

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
Departamento de Ingeniería Química y Ambiental
Valparaíso – Chile



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

**“PUESTA EN MARCHA Y OPERACIÓN DE UN REACTOR UASBF
HÍBRIDO PARA DESNITRIFICACIÓN SIMULTÁNEA AUTÓTROFA
Y HETERÓTROFA”**

Patricio Alberto Rodríguez Missiacos

Memoria para optar a título de

Ingeniero Civil Químico

Profesor Guía: **Dra. Lorna Guerrero Saldes**

Profesor Correferente: **MsCs. Andrea Barahona**

Noviembre – 2016

Agradecimientos

A mi Mamá, que me enseñó el amor al trabajo bien hecho.

A mi Papá, que me inculcó el amor por las ciencias.

A mi tía Zulema, que siempre tuvo fe en mí como estudiante.

A Gustavo Muñoz, quien me enseñó a través del básquetbol que el único camino al éxito es el esfuerzo.

A Mónica, que me acompañó en las buenas y en las malas.

A Juan, Juan y Martín, fueron mi familia estos largos años en Valparaíso.

Muchas gracias a todos.

Resumen

Los avances en industrialización tienen repercusiones en muchos ámbitos, entre ellos el medio ambiente, que se ve afectado con las crecientes concentraciones de contaminantes encontrados en las descargas líquidas del sector industrial y agropecuario. Dichos contaminantes afectan el ciclo natural de componentes del medio, causando desequilibrios en la flora y fauna del sector donde se dispongan los residuos. Para poder aprovechar los recursos naturales disponibles es importante mantener un equilibrio con el ecosistema, buscando operar de la manera más sostenible posible, lo que vuelve a las tecnologías capaces de remover los contaminantes como un foco de interés para la investigación científica y desarrollo tecnológico.

Algunas bacterias son capaces de procesar ciertos compuestos presentes en aguas contaminadas, de modo que pueden ser utilizadas para tratar efluentes. En particular, bacterias de tipo desnitrificante utilizan compuestos nitrogenados como agente oxidante en sus procesos metabólicos en lugar de oxígeno, reduciéndolos hasta formas menos nocivas para el medio ambiente, como nitrógeno gaseoso, mientras que simultáneamente oxidan compuestos sulfurados o materia orgánica, dependiendo del tipo de bacteria. Esto supone la posibilidad de utilizar dichos bioprocesos para tratar diversos contaminantes presentes en aguas residuales.

En esta investigación se analiza la capacidad de tratamiento de un reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente y filtro superior (UASBF), utilizando bacterias desnitrificantes autótrofas y heterótrofas, con el objeto de tratar compuestos nitrogenados, sulfurados y materia orgánica simple en una operación unitaria sin adición de equipos extra. La operación combinada de bacterias auto y heterótrofas es una tecnología poco estudiada, y plantea una novedosa opción para el tratamiento de aguas contaminadas simultáneamente con compuestos nitrogenados, sulfurados y materia orgánica

Se propone que, bajo las condiciones adecuadas, el proceso sería capaz de remover simultáneamente: nitrógeno en forma de nitrato, azufre en forma de tiosulfato y materia orgánica en forma de acetato, de un agua residual sintética, la cual es preparada inicialmente con una relación de C/N de 0,20 [g/g], y una razón de S/N de 2,18 [g/g]. La experiencia se realiza en un reactor cilíndrico, de 2.100 [ml] aproximadamente, en un ambiente con temperatura regulada a 35°C. Los datos obtenidos muestran que las condiciones proporcionadas durante el tiempo del estudio hacen posible la coexistencia y eficacia de familias heterótrofas y autótrofas de bacterias desnitrificantes.

Se operó con velocidades de carga crecientes en el tiempo, hasta que el equipo no pudo continuar removiendo los compuestos de interés. Se determinó que el sistema no puede operar superados los 0,82 [gN-NO₃⁻/l/d], con una relación de DQO/N de 3,7, una relación de S/N de 2,0 y un tiempo de residencia hidráulico de 1 [d]. La máxima velocidad de carga tolerable fue de 0,82 [gN-NO₃⁻/l/d], y se obtuvieron remociones con un promedio de: 90% de nitrato, 88% de DQO y 99,4% de tiosulfato.

Se presenta una posible inhibición de funciones metabólicas del lecho microbiológico por continua operación con acumulación de ion sulfato, por lo que la tolerancia del reactor pudiese superar los 0,87 [gN-NO₃⁻/l/d], pero la comprobación requiere de estudios adicionales.

Índice

Agradecimientos	1
Resumen.....	2
Índice de Figuras	5
Índice de Tablas.....	6
1. Introducción y Objetivos	7
Contextualización de la problemática.....	7
Objetivo General	8
Objetivos Específicos.....	9
2. Marco Teórico	10
Compuestos de interés	10
Nitrógeno	10
Azufre	14
Biotecnologías para tratamiento de nitrógeno.....	19
Nitrificación – Desnitrificación	20
Proceso Anammox	24
Desnitrificación Autótrofa.....	26
Desnitrificación Heterótrofa	29
Desnitrificación Autótrofa y Heterótrofa simultánea	30
Reactor UASBF.....	31
Reactor UASB	32
Filtro anaerobio de flujo ascendente	36
Ventajas de la combinación de tecnologías	37
3. Metodología y Materiales	39
Descripción del equipo principal.....	39
Instalación de equipos	41
Operación por Lote	43
Sistema de alimentación	43
Ril sintético a tratar	44
Operación Continua	45
Arranque	45
Plan de velocidad de carga.....	46

Mediciones realizadas	46
4. Resultados y Discusión	48
Presentación de datos.....	49
Análisis de Datos	56
5. Conclusiones.....	63
6. Referencias.....	65
Anexos.....	70
Anexo A: Medición de nitrato	70
Anexo B: Medición de nitrito	72
Anexo C: Medición de DQO.....	74
Anexo D: Filtrado de muestras.....	77
Anexo E: Medición de tiosulfato	78
Anexo F: Medición de sulfato.....	80
Anexo G: Medición de pH	82
Anexo H: Medición de sólidos suspendidos volátiles	83
Anexo I: Curva de calibración de bombas del sistema.....	84

Índice de Figuras

Figura 1. Formas de nitrógeno en la naturaleza con su respectivo estado de valencia (Ward, 2012)	11
Figura 2. Ciclo del nitrógeno en la naturaleza (Elaboración propia)	11
Figura 3. Contribución antropogénica a las emisiones totales de gases con nitrógeno (Adaptado de: Vitousek et al., 1997)	14
Figura 4. Ciclo del azufre en la naturaleza (Adaptado de: Edwards, 1998)	15
Figura 5. Emisiones de azufre como dióxido de azufre a partir de la quema de petróleo y la acción mitigadora de las refinerías (Adaptado de: Smith et al., 2011).	18
Figura 6. Emisiones globales, de China y la India de dióxido de azufre por año en Teragramos, con subdivisiones por tipo de industria (Adaptado de: Klimont et al., 2013)	19
Figura 7. Ciclo biótico del nitrógeno (Aguirre, 2014)	19
Figura 8. Diagrama de flujo de proceso con configuración tipo Wuhrmann (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999)	22
Figura 9. Configuración de pre-desnitrificación (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999).....	23
Figura 10. Proceso de Ludzack-Ettinger modificado para obtener mayores tasas de remoción de nitrógeno, (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999).....	23
Figura 11. Configuración de cuatro etapas, con el objeto de maximizar el tratamiento de compuestos nitrogenados, (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999)	24
Figura 12. Proceso anammox inserto en el ciclo global del nitrógeno (Adaptado de: Karthikeyan y Joseph, 2006)	25
Figura 13. Ruta metabólica en bacteria anammox (Adaptado de: Karthikeyan y Joseph, 2006)	26
Figura 14. Combinación de ciclos de nitrógeno y azufre mediante desnitrificación autótrofa, (Adaptado de: Fajardo, 2011)	27
Figura 15. Representación esquemática de un reactor UASB, (Adaptado de: Rodríguez, 2011)	33
Figura 16. Capas bióticas reconocibles en gránulos formados, (Adaptado de: Rodríguez, 2011).....	34
Figura 17. Gradiente de concentraciones que impulsa el movimiento de sustrato hacia la biopelícula (Adaptado de: Dahab, 1982)	37
Figura 18. Bosquejo de filtro anaerobio de flujo ascendente (Adaptado de: Dahab, 1982)	37
Figura 19. Diagrama de reactor UASBF, (Adaptado de: Aguirre, 2014)	38
Figura 20. Fotografías del reactor a estudiar, instalado con el sistema de bombeo	39
Figura 21. Diagrama del reactor UASBF utilizado	40
Figura 22. PFD del reactor con su respectivo sistema de alimentación y descarga.....	41
Figura 23. Diagrama de flujo de programa a seguir durante la experiencia.....	42
Figura 24. Sistema de bombas del equipo	44
Figura 25. Evolución de la VCN experimental y teórica durante la operación continua del reactor UASBF	49
Figura 26. Evolución de la velocidad de carga orgánica en el tiempo	50
Figura 27. Evolución de la remoción del ion nitrato durante el período de operación del reactor	51
Figura 28. Remoción de materia orgánica medida como DQO, durante operación en continuo	52
Figura 29. Evolución de la remoción del ion tiosulfato durante la operación continua del reactor	54
Figura 30. Acumulación de productos intermediarios y finales de la metabolización de compuestos en el ril	54
Figura 31. Seguimiento de pH y temperatura de operación de reactor UASBF	55

Figura 32. Seguimiento de velocidad de carga de compuestos de alto interés para la experiencia	56
Figura 33. Evolución de la remoción de cada compuesto de interés en contraste con variaciones de velocidad de carga aplicadas.....	57
Figura 34. Contraste entre comportamiento del pH del efluente y las variables de remoción.....	58
Figura 35. Concentración en el tiempo de compuestos con posibles efectos inhibitorios en contraste con la remoción de nitrato.....	60
Figura 36. Seguimiento de la concentración de formas presentes de nitrógeno medidas	61
Figura 37. Seguimiento de la concentración de las formas presentes de azufre medidas.....	62
Figura 38. Estación de mediciones de nitrato con sus implementos y reactivos	70
Figura 39. Puesto de medición de nitrito con sus materiales y reactivos.....	72
Figura 40. Estación de medición de DQO con todos los materiales y reactivos necesarios	74
Figura 41. Estación de filtrado con materiales necesarios.....	77
Figura 42. Estación de medición de tiosulfato con sus materiales y reactivos necesarios.....	78
Figura 43. Estación de medición de sulfato con sus materiales y reactivos necesarios	80
Figura 44. Estación de medición de pH con instrumentos necesarios.....	82
Figura 45. Curva de caudal contra nivel digital de bomba peristáltica	84

Índice de Tablas

Tabla 1. Reservas de nitrógeno en el planeta (Adaptado de: Ward, 2012).....	10
Tabla 2. Principales flujos del azufre atmosférico (Adaptado de: Brimblecombe y Hammer, 1989).....	17
Tabla 3. Producción de compuestos nitrogenados a partir de amonio registrados para distintas especies de bacterias (Adaptado de: Kuenen y Robertson, 1994).....	21
Tabla 4. Estequiometría de compuestos nitrogenados y sulfurados involucrados en la desnitrificación autótrofa (Shih-Hui, 2007).....	28
Tabla 5. Dimensiones del reactor a escala a utilizar.....	40
Tabla 6. Parámetros de funcionamiento del temporizador para control de la alimentación.....	42
Tabla 7. Características del lodo de inóculo utilizado.....	43
Tabla 8. Concentraciones de ril sintético utilizado para arranque de equipo.....	44
Tabla 9. Composición de solución de micronutrientes (Fajardo, 2011).....	45
Tabla 10. Composición ril sintético para operación autótrofa y heterótrofa simultánea.....	45
Tabla 11. Parámetros medidos con sus metodologías de medición.....	47

1. Introducción y Objetivos

Contextualización de la problemática

El sector industrial se encuentra en constante crecimiento, y los aumentos de producción conllevan mayores descargas de efluentes contaminados que van a parar al medioambiente acarreado compuestos nocivos para el equilibrio del ecosistema. Compuestos nitrogenados y fosforados son descargados al medio ambiente en los efluentes de la industria agropecuaria sin el tratamiento adecuado, lo que resulta en efectos adversos para el ecosistema donde se dispongan, generando eutrofización de cuerpos de agua, agotamiento de oxígeno disuelto y cambios en la composición de la comunidad biótica del medio (Xiaojin, 2014).

Dicha creciente actividad industrial altera los ciclos naturales de elementos como el nitrógeno, carbono, azufre y fósforo, causando infiltraciones hacia cuerpos de aguas subterráneas, lluvias ácidas, smog fotoquímico, agotamiento de minerales en los suelos, incremento del efecto invernadero, entre otros (Vitousek *et al.*, 1997). Estos contaminantes pueden ser movilizados por cuerpos de aire y agua en movimiento hacia ecosistemas ubicados a cientos de kilómetros del lugar de descarga de los efluentes contaminados (Chameides y Kasibhatla, 1994).

Para amortiguar el impacto de la industria existen variadas tecnologías, con las cuales se retiran o transforman los contaminantes, y entre éstas, el tratamiento anaerobio de efluentes líquidos ha sido un foco de interés cada vez mayor debido a las ventajas que posee por sobre otras tecnologías de tratamiento, como la producción de biogás y el más fácil manejo de lodos por su baja producción (Azimi y Zamanzadeh, 2004). La implementación de tratamientos biológicos de tipo anaerobio se puede realizar mediante el uso de biorreactores, de los cuales el reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés) es por mucho el tipo de reactor más ampliamente utilizado en el mundo para tratar efluentes con cargas orgánicas relativamente altas debido su simplicidad operacional (Azimi y Zamanzadeh, 2004).

Para el tratamiento específico de contaminantes en base de nitrógeno existe una gama de procesos utilizados convencionalmente, tales como la nitrificación-desnitrificación heterótrofa, proceso anammox, desnitrificación autótrofa, desnitrificación heterótrofa, proceso SLAD (desnitrificación autótrofa con piedra caliza y azufre), entre otros (Tanaka y Yatagai, 2007). A pesar que el proceso más utilizado es el de nitrificación-desnitrificación heterótrofa, éste último presenta problemas que repercuten en la eficacia del

tratamiento del efluente y en el aspecto económico de su operación, ya que requiere de una fuente de carbono externa que no siempre es completamente tratada (Park, 2010).

La desnitrificación heterótrofa reduce compuestos nitrogenados (nitrito y nitrato) hasta nitrógeno gaseoso, utilizando materia orgánica como compuesto dador de electrones y como fuente de carbono. Para su óptima operación es necesario mantener una relación entre el carbono y el nitrógeno entre 3 y 6 (peso/peso), lo que permite una completa reducción del nitrógeno a su forma molecular (van Rijn *et al.*, 2005). Concentraciones de carbono muy bajas resultan en acumulación de nitrito y óxido nitroso, sin llegar a la formación de nitrógeno gaseoso, y exceso de éste promueve la reducción disimilatoria de nitrato hasta amonio. Adicionalmente, el tipo de fuente de carbono incide en la velocidad de metabolización de los compuestos nitrogenados (Tam *et al.*, 1992).

La desnitrificación autótrofa es capaz de reducir compuestos de nitrógeno utilizando una fuente de carbono inorgánico, y compuestos sulfurados como agentes oxidantes. Esto le permite operar eficazmente con una baja relación de DQO/N, lo que evita una contaminación con carbono orgánico en el efluente final, con la ventaja adicional de generar poca biomasa (Kim y Son, 2000).

