para reactor EGSB para DNA vía nitrito.....	33
Tabla 21 Composición de micronutrientes para reactor EGSB para DNA vía nitrito.....	34
Tabla 22 Parámetros de operación del reactor EGSB vía nitrito	34
Tabla 23 Parámetros de operación del reactor EGSB vía nitrato	35
Tabla 24 Composición del RIL sintético para las diferentes etapas	36

Tabla 25 Composición de la solución de micronutrientes para la operación de EGSB vía nitrato	36
Tabla 26 Composición de solución de enriquecimiento para reactor RALEF	37
Tabla 27 Composición de solución de micronutrientes	37
Tabla 28 Parámetros de operación UAF	39
Tabla 29 Parámetros de control y métodos analíticos	39
Tabla 30 ADA en operación de UASB híbrido.....	41
Tabla 31 Remoción de nitrato y pH en la puesta en marcha	42
Tabla 32 Remoción en etapa enriquecimiento para tecnología EGSB	43
Tabla 33 Puesta en marcha EGSB.....	43
Tabla 34 Puesta en marcha RALEF	44
Tabla 35 Puesta en marcha RALEF (tiosulfato)	45
Tabla 36 Enriquecimiento de bacterias heterótrofas y remoción de nitrato	46
Tabla 37 Comparación de resultados UASB híbrido en operación	50
Tabla 38 Resultados de Puesta en Marcha y Operación del reactor RALEF	53

Capítulo I: Introducción y Objetivos

1.1 Introducción

El desarrollo de la actividad humana trae consecuencias positivas y negativas. Desde el punto de vista ambiental, el crecimiento de la población y sus actividades generan un deterioro en el ecosistema, desequilibrando los ciclos naturales causando efectos negativos, tales como lluvia ácida, eutrofización y malos olores (Nia *et al.*, 2023). Los cursos de aguas naturales son invadidos por descargas incontroladas de efluentes provenientes de diversas industrias, residuos industriales líquidos (RILes) que tienen como principales contaminantes la materia orgánica, nitrógeno y azufre.

Esta creciente actividad genera la necesidad aumentar las exigencias de las normativas ambientales y a su vez mejorar los procesos para la depuración de los efluentes. El desarrollo de tecnologías permite disminuir costos de inversión y mejorar los procesos disminuyendo las etapas unitarias, eliminando por separado compuestos nitrogenados y sulfurados en presencia o ausencia de materia orgánica.

La tecnología convencional para eliminación de compuestos nitrogenados presentes en aguas residuales es la desnitrificación heterótrofa, que requiere materia orgánica como fuente de carbono y energía, pero para los casos en donde el efluente presente una baja concentración de materia orgánica (baja relación C/N), su funcionamiento se ve limitado ya que las bacterias requieren de materia orgánica para su proliferación. La desnitrificación autótrofa/heterótrofa se presenta como una buena alternativa dado que los microorganismos que permiten la eliminación simultánea de nitrógeno y azufre en presencia y ausencia de materia orgánica (Guerrero *et al.*, 2018). Las bacterias desnitrificantes, *Thiobacillus denitrificans*, reducen nitratos o nitritos y oxidan compuestos de azufre inorgánico.

Por este motivo se establece un estudio en donde se realizará una comparación entre distintas investigaciones realizadas para la eliminación de compuestos nitrogenados y sulfurados, evaluando principalmente la velocidad de carga nitrogenada (VCN). La comparación determinará aquellas tecnologías que evidencien una mayor eficiencia de remoción de nitrito, nitrato y tiosulfato específicamente, teniendo a su vez consideraciones operativas que podrían limitar el desempeño de la tecnología.

El presente estudio forma parte del proyecto Fondecyt N° 1201258 y propone diferentes tecnologías para la eliminación simultanea de compuestos nitrogenados y sulfurados. Recopila 5 años de investigación aplicada al desarrollo de la desnitrificación autótrofa/heterótrofa.

1.2 Objetivo general

Evaluar la mejor alternativa tecnológica de eliminación de nitrito, nitrato y tiosulfato, en base a los estudios bajo el marco del proyecto Fondecyt N° 1201258, “Desarrollo de procesos biotecnológicos avanzados para la remoción de nitrógeno amoniacal en presencia de azufre y materia orgánica, mediante el uso de zeolita chilena natural”.

1.2.1 Objetivos específicos

Los diferentes estudios serán comparados en base a los resultados planteados en sus respectivas conclusiones. Los principales parámetros de operación a considerar son:

- Velocidad de carga nitrogenada (VCN) óptima
- Remoción de nitrito y nitrato
- Remoción de tiosulfato
- Razón S/N en alimentación
- Velocidad superficial
- Tiempo de Retención Hidráulica (TRH)
- Temperatura y pH de operación
- Consideraciones operacionales de las diferentes tecnologías

En base a las consideraciones anteriores se evaluarán los rendimientos de eficiencia de remoción de nitritos, nitratos y tiosulfatos para la mayor VCN.

Capítulo II: Marco Teórico

2.1 Problemática asociada al Nitrógeno y Azufre

2.1.1 Contaminación por Nitrógeno y Azufre en la naturaleza

Los componentes presentes en las aguas residuales industriales, provenientes de fábricas o industrias de procesos químicos, son compuestos ya identificados, como nitrógenos, sulfuros y carbonos orgánicos, los que son peligrosos tanto para los humanos, como también, para el medio ambiente y para las formas de vida acuáticas (Li y Tabassum, 2022).

La actividad humana está modificando la velocidad de algunos procesos involucrados en el ciclo natural del nitrógeno, por lo que producen acumulaciones de compuestos nitrogenados en las aguas, causando su contaminación. Los procesos antropogénicos que más influyen en este ciclo son (Sun y Nemati, 2012; Nia *et al.*, 2023):

- i. La minería y el uso de combustibles fósiles que provocan que vuelva a entrar en juego el nitrógeno que ya fuera eliminado previamente del ciclo activo.
- ii. La fijación del nitrógeno atmosférico mediante procesos químicos (industrias de fertilizantes) y por el cultivo de plantas fijadoras de nitrógeno.
- iii. Industrias de alimentos, agricultura e instalaciones ganaderas son fuente importante de contaminación del agua por nitrógeno.
- iv. Lixiviados de vertederos, también contribuyen a la contaminación por nitrato y otros compuestos nitrogenados.

Los problemas que origina el nitrógeno en las aguas residuales van a depender de la forma en que se encuentre, que puede ser como nitrato, nitrito y amonio. El nitrógeno amoniacal plantea problemas como (Sun y Nemati, 2012; Nia *et al.*, 2023):

- Eutrofización: el crecimiento excesivo de las algas en los cursos de las aguas se convierte en una fuente de contaminación importante.
- Toxicidad: el amonio es un compuesto tóxico para muchas especies de la fauna acuática incluso a concentraciones muy bajas.
- Pérdida de oxígeno en las aguas: su oxidación a nitrato supone una disminución del oxígeno disuelto (OD) de 4,57 g O₂/g N oxidado.

Mientras que los principales efectos producidos por el nitrito y nitrato son (Nia *et al.*, 2023):

- Metahemoglobinemia (síndrome del bebé azul) en niños de corta edad. Su causa es la ingestión de nitritos o la formación de éstos a partir de nitratos en el estómago, debido a la flora reductora que existe en él.
- A niveles altos de nitrato se forman compuestos como nitrosaminas y nitrosamidas que son cancerígenos.
- Exposiciones prolongadas a altas concentraciones puede llevar a alteraciones de los vasos sanguíneos.
- La desnitrificación incontrolada en las aguas receptoras origina óxidos de nitrógeno (NO y N₂O) que contribuyen a la destrucción de la capa de ozono.

A su vez, los efluentes con compuestos de azufre provienen de fuentes industriales tales como (Ostermeyer *et al.*, 2022):

- Minera y metalúrgica
- Petroquímica
- Celulosa y papel
- Curtiembres
- Tratamiento anaerobio de lodos
- Residuos agrícolas.

Las formas de azufre, como el ácido sulfhídrico (H₂S), altamente tóxico y corrosivo y el dióxido de azufre (SO₂) contribuyen a la lluvia ácida (Tang *et al.*, 2010).

La eliminación de estos contaminantes de las aguas, por medio de tratamientos biológicos tiene mayores ventajas, debido a la operación a bajas presiones y temperatura, además de la ausencia de catalizadores costosos (Tang *et al.*, 2010).

Dentro de los procesos biológicos, el tratamiento anaerobio de estos efluentes, también presenta ventajas, como la eliminación de los costos por aireación (Tang *et al.*, 2010).

2.1.2 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. El límite establecido para las aguas residuales urbanas (ARU) en nitratos residuales es de 10 mg/L. Luego creció fuertemente en Estados Unidos, en donde la *US-EPA* presenta los siguientes límites para el nitrito y nitrato: 1 y 10 mg/L, respectivamente (U.S. Environmental Protection Agency (EPA), 2021).

La normativa actual aplicable en Chile conforme a los acuerdos internacionales se muestra en la Tabla 1, 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 1: Límites máximos permitidos por normativa para aguas superficiales, subterráneas y alcantarillado

PARÁMETRO	UNIDAD	AGUAS SUPERFICIALES DS. 90			AGUAS SUBTERRÁNEAS DS 46		ALCANTARILLADO D.S. 609	
		RSD	RCD	Océano	VM	VB	SCPT	SSPT
DBO ₅	mgO ₂ /L	35-25	300	60	-	-	-	-
TKN	mg/L	50	75	50	10	15	-	-
N-NO ₃ ⁻	mg/L	-	-	-	10	15	-	-
N-NO ₂ ⁻	mg/L	-	-	-	10	15	-	-
N-NH ₃	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

Nomenclatura: 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, DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno, TKN: Nitrógeno Total Kjeldahl, N-NO₃⁻: Nitrato, N-NO₂⁻: Nitrito, N-NH₃. Amoniaco, SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles.

Fuente: D.S. N° 90, 46 y 609

2.2 Procesos de eliminación biológica de nitrógeno

Como se ha mencionado en el punto 2.1.1, el nitrógeno aparece en la naturaleza en diferentes estados de oxidación. Las principales transformaciones biológicas existentes entre estas diferentes formas que se encuentra el nitrógeno son la fijación, amonificación, asimilación, nitrificación, desnitrificación y *Anammox*, cada una de ellas realizada por un tipo determinado de microorganismos.

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

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

- DQO/N<5: Eliminación por nitrificación parcial-desnitrificación o nitrificación parcial-*Anammox*.

La combinación de las etapas del ciclo del nitrógeno puede ser utilizada para su eliminación de las aguas residuales. Algunos de estos procesos corresponden a la nitrificación-desnitrificación, nitrificación parcial, *Anammox* (*Anaerobic Ammonium Oxidation*) y desnitrificación autótrofa. Esta última es de interés, porque permite la eliminación tanto de nitratos como de compuestos de azufre (Li *et al.*, 2022).

2.2.1 Desnitrificación Autótrofa (DNA)

La actividad desnitrificante autótrofa (ADA) o también conocida como desnitrificación autótrofa (DNA), permite conocer la capacidad de la biomasa para reducir el nitrato a nitrógeno gaseoso (N_2). En términos prácticos, la metodología de análisis se basa en el seguimiento de la producción de nitrógeno gaseoso en el tiempo (N_2), la cual, en base a su relación estequiométrica, es posible obtener el nitrato reducido. Dentro del ensayo, se utilizan viales en donde el biogás generado como resultado de la desnitrificación es acumulado en el espacio superior (cabeza del vial) aumentando su presión interna. El ensayo finaliza una vez que la producción se detiene por en su totalidad (Buys *et al.*, 2000), lo cual puede verse reflejado por cuando ya no existen cambios de presión medidas por algún instrumento como un manómetro o algún transductor de presión.

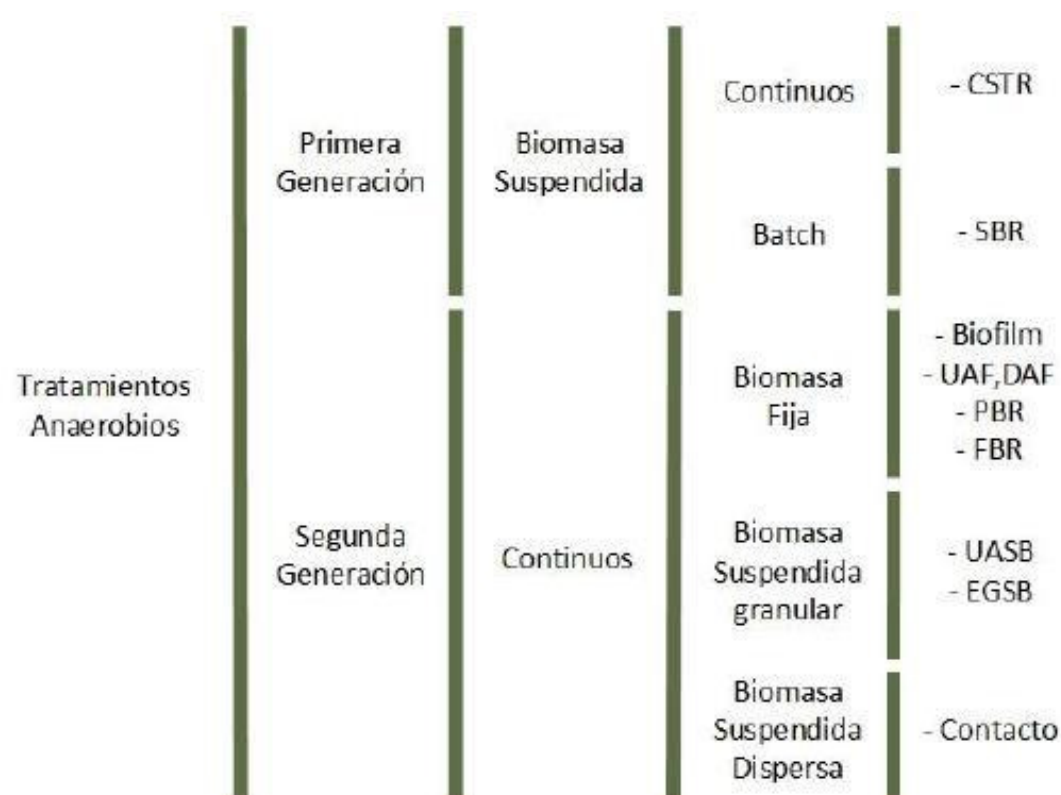
El fosfato contenido en el medio basal, es utilizado para mantener el pH en valores cercanos a 7,5; las cantidades añadidas del compuesto nitrogenado y el compuesto de azufre son las necesarias para una biomasa de concentración entre 1 y 3 g SSV/L, luego, la actividad específica desnitrificante es calculada a partir de la pendiente de la producción de nitrógeno en relación al tiempo, referido a la cantidad de SSV (Méndez, 2007).

Dentro de los principales factores que influyen en el proceso de desnitrificación son los siguientes (Mosquera-Corral *et al.*, 2005):

- Temperatura: con un valor óptimo entre 30 y 40°C; La velocidad de desnitrificación varía con considerablemente con la temperatura para distintas fuentes de carbono.
- Oxígeno: su presencia en el medio inhibe el proceso de desnitrificación.
- pH: el valor óptimo para el proceso fluctúa entre 7,0 y 9,0, pero el valor del pH influye sobre el producto final, ya que si el pH es menor a 7,3 el proceso lleva a la producción de N_2O , y si es superior se obtiene N_2 .

2.3 Reactores Anaerobios

Existen diferentes maneras de clasificar los reactores anaerobios que procesan aguas residuales, estos pueden ser de primera o segunda generación, donde hay reactores en los cuales el tiempo de retención hidráulica es igual al tiempo de retención de sólidos, y los de segunda generación son aquellos donde el tiempo de retención de sólidos es mayor que el tiempo de retención hidráulica, lo que los hace más eficientes. A continuación en Figura 1 se presenta una forma de agrupar estos digestores anaerobios según algunas de las consideraciones mencionadas anteriormente y en base a lo definido por Guerrero *et al.*, 2018.



CSTR: reactor continuo agitado; *SBR*: Reactor *Batch* secuencial; *UAF*: filtro anaerobio de flujo ascendente; *DAF*: filtro anaerobio de flujo descendente; *PBR*: reactor de lecho empacado; *FBR*: reactor de lecho fluidizado; *UASB*: reactor anaerobio de flujo ascendente; *EGSB*: reactor granular de lecho expandido.

Figura 1 Clasificación de sistemas anaerobios de interés

Fuente: Guerrero *et al.*, 2018

2.3.1 Reactor *UASB* Híbrido

El reactor *UASB* híbrido (Figura 2) consiste en la combinación de dos modalidades, como un sistema biológico en serie, su desarrollo se fundamenta en los sistemas no convencionales de alta tasa. Este reactor se desarrolló para zanjear las principales deficiencias que proponen los reactores *UASB* y *UAF*. Un ejemplo de lo anterior es la formación de lodos granulares en reactores *UASB*, pero en algunas aguas residuales esta granulación no se desarrolla tan fácilmente y se pueden

encontrar problemas en el lavado de la biomasa floculenta. También la baja velocidad superficial puede ocasionar canalizaciones del agua residual a través del lecho, lo que significa un bajo contacto agua-lodo, lo que significa bajas eficiencias de tratamiento. En filtros anaerobios empacados completamente, la operación a largo plazo puede resultar en un exceso de biomasa atrapada en las cavidades intersticiales del material soporte, lo que deriva en problemas de taponamiento y canalización (Ramírez, 2012). Esto da pie para modificar el proceso de filtro anaerobio para minimizar y superar las deficiencias enfrentadas tanto por los reactores *UASB*, como por los filtros anaerobios.

El uso de un empaque elimina la necesidad de una estructura para la separación de fases, ya que actúa mejorando la separación gas/líquido/sólido, obteniendo así una excelente clasificación del agua tratada (Cortés y Villegas, 2004).

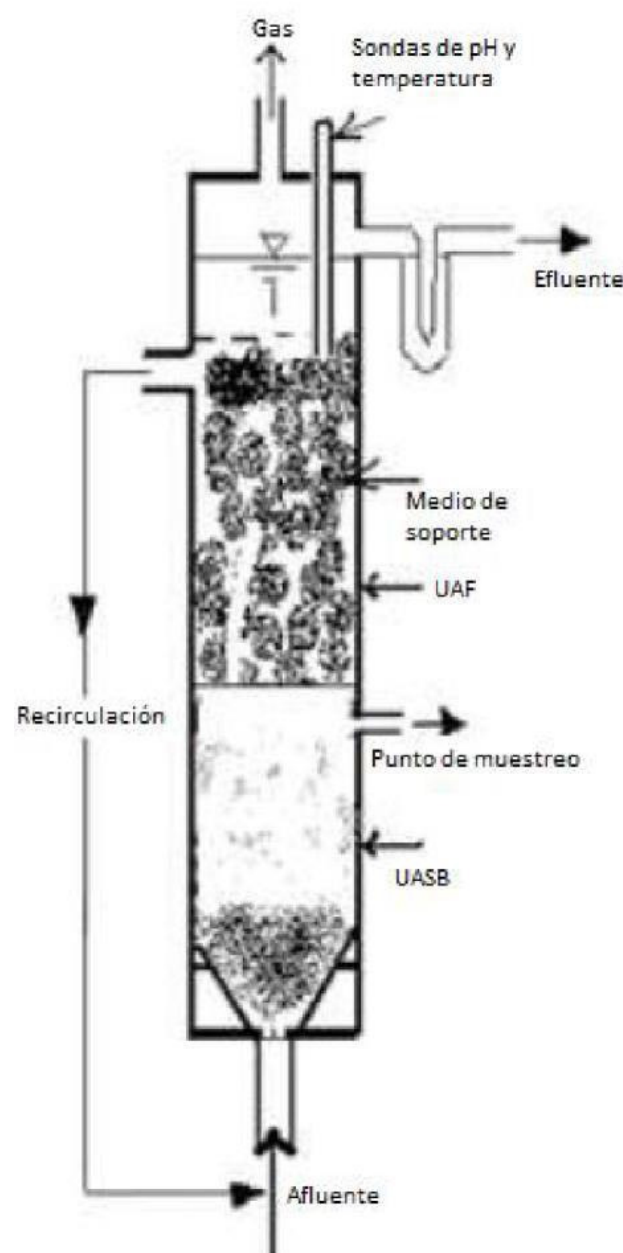


Figura 2 Esquema de un Reactor UASB híbrido

Fuente: Ramírez, 2012

2.3.2 Reactor anaerobio de lecho expandido (*EGSB*)

Los *EGSB* son reactores *UASB* que fueron modificados para tener una relación de altura/diámetro mayor a 20. Lo que permite tener cargas más altas y velocidades superficiales mayores, alcanzando valores de 5 a 6 m/h y en algunos casos de 10 m/h, en comparación con los reactores *UASB* que permiten velocidades no superiores 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 sólo por su gran altura. Esto permite VCN altas en comparación al resto de los equipos conservando remociones cercanas al 99% (Sun y Nemati, 2012), transformando al *EGSB* en un reactor ideal para el tratamiento de desechos concentrados de pocos componentes. En el caso de concentraciones bajas, no es conveniente la utilización de este equipo por sus altos costos de construcción.

Su geometría es cilíndrica alargada con una expansión para reducir la velocidad del flujo ascendente, evitando así la salida de lodos por el efluente.

En la Figura 3 se muestra el esquema básico de un *EGSB*. En ella se puede identificar una zona de lecho de lodo en la parte inferior del reactor por donde se alimenta el sistema y una zona de separación triple (gas, líquido y sólido) en el tope del reactor por donde se obtiene el efluente tratado. Este reactor es usado para los mismos propósitos que los reactores *UASB*.

