

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



PUESTA EN MARCHA DE UN REACTOR SBBR
DE NITRIFICACIÓN-DESNITRIFICACIÓN
MIXOTRÓFICA CONJUNTA CON ZEOLITA
COMO SOPORTE MICROBIANO

JUAN PABLO EICKENRODT FOLLERT

MEMORIA DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO CIVIL AMBIENTAL

PROFESORA GUÍA: Dra. Lorna Guerrero S.

PROFESORA CO-REFERENTE: M. Cs. Andrea Barahona Ll.

Valparaíso, junio del 2025

CONSTANCIA DE VALIDACIÓN Y CONFIDENCIALIDAD DE MONOGRAFÍA A REPOSITORIO ACADÉMICO

1.- IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO ACADÉMICO

Tipo de monografía (marcar una opción): ☒ Memoria o trabajo de título; ☐ Tesis de Postgrado;

Título del trabajo: PUESTA EN MARCHA DE UN REACTOR SBBR DE NITRIFICACIÓN-DESNITRIFICACIÓN MIXOTRÓFICA CONJUNTA CON ZEOLITA COMO SOPORTE MICROBIANO

Nombre del candidato(a): Juan Pablo Eickenrodt

Carrera / Grado: Ingeniería Civil Ambiental

Campus: Casa Central Valparaíso ; **Departamento:** Ingeniería Química y Ambiental

2.- VALIDACIÓN DEL PROFESOR GUÍA/DIRECTOR DE TESIS

Yo, Lorna Guerrero Saldes, en mi calidad de profesor(a) guía/director(a) del trabajo académico mencionado anteriormente **DEJO CONSTANCIA** que:

- He revisado esta versión del documento y corresponde a la versión final aprobada del trabajo.
- El trabajo cumple con los requisitos académicos y de formato establecidos por la institución

3.- EVALUACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD POR PROPIEDAD INDUSTRIAL

☐ El trabajo **NO contiene información que amerite confidencialidad** y puede ser publicado de inmediato en repositorio con acceso abierto.

☒ El trabajo **CONTIENE** información con potenciales implicancias de propiedad industrial o intelectual y requiere un periodo de confidencialidad (embargo) por:

☒ 6 meses; ☐ 12 meses; ☐ 2 años; ☐ 3 años; ☐ 5 años; ☐ 10 años

Fundamentación de la necesidad de confidencialidad (obligatorio si se solicita embargo):

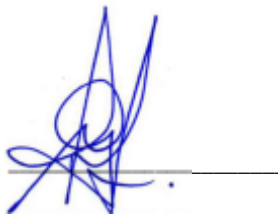
Datos no publicados

4.- FIRMAS

Profesor(a) guía o director(a) de memoria o tesis:

Fecha: 03/07/2025

; Firma:



Estudiante o Candidato(a):

Fecha: 29/06/2025

; Firma:



Este formulario debe ser insertado como página 2 de la memoria o tesis, completado y firmado por estudiante y profesor(a) antes de la entrega en portal PRISMA de Biblioteca USM.

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a mi familia por acompañarme y apoyarme durante toda esta etapa tan importante para mí. A mi mamá por haberme apoyado en altos y bajos. A mi papá, hermana, abuelos y tíos por haber estado siempre preocupados de mi bienestar físico y emocional durante este largo y acontecido camino que fue mi paso por la USM.

También, quiero agradecer a mi pareja, que sin importar la larga distancia que nos separó durante el año académico, me mostró su amor y apoyo incondicional durante los 5 años que llevamos juntos a la fecha.

A todos mis “Bundesbrüdern” que me acompañaron en este proceso, compartiendo anécdotas y carretes que endulzaron mi estadía por la “Ripuaria”. Agradezco también su confianza en mí para que pueda haber formado parte de esta familia donde conocí personas maravillosas y pude mantener el alemán.

Me llena de orgullo haber sido parte de este proyecto y por eso quiero agradecer a las profesoras Lorna y Andrea que me introdujeron a él. En especial, quiero agradecer a Paloma que pacientemente me enseñó durante el trabajo de laboratorio y me alivió la carga laboral durante el verano.

Por último, quiero agradecer a todos los profesores, funcionarios y compañeros del departamento que conocí estos años, los conocimientos que me dieron, muchas veces más allá del currículo, el apoyo que recibí y los recuerdos que me llevaré de las actividades.

Resumen

La presente investigación aborda el proceso de nitrificación - desnitrificación mixotrófica conjunta (SNDm) en un reactor secuencial por lotes de biopelícula (SBBR), utilizando zeolitas como soporte microbiano y un residuo industrial líquido (RIL) sintético con carga de materia orgánica y compuestos de nitrógeno y azufre.

La nitrificación es un proceso biológico esencial dentro del ciclo del nitrógeno, llevado a cabo principalmente por dos grupos de microorganismos autótrofos: las bacterias amonio oxidantes (BAO) y las bacterias nitrito oxidantes (BNO). Las primeras convierten el ion amonio (NH_4^+) en nitrito (NO_2^-), mientras que las últimas oxidan el nitrito a nitrato (NO_3^-) como producto final de la ruta convencional. Sin embargo, debido a la necesidad de oxigenación ($3,56 [\text{mgO}_2/\text{mgNH}_4^+]$), este proceso requiere un alto consumo energético. La nitrificación parcial (NP), que busca acumular nitrito, mediante la inhibición selectiva de actividad de las BNO, permite reducir dicho requerimiento energético. Esta inhibición se logra mediante la manipulación de factores ambientales como el pH, temperatura y la concentración de oxígeno disuelto (OD) de tal forma que se logre la caída de actividad sin comprometer la eficiencia del proceso.

La desnitrificación autótrofa (Da) y desnitrificación heterótrofa (Dh) son procesos biológicos anóxicos realizados por microorganismos quimioautótrofos y quimioheterótrofos respectivamente, que utilizan donantes de electrones, los primeros usan compuestos de azufre inorgánico y los segundos carbono orgánico, para reducir nitrato y nitrito a nitrógeno gaseoso (N_2). La desnitrificación mixotrófica (Dm) corresponde a la combinación de los procesos descritos anteriormente para generar una sinergia que supere las limitaciones de los procesos individuales. Este enfoque presenta ventajas significativas, como la mayor eficiencia global del proceso, baja producción de lodos, una puesta en marcha más rápida y la fijación del dióxido de carbono (CO_2), realizada por los microorganismos heterótrofos, que producen los autótrofos. La reacción ocurre en una fase homogénea líquido-líquido, cuyo rendimiento puede alcanzar la remoción de hasta el 97% de N y evitar la acumulación de intermediarios que puedan intervenir en el sistema si es que se mantienen proporciones S/N y C/N.

Los reactores secuenciales *batch*, SBR por su sigla en inglés, son sistemas biológicos que utilizan lodos activados, un sistema de llenado y extracción con aireación intermitente, donde todas las reacciones metabólicas y la decantación del lodo ocurren en un mismo estanque unitario operado en etapas mediante una secuencia controlada. Este reactor es tradicionalmente es utilizado para los procesos que combinan etapas aeróbicas y anaeróbicas para la eliminación biológica de contaminantes. Por otro lado, un reactor SBBR es un sistema híbrido, operado de forma similar a un SBR, que combina los lodos activados suspendidos con el uso de soportes o bioportadores en el que se dan simultáneamente condiciones aerobias y anaerobias; además, los bioportadores retienen los sólidos suspendidos eliminando la necesidad de instalar tanques de sedimentación y aportan mayor

estabilidad al sistema. El uso de bioportadores aumenta la superficie de reacción por efecto de la biopelícula formada por los microorganismos adheridos a ellos, lo que reduce el TRH para lograr el mismo objetivo.

El experimento se realizó en dos etapas principales. La primera etapa, denominada enriquecimiento microbiano, se operó un reactor SBR durante 32 días para promover el crecimiento de bacterias amonio-oxidantes (BAO) por sobre las nitrito-oxidantes (BNO) para favorecer la acumulación de nitrito como sustrato para la desnitrificación. Durante esta etapa se controlaron parámetros operativos críticos como el pH, oxígeno disuelto (OD) y sólidos suspendidos volátiles (SSV).

La segunda etapa corresponde a la puesta en marcha del sistema SBBR. Se instalaron dos reactores: uno con zeolitas (RZ) y otro sin soporte (RC), que actuó como control para estudiar el efecto del soporte en el proceso. Ambos fueron inoculados con 3780 [mgSSV/L] de lodo nitrificante y desnitrificante, alimentados con el mismo RIL sintético y operados bajo ciclos aeróbicos y anaeróbicos definidos. Se evaluó la eficiencia de remoción de amonio mediante el acoplamiento de procesos autotróficos (reducción de nitrito con sulfuro) y heterotróficos (reducción de nitrito con carbono orgánico), característicos de la desnitrificación mixotrófica.

Durante la primera etapa se logró el enriquecimiento de la población bacteriana, específicamente de las BAO: se elevó la concentración de biomasa desde 1680 [mgSSV/L] a 4380 [mgSSV/L], o un crecimiento del 260%. La oxidación del amonio alimentado alcanzó valores de 80% en los últimos ciclos, y se logró una acumulación de nitrito de hasta 1435,84 [mgNO₂⁻/L] y 548,8 [mgNO₃⁻/L] de nitrato, lo que confirmó el predominio de las BAO.

Los resultados experimentales de la segunda etapa demostraron que el sistema fue capaz de eliminar eficientemente el nitrógeno amoniacal del RIL: en ambos reactores se logró oxidar el 90% y 93% del amonio en los últimos 20 días y reducir el 99% y 97% del nitrito generado para RC y RZ, respectivamente. Además, se generó sulfato como subproducto de la oxidación del sulfuro: se oxidó en promedio el 99% en RZ y 97% en RC. Las condiciones de operación establecidas permitieron optimizar las rutas metabólicas deseadas. Asimismo, se verificó que el uso de zeolitas mejoró significativamente la estabilidad del sistema y el comportamiento de la biomasa, que mostró mejor desempeño global en comparación al grupo control.

Finalmente, se concluye que el sistema SBBR con soporte de zeolita constituye una alternativa viable para el tratamiento biológico de efluentes con alta carga de nitrógeno y sulfuro. En él se integraron procesos complejos en un solo reactor con eficiencia, simplicidad operacional y reducción de la generación de lodos. El uso combinado de fuentes de carbono y azufre fue una estrategia efectiva para potenciar la desnitrificación y minimizar la acumulación de intermediarios tóxicos.

Índice general

Agradecimientos.....	I
Resumen.....	III
Índice General	V
Índice de Figuras	VIII
Índice de Tablas	X
1. Introducción y objetivos.....	1
1.1. Introducción	1
1.2. Objetivo general	2
1.3. Objetivos específicos	2
2. Marco teórico.....	3
2.1. Contexto actual de los compuestos nitrogenados y sulfurados	3
2.1.1. Contaminación por nitrógeno y azufre	3
2.1.2. Ciclo del nitrógeno	4
2.1.1. Ciclo del azufre	7
2.1.2. Ciclo del carbono.....	9
2.2. Normativa ambiental	10
2.3. Tratamientos biológicos de efluentes con contaminantes de N y S.....	14
2.3.1. Nitrificación parcial (Np)	14
2.3.2. Desnitrificación autótrofa (Da).....	18
2.3.3. Desnitrificación heterótrofa (Dh).....	19
2.3.4. Desnitrificación mixotrófica (Dm)	20
2.3.5. Nitrificación – Desnitrificación conjunta (SND)	23
2.4. Biopelícula	25
2.5. Zeolitas.....	27
2.6. Tecnologías utilizadas para la eliminación de los contaminantes	28
2.6.1. Reactor secuencial por lote (SBR).....	28

2.6.2. Reactor secuencial por lote de biopelícula (SBBR)	30
3. Metodología	32
3.1. Etapa de enriquecimiento	32
3.1.1. Sustrato.....	32
3.1.2. Configuración del reactor	33
3.1.3. Inóculo a enriquecer	33
3.1.4. Estrategia de operación.....	34
3.1.5. Variables de medición y control.....	34
3.2. Etapa de puesta en marcha	35
3.2.1. Sustrato.....	35
3.2.2. Configuración de los reactores	37
3.2.3. Inóculo	37
3.2.4. Zeolitas.....	38
3.2.5. Estrategia de operación.....	39
3.2.6. Variables de medición y control.....	40
4. Resultados y Discusión	42
4.1. Etapa de enriquecimiento	42
4.1.1. Actividad nitrificante	42
4.1.2. pH y oxígeno disuelto.....	43
4.1.3. Crecimiento microbiano	45
4.2. Etapa de enriquecimiento	46
4.2.1. Actividad nitrificante	46
4.2.1. Actividad desnitrificante.....	50
4.2.2. pH y oxígeno disuelto.....	53
4.2.3. Crecimiento microbiano	55
4.2.4. Carbono orgánico	55
5. Conclusiones y Recomendaciones	58

5.1. Conclusiones	58
5.2. Recomendaciones.....	58
6. Bibliografía	58
Anexos	62
a. Procedimientos de análisis de parámetros operativos	62
a.1 Determinación de amonio por método fenol.....	62
a.2 Determinación de nitrito por método de colorimetría	63
a.3 Determinación de nitrato por método espectrofotométrico	63
a.4 Determinación de sulfuro por método electrodo selectivo	64
a.5 Determinación de sulfato por método espectrofotométrico.....	65
a.6. Determinación de sólidos suspendidos totales y volátiles.....	65
b. Cálculos.....	67
b.1 Balance de nitrógeno	67
b.2 Porcentaje de oxidación de amonio	67
b.3 Porcentaje de reducción de nitrito	67
b.4 Balance de azufre	67
b.5 Cálculo de solución Buffer	67

Índice de figuras

Figura 2-1: Ciclo del nitrógeno.	5
Figura 2-2: Ciclo del azufre.....	8
Figura 2-3: Ciclo del Carbono.....	9
Figura 2-4: Bacterias e iones asociadas a la nitrificación.	14
Figura 2-5: Tasa de crecimiento de las BAO y BNO según temperatura.	15
Figura 2-6: Gráfico de Anthonisen de inhibición de las BAO y BNO según pH y concentraciones de NH_4^+ y NO_2	17
Figura 2-7: Rutas de conversión de los compuestos sulfurados.....	18
Figura 2-8: Proceso de desnitrificación heterótrofa.	19
Figura 2-9: Acoplamiento de la desnitrificación autótrofa y desnitrificaciónheterótrofa.	21
Figura 2-10: Funcionamiento de la SND en flóculos, junto a los principales microorganismos y enzimas utilizados en el proceso.	25
Figura 2-11: Desarrollo de la biopelícula.	26
Figura 2-12: Zeolitas.	27
Figura 2-13: Esquema del SBR.....	29
Figura 2-14: Esquema del SBBR.	31
Figura 3-1: Reactor de enriquecimiento.	33
Figura 3-2: Reactor montado en la cámara aislada.	37
Figura 4-1: Concentración de especies nitrogenadas en el enriquecimiento.	42
Figura 4-2: Porcentajes de oxidación de amonio en el enriquecimiento.	43
Figura 4-3: Comportamiento del pH en el enriquecimiento.	44
Figura 4-4: Concentración de oxígeno disuelto en el enriquecimiento.	44
Figura 4-5: Concentración de sólidos durante el enriquecimiento.	45
Figura 4-6: Concentración de amonio en los reactores, etapa nitrificante.	47
Figura 4-7: Porcentajes de oxidación de amonio en la operación de los reactores, etapa nitrificante.	48
Figura 4-8: Concentración de nitrato en los reactores, etapa desnitrificante.	49
Figura 4-9: Concentración de nitrito en los reactores, etapa desnitrificante.	50
Figura 4-10: Porcentajes de reducción de nitrito en la operación de los reactores, etapa desnitrificante.	51
Figura 4-11: Concentración de Sulfuro en la desnitrificación de ambos reactores, etapa desnitrificante.	51

Figura 4-12: Concentración de Sulfuro en la desnitrificación de ambos reactores, etapa desnitrificante.	52
Figura 4-13: Comportamiento del pH en la operación de RZ.	54
Figura 4-14: Concentración de oxígeno disuelto durante la operación de RZ.	54
Figura 4-15: Concentración de sólidos durante la operación de RZ.	55
Figura 4-16: Valores de TOC para los reactores durante la etapa desnitrificante.	56
Figura 4-17: Porcentajes de consumo de carbono orgánico en la operación de los reactores, etapa desnitrificante.	57

Índice de tablas

Tabla 2-1: Compuestos de azufre inorgánicos relevantes biológicamente	7
Tabla 2-2: Límites establecidos por D.S. N.º 46/2002.	12
Tabla 2-3: Límites establecidos por D.S. N.º 90/2000.	12
Tabla 2-4; Límites establecidos por D.S. N.º 609/1998.	13
Tabla 2-5: Zonas de inhibición de BAO y BNO	16
Tabla 2-6: Capacidades de Absorción de Zeolitas Artificiales y Naturales.	28
Tabla 3-1: Composición del RIL sintético para el enriquecimiento nitrificante.	32
Tabla 3-2: Composición de los micronutrientes, etapa aerobia.	32
Tabla 3-3: Concentración inicial de sólidos para el enriquecimiento.	34
Tabla 3-4: Etapas de cada ciclo de enriquecimiento de los microorganismos nitrificantes.	34
Tabla 3-5: Procedimientos de Medición para el Enriquecimiento	35
Tabla 3-6: Composición del RIL sintético para la nitrificación parcial.	36
Tabla 3-7: Concentración de los sustratos fijos para el RIL desnitrificante.	36
Tabla 3-8: Composición de los micronutrientes para la desnitrificación	36
Tabla 3-9: Concentración inicial de sólidos para los reactores.	38
Tabla 3-10: Características de las Zeolitas	38
Tabla 3-11: Estrategia de operación primera etapa	39
Tabla 3-12: Estrategia de operación luego del día 40	40
Tabla 3-13: Procedimientos de Medición para la Operación de los Reactores	40
Tabla 4-1: Resumen actividad nitrificante en RZ etapa de puesta en marcha.	48
Tabla 4-2: Resumen actividad nitrificante en RC etapa de puesta en marcha.	49
Tabla 4-3: Resumen actividad desnitrificante en RZ etapa de puesta en marcha.	52
Tabla 4-4: Resumen actividad desnitrificante en RC etapa de puesta en marcha.	52

1. Introducción y objetivos

1.1. Introducción

El desarrollo industrial ha traído como consecuencia un deterioro significativo al medio ambiente mediante el desequilibrio de los ciclos biogeoquímicos naturales, como el del nitrógeno, azufre y carbono (Opoku y Aluko, 2021). Para el caso particular de los compuestos nitrogenados y sulfurados presentes en los residuos industriales líquidos (RILes) son responsables de graves impactos ambientales, como eutrofización, acidificación de cuerpos de agua, emisiones de gases de efecto invernadero y malos olores (Choudri *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020). La descarga sin tratamiento adecuado de efluentes hacia los cuerpos de agua, junto al uso de agroquímicos y otros compuestos nitrogenados, han contaminado tanto cuerpos de agua superficiales como subterráneos.

En Chile, una de las principales fuentes de agua potable proviene de los ríos que fluyen a través de él, de acuíferos subterráneos y en menor medida de plantas desalinizadoras que captan agua del Océano Pacífico (Asociación Nacional de Empresas de Servicios Sanitarios, 2024). Es por esto que es importante el tratamiento de RILes antes de que estos sean vertidos, ya que podrían afectar las fuentes de agua potable para la población. Esto se ve reflejado con lo mencionado por el Ministerio de Obras Públicas (MOP) y la Dirección General de Aguas (DGA), donde actualmente hay aproximadamente 58 comunas que se encuentran bajo régimen de escasez hídrica (Hermosilla, 2024).

En este contexto, los RILes, que frecuentemente contienen compuestos orgánicos, nitrogenados, fosforados y azufrados, requieren de tecnologías de tratamiento avanzadas que no solo cumplan las normativas ambientales cada vez más exigentes, sino que también sean eficientes y sostenibles operacionalmente (Acuña *et al.*, 2023). Normalmente, la eliminación de nitrógeno se ha abordado mediante la nitrificación completa y desnitrificación heterótrofa conjunta. Sin embargo, este enfoque presenta limitaciones, como elevado consumo energético por aireación, necesidad de fuentes de carbono externas y mayor generación de lodos (Liu *et al.*, 2020).

Ante esto, la combinación de la nitrificación parcial y desnitrificación mixotrófica conjunta (SNDm) se presenta como una alternativa innovadora y eficiente. La nitrificación parcial detiene la oxidación del amonio en nitrito, lo que reduce el requerimiento de oxígeno. Luego, la desnitrificación mixotrófica utiliza donantes de electrones orgánicos como inorgánicos, como el sulfuro, para remover de forma simultánea el nitrógeno y azufre en un solo reactor (Liu *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2023). Esta sinergia no solo mejora la eficiencia global del sistema, sino que también reduce la producción de lodos y la acumulación de intermediarios tóxicos (Zhang *et al.*, 2020).

Además, el uso de zeolitas como soporte en reactores secuenciales de biopelícula (SBBR) ha demostrado ser una estrategia efectiva para estabilizar el proceso biológico. Las zeolitas mejoran la retención de biomasa, promueven la formación de zonas con gradientes de oxígeno y favorecen el intercambio iónico, lo que favorece a la nitrificación parcial y a la desnitrificación en ambientes controlados (de Magalhães *et al.*, 2022).

La presente memoria forma parte del proyecto Fondecyt N.º 1241199, que estudia diferentes tecnologías para la eliminación simultánea de compuestos de nitrógeno y azufre en presencia y ausencia de materia orgánica. En este caso, se estudiará en la eliminación de nitrógeno mediante el fenómeno de nitrificación y desnitrificación mixotrófica conjunta a partir de un RIL sintético de baja concentración de materia orgánica y nitrógeno con adición de sulfuro en condiciones aerobias y anóxicas.

1.2. Objetivo general

Evaluar la nitrificación-desnitrificación mixotrófica conjunta en reactores de biopelícula secuencial batch (SBBR), utilizando zeolita como soporte microbiano y un RIL sintético con contenido de nitrógeno amoniacal, materia orgánica en baja carga y la adición de sulfuro.

1.3. Objetivos específicos

- Enriquecer un inóculo nitrificante tomando en cuenta las condiciones óptimas de operación para favorecer el crecimiento de las bacterias oxidantes de amonio (BAO).
- Definir los ciclos de operación óptimos en la fase aerobia y anóxica para la operación del proceso conjunto.
- Realizar la puesta en marcha del reactor SBBR para la nitrificación y desnitrificación mixotrófica de agua residual sintética utilizando zeolita como soporte microbiano.
- Lograr la estabilidad y posterior operación del reactor SBBR.
- Evaluar el comportamiento de los compuestos de azufre (sulfuro y sulfato) y prevenir su acumulación en el sistema.

2. Marco teórico

2.1. Contexto actual de los compuestos nitrogenados y sulfurados

La calidad del agua se ve comprometida por diversos contaminantes, destacando al nitrógeno y el azufre debido a su impacto en los ecosistemas acuáticos. Además, estos elementos alteran los equilibrios biogeoquímicos naturales, por ello comprender los ciclos del carbono, del nitrógeno y del azufre es fundamental para analizar su dinámica en el ambiente.

2.1.1. Contaminación por nitrógeno y azufre

La actividad humana, destacando el uso masivo de fertilizantes ricos en nitrógeno, el cultivo de leguminosas y el uso de combustibles fósiles, aumenta dramáticamente la biodisponibilidad de compuestos nitrogenados en ecosistemas terrestres y marinos. Estas actividades tienen consecuencias negativas en el ecosistema de forma local y global, destacando la eutrofización de los cuerpos acuáticos y la polución de regiones con óxidos nitrosos (NO_x), gases que forman parte del *smog* fotoquímico y los gases de efecto invernadero (GEI) (Zhang *et al.*, 2020).

El ácido sulfúrico es uno de los compuestos sulfurados más usado en la industria, siendo el precursor del ácido fosfórico, ácido utilizado para la elaboración de fertilizantes, también es un material común en la industria petroquímica para la obtención de pigmentos, detergentes y plásticos. La minería también ve necesario el uso de ácido sulfúrico para la extracción de cobre de su forma mineral, óxido o sulfato, luego esta solución ácida con el cobre es tratada con solventes que separarán el cobre del ácido y se usará electrólisis para obtener cobre puro (Blesa, 2020). Además, para el curtido de pieles se utiliza el ácido sulfúrico para el piquelado, proceso que prepara las pieles para que sean curtidas con sales de cromo (Zhang *et al.*, 2021). Otros compuestos de azufre también están presentes en la industria, por ejemplo, en la industria textil se utilizan tinturas que contienen azufre como componentes, los cuales al ser utilizados una parte de ellos no quedan impregnados en las telas, por esto ellas terminarán en las aguas residuales del lavado de estas telas (Mohtashim *et al.*, 2021).

El abuso de estas prácticas lleva a la contaminación de los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, esto puede causar variados efectos negativos hacia el ecosistema local, variando caso a caso por las condiciones ambientales, estos pueden ser:

- Eutrofización: la mayor disponibilidad de nutrientes en los cuerpos de agua lleva al sobrecrecimiento de plantas acuáticas, como las algas. Esta ruptura del equilibrio tiene como consecuencia la disminución del oxígeno disuelto en el agua y menor entrada de luz solar al

fondo acuático, esto provoca la muerte del resto de organismos, lo que produce malos olores y acumulación de materia orgánica en la superficie acuática (Tiwari y Pal, 2022).