Al plantear una operación de desnitrificación autótrofa y heterótrofa de manera simultánea, se pueden compensar las falencias de cada familia de bacterias, y se vuelve posible el tratamiento de compuestos nitrogenados, sulfurados y materia orgánica simultáneamente en una sola operación unitaria, lo que plantea ventajas desde el punto de complejidad operacional, costos de inversión y manejo efectivo de contaminantes (Aguirre, 2014).

La biomasa puede operar en forma suspendida o fija en un soporte sólido. La facilidad con la que las bacterias forman gránulos les permite inmovilizarse y así evitar el proceso de lavado del reactor. Esto indica que los medios de soporte sólido no son indispensables para el correcto funcionamiento del equipo, y se evitan los problemas de pérdida de carga y necesidad de equipos de mayor volumen que conlleva la operación con biomasa fija (McHugh y O'Reilly, 2003).

Objetivo General

El objetivo general de este estudio es analizar el funcionamiento de una tecnología de remoción de contaminantes en un agua residual, para validarla como una opción viable y de bajo costo para tratar aguas contaminadas con compuestos nitrogenados, sulfurados y materia orgánica.

Objetivos Específicos

- Obtener la máxima velocidad de carga capaz de ser tratada por el equipo en las condiciones dadas por el diseño de la experiencia
- Evaluar la coexistencia de las especies heterótrofa y autótrofa en un mismo ambiente mediante el seguimiento del pH y remoción de nitrato, tiosulfato y materia orgánica
- Evaluar la capacidad de reducir el ion nitrato a nitrógeno gaseoso
- Evaluar la capacidad de oxidar tiosulfato a sulfato
- Evaluar la capacidad de oxidar la DQO presente
- Medir concentración de compuestos para justificar posibles inhibiciones en el sistema biológico

2. Marco Teórico

Compuestos de interés

Nitrógeno

El nitrógeno es un compuesto encontrado abundantemente en la naturaleza. Es el cuarto compuesto más común encontrado en tejido vivo, después del oxígeno, carbono e hidrógeno. Conforman casi el 78% de la atmósfera terrestre, y posee un ciclo natural que involucra tanto alteraciones químicas como biológicas para llevarse a cabo.

Como muestra la tabla 1, las reservas más grandes de nitrógeno se acumulan en la atmósfera, en su forma de nitrógeno gaseoso (el cual también es forma más abundante en los océanos). Los movimientos de nitrógeno en la corteza terrestre se deben principalmente a actividad metabólica de organismos vivos, la cual con el tiempo transforma los compuestos orgánicos nitrogenados a versiones más resistentes a la actividad biológica, desplazándolos a reservas de roca y sedimentos.

Tabla 1. Reservas de nitrógeno en el planeta (Adaptado de: Ward, 2012)

Reserva	Forma del Nitrógeno	Masa [Mill Ton]
Atmósfera	N ₂	3,1 e9
	N ₂ O	1,4 e3
Biosfera	Marina	5,0 e2 – 3,0 e3
	Terrestre	7,7 e3 – 2,9 e4
Océanos	N ₂	1,5 e6
	N ₂ O	0,3
	NO ₃ ⁻	6,0 e5
	Nitrógeno orgánico particulado	9,0 e4
Geológico	Nitrógeno orgánico disuelto	8,1 e5
	Corteza continental	1,3 e9
	Corteza rocosa	6,4 e8
	Corteza oceánica	8,9 e5
	Sedimento costero	3,2 e4
	Sedimento oceánico profundo	2 e9
	Suelos	2,2 e4 – 1,4 e5

El nitrógeno puede encontrarse en la naturaleza en seis de sus ocho posibles estados de oxidación, y los estados de valor impar son lo más comunes, a excepción del valor neutro cuando se encuentra como nitrógeno molecular (ver figura 1).

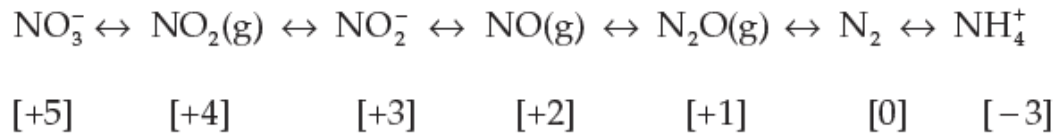


Figura 1. Formas de nitrógeno en la naturaleza con su respectivo estado de valencia (Ward, 2012)

Muchos organismos producen y obtienen energía de los procesos redox que convierten el nitrógeno entre sus posibles formas, como muestra la figura 2, y con esto controlan la distribución de este elemento en el planeta. La mayoría de dichos organismos pertenecen al dominio de las bacterias, y son casi los completos responsables de los flujos de compuestos nitrogenados en la litósfera, con la excepción de la acción fijadora de nitrógeno por parte del hombre.

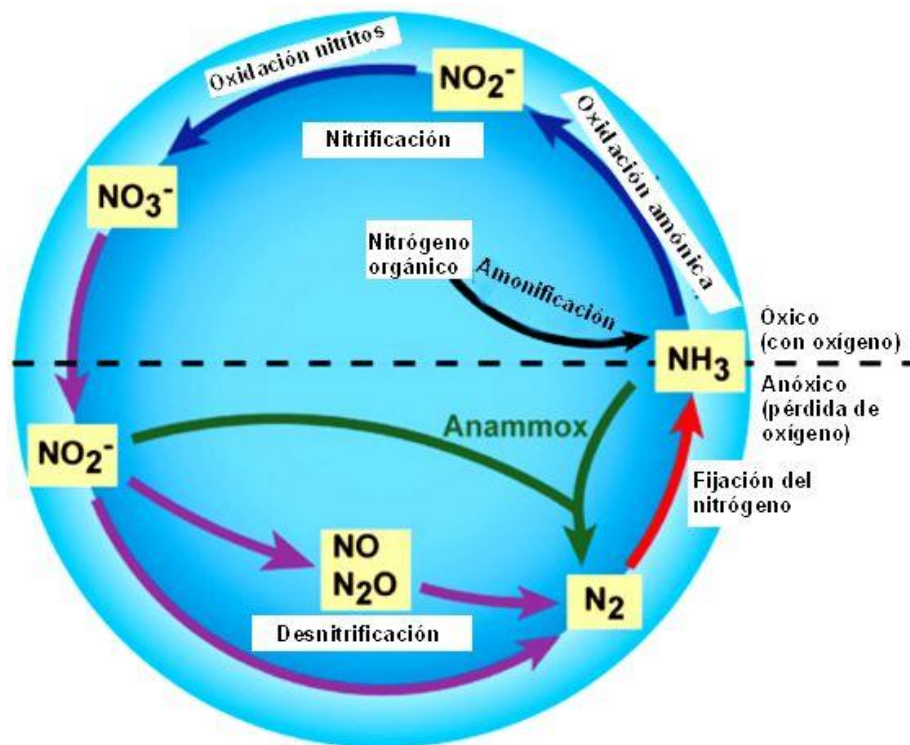


Figura 2. Ciclo del nitrógeno en la naturaleza (Elaboración propia)

El ciclo del nitrógeno se compone de flujos que fijan el nitrógeno gaseoso a sus formas de nitrógeno biológico, amoníaco, nitritos y nitratos; y flujos de nitrógeno liberados a la atmósfera. Antes de la intervención humana en el ciclo, este elemento se encontraba escasamente disponible para la biota terrestre, por lo que actuaba como limitante y controlaba gran parte de la biodiversidad y dinámicas de los ecosistemas.

El nitrógeno se encuentra mayoritariamente en la atmósfera en forma de nitrógeno gaseoso, pero dicha fuente no puede ser aprovechada por la mayoría de los seres vivos; es necesaria su fijación desde su forma gaseosa hasta compuestos inorgánicos (principalmente amonio NH_4 y nitrato NO_3), los cuales pueden ser aprovechados por los organismos vivos. Este proceso de fijación ocurre naturalmente a través de bacterias que habitan de manera libre en el suelo o formando simbiosis con formas vegetales, las cuales permiten utilizar el nitrógeno atmosférico al convertirlo en formas directamente utilizables por las plantas (Ecological Society of America, 1997).

Otro proceso de fijación de nitrógeno gaseoso ocurre con la acción de descargas eléctricas atmosféricas, las cuales transforman el gas en nitratos, los cuales son desplazados hacia el suelo mediante la lluvia.

Los procesos de fijación anteriormente mencionados representan una fracción menor de nitrógeno respecto de las reservas que se pueden encontrar en los suelos, por lo que es posible entender que cualquier forma adicional de fijación de nitrógeno a los suelos por parte del hombre tiene el potencial de desequilibrar el ciclo natural del nitrógeno.

Alteraciones por acción humana

Posiblemente, el nitrógeno es el compuesto esencial para la vida en la tierra cuyo ciclo ha sido más afectado por la acción humana. La fijación de nitrógeno provocada por uso de fertilizantes y el aumento en las emisiones de gases nitrogenados ha cambiado la química y salud de variados ecosistemas (Ward, 2012).

Las formas más importantes en las que la actividad humana ha afectado el ciclo del nitrógeno se listan a continuación:

- *Fertilizantes nitrogenados*

El uso de fertilizantes aporta aproximadamente 80 millones de toneladas por año al ciclo del nitrógeno, y representa la mayor contribución del hombre a dicho ciclo (FAO, 1992). La

intervención creció exponencialmente desde la décadas de los 40, y en el período desde 1980 a 1990, el hombre fijó tanto nitrógeno como el que había fijado anteriormente durante toda la historia humana, potenciado principalmente por la creciente demanda de alimentos por una población que crece a velocidades sin precedentes (Kates *et al.*, 1990).

- **Cultivos fijadores de nitrógeno**

Casi un tercio de las tierras utilizadas por el hombre son dedicadas a uso agrícola, y se han reemplazado grandes áreas de diversidad vegetal con monocultivos de soya, alfalfa, legumbres y otros (Ecological Society of America, 1997). Estos tipos de cultivo son el soporte simbiótico de microorganismos fijadores de nitrógeno, y por lo tanto desvían mucho nitrógeno gaseoso hacia los suelos en forma de amonio y nitratos (Vitousek *et al.*, 1997). Se estima que el hombre fija aproximadamente 40 millones de toneladas de nitrógeno por año mediante cultivos (Vitousek *et al.*, 1997).

- **Combustibles fósiles**

La quema combustibles fósiles transfiere nitrógeno fijado en reservas geológicas hacia la atmósfera, y las altas temperaturas en las que ocurre la combustión provocan una pequeña fijación de nitrógeno gaseoso. Más de 20 millones de toneladas de nitrógeno son fijadas por año hacia la atmósfera por el uso de este tipo de combustibles (Vitousek *et al.*, 1997).

- **Movilización de nitrógeno**

Otro tipo de actividades humanas contribuyen a la fijación de nitrógeno al ambiente, como la quema de biomasa, oxidación y drenaje de terrenos húmedos. Diversas actividades causan el transporte excesivo de nitrógeno por ríos hasta lagos y océanos, aumentando drásticamente la entrada de nitrógeno al ciclo, lo que genera una sobre disponibilidad del mismo para la biota del ecosistema, influyendo en su biodiversidad (Leonardson, 1994).

La Figura 3 muestra la contribución del hombre a las emisiones de gases nitrogenados hacia el medioambiente. Casi más de tres cuartas partes del amonio y óxido nitroso del ciclo del nitrógeno son aportados por acción humana, al igual que casi la mitad del óxido nitroso, lo que revela el impacto de la acción industrial y agropecuaria. El uso de fertilizantes nitrogenados puede resultar en una saturación por parte del ecosistema. Esto se produce cuando las limitaciones en crecimiento y almacenamiento de carbono por parte de la capa vegetal que se mantenían con una limitada fuente de nitrógeno, son removidas al existir una nueva fuente de nitrógeno asimilable.

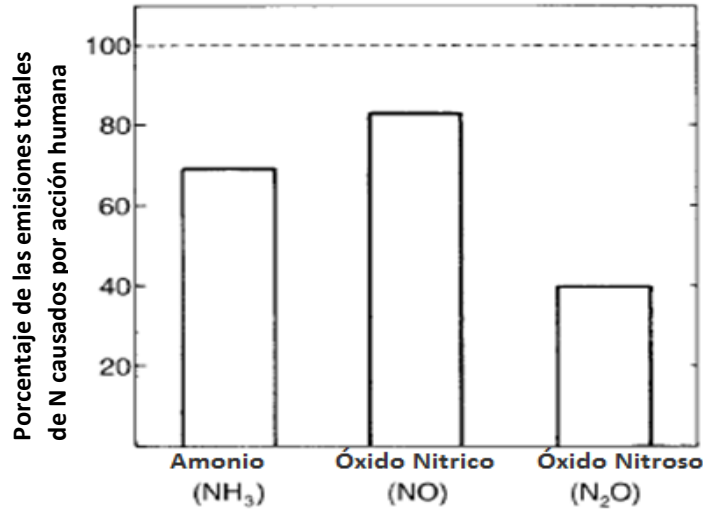


Figura 3. Contribución antropogénica a las emisiones totales de gases con nitrógeno (Adaptado de: Vitousek et al., 1997)

Esto deja nitrógeno que no se asimila por el ciclo biótico, y se infiltra a cuerpos de aguas subterráneos, causando acidificación de las aguas y suelos, que repercute en la absorción de nutrientes por parte de la vegetación, causando mayores tasas de mortalidad de la flora.

Existen registros que documentan alzas de concentración de nitratos en variados cuerpos de agua en todo el mundo, el río Mississippi ha doblado su concentración de nitratos desde 1965 (Turner y Rabalais, 1991), 1000 lagos en Noruega presentan un alza hasta el doble de la concentración de nitratos en el paso de 10 años (Herniksen y Brakke, 1988).

La interacción del nitrógeno con el agua genera su acidificación con la formación del ácido nítrico. Este compuesto puede transportarse mediante agua líquida o en nieves, y en muchas áreas es el compuesto ácido predominante (Schaefer y Driscoll, 1990). Otro compuesto que aporta a la acidificación es el amonio depositado en sistemas acuáticos.

Otro efecto bien documentado de la contaminación de aguas con nitrógeno es la eutrofización de cuerpos acuíferos, causando anoxia o hipoxia y la muerte de seres vivos aerobios que los habitan. Esto impacta en la biodiversidad del sistema, generando un gran predominio de algas y microorganismos que suben la mortalidad de especies como peces y moluscos (Baden *et al.*, 1990).

Azufre

El azufre ingresa a los ecosistemas mediante desgaste de minerales, deposiciones atmosféricas y descomposición de materia orgánica. En los suelos se puede encontrar en formas catalogables como

orgánicas e inorgánicas, de los cuales el último grupo es el más fácil de movilizar mediante los procesos que permiten el funcionamiento del ciclo de azufre en la tierra, como se ilustra en la figura 4. Transformaciones de compuestos sulfurados orgánicos a inorgánicos, movilizándolo el azufre entre distintas reservas, se llevan a cabo mediante movilización, inmovilización, mineralización, oxidación y reducción de dichos compuestos (Edwards, 1998).