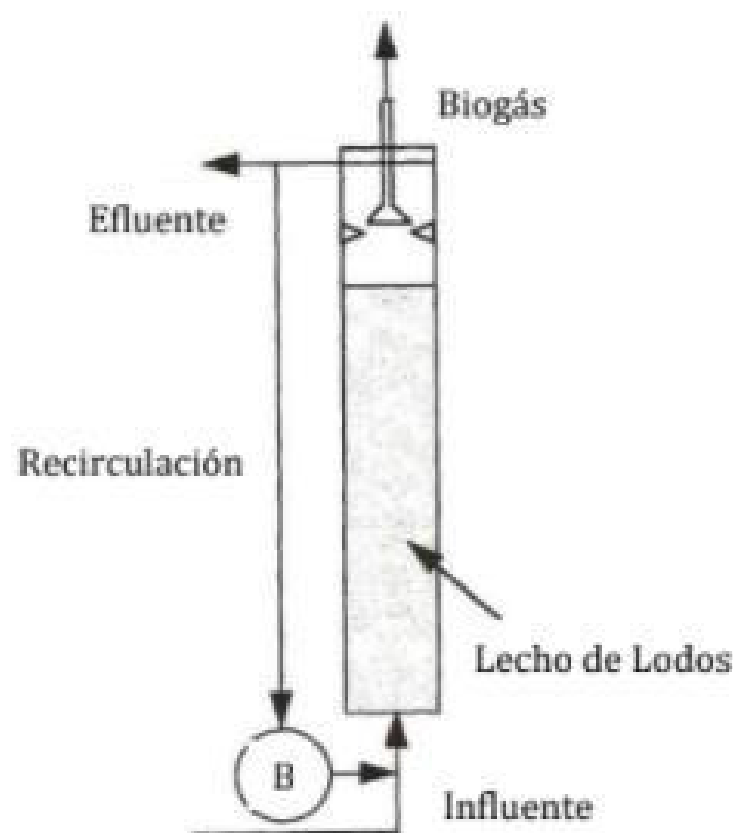


Figura 3 Esquema básico de un reactor *EGSB*

Fuente: Lim, 2006

2.3.3 Reactor de lecho fluidizado (RALEF)

Este tipo de reactor se diferencia de otros en que las partículas sólidas se comportan como líquido a través de la suspensión en el líquido (Beristain, 2004). Los RALEF son reactores trifásicos (gas-líquido-sólido), compuestos por un lecho de material de soporte de tamaño pequeño, a través del cual pasa el fluido con una velocidad ascendente lo suficientemente elevada como para provocar la fluidización del lecho. El gas producido y el efluente tratado salen del reactor por la parte superior, donde se ubica un sedimentador que evita la salida de partículas de lodo junto con el efluente. Para lograr las velocidades requeridas es necesario recircular parte del efluente. Esta recirculación y la alimentación ingresan por la parte inferior del reactor (Hidalgo y Garcia, 2002).

En la Figura 4 se muestra un esquema de reactor de lecho fluidizado RALEF.

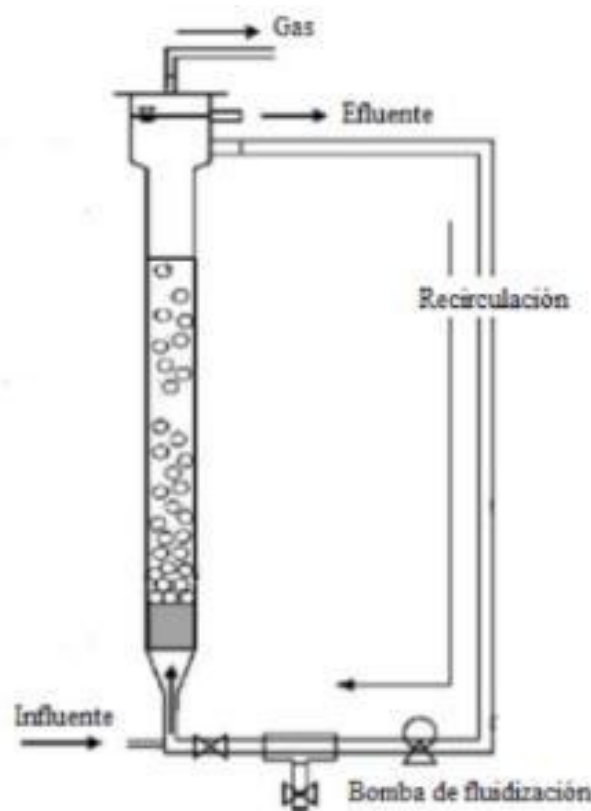


Figura 4 Esquema de reactor de lecho fluidizado

Fuente: Modificado de Kim *et al.*, 2004

Uno de los parámetros críticos en el rendimiento de los procesos es la población microbiana (Jaafari *et al.*, 2014). La mayoría de los microorganismos se encuentran adheridos al soporte, mientras que una fracción muy pequeña se encuentra suspendida. Esta distribución va a depender del tiempo de retención hidráulico de operación, si el TRH es bajo la biomasa crece principalmente adherida y las bacterias en suspensión arrastradas. Otro parámetro de importancia es la velocidad de flujo durante el arranque del reactor a mayor velocidad la

biopelícula es más delgada y permitirá la maduración de esta, caso contrario a menor velocidad se forman gránulos de biomasa en vez de biopelícula.

Otro parámetro de importancia es el tamaño de partícula, pues al ser pequeñas aumenta considerablemente el área de contacto entre el sustrato a degradar y el material de soporte, y por consecuencia el aumento de la velocidad de transferencia de materia.

El lecho utiliza entre un 10 y un 40% del volumen del reactor, al expandirse puede llegar hasta un 70% de este volumen. La expansión del lecho mejora el contacto entre el afluente y la biomasa, lo que hace evitar problemas de obstrucción, también es de consideración que mientras mayor sea la expansión, mayor serán los costos del proceso. (Diez *et al.*, 1995).

Una forma de disminuir el TRH y la pérdida de biomasa es la recirculación del efluente (Hidalgo y García, 2002). Esto implica un volumen menor de reactor, pero también, al utilizar altas tasas de recirculación se controla la alcalinidad y se trabaja en un régimen completamente mezclado y permite al RALEF soportar picos esporádicos de sobrecarga de sustrato (Guerrero *et al.*, 2018).

La tecnología RALEF no se ha utilizado ampliamente a gran escala, esto debido principalmente a la necesidad de recirculación del fluido, problemas hidrodinámicos, elevado nivel de mantenimiento, alto consumo de energía por bombeo o una mala elección de material de soporte (Rodríguez-Cano *et al.*, 2021), lo que hace al proceso costoso.

2.3.4 Reactor UAF

Este tipo de reactor corresponde a uno de segunda generación con crecimiento de biomasa sobre un soporte. Por ellos el agua residual pasa a través de un lecho con material inerte sobre el cual crecen y se desarrollan los microorganismos que se alimentan del sustrato, como se puede apreciar en la Figura 5. El soporte además de sostener a los microorganismos permite la separación de las fases gaseosa y sólida, homogeneizar el flujo a través del reactor y mejorar el contacto entre sustrato y biomasa. Dentro de sus características presenta una estratificación de microorganismos en la dirección del flujo debido al poco mezclado dentro del reactor.

Según el tipo de alimentación estos pueden ser de flujo ascendente, descendente o longitudinal. En los reactores anaerobios de lecho fijo con flujo ascendente o UAF, la alimentación del afluente se trata de realizar por la parte inferior, en la parte superior se obtiene biogás y un efluente con menor carga de contaminante. Esta configuración concede una gran capacidad de filtración física.

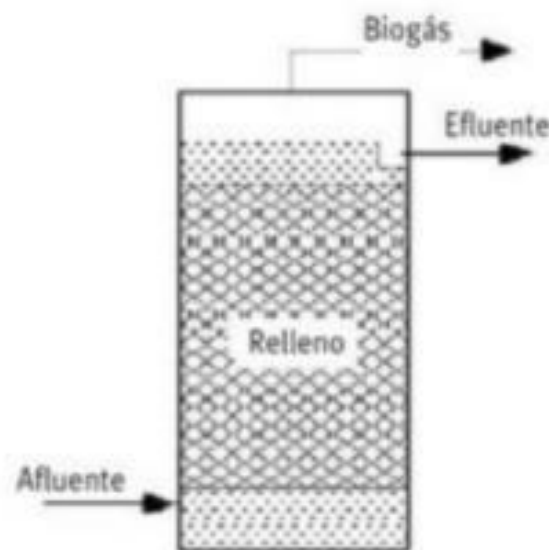


Figura 5 Esquema reactor UAF

Fuente: Hernández, 2014

La operación de estos reactores es bastante simple, ya que la recirculación a la entrada permite aumentar la eficiencia del proceso global. Esta operación ayuda a disminuir la alcalinidad y los nutrientes requeridos y mejora la distribución de flujo a través del reactor. Estos reactores pueden soportar altas cargas y con la ayuda de la recirculación puede aceptar cambios repentinos de carga. Son equipos con alto tiempo de retención de microorganismos y bajos tiempos de retención hidráulica. Dentro de sus desventajas se puede mencionar la obstrucción y altas caídas de presión debido a excesos de biomasa que provoca la presión del gas, limitando así la transferencia de masa desde el líquido a la biopelícula (Fajardo, 2011).

Capítulo III: Materiales y Métodos

3.1 Reactor

En el desarrollo de este proyecto se utilizaron diferentes reactores para evaluar la desnitrificación autótrofa/heterótrofa de efluentes, a continuación se describen ciertas características de diseño de estos reactores y sus consideraciones en los experimentos a escala laboratorio.

3.1.1 Reactor UASB Híbrido

El reactor UASB híbrido que se utilizó es un equipo a escala de laboratorio, que tiene un lecho empacado en lugar de una campana para tener una óptima separación de las fases líquida-sólida-gaseosa. Las dimensiones del prototipo escala laboratorio se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2 Dimensiones generales de reactor a escala laboratorio

Dimensiones	Valor	Unidad
Diámetro	8,0	cm
Largo Total	46	cm
Volumen total	2,1	L
Volumen útil	1,7	L
Área transversal	50,3	cm ²

Fuente: Godoy, 2015

Como se aprecia en la Figura 6 Este reactor posee un cuerpo cilíndrico, de material acrílico con espesor de 3 mm. En la parte superior tiene un empaque y en la parte inferior esferas de vidrio de 1 cm de diámetro, estas permiten una distribución del flujo de entrada en el área transversal del reactor. Posee 3 boquillas:

- 1) entrada del flujo en la parte inferior del reactor
- 2) salida de gases ubicada en la tapa superior del reactor donde se instaló una trampa de gas para asegurar que no ingrese aire
- 3) salida del efluente tratado ubicada a un costado en la sección superior del reactor

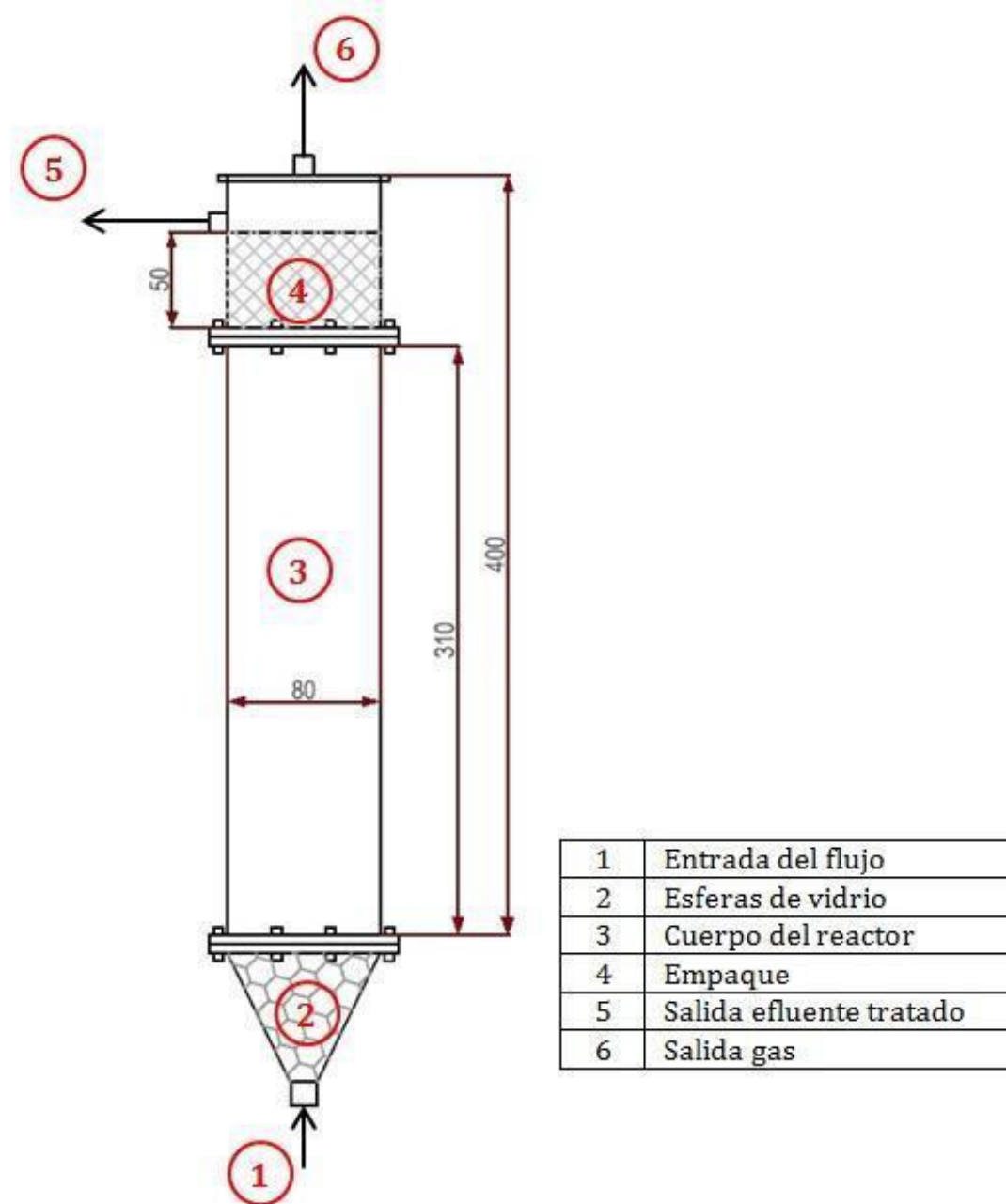


Figura 6 Partes y diseño del reactor UASB híbrido utilizado

Fuente: Godoy, 2015

3.1.2 Reactor *EGSB*

El reactor *EGSB* que se utilizó para estas experiencias, es de flujo ascendente y se compone de dos secciones, una cilíndrica que corresponde al cuerpo del reactor donde ocurre la reducción del nitrato y una sección de expansión en la parte superior para evitar el arrastre del material microbiológico.

Como se aprecia en la Figura 7, este reactor posee un cuerpo cilíndrico, de material acrílico con espesor de 3 mm. Este reactor cuenta con 2 flanges ubicados en la parte superior e inferior de éste, adosados a la tapa superior e inferior, esto para poder acceder dentro en caso de ser necesario.

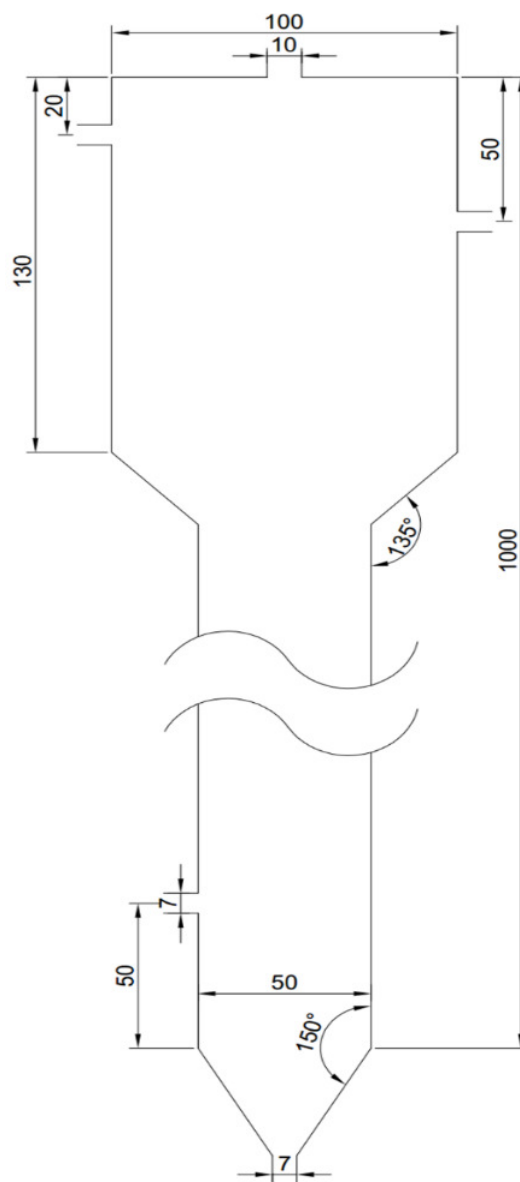


Figura 7 Diseño reactor EGSB utilizado

Fuente: Durán, 2016

Posee 4 boquillas;

- 1) dos ubicadas en el cuerpo del reactor que corresponde al flujo de recirculación (succión y reingreso), las cuales son utilizadas para controlar la velocidad superficial dentro del reactor
- 2) una ubicada en la tapa superior que corresponde a la salida de gases
- 3) una ubicada en la parte inferior del reactor que corresponde al ingreso de efluente al equipo

Según las dimensiones del equipo indicadas en la Tabla 3, la relación altura/diámetro es igual a 20, acorde a los valores típicos de estos reactores, lo que permite operar con velocidades superficiales mayores en comparación a equipos de biomasa granular suspendida.

Tabla 3 Dimensiones generales de reactor EGSB utilizado

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

Fuente: Durán, 2016

3.1.3 Reactor RALEF

Este reactor de lecho fluidizado (Figura 8) fue diseñado para escala de laboratorio, en el cuerpo cilíndrico se ubica el lecho del material de soporte (zeolita), en la parte superior se encuentra una expansión del cuerpo del reactor el que tiene como función sedimentar el lodo y evitar la pérdida por arrastre de la biomasa. Las dimensiones del equipo se presentan en la Tabla 4.

Este rector está construido de material acrílico de 3 cm de espesor. Cuenta con 6 boquillas;

- 1) dos ubicadas en el cuerpo del reactor para recirculación a diferentes alturas
- 2) una ubicada en la parte inferior del cuerpo del reactor por donde se alimenta
- 3) dos ubicadas en el sedimentador por donde se realiza la salida del efluente y la recirculación
- 4) una ubicada en la parte superior de la tapa para la salida de los gases

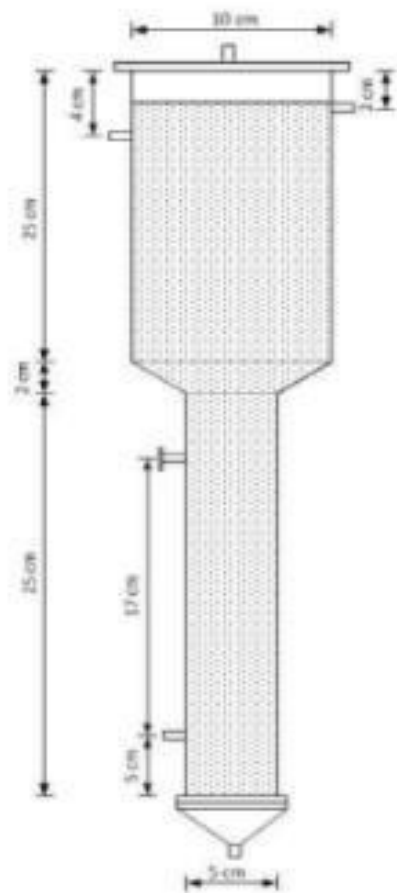


Figura 8 Reactor RALEF

Fuente: Rodríguez, 2015

Tabla 4 Dimensiones reactor RALEF utilizado

Dimensión	Valor	Unidad
Diámetro cuerpo	5	cm
Diámetro sedimentador	10	cm
Largo cuerpo	25	cm
Largo sedimentador	25	cm
Largo total	58	cm
Volumen total	2,35	L
Volumen Útil	1,95	L

Fuente: Rodríguez, 2015

3.1.4 Reactor *UAF*

El reactor de lecho fijo a escala de laboratorio, específicamente filtro anaerobio de flujo ascendente o *UAF*, se compone de un cuerpo cilíndrico y el relleno de un lecho empacado de zeolita que actúa como medio de soporte, con una altura de 10 cm limitando el extremo superior e inferior por medio de 2 mallas circulares para evitar pérdida de material en la operación. De granulometría promedio 5 mm.

Su configuración y dimensiones se detallan a continuación en la Figura 9 y la Tabla 5.