- Disminución del oxígeno disuelto: como consecuencia de la eutrofización y la oxidación del nitrógeno orgánico, reacción que consume el oxígeno disuelto en los cuerpos afectados, el recurso se va agotando en los cuerpos de agua dificultando las condiciones de vida de los organismos que conviven en él (Valenzuela, 2023).
- Acidificación de los cuerpos acuáticos: la oxidación de amonio (Valenzuela, 2023) y de óxidos de azufre (Blesa, 2020) contribuyen a la acidificación de los cuerpos acuáticos gracias a la liberación de protones y otros iones ácidos hacia el medio. Esto afecta al pH del medio, debilitando la capacidad de intercambio entre el medio biótico y abiótico, comprometiendo al crecimiento de las plantas acuáticas y la diversidad de las especies.
- Lluvia ácida: El principal causante de este fenómeno es la contaminación atmosférica con dióxido de azufre, compuesto el cual reacciona en la superficie de las gotas de agua suspendidas en la atmósfera, en forma de nubes o niebla, por ejemplo, oxidándose a trióxido de azufre (SO_3) por acción del oxígeno gaseoso. El trióxido es altamente soluble en agua, por lo que este rápidamente reaccionará al ácido sulfúrico con las gotas de agua mencionadas. Al llover, se arrastra el ácido formado al suelo y cuerpos de agua cercanos, erosionando el primero y alterando las propiedades físicas y químicas de estos, trayendo consecuencias negativas al ecosistema y a las comunidades afectadas (Blesa, 2020).

2.1.2. Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno existe en la naturaleza de forma orgánica e inorgánica, es el cuarto elemento más abundante en la materia orgánica y es usado en varias biomoléculas esenciales para la vida, como las proteínas y ácidos nucleicos. La principal fuente de nitrógeno se encuentra en la atmósfera, la cual está compuesta de 79% de nitrógeno gaseoso (N_2), aunque este no es asimilable por la mayoría de los seres vivos. Para que esto ocurra, el nitrógeno deberá pasar por distintos estados de reducción hasta el amoníaco (NH_3), ser fijado a nitrógeno orgánico, aminas (R-NH_3) y amidas (R-CONH_2) u óxidos de nitrógeno (NO_2 , NO y N_2O) (Zhang *et al.*, 2020)

El ciclo del nitrógeno consiste en las transformaciones de los compuestos nitrogenados, catalizado por la actividad de los seres vivos, principalmente microorganismos y por factores abióticos, como la temperatura, pH, clima, características del suelo y luz solar. El principal agente de estos cambios

viene de parte de los microorganismos, los cuales realizan las transformaciones mostradas en la figura 2-1 como actividad metabólica.

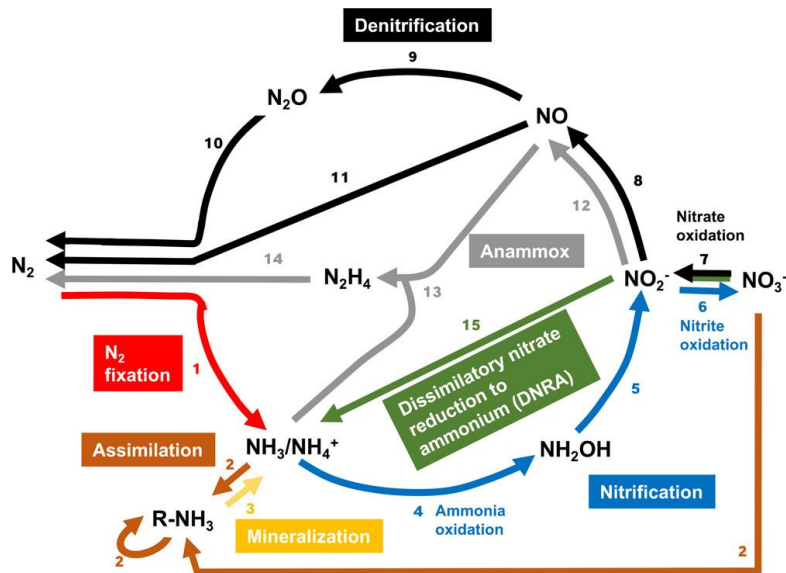


Figura 2-1: Ciclo del nitrógeno.
Fuente: (Zhang et al., 2020)

Los procesos transformativos del nitrógeno mostrados en la figura consisten en (Wang et al., 2021; Zhang et al., 2020):

- **Fijación del nitrógeno:**
Cianobacterias y bacterias del género *Rizobium* y *Azobacter* presentes en el suelo y agua son capaces de usar el nitrógeno gaseoso como fuente directa para la síntesis celular produciendo amonio y nitrato. Estos microorganismos son las principales fuentes de compuestos nitrogenados asimilables.
- **Asimilación:**
Este proceso se refiere a la producción celular de nitrógeno orgánico a partir de fuentes orgánicas e inorgánicas. La asimilación del amonio (NH_4^+) es común en las plantas, plancton, hongos y microbios. Estas reacciones se llevan a cabo principalmente para las actividades metabólicas de dichos organismos.
- **Mineralización:**
Este es el retorno del nitrógeno orgánico a su forma inorgánica, específicamente amoníaco, presente en la excreción de estos compuestos por parte de los seres vivos y en los residuos de

estos. Estos procesos son llevados por los organismos descomponedores y detritívoros, como bacterias, hongos y lombrices.

- **Nitrificación:**

Esta es la oxidación del amonio con la ayuda de oxígeno gaseoso (O_2) a nitrato (NO_3^-) por acción de microorganismos amonio oxidantes, bacterias del género *Nitrosomas* y arqueas del género *Nitrosopumilu*, y luego a nitrito (NO_2^-), realizada por bacterias de los géneros *Nitrobacter* y *Nitrospina*.

- **Desnitrificación:**

Es la reducción inorgánica del nitrito y nitrato, que serán los aceptores de electrones, hasta el nitrógeno gaseoso, cerrando así el ciclo. Esta reacción posee como intermediarios el óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N_2O). Estas reacciones son catalizadas por la liberación de enzimas de tipo reductasa por parte de las bacterias.

- **Anammox:**

La oxidación anaerobia de amonio corresponde a una ruta secundaria del ciclo del nitrógeno donde bacterias anammox, pertenecientes al filo *Planctomycetes* que oxidan amonio utilizando nitrito como aceptor de electrones. Estas bacterias son autótrofas, por lo que dependerán de la mineralización heterótrofa para que le provean los sustratos.

- **Reducción asimilatoria del nitrato a amonio:**

En este proceso, el nitrato se usa como aceptor de electrones para la respiración anaeróbica de la materia orgánica por los organismos quimioheterótrofos, reduciéndose a nitrito y luego a amonio, realizando un reciclaje del nitrógeno amoniacal (Zhao *et al.* 2022).

Por ello, es importante conocer las transformaciones que sufre el nitrógeno mediado por los microorganismos para poder aprovechar el funcionamiento de estos para el tratamiento de las aguas residuales ricas en contaminantes nitrogenados, cuyas consecuencias fueron analizadas anteriormente. El estudio de estas reacciones es necesario para cumplir las normativas de emisiones de contaminantes a cuerpos de agua para proteger al medio ambiente y a las comunidades que dependen de él.

2.1.1. Ciclo del azufre

Los compuestos azufrados son de gran importancia para los seres vivos, estando presentes principalmente en forma de aminoácidos, proteínas, lípidos y vitaminas. Estos elementos circulan de forma cíclica entre el medio biótico y abiótico. Las principales formas de azufre encontradas en la naturaleza se ven a través de sulfatos y sulfitos, en el suelo y agua, y dióxido de azufre en el aire (Dahl, 2020).

Por otra parte, los compuestos de azufre inorgánicos cumplen un rol biológico secundario. Estos representan la fuente de azufre para microorganismos que son capaces de asimilar este elemento incorporándolo a compuestos orgánicos, además estos compuestos actúan como donantes o aceptores de electrones dependiendo de su estado de oxidación en el transporte desasimilatorio de electrones y la conservación de la energía (Dahl, 2020). Estos compuestos se encuentran en la naturaleza con distintos estados de oxidación. En la tabla 2-1 se muestran dichos compuestos.

Tabla 2-1: Compuestos de azufre inorgánicos relevantes biológicamente

Compuesto	Fórmula química	Estado de oxidación
Sulfuro	S^{2-}	-2
Sulfuro de hidrógeno	HS^-	-2
Polisulfuro	$^-\text{S-Sn-S}^-$	-1 (0 En los sulfuros centrales)
Tiosulfato	$S_2O_3^{2-}$	-1
Politionatos	$^-\text{OS-Sn-SO}_3^-$	0 (+5 en sulfonas terminales)
Azufre elemental	S^0	0
Sulfito	SO_3^{2-}	+4
Sulfato	SO_4^{2-}	+6

Fuente: Adaptado y traducido de (Dahl, 2020)

El ciclo del azufre está compuesto por reacciones metabólicas asimilatorias y desasimilatorias realizadas por un amplio espectro de microorganismos capaz de transformar compuestos orgánicos e inorgánicos. En la figura 2-2 se representan las reacciones llevadas a cabo por la microbiota.

Según Wu *et al.* (2021), la asimilación metabólica del sulfuro es una parte anabólica esencial para los microorganismos, ya que al ser el azufre necesario para la formación de nutrientes importantes para los propios organismos que la producen y para los que los siguen en la cadena trófica. La microbiota, en su mayoría, convierte los compuestos ambientales, sulfatos y tiosulfatos, en sulfuro de hidrógeno a través de reacciones enzimáticas para incorporar estos compuestos a cadenas orgánicas para luego ser usadas en la producción de otras macromoléculas.

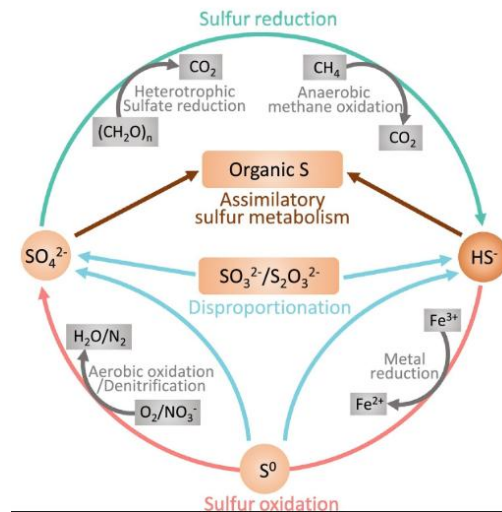


Figura 2-2: Ciclo del azufre
Fuente: (Wu et al., 2021)

El metabolismo desasimilatorio del azufre es uno de los primeros métodos de obtención de energía ocurridos en la tierra. En este proceso el estado de oxidación de los compuestos sulfurados cambia para la obtención de energía. Basándose en los cambios de valencia, las reacciones pueden agruparse en reducción, oxidación y desproporción del azufre.

La reducción del azufre ocurre en zonas anoxias, como en el agua fresca, estuarios, sedimento marino y cañerías de desagüe. En la naturaleza, estas reacciones ocurren en zonas con bajos potenciales redox, donde el oxígeno, nitratos y metales oxidados tienen baja concentración. Los microorganismos obtienen energía a través de reacciones de múltiples etapas con sulfato como donante de electrones, combinándose con reacciones oxidativas que actuarán como los dadores. Las bacterias *Proteus*, *Campylobacter*, *Pseudomonas* y *Salmonella* son las principales capaces de realizar estas reacciones.

Por otro lado, la oxidación del azufre son reacciones de conservación de energía donde estos compuestos perderán electrones con el fin de ser donantes para otras, como la desnitrificación. Estas reacciones son realizadas por organismos fotótrofos, como bacterias del género *Allochrochromatium* o *Chlorbium* que oxidan el sulfuro y sulfuro de hidrógeno a azufre elemental usando luz, nutrientes inorgánicos como metales y fuentes de carbono. Las *Roseobacter* o *Thiomicrospira* oxidan los sulfuros por vía quimiotrófica en condiciones anoxias para las primeras y aerobias para la segunda (Dahl, 2020). Finalmente, la desproporción del azufre es un símil a la fermentación, donde el sulfuro, tiosulfato y sulfito sirven como donantes y aceptores de electrones para generar sulfuro de hidrógeno y sulfato como productos finales.

Es notable que estas reacciones también forman parte de otros ciclos biogeoquímicos, destacando la desnitrificación autótrofa, la cual oxida el azufre para reducir el nitrato a nitrógeno gaseoso, actuando

el primero como dador de electrones y el último como aceptor de electrones, combinando el ciclo del nitrógeno con el del azufre, esta reacción será utilizada en este trabajo y será detallada posteriormente.

2.1.2. Ciclo del carbono

El carbono (C) es el pilar fundamental de la materia orgánica, tanto así que su presencia junto al hidrógeno y al oxígeno define si un compuesto es orgánico o no. Este elemento participa en la composición química de todos los seres vivos y en la naturaleza se encuentra también en la atmósfera, el agua y el suelo.

Nunes (2022), describe al ciclo del carbono como las interacciones que permiten la transferencia y transformaciones de los compuestos de carbono entre los seres vivos y el ambiente, esto se ve descrito en la figura 2-3.

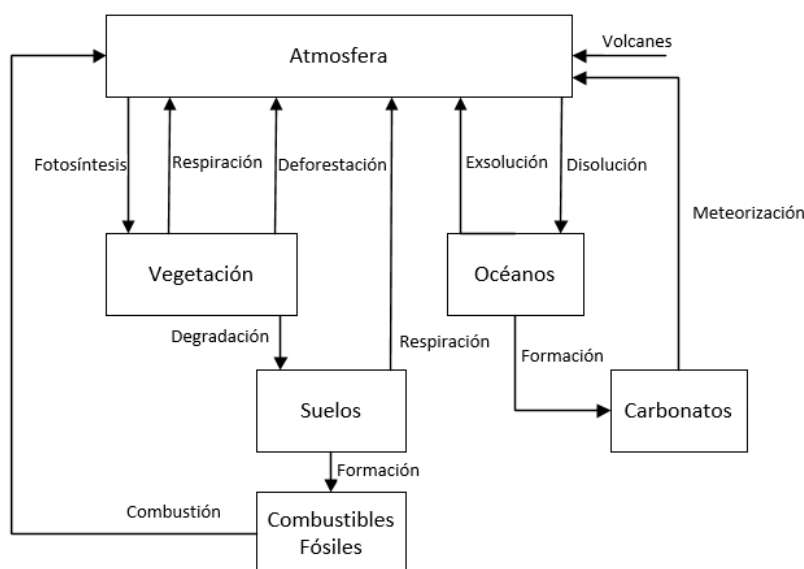


Figura 2-3: Ciclo del Carbono.
Adaptado de (Nunes, 2022)

El carbono atmosférico y del se incorpora a los seres vivos a través de los organismos fotosintéticos que capturan el dióxido de carbono de la atmósfera y los carbonatos (CO_3^{2-}) y bicarbonatos disueltos (HCO_3^-) en agua, con estos compuestos los fotosintetizadores sintetizan compuestos orgánicos, como azúcares, proteínas y lípidos) que serán aprovechados por otros organismos de la cadena trófica.

A la par de la fotosíntesis, el pH aumenta, favoreciendo la precipitación de los carbonatos, como el carbonato de calcio (CaCO_3). Este proceso opera a gran escala en los océanos capturando el dióxido de carbono atmosférico, la materia orgánica suspendida y los carbonatos disueltos. Esto hace que los océanos sean un gran depósito de compuestos de carbono, cumpliendo un rol fundamental en la mantención del ciclo del carbono.

La mayor parte del carbono se encuentra en las rocas, especialmente en rocas carbonatadas como la piedra caliza (CaCO_3), y en los sedimentos. En proporción hay 3 veces más carbono en el suelo que en las plantas terrestres.

A medida que los restos orgánicos y las conchas descienden por el océano la intensidad de la luz solar disminuye, la acumulación de materia orgánica en los fondos oceánicos y la falta de luz característica de ellos se favorece la descomposición de estos residuos, convirtiendo el carbono orgánico nuevamente a minerales solubles.

La descomposición de la materia orgánica es otra forma importante en la que el carbono vuelve al medio ambiente, el cual se ve controlado en su mayoría por las bacterias, reincorporando así el carbono fijado al ciclo.

El ser humano también aporta a la devolución del carbono a la atmósfera, a través de la quema de combustibles fósiles y de la deforestación y quema de árboles. Aunque estas acciones causan daños al medio ambiente, provocando importantes variaciones en el ecosistema, debido a los grandes volúmenes de dióxido de carbono liberado a la atmósfera.

2.2. Normativa ambiental

La institucionalidad ambiental chilena comenzó el año 1994 con la creación de la Secretaría Técnica y Administrativa de la Comisión Nacional de Medio Ambiente, dependiente del Ministerio de Bienes Nacionales, cuyo director ejecutivo participo en la cumbre de Río el año 1992, donde se formaron grupos de trabajo para sentar las bases de los primeros organismos ambientales. Posteriormente, el año 1993 se envió al congreso el proyecto de la Ley de Bases Generales del Medio Ambiente y con ello, la creación de la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), iniciando su trabajo en marzo de 1994, este organismo al depender del Ministerio Secretaría General de la Presidencia no contaba con la independencia suficiente para ejercer sus labores. Es por esto que el 12 de enero de 2010 se promulgó la Ley N.º 20.417, la cual modificó a la ley mencionada anteriormente y creó el Ministerio del Medio Ambiente (MMA), el Servicio de Evaluación Ambiental (SEA), la Superintendencia de Medio Ambiente (SMA) y los Tribunales Ambientales (Ministerio del Medio Ambiente, s. f.-a), el primero teniendo como misión:

Instalar un nuevo modelo de desarrollo centrado en la protección del medioambiente y el bienestar de las personas, a partir de la implementación de procesos de Transición Socio Ecológica Justa y la incorporación de un enfoque ecológico transversal en la gestión y ciclo de políticas públicas del Estado (Ministerio del Medio Ambiente, s. f.-b).

Para lograrlo se establece el marco regulatorio dictado por la ley N.º 19.300 o ley sobre bases generales del medio ambiente modificada el 2010 por la ley 20.417, estableciendo normas de calidad ambiental primarias y secundarias, y también normas de emisión, cuyas calificaciones son descritas en el Decreto 38/2012 del MMA (Ministerio del Medio Ambiente, 2012):

- Normas Primarias de Calidad Ambiental:
Establecen los valores de las concentraciones y períodos, máximos o mínimos, permisibles de elementos, compuestos, sustancias, derivados químicos o biológicos, energías, radiaciones, vibraciones, ruidos, o combinación de ellos, cuya presencia o carencia en el ambiente pueda constituir un riesgo para la vida o salud de la población, definiendo los niveles que originan situaciones de emergencia.
- Normas Secundarias de Calidad Ambiental:
Establecen los valores de las concentraciones y períodos, máximos o mínimos, permisibles de sustancias, elementos, energía o combinación de ellos, cuya presencia o carencia en el ambiente pueda constituir un riesgo para la protección o conservación del medio ambiente, o la preservación de la naturaleza.
- Normas de emisión:
Establecen la cantidad máxima permitida para un contaminante, medida en el efluente de la fuente emisora, cuya presencia en el ambiente, en ciertos niveles, pueda constituir un riesgo a la salud de las personas, a la calidad de vida de la población, a la preservación de la naturaleza o a la conservación del patrimonio ambiental.

El presente estudio, que se encuentra en el área de tratamiento de RILes, está relacionado con las normativas que establecen límites de emisiones para descarga de RILes a cuerpos de aguas continentales, marinas y subterráneas, tanto como al alcantarillado. Los límites establecidos, para los contaminantes relevantes para este estudio, por estas normativas, serán detallados en las tablas (2-2, 2-3, 2-4). Es necesario considerar que estas están sujetas a constantes cambios a lo largo del tiempo según lo necesario.

Dentro de las normas se plantea el parámetro DBO_5 que se define como la demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días y a 20 °C por parte de los microorganismos presentes en el agua. También se introduce el nitrógeno total Kjeldahl (NTK), el cual es la concentración de nitrógeno estimada por el método Kjeldahl (Kumar, 2022).

- D.S. N.º 46/2002 del Ministerio Secretaría General de la Presidencia:
“Establece norma de emisión de residuos líquidos a aguas subterráneas” (Ministerio Secretaría General de la Presidencia, 2002)

Estos límites vienen dados por la vulnerabilidad intrínseca del acuífero, la cual es definida por la norma como la velocidad con la que un contaminante puede migrar hasta la zona saturada del acuífero, que es la zona que tiene sus poros completamente ocupados por agua, pudiendo ser alta, media o baja.

Tabla 2-2: Límites establecidos por D.S. N.º 46/2002.

Parámetro	Unidad	Límite	
		Vulnerabilidad media	Vulnerabilidad baja.
DBO₅	mgO ₂ /L	-	-
pH	-	6,0 – 8-5	6,0 – 8-5
NTK	mg/L	10	15
N-NO₃ + N-NO₂	mg/L	10	15
SO₄⁻²	mg/L	250	500
S⁻²	mg/L	1	5

- D.S. N.º 90/2000 del Ministerio Secretaría General de la Presidencia:
“Establece norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales” (Ministerio Secretaría General de la Presidencia, 2000)

En esta norma, los límites dependerán del tipo de cuerpo acuático donde se vierten los RILES, siendo marino dentro de zona de protección litoral (MDZP), marino fuera de zona de protección litoral (MFZD), ríos sin disolución (RsD) y ríos con disolución (RcD). El nitrógeno total de esta norma considera la suma del nitrógeno total Kjeldahl, nitrito y nitrato para los cuerpos lacustres y solo Kjeldahl para los ríos y marinos.

Tabla 2-3: Límites establecidos por D.S. N.º 90/2000.

Parámetro	Unidad	Límite				
		MDZP	MFZP	RsD	RcD	Lacustre
DBO₅	mgO ₂ /L	60	-	35	300	35
pH	-	6,0 – 9,0	5,5 – 9,0	6,0 – 8,5	6,0 – 8,5	6,0 – 8,5

Tabla 2-3 (cont.): Límites establecidos por D.S. N.º 90/2000.

T°	°C	30	-	35	40	30
N Total	mg/L	50	-	50	75	10
SST	mg/L	100	300	80	300	80
SO₄⁻²	mg/L	-	-	1000	2000	1000
S⁻²	mg/L	1	5	1	10	1

- D.S. N.º 609/1998 del Ministerio de Obras Públicas (modificado el año 2004):
 “Establece norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos Industriales líquidos a sistemas de alcantarillado” (Ministerio de Obras Públicas, 1998).

Los límites propuestos en esta norma dependen de si el sistema de alcantarillado donde se descargará el RIL posea una planta de tratamiento o no. Para los sulfatos, la norma acepta concentraciones entre 1000 y 1500 mg/L de sulfato si el pH es de 8 – 9 y la T° del RIL sea menor o igual a la T° del receptor.

Tabla 2-4; Límites establecidos por D.S. N.º 609/1998.

Parámetro	Unidad	Límite	
		Con Planta	Sin Planta
DBO₅	mgO ₂ /L	300	-
pH	-	5,5 – 9,0	5,5 – 9,0
T°	°C	35	35
NH₄⁺	mg/L	80	-
SST	mg/L	300	-
SO₄⁻²	mg/L	1000	1000
S⁻²	mg/L	5	5

Para cumplir con estas normativas es necesario invertir en tecnologías que permitan eliminar los contaminantes. En este caso se estudiará un tipo de tecnología biológica de remoción de contaminantes mostrados en las tablas anteriores. Esto con el fin de evitar las consecuencias del incumplimiento de las normas.

2.3. Tratamientos biológicos de efluentes con contaminantes de N y S

Los tratamientos biológicos representan una estrategia clave en la remoción de compuestos nitrogenados y sulfurados presentes en aguas residuales. A través de la acción de microorganismos especializados, es posible transformar compuestos tóxicos, como el amonio, en formas menos dañinas o incluso inertes. Se explorarán individualmente las técnicas utilizadas para tratar el RIL elaborado.

2.3.1. Nitrificación parcial (Np)

La nitrificación es un proceso llevado a cabo principalmente por 2 grupos de microorganismos autotróficos, las bacterias amonio oxidantes (BAO) y bacterias nitrito oxidantes (BNO), las primeras oxidan el amonio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-) por la reacción de nitratación y luego entran en acción las BNO para oxidar el nitrito a nitrato (NO_3^-), que luego puede ser transformado a nitrógeno gaseoso (N_2) a través de la desnitrificación. Este proceso es un paso crucial en el ciclo del nitrógeno, haciendo que los intermediarios de él estén disponibles para las otras fases del ciclo (Bolsan *et al.*, 2024). Las reacciones nitrificantes están descritas en la figura 2-4.