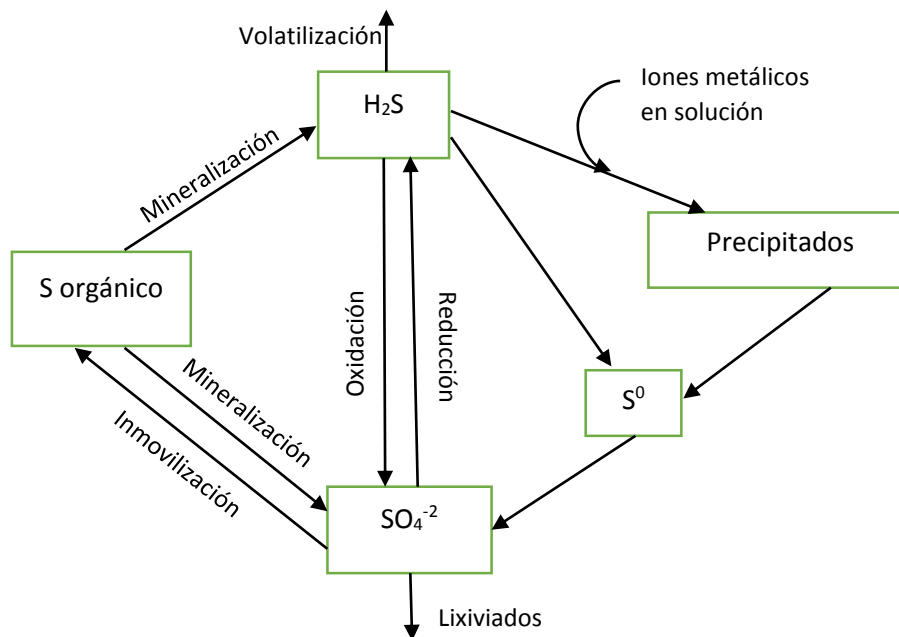


Figura 4. Ciclo del azufre en la naturaleza (Adaptado de: Edwards, 1998)

El azufre se encuentra en la atmósfera principalmente como dióxido de azufre, y entra a ésta mediante la quema de combustibles fósiles, actividad industrial y por la oxidación natural de ciertos gases reducidos ya existentes. Otro factor de consideración es la actividad volcánica, que contribuye mucho azufre al medio ambiente. Este compuesto es arrastrado hacia los suelos mediante precipitaciones o por deposiciones secas, principalmente en forma de ácido sulfúrico, formando la lluvia ácida.

Otro compuesto sulfurado presente en la naturaleza es el ácido sulfhídrico, pero su baja estabilidad lo vuelve un estado intermediario, es oxidado a dióxido de azufre rápidamente (Edwards, 1998).

La mayor parte de las reacciones redox que movilizan el azufre en la naturaleza son resultado de acción microbiana. En altas concentraciones, especialmente en su forma gaseosa de ácido sulfhídrico, el azufre se vuelve un fitotóxico y un agente acidificante (Likens *et al.*, 2001).

La presencia de condiciones anaerobias y compuestos sulfurados en los sistemas de alcantarillado de las ciudades permiten el desarrollo de bacterias sulfato reductoras, las cuales producen ácido sulfhídrico como residuo metabólico, el cual puede generar corrosión en estructuras de concreto (Sand, 1987).

Alteraciones por acción humana

Actualmente, el ciclo del azufre en el planeta está fuertemente influenciado por la acción del hombre. Muchos de los flujos de azufre entre las reservas mundiales han sido alterados por la industria, a tal punto que procesos como erosión de la litósfera por parte del viento y agua han sido potenciados por la actividad humana (Brimblecombe y Hammer, 1989). En 1850, la acción del hombre generaba casi tantas emisiones a partir de quema de combustibles como de acción industrial, pero cercano a 1900 las emisiones por quema de combustibles se incrementaron por un orden de magnitud debido a la popularización de la quema de carbón mineral como recurso energético (Smith *et al.*, 2011).

La extracción del azufre de la litósfera por parte del hombre se debe principalmente a dos tipos de procesos:

- Extracción deliberada de minerales sulfurados en la industria metalúrgica
- Contaminante indeseado durante la quema de combustibles fósiles

Más de 90 millones de toneladas de azufre son liberadas a la atmósfera, 30 millones de toneladas son fijadas en los suelos y otras 30 millones de toneladas son descargadas directamente a cuerpos de agua dulce por acción antropogénica. Debido a la fácil movilización del azufre atmosférico mediante precipitaciones, se puede concluir que todo azufre gaseoso emitido en zonas continentales termina depositado en ríos y lagos. El uso de fertilizantes minerales sulfurados aporta azufre al suelo, el cual se infiltra hacia aguas subterráneas, y se mantiene retenido en los suelos y aguas subterráneas por décadas (Brimblecombe y Hammer, 1989).

La tabla 2 muestra que casi un 55% de las emisiones gaseosas de azufre en el planeta son por acción del hombre, lo que genera un desbalance del ciclo natural, donde por acción de ríos y desecho de residuos humanos termina a parar a suelos oceánicos, el cual recibe 60 millones de toneladas de azufre más de las que puede devolver a los continentes.

Tabla 2. Principales flujos del azufre atmosférico (Adaptado de: Brimblecombe y Hammer, 1989)

<i>Flujo</i>	<i>Ton · 10⁶ por año</i>
<i>Emisiones antropogénicas (SO₂, SO₄⁻²)</i>	79 a 107
<i>Actividad Volcánica (SO₂)</i>	10 a 30
<i>Emisiones eólicas (SO₄⁻²)</i>	10 a 30
<i>Emisiones de CS y CS₂</i>	3,6 a 6,5
<i>Emisiones terrestres naturales</i>	5 a 35
<i>Emisiones naturales en aguas oceánicas costeras (H₂S)</i>	1 a 9
<i>Emisiones naturales del océano abierto (H₂S)</i>	20 a 50
<i>Emisiones de sal marina (SO₄⁻²)</i>	77 a 203
<i>Precipitaciones continentales</i>	38 a 64
<i>Deposiciones secas en continentes</i>	5 a 47
<i>Absorción por suelos</i>	7 a 27
<i>Precipitaciones oceánicas</i>	160 a 300
<i>Deposiciones secas en océanos</i>	3 a 48
<i>Absorción por océanos</i>	5 a 17
<i>Transporte desde atmósfera oceánica a continental</i>	20
<i>Transporte desde atmósfera continental a oceánica</i>	81

Las actividades humanas que más afectan el ciclo del azufre se listan a continuación:

- **Uso de combustibles fósiles**

Los combustibles como el carbón mineral y el petróleo crudo poseen una concentración de entre 1 y 2% en peso de azufre. En la actualidad, gran parte del azufre fijado en el petróleo es eliminado en las refinerías, por lo que no se contabiliza como emisión gaseosa generada por la quema de combustibles. Esta acción genera una gran reducción en las emisiones mundiales de gases sulfurados, removiendo alrededor de 40 millones de toneladas de azufre en forma de SO₂ como se observa en la figura 5, aunque las emisiones siguen siendo de la misma magnitud (Smith *et al.*, 2011).

- **Actividad Minera**

Esta industria es la mayor productora de efluentes contaminados con compuestos sulfurados, lo que vuelve las descargas muy ácidas. De dichos componentes, el ácido sulfúrico tiene la propiedad de poder arrastrar metales y metaloides, agregando carga de contaminantes al efluente. Se estima un total de 72.000 hectáreas de lagos y reservas acuíferas han sido contaminados en todo el mundo con desechos de la industria minera, y aproximadamente 19.300 kilómetros de ríos (Hallberg y Johnson, 2005).

Emisiones Globales de Azufre a partir del Petróleo

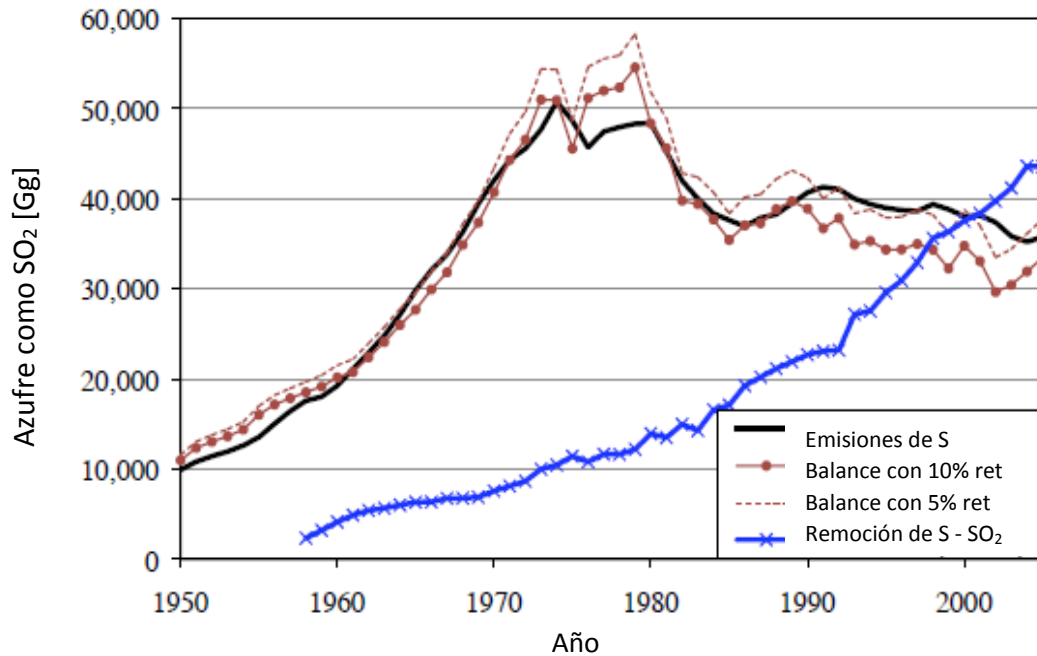


Figura 5. Emisiones de azufre como dióxido de azufre a partir de la quema de petróleo y la acción mitigadora de las refinerías (Adaptado de: Smith et al., 2011).

La mayor parte de las emisiones de azufre por parte de la industria minera provienen del azufre fijado en la pirita, el cual genera ion sulfato cuando pasa por el tratamiento metalúrgico, en el cual se somete a altas temperaturas, humedad y oxígeno en exceso.

- **Emisiones gaseosas de la industria química**

Los variados rubros industriales generan desechos gaseosos que aportan azufre en forma de SO_2 , con las mayores proporciones concentradas en las industrias de química pesada, de la energía y del transporte transatlántico. Desde la década de los 90's se observa un descenso en las emisiones totales del planeta (ver figura 6), pero ciertos países que tienen concentraciones poblacionales demasiado altas se mantienen en un alza de emisiones de dióxido de azufre a la atmósfera (Klimont et al., 2013).

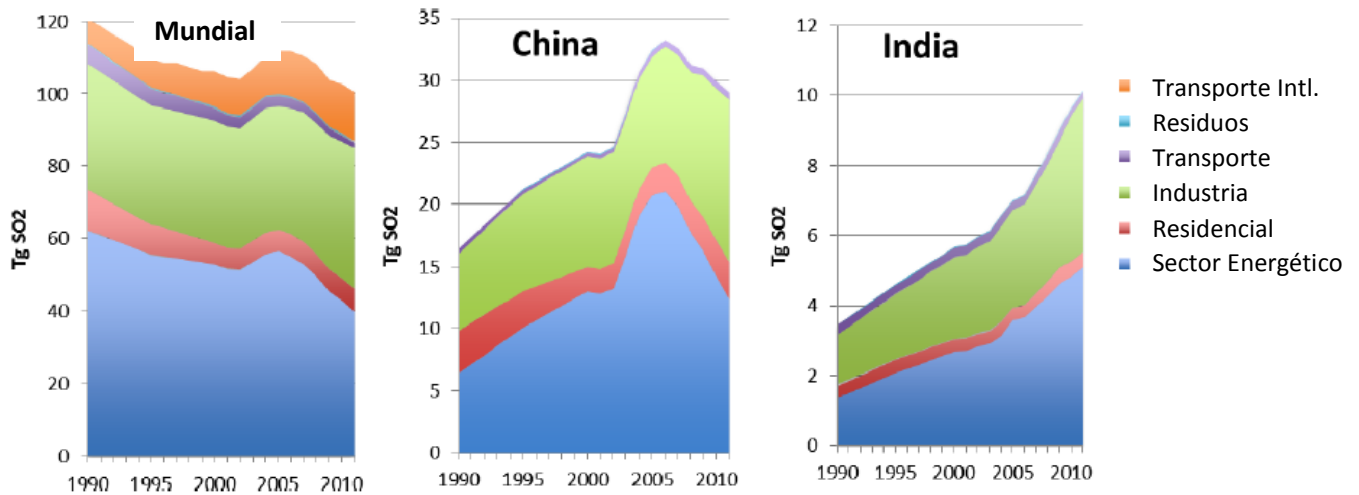


Figura 6. Emisiones globales, de China y la India de dióxido de azufre por año en Teragramos, con subdivisiones por tipo de industria (Adaptado de: Klimont et al., 2013)

Biotecnologías para tratamiento de nitrógeno

Muchos de los flujos de nitrógeno en la capa terrestre son llevados a cabo por procesos biológicos, los cuales transforman los compuestos nitrogenados para obtener nutrientes o energía. Entre los procesos regidos por bacterias se encuentran la fijación, nitrificación, desnitrificación, amonificación asimilativa y anammox (ver figura 7).

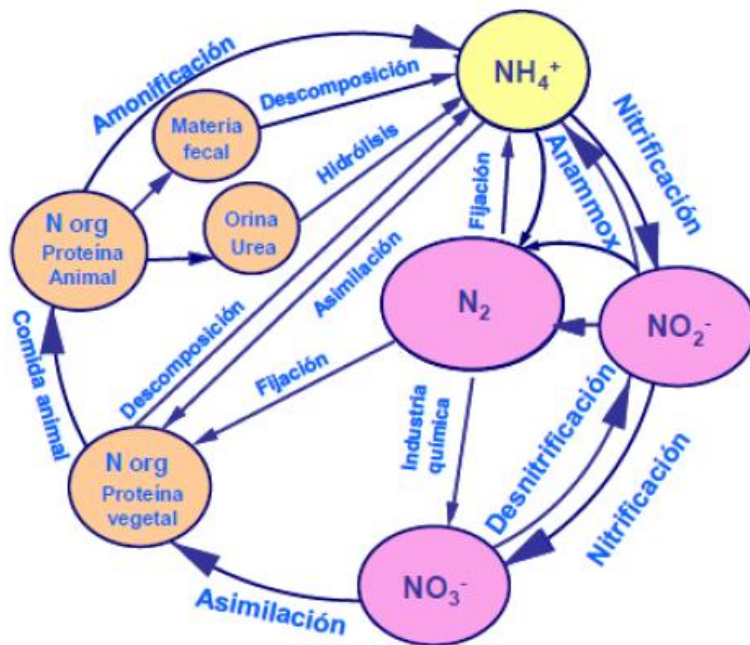
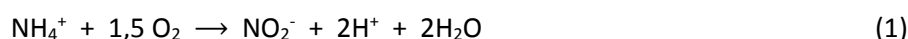


Figura 7. Ciclo biótico del nitrógeno (Aguirre, 2014)

Estos procesos transforman compuestos nitrogenados a otras versiones para cada estado de oxidación del nitrógeno, por lo que es posible aprovechar su metabolismo como tratamiento para aguas residuales cargadas de nitrógeno.

Nitrificación – Desnitrificación

Este proceso se basa en nitrificación autótrofa aerobia y desnitrificación heterótrofa en condiciones anóxicas. Las reacciones relevantes son las siguientes:



Bacterias aerobias estrictas oxidantes de amonio producen nitrito, y bacterias aerobias estrictas nitrito oxidantes producen nitrato. Se ha demostrado que existen otros productos generados: cultivos amonio oxidantes pueden generar óxido nitroso, óxido nítrico o nitrógeno gaseoso en ciertas condiciones (Poth y Focht, 1985).