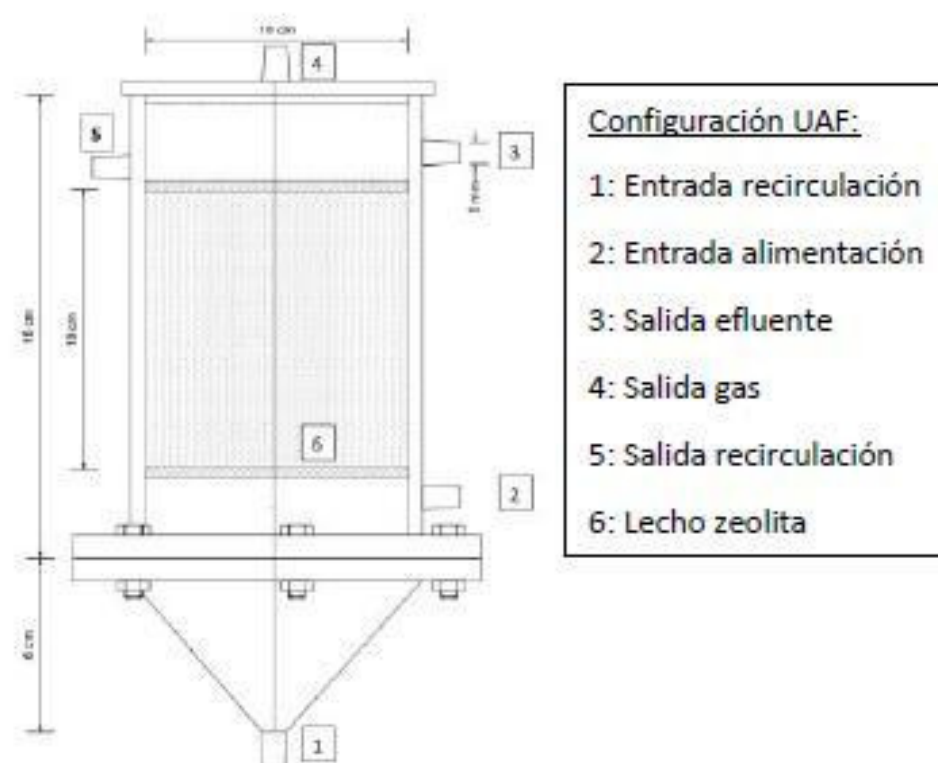


Figura 9 Configuración del reactor UAF

Fuente: Muñoz, 2015

El equipo posee un total de 5 boquillas;

- 1) en la parte inferior se encuentra la entrada de recirculación
- 2) en la parte inferior del medio de soporte se encuentra el ingreso de la alimentación
- 3) en la parte superior se encuentra la salida del efluente
- 4) en la parte superior se encuentra la salida de recirculación
- 5) en el centro de la parte superior se tiene una salida para el gas, controlado con una válvula anti retorno

Tabla 5 Dimensiones reactor UAF utilizado

Característica	Valor	Característica	Valor	Unidad
H cilindro	16	H relleno	10	cm
A cilindro	74	A flujo	30	cm ²
V total	1,5	V útil	0,8	L

Fuente: Muñoz, 2015

3.2 Inóculo y sustratos

Se utilizaron inóculos anaerobios provenientes de industrias tales como AASA, Chile Tabacos o BASF, entre otras. La etapa inicial en común es la de enriquecimiento de microorganismos desnitrificantes autótrofos y heterótrofos, de tal manera de proliferar selectivamente los microorganismos de interés proporcionando las condiciones necesarias para su reproducción, que básicamente consisten en temperatura, alimentación y pH (Fajardo, 2011). La alimentación o sustrato consta de macro y micro nutrientes esenciales, los macro nutrientes relacionados al proceso en sí, de tal manera de simular un RIL (Residuo Industrial Líquido) real considerando las concentraciones necesarias para los requerimientos particulares de las bacterias desnitrificantes autótrofas más estudiadas, las *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans*. Los micro-nutrientes están relacionados a las concentraciones necesarias para reproducción biológica, según Tablas 6 y 7 (Fajardo, 2011). Cabe destacar que para las diferentes configuraciones y objetivos, estas concentraciones cambian.

Tabla 6 Composición de macronutrientes basal

Compuesto	Concentración g/L
Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	5
NaNO ₃	1,2
NaHCO ₃	1,5
Na ₂ HPO ₄	1,5
KH ₂ PO ₄	0,3
NH ₄ Cl	0,1
Micronutrientes	1 mL/L

Tabla 7 Composición de micronutrientes basal

Compuesto	Concentración g/L
Na ₂ MoO ₄ · 7H ₂ O	1,00
FeSO ₄ · 7H ₂ O	30,00
ZnCl ₂ · 4H ₂ O	1,00
CaCO ₃	2,00
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,50
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,25
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,25
HCl (32%)	50
NiCl ₂ · 6H ₂ O	0,25
H ₂ BO ₃	0,5

Fuente: Fajardo, 2011

3.3 Soporte microbiano

Para el caso de la tecnología que aplique, una vez teniendo los microorganismos enriquecidos, considerando principalmente medición de sólidos (ST, SST y SSV), remociones de nitrito y nitrato, remociones de sulfato y tiosulfato, pH , temperatura y la actividad desnitrificante autótrofa (ADA), se pasa a la etapa de adherencia microbiana, en la cual las bacterias desnitrificantes autótrofas se fijan en el soporte, zeolita chilena, por un periodo entre 3 a 12 semanas para así luego pasar a la etapa de operación de los equipos según las tecnologías propuestas. Las características y especificaciones de la zeolita chilena se detallan en las Tablas 8 y 9.

La zeolita debe ser tamizada para obtener el tamaño de partícula deseado (entre 0,2 y 0,3 mm), valores que se encuentran dentro de los diámetros recomendados (Guerrero *et al.*, 2018).

Tabla 8 Especificaciones mineralógicas y fisicoquímicas de la zeolita

Propiedad	Magnitud
Mineralogía	Clinoptilolita - Mordenita
Factor de hueco	0,40
Volumen específico	1.000 m ³ /kg
Superficie específica (BET)	446 - 480 m ² /g
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	86,62 a 112,88 cmol/kg
Estabilidad térmica	< 450°C
Estabilidad química (pH)	8,9

Fuente: Zeolita del Maule, 2013

Tabla 9 Composición química de la zeolita

Componente	%
SiO ₂	64,19
Pérdida de ignición	14,64
Al ₂ O ₃	11,65
CaO	3,42
Fe ₂ O ₃	2,53
K ₂ O	1,6
Na ₂ O	0,75
MgO	0,66
TiO ₂	0,51
MnO	0,03
P ₂ O ₅	0,03

Fuente: Zeolita del Maule, 2013

3.4 Instalación de Equipos

3.4.1 Reactor *UASB* híbrido

El montaje del sistema considera diferentes equipos indicados en la Tabla 10 y representados en la Figura 10. Primero se debe utilizar una cámara adiabática, con aislación de poliestireno expandido y un controlador de temperatura conectado a un termo ventilador para asegurar las condiciones del proceso. Dentro de esta cámara se ubica el cuerpo principal, cilindro acrílico, posicionado verticalmente utilizando un soporte universal y pinzas de sujeción. En la parte superior e inferior se conectan mangueras a bombas peristálticas para recirculación y alimentación respectivamente, esta última a su vez conectada a un estanque que provee el RIL sintético. Para lograr el caudal de alimentación necesario, según la velocidad de carga nitrogenada, se conecta un temporizador a la bomba de alimentación.

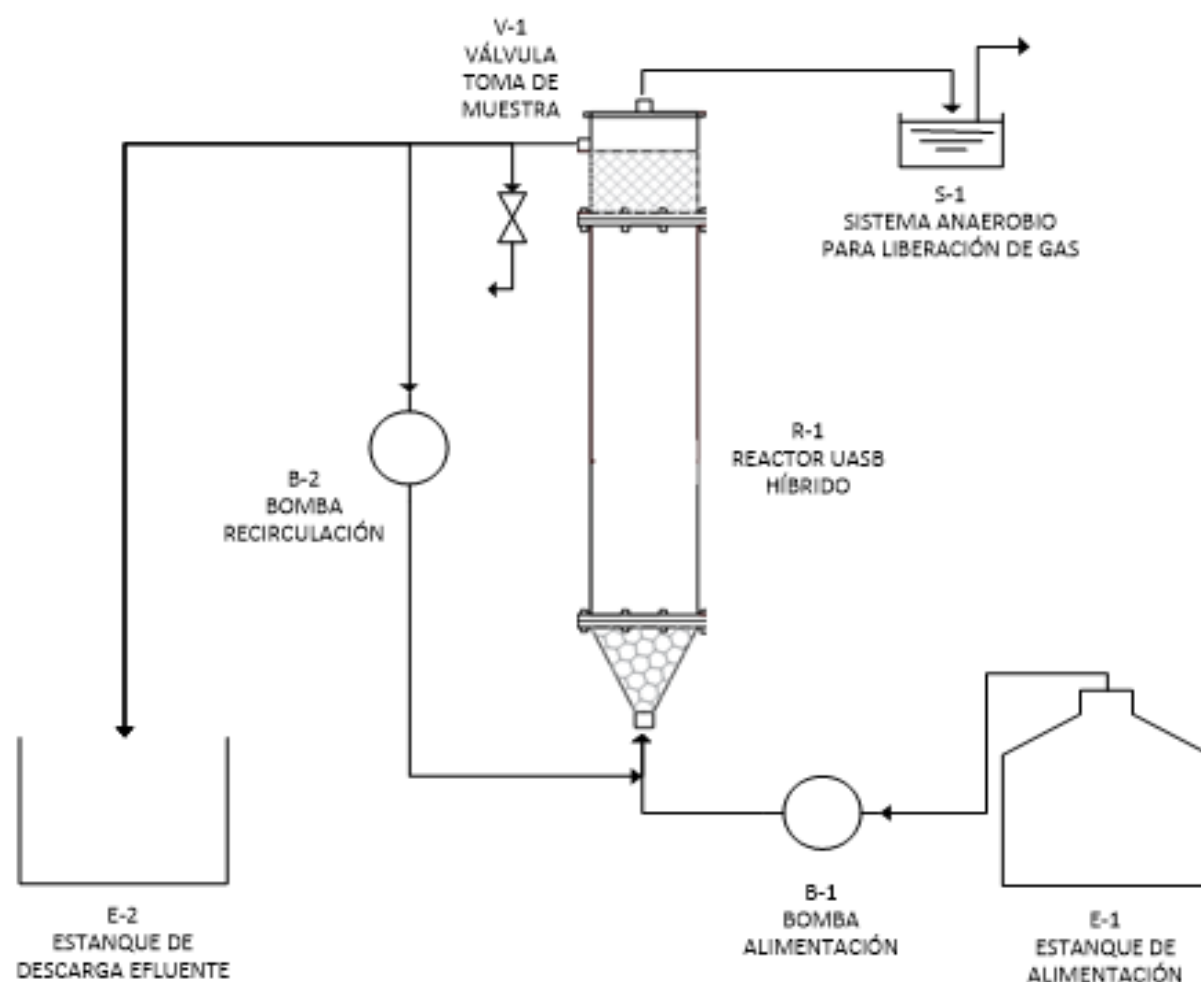


Figura 10 Diagrama de flujo de proceso de UASB híbrido

Fuente: Godoy, 2015

Tabla 10 Equipos principales necesarios para montaje UASB híbrido

Cantidad	Material/Equipo	Descripción
2	Bomba peristáltica	LongerPump YZ2515x
3 m	Manguera	Diferentes materiales
2	Estanque	Diferentes materiales
1	Controlador de Temperatura	Autonics TC4S
1	Termoventilador	Somela, 2000W
1	Cámara de refrigeración	Estructura metal, plumavit
1	“Y” de vidrio	10 mm diámetro
1	“T” de vidrio	7 mm diámetro
1	Soporte universal	De metal
1	Temporizador	Cuenta regresiva, <i>on-off</i>
2	Pinza metálica	Para soporte

Fuente: Godoy, 2015

3.4.2 Reactor anaerobio de lecho expandido (EGSB)

Se prepara una cámara térmica, aislada con poliestireno expandido, con un calefactor conectado a una termocupla y controlador para mantener la temperatura óptima del reactor.

El contenedor de alimentación E-1 va conectado a la bomba B-1 por medio de una manguera en el costado inferior del reactor. Este contenedor cuenta con un agitador y un medidor de nivel análogo externo. Además, en la parte inferior se tiene una conexión para la recirculación del sistema R-1 y a 3 cm sobre esta se tiene una salida, la cual por rebalse se alimenta el depósito de desecho E-2.

En la parte superior del R-1 se cuenta con una salida de gas con una trampa de agua. Los equipos necesarios para el montaje del sistema y su distribución se detallan en la Tabla 11 y Figura 11 respectivamente.

Tabla 11 Equipos necesarios para montaje EGSB

Equipo o material	Cantidad
Bombas peristálticas	2
Reactor <i>EGSB</i>	1
Pozo de desechos	1
Trampa de gas	1
Estanque de alimentación	1
Agitador	1
Termocupla	1
Calefactor	1
Temporizador	1
Tubos Falcon	2
Controlador térmico	1

Fuente: Durán, 2016

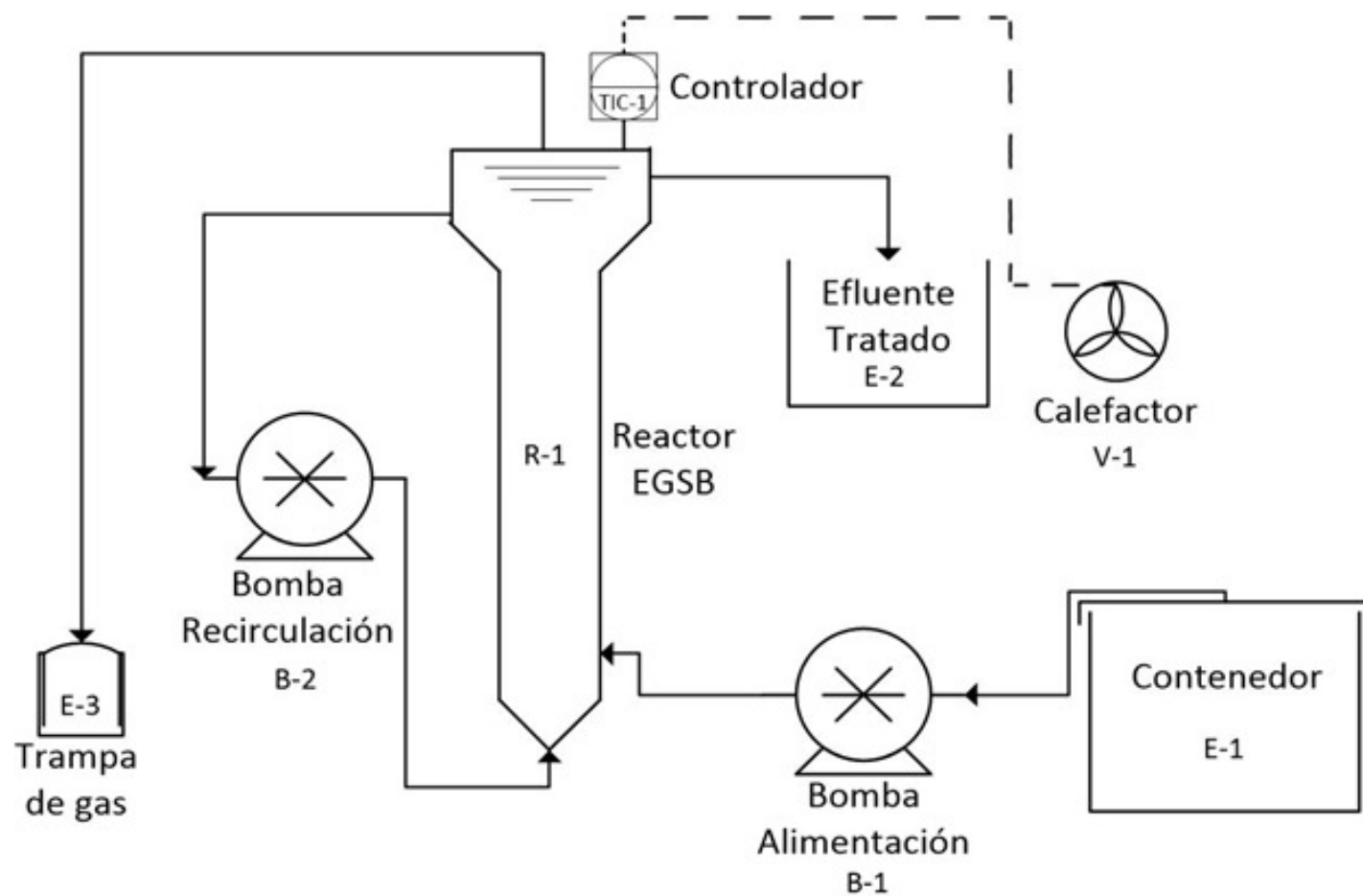


Figura 11 Diagrama de flujo de proceso de EGSB, montaje de equipos y accesorios

Fuente: Durán, 2016

3.4.3 Reactor de lecho fluidizado (RALEF)

Para el montaje del sistema, presentando como diagrama de flujo de proceso en la Figura 12, se utiliza una cámara aislada con poliestireno expandido, sin entrada de luz solar y con un controlador de temperatura conectado a una termocupla y a su vez a un termoventilador para así asegurar la temperatura de operación.

Fuera de esta cámara, se instala el estanque de alimentación, conectado a una bomba peristáltica para la alimentación por un costado inferior del equipo. Se cuenta con una segunda bomba para la recirculación del sistema y un segundo estanque para descarga del efluente, el cual fue eliminado al aumentar el caudal de alimentación, llevando la descarga directo al sistema de desagüe.

Al cabo del tercer mes de la puesta en marcha, se cambia la bomba de alimentación por una con características de rango de operación más amplio, la cual permite finalmente suministrar un caudal inferior al utilizado.

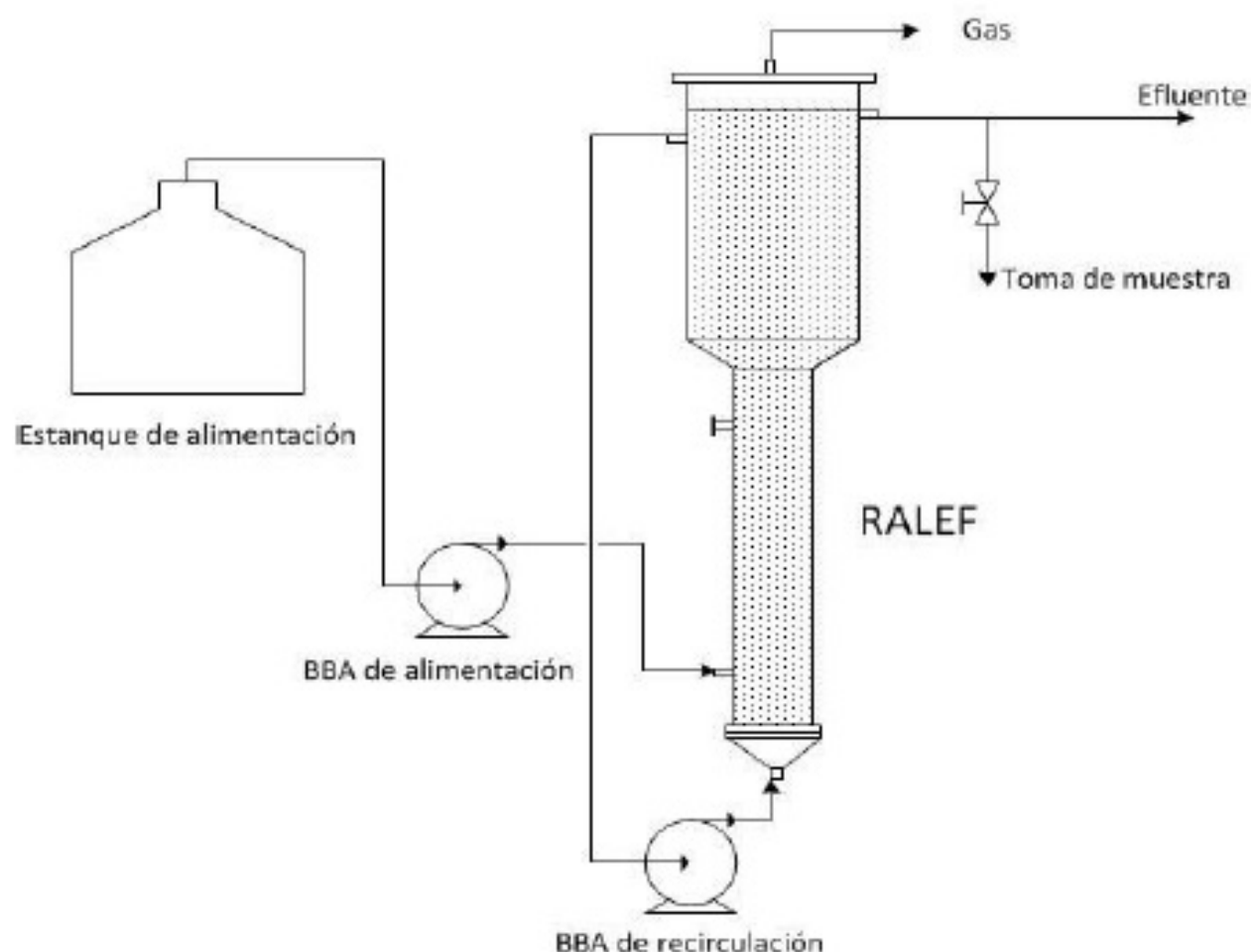


Figura 12 Diagrama de flujo de proceso de RALEF utilizado

Fuente: Rodríguez, 2015

3.4.4 Reactor *UAF*

Los equipos a utilizar para el sistema *UAF* deben instalarse dentro de una cámara térmica, a excepción del estanque de alimentación y descarga. Se controla la temperatura mediante una termocupla conectada a un controlador de temperatura, el cual acciona el funcionamiento del termoventilador.

El equipo principal fue montado en un soporte universal y conectado mediante mangueras a dos bombas peristálticas, tanto para la alimentación como recirculación. Además, el sistema cuenta con estanque de alimentación y descarga, donde la alimentación se mantuvo en agitación permanente por medio de un agitador magnético para así asegurar la homogeneidad del RIL sintético de alimentación.

La bomba de alimentación fue conectada a un temporizador programado para cumplir con el caudal diario necesario.

Los equipos necesarios y su distribución según diagrama de flujo de procesos se presentan en la Tabla 12 y Figura 13 respectivamente.