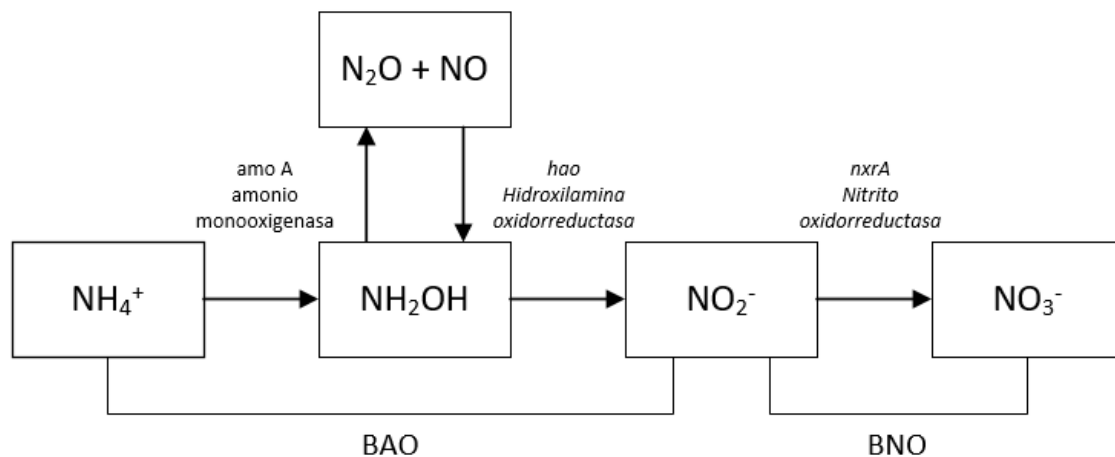
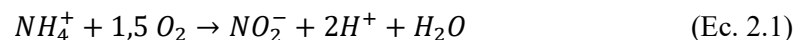


Figura 2-4: Bacterias e iones asociadas a la nitrificación.
Adaptado de (Bolsan *et al.*, 2024)

La nitrificación completa requiere un gran gasto energético en la aireación, requiriendo 3,56 [$\text{mgO}_2/\text{mgNH}_4^+$], en comparación a la NP que busca solamente acumular el nitrito, cortando el requerimiento de aireación, ver ecuación (2.1) (Bolsan *et al.*, 2024).



Se ha demostrado que inhibir la actividad de las BNO mientras se potencian las BAO puede ser una estrategia útil para promover la NP. Debido a la sensibilidad de las primeras a ciertas condiciones

ambientales, las estrategias operativas serán vitales para el éxito de este enfoque. Basándose en investigaciones relevantes en esta área, es posible afirmar que el pH, la temperatura, la concentración de OD, junto con otros parámetros, influyen en el metabolismo de las BAO y BNO. Así, existen algunas oportunidades para inhibir selectivamente el BNO a través de algunos parámetros o condiciones operativas. Por ejemplo, al ser, la energía de activación de la oxidación de amonio es de 68 [kJ/mol] y la del nitrito es de 44 [kJ/mol], por lo que altas temperaturas favorecerán más a las BAO que a las BNO.

Los factores que afectan el rendimiento de la nitrificación, además de los rangos que permitirían la inhibición de las BNO son los siguientes:

- **Temperatura**

Liu *et al.* (2020) han reportado que altas temperaturas favorecen la actividad de las BAO por sobre las BNO, estas últimas son capaces de oxidar rápidamente el nitrito a nitrato a temperaturas menores a los 15 [°C]. A temperaturas medias, entre 20 y 25 [°C], se ve aumentada la actividad de las BAO, y al seguir aumentando las temperaturas, ambas actividades aumentan, pero las BAO en mayor medida. Por lo tanto, si es que se desea obtener la acumulación de nitrógeno, se deberá operar entre 30 y 35 [°C]. Esto no quiere decir que no se pueda lograr NP a bajas temperaturas, siempre que los demás factores mencionados en este informe se manipulen para favorecer a las BAO. En la figura 2-5 se representa la tasa de crecimiento específico de cada grupo de microorganismos en función de la temperatura.

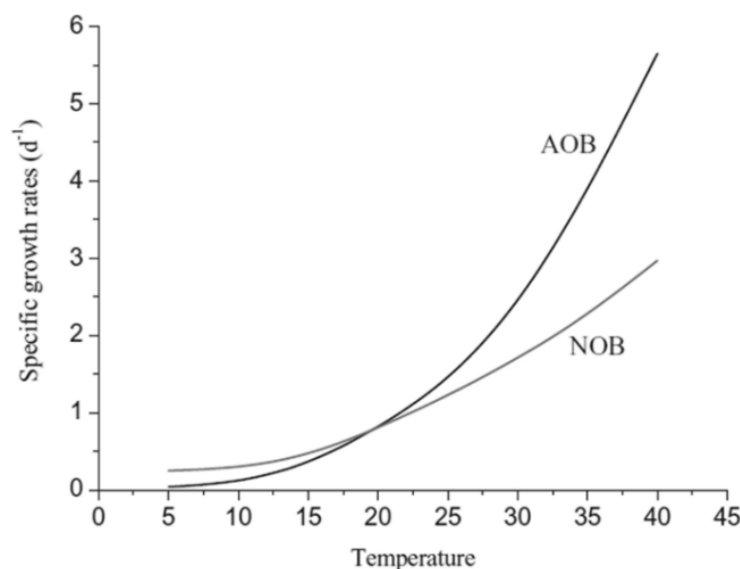


Figura 2-5: Tasa de crecimiento de las BAO y BNO según temperatura.
Fuente: (Bolsan et al., 2024)

- **pH y concentración de amonio libre (AF) y ácido nitroso libre (ANF)**

El principal efecto del pH sobre la NP va de la mano del cambio en el mecanismo de reacciones enzimáticas que produce en las BAO y BNO e indirectamente sobre la concentración de amonio libre y ácido nitroso (HNO_2) libre. El pH óptimo para BAO y BNO varía entre 7 y 8. El pH sugerido para inhibir las BNO está entre 7,5 y 8,5, y si se opera en el rango 7,5 - 7,8 se favorecerá la nitrificación parcial (Liu *et al.*, 2020).

El amonio libre (AF) y ácido nitroso libre (ANF) representados por NH_3 y HNO_2 son empleados para inhibir la actividad de las BNO y promover la nitrificación parcial. La concentración de estos compuestos depende de la temperatura, el pH y la concentración de NH_4^+ y NO_2^- , ellos se representan en las reacciones de equilibrio (Bolsan *et al.*, 2024).



El AF inhibe la actividad de ambos grupos de bacterias, pero las BNO son más sensibles a este factor. Para lograr la acumulación de nitrógeno, se tendrá que regular el pH para controlar la concentración de AF. Las concentraciones inhibitorias de FA varían entre 10 y 605 [mg N/L] para BAO y 0,1 - 5 [mg N/L] para BNO (Liu *et al.*, 2020).

Por otro lado, la concentración de ANF juega un papel importante a pH bajo, ya que las BNO son más sensibles a este factor que las BAO. El umbral que causan una reducción a la mitad de la actividad del BAO están en 0,026 – 0,22 [mg N/L], mientras que concentraciones de 0,011 – 0,07 [mg N/L] comienzan a inhibir a las BNO y 0,026 – 0,22 [mg N/L] pueden inhibirlas completamente. Se ha reportado que el efecto inhibitorio de ambas concentraciones es reversible (Liu *et al.*, 2020). La tabla 2-5 y figura 2-6 la explican las zonas de inhibición según el pH y las concentraciones de NH_4^+ y NO_2^- :

Tabla 2-5: Zonas de inhibición de BAO y BNO

Zona	Condición	Efecto
1	$\text{FA} > 150$ [mg NH_3/L]	Inhibición completa
2	150 [mg NH_3/L] < $\text{FA} < 1$ [mg NO_2/L] $\text{FNA} < 2,8$ [mg NO_2/L]	Inhibición de BNO por FA
3	$\text{FA} < 1$ [mg NH_3/L] $\text{FNA} < 2,8$ [mg NO_2/L]	Nitrificación Completa
4	$\text{FNA} > 2,8$ [mg NO_2/L]	Inhibición de BNO por FNA

Adaptado de (Bolsan et al., 2024)

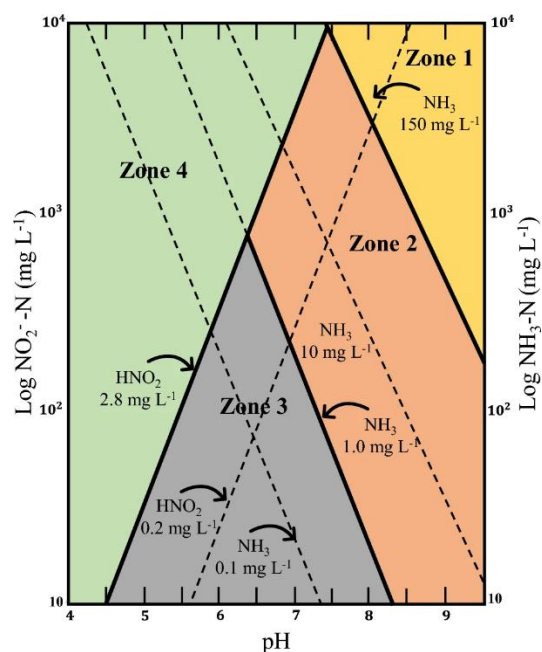


Figura 2-6: Gráfico de Anthonisen de inhibición de las BAO y BNO según pH y concentraciones de NH_4^+ y NO_2^-
Fuente: (Bolsan et al., 2024)

- **Oxígeno disuelto**

Para la nitrificación el oxígeno disuelto actúa como sustrato y como aceptor de electrones en las cadenas óxido-reductoras para las BAO y BNO, por lo tanto, al tener bajas concentraciones de OD el crecimiento de ambos grupos de bacterias decrece, las BNO se ven más afectadas debido al menor coeficiente medio de saturación de oxígeno (Liu et al., 2020).

Analizando distintos trabajos, los autores Liu et al. (2020) recompilaron concentraciones óptimas de OD para la NP, obteniendo un rango entre 0,16 – 5,0 [$\text{mgO}_2\text{/L}$] para obtener una alta acumulación de nitrito. Cabe mencionar que a bajas concentraciones de DO (<0,3 [$\text{mgO}_2\text{/L}$]), la NP se conseguirá solamente a corto plazo, luego de un periodo donde las BNO *Nitrospira* aumenten su actividad, sobrepasando las de las BNO *Nitrobacter* se logra la nitrificación total (NT). Esto se puede explicar con la velocidad de crecimiento que siguen las bacterias, donde las *Nitrospira* tienen un crecimiento más lento, el cual es adecuado para bajas concentraciones de sustrato, a diferencia de las *Nitrobacter* que poseen una tasa de crecimiento rápido, pero alta demanda de sustrato. De este modo se puede concluir que para lograr la NP se deberá favorecer a las BAO a través de altas concentraciones de OD.

Sin embargo, es importante entender que la manipulación de cualquiera de estos parámetros para conseguir NP requiere mucha atención en las posibles vías de reacción. En términos de OD, por ejemplo, la oxidación de NH_3 a NO_2^- es posible en condiciones energéticamente favorables. Sin

embargo, bajo un suministro insuficiente de oxígeno, las BAO pueden producir óxidos de nitrógeno (NO y N_2O), en lugar de NO_2^- (Bolsan *et al.*, 2024).

2.3.2. Desnitrificación autótrofa (Da)

La desnitrificación autótrofa es un proceso llevado por microorganismos quimioautótrofos anaeróbicos, de los géneros *Thiobacillus*, *Sulfurimonas*, *Paracoccus*, y *Thioalkalivibrio*, los cuales usan compuestos de azufre inorgánicos, como el tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), sulfuro (S^{2-}) y azufre elemental (S^0), el primero usado por ser no-tóxico, de bajo costo y fácil acceso, como donantes de electrones para la reducción del nitrato y nitrito, además de la fijación de carbono para el crecimiento celular. Wang *et al.*, 2023). En la figura 2-7 se muestran las rutas Redox de los distintos compuestos. Esta reacción remueve los compuestos oxidados de nitrógeno del RIL transformándolos a nitrógeno gaseoso (N_2) y produce sulfato (SO_4^{2-}), el cual es menos nocivo.

Sin embargo, altas concentraciones de sulfato pueden promover la reducción disimilatoria del nitrato a amonio (DNRA), proceso el cual invierte las reacciones deseadas, es decir se reduce el nitrito producido por las BAO a amonio por acción del sulfato remanente de desnitrificaciones (Bourceau *et al.*, 2023). Es por esto que es importante vigilar la acumulación de este compuesto al inicio de cada ciclo para evitar caídas de eficiencia de oxidación de amonio.

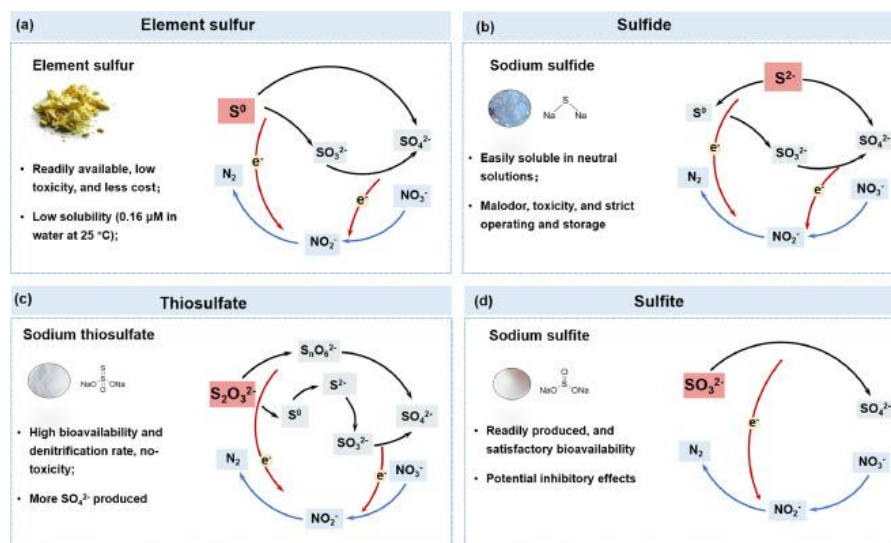
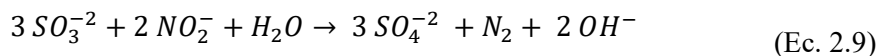
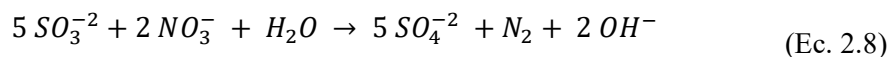
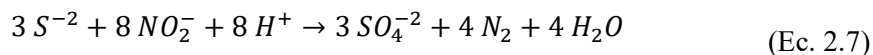
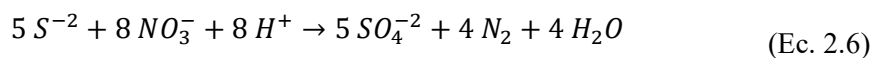
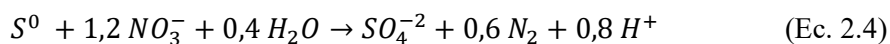


Figura 2-7: Rutas de conversión de los compuestos sulfurados.

Fuente: (Wang *et al.*, 2023)

La formación de estos intermediarios hace que el proceso de Da sea más complejo al compararlo con la desnitrificación heterótrofa, la cual usa acetatos o metanol como donante de electrones, pero esta ruta sintética reduce significativamente la producción de GEI al no tener el dióxido de carbono como

producto final, incluso fijando como se mencionó anteriormente. Las proporciones estequiométricas de acuerdo con la fuente de azufre se representarán en las siguientes ecuaciones (Wang *et al.*, 2023):



Es importante realizar la alimentación de compuestos sulfurados de forma estequiométrica para evitar la acumulación de los intermediarios de este proceso. Los autores Zak *et al.* (2021) investigaron los efectos nocivos del ion sulfato en el ecosistema acuático, de ello concluyeron que él no es directamente tóxico para los organismos acuáticos, pero si pueden aumentar el estrés osmótico de ellos, por lo que si la concentración de este ion se mantiene baja no se deberían observar efectos significativos en el ecosistema.

2.3.3. Desnitrificación heterótrofa (Dh)

La desnitrificación heterotrófica es un proceso convencional en que microorganismos reducen el nitrato y nitrito a nitrógeno gaseoso, bajo condiciones anóxicas. La vía hipotética de la reducción del nitrato se muestra en la figura 2-8.

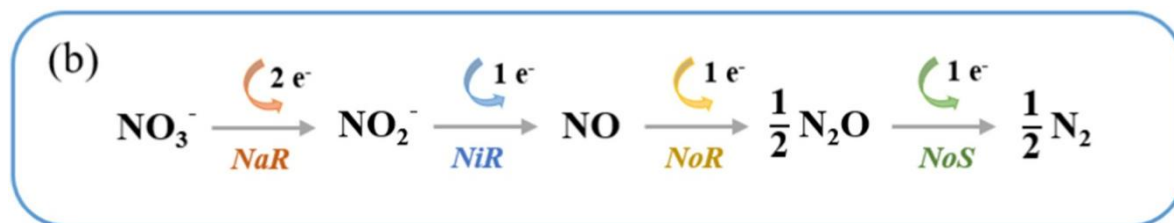


Figura 2-8: Proceso de desnitrificación heterótrofa.
Fuente: (Fu *et al.*, 2022)

Para este proceso, la fuente de carbono es indispensable para determinar la tasa de desnitrificación, ya que este requiere suficiente carbono para realizar el proceso con éxito. Por lo tanto, en situaciones donde el RIL naturalmente tiene una razón de C/N insuficiente necesario añadir una fuente adicional

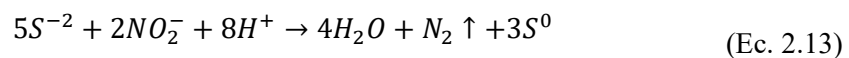
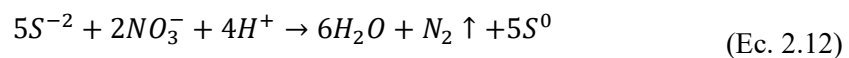
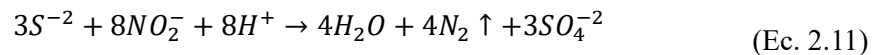
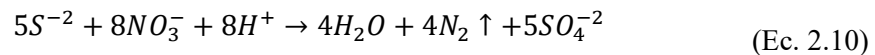
de carbono para que actúe como donante de electrones para las reacciones, esto para evitar la acumulación de los compuestos intermediarios a la salida del reactor (Fu *et al.*, 2022).

Estudios recientes han demostrado que se pueden usar diversas sustancias divididas en fuentes de carbono sólidas, líquidas y gaseosas. Algunas fuentes clásicas de carbono líquido son el metanol, el ácido acético y azúcares de bajo peso molecular, pero debido al elevado costo de su implementación, se han explorado alternativas para reducir los costos operativos, como el uso de biopolímeros, sustancias celulósicas, aguas industriales ricas en carbono o caldos de fermentación. Las diversas fuentes de carbono entregarán distintos efectos sobre la desnitrificación, por lo tanto, muchos factores deben ser considerados en la selección de fuentes externas de carbono, incluyendo la eficiencia de desnitrificación, el costo de operación, las condiciones de dosificación y los posibles impactos en la calidad de los productos (efluente y lodos) (Fu *et al.* 2022).

2.3.4. Desnitrificación mixotrófica (Dm)

Siendo la combinación de los dos procesos descritos anteriormente, la desnitrificación mixotrófica (Dm) puede superar las limitaciones de la aplicación de la Da y Dh por separado, como por ejemplo la alta demanda de carbono por parte de la Dh y el alto tiempo de puesta en marcha de la Da. Además, la Dm tiene como ventajas una fácil puesta en marcha, alta eficiencia de desnitrificación y baja producción de lodos. Diversas fuentes han sido utilizadas como donantes de electrones, destacando el hidrógeno gaseoso, compuestos sulfurados y los iones de hierro (Zhang *et al.*, 2023). Este trabajo se enfocará en la desnitrificación mixotrófica basada en compuestos sulfurados, ya que es la más estudiada y aplicada en el campo.

Específicamente se utilizará la investigación que los autores Zhou y Wang (2024) realizaron sobre la utilización de sulfuro como fuente de azufre, los cuales tienen mejor solubilidad en el licor que el azufre elemental, pero según observado en las ecuaciones (10 a 13) que representan las posibles reacciones se puede formar azufre elemental (S^0) como intermediario lo que afectaría a la Dm.



El rendimiento del sulfuro como fuente de azufre puede llegar a una remoción de hasta 97% de nitrógeno, destacando que las fuentes más comunes de carbono orgánico son fuentes líquidas como los acetatos, metanol y glucosa. De este modo se indica que la Dm basada en sulfuros constituye una reacción homogénea líquido-líquido. Por lo tanto, las relaciones S/N y C/N del influente son particularmente importantes en las reacciones homólogas entre sulfuros y fuentes de carbono líquido, donde los electrones de azufre autótrofos líquidos y los electrones de carbono heterótrofos pueden ser cuantificados. En la figura 2-9 se pueden observar el intercambio electrónico y las reacciones óxido-reductoras del proceso mixotrófico.

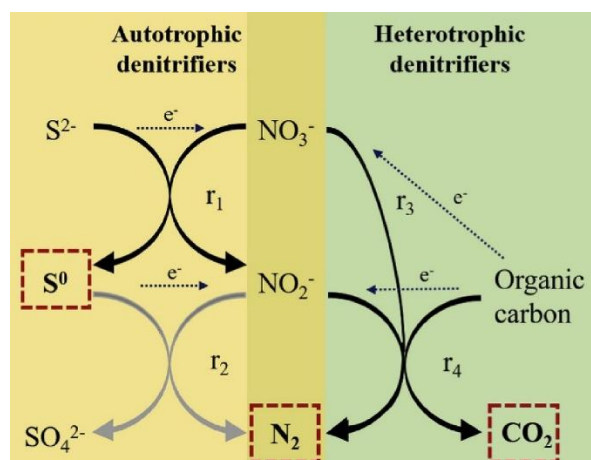


Figura 2-9: Acoplamiento de la desnitrificación autótrofa y desnitrificación heterótrofa.
Fuente: (Zhou y Wang, 2024)

Para que este acoplamiento funcione de forma correcta, se deberá tener en cuenta los siguientes factores:

- **Temperatura**

La temperatura afecta a la desnitrificación a través de la tasa de crecimiento microbiano, participando en la hidrólisis de los sustratos y en la actividad de la enzima nitrato reductasa. Los efectos de ella van a depender del equipamiento y de la fuente de carbono utilizada. El rango adecuado de operación de este proceso está entre 10 y 35 [°C], ya que fuera de estos rangos la eficiencia de la hidrólisis de la fuente de carbono y de la desnitrificación disminuye, deteniéndose la última bajo 3 [°C] (Fu *et al.* 2022).

- **pH**

Para la desnitrificación vía sulfuro, el efecto es similar. A pH neutro, el potencial redox se mantiene constante hasta que se consume el sustrato; sin embargo, a valores de 5 o 9, los microorganismos no

son capaces de eliminar el sustrato. A pH 5, la acumulación de sustrato es menor que a pH 9, lo cual se atribuye a una deficiencia de carbono inorgánico. Es por esto que la regulación del pH, manteniéndolo entre 7 y 8,5, es clave para mantener la actividad enzimática estable (Chang *et al.*, 2024).

- **Oxígeno disuelto (OD)**

La mayoría de los microorganismos desnitrificantes son anaerobios facultativos y usan el nitrato o nitrito como aceptor de electrones. Debido a que el oxígeno es un aceptor de electrones más eficiente, los microorganismos prefieren utilizarlo para su metabolismo respiratorio; sin embargo, este es un inhibidor de su actividad enzimática y, por lo tanto, del proceso desnitrificante. Donde la ausencia o control de OD es relevante. La concentración óptima de OD para que ocurra la desnitrificación debe ser < 2 [mgO₂/L]. Además, el aumento del DO va a aumentar el consumo de carbono por la nitrificación de remanentes de amonio, lo que no es deseable en la etapa desnitrificante (Fu *et al.* 2022).

- **Relación azufre/nitrógeno (S/N)**

El azufre es un compuesto esencial para la Da, ya que este al oxidarse aportará los electrones necesarios para la reducción del nitrito y nitrato. Debido a esto, adicionar cantidades justas de compuestos sulfurados ayudará a mantener alta la eficiencia de la desnitrificación y a evitar la formación o acumulación de compuestos no deseados.

Es por esto que mantener la relación S/N estequiométricamente suficiente es importante para eliminar el nitrito del RIL, incluso trabajar con una relación ligeramente sobre el necesario facilitaría la operación, a través de la mantención de un suministro suficiente de compuestos de azufre para apoyar las reacciones. Como producto final de la Da se produce sulfato, el cual, como se mencionó anteriormente, no es tóxico; sin embargo, se puede reducir en condiciones anaerobias a ácido sulfhídrico (H₂S), por lo que será necesario controlar las condiciones de operación para evitar dicha reducción (Chang *et al.* 2024).

- **Relación carbono/nitrógeno (C/N)**

El carbono es el sustrato utilizado por los microorganismos para realizar su metabolismo y para reproducirse. Por lo tanto, determinar una razón óptima entre el nitrógeno y el carbono es importante para asegurar las conversiones deseadas en ambas etapas de la SND. Este factor dependerá directamente de la estequiometría, de las reacciones presentes en el proceso y de las fuentes de carbono que se elegirán sus etapas.