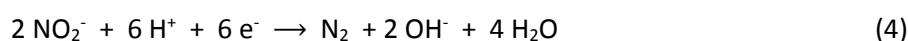
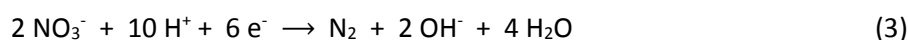
Las condiciones con las que se operaron los cultivos de bacterias indicados en la tabla 3 fueron de baja concentración de oxígeno, con el objeto de convertirlo en el reactivo limitante. La generación de gases por parte de las bacterias demuestra que éstas son capaces de metabolizar compuestos nitrogenados en condiciones anóxicas o incluso anaerobias (Kuenen y Robertson, 1994). Otros estudios indican que las especies *Nitrosomonas eorupaea* y *Nitrosovibrio* generan óxido nítrico incluso en condiciones aerobias (Remde y Conrad, 1990). Bajo condiciones aerobias, la producción de NO representa alrededor de un 0,1% de la nitrificación total (en masa), y en condiciones anaerobias dicha producción se eleva hasta un 0,5%, con un 3,9% adicional de nitrificación generando óxido nitroso (Van Niel, 1991).

Tabla 3. Producción de compuestos nitrogenados a partir de amonio registrados para distintas especies de bacterias (Adaptado de: Kuenen y Robertson, 1994)

Organismo	N ₂ O [μ l /l]	^{14,15} N ₂ [nmol]	^{15,15} N ₂ [nmol]	NO ₂ ⁻ [μmol]
Ninguno	< 1,0	- 2,2	1,4	20
<i>Nitrosomonas europea</i>	216	1,0	2,3	392
<i>Nitrosolobus multiformis</i>	< 1,0	2,4	3,7	394
<i>Nitrosomonas sp</i>	< 1,0	81,4	87,4	394

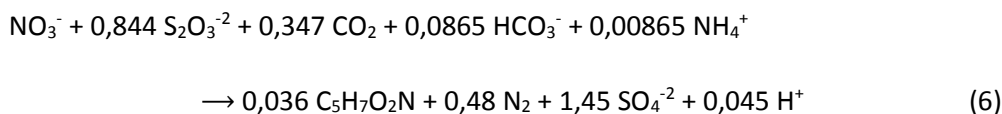
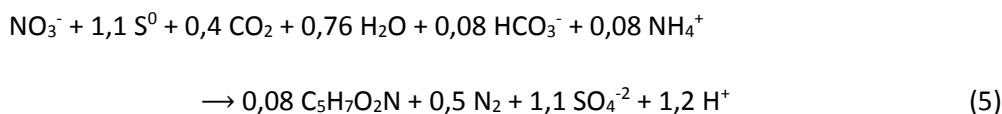
El proceso de nitrificación también puede llevarse a cabo utilizando compuestos nitrogenados orgánicos como materia prima, y se han documentado especies heterótrofas capaces de realizar procesos nitrificantes y desnitrificantes simultáneamente. Estudios con *Thiophaea pantotropha* demuestran que sus cultivos generan nitrito a partir de amonio y luego desnitrifican utilizando una fuente de carbono orgánica (Robertson y Kuenen, 1992). Es importante notar que la relación entre los procesos de nitrificación y desnitrificación aumenta a medida que disminuye la concentración de oxígeno disuelto (Kuenen y Robertson, 1994).

La desnitrificación anóxica, responsable de convertir el nitrito y nitrato a nitrógeno gaseoso, se lleva a cabo con una gran variedad de dadores de electrones, incluyendo compuestos orgánicos como el metanol, acetato, glucosa, entre otros. Las reacciones involucradas son las siguientes:



Otras investigaciones determinaron que es necesaria una proporción de aproximadamente 2,5 DBO₅/NO_x-N para asegurar una efectiva remoción de nitratos mediante bacterias desnitrificantes heterótrofas (Tam *et al.*, 1994), lo que convierte la fuente de carbono como un problema para este tipo de tecnología, ya que en presencia de muy bajas concentraciones de materia orgánica, es necesaria su adición externa para la efectiva remoción de nitrógeno.

El proceso también puede ser de tipo autótrofo, permitiendo a los cultivos de bacterias utilizar compuestos de carbono inorgánicos como fuentes de carbono, nitrato como aceptor de electrones, y azufre elemental o tiosulfato como dador de electrones, generando sulfato, protones de hidrógeno y nitrógeno gaseoso como productos metabólicos (Park *et al.*, 2015)



Como este proceso es llevado a cabo por etapas, y en cada una operan distintos tipos de microorganismos, las condiciones de operación para cada una son diferentes. Evidencia experimental muestra que para que la remoción de nitrato mediante esta tecnología, las etapas deben llevarse a cabo distanciadas en el

espacio o el tiempo. A pesar de esto, investigaciones apuntan a modelar y controlar los procesos ocurridos en cada situación, para permitir la operación simultánea en un único equipo de ambos tipos de bacterias, funcionando en comunidades microbiológicas con las condiciones adecuadas para generar una eficaz remoción de nitrógeno (Kuenen y Robertson, 1994).

Las configuraciones utilizadas más comúnmente se dictan a continuación (Liu y Lipták, 1999):

- *Proceso Wuhrmann (ver figura 8)*

Proceso de post-nitrificación, logra la nitrificación y oxidación carbonosa antes que el agua residual entre a la zona anóxica de desnitrificación. La respiración endógena aporta la requerida fuente de carbono ya que, teóricamente, todo el carbono extracelular ha sido removido.

Acarrea problemas operacionales como alta turbidez en el clarificado, liberación de amonio durante el proceso, y altos niveles de nitrato en la descarga. Debido a que la fase de desnitrificación usualmente posee bajas tasas de conversión de nitrato a nitrógeno gaseoso, los volúmenes asociados con dicha fase suelen ser muy grandes. Usualmente se agrega una fase aerobia final agregando aireación, con el objeto de reducir la cantidad de amonio liberado en el efluente.

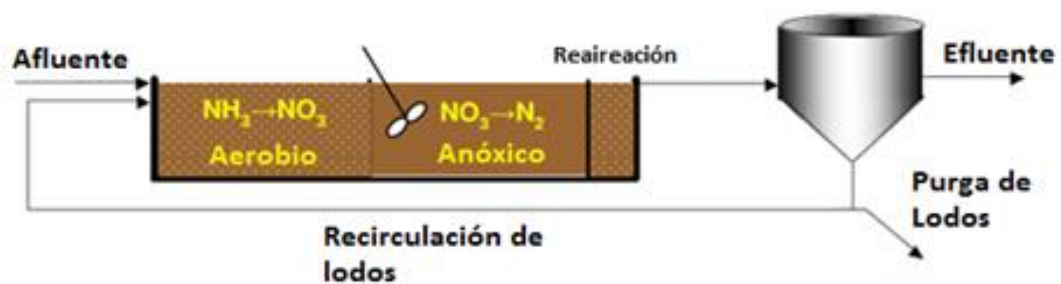


Figura 8. Diagrama de flujo de proceso con configuración tipo Wuhrmann (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999)

- *Proceso Ludzack-Ettinger (ver figura 9)*

Debido a que el agua residual pasa primero por la zona anóxica y luego por la fase aerobia, es que este proceso es conocido como pre-nitrificación. El flujo de recirculación aporta el nitrato necesario para el funcionamiento de la zona anóxica, por lo que los flujos de reciclo suelen ser altos (desde un 75% a un 150% del flujo de agua residual entrante). Esta configuración entrega mayores niveles de desnitrificación que el proceso Wuhrmann.

Debido a su configuración, el proceso sólo elimina el nitrógeno asociado con el flujo de recirculación, por lo que el control y diseño de dicho caudal es fundamental para el diseño total del proceso.



Figura 9. Configuración de pre-desnitrificación (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999)

- *Proceso Ludzack-Ettinger Modificado (ver figura 10)*

La base de esta modificación al proceso anteriormente mencionado se plantea cuando la cantidad de nitrato que ingresa mediante el flujo de recirculación no es suficiente para el buen funcionamiento de la zona anóxica, por lo que un flujo de retorno interno se hace necesario.

El flujo a recircular típicamente se diseña para ser igual o superior al flujo de entrada (entre un 100% a un 400% respecto del flujo de ril del afluente), y se toma desde el final de la zona aerobia, con el objeto de otorgar al ril el mayor tiempo de residencia posible en la zona aerobia, con el fin de recircular tanto nitrato como sea posible.



Figura 10. Proceso de Ludzack-Ettinger modificado para obtener mayores tasas de remoción de nitrógeno, (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999)

- *Proceso Bardenpho de 4 etapas (ver figura 11)*

Este proceso obtiene los mayores niveles de remoción de nitrógeno entre los procesos anteriormente descritos. El nitrógeno que no se desvía por la recirculación entre los primeros tanques es dirigido a

un segundo tanque anóxico. El problema asociado con dicha configuración es la necesidad de una fuente adicional de carbono para el proceso de desnitrificación, el cual agrega costos de operación al proceso. Finalmente se pasa el ril por una segunda zona aerobia, con el fin de nitrificar el amonio residual del proceso y evitar su salida en el clarificado.

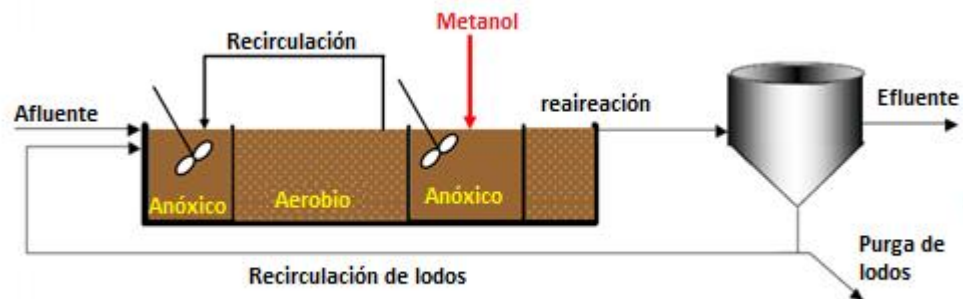


Figura 11. Configuración de cuatro etapas, con el objeto de maximizar el tratamiento de compuestos nitrogenados, (Adaptado de: Liu y Lipták, 1999)

Proceso Anammox

El proceso anammox fue descubierto y validado como una reacción metabólica de microorganismos en el inicio de los años 90. Las bacterias asociadas se caracterizan por tener una arquitectura celular compartimentalizada, con un compartimento central conocido como anammoxosoma, el cual está presente en todas las bacterias estudiadas capaces de realizar la oxidación anaerobia de amonio (van Niftrik *et al.*, 2009).

El amonio es utilizado como dador inorgánico de electrones, y en condiciones anaerobias, el nitrito es utilizado como aceptor de electrones: esto describe el proceso de oxidación anaerobia de amonio. Durante su metabolización, el consumo de amonio y nitrito es casi equimolar, dando como producto nitrógeno gaseoso y agua. La presencia de oxígeno inhibe de manera reversible el proceso anammox (Strous *et al.*, 199), al igual que compuestos orgánicos como acetileno y moléculas fosfatadas (Van De Graaf *et al.*, 1995). El proceso es dependiente de la temperatura y del pH del medio, operando de manera óptima en rangos de 20 a 43°C y 6,4 a 8,3 de pH.

Se han identificado los compuestos hidracina e hidroxilamina como intermediarios de las reacciones metabólicas involucradas, y se teoriza el proceso como se describe a continuación:

- Parcial reducción de nitrito con la formación de hidroxilamina, que reacciona nuevamente con el ion amonio para formar hidracina, el cual es eventualmente convertido a nitrógeno gaseoso (Karthikeyan y Joseph, 2006).

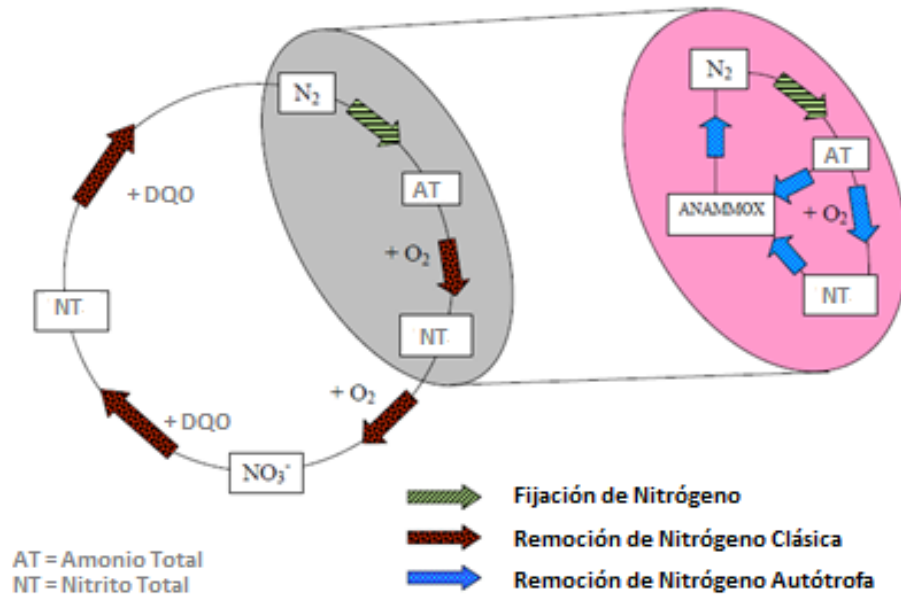
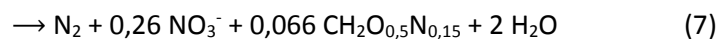
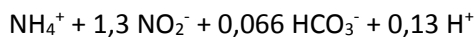


Figura 12. Proceso anammox inserto en el ciclo global del nitrógeno (Adaptado de: Karthikeyan y Joseph, 2006)



La presencia de amonio en aguas residuales es bastante común, pero la de nitrito es menos usual, lo que dificulta el buen funcionamiento de la tecnología anammox para el tratamiento de efluentes. Para solucionar este problema, típicamente se realiza previamente un proceso de nitrificación parcial, el cual transforma cerca de un 50% del amonio a nitrito, con el objeto de proveer ambos compuestos para el metabolismo de los microorganismos, y adicionalmente oxidar la materia orgánica que pudiese estar presente, de modo de eliminar posibles inhibiciones provocadas por dichos compuestos sobre el proceso anammox (Aguirre, 2014).

En la naturaleza, este tipo de metabolización ha sido detectado en ambientes marinos, incluyendo zonas anóxicas, lechos sedimentarios, hielos marinos y fosas hidrotermales. La cantidad de reportes sobre este proceso ocurriendo naturalmente en agua dulce son mínimos, y son casi siempre cuerpos de agua que reciben efluentes industriales líquidos (Thamdrup, 2010).

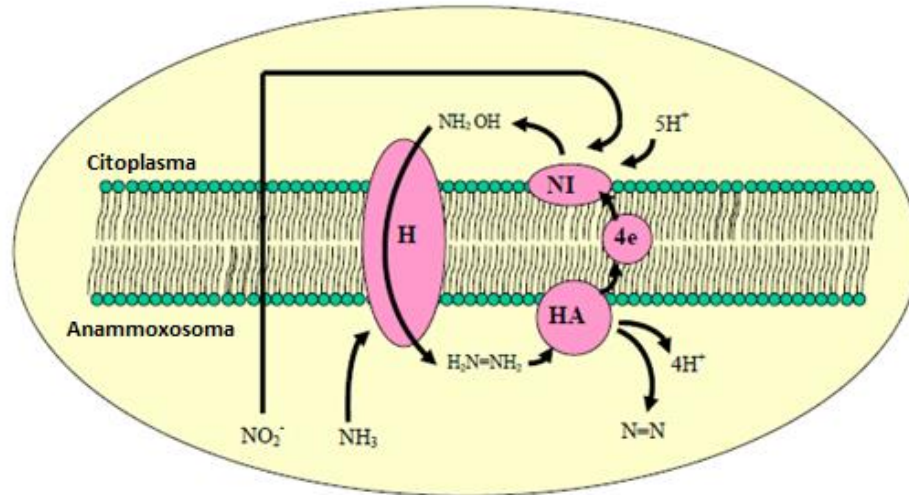


Figura 13. Ruta metabólica en bacteria anammox (Adaptado de: Karthikeyan y Joseph, 2006)

Desnitrificación Autótrofa

La desnitrificación autótrofa es un proceso que convierte el nitrito o nitrato a nitrógeno gaseoso, utilizando compuestos inorgánicos como agentes reductores. La principal ventaja de este tipo de tratamiento es su operación en ausencia de materia orgánica.