Tabla 12 Equipos necesarios para montaje UAF

EQUIPO	DESCRIPCIÓN
Bomba peristáltica (recirculación)	Lead Fluid YZ15, BT300L
Bomba peristáltica (alimentación)	Lead Fluid YZ15, BT301S
Mangueras	MasterFlex, silicona, #15 y #18
Controlador de temperatura	Barnant Company
Temporizador	CT6S Autonics
Termoventilador	Somela, 1800 watts
Agitador mecánico	CAT R18
Estanques	Material: plástico, Capacidad: 20 L
Cámara adiabática	Material: polietileno expandido

Fuente: Moraga, 2016

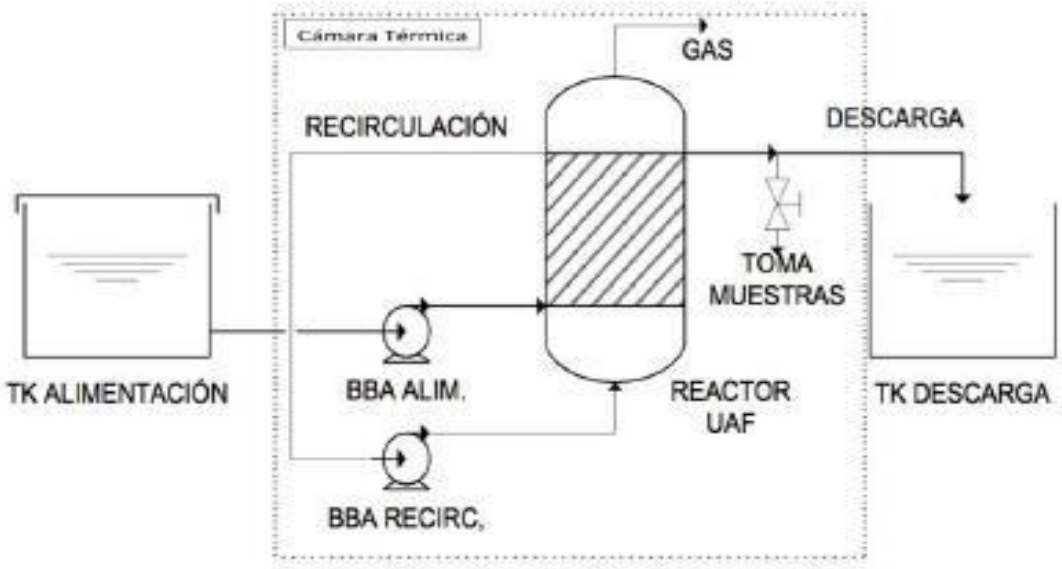


Figura 13 Diagrama de flujo de proceso de UAF instalado

Fuente: Muñoz, 2015

3.5 Puesta en Marcha y Operación

3.5.1 Reactor UASB híbrido

Se tienen tres investigaciones con objetivos específicos distintos, trabajar con bacterias autótrofas/heterótrofas y únicamente con autótrofas. Para este último caso, se tienen diferencias con la fuente de nitrógeno en la alimentación, teniendo una investigación en base a nitrito y la otra en base a nitrato, por lo que se consideran diferentes condiciones de operación en cuanto a la alimentación como temperatura de operación.

Como paso general para la puesta en marcha de cada uno de los equipos, se realizan pruebas hidráulicas para corregir desperfectos en cuanto a filtraciones, reflujos o desajustes en los equipos. Posteriormente se debe inocular y alimentar el sistema con agua residual sintética hasta lograr el volumen útil. Como fase final, se debe sellar el reactor con silicona y realizar un barrido por medio de un gas inerte por 30 segundos de tal manera de asegurar condiciones anóxicas al interior del equipo.

3.5.1.1 Desnitrificación autótrofa/heterótrofa

El inóculo corresponde a una mezcla de lodo heterótrofo y autótrofo, enriquecidos previamente por separado y alimentados al reactor con una concentración de 1,24 g SSV/L. Para lograr el crecimiento simultáneo de estas bacterias, se debe mantener la temperatura de operación a 30 $\pm$ 2°C dentro de la cámara. Los parámetros operativos se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13 Parámetros de operación del reactor UASB híbrido

Parámetro	Unidad	Valor
Temperatura	°C	30 $\pm$ 2
Velocidad superficial	m/h	1
pH	-	8,42
Volumen Total	L	1,744
Caudal	L/d	2,84
VCO	kg C-CH ₃ Coo/m ³ d	0,62
VCN	kg N-NO ₃ ⁻ /m ³ d	0,28
VCS	kg S-S ₂ O ₃ ²⁻ /m ³ d	0,75

Fuente: Giuras, 2015

Se debe trabajar con alimentación y reflujo continuo a una velocidad superficial de 1 m/h, por lo que se utilizan dos bombas peristálticas conectadas a temporizadores programados de tal manera de entregar el caudal necesario para que el reactor opere a la velocidad requerida.

Para la alimentación se utilizó una solución sintética que reproduce la composición de un RIL que contiene contaminantes del tipo carbono, nitrógeno y azufre, la cual es una adaptación basada en el estudio de Chen *et al.*, 2008, Tabla 14 y 15, siendo modificada para dar pie a los objetivos específicos de fijar las velocidades de carga de los sustratos. Además, para la regulación del pH en el reactor se utilizó una solución tampón.

Tabla 14 Composición de macronutrientes, medio mineral sintético (alimentación)

Compuesto	g/L
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	1,78
NaNO ₃	1,06
CH ₃ COOK	0,634
NaHCO ₃	3
NH ₄ Cl	0,056
K ₂ HPO ₄	0,07
Solución de micronutrientes	5 mL/L

Para determinar las concentraciones óptimas para la puesta en marcha del reactor no se fijaron relaciones DQO/N o N/S, sino que se definieron velocidades de carga de los sustratos como: velocidad de carga orgánica (VCO), velocidad de carga nitrogenada (VCN) y velocidad de carga sulfurada (VCS). Estas velocidades podrían ser modificadas dependiendo del comportamiento de la desnitrificación simultánea. Las velocidades iniciales para la puesta en marcha se presentan en la Tabla 16.

Tabla 15 Composición de la solución de micronutrientes

Compuesto	g/L
ZnSO ₄	15,65
CaCl ₂	22
MnCl ₂ ·4H ₂ O	20,24
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	4,4
CuSO ₄	4
CoCl ₂ ·6H ₂ O	6,44

Tabla 16 Velocidad de cargas de los sustratos para la puesta en marcha del reactor UASB híbrido

VCO	VCN	VCS
<i>kg C – CH₃COO/m³/d</i>	<i>kg N – NO₃⁻/m³/d</i>	<i>kg S – S₂O₃⁻²/m³/d</i>
0,62	0,28	0,75

Fuente: Giuras, 2015

3.5.1.2 Desnitrificación autótrofa

La puesta en marcha del reactor consiste en alimentar el equipo con agua residual sintética, mantenerlo a recirculación total, midiendo diariamente la remoción de nitrato hasta alcanzar una eliminación sobre el 85%. Además se realizaron mediciones de pH para verificar la capacidad de buffer del bicarbonato añadido.

Por su parte en la desnitrificación autótrofa vía nitrato, la alimentación o RIL sintético es detallada en la Tabla 17 y 18.

Durante las diferentes etapas del sistema, la velocidad superficial se mantuvo cercana a 0,8 m/h debido a que el inóculo utilizado no contaba con todas las ventajas de un lodo granular y por ende no presentaba buena sedimentación a velocidades superficiales mayores a 0,85 m/h, provocándose el lavado del reactor.

Posteriormente, se comienza la operación en continuo, aumentando paulatinamente la VCN con el objetivo de alcanzar la máxima capacidad de tratamiento. Esto se lleva a cabo modificando el caudal diario de alimentación, manteniendo la concentración de nutrientes constante, según la siguiente Ecuación 1.

$$VCN \left(\frac{Kg\ N}{m^3\ día} \right) = \frac{Q_a \left(\frac{m^3}{día} \right) \cdot C_N \left(\frac{Kg\ N}{m^3} \right)}{V_r (m^3)} \quad [Ec. 1]$$

Donde:

- Q_a = Caudal de alimentación
- C_N = Concentración de nitrógeno
- V_r = Volumen útil del reactor

Tabla 17 Solución de macronutrientes para reactor UASB híbrido para DNA vía nitrato

Compuesto	Concentración g/L
Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	5
NaNO ₃	1,2
NaHCO ₃	1,5
Na ₂ HPO ₄	1,5
KH ₂ PO ₄	0,3
NH ₄ Cl	0,1
Micronutrientes	1 mL/L

Fuente: Fajardo, 2011

Tabla 18 Solución de micronutrientes para reactor UASB híbrido para DNA vía nitrato

Compuesto	Concentración g/L
Na ₂ MoO ₄ · 7H ₂ O	1,00
FeSO ₄ · 7H ₂ O	30,00
ZnCl ₂ · 4H ₂ O	1,00
CaCO ₃	2,00
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,50
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,25
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,25
HCl (32%)	50,00
NiCl ₂ · 6H ₂ O	0,25
H ₂ BO ₃	0,5

Fuente: Fajardo, 2011

El criterio utilizado para el aumento progresivo de VCN en 0,1 unidades es cuando se alcanza la remoción máxima de nitrato/nitrito y esta se estabiliza por al menos tres tiempos de residencia hidráulica (TRH) partiendo con una VCN de 0,1 kg N/m³/d.

Junto con la VCN, se debe considerar la velocidad superficial, fijada en 0,8 m/h en todo el proceso según el caudal de alimentación y recirculación (Ecuación 2).

$$v_s \frac{m}{h} = \frac{Q_T}{A} \quad [\text{Ec. 2}]$$

Donde:

- Q_T : Caudal total de ingreso al reactor, corresponde al caudal de alimentación (Q_a) más el de caudal de recirculación (Q_r), m³/h.
- A : Área transversal del reactor, m².

Los parámetros que se mantuvieron constantes durante todo el desarrollo de la experiencia a distintas VCN fueron la temperatura (32-36°C) y la razón S/N (6,51 %p/p o 2,85 mol/mol).

En el caso de la desnitrificación autótrofa vía nitrito, la alimentación o RIL sintético es detallada en la Tabla 19. Inicialmente se utilizaron las mismas concentraciones que en la vía nitrato, pero una vez avanzado el proceso, se modificó la alimentación de la parte de los macronutrientes debido al aumento de pH. La solución de micronutrientes se mantuvo, indicada en la Tabla 18.

La operación del sistema comenzó con el control del reactor con dos parámetros importantes: uno que corresponde a la VCN, que es el parámetro que permitirá medir la capacidad de desnitrificación en el reactor *UASB* híbrido, su cálculo se presenta en la Ecuación 3.

$$VCN \left(\frac{Kg\ N}{m^3\ día} \right) = \frac{Q_a \left(\frac{m^3}{día} \right) \cdot C_N \left(\frac{Kg\ N}{m^3} \right)}{V_r (m^3)} \quad [Ec. 3]$$

Donde:

- Q_a = Caudal de alimentación
- C_N = Concentración de nitrógeno
- V_r = Volumen útil del reactor

Tabla 19 Solución final de macronutrientes para reactor UASB híbrido para DNA vía nitrito

Compuesto	Cantidad	Unidad
Na₂S₂O₃ · 5H₂O	3,5	g/L
NaNO₂	0,97	g/L
NaHCO₃	0,4	g/L
Na₂HPO₄	1,5	g/L
KH₂PO₄	0,3	g/L
NH₄Cl	0,1	g/L
Micronutrientes	1	mL/L

Fuente: Pavez, 2015

El otro parámetro a controlar, corresponde a la velocidad superficial v_s , la cual es un parámetro crítico de control para el reactor *UASB*. Esta v_s se fijó en 0,8 m/h en el reactor a escala laboratorio, el cálculo de este parámetro se presenta en la Ecuación 4.

$$v_s \frac{m}{h} = \frac{Q_T}{A} \quad [Ec. 4]$$

Donde:

- Q_T : Caudal total de ingreso al reactor, corresponde al caudal de alimentación (Q_a) más el de caudal de recirculación (Q_r), m³/h.
- A : Área transversal del reactor, m².

La VCN fue aumentada progresivamente en 0,1 unidades, cuando se determinaba una estabilidad de remoción de nitrito por al menos 3 tiempos de residencia hidráulica (TRH) continuos, partiendo con una VCN de 0,1 kg N/m³/d. El valor del caudal de alimentación Q_a obtenido para cada VCN, era menor al Q_T necesario para mantener la v_s definida para la operación, por lo que se usó la recirculación, con el fin de complementar el caudal de alimentación y operar el sistema de manera adecuada.

Las bombas peristálticas utilizadas para el reactor se controlaban con las rpm, para obtener el caudal deseado, por lo que se elaboró una curva de calibración. La bomba de recirculación se mantuvo encendida de manera continua y la bomba de alimentación fue programada con temporizador, en ciclos de 60 minutos, para distribuir la alimentación de manera homogénea durante las 24 horas del día. El sistema fue mantenido a una temperatura de 33+- 2°C mediante un controlador de temperatura.

3.5.2 Reactor anaerobio de lecho expandido (*EGSB*)

3.5.2.1 *EGSB* vía nitrito

El reactor fue inoculado con bacterias desnitrificantes autótrofas enriquecidas, añadiendo 700 ml con una concentración de 18,11 g SSV/L.

Luego de instalado el equipo principal R-1, se realizan pruebas hidráulicas con agua y trazas de ferroína, con la finalidad de sellar todas las fugas del equipo.

La temperatura de operación debe ser 33+- 2°C, por lo que se utiliza un controlador de temperatura conectado a un termoventilador para mantener este parámetro constante.

La alimentación ingresa por pulsos de 10 minutos cada 2 horas al reactor R-1 por medio de 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.

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 la 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.

La alimentación, indicada en Tabla 20 y 21, favorece el crecimiento de bacterias autótrofas, siendo esta una modificación de Garrido, 2014. 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 20 Composición de macronutrientes para reactor EGSB para DNA vía nitrito

Compuesto	Valor	Unidad
NaS ₂ O ₃ · 5 H ₂ O	1,593	g/L
NaNO ₂	0,985	g/L
NaHCO ₃	0,400	g/L
Na ₂ HPO ₄	3,875	g/L
KH ₂ PO ₄	1,512	g/L
NH ₄ Cl	0,100	g/L
Micronutrientes	1	ml/L

Fuente: Adaptación de Garrido, 2014

Los compuestos fosfatados actúan como agentes buffer, amortiguando las variaciones de pH y por su lado el nitrito y tiosulfato son los agentes reductores y oxidantes respectivamente que aportan energía a las bacterias.

Con la finalidad de cubrir los objetivos específicos tales como encontrar la máxima remoción de nitrito a la mayor VCN posible, es que la alimentación se va modificando en base a la Ecuación 5 y el cálculo de remoción es realizado en base a los datos experimentales de entrada y salida del sistema, representado en la Ecuación 6:

$$VCN \left(\frac{Kg \ N}{m^3 \ día} \right) = \frac{Q_a \left(\frac{m^3}{día} \right) \cdot C_N \left(\frac{Kg \ N}{m^3} \right)}{V_r \ (m^3)}$$

[Ec. 5]

Donde:

- Q_a = Caudal de alimentación
- C_N = Concentración de nitrógeno
- V_r = Volumen útil del reactor

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

[Ec. 6]

Modificando únicamente el parámetro de concentración al no poder modificar el volumen del reactor ni el caudal ya que afecta directamente al tiempo de residencia hidráulica. Dado la baja

precisión de las bombas peristálticas, se requiere utilizar un temporizador de tal manera de programar horarios de 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.

Tabla 21 Composición de micronutrientes para reactor EGSB para DNA vía nitrito

Compuesto	Valor	Unidad
Na ₂ MoO ₄ · 7 H ₂ O	1,000	g/L
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	30,000	g/L
ZnCl ₂ · 4 H ₂ O	1,000	g/L
CaCO ₃	2,000	g/L
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	1,500	g/L
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0,250	g/L
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	0,250	g/L
HCl (32%)	50,000	g/L
NiCl ₂ · 6 H ₂ O	0,250	g/L
H ₂ BO ₃	0,250	g/L

Fuente: Garrido, 2014

En la Tabla 22, se presentan las condiciones de operación ideales y los rangos que se espera encontraros en los parámetros más importantes.

Tabla 22 Parámetros de operación del reactor EGSB vía nitrito

Parámetro	Mínimo	Máximo	Unidad
Temperatura	30	36	°C
pH	7	8	-
TRH	10	20	h
VCS	0,86 · VCN	1,05 · VCN	kg S/L
VCN _{i+1}	VCN _i	0.15 + VCN _i	kg N/L

Fuente: Durán, 2016

3.5.2.2 EGSB vía nitrato

El reactor es inoculado con 800 mL de un lodo mixto (BDA y BDH) con una concentración de 10,27 g SSV/L.

Se trabaja a una VCN inicial de 0,088 kg N/m³/d, manteniendo constante el tiempo de residencia hidráulico y el caudal alimentado, modificando la concentración de nitrato en la alimentación. De esta forma es posible determinar condiciones máximas de operación en donde el reactor aun permite obtener buenos resultados en cuanto a remoción de nitrato y tiosulfato. Los parámetros de operación son presentados en la Tabla 23.

Tabla 23 Parámetros de operación del reactor EGSB vía nitrato

Parámetro	Valor
TRH d	1,1
Caudal alimentación mL/min, L/d	40, 2,4
Temperatura operación °C	35
Velocidad superficial m/h	5,6
Razón de reflujo	3,75
Razón S/N etapa 1 g/g	2,9
Razón S/N etapa 2 g/g	4,6
Exceso tiosulfato etapa 2 %	20
Razón C/N g/g	1,45

Fuente: Soto, 2016

A raíz del aumento de VCN, modificando la concentración de nitrógeno, se tiene variación en la relación S/N, iniciando en condiciones de tiosulfato limitante para luego operar en condiciones de nitrato limitantes. La operación se llevó a cabo por 55 días luego del periodo de enriquecimiento. Esta transición está marcada por el cambio en la composición del RIL sintético alimentado, disminuyendo la cantidad de tiosulfato a fin de generar las condiciones limitantes mencionadas. Esta composición queda definida por los requerimientos metabólicos de los microorganismos, utilizando la composición establecida por Fajardo, 2011 y similar al utilizado en trabajos como Campos *et al.*, 2008, Chung *et al.*, 2014. En las Tablas 24 y 25 se presenta la composición del RIL sintético utilizado en todas las etapas. Cabe destacar que para la etapa de operación, las concentraciones informadas especifican una proporción de alimentación, ya que la concentración de nitrato fue constantemente aumentada en conjunto con los demás compuestos, a modo de mantener constante la relación nitrógeno/azufre alimentada al reactor en cada etapa.

Tabla 24 Composición del RIL sintético para las diferentes etapas

Compuesto	Uso	Formula química	Inicio	Operación etapa 1	Operación etapa 2
Tiosulfato de sodio pentahidratado	Fuente de S	Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	5	1,55	2,5
Nitrato	Fuente de N	NO ₃ ⁻	0,877	0,62	0,62
Bicarbonato de sodio	Fuente de C y alcalinidad	NaHCO ₃	1,5	1,5	1,5
Fosfato de disódio	Buffer	Na ₂ HPO ₄	1,5	1,5	1,5
Fostado de potasio monobásico	Buffer	KH ₂ PO ₄	0,3	0,3	0,3
Cloruro de amonio	Fuente de NH ₄ ⁺	NH ₄ Cl	0,1	0,1	0,1
Micronutrientes	Nutrientes	-	1 mL/L	1 mL/L	1 mL/L

Fuente: Soto, 2016

Tabla 25 Composición de la solución de micronutrientes para la operación de EGSB vía nitrato

Compuesto	Concentración g/L	Compuesto	Concentración g/L
Na ₂ MoO ₄ ·7H ₂ O	1,00	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,25
FeSO ₄ ·7H ₂ O	30,00	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,25
ZnCl ₂ ·4H ₂ O	1,00	HCl (32%)	50,00
CaCO ₃	2,00	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,25
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,50	H ₂ BO ₃	0,25

Fuente: Adaptación de Fajardo, 2011

3.5.3 Reactor de lecho fluidizado (RALEF)

El reactor se carga con 150 ml de zeolita con biomasa adherida. El inóculo fue caracterizado con valores de 48,69 g SST/L y 4,98 g SSV/L. Luego, se agregan 500 ml de una solución de enriquecimiento (Tabla 26 y 27) y agua desionizada hasta completar el volumen de 2,1 L. Finalmente se procede a sellar el reactor, utilizando silicona para la tapa superior y desplazando el aire presente por medio de la inyección de gas argón por 30 s, de tal manera de asegurar condiciones anaerobias.

Para la puesta en marcha, se fija la recirculación completa a un flujo de 6,8 mL/s, lo que corresponde una velocidad de flujo ascendente de 0,0045 m/s, con el fin de obtener una expansión del lecho de aproximadamente 90% del volumen del reactor. La temperatura de operación se mantiene en 30 +- 2 °C.

Tabla 26 Composición de solución de enriquecimiento para reactor RALEF

Compuesto	Concentración	Unidad
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	5	g/L
NaNO ₃	1,2	g/L
NaHCO ₃	1,5	g/L
Na ₂ HPO ₄	1,5	g/L
KH ₂ PO ₄	0,3	g/L
NH ₄ Cl	0,1	g/L
Micronutrientes	1	mL/L

Fuente: Adaptación de Fajardo, 2011

Tabla 27 Composición de solución de micronutrientes

Compuesto	Concentración g/L	Compuesto	Concentración g/L
Na ₂ MoO ₄ ·7H ₂ O	0,73	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,25
FeSO ₄ ·7H ₂ O	30,00	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,25
ZnCl ₂ ·4H ₂ O	0,65	HCl (32%)	50,00
CaCO ₃	2,00	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,25
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,50	H ₂ BO ₃	0,50

Fuente: Adaptación de Fajardo, 2011

Luego, la puesta en marcha se divide en dos etapas: la primera corresponde a una alimentación de nitrógeno como nitrato y la segunda en base a nitrito. A lo largo del experimento, el tiosulfato se mantuvo como reactivo en exceso y el caudal de recirculación fijo a 6,8 mL/s, considerando despreciable el flujo de alimentación para la fluidización del lecho.