Elegir una razón C/N adecuada es importante para mantener la microbiota del reactor balanceada según lo requerido, si la relación es muy alta se favorecerá de sobremanera la proliferación de microorganismos heterótrofos, lo que pondrá a los autótrofos en shock reduciendo la eficiencia de la nitrificación. El caso contrario causará que el crecimiento de estos microorganismos sea bajo, reduciendo la eficiencia de la desnitrificación.

Loh et al. 2023 concluyeron que la razón C/N ideal va a variar según tipo de reactor, lo que se puede deber al material que actúe de portador, la composición de la biopelícula, el afluente proporcionado y la estrategia operacional.

Además, Campos et al. (2008) se refieren a las relaciones adecuadas C/N que mejor efecto tienen en los procesos, donde la DQO representa la cantidad de carbono requerido en los procesos biológicos:

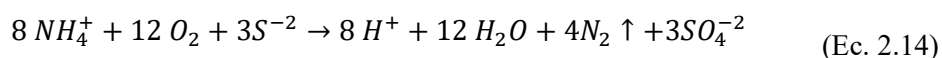
- DQO/N >20: Eliminación por asimilación por bacterias heterótrofas.
- 20>DQO/N<5: Eliminación por asimilación, nitrificación y desnitrificación.
- DQO/N<5: Eliminación por nitrificación parcial-desnitrificación o nitrificación parcial-Anammox.

En conclusión, el acoplamiento de ambos métodos de desnitrificación mejora la eficiencia general de la desnitrificación. Sin embargo, se le tendrá que tomar especial atención a las razones C/N y S/N para evitar la acumulación de compuestos intermediarios que limiten las reacciones.

2.3.5. Nitrificación – Desnitrificación conjunta (SND)

Tras revisar por separado los mecanismos de nitrificación y desnitrificación, surge la necesidad de abordar estrategias que permitan integrar ambos procesos dentro de un mismo sistema. La nitrificación-desnitrificación conjunta (SND) representa una alternativa eficiente que permite la remoción biológica de nitrógeno en un solo reactor, reduciendo los requerimientos de infraestructura. En esta sección se explorará la combinación de ambos procesos en un solo equipo y los desafíos y requerimientos que este lleva.

Al sumar y adaptar las ecuaciones 2.1 y 2.11, correspondientes a la nitrificación parcial y la desnitrificación mixotrófica respectivamente, se puede obtener una primera aproximación a los requerimientos de la SND:



Como se mencionó en el párrafo anterior la SND trajo beneficios considerándose un proceso de tratamiento de RILes que requiere menos energía y evita la necesidad de un tratamiento aeróbico y

anaeróbico por separado, además su popularidad ha sido adquirida gracias a su capacidad de eliminar completamente el nitrógeno y requerimiento de un 30% de OD y un 25% de adición de carbono menor a comparada a realizar nitrificación completa y desnitrificación por separado (James y Vijayanandan, 2023; Van Huynh *et al.*, 2023).

Además, Van Huynh *et al.* (2023) notaron que una de las principales preocupaciones de los tratamientos de RILes son las emisiones de GEI, como el N_2O el cual es un intermediario en la reducción del nitrato y nitrito, este compuesto suele acumularse durante el proceso debido a la falta de enzimas que catalicen su reducción a N_2 o un insuficiente suministro de electrones para dicha reducción. Una forma de afrontar este problema es inhibir o reducir drásticamente la formación del intermediario utilizando ciertos microorganismos, por ejemplo, con ciertas cepas de *Pseudomonas sp.* se pueden observar bajos niveles de óxido nitroso durante la SND, o con una cepa de *Ochrobactrum anthropic* que exprese genes de producción de enzimas reductoras de NO_2^- y N_2O evitando su acumulación en el efluente. Otra forma de reducir la acumulación de este óxido es la adición de ion cobre (Cu^{+2}) en bajas concentraciones, reduciendo hasta un 4% la producción de N_2O .

Explorando el mecanismo de la SND los autores James y Vijayanandan (2023) realizaron una revisión bibliográfica donde se destacaba la existencia de flóculos en el proceso, estos flóculos encapsulan dos zonas, una aeróbica y una anóxica, donde las reacciones de nitrificación y desnitrificación ocurren respectivamente. La naturaleza física de estos flóculos dependerá del gradiente de concentración de OD dentro de ellos, este gradiente ocurre debido a la dificultad de difundir el oxígeno dentro de él, por lo que la aireación, la materia orgánica y la concentración de compuestos de nitrógeno son factores importantes para mantenerlo.

La nitrificación ocurre en la zona periférica al flóculo, en la zona aeróbica, mientras que la desnitrificación ocurrirá en el núcleo del flóculo, la zona anóxica, esto es observable en la figura 2-10. Para mantener delimitadas estas zonas y que los procesos sean eficientes se requiere de una alta capacidad de difusión de materia orgánica y baja para el oxígeno, esto se ve afectado por el tamaño y densidad de los flóculos, por ejemplo, los de diámetro alto ($> 125 \mu\text{m}$) limitan la difusión de oxígeno al interior de ellos, lo que crea una mayor zona anóxica. Por el contrario, en los más pequeños se difunde más oxígeno, lo que reduce la zona anóxica. Junto a ello, los resultados de un estudio realizado por Pochana *et al.* (1999) sobre la eliminación de nitrógeno mediante SND indican que la eficiencia disminuyó del 52% al 21% cuando el tamaño de los flóculos se redujo de $80 \mu\text{m}$ a $40 \mu\text{m}$. Por el contrario, la tasa de nitrificación fue independiente del tamaño de los flóculos. En flóculos densos, más bacterias heterótrofas podrían estar presentes en la periferia de los flóculos, lo que aumenta la utilización de oxígeno y limita la difusión de oxígeno en los flóculos.

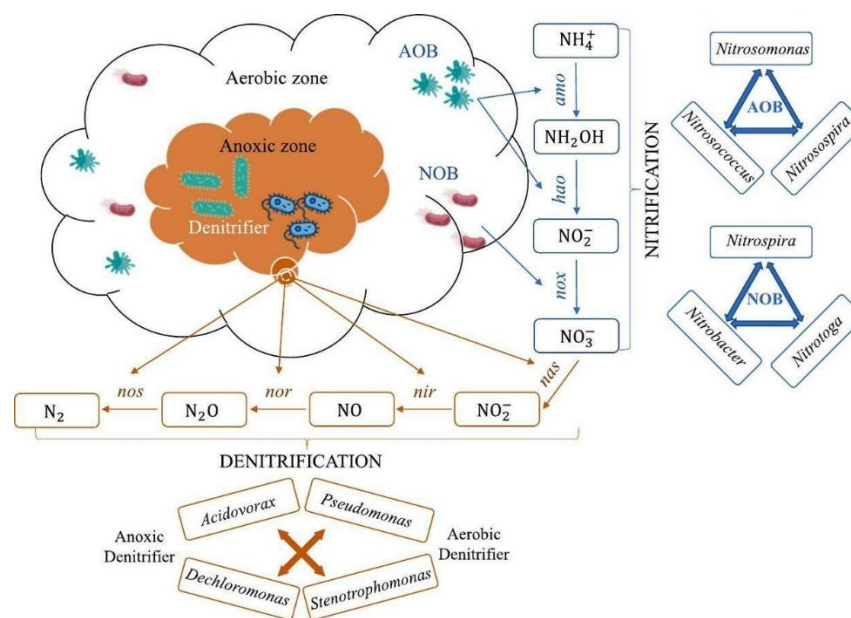


Figura 2-10: Funcionamiento de la SND en flóculos, junto a los principales microorganismos y enzimas utilizados en el proceso.

Fuente: (Van Huynh et al., 2023)

El tiempo de residencia hidráulico es un parámetro útil para controlar la actividad microbiana del reactor. Es el tiempo medio en que permanece cierto volumen de la alimentación dentro del reactor; este se define como:

$$TRH = \frac{Vol. reactor [m^3]}{Caudal alimentado \left[\frac{m^3}{d} \right]} \equiv \frac{V}{Q} [d] \quad (Ec. 2.12)$$

Este factor está directamente asociado con la capacidad de procesamiento de los sustratos por unidad de tiempo, y la interacción eficiente de estos sustratos con los microorganismos funcionales en cada etapa de la SND. Un TRH muy bajo no es favorable para el contacto efectivo con la biopelícula y la degradación de los contaminantes. Los orgánicos residuales producto de estos efectos deteriorarían la actividad de los microorganismos nitrificantes, teniendo un impacto negativo en la eliminación de los contaminantes (Loh *et al.* 2023).

2.4. Biopelícula

La biopelícula es una agrupación microbiana formada mediante la inmovilización de los microorganismos en el soporte. Estas son estructuras tridimensionales complejas no uniformes con múltiples poros, canales y protuberancias irregulares que entregan condiciones aptas para el crecimiento de organismos anóxicos. Esta película se forma cuando los organismos unicelulares y otros depósitos asociados se agrupan y encapsulan formando una matriz formada por polisacáridos

fijados en el portador. Estos polisacáridos son sustancias de gran peso molecular emitidas por los microorganismos para facilitar su adherencia al soporte, estos son el componente mayoritario de la biopelícula que conectan significativamente a las células agrupadas. Al aumentar la resistencia a transferencia de masas, la película disminuye la difusión de compuestos tóxicos a las capas interiores, lo que ayuda a preservar los organismos funcionales en el reactor (Jagaba *et al.* 2021-a).

En la figura 2-11 se presentan las etapas de la formación de la biopelícula, donde su irregularidad se debe a las diferentes condiciones de desarrollo y al acceso a los sustratos.

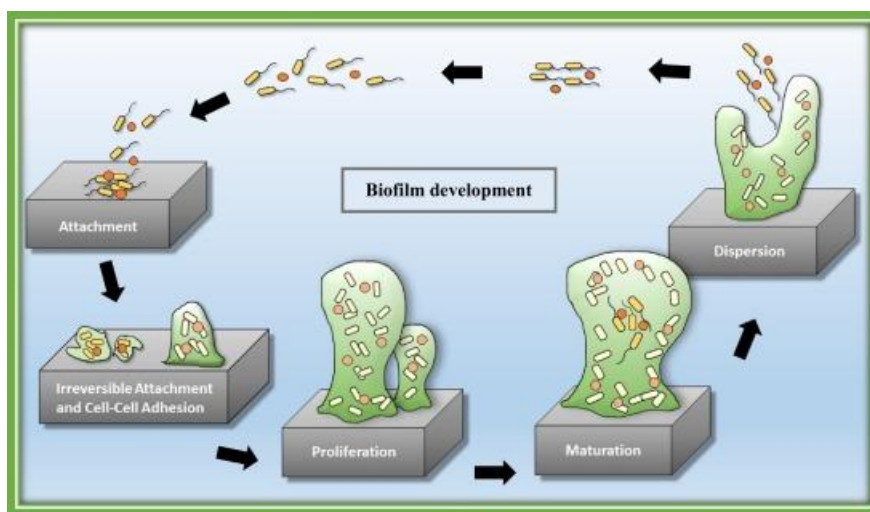


Figura 2-11: Desarrollo de la biopelícula.
Fuente:(Jagaba *et al.*, 2021-a)

Las etapas de la formación de la biopelícula son detalladas por Rather *et al.* (2021):

- **Adhesión a la superficie:**
La formación de la película se ve gatillada por la adherencia de los microorganismos al portador, donde los microorganismos se ordenarán en comunas. Durante las primeras etapas, las células se adhieren de forma reversible a las superficies, hasta que estas yacen de forma plana en el portador, lo que las fija de forma irreversible a este para comenzar a colonizarlo.
- **Formación de colonias:**
Cuando los organismos se adhieren exitosamente al portador, estos comenzarán a multiplicarse y a producir el polisacárido; así se empiezan a formar las colonias que madurarán según el crecimiento de estas.
- **Maduración:**
Esta es la estabilización de la biopelícula, lo que agrupa y protege a las células de condiciones adversas. Estas estructuras adquirirán forma de champiñón gracias al ordenamiento de los microorganismos según su tolerancia a la presencia de aire.

- **Dispersión:**

Debido a la degradación de los polisacáridos o a la perturbación de la biopelícula, esta se puede romper; esto trae como consecuencia la dispersión de los microorganismos contenidos en ella que migrarán a zonas donde producirán nuevas colonias y se encapsularán.

Su estructura morfológica permite la formación de zonas aeróbicas, anóxicas y anaeróbicas simultáneas. Las variables que afectan a la formación de biopelícula y a su rol en la remoción de contaminantes son la presencia de antibióticos, metales pesados, nutrientes y la salinidad (Jagaba *et al.* 2021-a).

2.5. Zeolitas

Las zeolitas (Figura 2-12) son minerales porosos de aluminosilicatos utilizados, entre otras, para el tratamiento de aguas residuales con amoníaco como catalizadores y adsorbentes industriales gracias a su selectividad para muchos cationes. Debido a sus capacidades de adsorción, intercambio iónico y tamizado de molécula, este es uno de los materiales más deseables en la industria del tratamiento de RILES. Tiene una buena capacidad selectiva para la adsorción del amonio y se ha demostrado que es compatible con microorganismos aerobios y anaerobios (Jagaba *et al.* 2021-a).

Para entregar condiciones óptimas para el desarrollo de las BAO se usará este mineral como bioportador de amonio, ya que por su capacidad de intercambio de iones pueden mantener los niveles de amonio libre suficientes para favorecer la nitrificación parcial al inhibir también a las BNO por las concentraciones de amonio.



Figura 2-12: Zeolitas.
Fuente: (Zeolita del Maule, s. f.)

Debido al tamaño de los poros presentes en el mineral, la afinidad con las moléculas de amonio aumentará, por lo que, la elaboración de zeolitas sintéticas es una opción atractiva si es que se busca aumentar la capacidad de absorción, ya que sus poros tienen mayor diámetro que las naturales. Sin embargo, éstas al ser sintetizadas, el costo aumenta, es por esto que se debe evaluar si el costo extra será lo suficientemente beneficioso para que justifique la inversión. En la tabla 2-6 se presentan las capacidades de absorción de distintos tipos de zeolita.

Tabla 2-6: Capacidades de Absorción de Zeolitas Artificiales y Naturales.

Procedencia	Tipo de Zeolita	Capacidad de absorción de NH_4^+ (mg/L)
Artificial	Zeolita A	59,3
	Zeolita P + Analcita	17,5
	Zeolita NaA	10,5
	Zeolita NaY	26,5
	Zeolita X	89,1
Natural	Chabazita	39,3
	Clinoptilotita	4,3
	Clinoptilotita modificada con NaNO_3	8,1
	Clinoptilotita modificada con Na	14,5
	Clinoptilotita + Modernita	6,3

Fuente: Modificado de (de Magalhães et al., 2022)

Entre otros factores el pH es de alta importancia para la eficiencia de las zeolitas, ya que a bajos niveles se producirá competencia con los protones presentes en el RIL, lo que entorpecerá la absorción del amonio y su oxidación, por otro lado, en soluciones alcalinas el amonio perderá su estado iónico pasando a amoníaco (NH_3) lo que también reduce la absorción de las zeolitas por la bajada de la atracción electrostática. Otros iones como Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , NO_3^- , SO_4^{-2} y Cl^- también pueden competir con el amonio, ya que el amonio es el catión con menor selectividad entre los mencionados (de Magalhães et al., 2022).

2.6. Tecnologías utilizadas para la eliminación de los contaminantes

2.6.1. Reactor secuencial por lote (SBR)

Se trata de un sistema biológico, de estado no estacionario, capacidad variable y crecimiento en suspensión que utiliza lodos activados, un sistema de llenado y extracción con aeración intermitente, donde todas las reacciones metabólicas y la separación del lodo y el RIL ocurren en un mismo estanque unitario mediante una secuencia controlada (ver figura 2-13). Este reactor es

tradicionalmente es utilizado para el proceso de nitrificación-desnitrificación, combinándose etapas aeróbicas y anaeróbicas para la eliminación biológica de contaminantes nitrogenados, sulfurados, fosforados, entre otros nutrientes.

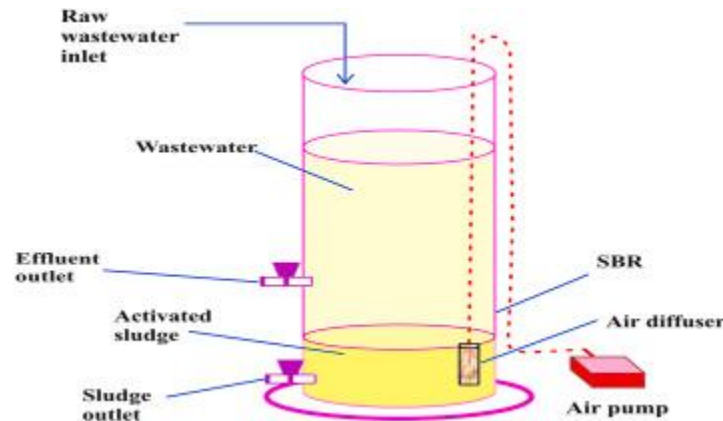


Figura 2-13: Esquema del SBR
Fuente: (Jagaba et al., 2021-b)

Los autores Jagaba *et al.* (2021-b) describen el ciclo básico operacional del reactor en 5 etapas:

- **Llenado:**
En esta etapa el reactor es llenado con el RIL a tratar junto a la biomasa a través de gravedad o con una bomba. Durante esta etapa el reactor se puede mezclar mediante la aireación o con agitación mecánica si esta no es posible para favorecer las reacciones metabólicas. Usualmente, esta etapa ocupa el 25% del tiempo operativo.
- **Reacción:**
Se producen las reacciones metabólicas de los microorganismos presentes en la biomasa, modificando las condiciones de operación para favorecer las reacciones que generen los productos o eliminen los contaminantes deseados, la mezcla del licor para favorecer la velocidad de reacción puede hacerse con aireación en la etapa aeróbica o mecánicamente en la etapa anóxica. Esta etapa puede corresponder a más del 50% de cada ciclo; esto dependerá de la conversión deseada.
- **Decantado:**
Transcurrido el tiempo de reacción, se detiene la agitación para que los sólidos del licor se asienten en el fondo por acción de la gravedad, esto producirá un sobrenadante clarificado que será extraído del reactor. Este proceso no puede durar más del 20% del ciclo para evitar la flotación de sólidos por acumulación de gases.
- **Vaciado:**
El sobrenadante anterior es removido del reactor luego de que la biomasa decante.

- Inactivo:

Etapa entre cada ciclo operativo donde se puede hacer la mantención del equipo o sus accesorios, se purga el exceso de sólidos y se realiza la mezcla de biomasa para acondicionar las reacciones.

Es por esto que al comparar esta tecnología frente a otras presenta un menor requerimiento de espacio, ya que al ocurrir todos los procesos en un solo reactor no se deberá instalar un clarificador externo, esto retiene fácilmente la biomasa, junto al retorno del lodo, esto reduce sus costos de instalación, operación y el consumo energético, y facilita el control automático de su operación (Jagaba *et al.*, 2021-b).

Sin embargo, la construcción de estos reactores es difícil de escalar del laboratorio a la industria y su tiempo de partida es largo. Los sistemas son sensibles a los entornos tóxicos y a la autooxidación, ya que estos no cuentan con sistemas que amortigüen efluentes dañinos. Además, estos reactores producen un gran volumen de lodos, los cuales, si no se controlan, desestabilizarán el rendimiento del equipo y requerirán tiempos detenidos para extraer el exceso de lodo y se requerirán planes de manejo de ellos (Jagaba *et al.*, 2021-a).

Estos sistemas presentan aplicaciones en variadas industrias debido a la capacidad que poseen para eliminar contaminantes orgánicos e inorgánicos de alta fuerza, nutrientes y sólidos suspendidos (SS) en un solo estanque. Gracias a la versatilidad de la biomasa presente, pueden ser aplicados en la industria alimenticia, textil, petroquímica, entre otras, que requieran de tratamientos biológicos. Con la configuración indicada, además un reactor SBR se puede utilizar para generar biogás o biodiésel. También pueden ser utilizados para la digestión de sólidos, biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos y para la fermentación de suero de queso y residuos alimenticios (Jagaba *et al.*, 2021-b).

2.6.2. Reactor secuencial por lote de biopelícula (SBBR)

Los reactores SBBR son sistemas SBR híbridos que mantienen los lodos activados suspendidos y conecta los procesos de crecimiento en único sistema con bioportadores en el que se dan simultáneamente condiciones aeróbicas y anaeróbicas en las capas externas e internas de la biopelícula. Estos reactores son adecuados para la remoción de nutrientes, ya que se puede mantener biomasa suficiente en el reactor, consiguiendo así mejor estabilidad y eficacia de tratamiento, mediante el uso de bioportadores de distinta naturaleza. En estos sistemas la superficie de reacción es mayor y los microorganismos se agrupan principalmente en las biopelículas formadas en la biomasa suspendida. Además, los portadores actúan como medio filtrante para reducir los SS en el efluente,

es por esto que estos sistemas tampoco requieren tanques de sedimentación, gracias a esto los SBBR podrán acumular más biomasa en su sistema y reducir como consecuencia su TRH en comparación a los SBR (Jagaba *et al.*, 2021-a). En la figura 2-14 se observa un ejemplo de un reactor SBBR.

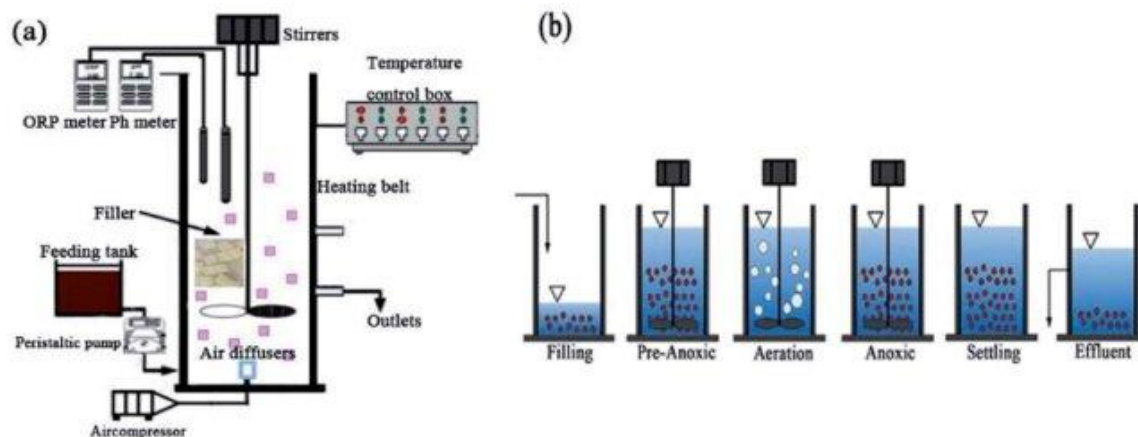


Figura 2-14: Esquema del SBBR.
Fuente: (Yin *et al.*, 2018)

Los reactores pueden resistir mayores cargas hidráulicas debido a que los portadores entregan mejores condiciones para que los microorganismos prosperen, el desarrollo de agrupaciones de ellos mejora la degradación de los contaminantes, por el aumento del contacto entre los microorganismos y los contaminantes, y la ausencia o intermitencia de la aireación aumenta la actividad y el crecimiento de los microorganismos en la biopelícula. Gracias a esta película, el sistema se vuelve más resistente a cambios bruscos de parámetros y a la toxicidad. Otras ventajas de los SBBR son alta biodiversidad, diseño compacto, ahorro energético durante la operación, la cual es más flexible, partida 2 a 3 días más rápida que un SBR (Jagaba *et al.*, 2021-b).

3. Metodología

Esta memoria se divide en dos etapas. La primera consiste en el enriquecimiento de un inóculo provisto por Agrosuper para un quimiostato de la Universidad Adolfo Ibáñez que contiene bacterias nitrificantes, para aumentar la densidad poblacional de los microorganismos deseados. En la segunda etapa, se arma e inocula un reactor (RZ) para evaluar el efecto de las zeolitas, teniendo a la par otro reactor operado en las mismas condiciones, pero sin las zeolitas (RC).

3.1. Etapa de enriquecimiento

Para enriquecer la población bacteriana se usa un sustrato sintético que simula las concentraciones de un efluente de un digestor anaerobio, que contiene carbono inorgánico (bicarbonato de sodio) en relación estequiométrica al amonio. La composición del RIL sintético se presenta en la tabla 3-1.

3.1.1. Sustrato

El RIL sintético es provisto por Bellenger (2023), al cual se le harán modificaciones para aumentar la cantidad de bicarbonato favoreciendo la oxidación a nitrito y se aumenta la concentración de fosfato monopotásico y dipotásico, que actuarán como tampón disminuyendo el pH en el reactor al valor deseado.

Tabla 3-1: Composición del RIL sintético para el enriquecimiento nitrificante.