Propiedades de este tipo de tratamiento biológico son (Brock *et al.*, 1994):

- Bajo la mayoría de las condiciones, los productos finales de la reducción disimilativa de nitrógeno son nitrógeno gaseoso y óxido nitroso
- El primer producto de la reducción de nitrato es nitrito, proceso catalizado por la enzima nitrato reductasa
- La reducción a partir del nitrito es catalizada por la enzima nitrito reductasa
- Las enzimas que regulan el proceso son inhibidas en presencia de oxígeno, y sintetizadas en condiciones anóxicas
- El proceso de desnitrificación es estrictamente anaerobio/anóxico

En la naturaleza existen microorganismos que combinan los ciclos de nitrógeno y del azufre al utilizar compuestos de dichos ciclos en sus reacciones metabólicas. Estos microorganismos juegan roles importantes en los equilibrios de ecosistemas marinos, principalmente en las zonas anóxicas y anaerobias. La combinación de estos ciclos implica la oxidación de formas reducidas de azufre y la reducción de formas oxidadas de nitrógeno, como nitritos y nitratos, tal como se puede observar en la figura 14 (Fajardo, 2011).

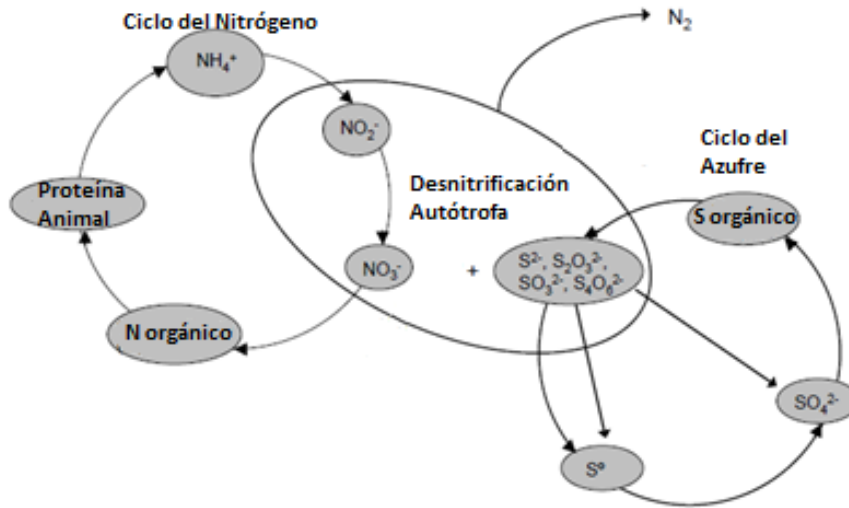


Figura 14. Combinación de ciclos de nitrógeno y azufre mediante desnitrificación autótrofa, (Adaptado de: Fajardo, 2011)

Muchas investigaciones demuestran que las especies *Thiobacillus denitrificans* y *Thiobacillus thioparus* pueden remover efectivamente el nitrógeno del agua, utilizando compuestos reducidos de azufre como aceptores de electrones (Gayle *et al.*, 1989). La oxidación del azufre tiene como resultado la generación de energía para los procesos vitales de los microorganismos, y el carbono necesario para el crecimiento de la biomasa se obtiene de compuestos inorgánicos como el dióxido de carbono, mientras que fuentes de carbono orgánico aletargan el desarrollo y actividad metabólica de este tipo de microorganismos (Lyubchenko *et al.*, 1996). Las relaciones estequiométricas para los compuestos de nitrógeno y azufre asociados a las reacciones metabólicas de bacterias desnitrificantes autótrofas se detallan en la tabla 4.

Tabla 4. Estequiometría de compuestos nitrogenados y sulfurados involucrados en la desnitrificación autótrofa (Shih-Hui, 2007)

Aceptor de Electrones	Dador de Electrones	Productos	Estado alcalino	Referencias
$1 \text{ NO}_3^- (+ 0,08 \text{ NH}_4^+)$	$1,1 \text{ S}^0$	$0,5 \text{ N}_2$ $1,1 \text{ SO}_4^{2-}$	Produce $1,28 \text{ H}^+$	(Batchelor y Lawrence, 1978)
8 NO_3^-	$5 \text{ S}_2\text{O}_3^{2-}$	4 N_2 10 SO_4^{2-}	Produce 2 H^+	(Claus y Kutzner, 1985)
8 NO_3^-	5 S^{2-}	4 N_2 5 SO_4^{2-} $4 \text{ H}_2\text{O}$	Consume 8 H^+	(Barrenstein <i>et al.</i> , 1986)

Durante la reducción de nitrato a nitrógeno gaseoso se pueden reconocer cuatro pasos regulados enzimáticamente (Moura y Moura, 2001):

- Reducción del nitrato a nitrito, catalizado por la nitrato reductasa
- Reducción del nitrito a óxido nítrico, catalizado por la nitrito reductasa
- Reducción del óxido nítrico a óxido nitroso, catalizado por la óxido nitroso reductasa
- Reducción del óxido nitroso a nitrógeno gaseoso, catalizado por la óxido nitroso reductasa

En la ruta oxidativa del azufre, compuestos reducidos de azufre son transformados a sulfatos. En el caso de la oxidación de tiosulfato, se reconocen tres rutas metabólicas (Fajardo, 2011):

- Oxidación del tiosulfato a sulfato mediante uso de las enzimas tiosulfato deshidrogenasa y la hidrolasa tetrionato
- Oxidación del tiosulfato a sulfato mediante un complejo de múltiples enzimas (Sox-MC)
- Oxidación del tiosulfato a sulfato con azufre elemental como producto intermediario mediante el uso de una enzima de escisión de tiosulfato, utilizando las S-oxigenasa (S-ox) y sulfito oxidasa (Sul-ox)

Muchas condiciones ambientales controlan el crecimiento y la velocidad de metabolización de nitratos por parte de las bacterias nitrato reductoras (Fajardo, 2011):

- ✓ Se han observado rangos de pH en los que las bacterias operan de manera óptima, siendo valores entre 7 y 8. Valores bajo el 7 propician metabolización incompleta de compuestos nitrogenados, produciendo compuestos intermediarios como nitrito y/o azufre elemental; mientras que valores bajo 6 y sobre 9 inhiben el proceso completamente.
- ✓ Al tratarse de bacterias mesófilas, su temperatura óptima está entre 25 y 35°C, con inhibición total observable a temperaturas por sobre 40°C y bajo los 15°C.
- ✓ Es necesaria una fuente de alcalinidad para neutralizar los protones producidos durante las reacciones biológicas. El ion bicarbonato proporciona la capacidad neutralizadora, además del carbono inorgánico para el crecimiento bacteriano. Al utilizar tiosulfato como agente oxidante, se consumen 0,086 moles por cada mol de nitrato reducido.
- ✓ La proporción en la que el azufre y el nitrógeno se encuentran en el medio juega un rol importante en el proceso, y se ha demostrado que valores inferiores a 6,5 de [gS/gN] generan tratamiento incompleto con acumulación de nitrito.

- ✓ La presencia de ciertos compuestos generan inhibiciones en la metabolización completa de nitratos: la presencia de oxígeno impide la reducción del nitrógeno, ya que es preferido por las bacterias como agente oxidante, aunque concentraciones de hasta 0,3 [mgO₂/l] no producen efecto adversos; concentraciones de nitrato por sobre los 660 [mgNO₃⁻-N/l] inhiben la desnitrificación, mientras que el nitrito es fuertemente inhibidor a concentraciones de 60 [mgNO₂⁻-N/l]; la materia orgánica decrece la formación de sulfatos y promueve la generación de otros compuestos sulfurados; y el sulfato genera inhibición a concentraciones de 500 [mgSO₄⁻-S/l].

Desnitrificación Heterótrofa

Proceso biológico que transforma el nitrato a nitrógeno gaseoso, con la necesidad de una fuente de carbono orgánica como dador de electrones. Esto controla la fijación de nitrógeno y ayuda con la remoción de materia orgánica en cuerpos de agua. El proceso es de tipo anaerobio o anóxico, y es fuertemente inhibido en la presencia de oxígeno.

Es actualmente la tecnología más económica, ambientalmente amigable, prometedora y versátil de las que se estudian actualmente. Es ampliamente utilizada para el tratamiento de aguas contaminadas con compuestos nitrogenados y materia orgánica, incluso se han hecho aplicaciones de aguas sin materia orgánica disponible, añadiendo sólidos ricos en celulosa como algodón, chips de madera, residuos agrícolas, periódicos, entre muchos otros (Liu *et al.*, 2014).

Principalmente bacterias, y algunas archaea, constituyen la vasta mayoría de organismos capaces de realizar desnitrificación. Los géneros más citados incluyen *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus* y *Thiosphaera* (Aguirre, 2014). La mayoría reducen el nitrógeno hasta su forma gaseosa, aunque algunas sólo lo transforman a óxido nítrico, incluso existiendo especies que sólo pueden llevar a cabo la reducción hasta nitrito como producto final (Robertson y Kuenen, 1992).

El proceso de metabolización del nitrógeno por parte de las bacterias consta de las siguientes etapas:

- Reducción de nitrato a nitrito, catalizado por la enzima nitrato reductasa
- Reducción de nitrito a óxido nítrico, catalizado por la nitrito reductasa
- Reducción de óxido nítrico a óxido nítrico, catalizado por la óxido nítrico reductasa
- Reducción de óxido nítrico a nitrógeno gaseoso, catalizado por la óxido nítrico reductasa

La velocidad de metabolización de las bacterias depende de las concentraciones de materia orgánica y compuestos nitrogenados (nitrito y/o nitrato), además de parámetros específicos de cada inóculo, como son las constantes de saturación para cada compuesto. Esto puede modelarse siguiendo la ecuación de Monod:

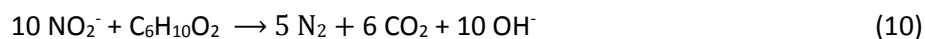
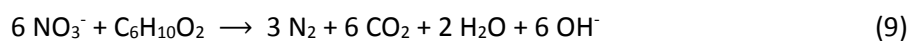
$$\mu = \mu_m \cdot \left[\frac{S}{K_S + S} \right] \cdot \left[\frac{N}{K_N + N} \right] \quad (8)$$

Siendo μ la velocidad de metabolización real, μ_m la velocidad máxima de metabolización, K_S y K_N las constantes de saturación de materia orgánica y compuestos nitrogenados respectivamente, S y N las concentraciones de sustrato y nitrato.

Se han documentado acumulación de metabolitos intermediarios, debido a la diferencia en la velocidad de acción de las enzimas involucradas en los pasos de la reducción de nitrato a nitrógeno gaseoso, por factores del medio: un pH ácido bajo 6 genera acumulación de ácido nitroso, y por debajo de pH 5 se observa inhibición completa de la desnitrificación.

La presencia de oxígeno resulta fuertemente inhibitoria para el proceso desnitrificante, debido a que el oxígeno es termodinámicamente más reducible que el nitrato disuelto. Además, la respiración celular utilizando oxígeno produce mayor cantidad de energía que la desnitrificación biológica, por lo que en presencia de oxígeno disuelto, las bacterias escogerán el oxígeno como aceptor de electrones por sobre el nitrato (Gómez y Hontoria, 2002).

Las reacciones metabólicas involucradas en la desnitrificación heterótrofa son las siguientes (Shijie, 2010):



Desnitrificación Autótrofa y Heterótrofa simultánea

Los residuos líquidos de la industria agropecuaria típicamente tienen altas concentraciones de compuestos nitrogenados, compuestos sulfurados y materia orgánica en su composición.

Al tratar dichos residuos con desnitrificación autótrofas se reduce el nitrógeno hasta su forma gaseosa, el azufre se oxida produciendo compuestos sulfatados y el medio adquiere protones generados en la metabolización, acidificando el medio. La materia orgánica no es tratada con este tipo de proceso, e

incluso puede mermar en la eficacia del tratamiento al ser un elemento inhibidor si se encuentra en concentraciones elevadas.

Si se aplica la desnitrificación heterótrofa se puede reducir el nitrógeno a su forma gaseosa y oxidar la materia orgánica, generando hidroxilos que basifican el medio acuoso, pero los compuestos sulfurados no son tratados en absoluto.

La combinación de las tecnologías autótrofa y heterótrofa no ha sido ampliamente estudiada. Su aplicación en aguas industriales trata de manera efectiva el nitrógeno, azufre y materia orgánica, con remociones por sobre el 80% para cada elemento (Aguirre, 2014). La producción de protones por parte del cultivo autótrofo es compensada por la generación de hidroxilos asociada al cultivo heterótrofo, lo que genera un efecto tampón, controlando cambios muy drásticos en el pH del medio.

Las velocidades de reacción de los pasos metabólicos de ambos tipos de desnitrificación difieren entre sí, y se ha medido que la reducción de nitrato a nitrito ocurre más rápidamente en las familias autótrofas, mientras que la reducción de óxido nitroso a nitrógeno gaseoso es más rápida en familias heterótrofas. El uso combinado de familias disminuye la acumulación de productos intermediarios al acelerar globalmente y específicamente la metabolización de los compuestos nitrogenados (Reyes-Avila *et al.*, 2004).

La temperatura afecta la velocidad de metabolización, y se han documentado eficiencias de remoción de compuestos hasta tres veces menor cuando se opera a 14°C que cuando se opera a 30 – 32°C (Volkita *et al.*, 1996). El rango óptimo de operación se encuentra entre 25 y 35°C, aunque debido a la capacidad de adaptación de las bacterias desnitrificantes se ha documentado operación en un rango de 2 a 50°C (Karanasios *et al.*, 2010).

El proceso es principalmente inhibido por nitrito, el cual es un compuesto altamente tóxico. La enzima nitrito reductasa es relativamente sensible a condiciones del medio, lo que vuelve al sistema propenso a la acumulación de nitrito, aunque algunos autores documentan buena remoción del nitrito por parte de las bacterias a pesar de la inhibición (Liu *et al.*, 2014).

Reactor UASBF

Los reactores anaerobios más ampliamente utilizados son el UASB y el filtro anaerobio, cada uno con sus respectivas limitaciones técnicas: la formación de canales y posibles problemas en floculación de bacterias en el caso del UASB y atascamientos por generación de biomasa en los filtros anaerobios (Ramirez, 2012).

La combinación de ambos tipos de tecnologías permite aprovechar las ventajas de cada una y contrarrestar sus respectivos problemas operativos.

Reactor UASB

El reactor anaerobio de manto de lodos con flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés), es un reactor de segunda generación, en el que el tiempo de retención de sólidos en suspensión es mayor al tiempo de retención hidráulico. Es un reactor que no utiliza soporte para la fijación de la biomasa, la cual se encuentra suspendida formando gránulos.