3.5.3.1 Reactor de lecho fluidizado vía nitrato

La VCN inicial se fijó en 0,018 kg N-NO₃/m³/d. La alimentación del sistema se realiza en ciclos de 3 días, a través de la descarga y carga completa del sobrenadante, para lo cual se realizaron los siguientes pasos: detención de la recirculación de tal modo que el lecho y la biomasa no adherida sedimenten, luego se descarga el sobrenadante para finalmente cargar con 500 mL de la solución de enriquecimiento y completar nuevamente hasta los 2,1 L con agua desionizada, mediante una bomba peristáltica externa. Esta etapa se mantuvo hasta que el sistema logra el estadio estacionario, teniendo remociones de nitratos estables y superiores al 98%.

3.5.3.2 Reactor de lecho fluidizado vía nitrito

Una vez que el sistema alcanza el estadio estacionario con la alimentación con nitrato, se procede a cambiar la fuente de nitrógeno a nitrito de sodio en una concentración de 0,98 g/L, de forma tal de mantener la VCN en 0,018 kg N-NO₃/m³/d y una relación S/N original de 6,5 g/g.

Para la primera carga del sistema en esta etapa, se mantuvo el mismo proceso de descarga/carga manual utilizado anteriormente, para luego el tercer día, alimentar el reactor con 167 ml por medio de una bomba peristáltica hasta encontrar la estabilización del sistema.

La etapa de operación del reactor consistió en el aumento paulatino de la VCN hasta la obtención máxima en la cual el sistema es capaz de operar en forma estable. Se consideró remociones de nitrito por sobre el 75% como eficiencias altas del sistema. Como las modificaciones de la VCN se realizaron a partir del aumento del caudal de alimentación, la VCS (Velocidad de Carga de Azufre) y el TRH quedan sujetos a los cambios de VCN. Una vez iniciada la etapa de operación se comienza a alimentar el influente en forma continua al realizar el cambio de bomba de alimentación.

En forma paralela se realizó la modificación de las concentraciones tanto de bicarbonato de sodio como de tiosulfato en la alimentación, además de un aumento al doble de la concentración de todos los componentes de la alimentación. Estas modificaciones se realizaron a VCN constantes y de forma independiente.

En la reacción de desnitrificación autótrofa vía nitrito se consumen protones aumentando el pH del medio. Como la alimentación estaba pensada inicialmente para la DNA vía nitrato, existía un exceso de bicarbonato, por lo que se optó por bajar la concentración de NaHCO₃ en forma paulatina hasta obtener valores de pH dentro del rango óptimo de operación. Respecto a los cambios en la concentración de tiosulfato, éstos se realizaron para evaluar el comportamiento del sistema frente distintas razones S/N, hasta llegar a la razón estequiométrica.

3.5.4 Reactor *UAF*

La estrategia de puesta en marcha se divide en dos etapas, enriquecimiento del reactor *UAF*, donde se espera la adherencia de microorganismos a la zeolita de granulometría promedio 5 mm, formando una biopelícula por un periodo de 35 días. Luego de agregado el medio de soporte microbiano, se sella herméticamente y se realiza un barrido con gas inerte (argón) a fin de asegurar las condiciones anóxicas. El sistema es inoculado con una razón de 0,54 bacterias heterótrofas sobre autótrofas (H/A, Peirano, 2016).

Luego se procede a la etapa de operación continua, con los parámetros indicados en la Tabla 28, donde se comienza con una VCN de 0,02 kg N-NO₃/m³/d hasta llegar a 0,1 kg N-NO₃/m³/d,

manteniendo fija la concentración de nitrato en la alimentación a un valor de 0,147 g N/L, por lo que se fue aumentando el caudal paulatinamente, alcanzando la máxima remoción estabilizando el proceso por el menos 3 TRH (Muñoz, 2015).

Tabla 28 Parámetros de operación UAF

Parámetro	Valor	Unidad
Volumen reactor	0,8	L
Temperatura	33 - 35	°C
pH	8+- 0,3	-
N	0,1038	g/L
S/N	4,6	p/p
C/N	3	p/p

Fuente: Moraga, 2016

3.6 Control del Proceso

Para todos los experimentos revisados, se realiza seguimiento del funcionamiento midiendo parámetros claves en la desnitrificación simultánea, como el nitrato, tiosulfato y materia orgánica que se desean remover, el sulfato y nitrito que corresponden a productos final e intermedio de estas reacciones.

El pH es un factor muy influyente en la actividad de los microorganismos utilizados. Para esto, se lleva a cabo un monitoreo de la composición tanto en el afluente como efluente para la estabilidad del reactor, verificando que el valor se mantenga dentro del rango óptimo de operación, para favorecer el crecimiento de bacterias desnitrificantes. El pH se considera una variable crítica, ya que al bajar de 6,5 la población de bacterias se ve afectada tendiendo a disminuir, al igual que su capacidad de degradación.

Los métodos analíticos utilizados se mencionan en la Tabla 29 y se detallan en los anexos A-G.

Tabla 29 Parámetros de control y métodos analíticos

Parámetro	Método Analítico
Nitrato NO ₃ ⁻	Espectrofotometría UV-VIS (205 nm)
Nitrito NO ₂ ⁻	Espectrofotometría UV-VIS (543 nm)
DQO	Espectrofotometría UV-VIS / Volumetría por reflujo cerrado
Tiosulfato S ₂ O ₃ ⁻²	Titulación yodométrico
Sulfato SO ₄ ⁻²	Espectrofotometría UV-VIS (420 nm)
Acetato	Cromatografía de supresión iónica
pH	Potenciometría

3.7 Resultados y criterios de comparación

Los resultados obtenidos en la puesta en marcha y operación de las diferentes tecnologías permiten evaluar las diferentes condiciones:

- Velocidad de carga nitrogenada (VCN) óptima
- Remoción de nitrito y nitrato
- Remoción de tiosulfato
- Razón S/N en alimentación
- Velocidad superficial
- Tiempo de Retención Hidráulica (TRH)
- Temperatura y pH de operación
- Consideraciones operacionales de las diferentes tecnologías

Las condiciones operacionales introducidas en el capítulo 3.5 entregan los resultados de eficiencia de remoción de contaminantes tales como nitrito, nitrato y tiosulfato para cada una de las variaciones de VCN realizadas. Lo anterior se logra manteniendo ciertos parámetros de operación estándares, tales como temperatura y pH. Para llegar a un valor óptimo se debe lograr estabilidad operacional en cuanto a remoción de los contaminantes.

Capítulo IV: Resultados y Discusión

4.1 Primera Etapa: Puesta en Marcha

4.1.1 UASB híbrido

Previo a la inoculación de los reactores UASB híbrido se realizó un ensayo de actividad desnitrificante autótrofa según lo descrito por Garrido, 2014 en el anexo G.

En la Tabla 30 se presentan los valores obtenidos por Giuras, 2015, Godoy, 2015 y Pavez, 2015.

Tabla 30 ADA en operación de UASB híbrido

Actividad Desnitrificante Autótrofa	
mg N-NO ₃ /g SSV/d	
Giuras	1229
Godoy	6,92
Pavez	4957

Según lo descrito por Fajardo (2011), consiguió un valor de 211 mg N-NO₃/g SSV/d como mejor resultado al día 90 y utilizando este valor como referencia se puede comentar que para los valores obtenidos por Godoy son bastante bajos, esto debido a la previa utilización de inóculo. Lo que se traduce en una menor cantidad de microorganismos presentes en el inóculo. Con relación a los valores obtenidos por Giuras y Pavez se aprecia que están muy alejados de los valores de referencia, por lo que se descarta como dato experimental coherente. No obstante, no se descarta la capacidad desnitrificadora de la biomasa utilizada para el experimento.

Para la puesta en marcha de estos equipos, la investigación se basa en la estrategia operacional de Chen *et al.*, 2008 y Show *et al.*, 2013. Se lleva un control de remociones de nitrato y pH como criterio para pasar a la segunda etapa, teniendo como resultados lo indicado en la Tabla 31.

Para el caso de Giuras, 2015, los primeros días de operación se evidenció una remoción del 85% de nitrato. Este valor se debe a las bacterias autótrofas y heterótrofas que consumen nitrato como fuente donador de electrones. Aunque en el periodo de enriquecimiento de las bacterias heterótrofas se benefició el crecimiento de estas para que ocuparan el nitrito como fuente para la desnitrificación y así poder llevar a cabo la desnitrificación autótrofa vía nitrato y la heterótrofa vía nitrito (Reyes *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2008). Finalmente se tiene un valor aceptable de 65% de remoción para la puesta en marcha, comparable con Reyes *et al.*, 2008. El comportamiento

del nitrito se vio con nula concentración en el efluente en los primeros días, evidenciando el crecimiento de las bacterias heterótrofas, que usan este ion como fuente para su reproducción celular. Sin embargo, para los días finales se encuentra un aumento de concentración de este compuesto, llegando a 0,03 mg N-NO₂/L, lo cual es insignificante comparado con el rango para la inhibición por nitrito (36-60 mg N-NO₂/L) reportado por Fajardo *et al.*, 2008. Aun así, se demuestra una desnitrificación autótrofa incompleta.

Tabla 31 Remoción de nitrato y pH en la puesta en marcha

	Día	% remoción NO ₃	Nitrito mg N-NO ₂ /L	pH
Giuras	14	65%	0,03	8,3
Godoy	5	90%	0	7,9
Pavez	4	83%	0	7,1

El comportamiento del pH evidencia que la reacción predominante favorece el crecimiento de bacterias heterótrofas, ya que el óptimo para la multiplicación de autótrofas se lleva a cabo con pH en torno a 7.

Para el caso de Godoy y Pavez, 2015 se compara directamente con la investigación de los autores Uyanik *et al.*, 2013 y Sun y Nemati, 2012, quienes logran valores de remoción del 100% a los 6 y 9 días respectivamente. Se puede inferir que la biomasa utilizada tiene una rápida adaptación por lo que se encuentra en condiciones para llevar a cabo la desnitrificación autótrofa a diferentes VCN.

El comportamiento del pH se mantiene estable en torno a un valor de 8. La reacción de nitrato con tiosulfato genera una disminución del pH producto de los protones liberados, lo cual es contrarrestado por la función tampón del bicarbonato de sodio.

4.1.2 Reactor *EGSB*

En el caso de los reactores *EGSB* operados por Duran, 2016 y Soto, 2016 se evaluó la remoción de nitrógeno durante los días de enriquecimiento, los valores obtenidos por ambos autores se muestran en la Tabla 32. Cabe destacar que para el caso de Duran, el nitrógeno alimentado viene como nitrito y para el caso de Soto viene como nitrato.

Para el trabajo desarrollado por Duran, 2016 se consideró que la remoción de nitrito debe ser superior al 90% para considerar como finalizada la etapa de enriquecimiento, como se aprecia este valor está en el rango considerado al día 9. En el caso de Soto, 2016 los valores oscilan en torno al 85% de remoción de forma constante a lo largo de la experiencia esto puede explicarse

debido a las concentraciones de sulfato presentes, consideradas como inhibidoras por Campos *et al.*, 2008 y Oh *et al.*, 2000 esto reforzado por un leve aumento de la concentración de sulfato desde el día 10 como se aprecia en la Figura 14.

Tabla 32 Remoción en etapa enriquecimiento para tecnología EGSB

	Enriquecimiento [d]	Remoción de nitrógeno
Duran	9	99,7%
Soto	22	85%

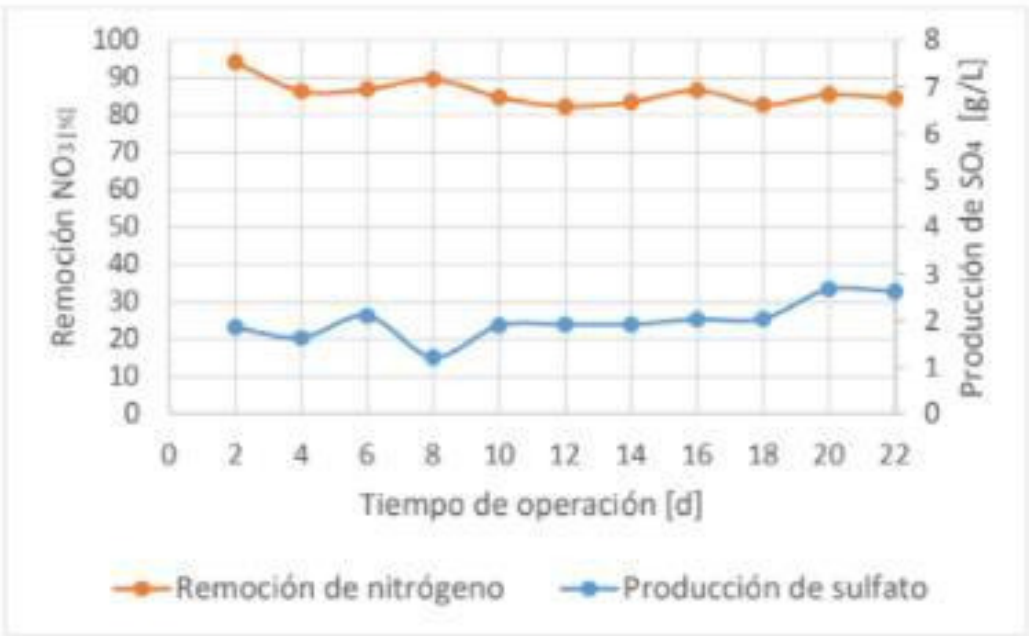


Figura 14 Remoción de nitrógeno y producción de sulfato en la etapa de enriquecimiento.

Fuente: Soto, 2016

La puesta en marcha considera la operación del reactor en forma continua hasta la estabilización de los parámetros principales por al menos 3 TRH, fase que tuvo una duración de 4 días para el caso de Duran, 2016, logrando una remoción de nitrito del 99,7% y remoción de tiosulfato del 100% para una VCN inicial de 0,4 kg N/m³/d indicados en la Tabla 33.

Tabla 33 Puesta en marcha EGSB

VCN kg N/m ³ /d	Remoción nitrito	Remoción tiosulfato
0,4	99,7%	100%

Fuente: Duran, 2016

4.1.3 Reactor RALEF

La puesta en marcha de este equipo considera 2 etapas, en total tuvo una duración de 37 días, los primeros 16 considera una alimentación con fuente de nitrógeno en base a nitrato y los siguientes 21 días vía nitrito, obteniendo los resultados indicados en la Tabla 34.

Tabla 34 Puesta en marcha RALEF

	Etapas 1	Etapas 2
	Vía nitrato	Vía nitrito
Días	16	21
VCN kg N/m³/d	0,018	0,018
Nitrato	198 mg N/L	654 mg NO ₂ -/L
Remoción promedio	99%	90%

Los microorganismos tuvieron una rápida adaptación a las condiciones de operación, obteniendo una eliminación completa del nitrato después de los 8 primeros días y manteniéndose constante, resultado similar al obtenido por Uyanik *et al.*, 2013, quienes obtuvieron remociones totales de nitrato los primeros 6 días de operación. Una vez estabilizado el sistema, se realiza el cambio de fuente de nitrógeno a nitrito, manteniendo la concentración de nitrógeno en la alimentación con la finalidad de mantener la VCN fija en 0,018 kg N/m³/d. Se evidencia un descenso en el rendimiento del reactor, llegando a valores de remoción del 79% como se aprecia en la Figura 15.

Los microorganismos comienzan a aclimatarse a la nueva alimentación, por lo que la remoción comienza a aumentar de manera paulatina, llegando a remociones del 98% al cabo de 14 días y un promedio de 90% durante la puesta en marcha de 21 días. Este tiempo es superior al reportado por Mahmood *et al.*, 2007, quienes alcanzaron el estado estacionario al cabo de 15 días de operación.

Se utiliza tiosulfato como donador de electrones para realizar la desnitrificación autótrofa y se espera obtener sulfato como producto esperado de la desnitrificación completa a partir de nitrito y tiosulfatos. Los parámetros se presentan en la Tabla 35.

Cabe destacar que en la primera etapa el tiosulfato se encuentra en exceso del 128% con respecto al nitrato, teniendo remociones promedio del 58% y en la segunda etapa se incrementa a 278% de exceso, promediando 57% de remoción, como se puede evidenciar en la Figura 16. Se debe tener presente que al tener exceso de tiosulfato, no se deben esperar remociones cercanas al 100%.

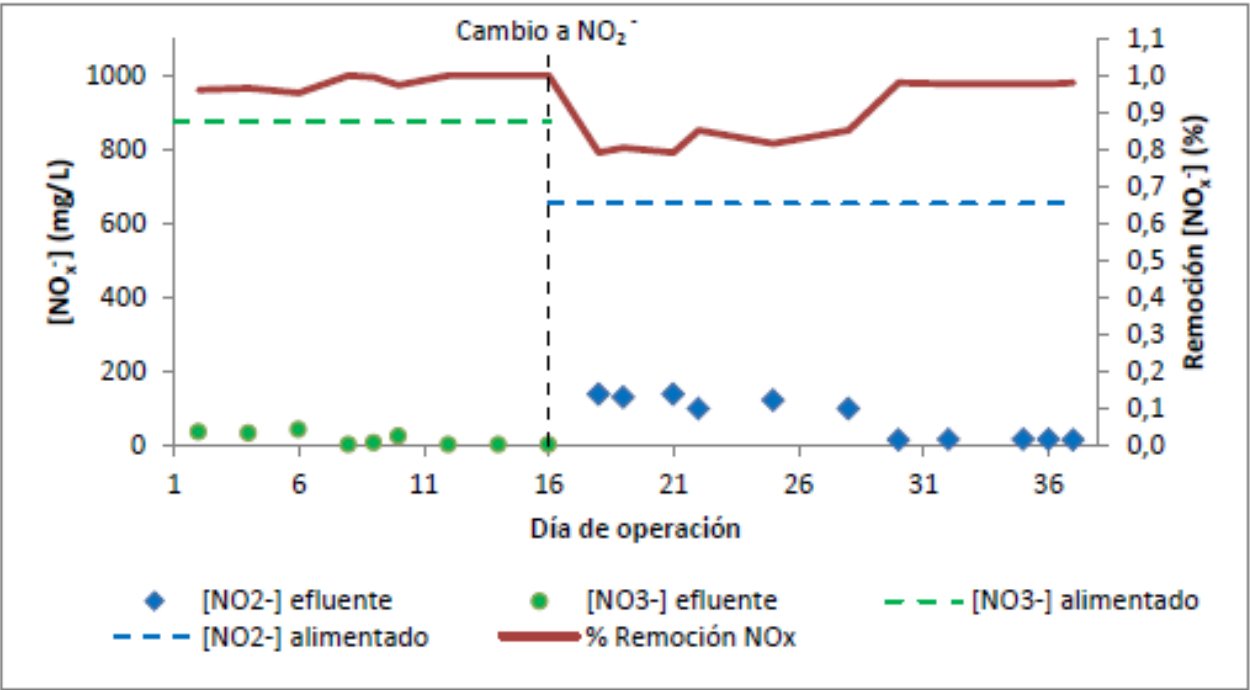


Figura 15 Comportamiento de compuestos nitrogenados durante la puesta en marcha VCN cte de 0,018 kg N/m³/d

Tabla 35 Puesta en marcha RALEF (tiosulfato)

	Etapa 1	Etapa 2
Días	16	21
VCN kg N/m³/d	0,018	0,018
Tiosulfato	2259 mg/L 128% exceso	278% exceso
Remoción Promedio	58%	57%

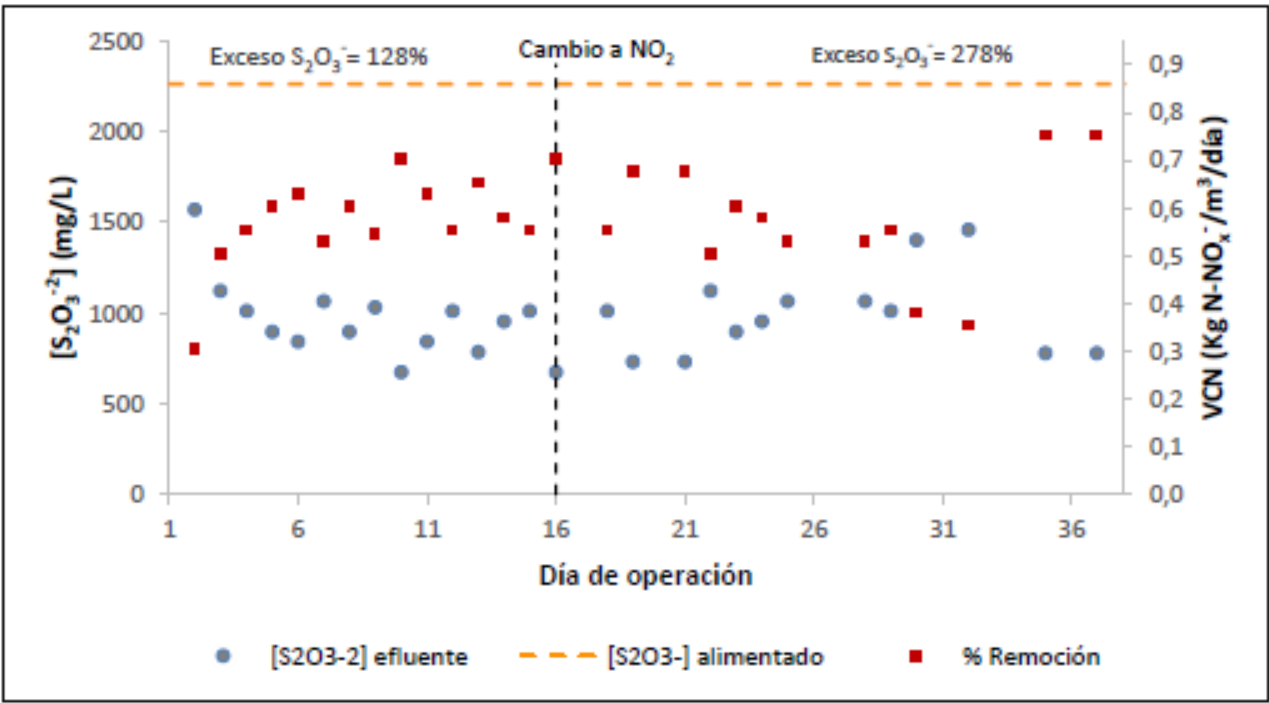


Figura 16 Comportamiento de los compuestos del tiosulfato durante la puesta en marcha a VCN constante

Fuente: Rodríguez, 2015

4.1.4 Reactor *UAF*

Para el caso de los reactores *UAF* operados por Moraga, 2016 y Ausín, 2017, quienes trabajaron la puesta en marcha y operación respectivamente, se tiene una fase de enriquecimiento por 3 semanas, midiendo parámetros tales como sólidos suspendidos totales, volátiles y tasa de remoción de nitrato, indicados en la Tabla 36.