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
Cloruro de Amonio	NH ₄ CL	2,39
Fosfato dipotásico	K ₂ HPO ₄	5,6
Fosfato monopotásico	KH ₂ PO ₄	9,2
Cloruro de sodio	NaCl	2,5
Sulfato de magnesio	MgSO ₄ • 7H ₂ O	0,06
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	7,22

Fuente: Modificado de (Bellenger, 2023)

Adicionalmente, a estas sales se agrega 1 [mL] de micronutrientes compuestos por los agentes indicados en la tabla 3-2.

Tabla 3-2: Composición de los micronutrientes, etapa aerobia.

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
EDTA	-	5,0
Cloruro férrico	FeCl ₃ • 6H ₂ O	5,0

Tabla 3-2 (cont.): Composición de los micronutrientes, etapa aerobia.

Cloruro de cobalto	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,6
Cloruro de manganeso	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5,0
Sulfato de cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,5
Cloruro de calcio	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5,5
Molibdato de amonio	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,1
Cloruro de magnesio	$\text{MgCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5,0

Fuente: (Bellenger, 2023)

3.1.2. Configuración del reactor

El enriquecimiento se realiza en un reactor cilíndrico color ámbar de volumen efectivo de 1,5 [L], con 2 salidas, una para el efluente y la otra para el lodo, aireado con 5 difusores cerámicos porosos suministrados de aire con una bomba de acuario que mantendrá un flujo constante de 4,5 [mg/L] de aire. A la vez actúan como agitadores que garantizan la mezcla homogénea del lodo, RIL y oxígeno disuelto. Esto evita la formación de zonas anóxicas, las cuales disminuyen la eficiencia de conversión de amonio y pueden derivar en la acumulación de intermediarios no deseados. Este reactor se introduce en una cámara aislada de poliestireno expandido a temperatura constante de 30 [°C], lo que se logra con un calefactor eléctrico y un controlador.



Figura 3-1: Reactor de enriquecimiento.

Fuente: (Bellenger, 2023)

3.1.3. Inóculo a enriquecer

Este reactor fue inoculado con 400 [mL] de lodo con biomasa proveniente de un quimiostato utilizado para investigación en la Universidad Adolfo Ibáñez. El origen de esta biomasa es de la empresa Agrosuper. En la tabla 3-3 se presentan las características iniciales de sólidos suspendidos en el reactor.

Tabla 3-3: Concentración inicial de sólidos para el enriquecimiento.

Parámetro	Unidad	Valor
Sólidos suspendidos totales	[mg SST/L]	5040
Sólidos suspendidos volátiles	[mg SSV/L]	1680

3.1.4. Estrategia de operación

Para definir la estrategia de operación de esta etapa se toma en cuenta su objetivo final, el cual corresponde a aumentar la actividad microbiana del lodo nitrificante hasta que logre una conversión significativa de amonio a nitrito, es decir lograr una conversión estable de a lo menos el 70% de amonio.

Para ello, el reactor es operado de manera continua durante 20 días en ciclos con TRH de 4 días, donde se alimenta con 1 [L] del RIL sintético mencionado anteriormente, con aireación constante. El reactor se trabaja a una temperatura constante de 30 [°C], se mantiene el pH mediante adición de tampón fosfato y con SSV de a lo menos 2000 [mg/L].

El pH de operación se mantendrá cercano a 6,0 para que, junto a la concentración estimada de amonio en el afluente de 1200 [mgNH₄⁺/L], el reactor se mantenga en la zona 4 del gráfico Anthonisen de concentración de FA y FNA (figura 2-6), la cual inhibirá las BNO por FNA. Esto con el fin de lograr la acumulación de NO₂⁻ a pesar de la concentración de OD provisionada.

En la tabla 3-4 se indican las etapas y el tiempo total del ciclo de enriquecimiento.

Tabla 3-4: Etapas de cada ciclo de enriquecimiento de los microorganismos nitrificantes.

Etapas	Tiempo
Llenado [h]	0,05
Reacción [h]	95
Sedimentación [h]	0,5
Descarga [h]	0,08
TRH	95,63
TRH [d]	4

3.1.5. Variables de medición y control

Para el control de esta etapa es necesario determinar parámetros claves en la nitrificación parcial, proceso que realizan los microorganismos que se buscan enriquecer, entre ellos, la concentración de amonio, nitrito y nitrato, sólidos suspendidos y volátiles, pH y oxígeno disuelto. Estos factores son

de importancia para determinar el estado del lodo nitrificante y la actividad microbiana en él y serán los parámetros de control.

Los parámetros de control y los métodos analíticos usados, así como la frecuencia de medición, se detallan en la tabla 3-5. Además, se indica el anexo donde se explica con detalle el procedimiento correspondiente. Cabe destacar que todo se realiza de acuerdo con el *Standard Methods for the examination of water and wastewater* (APHA, 2017)

Tabla 3-5: Procedimientos de Medición para el Enriquecimiento

Parámetro	Variable	Método Analítico	Objetivo	Frecuencia	Anexo
Compuestos nitrogenados	NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-	Espectrofotometría	Eficiencia de la nitrificación parcial	Cada 2 días	a.1 – a.3
pH	pH	Electrodo selectivo	Control operacional	Cada 2 días	-
Oxígeno disuelto	OD	Electrodo membrana	Control operacional	Cada 2 días	-
Sólidos suspendidos totales	SST	Gravimetría	Crecimiento bacteriano	Cada 7 días	a.6
Sólidos suspendidos volátiles	SSV	Gravimetría	Crecimiento bacteriano	Cada 7 días	a.6

3.2. Etapa de puesta en marcha

Ya con la población nitrificante enriquecida se realiza el montaje de dos reactores secuenciales por lotes, uno con zeolitas (RZ) y el otro sin zeolita (RC), que es usado como control. El objetivo de esta etapa es configurar y operar los reactores de tal forma que estos se estabilicen y logren transformar por lo menos el 80% de amonio del RIL a nitrógeno gaseoso como producto final. Se estudia, además, el efecto de la adición de zeolitas en la nitrificación desnitrificación conjunta.

3.2.1. Sustrato

Para la fase de nitrificación se usará una modificación del sustrato de la etapa de enriquecimiento. Las concentraciones de cloruro de amonio y bicarbonato fueron adaptadas para reducir el tiempo de reacción a la definida en el tiempo de reacción, además se modifica el tampón fosfato. En la tabla 3-6 se muestra la composición del RIL sintético para un reactor en la fase nitrificante. También se añade 1 [mL] de micronutrientes, cuya composición es señalada en la tabla 3-2.

Tabla 3-6: Composición del RIL sintético para la nitrificación parcial.

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
Cloruro de Amonio	NH ₄ CL	0,5
Fosfato dipotásico	K ₂ HPO ₄	3,685
Fosfato monopotásico	KH ₂ PO ₄	9,21
Cloruro de sodio	NaCl	2,5
Sulfato de magnesio	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,06
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	1,56

Fuente: Adaptado de (Bellenger, 2023)

Para la fase de desnitrificación se toman en cuenta las concentraciones de salida de nitrato y nitrito de la nitrificación, ya que son los sustratos para las reacciones de desnitrificación, estos valores definen la concentración de acetato de potasio y sulfuro de sodio que se adicionarán. Para ello se definen razones de concentración: se trabaja con una relación C/N igual a 2 y una relación S/N igual a 1,5. Además, para el azufre se considera un 60% de exceso que toma en cuenta pérdidas por volatilidad en la alimentación y la pureza del reactivo utilizado. Las concentraciones de los sustratos fijos se muestran en la tabla 3-7.

Tabla 3-7: Concentración de los sustratos fijos para el RIL desnitrificante.

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	1,5
Fosfato dipotásico	K ₂ HPO ₄	2,3
Fosfato monopotásico	KH ₂ PO ₄	5,75

Fuente: Adaptado de (Palacios, 2023)

Adicionalmente, se agrega 1 [mL] de micronutrientes compuestos por los agentes indicados en la Tabla 3-8.

Tabla 3-8: Composición de los micronutrientes para la desnitrificación

Compuesto	Fórmula	Concentración [g/L]
Molibdato de sodio dihidratado	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	2,0
Sulfato Ferroso (I) heptahidratado	FeSO ₄ · 7H ₂ O	30
Cloruro de zinc	ZnCl ₂	1,0
Carbonato de calcio	CaCO ₃	2,0
Tetrahidrato de cloruro manganeso (II)	MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,5
Sulfato de cobre (II) pentahidratado	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,25

Tabla 3-8 (cont.): Composición de los micronutrientes para la desnitrificación

Cloruro de cobalto hexahidratado	$\text{CoCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25
Ácido Clorhídrico	HCl (37%)	50
Cloruro de níquel (II) hexahidratado	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25
Ácido Bórico	H_3BO_3	0,25

Fuente: (Palacios, 2023)

3.2.2. Configuración de los reactores

Los reactores que se usan en esta tienen forma de botella color ámbar de volumen efectivo de 2 [L], con dos salidas, una para el efluente y la otra para el lodo y una apertura para realizar mediciones, aireado con 5 difusores cerámicos porosos suministrados de aire con una bomba de acuario que mantendrá un flujo constante de 3-5 [mg/L] de aire para la fase aeróbica. Y para asegurar la correcta distribución del lodo y el sustrato en la fase anaeróbica, se instala un agitador mecánico que opera a 100 [rpm] durante la etapa desnitrificante. A uno de los reactores se le adicionan 15 [g/g SSV] de zeolitas para evaluar su efecto en el proceso. Los reactores son operados en la misma cámara del inciso anterior, la cual también se mantiene a 30 [°C] con un calefactor eléctrico y un controlador.



Figura 3-2: Reactores montados en la cámara aislada.

Fuente: Elaboración propia

3.2.3. Inóculo

Ambos reactores fueron inoculados con 400 [mL] de una mezcla del lodo nitrificante que fue enriquecido anteriormente con lodo para la desnitrificación mixotrófica en proporción 70/30 [v/v]. El lodo desnitrificante proviene de la laguna anaerobia de la empresa Agrícola AASA (Palacios, 2023). En la tabla 3-9 se presentan las características iniciales de sólidos suspendidos en el reactor.

Tabla 3-9: Concentración inicial de sólidos para los reactores.

Parámetro	Unidad	Valor
Sólidos suspendidos totales	[mg SST/L]	7020
Sólidos suspendidos volátiles	[mg SSV/L]	3853

3.2.4. Zeolitas

La zeolita usada en esta experiencia proviene de la región del Maule; es molida y tamizada para obtener un diámetro de 1 [mm]. Al reactor RZ se le adiciona una concentración de 15 [g/g SSV], el reactor RC se deja libre de ella. Las características de las zeolitas están en la tabla 3-10.

Tabla 3-10: Características de las Zeolitas

Identificación del Producto	
Nombre del Producto	Zeolita Natural
Marca registrada	FERTOSA
Nombre químico	Aluminosilicatos cálcico potásico magnésico hidratado
Características mineralógicas y fisicoquímicas	
Componente zeolítico principal	Clinoptilolita-Mordenita.
Otros componentes	Plagioclasa, Esmeclita y Cuarzo
Composición química porcentual	SiO ₂ : 64,19
	TiO ₂ : 0,51
	Al ₂ O ₃ : 11,65
	Fe ₂ O ₃ : 2,53
	MnO: 0,03
	MgO: 0,66
	CaO: 3,42
	Na ₂ O: 0,75
	K ₂ O: 1,60
	P ₂ O ₅ : 0,03
	P _x C: 14,64
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	86,82 a 112,88 [cmol/Kg]
Superficie específica (método BET)	446 a 480 m ² /g
Estabilidad térmica	<450 [°C]
Estabilidad química (pH)	8,9

Fuente: (Zeolita del Maule, s. f.)

3.2.5. Estrategia de operación

Al igual que en el enriquecimiento, la estrategia de operación de la puesta en marcha viene definida por sus objetivos: la eliminación del nitrógeno amoniacal y evitar la acumulación de sulfuro en el efluente. Se definen los tiempos de cada proceso y el TRH de cada ciclo, balanceando la eliminación del contaminante con la protección de los microorganismos aerobios y anaerobios de condiciones adversas.

Para lograr las metas, los reactores son operados de forma continua durante 100 días en ciclos con TRH de 1,3 [d] para los primeros 40 y 1,5 [d] para el resto. Los reactores son alimentados con 1 [L] del RIL sintético nitrificante, luego es vaciado y al efluente se le adiciona el sustrato para la desnitrificación y se afora a 1 [L]. Durante la nitrificación se mantiene la aireación constante de los reactores y en la desnitrificación se utiliza agitación mecánica. Ambos reactores se operan a 30 [°C], pH cercano a 7,5 y con SSV de a lo menos 3500 [mg/L].

Este pH se eligió para que, junto al afluente de amonio (150 [mgNH₄⁺/L]), los reactores se operen en la zona 2 del gráfico Anthonisen (figura 2-6), inhibiendo a las BNO por acumulación de FA. Además, se considera el rango de 7 - 8,5 para la operación de la desnitrificación mixotrófica.

En la tabla 3-11 se desglosan los tiempos de cada etapa de un ciclo operativo completo.

Tabla 3-11: Estrategia de operación primera etapa

Etapas	Tiempo
Llenado [h]	0,05
Nitrificación [h]	8
Caída de OD [h]	12
Descarga [h]	0,08
Llenado [h]	0,05
Desnitrificación [h]	24
Sedimentación [h]	0,5
Descarga [h]	0,08
TRH	44,76
TRH [d]	1,87

Después del día 40, se aumenta el tiempo de reacción para la nitrificación a 12 [h] con el fin de aumentar la formación de nitrito sin perjudicar a los microorganismos desnitrificantes.

Tabla 3-12: Estrategia de operación luego del día 40

Etapas	Tiempo
Llenado [h]	0,05
Nitrificación [h]	12
Caída de OD [h]	12
Descarga [h]	0,08
Llenado [h]	0,05
Desnitrificación [h]	24
Sedimentación [h]	0,5
Descarga [h]	0,08
TRH	48,76
TRH [d]	2,03

3.2.6. Variables de medición y control

Se realiza el control de los afluentes y efluentes de cada fase del SND. Ya que el sulfuro solo está involucrado en la desnitrificación, la medición de los compuestos sulfurados se realiza al afluente y efluente de esta fase. Además, debido a que no se deberían encontrar diferencias significativas, no se realiza la medición de compuestos nitrogenados para el afluente de la desnitrificación. Estos parámetros son críticos para la evaluación del comportamiento del lodo y la dinámica microbiana en sistemas de tratamiento, por lo que serán monitoreados periódicamente como parte del control operativo.

Los parámetros, métodos analíticos usados y frecuencia de medición se muestran en la tabla 3-13. Además, se indica el anexo correspondiente a los procedimientos de cada uno. Esto se realiza de acuerdo con el *Standard Methods for the examination of water and wastewater* (APHA, 2017).

Tabla 3-13: Procedimientos de Medición para la Operación de los Reactores

Parámetro	Variable	Método Analítico	Objetivo	Frecuencia	Anexo
Compuestos nitrogenados	NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-	Espectrofotometría	Eficiencia de SND	1 día	a.1 – a.3
Sulfato	SO_4^-	Espectrofotometría	Eficiencia de la desnitrificación	1 día (Solo Desnitrificación)	a.5
Sulfuro	S^{2-}	Electrodo selectivo	Eficiencia de la desnitrificación	1 día (Solo Desnitrificación)	a.4

Tabla 3-13 (cont.): Procedimientos de Medición para la Operación de los Reactores

pH	pH	Electrodo selectivo	Control operacional	1 día	-
Oxígeno disuelto	OD	Electrodo membrana	Control operacional	1 día	-
Sólidos suspendidos totales	SST	Gravimetría	Crecimiento bacteriano	7 días	a.6
Sólidos suspendidos volátiles	SSV	Gravimetría	Crecimiento bacteriano	7 días	a.6

4. Resultados y Discusión

4.1. Etapa de enriquecimiento

En esta etapa se busca aumentar la población de microorganismos del lodo nitrificante inicial, especialmente de las BAO por sobre las BNO para lograr la nitrificación parcial durante la operación de los reactores SBR y SBBR.

4.1.1. Actividad nitrificante

La actividad de los microorganismos en esta etapa se evalúa a través de la evolución de las concentraciones de compuestos de nitrógeno en el efluente con respecto al amonio alimentado al inicio de cada ciclo. Dicha evolución se presenta en la figura 4-1.

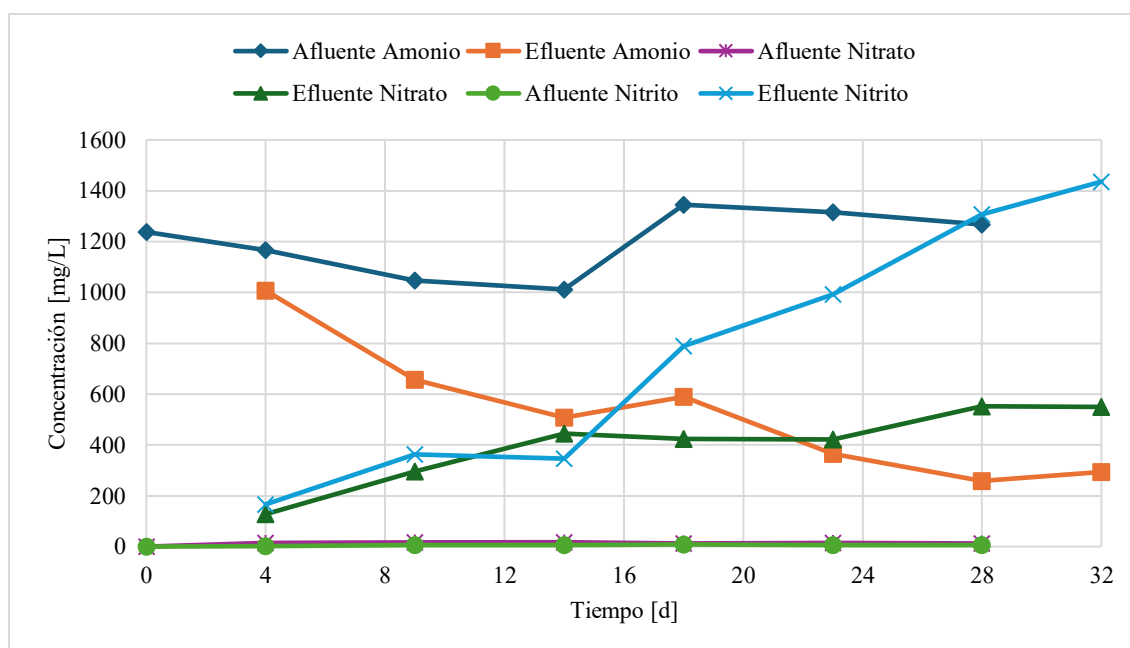


Figura 4-1: Concentración de especies nitrogenadas en el enriquecimiento.

En el primer ciclo, día 0 a 4, se observa un periodo de aclimatación, el cual, al tener un bajo contenido de microorganismos, no se consume una alta cantidad de amonio, oxidando el 19% como se muestra en la figura 4-2, para producir 127,67 [mg/L] de nitrato y 166,3 [mg/L] de nitrito; sin embargo, a partir del ciclo 2 se observa un aumento gradual de la oxidación del amonio de la mano de mayor concentración de nitrito en el efluente. La subida se debe al aumento de la población de microorganismos deseada por la presencia de sustrato específico en el afluente y las condiciones de operación establecidas para inhibir las BNO.

Ya en el ciclo 3 comienza un incremento en la producción de nitrito, pasando de tener 346,04 [mgNO₂/L] al final del 3er ciclo a 1435,84 [mgNO₂/L] al final del último ciclo, esto a la par a la ínfima acumulación de nitrato y nitrito en los afluentes de cada ciclo y al incremento desde 40% hasta el 80% de la oxidación de amonio. Cabe notar que las BAO respondieron bien al enriquecimiento aumentando su actividad: aumento de 759% de producción de nitrito, a diferencia de los BNO que no tienen un aumento tan significativo: de 127,67 [mgNO₃/L] a 548,8 [mgNO₃/L] en el efluente o un aumento de 321% de la producción de nitrito. Este comportamiento es coherente con lo descrito por Liu *et al.* (2020), quienes explican que la inhibición selectiva de las BNO es favorecida bajo pH ligeramente ácido y altas concentraciones de nitrito debido a la formación de FNA.

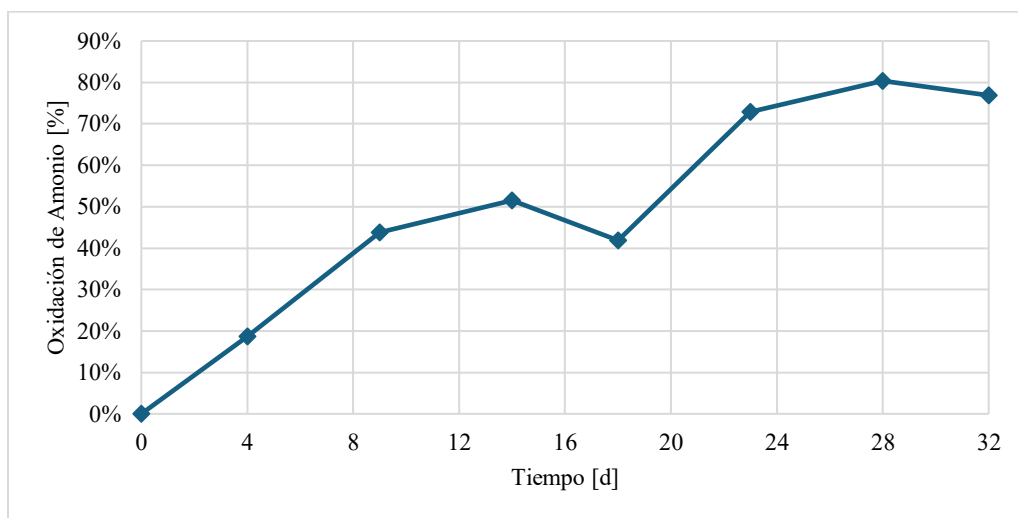


Figura 4-2: Porcentajes de oxidación de amonio en el enriquecimiento.

Al favorecer a las BAO se tiene como consecuencia que a lo largo del enriquecimiento la oxidación de amonio aumenta constantemente, gracias a esto no se presenta acumulación de amonio en el reactor, el cual podría haber sido problemático, ya que inhibiría la actividad microbiana. Los últimos 3 ciclos, que cumplen con la oxidación necesaria, presentan un promedio de concentración de amonio, nitrato y nitrito de 305,75 [mg/L], 507,2 [mg/L] y 1245,47 [mg/L] respectivamente en el efluente.

4.1.2. pH y oxígeno disuelto

Estos parámetros de operación deben estar en el rango óptimo para favorecer el crecimiento de las BAO y la oxidación del amonio a nitrito principalmente, por lo que su oportuno control definirá si es que se necesitan tomar medidas sobre la aireación o el tampón. El pH al inicio de cada ciclo se mantiene cercano a 7,0, mientras se oxida el amonio el potencial de hidrógeno disminuye por la acumulación de protones producto de ello, cada molécula oxidada libera dos protones, por lo tanto, es esperable que a mayor consumo de amonio menor será el pH en el efluente de cada ciclo.

En la figura 4-3 se grafica la evolución del pH en cada ciclo de operación, de ella se concluye que este parámetro sigue un patrón repetido durante todos los ciclos. En la bajada de pH se busca que el nitrito no se oxide a ácido nitroso libre (HNO_2), ya que este inhibiría la actividad de las BAO, además de mantener suficiente concentración de amonio libre para inhibir la actividad de las BNO cortando la nitrificación hasta la formación de nitrito.

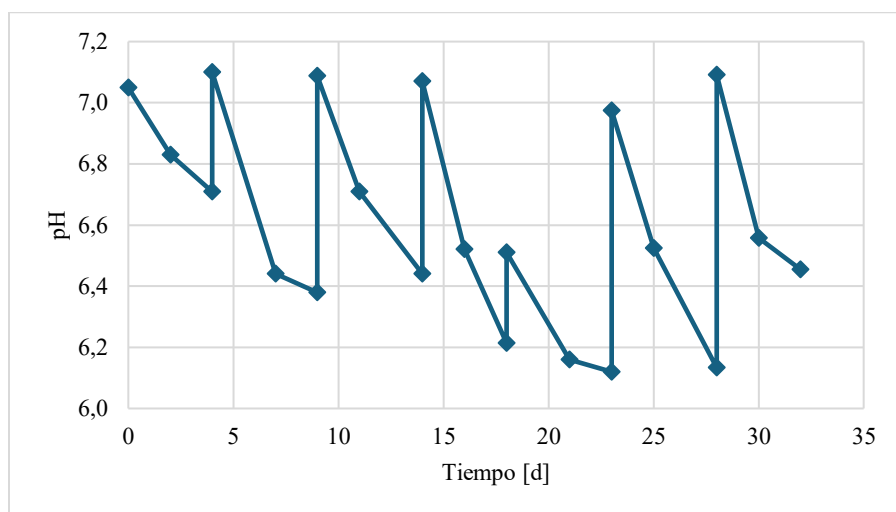


Figura 4-3: Comportamiento del pH en el enriquecimiento.