Existen tres zonas identificables en un reactor UASB (Pavez, 2015):

- ✓ Zona de manto de lodos, donde se concentra la mayor parte de la biomasa que trata los compuestos acarreados en las aguas residuales
- ✓ Zona de dispersión, muy baja concentración de sólidos, presencia de gránulos de bacterias acarreados por burbujas de gases
- ✓ Zona de separación trifásica, sector donde se separa el gas del gránulo, permitiéndole sedimentar y volver al lecho, eliminando el efluente líquido por rebalse y el gas por una salida superior

Su invención se adjudica a Gatzke Lettinga cuando observó la formación de gránulos de biomasa en reactores anaerobios de primera generación, con lo cual planteó las bases para el funcionamiento del reactor anaerobio de manto de lodos, del cual se presenta un bosquejo en la figura 15.

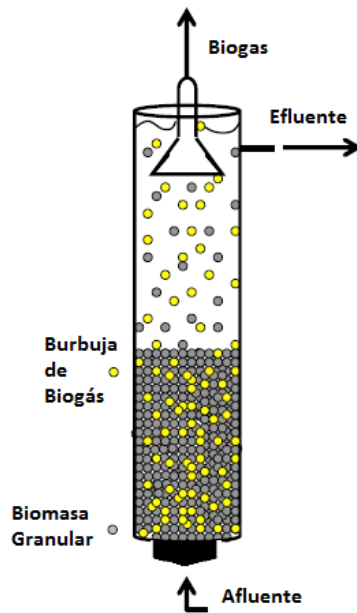


Figura 15. Representación esquemática de un reactor UASB, (Adaptado de: Rodríguez, 2011)

Teoría de formación granular

Existen diversas teorías sobre el mecanismo que permite la formación de gránulos, el cual es una de las características fundamentales de este tipo de reactor. El diseño y puesta en marcha de un reactor UASB puede juzgarse por la granulación obtenida por parte de su biomasa.

Los gránulos se conforman por capas que cumplen distintas funciones en el proceso del tratamiento biológico. Esto es debido a los gradientes de concentración de reactivos y subproductos generados durante la metabolización de compuestos, lo que facilita el crecimiento de ciertas familias de bacterias por capa. Se pueden identificar principalmente tres capas representadas en la figura 16: una superficial conformada por bacterias acidogénicas y consumidoras de hidrógeno; una capa intermedia con bacterias acetogénicas; y una capa central con predominancia de bacterias metanogénicas. Usualmente en el núcleo del gránulo se puede haber burbujas de gas generadas por los microorganismos anaerobios.

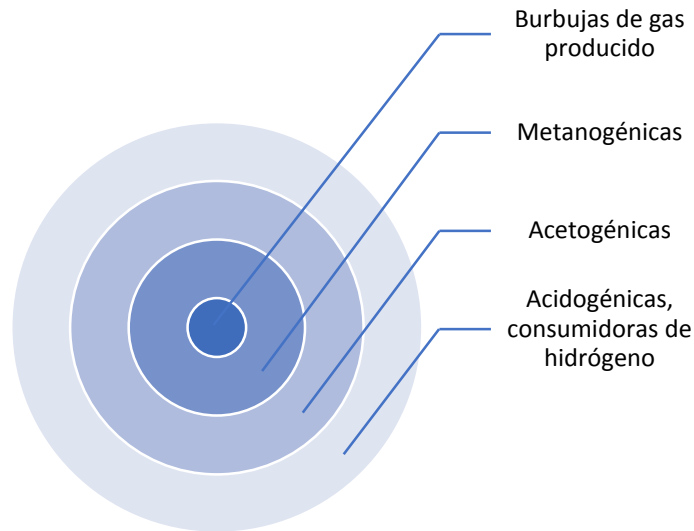


Figura 16. Capas bióticas reconocibles en gránulos formados, (Adaptado de: Rodríguez, 2011)

La formación de gránulos se puede justificar por las siguientes teorías:

- Modelo físico: Crecimiento de sólidos en suspensión colonizados (Pareboom, 1994)

Los gránulos son inicialmente formados por pequeñas partículas liberadas desde cúmulos de bacterias de mayor tamaño, y posteriormente adheridas a sólidos suspendidos. Dichos sólidos permiten la fijación de bacterias hasta el crecimiento de nuevo gránulos, limitados por la cantidad de bacterias que se lavan debido a la circulación de líquidos en el reactor que arrastran material suspendido hacia el efluente.

- Modelo microbiológicos: Modelo de unión con polímeros extracelulares (Liu *et al.*, 2003)

De acuerdo a este modelo, dos células vecinas entre sí pueden conectarse entre sí mediante la secreción de polímeros que cambian la polaridad de sus paredes celulares, causando fijación entre los polímeros secretados y las células. Este proceso ocurriendo de manera consecutiva genera gránulos de mayor tamaño.

- Modelo termodinámico: Modelo de enlace iónico multivalente (McHugh *et al.*, 2003)

Este modelo se basa en la interacción electrostática entre bacterias cargadas positiva y negativamente. Bajo condiciones de pH óptimos, las bacterias están ligeramente cargadas negativamente, de tal forma

que la introducción de un ion positivo multivalente favorece la unión entre bacterias. Dichos iones pueden ser de calcio, aluminio, magnesio y/o hierro ferroso.

La agitación de la biomasa es proporcionada por el flujo ascendente del reactor, y por la liberación de burbujas de gas generadas en la metabolización de las bacterias. Dichas burbujas pueden adherirse a los gránulos de bacterias, bajando su densidad total, y causando que éstos floten por sobre el lecho de lodos, causando lavados indeseados cuando las burbujas se mantienen adheridas por mucho tiempo en el gránulo.

Variables de operación

La operación de este tipo de reactor es relativamente simple. Las variables involucradas en su rendimiento son las siguientes:

- pH

El tratamiento biológico involucra distintos tipos de bacterias, las cuales poseen distintos rangos de pH a los cuales pueden proliferar. Las bacterias acidogénicas toleran ambientes relativamente ácidos, con pH entre 5 y 6, mientras que las bacterias metanogénicas operan idealmente en rangos de pH de 6,7 a 7,4. El bicarbonato generado por la metanogénesis controla parcialmente la acidificación generada por las bacterias acidogénicas, y el rango óptimo para la operación del reactor se encuentra entre pH 6 y 8, fuera del cual la metanogénesis es fuertemente inhibida.

- Temperatura

Debido al uso de bacterias mesófilas, la operación del reactor debe llevarse a cabo en temperaturas entre 30 y 35°C, aunque algunos autores reportan buenos tratamientos en temperaturas cercanas a los 55°C para tratar efluentes de vinaza (Harada *et al.*, 1996).

- Velocidad de carga orgánica

Este parámetro es la masa de materia orgánica cargada por día por volumen del reactor. Afecta el grado de crecimiento bacteriano, y altas cargas pueden generar inhibición por sustrato o generación excesiva de biogás, lo cual termina generando lavado de la biomasa.

- Tiempo de Retención Hidráulico

Tiempo promedio que pasa una unidad de volumen dentro del reactor. Mientras mayor tiempo de retención hidráulico, la velocidad superficial del reactor es menor, lo que es desfavorable para el eficiente tratamiento de los compuestos acarreados por el agua. Velocidades comúnmente aplicadas al UASB rodean los 1,25 [m/h], valor al cual es necesario ajustar el tiempo de retención hidráulico según la ecuación:

$$V_{superf} \left[\frac{m}{h} \right] = \frac{h[m]}{TRH [h]} ; \text{ siendo } h \text{ la altura con la que se diseña el reactor.}$$

Filtro anaerobio de flujo ascendente

Consta de un tanque con relleno empacado, el cual recibe un flujo ascendente de aguas contaminadas que pasa por los intersticios del relleno. Fijo en el relleno se encuentra la biomasa, que entra en contacto con los compuestos disueltos o suspendidos y los trata al integrarlos en sus procesos metabólicos. Representó un gran avance en el tratamiento anaerobio de residuos líquidos. Fue desarrollado por Young y McCarty durante los fines de 1960, los cuales documentaron las principales ventajas de esta tecnología (Dahab, 1982):

- Puede tolerar bruscos cambios de velocidad de carga orgánica, y es capaz de pasar por largos períodos de inanición
- Es un equipo muy resiliente a cambios moderados de variables ambientales como el pH y la temperatura
- Presenta todas las ventajas de cualquier proceso anaerobio, como producción reducida de lodos, costos de operación relativamente bajos, entre otros
- No requiere recirculación, por lo que es simple operación al carecer casi totalmente de partes móviles

El principio básico del funcionamiento del filtro anaerobio es el transporte de sustancias por la capa biótica mediante un gradiente de concentraciones, como se ilustra en la figura 17:

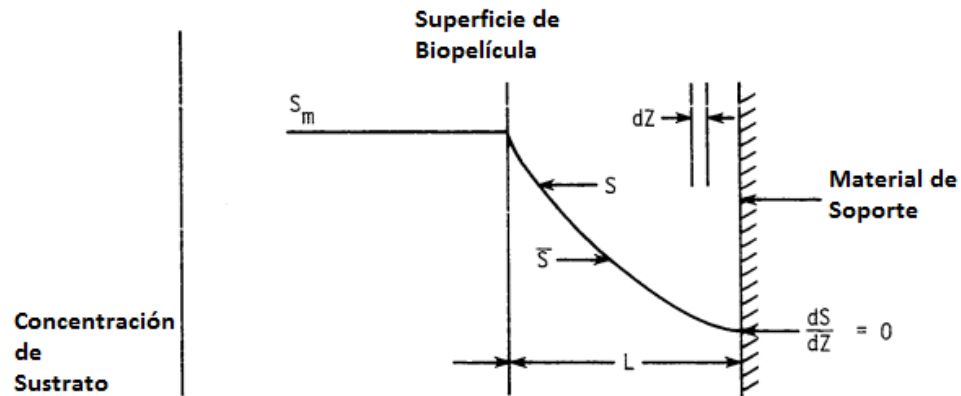


Figura 17. Gradiente de concentraciones que impulsa el movimiento de sustrato hacia la biopelícula (Adaptado de: Dahab, 1982)

Las principales limitaciones de este tipo de equipo son de tipo físico, especialmente el desgaste del material de relleno, ya que su erosión puede derivar en la formación de canales que reduzcan el contacto del agua residual con la biomasa, deteriorando la eficacia del tratamiento. Esto agrega costos de mantenimiento relativamente elevados, asociados con la compra del relleno. La figura 18 muestra un diagrama del equipo.

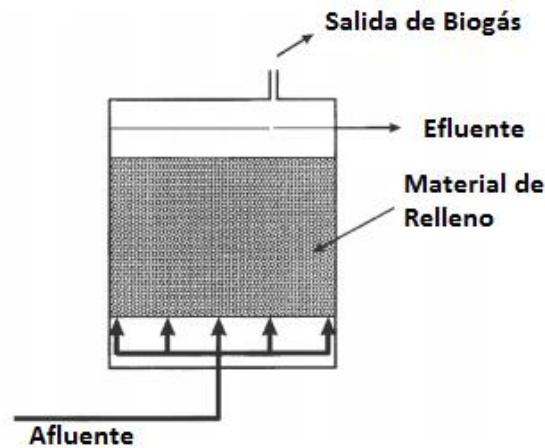


Figura 18. Bosquejo de filtro anaerobio de flujo ascendente (Adaptado de: Dahab, 1982)

Ventajas de la combinación de tecnologías

Los principales beneficios de implementar un filtro anaerobio en la parte superior de un reactor UASB son los siguientes (Aguirre, 2014):

- El empaque superior permite la fijación de microorganismos que floten por sobre el lecho de lodos, evitando el lavado del reactor. Esto permite al equipo operar a mayores velocidades superficiales.
- Las mayores velocidades aplicadas evita la generación de canales en el manto de lodos, lo que mejora el mezclado del afluente con la biomasa.
- El material de relleno aporta superficie de contacto, mejorando la separación del gas que viene adherido a gránulos de bacterias.

La principal desventaja se asocia a los costos de mantención por parte del relleno, y a la caída de presión generada por el filtro, lo que exige equipos de bombeo con mayor potencia.

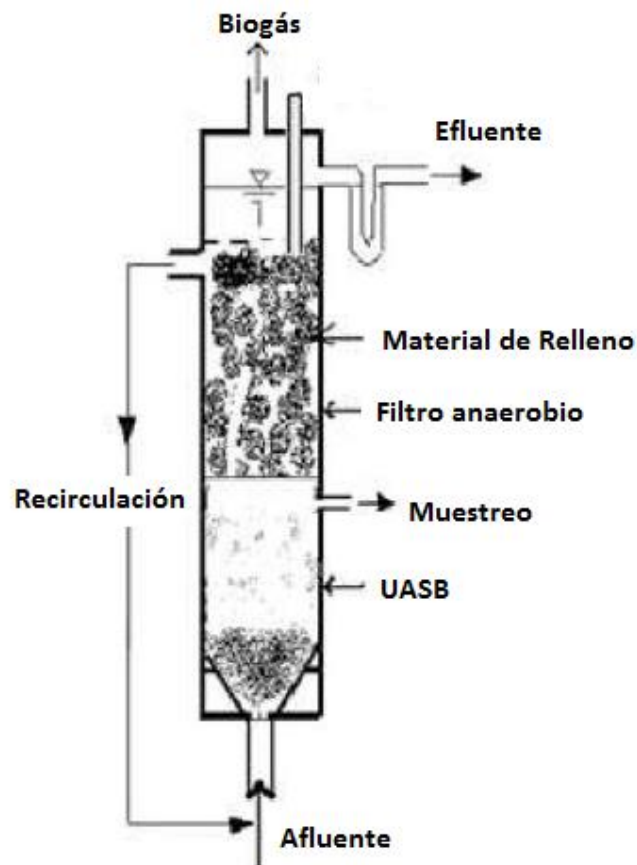


Figura 19. Diagrama de reactor UASBF, (Adaptado de: Aguirre, 2014)

3. Metodología y Materiales

Descripción del equipo principal

Se trabajó con un reactor cilíndrico, construido en acrílico, y sellado mediante uso de flanges y sellos mecánicos, para evitar posibles interferencias por compuestos asociados a sellantes químicos.

Cabe mencionar que se realizó una modificación, agregando una salida adicional (indicada en la Figura 20 con un círculo rojo). Esta salida se utilizó para la recirculación, y se dejó la salida superior como punto de descarga, con el fin de aliviar el trabajo de la bomba de recirculación. El modelo original utilizaba la misma salida superior como descarga de efluente y toma de recirculación, pasando previamente por el filtro. Esto disminuye el caudal otorgado por la bomba de recirculación debido a la caída de carga asociada al material empacado. Una segunda modificación menor fue la sustitución del sello superior por uno con flanges.

Las dimensiones del reactor son detalladas en la tabla 5, y el esquema de éste se muestra en la figura 21.