Tabla 36 Enriquecimiento de bacterias heterótrofas y remoción de nitrato

Enriquecimiento d	SST mg/L	SSV mg/L	NO ₃ influente mg/L	NO ₃ efluente mg/L	% de remoción
21	24670	21610	932	9,3	98,4

Fuente: Moraga, 2016

Desde el día 1 al 35 se debe dar paso a la operación *fed batch* del reactor, alimentando el sistema cada dos días, considerando descarga para luego realizar carga fresca. En esta fase, se busca la adherencia de los microorganismos al soporte microbiano, zeolita chilena como se puede observar en la Figura 17.

En esta etapa se debe controlar el pH para asegurar la actividad enzimática de los microorganismos presentes, controlando 3 veces por semana para así asegurar las condiciones apropiadas para el crecimiento de bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas, indicado en la Figura 18. El día 25 se alcanza el rango de pH óptimo para la desnitrificación simultánea, coincidiendo con la última etapa de formación de la biopelícula.



Figura 17 Proceso de formación de biopelícula. Enriquecimiento del reactor *UAF* en operación *fed batch*, inóculo (a): día 1-5, acondicionamiento de la superficie (b): día 6-11, adherencia a la superficie (c): día 11-16, maduración de la biopelícula (d): día 17-24, desprendimiento de las bacterias en el relleno (e): día 25-35.

Fuente: Moraga, 2016

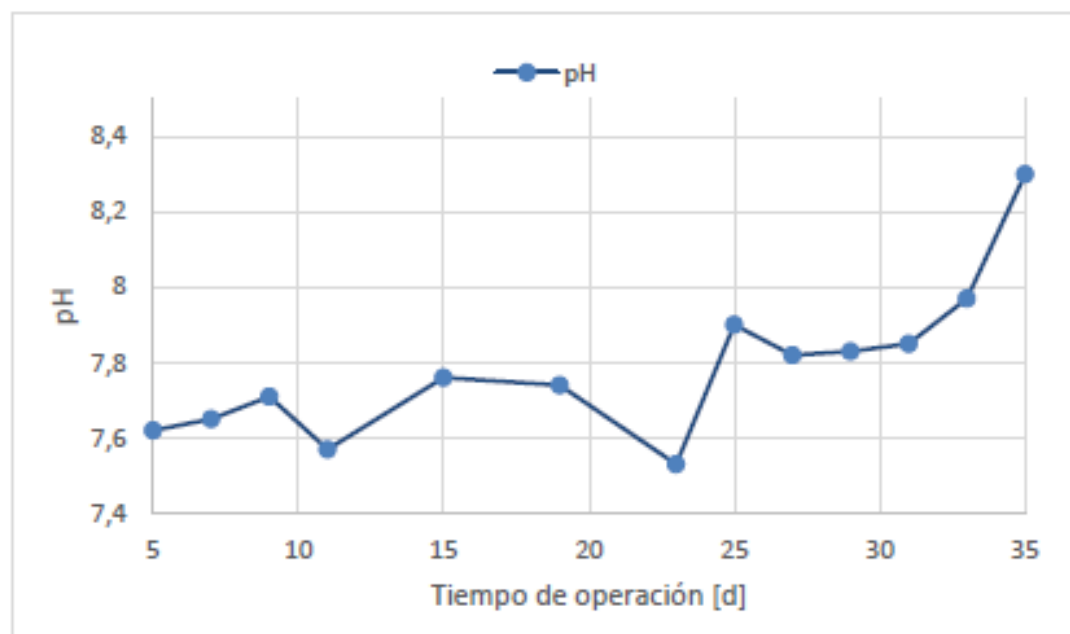


Figura 18 Comportamiento del pH

Fuente: Moraga, 2016

Los días 25 en adelante, el pH se mantiene en $8 \pm 0,3$, comportándose según lo esperado, ya que el proceso de desnitrificación tiende a aumentar la alcalinidad, manteniéndose en ese rango por la acción del componente amortiguador, bicarbonato.

En cuanto a la remoción del nitrato, se muestra que a partir del día 5, Figura 19, comienza a aumentar donde se puede observar el acondicionamiento de la superficie en el relleno del reactor. Una vez lograda una remoción del 99,84%, se da término a la puesta en marcha.

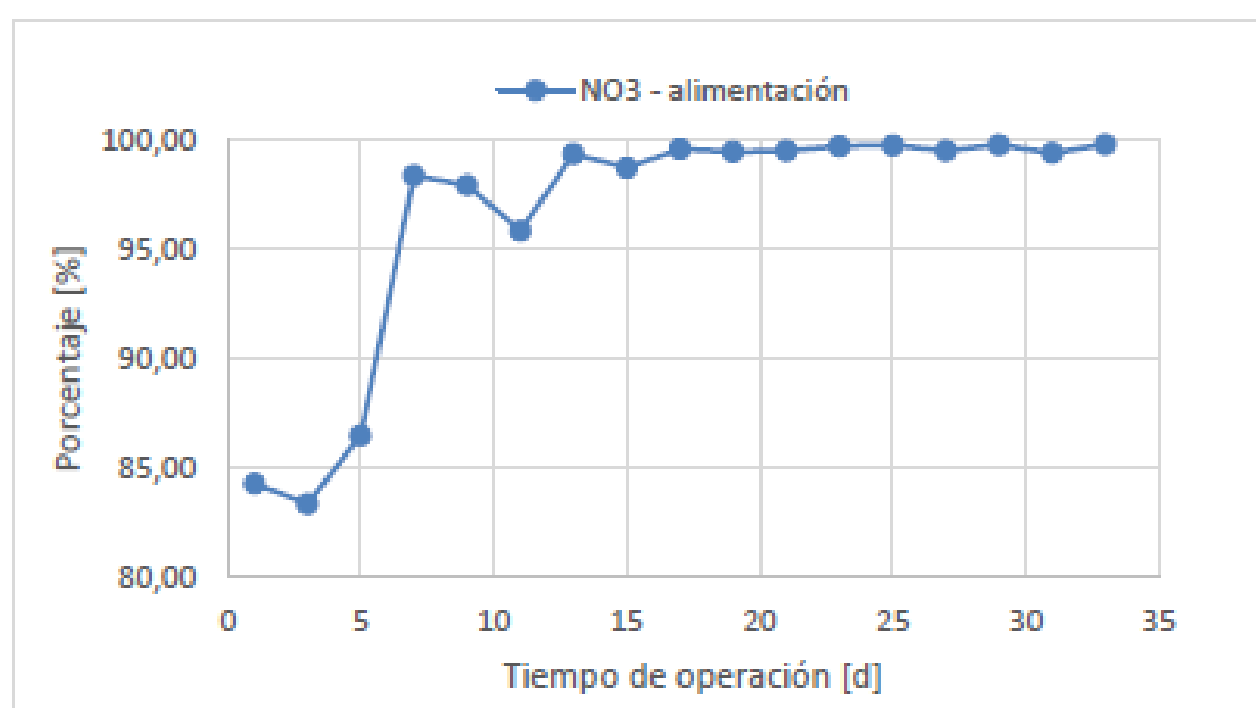


Figura 19 Remoción de nitrato en la puesta en marcha UAF

Fuente: Moraga, 2016

Adicionalmente se realiza una medición de nitrito durante la puesta en marcha, ya que su existencia en pequeñas cantidades presenta efector inhibitorios cuando se alcanza una concentración de al menos 100 mg NO₂/L. Sin embargo, esta fase presenta valores de 48 mg NO₂/L, por lo que no se alcanza a observar tal efecto, Figura 20.

La remoción de tiosulfato se muestra en la Figura 21, donde se evidencia que a partir del día 17, los errores experimentales aumentan considerablemente, llegando a un 40% de error al final de la puesta en marcha. El tiosulfato actúa como donador de electrones, donde se espera sulfato como producto de la reacción, considerando una relación S/N de 4,6, teniendo al tiosulfato en un exceso del 60%.

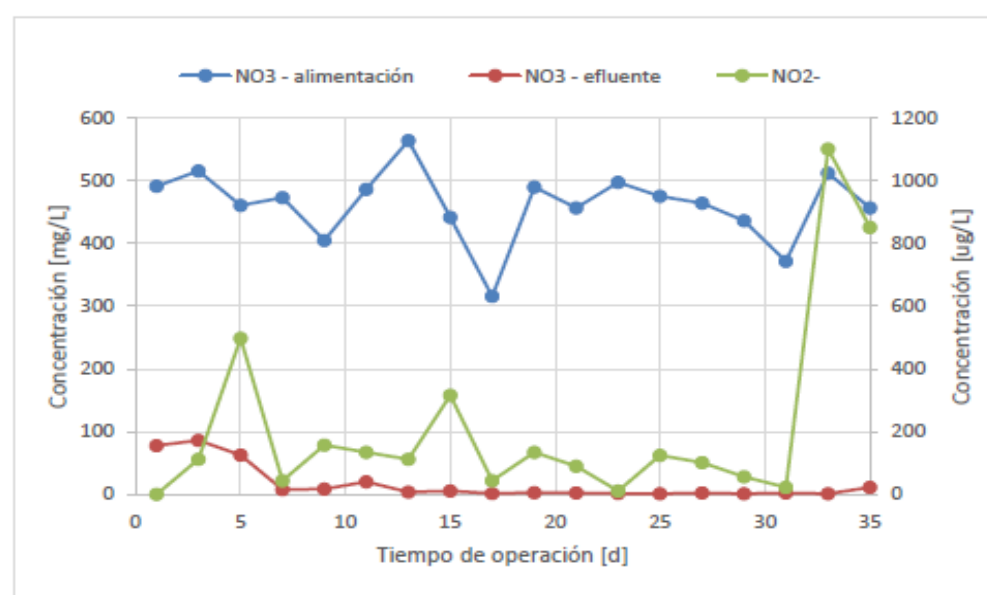


Figura 20 Concentración de nitrito y nitrato en la alimentación y efluente, nitrito únicamente en efluente

Como parámetro adicional, se realiza seguimiento al comportamiento de la fuente de carbono orgánico, acetato, que es medido por medio de la demanda química de oxígeno, cuantificando la capacidad reductora del carbono existente, como se muestra en la Figura 22.

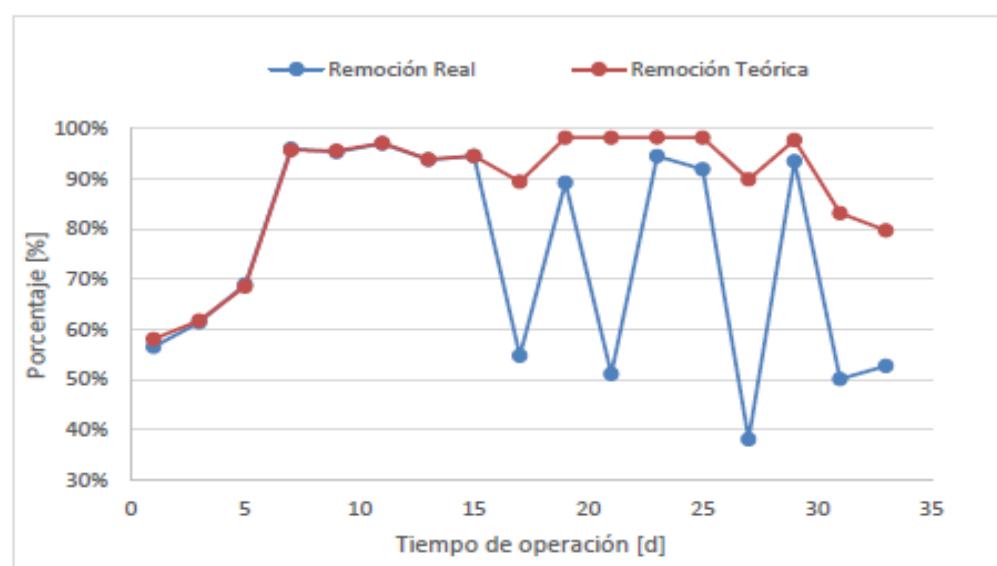


Figura 21 Remoción de tiosulfato en la puesta en marcha

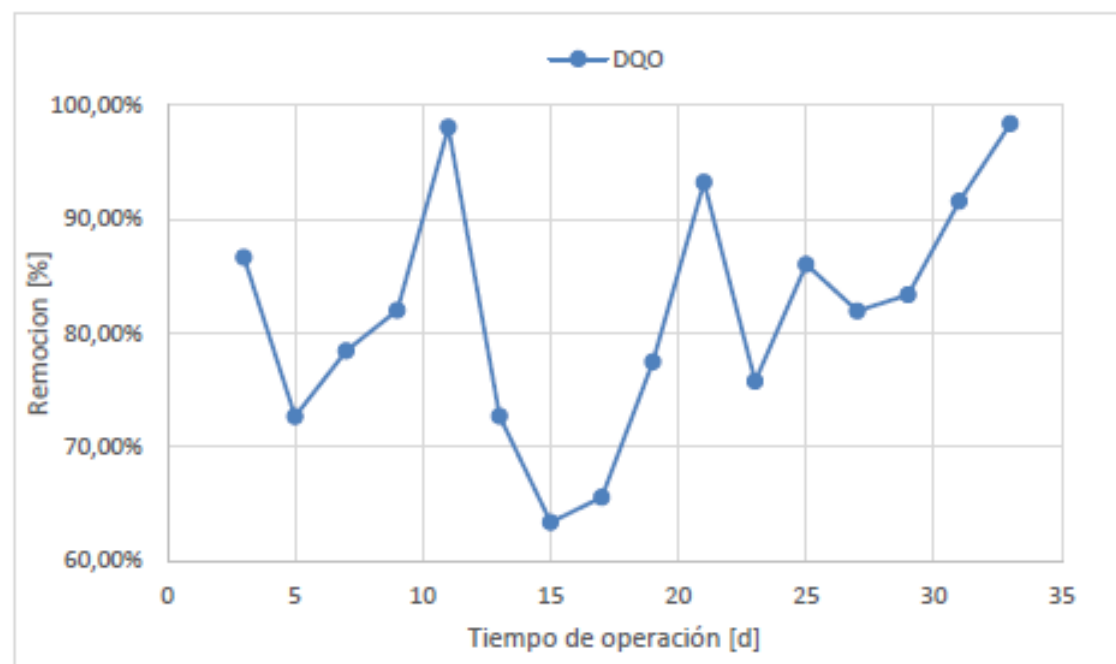


Figura 22 Remoción de acetato en la puesta en marcha de UAF

Fuente: Moraga, 2016

4.2 Segunda Etapa: Operación

Para controlar los parámetros óptimos de operación del reactor, se determinaron los compuestos nitrogenados (amonio, nitrato y nitrito), los compuestos sulfurados (tiosulfato y sulfato), la materia orgánica (DQO) y el potencial de hidrógeno (pH). Los parámetros de temperatura y velocidad superficial fueron controlados permanentemente.

4.2.1 Reactor *UASB* híbrido

Para la operación del reactor *UASB* híbrido, se estudiaron los trabajos realizados por Godoy, 2015 y Pavéz, 2015, investigaciones que se diferencian por la fuente de nitrógeno, siendo nitrato y nitrito respectivamente. Para ambos casos, se trabaja con una velocidad superficial cercana a 0,8 m/h. Los resultados de ambas investigaciones se resumen en la Tabla 37.

Se buscar comenzar la operación con una VCN de 0,1 kg N/m³/d hasta llegar a 0,9 kg N/m³/d aumentando en 0,1 su valor usando como criterio una estabilidad dada por al menos 3 TRH. La estabilidad se evidencia con los porcentajes de remoción de nitrato y compuestos de azufre alcanzados en cada etapa.

Tabla 37 Comparación de resultados UASB híbrido en operación

	Godoy N-NO ₃	Pavéz N-NO ₂
Tiempo de operación d	92	99
S/N (nitrato limitante)	6,51	4,5
T °C	33	34
pH	7,4	7,9
VCN óptima kg N/m ³ d	0,5	0,6
% remoción nitrato	83%	-
% remoción nitrito	-	99%
% remoción tiosulfato	-	65%
producción de sulfato mg/L	1930	-
concentración tiosulfato mg/L	1090	-
TRH h	9,5	7,6

4.2.1.1 UASB vía nitrato

Para valores de VCN sobre 0,8 kg N/m³/d se presenta una descompensación en la operación al disminuir la remoción de nitrato considerablemente, llegando al 46% a pesar de los TRH transcurridos. Una vez que ocurre esto, se vuelve a operar el sistema con la última VCN utilizada con el mayor porcentaje de remoción. Luego de la operación estabilizada, se aumenta nuevamente la VCN, obteniendo resultados negativos producto del debilitamiento de la biomasa producto de la sobrecarga de nitrato, disminuyendo su adaptabilidad al medio. Esto podría evitarse teniendo incrementos en VCN de menor escala.

Según Chung *et al.*, 2014 demuestra que a tasas sobre 500 mg/L de nitrato en la alimentación utilizando tiosulfato como donador de electrones, el nitrato tiene efectores inhibidores debido a que la tasa de reducción específica del nitrato es menor que la tasa de reducción máxima, evidenciando que el nitrato demore más en ser eliminado al 100% (mayor a 110 h). Este estudio considera que a una baja VCN (0,1) no se logra el 100% de remoción independiente del tiempo de operación de la misma VCN.

El mejor resultado para esta investigación fue una remoción de 83% de nitrato a una VCN de 0,5 kg N/m³/d.

4.2.1.2 UASB vía nitrito

Partiendo la operación con una VCN de 0,1, se obtienen remociones cercanas al 100% de nitrito prácticamente constante hasta una VCN de 0,6 kg N/m³/d. Al pasar a una VCN de 0,7 kg N/m³/d la eliminación de nitrito baja a un 87% con respecto a la alimentación. Considerando estudios anteriores, como el de Sun y Nemati, 2012, Uyanik *et al.*, 2013 y Chung *et al.*, 2014, se obtuvieron altas remociones de nitrito cercanas al 100% a VCN de 1,8 kg N/m³/d, 0,01 kg N/m³/d y 0,03 kg N/m³/d respectivamente. Esto se explica con la capacidad de adaptabilidad de los microorganismos a la inhibición provocada por el nitrito como sustrato.

La baja en la remoción de nitrito al aumentar la VCN de 0,6 kg N/m³/d a 0,8 kg N/m³/d, con valores de 100% y 57% es esperable debido a la inhibición que producen tanto el nitrito como el tiosulfato y sulfato, como reporta Chung *et al.*, 2014.

4.2.2 Reactor EGSB

Las investigaciones revisadas difieren en la fuente de nitrógeno, siendo en base a nitrato para Soto, 2016 y en base a nitrito para Duran, 2016.

4.2.2.1 EGSB vía nitrato

La operación se llevó a cabo con parámetros fijos de TRH de 1,1d y velocidad superficial de 5,6 m/h, incrementando paulatinamente la VCN partiendo con un valor de 0,088 kg N/m³/d. Durante la operación, se modifica la concentración de nitrógeno presente como nitrato, en el influente sintético de la mano del aumento proporcional del resto de los reactivos que componen el RIL sintético. La respuesta del reactor fue evaluada realizando mediciones de sulfato en la alimentación, nitrato y tiosulfato tanto en la alimentación como la descarga, para distintas razones de S/N y concentraciones de nitrato, manteniendo fijo el pH durante la operación y una temperatura cercana a 35°C. Como resultado de la experiencia, se tiene remociones de nitrato mayor a 90% para VCN de hasta 0,75 kg N/m³/d y remociones de azufre entre 77% y 85%. Se puede concluir que para razones S/N de alimentación de nitrógeno limitante sobre 3,85, son más favorables para la desnitrificación autótrofa y que el sulfato se presenta como un compuesto endógeno inhibidor. Finalmente, la operación con flóculos de bacterias desnitrificantes autótrofas en reactores con altas turbulencias, puede presentar problemas de sedimentabilidad debido a la fragilidad y flotabilidad de los flóculos.

4.2.2.2 EGSB vía nitrito

El sistema opera a una VCN creciente, partiendo desde 0,4 kg N/m³/d a una razón de C/N de 0,29 y de S/N de 2,06. Durante la operación, se aumentó de manera gradual la VCN cambiando la concentración de nitrito en la alimentación, manteniendo el caudal del influente constante. Se

trabajó mayormente con una relación S/N de 2,06, lo cual equivale a un 20% de exceso estequiométrico de tiosulfato, en un rango de temperatura entre 31 a 35°C y un pH fluctuante entre 7,3 y 6,9. Se logra una remoción de nitrito del 99,99% y una remoción del 100% para el tiosulfato para una VCN de 0,73 kg N/m³/d. Como parte de los objetivos, se aumenta la VCN a 1,03 kg N/m³/d, logrando remociones del 96% de nitrito y 80% de tiosulfato a un TRH de 0,5 d.