El oxígeno es un componente fundamental para la nitrificación parcial. Este es el agente que se reducirá al agua para que la oxidación del amonio pueda ocurrir. Es por esto que mantener un suministro constante de aire es importante para la oxidación del amonio. Idealmente, este valor se debe encontrar entre 4,5 y 5,5 [mgO_2/L], aunque el valor

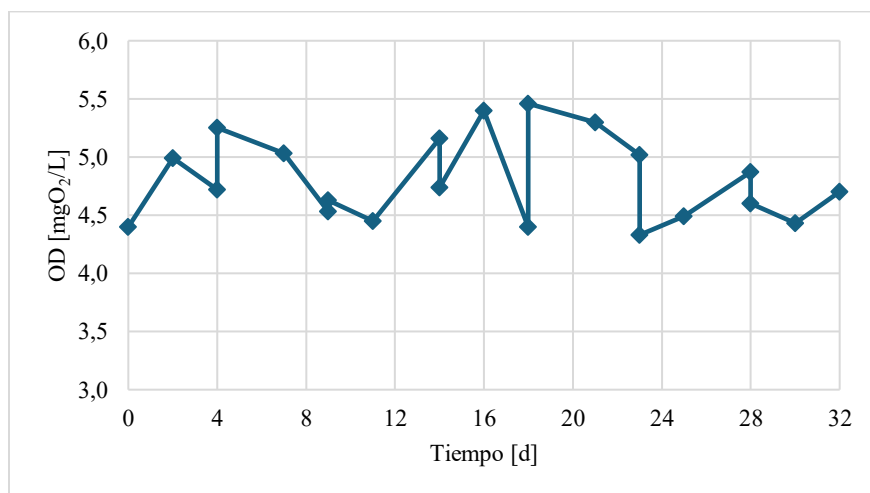


Figura 4-4: Concentración de oxígeno disuelto en el enriquecimiento.

El resultado del enriquecimiento valida la estrategia empleada y coincide con los trabajos de Zhang *et al.* (2020), quienes destacan la necesidad de controlar el pH y OD para inducir el crecimiento y la acumulación selectiva de nitrito en el sistema.

4.1.3. Crecimiento microbiano

El crecimiento microbiano se representa como la evolución de la concentración de sólidos suspendidos dentro del reactor al momento de realizar la medición.

Al inicio de la etapa de enriquecimiento nitrificante, el reactor se inocula con 1680 [mgSSV/L]. Se observó un crecimiento de 1200 [mgSSV/L] durante los 3 primeros días, atribuible a la aclimatación de los microorganismos a las condiciones de operación. Sin embargo, transcurrida la operación del enriquecimiento, hay una leve caída de estos debido a la inhibición de las BNO, también observada por la baja producción de nitrato comparándola con el nitrito. El día 21 vuelve a haber crecimiento específicamente de las BAO, por lo que al terminar esta etapa (día 32), los SSV queden en 4380 [mgSSV/L].

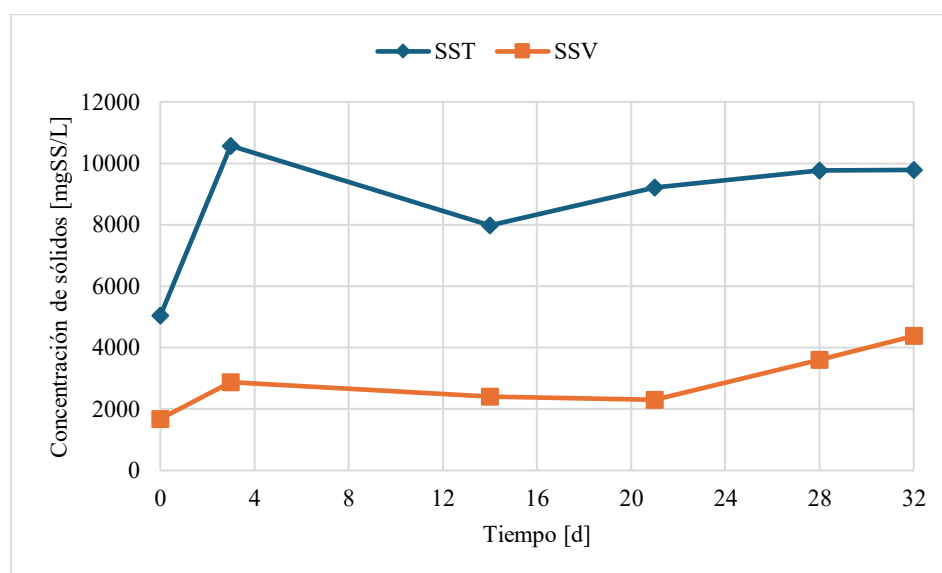


Figura 4-5: Concentración de sólidos durante el enriquecimiento.

Ya que no hubo pérdidas significativas de lodo por lavado o desbordamiento, no se requirió volver a inocular el reactor.

Los valores obtenidos para el crecimiento microbiano están en línea con los valores típicos para el enriquecimiento de BAO cuando se emplean RILes sintéticos y TRH altos (>3 días).

4.2. Etapa de enriquecimiento

En esta etapa se inoculan dos reactores, uno con zeolita, desde ahora referido como RZ, y otro sin, desde ahora referido como RC, con el lodo nitrificante que se enriqueció en la primera etapa y con lodo desnitrificante mixotrófico ya enriquecido (Palacios 2023), para eliminar amoníaco de un RIL sintético con la adición de sulfuro como donador de electrones en la desnitrificación. En esta etapa se establecen como objetivos la eliminación del amonio del RIL a través de su oxidación parcial a nitrito y posterior reducción a nitrógeno gaseoso mediado por el sulfuro adicionado. En este proceso se obtiene sulfato, especie más inocua, para evitar la contaminación del RIL con compuestos sulfurados.

4.2.1. Actividad nitrificante

Para esta etapa se usará la misma metodología para medir la actividad de los organismos nitrificantes, siendo el consumo de nitrato y nitrito como determinantes de la actividad desnitrificante. Esto establece un nuevo objetivo para esta etapa: eliminar sobre el 95% del nitrito presente al iniciar la desnitrificación. Se usará el efluente de la nitrificación para adicionarle carbono inorgánico y sulfuro y usarlo de afluente en la desnitrificación. Las eficiencias de cada ciclo se calculan con base en afluentes y efluentes también de cada ciclo, así la eficiencia de remoción de amonio corresponde a la nitrificación y la de nitrato y nitrito a la desnitrificación. Las eficiencias globales se calcularon para chequear el balance de masa.

Los primeros 40 días, para la operación de los reactores, se utiliza un TRH de 1,87 [d]. Esta etapa se ve caracterizada por una baja estabilidad en el consumo de amonio y como consecuencia en la producción de nitrito durante la nitrificación, lo que se observa claramente en las figuras 4-6 a 4-10, que muestran los valores de concentración para las especies nitrogenadas, el porcentaje de oxidación de amonio y el de reducción de nitrito. Este fenómeno se produce los primeros días por aclimatación de los microorganismos al medio del reactor: la primera semana RZ oxida hasta el 24% del amonio alimentado y RC 29%, similarmente los microorganismos desnitrificantes con un pico de reducción de nitrito de 28% para RZ y 12% para RC.

En promedio los primeros 40 días se obtuvo $163,36 \pm 44,44$ [mgNH₄⁺/L] en el afluente de RZ y $137,81 \pm 39,24$ [mgNH₄⁺/L] para RC. Esta diferencia y la menor eficiencia de la nitrificación en RZ se produjo por acumulación de amonio, por lo que se tomó la decisión, a partir del día 40, de aumentar el tiempo de reacción de nitrificación a 12 [h], lo que aumenta el TRH a 2 [d]. Luego de transcurridos 14 días, se lavó el lodo de RZ: se agrega 1 [L] de agua desionizada y se agita el lodo por 30 [min] a 100 [rpm]; esta operación fue bastante efectiva para reducir la acumulación de amonio y mejorar la eficiencia de las reacciones nitrificantes.

La figura 4-8 muestra los porcentajes de oxidación de amonio de ambos reactores en cada ciclo, se observa que al aumentar el TRH en el día 40 de operación, se presenta una gradual mejora de la oxidación del amonio, sin embargo, el cambio más significativo se ve después de la reinoculación de ambos reactores donde la eficiencia de oxidación aumenta considerablemente para lograr el objetivo establecido.

La modificación que permitió un aumento radical en la eficiencia de la oxidación de amonio a partir del día 60 para RC y 80 para RZ fue la reinoculación, de lodo desnitrificante. La diferencia en los días de reinoculación entre ambos reactores se debió a que el lodo de RZ había sido previamente lavado. Por esto, se decidió esperar unos días para observar los cambios atribuibles exclusivamente al lavado, y así evitar confusiones al identificar qué cambio provocó qué efecto.

Al comparar el promedio de los 10 últimos porcentajes de oxidación de amonio antes de la reinoculación con los obtenidos posteriormente, se observa un aumento significativo, en RZ del $34 \pm 10\%$ a $90 \pm 6\%$, y en RC, del $28 \pm 18\%$ a $90 \pm 8\%$.

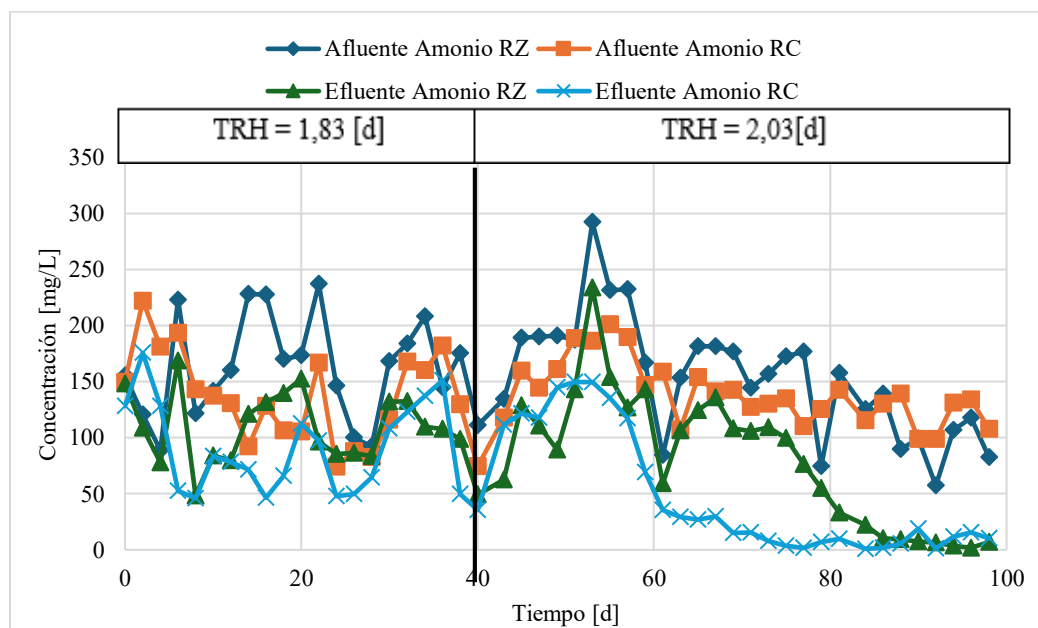


Figura 4-6: Concentración de amonio en los reactores, etapa nitrificante.

Con las modificaciones realizadas se concluye que desde el día 88 se logra el objetivo de consumo mayor al 90% de amonio realizado en operación estable del reactor, ya que se obtuvo un efluente de: $5,84 \pm 2,7$ [mgNH₄⁺/L] para RZ y $10,48 \pm 6,39$ [mgNH₄⁺/L] para RC.

Aunque el nitrato al final de la fase nitrificante no es un producto deseado, pues se está operando en nitrificación parcial, es importante tener en cuenta esta especie, ya que será importante para calcular

la alimentación para la desnitrificación que la sigue y para encontrar acumulación de esta en el efluente de la desnitrificación lo que podría indicar problemas en la desnitrificación.

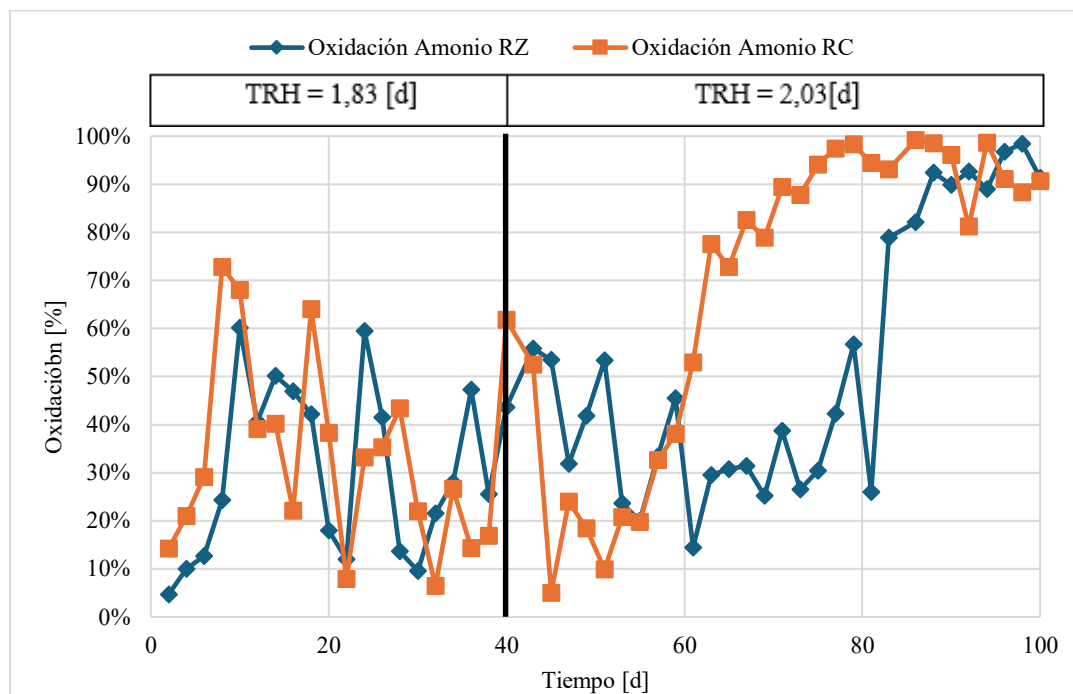


Figura 4-7: Porcentajes de oxidación de amonio en la operación de los reactores, etapa nitrificante.

En las tablas 4-1 y 4-2 se presenta un resumen de los resultados obtenidos de la nitrificación parcial de ambos reactores durante la puesta en marcha. Se puede observar que las BAO tuvieron más actividad que las BNO en especial en los últimos 20 días donde la concentración de nitrito es 3 veces mayor en cada caso, la inhibición de las BNO es dominada por la presencia de FA, evidente con el aumento de la concentración de nitrito en el sistema y la operación del reactor en la zona 2 del gráfico Anthonisen.

Tabla 4-1: Resumen actividad nitrificante en RZ etapa de puesta en marcha.

Días	0 - 20	21 - 40	41 - 60	61 - 80	81 - 100
TRH [d]	1,87	1,87	2,03	2,03	2,03
$\text{NH}_4^+_{\text{in}}$ [mg/L]	164,62	156,76	201,67	150,26	108,37
$\text{NH}_4^+_{\text{out}}$ [mg/L]	114,59	98,17	132,38	98,09	11,24
$\text{NO}_2^-_{\text{out}}$ [mg/L]	29,34	34,51	39,00	92,75	216,23
$\text{NO}_3^-_{\text{out}}$ [mg/L]	20,51	14,02	38,29	49,44	64,22
Oxidación NH_4^+ [%]	31%	30%	40%	33%	90%

Tabla 4-2: Resumen actividad nitrificante en RC etapa de puesta en marcha.

Días	0 - 20	21 - 40	41 - 60	61 - 80	81 - 100
TRH [d]	1,87	1,87	2,03	2,03	2,03
$\text{NH}_4^+_{\text{in}}$ [mg/L]	144,54	124,09	166,15	133,14	121,95
$\text{NH}_4^+_{\text{out}}$ [mg/L]	89,88	86,41	124,08	17,21	8,40
$\text{NO}_2^-_{\text{out}}$ [mg/L]	33,10	72,73	54,34	146,49	173,70
$\text{NO}_3^-_{\text{out}}$ [mg/L]	27,77	31,02	46,65	65,95	51,49
Oxidación NH_4^+ [%]	41%	27%	25%	83%	93%

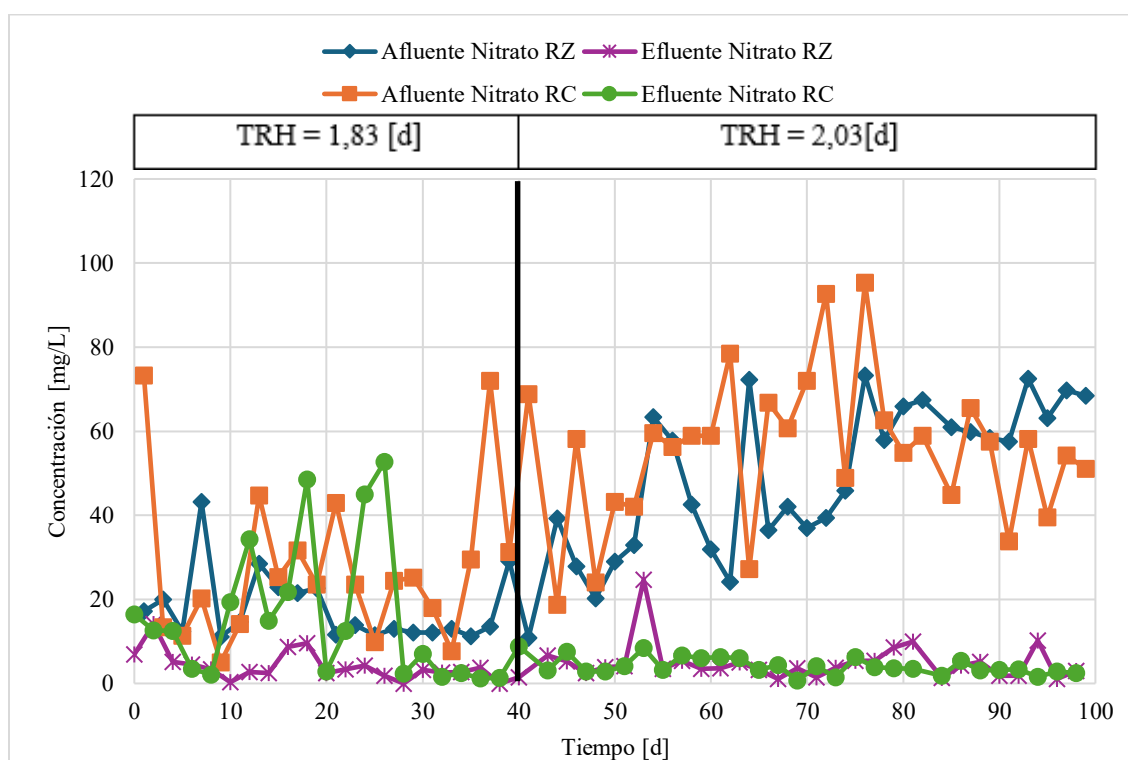


Figura 4-8: Concentración de nitrato en los reactores, etapa desnitrificante.

La remoción de nitrato es el principal objetivo de la desnitrificación, por lo que esta especie actuará como el reactivo límite de las reacciones desnitrificantes, y junto al nitrato como la referencia para la alimentación de acetato y sulfuro de la desnitrificación siguiente.

Los primeros 40 días, correspondientes a los ciclos previos a la modificación del TRH, la operación se caracteriza por la inestabilidad de la remoción de nitrato, más aún en RC, lo que se ve en la figura 4-9. Debido a este comportamiento, se decidió aumentar el tiempo de reacción de la nitrificación para disminuir la acumulación de amonio en el sistema y así evitar la inhibición.

Cabe notar que el reactor RZ presenta una estabilidad mayor al reactor control RC. Esta diferencia y robustez se debe a la formación de la biopelícula que permite la permanencia simultánea de zonas aerobias y anaerobias que favorecen la actividad de los microorganismos favorables para el proceso (Jagaba *et al.* 2021-a).

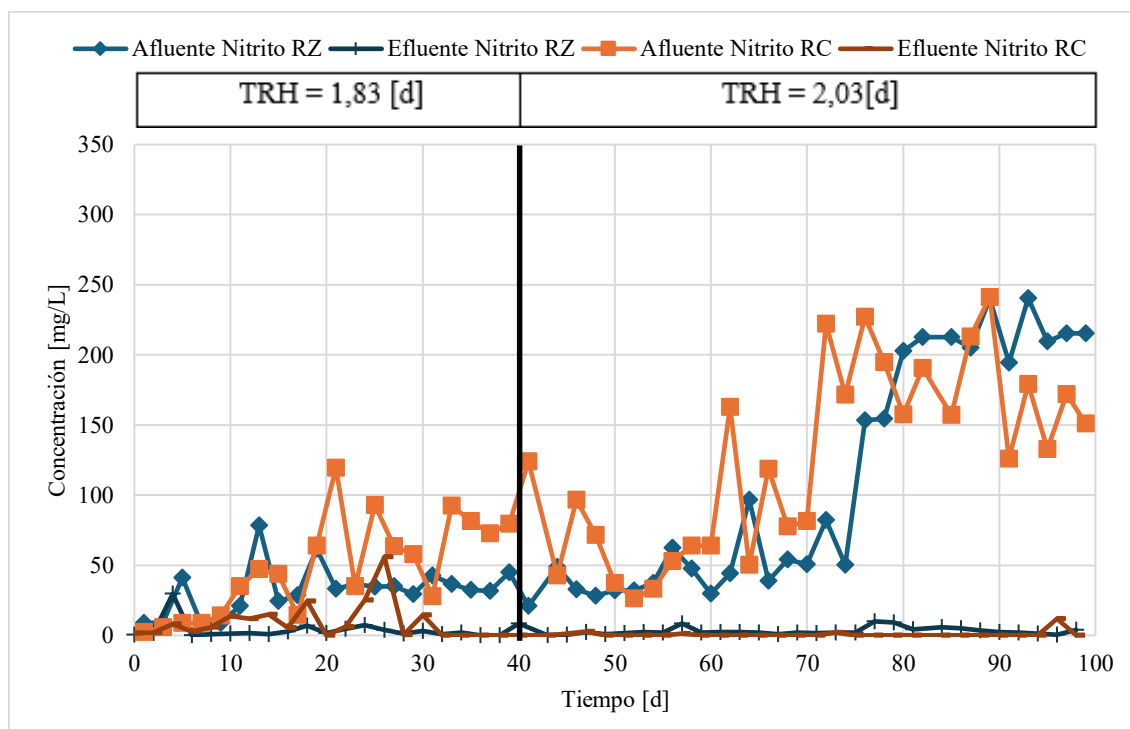


Figura 4-9: Concentración de nitrato en los reactores, etapa desnitrificante.

4.2.1. Actividad desnitrificante

El sulfuro de sodio es adicionado en razón 1,6 veces la estequiométrica al inicio de la desnitrificación para que actúe como agente reductor para el nitrato, los iones sulfuro que esta sal aportan se oxidarán entregando los electrones necesarios para reducir el nitrato y nitrato presentes en el RIL. Como resultado de estas reacciones redox, se eliminan contaminantes nitrogenados y se produce sulfato, el cual es inocuo a la hora de ser vertido a cuerpos de agua o al alcantarillado.

La reducción de nitrato para cada reactor se observa en la figura 4-10. Para evaluar que ella ocurra de forma satisfactoria se toman muestras de sulfuro y sulfato en el afluente y efluente de la desnitrificación de cada ciclo. Los resultados se muestran en las figuras 4-11 y 4-12 que entregan las concentraciones de ambos reactores. La concentración de sulfato en el inicio de cada ciclo de desnitrificación se midió para monitorear la acumulación de este compuesto en el lodo, ya que una alta acumulación de este puede afectar la eliminación del nitrato (Bourceau *et al.*, 2023).

En la tabla 4-3 y 4-4 está el resumen de los resultados de la desnitrificación mixotrófica para ambos reactores durante la puesta en marcha. De ellas se observa que el aumento de TRH y la adición de lodos no tuvo importancia significativa, ya que durante la operación de ambos reactores la eficiencia de reducción de nitrito siempre se mantuvo sobre 90%, exceptuando los primeros días donde esta se vio afectada por la aclimatación del sistema.