Figura 20. Fotografías del reactor a estudiar, instalado con el sistema de bombeo

Tabla 5. Dimensiones del reactor a escala a utilizar

Medida	Valor	Unidad
<i>Diámetro</i>	8,1	[cm]
<i>Largo total</i>	46	[cm]
<i>Volumen total</i>	2,2	[l]
<i>Volumen efectivo</i>	2,1	[l]
<i>Área transversal</i>	52,5	[cm ²]

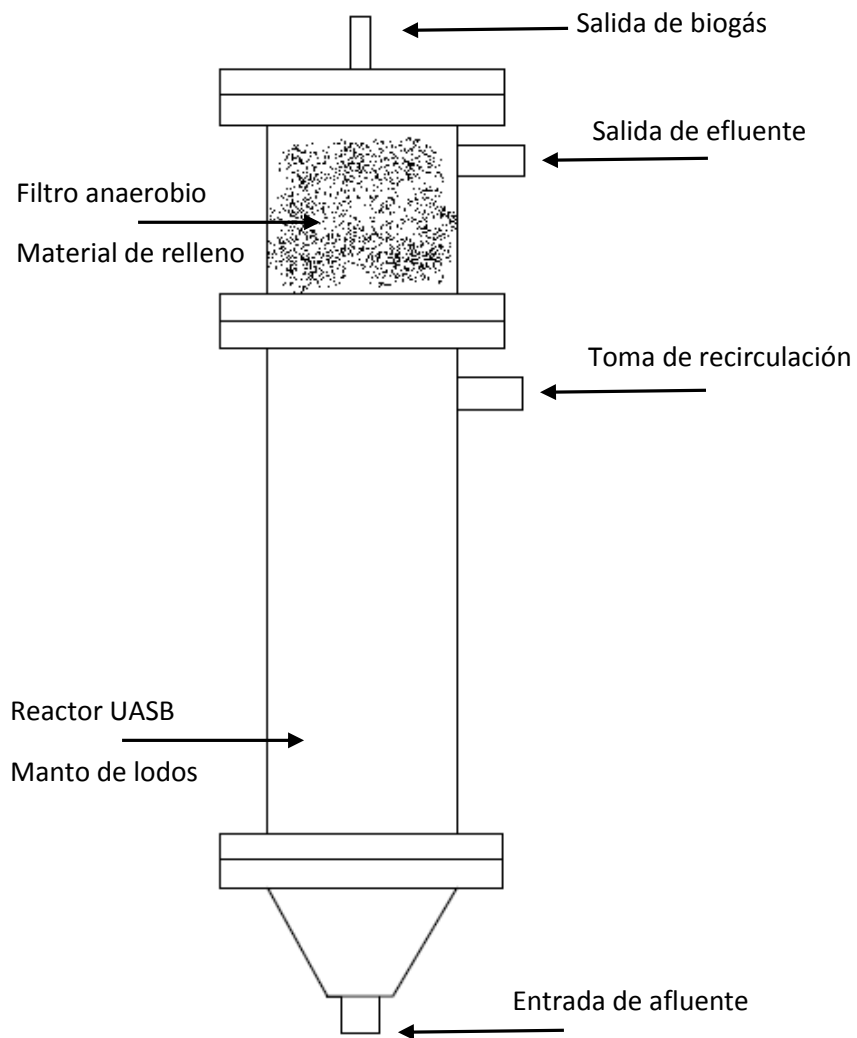


Figura 21. Diagrama del reactor UASBF utilizado

Instalación de equipos

La figura 22 muestra una descripción gruesa del sistema instalado en el laboratorio.

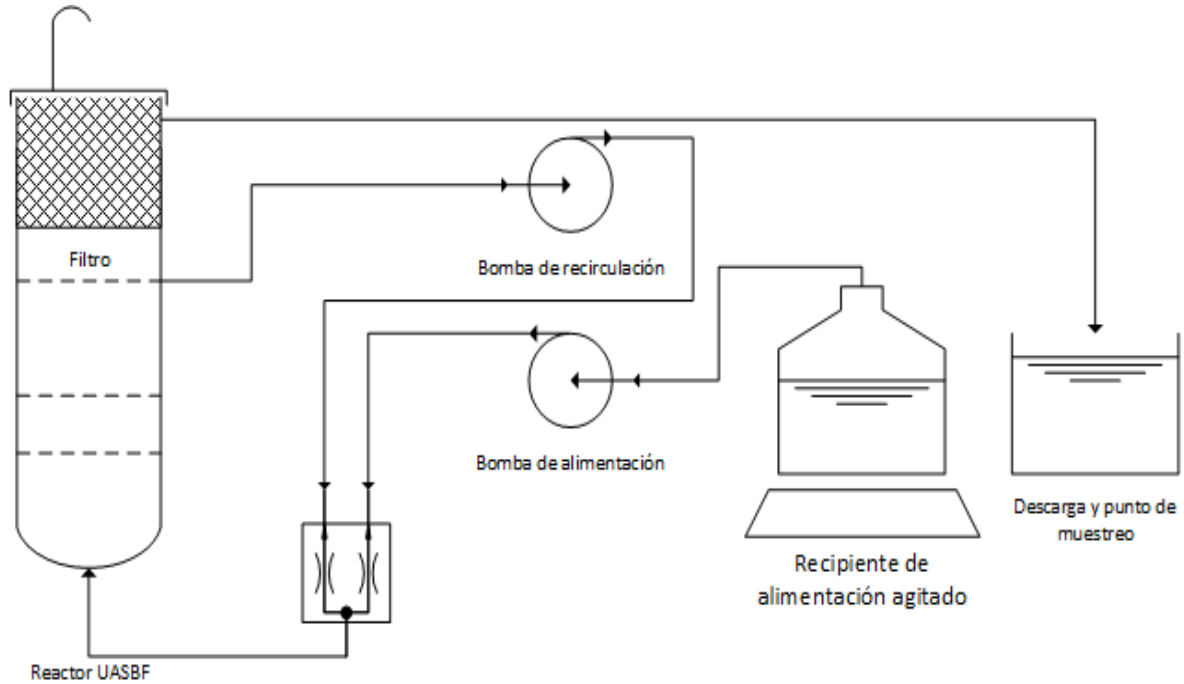


Figura 22. PFD del reactor con su respectivo sistema de alimentación y descarga

La bomba de alimentación toma el ril sintético desde su recipiente, que se mantuvo agitado y fuera del sistema de calefacción para mantener su homogeneidad, y lo introduce en el reactor desde el fondo, generando flujo ascendente desde el manto de lodos al filtro. Dicha sección cuenta con material de relleno plástico, seleccionado por su alta superficie por unidad de volumen.

La bomba de recirculación toma líquido entre el filtro y la zona de dispersión, y lo devuelve al equipo mezclándolo con la alimentación. Su función es la proveer turbulencia al sistema, mejorando la transferencia de materia entre los compuestos suspendidos y la capa biótica.

La salida del efluente se produce por rebalse del filtro. La ubicación de la recirculación anterior al material empacado permite una baja turbulencia en la zona del filtro, lo que permite la fijación de los microorganismos en el material de relleno con bajo riesgo de lavado, y permite otorgar suficiente velocidad de flujo al manto de lodos para generar aspersion del manto, evitando la formación de canales y mejorando el mezclado de lodos con el sustrato.

Las tomas de corriente de las bombas estaban reguladas con un temporizador que controlaba los ciclos de bombeo para cumplir con los parámetros de diseño. Dichos parámetros de control del temporizador se detallan en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros de funcionamiento del temporizador para control de la alimentación

<i>Medida</i>	<i>Valor</i>	<i>Unidades</i>
<i>Tiempo apagado</i>	5,610	[s]
<i>Tiempo encendido</i>	150	[s]
<i>Ciclo de control</i>	5,760	[s]
<i>Ciclo de control</i>	1,6	[h]
<i>Pulsos de alimentación</i>	15	[-]

Se operó con 15 pulsos de alimentación de 2,5 minutos, en los que funciona la bomba de alimentación con el caudal seteado según el plan de alimentación. Esto regula la velocidad superficial y el tiempo de residencia hidráulico del reactor, operando de forma continua por pulsos.

Se escoge la operación mediante pulsos por impedimentos técnicos, al no disponer una bomba que diese un caudal lo suficientemente bajo para permitir la operación continua del sistema. El sistema controlado con temporizador cubre el problema satisfactoriamente.

La experiencia se diseña de tal manera de seguir el plan que se detalla en la figura 23.

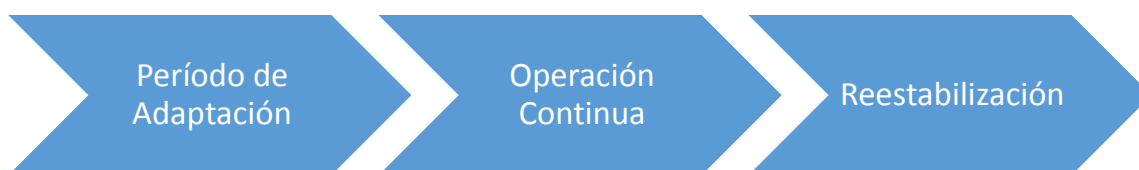


Figura 23. Diagrama de flujo de programa a seguir durante la experiencia

Durante el período de adaptación se opera por lotes, con cargas de los inóculos autótrofos y heterótrofos separadas por un tiempo suficiente para la adaptación del primero al ril sintético. Una vez obtenidos unos niveles de remoción aceptables, se procedió a cargar el inóculo heterótrofo y comenzar la operación continua.

La operación continua se programa para operar hasta alcanzada estabilidad en altas velocidades de carga de nitrógeno, o hasta la desestabilización del sistema. La desestabilización se medirá como una abrupta baja en la remoción de uno o más compuestos de interés (nitrato, tiosulfato y materia orgánica).

En caso de existir una desestabilización del equipo, se procede a configurar el sistema para una reestabilización. Esto se realizará disminuyendo la velocidad de carga hasta un valor donde la remoción vuelva a tomar valores aceptables (por sobre el 80%).

Operación por Lote (Adaptación)

Se arrancó el sistema mediante una operación de tipo *Batch*, durante la cual se inoculó con los lodos de las familias autótrofas y heterótrofas, con propiedades descritas en la tabla 7. El objetivo de inocular en dos etapas fue el permitir la adaptación del lodo autótrofo en primera instancia, ya que se ha documentado que dicho tipo de bacterias son más sensibles a la toxicidad producida por acumulación de compuestos químicos que sus pares heterótrofas (Aguirre, 2014).

Tabla 7. Características del lodo de inóculo utilizado

<i>Tipo de lodo</i>	<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>	<i>Unidad</i>
<i>Lodo Autótrofo</i>	SSV	80	[g/l]
	Volumen de carga	450	[ml]
<i>Lodo Heterótrofo</i>	SSV	93,7	[g/l]
	Volumen de carga	150	[ml]

Sistema de alimentación

El reactor funciona con un par de bombas peristálticas, ambas marca *LongerPump* (mostrada en la figura 24), modelo BT300-2J, con cabezal YZ1515x. Cuentan con un display para setear un valor numérico asociado a un caudal según la curva de calibración del anexo I.

Todas las mangueras utilizadas fueron unidas mediante sellos mecánicos, sin uso de pegamentos ni sellantes. Se colocaron llaves de paso en ciertos puntos para permitir el corte del paso de líquidos, con fines de mantenimiento esporádica (recambio de sellos o de mangueras por desgaste).



Figura 24. Sistema de bombas del equipo

Ril sintético a tratar

El ril sintetizado consta de una mezcla de micro y macro nutrientes que otorgan los elementos necesarios para la proliferación de los microorganismos del reactor. La mezcla de macronutrientes se prepara utilizando otros estudios como referencia (Aguirre, 2014), y se describe en la tabla 8, mientras que la solución de micronutrientes es descrita en la tabla 9.

Tabla 8. Concentraciones de ril sintético utilizado para arranque de equipo (Aguirre, 2014)

Compuesto	Concentración [g/l]
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5,00
NaNO_3	2,76
NaHCO_3	0,80
K_2HPO_4	3,46
KH_2PO_4	0,54
NH_4Cl	0,18
CH_3COOK	0,00
Sol. Micronutrientes	1,80 [ml/l]

Tabla 9. Composición de solución de micronutrientes (Fajardo, 2011)

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

El ril se prepara en lotes de 5 litros durante los días de semana, y se recambia cada dos días. Para los fines de semana se preparan lotes de 7 litros. Estas cantidades permiten la operación del sistema durante 2 y 3 días respectivamente. El recambio frecuente del ril sintético asegura la homogeneidad de la alimentación, al prevenir posibles descomposiciones de sales por reacciones o efectos no considerados.

Para el arranque se llenaron los 1600 [ml] de volumen desocupados del reactor con ril sintético, y se dejó con 100% de recirculación hasta observar una alta remoción de nitrato y tiosulfato. Esporádicamente se introdujo ril sintético fresco para evitar la inanición de las bacterias, pero no lo suficiente para considerar operación semicontinua, y para facilitar la toma de muestras.

Operación Continua

Arranque

Luego de inocular con lodo heterótrofo se procede a operar de manera continua. Las concentraciones del ril sintético se ajustan, aumentando la carga de nitrato por aumento de la masa de lodos, y se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Composición ril sintético para operación autótrofa y heterótrofa simultánea

Compuesto	Concentración [g/l]
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	5,00
NaNO ₃	3,30
NaHCO ₃	0,80
K ₂ HPO ₄	3,46
KH ₂ PO ₄	0,54
NH ₄ Cl	0,18
CH ₃ COOK	0,43
Sol. Micronutrientes	1,80 [ml/l]

La bomba comienza operando con nivel 30 [-], entregando un caudal de 3,33 [l/h] en 15 pulsos diarios de 3 minutos cada uno, consumiendo 2,08 litros de ril sintético por día. Esto genera un tiempo de residencia hidráulico de aproximadamente 1 día.

El nivel de operación de la bomba de alimentación se dejará constante durante toda la experiencia, a menos que su modificación se vuelva necesaria por saturación de la solución preparada como ril.

Plan de velocidad de carga

La velocidad de carga nitrogenada se mide a través de la siguiente expresión:

$$VCN \left[\frac{gN - NO_3}{l \cdot d} \right] = \frac{Q_a \cdot C_{N-NO_3}}{V_r}$$

Donde:

- ✓ VCN : Velocidad de carga de nitrógeno, medido en [gN-NO₃/l/d]
- ✓ Q_a : Caudal de entrada, medido en [l/d]
- ✓ C_{N-NO₃} : Concentración de nitrógeno en el afluente, medido en [gN-NO₃/l]
- ✓ V_r : Volumen del reactor en [l]

El arranque de la fase continua se realiza con una VCN de partida de 0,55 [gN-NO₃/l/d].

Los cambios en la VCN se planean para efectuarse una vez que se observe una estabilidad en los valores de remoción de los compuestos de interés al operar el reactor a determinadas VCN. Cuando se observa la estabilidad de datos, se procede a realizar aumentos de VCN de hasta un 10%. Esto se realiza multiplicando las concentraciones de los compuestos por un factor de aumento que toma valores entre 1 y 1,1.

Este plan de aumento de VCN permite la operación sin necesidad de realizar cambios en los parámetros de la bomba de alimentación, pero supone el problema de la eventual saturación de la solución por la disolución de sales. Para sortear dicho problema se pretende modificar el caudal suministrado si fuese necesario.

Mediciones realizadas

El seguimiento de la operación del reactor se realizó mediante la toma de muestras y el análisis de las variables mencionadas en la tabla 11.

Tabla 11. Parámetros medidos con sus metodologías de medición

PARÁMETRO	FRECUENCIA	MÉTODO	ANEXO	REFERENCIA
NITRATO	3 veces por semana	Espectrofotometría	A	(APHA, 2012)
NITRITO	3 veces por semana	Espectrofotometría	B	(APHA, 2012)
TIOSULFATO	3 veces por semana	Titulación	E	(Harris, 2007)
SULFATO	3 veces por semana	Espectrofotometría	F	(Severiche y González, 2012)
DQO	3 veces por semana	Método Dicromato	C	(APHA, 2012)
pH	3 veces por semana	Diferencia de Potencial	D	(APHA, 2012)

Adicionalmente se realizaron prueba de sólidos suspendidos volátiles a los lodos (Anexo H), y las pruebas eran preparadas para los instrumentos de medición mediante filtración previa (Anexo D), con el objeto de minimizar las posibles interferencias.