Al operar con 30% de exceso de tiosulfato equivalente a una razón de S/N de 1,75, se presenta una inhibición de biomasa desnitrificante autótrofa, afectando la remoción de ambos compuestos. El reactor *EGSB* vía nitrito califica con una buena opción para la DNA para aguas residuales con alta carga de nitrito y tiosulfato, alcanzando VCN sobre 1 kg N/m³/d mientras contengan concentraciones bajas de materia orgánica.

4.2.3 Reactor RALEF

El trabajo realizado por Rodriguez, 2015 contempla la puesta en marcha y operación de un reactor anaerobio de lecho fluidizado para realizar la desnitrificación autótrofa vía nitrito.

Como se aprecia en la Tabla 38 al aumentar la VCN el TRH disminuye, dando menos tiempo de asimilación a los microorganismos, esta disminución de la TRH produce un estabilización de la tasa de remoción de compuestos nitrogenados, según el trabajo desarrollado por Rodriguez, 2015, además Mahmood *et al.*, 2007 a concentraciones fijas de sustrato, los equipos pueden tolerar TRH más cortos con VCN altas siempre y cuando la tasa de crecimiento específico de las BDA sea mayor que la tasa de lavado. Se aumenta la VCN hasta 1,1 kg N/m³/d a una razón de S/N constante de 6,5, logrando remociones máximas del 100% de nitrito hasta la VCN 0,5 kg N/m³/d y 97% de tiosulfato a VCN de 0,05 kg N/m³/d. Se define como VCN óptima entre 0,9 y 1,1kg N/m³/d, obteniendo remociones de nitrito de 91% y 78% respectivamente. Luego se realizan 4 cambios de S/N a través de la disminución de la concentración de tiosulfato alimentado, con el fin de encontrar la razón óptima para la DNA vía nitrito, la cual se estableció en 1,8, con valores de remoción de nitrito y tiosulfato de 91% y 92% respectivamente.

Se puede comentar que a TRH mayores de 6,3 h se observó arrastre de biomasa no adheridas al soporte, lo que puede ocasionar una pérdida considerable de esta. En el trabajo de Rodriguez, 2015, se mantuvo un equilibrio puesto que la tasa de crecimiento microbiológico se equipara con la pérdida de esta biomasa. Esto puede indicar que a mayores VCN se puede tener una alta tasa de pérdida de sólidos suspendidos a través del efluente, lo que llevaría a la pérdida total de la biomasa.

Tabla 38 Resultados de Puesta en Marcha y Operación del reactor RALEF

	Puesta en Marcha	Operación
VCN kg N/m ³ /d	0,018	1,1
Remoción promedio	93%	90%

4.2.4 Reactor UAF

La puesta en marcha del reactor *UAF* fue llevada a cabo por Moraga, 2016 continuando con la operación del mismo por Ausín, 2017.

La operación del reactor se llevó a cabo de forma continua durante 147 días, se mantuvo a una temperatura de $33 \pm 2^\circ\text{C}$ y se alimentó con agua residual sintética, con una relación C/N constante de 3,0 g C/g N y relaciones de S/N que variaron de 4,6 a 3,9 y finalmente a 3,4 g S/g N, disminuyendo el porcentaje en exceso de azufre. La velocidad de carga nitrogenada (VCN) se aumentó gradualmente durante la operación del *UAF* solo mediante la variación del caudal, comenzando con una VCN de 0,1 kg N-NO₃/m³/d hasta alcanzar una VCN de 2,0 kg N-NO₃/m³/d.

Durante la operación del *UAF* el pH se mantuvo dentro de los rangos adecuados para la desnitrificación simultánea de $8,0 \pm 0,3$ y se logró la remoción conjunta de los compuestos deseados con un máximo de remoción de nitrato de 99,69% a VCN 0,4 kg N-NO₃/m³/d, de acetato de 94,39% a VCN 0,6 kg N-NO₃/m³/d y de tiosulfato de 66,15% a VCN 1,1 kg N-NO₃/m³/d. El tiosulfato fue el compuesto para el cual se obtuvieron tasas de eliminación más bajas durante toda la operación y la razón S/N óptima encontrada resultó ser 3,4 g S/g N, la más cercana a la razón estequiométrica.

La VCN recomendada para la remoción conjunta de estos tres compuestos de acuerdo a los datos obtenidos es de 0,6 kg N-NO₃/m³/d, a la cual se alcanzaron remociones de 98,99% para el nitrato, 94,39% para el acetato y 61,71% para el tiosulfato.

Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones

Los factores a evaluar para la selección de la tecnología que presenta mejores resultados son las remociones de nitratos y tiosulfatos para la mayor VCN alcanzada, considerando que todos los estudios se basan en adaptaciones de alimentación del RIL sintético presentado por Fajardo, 2011. No se consideran factores económicos en el análisis, para su consideración se deben tomar en cuenta costos de diseño, construcción y operación.

Al realizar una comparación entre tecnologías para condiciones iniciales similares como la utilización de zeolita chilena como medio de soporte para adherencia de microorganismos desnitrificantes autótrofos, los reactores *UAF* y *RALEF* presentan buena adherencia dada su estructura porosa que permite retener altas concentraciones de biomasa lo que finalmente permite alcanzar altas VCN. La tecnología *UAF* considera una desnitrificación autótrofa/heterótrofa simultánea que presenta remociones del 98,99% para el nitrato, 94,39% para el acetato y 61,71% para el tiosulfato a una VCN de 0,6 kg N/m³/d. Los resultados avalan el buen funcionamiento del equipo haciendo posible la coexistencia de las bacterias, sin embargo se ven mayormente favorecidas la desnitrificación heterótrofa que autótrofa al tener como resultado una mayor remoción de acetato que tiosulfato. Por otro lado, esta tecnología presenta efectos de taponamiento en la operación a largo plazo (Ramírez, 2012), al tener un exceso de biomasa atrapada en las cavidades intersticiales del material de soporte, lo que dificulta el contacto y canalización por ende disminución de transferencia de materia. La operación del reactor *RALEF* presenta remociones de nitrato del 90%, nitrito 78% y tiosulfato de 78% para una VCN de 1,1 kg N/m³/d, resultado óptimo según Rodríguez, 2015. No se presentaron evidencias de inhibición completa a pesar de las elevadas concentraciones de nitrito y tiosulfato en el influente, lo que se explica con la buena aclimatación de los microorganismos.

Por otro lado, para condiciones similares como la fuente de nitrógeno dada por nitrito y VCN cercana, para el caso de los reactores *UASB* híbrido y *EGSB* se logra una eficiencia de 99% en remoción de nitrito y remociones de tiosulfato de 65% y 100% respectivamente para VCN de 0,6 kg N/m³/d en *UASB* híbrido y 0,73 kg N/m³/d en *EGSB*. Al aumentar VCN en el primer caso se evidencia una disminución de la concentración de tiosulfato y sulfato en el efluente, condición que puede darse por la inhibición sobre las reacciones que provoca el nitrito como sustrato y en el segundo caso se genera inhibición por sustrato, por lo que un 20% de exceso de tiosulfato se acerca al valor óptimo del parámetro, dadas las condiciones estequiométricas al aumentar VCN.

Para los casos en que la fuente de nitrógeno viene dada por nitrato, se mantienen las mejores condiciones en la tecnología *EGSB* en cuanto a remoción de nitrato llegando a un 94% para una

VCN de 0,75 kg N/m³/d, lo cual está por sobre lo obtenido en *UASB* híbrido con una remoción de nitrato del 83% a una VCN de 0,5 kg N/m³/d. Para el primer caso se tiene una remoción de azufre que fluctúa entre 76% y 85% para todas las VCN revisadas. La DNA se ve favorecida para condiciones S/N nitrato limitante, un exceso del 20% en la alimentación genera buenos resultados de remoción. Para el segundo caso se tiene una producción de sulfato de 1930 mg/L (84% teórico) y concentración de tiosulfato en el efluente de 1090 mg/L (consumo del 87% teórico) y a mayores VCN, se logran eficiencias de remoción de nitrógeno cercanas al 80%, sin embargo la producción de sulfato decae en un 40%, sin mayores variaciones para el tiosulfato, por lo que se concluye la existencia de compuestos intermedios de sulfato que no se determinaron con exactitud.

Para llevar a cabo la desnitrificación autótrofa, en los casos de estudio se utilizan bacterias autótrofas para su funcionamiento, las cuales no requieren de materia orgánica para su reproducción, por lo que al aumentar la VCN puede traer condiciones desfavorables para llevar a cabo el proceso dado que se podrían presentar inhibiciones por sustrato al modificar las razones de C/N y S/N.

Finalmente, comparando las mejores condiciones analizadas, la tecnología RALEF logra una VCN de 1,1 kg N/m³/d con remociones aceptables, sin embargo, los resultados máximos obtenidos en la tecnología *EGSB* indican que para una VCN de 1,03 kg N/m³/d se presentan remociones de nitrito y tiosulfato del 96% y 80% respectivamente, lo cual presenta condiciones más favorables para el *EGSB*.

La desnitrificación autótrofa en reactores *EGSB* se presenta como una alternativa factible para tratar a escala real, considerando RILes que contengan en mayor medida nitrógeno y azufre como contaminantes, para tratar concentraciones de hasta 5 g/L de nitrato y VCN de 1 kg N/m³/d mientras mantengan una baja concentración de materia orgánica en la alimentación. Por su relación altura/diámetro de 20:1, permite estabilización de bacterias de una forma más eficiente para aumentos de VCN más bruscos, además de permitir operar a TRH bajos en comparación a otros equipos estudiados.

En base a los parámetros de las diferentes tecnologías analizadas y las comparaciones expuestas, se puede concluir que se presenta un mejor comportamiento en remoción de nitrato, nitrito y tiosulfato para una alta VCN en el reactor *EGSB*, alcanzando una remoción de nitrito y tiosulfato cercanas al 100% para una VCN de 0,73 kg N/m³/d, con un TRH de 0,5 d y razones de C/N de 0,41 y S/N de 1,62.

Como recomendación para equipos a escala laboratorio, es posible obtener mejores resultados en reactores *EGSB* pilotos que posean zonas de separación más eficientes, así como en otros tipos de reactores anaerobios, y por consiguiente mejores resultados a escala real.

Capítulo VI: Bibliografía

APHA, AWWA Y WEF. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Vol. 22. Washington DC, USA.

Ausín, M. (2017). Operación de un reactor anaerobio de lecho fijo con flujo ascendente para remover azufre, nitrato y materia orgánica a través de la desnitrificación simultánea autótrofa-heterótrofa. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Beristain, R. (2004). Eliminación anóxica de carbono, nitrógeno y azufre por medio de un reactor de lecho fluidificado inverso. Tesis de maestría, Universidad Autónoma Metropolitana, México.

Buys, B., Mosquera-Corral, A., Sánchez, M. y Méndez, R. (2000). Development and application of a denitrification test based on gas production. (Water Science and Technology) Vol. 41, pp. 113-120.

Campos, J. L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A., Méndez, R. (2008). Kinetics of denitrification using sulphur compounds: Effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. (Bioresource Technology) Vol. 99(5), pp. 1293–1299.

Campos, J., Vázquez-Padín, J., Fernández, I. y Fajardo, C. (2009). Procesos avanzados de eliminación de nitrógeno: nitrificación parcial, Anammox, desnitrificación autótrofa.

Chen, C., Ren, N., Wang, A., Yu, Z., Lee, D. J. (2008). Simultaneous biological removal of sulfur, nitrogen and carbon using EGSB reactor. (Applied Microbiology and Biotechnology), Vol. 78(6), pp. 1057–1063.

Chung, J., Amin, K., Kimb, S., Yoon, S., Kwon, K. y Bae, W. (2014). Autotrophic denitrification of nitrate and nitrite using thiosulfate as an electron donor. (Water Research) Vol. 58, pp. 169-178.

Cortés, Y. y Villegas, O. (2004). Diseño de un teórico de un reactor híbrido mediante sistemas no convencionales para el tratamiento de aguas residuales, Instituto Politécnico Nacional, México.

Dapena-Mora, A., Fernández, I., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Méndez, R. y Jetten, M. (2006). Evaluation of activity and ahinition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. Enzyme and microbial technology. Vol. 40, pp. 859-865.

Diez, V., García, P. y Fdz-Polanco, F. (1995). Effects of biofilm growth, gas and liquid velocities on the expansion of an anaerobic fluidized bed reactor (AFBR). (Water Research) Vol. 29(7), pp. 1649-1654.

Duran, C. (2016). Puesta en marcha y operación de un reactor EGSB desnitrificante autótrofo, para la remoción de nitrógeno a partir de nitrito (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J., Méndez, R. (2008). Depuración conjunta de aguas ricas en nitratos y efluentes con compuestos reducidos del azufre. Retema, 127, 38-51.

Fajardo, M. (2011). Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds. (Tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

Garrido, M. (2014). Obtención de biomasa en bacterias desnitrificantes autótrofas y formación de biopelícula sobre zeolita natural chilena como soporte. (Memoria pregrado). Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Giuras, A. (2015). Puesta en marcha de un reactor desnitrificante UASB híbrido para la eliminación simultánea de materia orgánica, nitrógeno y azufre. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Godoy, J. (2015). Puesta en marcha y operación de un reactor UASB híbrido desnitrificante autótrofo a partir de nitrato. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Guerrero, L., Vasquez, M., Barahona, A., Montalvo, S. y Borja, R. (2012). Denitrification via Nitrite in a Modified UASB reactor using Chilean zeolite as Microbial Support. *International Journal of Environmental Research*. Issue 7, pp. 17-26.

Guerrero, L., Huiliñir, C., Montalvo, S., Barahona, A. (2018). Tratamiento Anaerobio de Residuos: Fundamentos y Avances en la Producción de Biogás. Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Hidalgo, M. y García, P. (2002). Reactores biológicos de lecho fluidizado. *Ingeniería Química*, pp. 122-133.

Jaafari, J., Mesdaghinia, A., Nabizadeh, R., Hoseini, M., Kamani, H. y Mahvi, A. (2014). Influence of upflow velocity on performance and biofilm characteristics of Anaerobic Fluidized Bed Reactor (AFBR) in treating high-strength wastewater. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, Vol. 12p. 139.

Li, J., & Tabassum, S. (2022). Simultaneous removal of ammonia nitrogen and sulfide by coupled anammox and sulfur autotrophic denitrification process from industrial wastewater. *Cleaner Engineering and Technology*, 8, 100469.

Li, W., Zhen, Y., Li, N., Wang, H., Lin, M., Sui, X., y Lin, J. (2022). Sulfur transformation and bacterial community dynamics in both desulfurization-denitrification biofilm and suspended activated sludge. *Bioresource Technology*, Vol. 343, 126108.

Lim, S. (2011). Comparisons Between the UASB and the EGSB Reactor. 7. USA.

Mahmood, Q., Zheng, P., Cai, J., Wu, D., Hu, B. y Li, J. (2007). Anoxic sulfide biooxidation using nitrite as electron acceptor. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 147, pp. 249–256.

Méndez Pampín, R. (2007). Significance of microbial biofilms in food industry. *Producción limpia en la industria de curtiembre*. Santiago de Compostela, España.

Moraga, S. (2016). Puesta en marcha de un reactor anaerobio de lecho fijo con flujo ascendente para remover azufre, nitrato y materia orgánica a través de la desnitrificación simultánea. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Mosquera-Corral, A., González, F., Campos, J. y Méndez, R. (2005). Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds. *Process Biochemistry*, Vol. 40, pp. 3109–3118.

- Muñoz, C. (2015). Operación de un reactor anaerobio de lecho fijo desnitrificante autótrofo para la remoción simultánea de azufre y nitrógeno a partir de nitrato. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.
- Nia, A. E., Khaledi, K., Predicala, B., & Nemati, M. (2023). Solid-phase denitrification and denitritation of swine manure-contaminated waters: Bioreactor performance and microbial community profiles. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Vol. 11, no 1, p. 109209.
- 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 Technology*, pp. 59-68.
- Ostermeyer, P., Van Landuyt, J., Bonin, L., Folens, K., Williamson, A., Hennebel, T., & Rabaey, K. (2022). High rate production of concentrated sulfides from metal bearing wastewater in an expanded bed hydrogenotrophic sulfate reducing bioreactor. *Environmental Science and Ecotechnology*, Vol. 11, p. 100173.
- Pavez, M. (2015). Puesta en marcha y operación de un reactor UASB para desnitrificación autótrofa a partir de nitrito. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.
- Peirano, C. (2016). Eliminación biológica de azufre, nitrógeno y carbono mediante desnitrificación autótrofa/heterótrofa simultánea. (Memoria postgrado). Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.
- Ramírez, I. (2012). ADM1 applications for a hybrid up-flow anaerobic sludge-filter bed reactor performance and for a batch thermophilic anaerobic digestion of thermally pretreated waste activated sludge. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, Vol. 65, pp. 167-169.
- Reyes-Ávila, J., Razo-Flores, E. y Gómez, J. (2004). Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, pp. 3313-3321.
- Rodríguez, A. (2015). Diseño, puesta en marcha y operación de un reactor de lecho fluidizado para la desnitrificación autótrofa a partir de nitrito (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.
- Rodriguez-Cano, R., Ruiz-Valero, M. y Sales-Márquez, D. (2021). Comparative economic evaluation of different technologies for municipal wastewater treatment in small communities. *Journal of Environmental Management*, 291, 112606.
- Show, K.-Y., Lee, D.-J. y Pan, X. (2013). Simultaneous biological removal of nitrogen-sulfur-carbon: Recent advances and challenges. *Biotechnology Advances*, Vol. 31, pp. 409-420.
- Soto, G. (2016). Desnitrificación autótrofa a partir de nitrato en un reactor EGSB, usando tiosulfato como agente reductor. (Memoria pregrado) Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.
- Sun, Y. y Nemati, M. (2012). Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitritation for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters. *Bioresource Technology*, Vol. 114, pp. 207-216.

Tang, K., An, S. y Nemati, M. (2010). Evaluation of autotrophic and heterotrophic processes in biofilm reactors used for removal of sulphide, nitrate and COD. *Bioresource Technology*, Vol. 101, pp. 8109-8118.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA) (2021). *Drinking Water Standards and Regulations*, USA.

Uyanik, I., Demirel, S., Çelikten, H. (2013). Complete removal of nitrate and nitrite by autotrophic denitrification in sulfur-limestone packed column reactor. Turkey.

Anexos

A. Nitrato: Espectrofotometría UV-VIS (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016)

El nitrato presente tanto en la alimentación como en el efluente fue determinado mediante el espectrofotómetro presente en el laboratorio, mediante el cual se mide su absorbancia con luz ultravioleta. La longitud de onda utilizada para determinar el nitrato en aguas que presentan baja carga orgánica es de 220 nm, ya que la materia orgánica no absorbe a esa magnitud, luego ese valor es corregido por otra medición a 275 nm, dado que a esa longitud absorbe solo la materia orgánica y no el nitrato. En este caso se realizó una pequeña modificación de acuerdo a lo descrito por la metodología estándar, registrándose a 205 nm en vez de a 220 nm, para evitar las interferencias del tiosulfato.

A 50 ml de muestra se le agrega 1 mL de ácido clorhídrico 1 N para eliminar posibles interferencias, se mezcla y se mide en celdas de cuarzo frente a un blanco, el cual es preparado solo con agua destilada y HCl. La curva de calibración verifica la ley de *Lambert-Beer* hasta 1 mg N/L. Por lo tanto, para que las muestras se encuentren dentro de la curva fue necesario considerar diluciones, correspondientes a 0,1:50 para la alimentación y 1:50 para el efluente.

Equipos y materiales:

- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos:

- Agua destilada o desionizada (exenta de nitrato).
- Ácido Clorhídrico (HCl) 1 N.
- Solución patrón NO₃⁻ (1000 mg/L) o Nitrato de Potasio (KNO₃)

Curva de calibración:

Para realizar la curva de calibración del espectrofotómetro para el nitrato es necesario preparar una solución stock de nitratos. Se pipetea 1 mL de la solución patrón de NO₃⁻ y se afora a 100 mL, si no se cuenta con solución patrón se debe secar nitrato de potasio (KNO₃) en el horno a 105°C durante 24 horas, luego se disuelven 0,7218 g en agua y se diluye a 1 L (concentración = 10 mg/L).

A continuación, se toman 100 mL de la solución anterior y se diluyen a 1 L de agua destilada para obtener la solución intermedia de nitratos. Finalmente, mediante volúmenes conocidos de esta solución se preparan los estándares de calibrado en un rango de 0 a 7 mg N-NO₃⁻/L y se miden en el espectrofotómetro frente a un blanco al igual que las muestras (1 mL=100 microgramos N-NO₃⁻).

Se recomienda el análisis de inmediato de las muestras, de lo contrario congelar no más de 4 días.

B. Nitrito: Espectrofotometría UV-VIS (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016)

El nitrito presente en la descarga fue determinado mediante el espectrofotómetro presente en el laboratorio, mediante el cual se mide su absorbancia. Se fundamenta en base a la formación de un colorante azo purpura rojizo, el cual se produce en un pH ácido por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con N-(1-Naftil)- etilendiamina dihidriclorada (diclorhidrato de NED).

El rango de aplicación de este método va desde los 10 a 1000 µg/L y la longitud adecuada para su determinación es a 543 nm.

A 50 mL de muestra se le agregan 2 mL de reactivo de color (reactivo de NED), se mezcla y se deja actuar por 10 minutos. Luego se mide en celdas de 1 cm de paso óptico frente a un blanco, el cual es preparado reemplazando la muestra por agua destilada. El sistema de color obedece la ley de *Lambert-Beer* hasta 180 µg/L. Por lo tanto, para que las muestras se encuentren dentro de la curva es necesario considerar diluciones, en este caso 3:25.