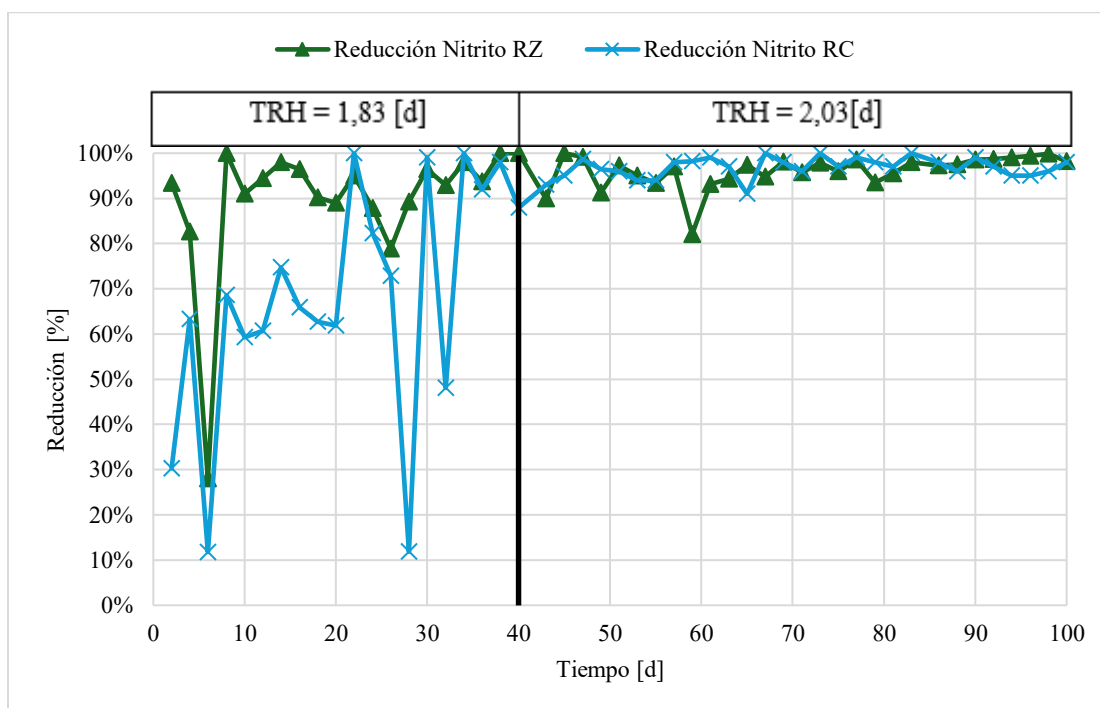


Figura 4-10: Porcentajes de reducción de nitrito en la operación de los reactores, etapa desnitrificante.

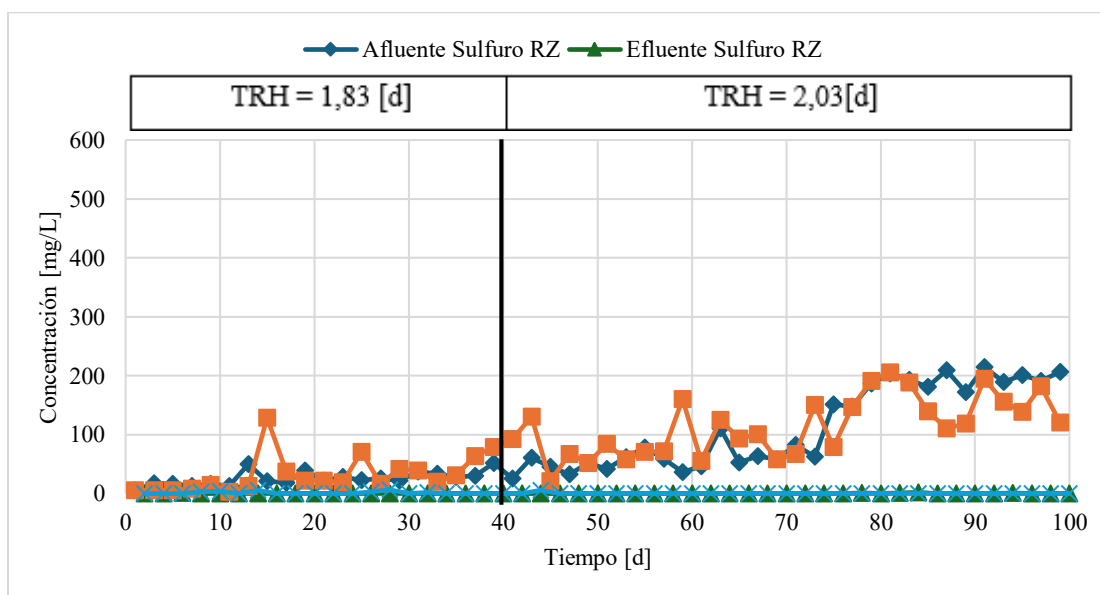


Figura 4-11: Concentración de Sulfuro en la desnitrificación de ambos reactores, etapa desnitrificante.

En lo general, la eliminación de nitrógeno como nitrito es exitosa, percibiendo siempre una concentración tendiente a cero. De esto se puede concluir que la reducción mixotrófica de este fue altamente eficiente a partir del día 40, donde se logra eliminar más del 90% del contaminante, y esta fase se opera establemente a partir del 63 si se usa la reducción de él como referencia.

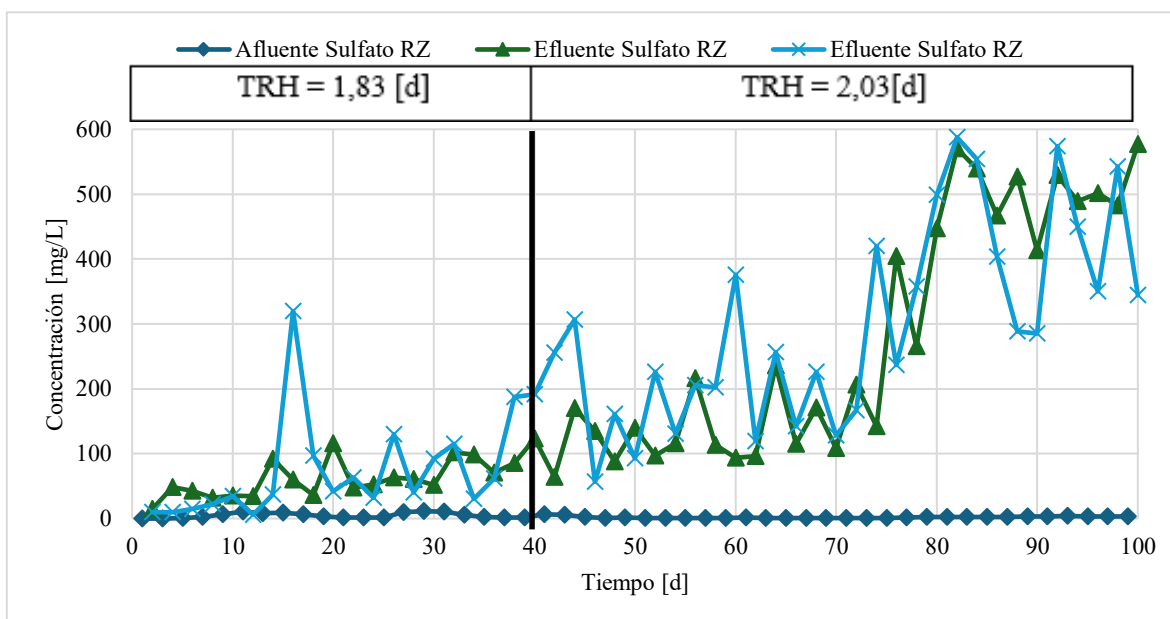


Figura 4-12: Concentración de Sulfuro en la desnitrificación de ambos reactores, etapa desnitrificante.

Tabla 4-3: Resumen actividad desnitrificante en RZ etapa de puesta en marcha.

Días	0 - 20	21 - 40	41 - 60	61 - 80	81 - 100
TRH [d]	1,87	1,87	2,03	2,03	2,03
S^{2-}_{in} [mg/L]	21,04	30,10	49,33	195,25	196,26
S^{2-}_{out} [mg/L]	0,30	0,27	0,002	0,08	0,07
SO_4^{2-} [mg/L]	51,07	75,62	123,08	508,74	509,50
Reducción NO_2^- [%]	86%	93%	94%	96%	98%

Tabla 4-4: Resumen actividad desnitrificante en RC etapa de puesta en marcha.

Días	0 - 20	21 - 40	41 - 60	61 - 80	81 - 100
TRH [d]	1,87	1,87	2,03	2,03	2,03
S^{2-}_{in} [mg/L]	24,35	40,08	80,92	198,55	155,68
S^{2-}_{out} [mg/L]	1,20	1,13	0,60	0,05	0
SO_4^{2-} [mg/L]	59,21	94,36	201,36	543,28	437,91
Reducción NO_2^- [%]	56%	79%	96%	98%	97%

La inestabilidad vista en los gráficos viene de la mano con la oxidación del amonio y con las variaciones propias que se producen en la alimentación y en la determinación de estos factores. Sin embargo, la remoción de estos compuestos es bastante eficiente en el sentido de que la acumulación de ellos a lo largo de la operación es mínima, se reportan concentraciones de $3,18 \pm 2,98$ [mgS⁻²/L] en RZ y $3,08 \pm 5,32$ [mgS⁻²/L] para RC, y $0,13 \pm 0,22$ [mgSO₄⁻²/L] en RZ y $0,59 \pm 1,6$ [mgSO₄⁻²/L] en el afluente de la desnitrificación para cada reactor.

El comportamiento de las curvas de ambos gráficos es similar, lo que quiere decir que el sulfuro adicionado mayoritariamente se oxida a sulfato, es decir, no se acumulan intermediarios tóxicos para el ecosistema acuático y sus beneficiarios. Otro factor que notar es la diferencia entre los valores de concentración para el sulfato y sulfuro en un mismo ciclo, esto es, por la diferencia de peso molecular, donde 1 [mol] de sulfato tiene 2,4 veces más masa que uno de sulfuro. Esta razón explica la gran diferencia de concentración al final de la experimentación y la pequeña al inicio de ella.

Al analizar la actividad desnitrificante de ambos reactores con respecto al acoplamiento mixotrófico se puede decir que RZ presentó una coexistencia balanceada de los microorganismos de ambas categorías, gracias a la acción de la biopelícula formada en las zeolitas. Por otro lado, RC presenta un acoplamiento deficiente en los primeros días, lo que sugiere que el carbono pudo haber sido consumido para otras actividades, como rutas fermentativas, además de que la alta producción de SO₄⁻² sugiere que en RC predominó la ruta autótrofa con menor integración de la heterótrofa.

4.2.2. pH y oxígeno disuelto

En esta etapa se plantean como parámetro operativo un pH cercano a 7,5 para ambas etapas, esto con el fin de favorecer la nitrificación parcial por sobre la total, al igual que inhibir las BNO y mantener la actividad enzimática de las bacterias desnitrificantes para que reduzcan el nitrito. Para el OD se tienen presentes dos objetivos: mantener un suministro de oxígeno suficiente para la nitrificación y mantener el OD < a 0,5 mg/L para la etapa de desnitrificación (Liu *et al.*, 2020).

El comportamiento del pH se presenta en la figura 4-13. En promedio, el valor de pH fue de $7,5 \pm 0,22$, mantenido por la adición del tampón fosfato.

La figura 4-14 muestra las concentraciones de OD obtenidas en las mediciones al inicio y final de cada fase. En la fase de nitrificación, la bomba de piscina se mantiene constantemente encendida entregando aire suficiente para mantener una concentración de $6,54 \pm 0,6$ [mg/L] de oxígeno, mientras que, en el efluente transcurridas 12 [h] desde el apagado de la bomba de aireación se obtiene $1,23 \pm 0,48$ [mg/L]. La alta concentración de OD no tuvo efectos significativos en la acumulación de nitrito,

esto debido a que ambos reactores fueron operados en la zona inhibitoria de BNO por FA del gráfico Anthonisen (Figura 2-6). Para la desnitrificación se busca que el OD tenga valores menores a 0,5 para no entorpecer la actividad desnitrificante e inhibir la actividad nitrificante, la cual competirá con los microorganismos autótrofos por la fuente de carbono para oxidar el amonio restante en el licor. Para este parámetro se obtuvieron valores de $0,23 \pm 0,13$ [mg/L] para el afluente y $0,18 \pm 0,09$ [mg/L] para el efluente de la desnitrificación, cumpliendo el objetivo de dar las condiciones óptimas para la desnitrificación.

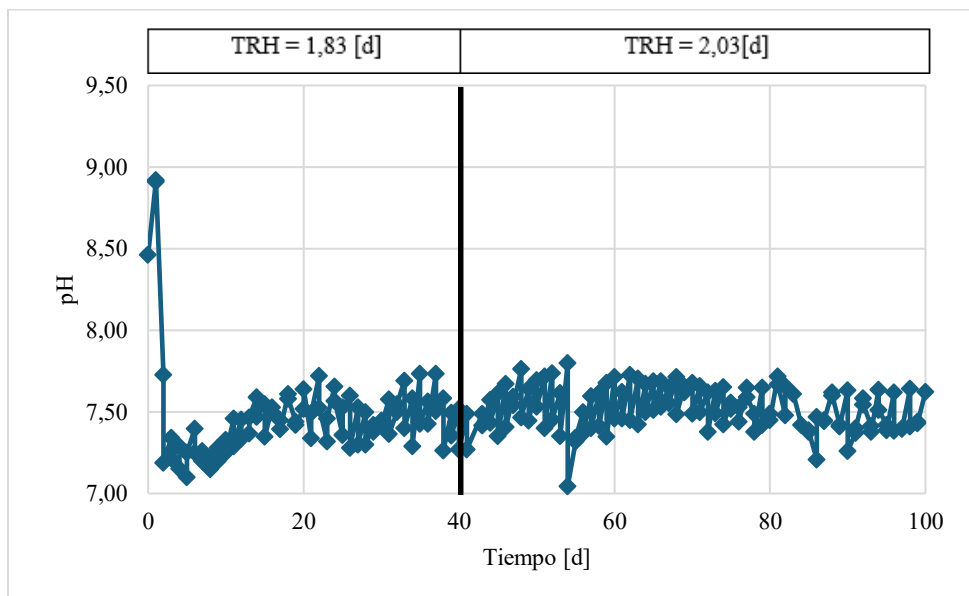


Figura 4-13: Comportamiento del pH en la operación de RZ.

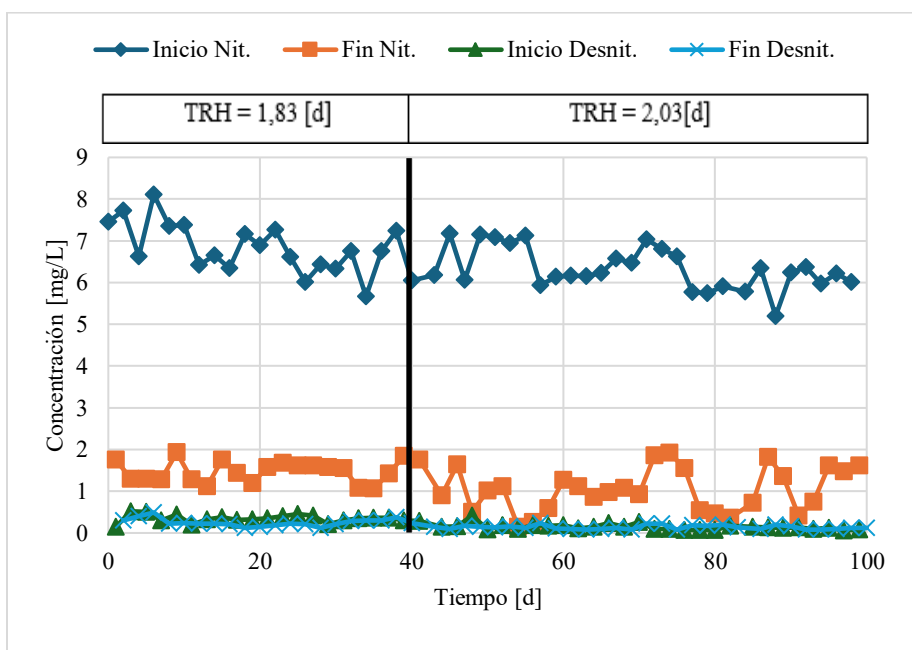


Figura 4-14: Concentración de oxígeno disuelto durante la operación de RZ.

Analizando ambas etapas, se puede observar que el uso de zeolitas no solo aumenta la estabilidad del sistema, sino que presentó mejoras en la eficiencia de remoción de nitrato y la oxidación del sulfuro.

4.2.3. Crecimiento microbiano

Para esta etapa se evaluará el crecimiento microbiano a través de la medición de sólidos suspendidos totales y volátiles. Ambos reactores se inocularon en proporción 70/30 [v/v] con lodo nitrificante y desnitrificante, respectivamente.

Hasta el día 9 se tiene un periodo de aclimatación en el cual los microorganismos se adaptan a sus nuevas condiciones, para luego tener un crecimiento hasta 8277 [mgSSV/L] gracias a la disponibilidad de sustrato, seguido por una importante caída, la cual se puede deber a la inhibición de las BNO presentes en el lodo nitrificante por pH o por la presencia de amonio libre en el medio, como también a la adherencia de la microbiota del lodo a las zeolitas, hecho el cual causará una baja aparente de la biomasa si esta se mide a través de SSV (Pérez-Pérez *et al.*, 2021). Luego, los SSV se mantienen estables en $2875 \pm 424,52$ [mgSSV/L]. El día 72 se decidió agregar lodo desnitrificante con el fin de mejorar la eficiencia de oxidación de amonio, es por esto que los posteriores días se observa un aumento constante de la biomasa hasta el final del experimento con 6413 [mgSSV/L].

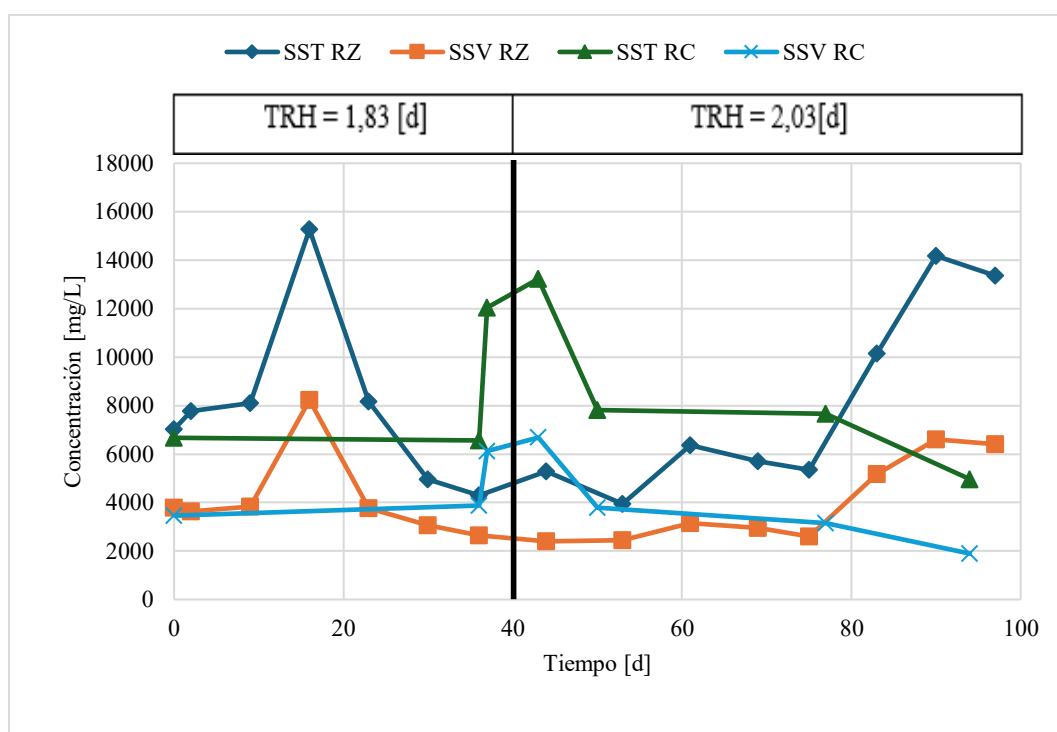


Figura 4-15: Concentración de sólidos durante la operación de RZ.

4.2.4. Carbono orgánico

La fuente de carbono orgánico presente en el RIL que actuó como donante de electrones para los microorganismos desnitrificantes heterótrofos es el acetato de potasio (CH_3COOK).

La figura 4-16 presenta los valores obtenidos al medir el carbono orgánico total (TOC) obtenidos del el efluente y afluente de la etapa de desnitrificación en ambos reactores. En vez de medir la DQO se utilizó un equipo multi N/C 3100 para medir el TOC, ya que el cloro presente en el cloruro de amonio utilizado para alimentar la etapa de nitrificación puede causar interferencias en los valores (Palacios, 2023). Ambos reactores, los primeros 35 días, presentan baja concentración de TOC; esto tiene sentido al compararlo con la baja producción característica de estos días. Luego del día 40 se presenta un gran crecimiento en ambos reactores, esto a la par con la mejora de la remoción de nitrito que superó el 90%, lo que evidencia un aumento de la actividad de los organismos heterótrofos. A partir del día 90 se observa una disminución en la disponibilidad de materia orgánica, lo que sugiere que durante estos la desnitrificación se dio mayoritariamente por vía autótrofa. La menor presencia de picos en los gráficos y la menor concentración de carbono orgánico en RZ sugiere que la presencia de la biopelícula en las zeolitas significó una mejor utilización del carbono orgánico alimentado.

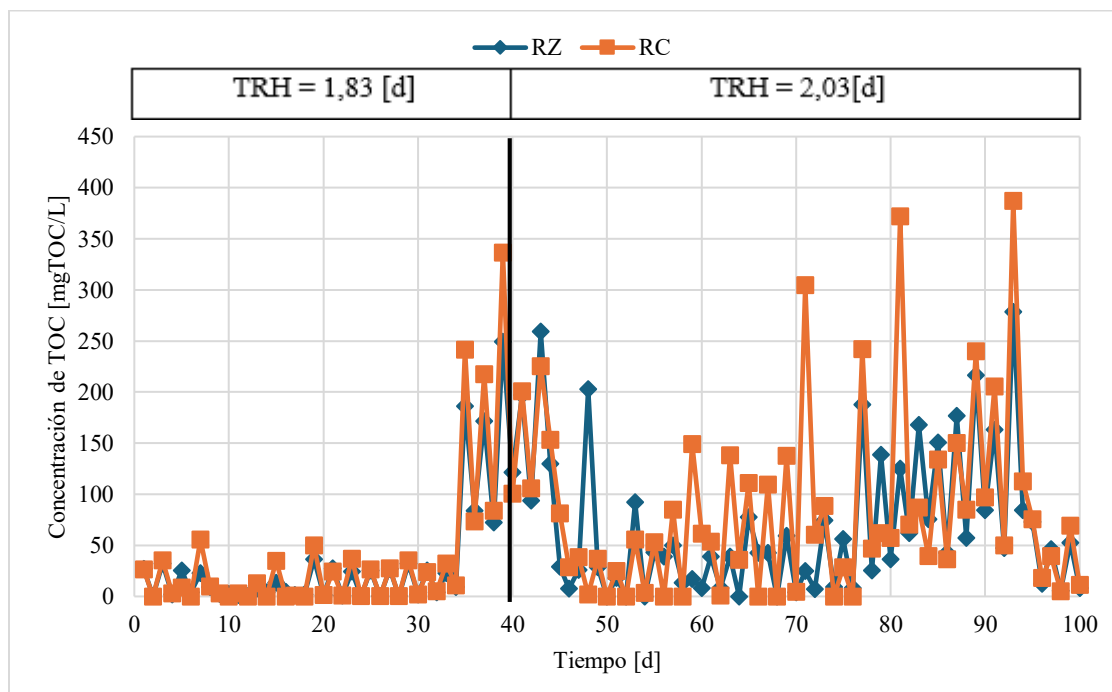


Figura 4-16: Valores de TOC para los reactores durante la etapa desnitrificante.

La figura 4-17 representa la eficiencia del consumo del TOC en ambos reactores. De él se concluye que RC presenta una menor variabilidad en el consumo de carbono al compararlo con RZ, especialmente en los primeros 20 días, esto podría haber ocurrido por fluctuaciones en la actividad

en la biopelícula entre los microorganismos desnitrificantes autótrofos y heterótrofos los cuales competirían por el nitrato producido en la nitrificación parcial, sin embargo, el reactor logra recuperarse presentando fluctuaciones entre periodos de alto consumo y bajo consumo de TOC.

En conclusión, RZ presenta mayor rendimiento en la remoción de TOC y nitrógeno la mayoría del tiempo, y RC es más estable en el consumo del carbono, lo que respalda el efecto de la biopelícula formada en superficie de las zeolitas de RZ, que favorecen la formación de microambientes más estables para los microorganismos desnitrificantes.