Equipos y materiales:

- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos:

- Agua destilada o desionizada (exenta de nitrito).
- Ácido fosfórico (H₃PO₄)
- Sulfanilamida
- Permanganato de potasio (KMnO₄)
- N-(1-Naftil)- etilendiamina dihidriclorada
- Solución patrón NO₂⁻

Preparación del reactivo:

Para la preparación del reactivo de color se disuelven 100 mL de ácido fosfórico al 85% en 800 mL de agua destilada y se agregan 10 gramos de sulfanilamida, una vez disuelto completamente se agrega 1 g de N-(1-Naftil)-etilendiamina dihidriclorada y se afora a 1 litro.

Curva de calibración:

Para realizar la curva de calibración del espectrofotómetro para el nitrito es necesario preparar una solución stock de nitrito, para la cual se pipetea 0,1 mL de la solución patrón de NO₂⁻ (1000 mg/L) y se afora a 500 mL, con lo que se obtiene una solución con concentración de 200 µg/L (preparar en el momento). En caso de no contar con solución patrón, se disuelven 1,232 g de NaNO₂ (1 mL=250 µg), previamente secado a 105°C por una hora, al menos y después 20 minutos en desecador y ser retrovalorado con permanganato de potasio. Aforar a 1000 mL.

Se recomienda analizar dentro de un plazo máximo de 48 horas para prevenir la conversión bacteriana de nitrito a nitrato, refrigerada a 4°C, de lo contrario congelar no más allá de 1-2 días.

C. DQO: Espectrofotometría UV-VIS/Volumetría por reflujo cerrado (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016)

La demanda química de oxígeno (DQO) se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con la muestra bajo condiciones controladas, esta cantidad se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno.

El procedimiento consiste en agregar en un tubo de DQO 1,5 mL de solución digestora y posteriormente 3,5 mL de solución catalítica, la cual debe ser agregada cuidadosamente por las paredes del tubo para evitar su mezcla y lograr observar la separación de fases. Luego se agregan 2,5 mL de muestra, en este caso se utilizó una dilución de 2:50 tanto para la alimentación como para la descarga, ya que para valores de DQO sobre 900 ppm es necesario la dilución de la muestra. Además, se realizan blancos para compararlos con los tubos digeridos, a los cuales en vez de muestra se les agrega 2,5 mL de agua destilada. Se sellan los tubos con teflón, se cierran herméticamente con las tapas, se agitan y se colocan en un digestor previamente calentado a 150°C por 2 horas, transcurrido ese tiempo se dejan enfriar a temperatura ambiente. Para la DQO soluble es el mismo procedimiento, pero se debe filtrar la muestra previamente.

Por sus propiedades químicas, el oxidante utilizado es dicromato. Cuando una muestra es digerida, el ion dicromato oxida la materia orgánica presente en la muestra, esto resulta en un cambio del cromo en estado hexavalente (Cr^{+6}) a un estado trivalente (Cr^{+3}).

Para la conservación y almacenamiento de las muestras si aún no se ha realizado la digestión se recomienda refrigerar la muestra previa acidificación con unas gotas de ácido sulfúrico concentrado (duración máxima de 5 días entre 2 a 5°C), de lo contrario congelar sin acidificar. Para el caso en que se haya realizado la digestión se puede mantener refrigerada hasta un máximo de 4 semanas.

Solución digestora:

Se disuelven en 500 mL de agua destilada: 10,216 g de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) previamente secado por 2 horas a 105°C, 167 mL de ácido sulfúrico concentrado y 33,3 g de sulfato de mercurio (HgSO_4). Dejar enfriar y aforar.

Solución catalítica:

Se disuelven en 1 L de ácido sulfúrico 10,7 g de sulfato de plata (AgSO_4), agitar por 48 horas.

C.1. Espectrofotometría UV-VIS (Rivera y Barahona, 2016)

Equipos y materiales:

- Tubos digestores.
- Digestor (150°C)
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Celdas plásticas de 1 cm de paso óptico.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos:

- Agua destilada o desionizada (exenta de nitrito).
- Solución catalítica.
- Solución digestora.

Se prepara una solución patrón de DQO, para lo cual se disuelven 0,1 g de Ftalato ácido de potasio ligeramente aplastado y secado a 105°C hasta peso constante. Esta solución tiene una concentración de 1176 mg DQO aproximadamente, con lo que se calculan los volúmenes de solución patrón y se realiza la preparación de los tubos y digestión como se mencionó anteriormente.

Luego se realiza la medición espectrofotométrica a 605 nm, traspasando cuidadosamente el contenido de los tubos a las celdas y contrastando con el blanco correspondiente. Muestras y estándares se tratan de la misma manera. Medir a temperatura ambiente.

C.2. DQO: Volumetría por reflujo cerrado (APHA, 2012)

Equipos y materiales:

- Tubos digestores.
- Digestor (150°C)
- Bureta graduada 50 mL.
- Matraces Erlenmeyer de 50 mL.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos:

- Agua destilada o desionizada (exenta de nitrito).
- Solución catalítica.
- Solución digestora.
- Ferroína (indicador).
- Sulfato de hierro II y amonio (FAS)

Preparación de reactivos:

Para la solución de sulfato ferroso amoniacal (FAS) 0,0250 N se disuelven 9,8 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 500 mL de agua destilada, añadir cuidadosamente 20 mL de H_2SO_4 concentrado. Dejar enfriar y aforar a 1 L. Esta solución debe ser valorada con solución patrón de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

Luego para la solución de ferroína (indicador) se disuelven 1,486 g de sulfato de hierro heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en 50 mL de agua destilada. Aforar a 100 mL.

Para medir se traspasa el contenido de los tubos a temperatura ambiente cuantitativamente a matraces Erlenmeyer de 50 mL enjuagando los tubos con pequeñas porciones de agua destilada. Se agrega al matraz una gota de indicador ferroína y se valora con FAS 0,0250 N hasta el viraje del indicador a rojo. Realizar el mismo procedimiento para los blancos.

Valoración FAS:

Se pipetea 10 mL de la solución patrón de dicromato 0,0250 N, se agregan 3 mL de H₂SO₄, una gota del indicador y se titula de la misma manera que los anteriores. Anotar el gasto y calcular según lo siguiente:

$$N_{FAS} = \frac{10 \cdot N_{\text{patrón dicromato}}}{V_{FAS}}$$

Finalmente,

$$DQO \frac{mg}{L} = \frac{(V_{\text{blanco}} - V_{\text{muestra}}) \cdot 8000 \cdot N_{FAS} \cdot FD}{2,5}$$

D. Tiosulfato: Titulación Yodométrica (Harris, 2007; Rivera y Barahona, 2016)

La determinación del tiosulfato presente tanto en la alimentación como en la descarga se realizó por yodometría (valoración oxido-reducción). Este corresponde a un método volumétrico indirecto en que se determina los oxidantes al hacerlos reaccionar con un exceso de iones de yoduro, con lo cual se cuantifica el yodo liberado con un reductor estándar, como lo es el tiosulfato de sodio.

La muestra previamente filtrada en el caso de la descarga, se coloca en un matraz Erlenmeyer y se titula con una solución de yodo 0,1 N hasta percibir un cambio de incoloro a amarillo. Posteriormente se agregan 3 gotas de la solución de almidón y se valora con tiosulfato de sodio 0,1 N hasta que varíe a incoloro nuevamente. Lo último para eliminar el exceso de yodo.

Equipos y materiales:

- Buretas de 30 mL para yodo y tiosulfato.
- Matraces Erlenmeyer de 50 mL.
- Material de uso común en laboratorio.

Reactivos:

- Agua destilada o desionizada.
- Tiosulfato de Sodio pentahidratado 0,1 N (Na₂S₂O₃·5H₂O).
- Cloroformo (CHCl₃).
- Yoduro de Potasio 10% (KI).
- Yodato de Potasio 0,1 N (KIO₃).
- Solución yodo 0,1 N.

- Solución almidón al 1%.

Solución tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃·5H₂O):

Se pesa en la balanza 25 g de Na₂S₂O₃·5H₂O y se transfieren a una botella ámbar de 1 L mediante embudo utilizando agua recién hervida y enfriada. Se agregan 10 gotas de cloroformo y se lleva a volumen, se homogeniza y se deja reposar un par de días para su posterior estandarización.

Solución yodo 0,1 N:

Se pesan 20 g de yoduro libre de yodato en 30-40 mL de agua destilada en matraz aforado de 1 L con tapa esmerilada. Luego se pesan en la balanza 12,7 g de yodo resublimado sobre vidrio reloj y se traspasa cuantitativamente al matraz de aforo. Se tapa y se deja en agitación hasta que el yodo se haya disuelto, se deja en reposo por 20 minutos y se lleva a aforo. Conservar en lugar frío y oscuro.

Solución almidón:

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

Para efectos de cálculo, conociendo el volumen de iodo agregado a la muestra se tienen los moles totales de iodo y al saber el iodo consumido por la solución de tiosulfatos como patrón primario se calculan los milimoles totales consumidos por la solución estándar. Al restar ambas cantidades se obtienen los milimoles consumidos por la muestra, de acuerdo con la siguiente relación:

$$1 \text{ ml } I_2 = 0,15181 \text{ g } Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$$

$$S_2O_3^{-2} \frac{mg}{L} = \left(\left(\frac{V_{I_2}}{1000} \cdot M_{I_2} \right) - \left(\frac{V_{S_2O_3^{-2}}}{1000} \cdot \frac{M_{S_2O_3^{-2}}}{2} \right) \right) \cdot \frac{PM_{S_2O_3^{-2}}}{V_M} \cdot 2 \cdot 10^6$$

Donde, V corresponde a volumen en mL, M a molaridad mol/L (que en este caso corresponde a la mitad de la normalidad) y PM a peso molecular de los compuestos respectivos, además VM es el volumen de la muestra.

Se recomienda que su almacenamiento refrigerado (4°C) no debe extenderse por más de 2 días, de lo contrario congelar por no más de 1 semana.

E. Sulfato: Espectrofotometría UV-VIS (APHA, 2012; Rivera y Barahona, 2016)

El sulfato presente en las muestras fue determinado mediante el espectrofotómetro presente en el laboratorio, mediante el cual se mide su absorbancia. El ion sulfato precipita en medio ácido con cloruro de bario formando cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme, cantidad que es proporcional a la concentración de sulfatos presentes en la muestra.

El rango de aplicación de este método es hasta 40 mg/L y la longitud adecuada para su determinación es a 420 nm, en caso de presentar una concentración mayor es necesario diluir. En este caso se realizaron diluciones de 1:50 tanto para la alimentación como para el efluente.

Los 50 mL de muestra ya diluida se transfieren a vasos precipitados de 100 mL, se adicionan 2,5 mL de solución acondicionadora y se agitan mediante varilla de vidrio. Luego se adiciona una punta de espátula de cristales de cloruro de bario y se agita nuevamente hasta la completa disolución de los cristales. Una vez disueltos se miden en el espectrofotómetro frente a un blanco, teniendo en cuenta que una medida crítica de este método es que debe ser leído antes de 5 minutos. La solución acondicionadora de sulfato proporciona un método de suspensión para los iones sulfatos al ser leídos en el espectrofotómetro, de no usarla precipitaría todo el analito al momento de la adición del cloruro de bario.

Equipos y Materiales:

- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Celdas plásticas de paso óptico 1 cm.
- Material común de vidrio de uso en laboratorio.

Reactivos y soluciones:

- Solución trazable de sulfatos
- Cloruro de bario di hidratado
- Solución acondicionadora para sulfato

Solución acondicionadora:

La preparación debe ser en orden, agregando: 300 mL de agua destilada, 30 mL de HCl concentrado, 100 mL de alcohol isopropílico y 75 g de NaCl. Finalmente agregar 50 mL de glicerol medidos en probeta, mezclar todo y llevar a volumen final 500 mL con agua destilada.

Curva de calibración:

Para realizar la curva de calibración del espectrofotómetro para el sulfato se utilizó el método de adiciones estándar, en el cual se agregan volúmenes crecientes de solución trazable de sulfatos mediante bureta a matraces aforados de 100 mL para obtener al menos seis calibraciones entre los 0 y 40 mg/L.

No es necesario realizar una curva de calibración cada vez que se mide, basta con comprobar la validez de la existente. Para esto se prepara un patrón de 20 mg/L de la solución trazable de sulfatos y se lee como muestra normal, si el resultado presenta una desviación menor o igual al 10% se considera que la curva es válida.

Dado que ciertas bacterias pueden reducir el sulfato a sulfuro, especialmente en muestras contaminadas, se recomienda almacenar refrigerado a 6°C por un periodo máximo de 28 días.

F. pH: Potenciometría (APHA, 2012)

Equipos y Materiales:

- pH Thermo Scientific Orion 370® LogR Meter
- Material común de vidrio de uso en laboratorio.

Reactivos y soluciones:

- Soluciones calibración buffer pH 4, 7 y 10.
- Agua destilada o desionizada.

Primero debe realizarse la calibración del pH-metro para los valores de los buffers, para lo cual se destapa el electrodo, se enjuaga, se seca y se introduce en la solución de calibración de interés. Repetir el mismo procedimiento con el siguiente buffer. Una vez listo sumergir el electrodo en la muestra de interés y esperar a que se estabilice la medición.

G. Medición ADA

Esta metodología se basa en la aplicada por Garrido (2014). Las etapas se describen a continuación:

- Calibrado transductor de presión:

Materiales:

- Manómetro de vidrio en U, de 80 cm
- Mercurio

- Mangueras
- Agujas 25Gx1/1" (0,45x13 mm)
- Jeringa de 5 mL
- Vial de 60 mL sellado con septum
- Transductor de presión

Procedimiento:

Con la jeringa se pincha el septum del vial previamente sellado y se inyecta un volumen de 4 mL para generar la sobrepresión. Una vez que el aire ha entrado se inserta el transductor de presión en la botella y se registra el valor indicado en el monitor del equipo. Se repite el procedimiento de inyección de aire hasta alcanzar el máximo valor posible del transductor de presión (sobre los 100 mV).

Por otra parte, se conecta a uno de los extremos del manómetro en U una manguera con una aguja acoplada en el extremo. Con la jeringa se inyectan volúmenes consecutivos de 4 mL al interior de la botella generando la sobrepresión, que es medida pinchando el septum con la aguja que se encuentra en la manguera cada vez que el volumen es adicionado. La medición se realiza en la columna graduada con papel milimetrado del manómetro en U y está dada por la diferencia en los niveles de mercurio contenido en las columnas. Se continúa inyectando aire hasta completar el volumen máximo inyectado cuando la presión fue medida con el transductor.

Finalmente con los datos de presión obtenidos en el transductor en mV y los datos obtenidos en el manómetro en mmHg, para iguales variaciones en el volumen de aire se realiza la curva de calibración.

- Actividad desnitrificante:

Materiales:

- Vial de vidrio de 65 mL.
- Septas y sellos de aluminio
- Agujas 25Gx1/2" (0,45x13 mm)
- Jeringa ultrafina de 1 [mL] con aguja 30Gx5/6" (0,3x8 mm)
- Barra magnética de agitación
- Placa de agitación
- Gas helio
- Medidor de pH
- Pipetas

Soluciones:

- Fuente de nitrógeno: En el vial se requiere una concentración de 0,1 g N/L en el que la fuente es NaNO_3 .
- Fuente de azufre: En este caso el compuesto donador de electrones es el tiosulfato y en el vial la concentración debe ser 0,3 g S/L de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.
- Solución tampón: El tampón fosfato se prepara con 0,143 g/L de KH_2PO_4 y 0,747 g/L de K_2HPO_4 .

Las masas y volúmenes utilizados en la solución de alimentación preparada fueron los mostrados en la Tabla G. 1.

Tabla G 1 Soluciones de alimentación

Parámetro	Fuente de nitrógeno	Fuente de azufre	Unidad
Concentración vial	100	300	g/L
Volumen solución	10	10	mL
Masa reactivo	0,2609	0,4992	g

Procedimiento:

Una vez que las soluciones están listas, se debe preparar el inóculo. Para esto es necesario lavar el lodo descargado del reactor de enriquecimiento 3 veces con la solución tampón con la que el pH llegará a un valor cercano a 7,5.

La concentración del inóculo debe ser alrededor de 1 g SSV/L, por lo que debe calcularse el volumen de lodo y de solución fosfato adecuado a inyectar en el vial. El volumen de fase líquida es de 43 mL mientras que el volumen disponible para gas es de 20,8 mL.

Se utiliza agitación a 150 rpm introduciendo una barra magnética al vial, además la temperatura se fija alrededor de los 30°C, ambas condiciones se mantienen durante todo el ensayo.

Una vez cerrado el vial con la septa y el sello de aluminio, se procede a remover el O_2 presente en las fases por medio de un lavado con gas He; el cilindro contenedor del gas es conectado a un manguera a la que previamente se le ha acoplado una aguja al extremo opuesto. En la septa se introduce la aguja por la que entra el helio al vial así como otra aguja que evita la sobrepresión y permite la salida del O_2 . El gas se hizo circular por un tiempo aproximado de 5 minutos o hasta que la fase líquida deje de burbujear, lo que garantiza las condiciones anóxicas necesarias para el experimento.

Luego se coloca el vial sobre la placa de agitación durante 30 minutos para proporcionar la agitación y la temperatura, completando la fase de aclimatación. Posteriormente, y manteniendo las condiciones antes mencionadas se inyecta en el vial con jeringas ultrafinas, primero la fuente donadora de electrones $\text{NaS}_2\text{O}_3^{2-}$, que se encuentra levemente en exceso y posteriormente el NaNO_3 . Inmediatamente después se introduce el transductor de presión para evaluar la producción de gas N_2 en el tiempo.

La lectura se realiza en intervalos de 2,5 minutos finalizando cuando se alcanzan niveles estables en la presión, alrededor de los 100 minutos.

Cálculo:

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

Donde:

$\frac{dN_2}{dt}$: Razón de moles de N_2 producida por unidad de tiempo, mol N/d.

α : pendiente máxima obtenida de la curva del incremento de la presión por unidad de tiempo, atm/min.

V_g : volumen de la fase gaseosa en el vial, L.

R: constante de los gases ideales, atm L/mol/K.

T: temperatura, K.

Luego se calcula la ADA máxima, con la siguiente ecuación:

$$ADA \frac{g \text{ N} - N_2}{g \text{ SSV} \cdot d} = \frac{dN_2/dt}{X \cdot V_L} \cdot \frac{28 g \text{ N}}{\text{mol } N_2} \cdot \frac{1440 \text{ min}}{d}$$

Donde:

X: concentración de biomasa inyectada en el vial, g SSV/L.

V_L : volumen ocupado por la fase líquida en el vial, L.

Calibrado transductor de presión

Es necesario la calibración del transductor de presión para el vial empleado con el objetivo de que la presión en mm Hg ejercida por un volumen conocido de aire se relacione con el valor en mV

que se visualiza en el transductor. Los resultados de esta calibración se presentan en la Tabla G. 2. y la ecuación generada a partir de regresión lineal para la traducción de los valores leídos por el ensayo realizado se puede observar en la Figura G.1.

Tabla G 2 Resultados calibración del transductor de presión

mV	mm Hg
17,1	1,2
31,4	2,15
43,1	3
59,2	3,8
75	4,6
90,13	5,5
105,8	6,2
121,1	7

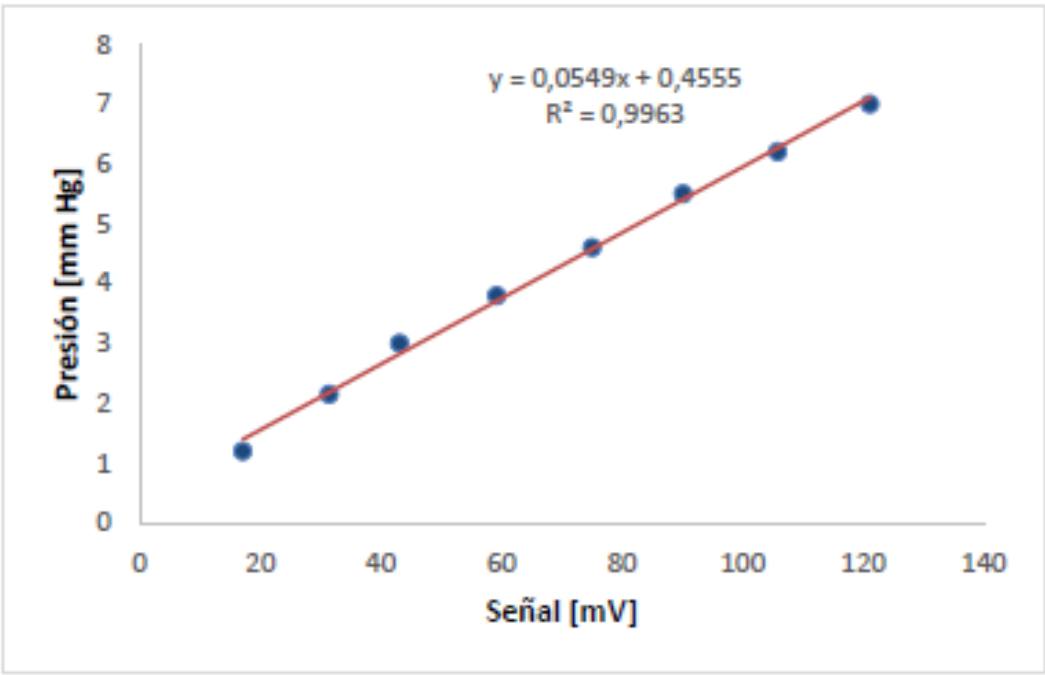


Figura G 1 Curva de calibración para transductor de presión