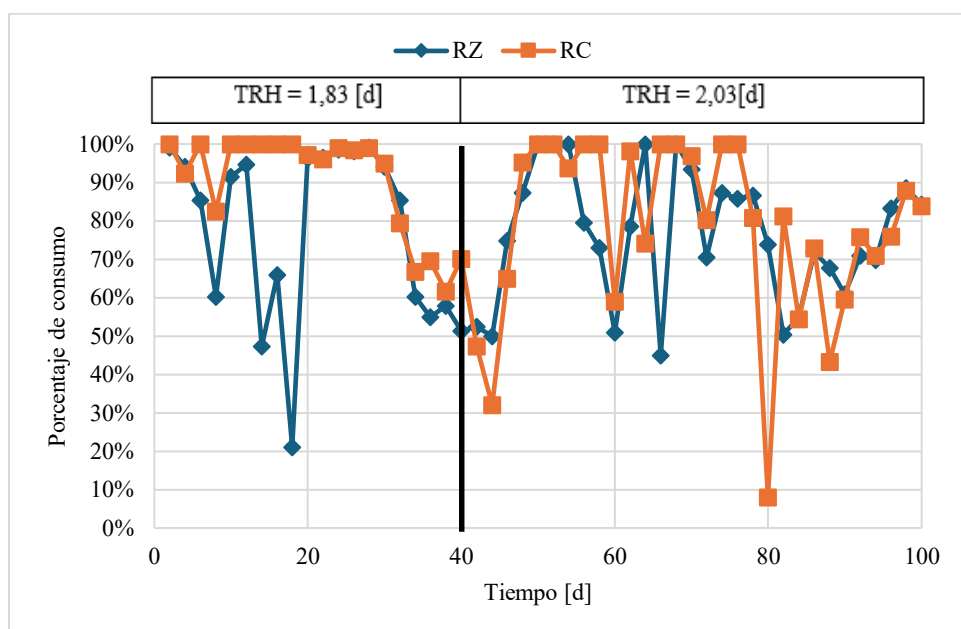


Figura 4-17: Porcentajes de consumo de carbono orgánico en la operación de los reactores, etapa desnitrificante

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

El trabajo realizado y los resultados obtenidos permiten obtener las siguientes conclusiones:

- Se logró enriquecer exitosamente un inóculo de microorganismos nitrificantes operando el reactor con un TRH de 4 [d]. Se logró oxidar el 77% del amonio alimentado, donde el 71% del amonio consumido, se transformó en nitrito. Durante esta etapa se observó un crecimiento del 260% del inóculo inicial, el cual en su mayoría se trata de BAO.
- Con las condiciones iniciales de la segunda etapa, se oxidó el 30% del amonio en RZ y 35% en RC y reducir el 90% y 68% del nitrito producido en RZ y RC, respectivamente.
- Debido a la baja oxidación de amonio, se aumentó el TRH a 2 días, aumentando de 8 a 12 horas el tiempo de la nitrificación y agregando además lodo desnitrificante. Con ello se logró en los últimos 20 días oxidar el 90% del amonio y reducir el 98% del nitrito en ambos reactores.
- El uso de zeolita en RZ favoreció el desarrollo de biomasa adherida y su uso hace que la operación del reactor sea más estable a cambios en la operación. Además, disminuyeron los sólidos suspendidos en el efluente del reactor, sin disminuir la eficiencia de remoción de contaminantes.
- Durante la desnitrificación mixotrófica se logró oxidar en promedio el 99% y 97% del sulfuro añadido a RC y RZ, respectivamente, y consumir el 74% y 83% del carbono orgánico.
- Se logró una coexistencia efectiva entre microorganismos nitrificantes y desnitrificantes para la eliminación del nitrógeno amoniacal. Sin embargo, la sinergia mixotrofica fue más efectiva en RZ, mientras que en RC se favoreció la vía autótrofa.

5.2. Recomendaciones

Basándose en el trabajo realizado, se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

- Ya que el sulfuro de sodio es una sal volátil, su manipulación debe realizarse bajo campana, ya que puede reaccionar liberando ácido sulfhídrico, el cual es altamente tóxico.
- Por lo anterior, se deben realizar inmediatamente las mediciones de sulfuro por electrodo selectivo, ya que sus valores se verán alterados si es que transcurre el tiempo de la toma de muestra.

6. Bibliografía

- Acuña, V., Celic, M., Corominas, L., Gernjak, W., Gutiérrez, N., Insa, S., Munné, A., Sanchís, J., Solà, C., and Farré, M. J. (2023). Could we estimate industrial wastewater flows composition using the UN-ISIC classification system? *Heliyon*, 9(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14253>
- American Public Health Association (Ed.). (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater (23th. RD edition (2017)) [Ediciones 1971-2023]. American Public Health Association.
- Asociación Nacional de Empresas de Servicios Sanitarios. (2024). Reporte de indicadores de la industria 2024. <https://www.andess.cl/reportes/>
- Bellenger Herrera, A. M. (2023). Enriquecimiento y puesta en marcha de un sistema SBR para evaluar el efecto de la zeolita como soporte microbiano en la eliminación de nitrógeno amoniacal mediante el proceso de nitrificación parcial. Memoria UTFSM.
- Blesa, M. (2020). La industria química y la contaminación: Historia del azufre y del ácido sulfúrico. *INDUSTRIA Y QUÍMICA*, 25(370), 25-32.
- Bolsan, A. C., Hollas, C. E., Rodrigues, H. C., Cavaler, J. P., Lazaroto, A. C., Gabiatti, N. C., Bortoli, M., Johann, G., Antes, F. G., Kunz, A., Edwiges, T., and De Prá, M. C. (2024). Challenges and Operational Strategies to Achieve Partial Nitrification in Biological Wastewater Treatment: A Review. *International Journal of Environmental Research*, 18(2), 22. <https://doi.org/10.1007/s41742-024-00572-y>
- Bourceau, O. M., Ferdelman, T., Lavik, G., Musmann, M., Kuypers, M. M. M., and Marchant, H. K. (2023). Simultaneous sulfate and nitrate reduction in coastal sediments. *ISME Communications*, 3(1), 17. <https://doi.org/10.1038/s43705-023-00222-y>
- 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*, 99(5), 1293-1299.
- Chang, C.-W., Septiariva, I. Y., Chang, J., and Chuang, S.-H. (2024). Nitrate removal by a sulfur-based autotrophic process: Insights into performance, kinetics behavior and community. *Desalination and Water Treatment*, 317, 100199. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100199>
- Choudri, B. S., Al-Awadhi, T., Charabi, Y., and Al-Nasiri, N. (2020). Wastewater treatment, reuse, and disposal-associated effects on environment and health. *Water Environment Research*, 92(10), 1595-1602. <https://doi.org/10.1002/wer.1406>
- Dahl, C. (2020). A biochemical view on the biological sulfur cycle. En P. N. L. Lens (Ed.), *Environmental Technologies to Treat Sulphur Pollution: Principles and Engineering* (2.a ed., pp. 55-96). IWA Publishing. https://doi.org/10.2166/9781789060966_0055
- de Magalhães, L. F., da Silva, G. R., and Peres, A. E. C. (2022). Zeolite Application in Wastewater Treatment. *Adsorption Science and Technology*, 2022, 4544104. <https://doi.org/10.1155/2022/4544104>
- Establece norma de emisión de residuos líquidos a aguas subterráneas, Decreto Supremo N°46/2002 (2002). <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=206883>
- Establece norma de emisión para la regulación de Contaminantes asociados a las descargas de residuos Industriales líquidos a sistemas de alcantarillado, Decreto Supremo N°609/1998 (1998). <https://www.bcn.cl/leychile>
- Establece norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales, Decreto Supremo N°90/2000 (2000). <https://www.bcn.cl/leychile>

- Fu, X., Hou, R., Yang, P., Qian, S., Feng, Z., Chen, Z., Wang, F., Yuan, R., Chen, H., and Zhou, B. (2022). Application of external carbon source in heterotrophic denitrification of domestic sewage: A review. *Science of The Total Environment*, 817, 153061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153061>
- Hermosilla, I. (2024, febrero 13). Conoce las 58 comunas bajo escasez hídrica en Chile: Afectan a más de 1 millón y medio de personas. *BioBioChile - La Red de Prensa Más Grande de Chile*. <https://www.biobiochile.cl/noticias/servicios/explicado/2024/02/13/conoce-las-58-comunas-bajo-escasez-hidrica-en-chile-afectan-a-mas-de-1-millon-y-medio-de-personas.shtml>
- Jagaba, A. H., Kutty, S. R. M., Lawal, I. M., Abubakar, S., Hassan, I., Zubairu, I., Umaru, I., Abdurraheed, A. S., Adam, A. A., Ghaleb, A. A. S., Almahbashi, N. M. Y., Al-dhawi, B. N. S., and Noor, A. (2021-b) Sequencing batch reactor technology for landfill leachate treatment: A state-of-the-art review. *Journal of Environmental Management*, 282, 111946. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.111946>
- Jagaba, A. H., Kutty, S. R. M., Noor, A., Birniwa, A. H., Affam, A. C., Lawal, I. M., Kankia, M. U., and Kilaco, A. U. (2021-a) A systematic literature review of biocarriers: Central elements for biofilm formation, organic and nutrients removal in sequencing batch biofilm reactor. *Journal of Water Process Engineering*, 42, 102178. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102178>
- James, S. N., and Vijayanandan, A. (2023). Recent advances in simultaneous nitrification and denitrification for nitrogen and micropollutant removal: A review. *Biodegradation*, 34(2), 103-123. <https://doi.org/10.1007/s10532-023-10015-8>
- Kumar, H. (2022). *Advanced Techniques of Analytical Chemistry: Volume 1*. Bentham Science Publishers.
- Liu, X., Kim, M., Nakhla, G., Andalib, M., and Fang, Y. (2020). Partial nitrification-reactor configurations, and operational conditions: Performance analysis. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4), 103984. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103984>
- Loh, Z. Z., Zaidi, N. S., Syafiuddin, A., Yong, E. L., Bahrodin, M. B., Aris, A., and Boopathy, R. (2023). Current status and future prospects of simultaneous nitrification and denitrification in wastewater treatment: A bibliometric review. *Bioresource Technology Reports*, 23, 101505. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101505>
- Ministerio del Medio Ambiente. (s. f.-a). Estructura organizacional. educacion.mma.gob.cl. Recuperado 22 de abril de 2025. <https://mma.gob.cl/estructura-organizacional/>
- Ministerio del Medio Ambiente. (s. f.-b). Historia del Ministerio del Medio Ambiente. educacion.mma.gob.cl. de 22 de abril de 2025. <https://mma.gob.cl/historia/>
- Ministerio del Medio Ambiente (2013). Aprueba Reglamento para la Dictación de Normas de Calidad Ambiental y de Emisión, Decreto 38. <https://bcn.cl/2kaks>
- Mohtashim, Q., Asim, F., and Farooq, S. (2021). Aftertreatments of Sulfur Black 1 Dyed Cotton Fabric: Optimization of Process Parameters for Developing a Protective System to Improve Color Retention. <https://doi.org/10.14504/ajr.8.1.5>
- Nunes, R. R. (with Rezende, M. O. de O.). (2022). *O solo: Estrutura e composição*. Cubo Multimídia Ltda-Me.
- Opoku, E. E. O., and Aluko, O. A. (2021). Heterogeneous effects of industrialization on the environment: Evidence from panel quantile regression. *Structural Change and Economic Dynamics*, 59, 174-184. <https://doi.org/10.1016/j.strueco.2021.08.015>
- Palacios Molina, M. (2023). Estudio de la influencia de la fuente de azufre y de la relación S/N en la desnitrificación simultánea heterótrofa-autótrofa. Memoria UTFSM.
- Pérez-Pérez, T., Pereda-Reyes, I., Correia, G. T., Pozzi, E., Kwong, W. H., Oliva-Merencio, D., Zaiat, M., Montalvo, S., and Huiliñir, C. (2021). Performance of EGSB reactor using natural zeolite as support for treatment of synthetic swine wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(1), 104922. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104922>

- Rather, M. A., Gupta, K., and Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: Formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies | Brazilian Journal of Microbiology. En Brazilian Journal of Microbiology (Vol. 52, pp. 1701-1718). <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-021-00624-x>
- Tiwari, A. K., and Pal, D. B. (2022). Chapter 11—Nutrients contamination and eutrophication in the river ecosystem. En S. Madhav, S. Kanhaiya, A. Srivastav, V. Singh, and P. Singh (Eds.), *Ecological Significance of River Ecosystems* (pp. 203-216). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85045-2.00001-7>
- Valenzuela, H. (2023). Ecological Management of the Nitrogen Cycle in Organic Farms. *Nitrogen*, 4(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/nitrogen4010006>
- Van Huynh, V., Ngo, M. T. T., Itayama, T., Nguyen, M. B., Vo, T.-D.-H., Vo, T.-K.-Q., Le, V.-G., You, S., Nguyen, P.-T., and Bui, X.-T. (2023). Dynamic of microbial community in simultaneous nitrification and denitrification process: A review. *Bioresource Technology Reports*, 22, 101415. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101415>
- Wang, H., Chen, N., Feng, C., and Deng, Y. (2021). Insights into heterotrophic denitrification diversity in wastewater treatment systems: Progress and future prospects based on different carbon sources. *Science of The Total Environment*, 780, 146521. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146521>
- Wang, T., Li, X., Wang, H., Xue, G., Zhou, M., Ran, X., and Wang, Y. (2023). Sulfur autotrophic denitrification as an efficient nitrogen removals method for wastewater treatment towards lower organic requirement: A review. *Water Research*, 245, 120569. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120569>
- Wu, B., Liu, F., Fang, W., Yang, T., Chen, G.-H., He, Z., and Wang, S. (2021). Microbial sulfur metabolism and environmental implications. *Science of The Total Environment*, 778, 146085. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146085>
- Yin, W., Wang, K., Xu, J., Wu, D., and Zhao, C. (2018). The performance and associated mechanisms of carbon transformation (PHAs, polyhydroxyalkanoates) and nitrogen removal for landfill leachate treatment in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR). *RSC Advances*, 8, 42329-42336. <https://doi.org/10.1039/C8RA07839D>
- Zak, D., Hupfer, M., Cabezas, A., Jurasinski, G., Audet, J., Kleeberg, A., McInnes, R., Kristiansen, S. M., Petersen, R. J., Liu, H., and Goldammer, T. (2021). Sulphate in freshwater ecosystems: A review of sources, biogeochemical cycles, ecotoxicological effects and bioremediation. *Earth-Science Reviews*, 212, 103446. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103446>
- Zeolita del Maule. (s. f.). Ficha técnica Zeolita Natural. Recuperado 10 de mayo de 2025, de <https://zeolitadelmaule.com/producto/4-6-mm/>
- Zhang, J., Fan, C., Zhao, M., Wang, Z., Jiang, S., Jin, Z., Bei, K., Zheng, X., Wu, S., Lin, P., and Miu, H. (2023). A comprehensive review on mixotrophic denitrification processes for biological nitrogen removal. *Chemosphere*, 313, 137474. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137474>
- Zhang, X., Gao, M., Chattha, S. A., Zhu, Y., Peng, B., and Ye, Y. (2021). Application of acidic protease in the pickling to simplify the pelt bating process. *Journal of Leather Science and Engineering*, 3(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s42825-021-00068-x>
- Zhang, X., Ward, B. B., and Sigman, D. M. (2020). Global Nitrogen Cycle: Critical Enzymes, Organisms, and Processes for Nitrogen Budgets and Dynamics. *Chemical Reviews*, 120(12), 5308-5351. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00613>
- Zhao, Y., Li, Q., Cui, Q., and Ni, S.-Q. (2022). Nitrogen recovery through fermentative dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA): Carbon source comparison and metabolic pathway. *Chemical Engineering Journal*, 441, 135938. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135938>
- Zhou, Q., and Wang, J. (2024). Sulfur-based mixotrophic denitrification: A promising approach for nitrogen removal from low C/N ratio wastewater. *Science of The Total Environment*, 957, 177419. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177419>

Anexos

a. Procedimientos de análisis de parámetros operativos

Se usarán adaptaciones de los métodos entregados por la *American Public Health Association* en la edición 23 del libro *Standard methods for the examination of water and wastewater* (American Public Health Association, 2017).

a.1 Determinación de amonio por método fenol

Este método se basa en la formación de indofenol, un compuesto de color azul formado de la reacción catalizada por nitroprusiato entre el amonio, hipoclorito y fenol, que es proporcional a la concentración de amonio en la muestra.

- **Reactivos, materiales y equipos**

- Solución de fenol
- Nitroprusiato de sodio
- Citrato alcalino
- Hipoclorito de sodio
- Matraces aforados de 25 [mL]
- Matraces Erlenmeyer de 50 [mL]
- Parafilm
- Cubetas de plástico de 1 [mL] para espectrofotómetro
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-Visible

- **Procedimiento**

Preparar la solución oxidante, 4 partes de citrato alcalino y 1 parte hipoclorito de sodio.

Agregar 25 [mL] de muestra disuelta a un matraz Erlenmeyer de 50 [mL] y preparar un blanco con agua desionizada, bajo la campana, agregar 1 [mL] de solución de fenol, 1 [mL] de nitroprusiato de sodio y 2,5 [mL] de solución oxidante. Agitando los matraces entre cada adición. Tapar los matraces con Parafilm y guardarlos bajo luz tenue por lo menos 1 [h] hasta 24 [h]. Medir la absorbancia de cada mezcla a 635 [nm] tomando el blanco como referencia.

- **Cálculos**

Preparar una curva estándar con lecturas de absorbancia de muestras de concentración definida. Calcular la concentración de la muestra usando la absorbancia obtenida para interpolar el valor de la curva de calibración.

a.2 Determinación de nitrito por método de colorimetría

Este método se basa en la formación de un colorante púrpura a pH 2 – 2,5 mediante el acoplamiento de sulfanilamida diazotada con dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamina.

- **Reactivos, materiales y equipos:**

- Ácido fosfórico
- Sulfanilamida
- Dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamina
- Matrices aforados de 25 [mL]
- Cubetas de plástico de 1 [mL] para espectrofotómetro
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-Visible

- **Procedimiento**

Preparar solución reactiva para nitrito consistente de 100 [mL] de ácido fosfórico y 10 [g] de sulfanilamida, disolver completamente. Agregar 1 [g] de dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamina y aforar a 1 [L] en una botella ámbar. Mantener refrigerado

Remover sólidos suspendidos en la muestra, agregar 1 [mL] de solución reactiva a 25 [mL] de muestra y preparar un blanco con agua desionizada. Reservar mínimo 10 [min] y máximo 2 [h]. Medir la absorbancia a 543[nm].

- **Cálculos**

Preparar una curva estándar con lecturas de absorbancia de muestras de concentración definida. Calcular la concentración de la muestra usando la absorbancia obtenida para interpolar el valor de la curva de calibración.

a.3 Determinación de nitrato por método espectrofotométrico

Este método es para muestras con bajas concentraciones de materia orgánica. Se mide la absorción a 210 [nm], la cual entrega la absorbancia para el nitrato. Debido a que se puede producir interferencia por la materia orgánica presente, se mide la absorbancia a 275 [nm] para corregir el valor.

- **Reactivos, materiales y equipos:**

- Ácido clorhídrico 1 [N]
- Matrices aforados de 25 [mL]
- Cubetas de cuarzo de 1 [mL] para espectrofotometría
- Espectrofotómetro ultravioleta UV-Visible

- **Procedimiento**

Remover sólidos suspendidos en la muestra, agregar 1 [mL] de ácido a 25 [mL] de muestra y preparar un blanco con agua desionizada. Medir la absorbancia a 210[nm] y 275 [nm].

- **Cálculos**

Corregir la absorbancia de la muestra restando dos veces la absorbancia a 275 [nm] a la obtenida a 210 [nm].

Preparar una curva estándar con lecturas de absorbancia de muestras de concentración definida. Calcular la concentración de la muestra usando la absorbancia corregida para interpolar el valor de la curva de calibración.

a.4 Determinación de sulfuro por método electrodo selectivo

Para este método se usa un electrodo Plata/Sulfuro que mide directamente la concentración de este.

- **Reactivos, materiales y equipos:**

- Hidróxido de sodio
- Ácido ascórbico
- EDTA disódica
- Matraces aforados de 50 [mL]
- Vasos Precipitados de 100 [mL]
- Electrodo selectivo para Sulfuro

- **Procedimiento**

Preparar la solución SAOB adicionando 80 [g] de hidróxido en un matraz Erlenmeyer de 1000 [mL], agregar 800 [mL] de agua desionizada y agitar hasta disolver. Agregar 35 [g] de ácido ascórbico y 67 [g] de EDTA, agitar hasta disolver. Finalmente, aforar hasta 1 [L] y guardar en frasco hermético sin acceso a la luz. La solución es transparente o amarillo pálida; si esta se torna marrón oscuro, descartar.

Agregar 12,5 [mL] de solución SAOB a un matraz aforado de 25 [mL], adicionar 2,5 [mL] de muestra sin sólidos suspendidos si es del afluente o 10 [mL] si es del efluente de la desnitrificación. Aforar con agua desionizada y llevar a vasos precipitados de 100 [mL]. Medir la concentración con el electrodo mientras se agita la solución hasta que el valor se mantenga constante.

a.5 Determinación de sulfato por método espectrofotométrico

Este método consiste en la precipitación de cristales de sulfato de bario, estos cristales enturbian la muestra de color blanco, permitiendo la determinación de este por espectrofotometría

- **Reactivos, materiales y equipos:**
 - Ácido clorhídrico concentrado
 - Alcohol isopropílico
 - Cloruro de sodio
 - Glicerol
 - Cloruro de bario
 - Matraces aforados de 50 [mL]
 - Vasos Precipitados de 100 [mL]
 - Espectrofotómetro ultravioleta UV-Visible
- **Procedimiento**

Preparar solución acondicionadora consistente de 300 [mL] de agua desionizada, 30 [mL] de ácido clorhídrico, 100 [mL] de alcohol isopropílico y 75 [g] de cloruro de sodio y disolver completamente. Finalmente, agregar 50 [mL] de glicerol, mezclar y aforar hasta 500 [mL] con agua desionizada.

Remover sólidos suspendidos en la muestra, preparar 50 [mL] de muestra y un blanco con agua desionizada, llevar a vasos precipitados de 100 [mL] y adicionar 2,5 [mL] de solución acondicionadora, luego se adiciona una pequeña cantidad de cloruro de bario. Medir la absorbancia a 420[nm] antes de que transcurran 5 minutos de adherido el cloruro.

- **Cálculos**

Preparar una curva estándar con lecturas de absorbancia de muestras de concentración definida. Calcular la concentración de la muestra usando la absorbancia obtenida para interpolar el valor de la curva de calibración.

a.6. Determinación de sólidos suspendidos totales y volátiles

Para este método se pesa un filtro y la muestra filtrada después de pasar por un horno a 103 – 105 [°C]. Con estos valores se calcula la diferencia entre ellos. Usando el residuo de los SST se pesa dicho residuo antes y después de pasar por una mufla a 500 [°C]. Con estos valores se calcula la diferencia entre ellos restando el peso del crisol donde se aloja el residuo.

- **Reactivos, materiales y equipos:**

- Filtro de vidrio
- Embudo para filtrar
- Bomba de vacío
- Placas de pesaje
- Crisoles

- **Procedimiento**

Preparar el filtro llevándolo al embudo conectado a la bomba de vacío y lavándolo 3 veces, llevar estos filtros a un horno entre 103 [°C] y 106 [°C] durante 1 hora. Enfriar los filtros y pesarlos, luego llevarlos nuevamente al embudo para filtrar 2,5 [mL] de muestra, en placas de pesajes. Secar estos filtros durante 1 hora en el mismo horno. Enfriar los filtros con sólidos y pesarlos en balanza analítica.

Para determinar los sólidos suspendidos volátiles, pesar crisoles vacíos, e introducir los residuos anteriores a ellos, llevarlos a una mufla a 550 [°C]. Enfriar los crisoles y pesar estos para obtener los SSV.

- **Cálculos**

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

$$SST \left[\frac{mg}{L} \right] = \frac{(C - D) * 1000}{V}$$

Donde:

A: Peso del filtro + Residuo seco [g]

B: Peso del filtro [g]

C: Peso del crisol + filtro + residuo seco[g]

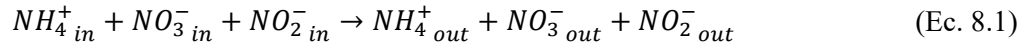
D: Peso del crisol + filtro + residuo después de la ignición[g]

V: Volumen de la muestra [L]

b. Cálculos

b.1 Balance de nitrógeno

El balance de nitrógeno del sistema va a depender de las concentraciones de amonio, nitrato y nitrito en el afluente y el efluente. Esto, además, debe considerar las reacciones químicas. Con esto el balance quedaría:



b.2 Porcentaje de oxidación de amonio

Este se calcula con la diferencia entre la concentración de amonio en el efluente y el afluente respecto al amonio que entra al sistema. Es necesario notar que para este cálculo se usan los valores de la nitrificación:

$$\%Oxidación_{NH_4^+} = \frac{NO_2^-_{in} - NH_4^+_{out}}{NO_2^-_{in}} \quad (\text{Ec. 8.2})$$

b.3 Porcentaje de reducción de nitrito

De forma similar al amonio, se determinará la reducción del nitrito, pero con los valores de la desnitrificación:

$$\%Reducción_{NO_2^-} = \frac{NH_4^+_{in} - NO_2^-_{out}}{NH_4^+_{in}} \quad (\text{Ec. 8.3})$$

b.4 Balance de azufre

Para los compuestos azufrados se tomarán las mismas consideraciones, es decir, para el sulfato y sulfuro:



b.5 Cálculo de solución Buffer

Para regular el pH a lo largo de la operación de ambas etapas se utilizó un tampón fosfato, este aprovecha la combinación de 2 reactivos fosfato dipotásico (K_2HPO_4) actuando como base y el fosfato monopotásico (KH_2PO_4) que actúa como ácido para fijar el pH del RIL a un valor deseado, las cantidades de fosfatos se determinan con la ecuación de Henderson-Hasselbach:

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[Base]}{[Ácido]} \right) \quad (\text{Ec. 8.5})$$

Donde el pK_a del fosfato monopotásico es de 7,198. Por balance se conoce que la concentración molar del tampón viene dada por:

$$[M] = [HPO_4^-] + [H_2PO_4^-] \quad (\text{Ec. 8.6})$$