4. Resultados y Discusión

El reactor fue inoculado con una mezcla de lodos, siendo:

- El cultivo de bacterias heterótrofas obtenidas del lodo de purga de un UASB de la empresa British American Tobacco Chile, del cual se utilizaron 100 [ml]. Las pruebas de sólidos indican un valor de 93,7 [gSSV/l], el cual se entiende como la concentración de microorganismos en el lodo.
- El cultivo de bacterias autótrofas obtenidas de la purga de una laguna anaerobia de la empresa AASA, del cual se utilizaron 400 [ml]. Las pruebas de sólidos indican un valor de 80 [gSSV/L], el cual se entiende como la concentración de microorganismos en el lodo.

El funcionamiento del proceso biológico se corrobora a través de la observación de la descarga de gas por el tope (se observan burbujas salir por la vía superior cuando ésta se encuentra sumergida en agua), y por el comportamiento de variables medidas a lo largo de la experiencia.

El reactor operó en dos fases; una fase de adaptación, durante la cual se mantiene operando en *Batch*; y una fase de operación continua, la cual se desarrolla según lo descrito en la metodología. Durante la fase de adaptación se carga cada tipo de inóculo por separado, utilizando inóculo de tipo autótrofo en primera instancia, al cual se le otorga un tiempo de acostumbramiento al sustrato de 5 días. Luego se agregó el resto del inóculo, adicionando el cultivo heterótrofo, y se mantuvo la operación *Batch* para observar la adaptación simultánea de las familias de bacterias al sustrato. Se observó una alta remoción de compuestos (92,1% [gNO₃⁻/l], 86,7% [gDQO/l], 89,1% [gS₂O₃⁻²/l]) para el día 10 de la operación *Batch*, con lo cual se da por finalizada la fase adaptativa, y se comienza a operar de manera continua.

La operación continua del reactor analizó la capacidad del mismo para procesar un sustrato sintetizado de tal manera que permita controlar: los valores de VCN [gN-NO₃⁻/l/d], la relación entre carbono y nitrógeno, y el exceso de tiosulfato [%]. Cambios en los parámetros de control se realizaron mediante modificaciones en la fórmula de alimentación y/o ajustes de flujo en la bomba de afluente.

Cabe mencionar que se realizó una recarga de lodos de aproximadamente: 50 [ml] de lodo autótrofo, y 50 [ml] de lodo heterótrofo, en el día 1 de operación en continuo, debido a que aún no se obtenía una buena fijación del inóculo en el material de relleno del filtro superior, y se observó una disminución notable en el nivel del lecho. Posterior a este evento, no fueron necesarias más recargas de lodo, y la biomasa perdida

con el efluente no era la suficiente para sospechar un posible lavado del reactor, por lo que no se realizaron pruebas de sólidos al mismo.

Presentación de datos

Se puede observar en la figura 25 la evolución gradual de la velocidad de carga de nitrógeno en forma de nitrato. Ésta fue subiendo según el plan establecido, manteniéndose durante un período mayor o igual a 3 TRH, para permitir la adaptación del lecho de microorganismos al aumento de sustrato.

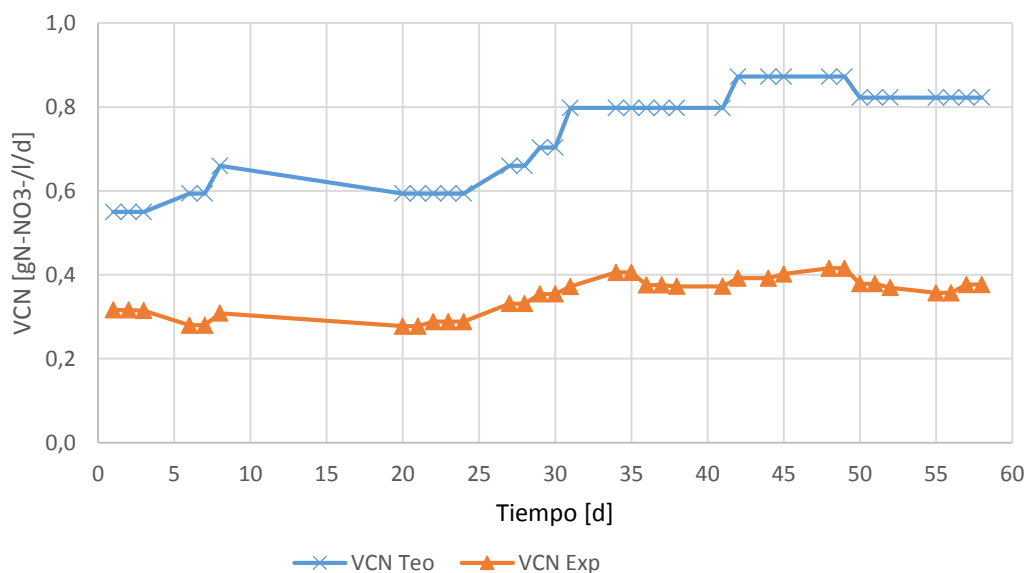


Figura 25. Evolución de la VCN experimental y teórica durante la operación continua del reactor UASBF

Las alzas en velocidad de carga fueron planeadas para aumentar en aproximadamente un 10% respecto del valor anterior, de tal modo de no generar un impacto muy grande en el comportamiento de las demás variables de control, causado por inhibiciones en las bacterias.

Es destacable la diferencia sostenida entre los valores teóricos y experimentales de velocidad de carga, la cual se mantiene prácticamente constante durante toda la operación. Se justifica dicho efecto como un problema de medición del ion nitrato por parte del equipo de espectrofotometría, el cual presenta problemas al medir dicho compuesto cuando se encuentra simultáneamente con altas cantidades de tiosulfato de sodio, ya que éste último genera interferencia. Esta justificación es apreciable de manera consistente en el desarrollo del gráfico de datos, ya que el comportamiento de ambas curvas es similar, con una diferencia constante a lo largo del tiempo, la cual se atribuye a dicha interferencia. Cabe destacar

El valor de velocidad de carga óptima se encuentra entre 3 y 3,4 [gDQO/l/d], el cual fue determinado luego de la abrupta caída de remoción de compuestos de interés. Dicha VCO guarda una relación con la VCN óptima, alcanzada en el mismo período, de 3,6:1 – 4,1:1, lo cual aparentemente contradice la proporción entre carbono y nitrógeno que se utiliza en la preparación del ril, la cual es de 1:5, para entregar una cantidad baja de carbono orgánico en relación del nitrógeno total.

El inóculo mostró adaptación sin problemas al ril sintético. Luego del período de operación *Batch*, el sistema comenzó con una remoción de nitrato del 92,1% y se mantuvo por sobre 85% durante toda la operación, hasta que mostró un fuerte descenso en la remoción cuando sobrepasó los 0,80 [gN-NO₃⁻/l/d], y descendió hasta un 59,8%, tal como describe la figura 27.

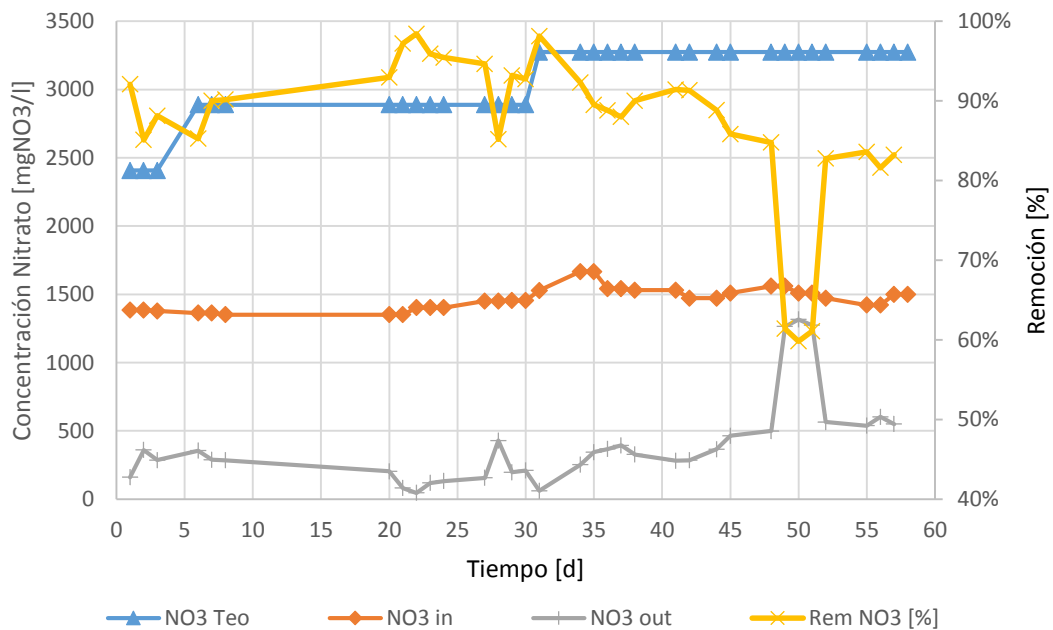


Figura 27. Evolución de la remoción del ion nitrato durante el período de operación del reactor

La curva que representa la remoción muestra “eventos” de variación brusca, los cuales vienen siempre luego de subidas de velocidad de carga de nitrógeno, por lo que se entienden como adaptación de la biomasa a las nuevas condiciones. Se vigiló dicha fluctuación en los parámetros hasta alcanzada su estabilización, para luego volver a aumentar la velocidad de carga. El tiempo típico de estabilización fue de aproximadamente 3 TRH.

Se puede justificar el primer evento de desestabilización debido a una falla en el sistema de alimentación automático, el cual administró el volumen de ril sintético programado para alimentar durante 2,5 [d] en

un período de 1 [d], lo cual mermó en la remoción. A pesar de este incidente, no se observó una disminución en ésta por debajo del 85%, y se elevó por sobre el 90% en 5 TRH.

Sin tomar en consideración el punto de caída de remoción por sobrecarga (en VCN igual a $0,87 \text{ [gN-NO}_3^- \text{ /l/d]}$), se obtuvo en promedio un 90% de remoción de nitrato, con un mínimo de 81,6% y un máximo de 98,1%.

A pesar de los altos valores de remoción de nitrato, es importante considerar la formación de nitrito como metabolito intermediario, ya que la descarga del mismo indica que la reducción del nitrato no se llevó a cabo hasta nitrógeno molecular. Este efecto será considerado más adelante en el análisis de datos.

El comportamiento errático del parámetro de remoción de DQO mostrado en la figura 28 indica lo susceptible que es la familia de bacterias heterótrofas a cambios en la composición del ril de entrada.

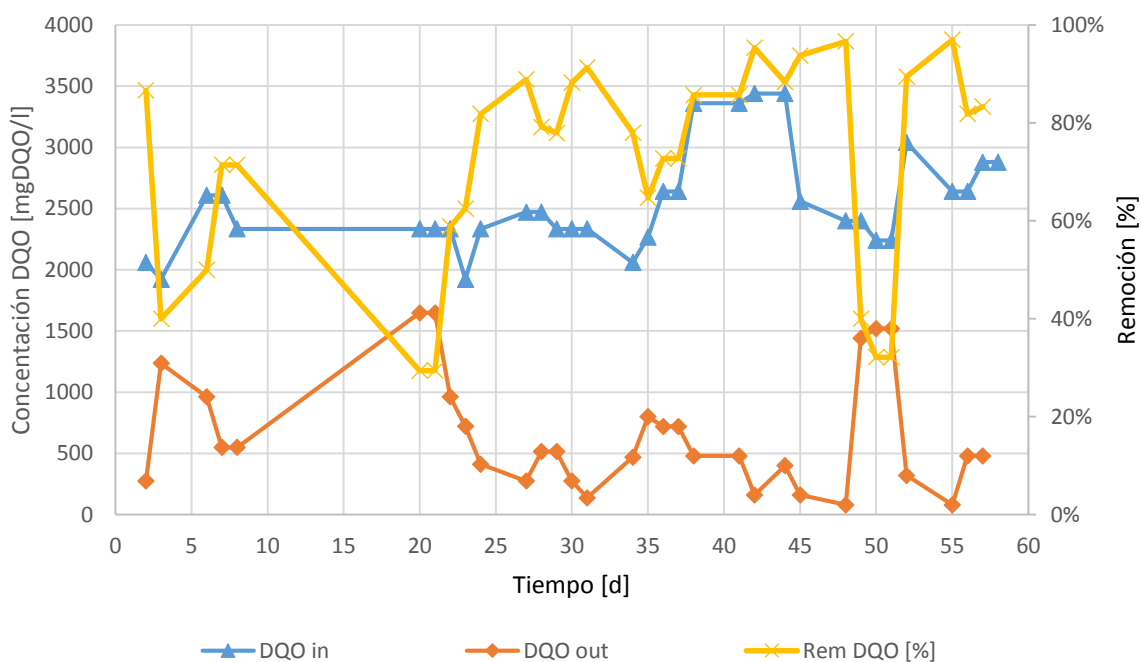


Figura 28. Remoción de materia orgánica medida como DQO, durante operación en continuo

La remoción alcanzó un valor de 86,7% luego de finalizado el período de operación *Batch*, con lo cual se asumió la adaptación del inóculo al sustrato. Se puede observar una posterior disminución en la capacidad de tratamiento de materia orgánica, cayendo hasta un 40%, recuperándose a 71,4% en tan sólo 4 TRH, el cual se puede relacionar con la falla operacional del sistema de alimentación descrita anteriormente.

Durante el período de ausencia programada (en la cual no se realizaron mediciones) se puede asumir una paulatina disminución de la capacidad de procesamiento de materia orgánica, alcanzando el valor mínimo de remoción de todo el tiempo de operación, un 29,4%. A partir de dicho mínimo, la evolución del parámetro no deja de mostrar un comportamiento errático, pero tiende al alza de manera sostenida, sugiriendo que el valor óptimo de velocidad de carga de materia orgánica aún no se alcanza.

Debido a la falta de recolección de datos durante el período de festividades, no se puede observar completamente el comportamiento de la remoción durante dicho lapso de tiempo. Existe la posibilidad de mala fijación en la parte del filtro por parte del inóculo heterótrofo debido a que fue el último en añadirse al reactor, y se observó lavado durante el mismo tiempo en el que se registraron bajos valores de remoción de materia orgánica. Es importante mencionar que el lavado observado generó la necesidad de añadir más inóculo, con el fin de mantener el nivel del lecho, y para poder mantener las velocidades de carga programadas. Luego de dicha inoculación extra, los valores de remoción de materia orgánica subieron sustancialmente, hasta alcanzar un valor máximo de 96,7%.

La remoción muestra una fuerte caída cuando el valor de VCO supera los 4 [gDQO/l/d], y sus respectivos 0,87 [gN-NO₃⁻/l/d] de VCN, comportamiento observable en todos los demás parámetros de remoción, con lo que se asumen superadas las condiciones óptimas de operación.

Luego de bajar hasta un 31,1% de remoción de materia orgánica, se reajustan las variables de operación a una VCO de 3,4 [gDQO/l/d]. Esto resultó en una reestabilización de la remoción hasta valores superiores a 80%, con un promedio de 88% y un valor máximo para toda la experiencia de 97%.

La remoción del ion tiosulfato se relaciona directamente con la metabolización del nitrato por parte de la familia autótrofa de bacterias en el reactor.

La elevada tasa de remoción de tiosulfato indica la buena adaptación de la biomasa al ril de entrada. Durante el desarrollo de la experiencia, la remoción de dicho compuesto nunca bajó del 98%, siendo la excepción el momento en el que las condiciones óptimas de operación fueron rebasadas, como se aprecia en la figura 29.

El promedio de remoción de tiosulfato fue de 99,4%, para luego desplomarse hasta un mínimo de 46,1%. Luego de reajustados los parámetros de operación, la remoción se recuperó hasta un promedio de 98,5%, para lo cual el sistema necesitó 5 TRH.

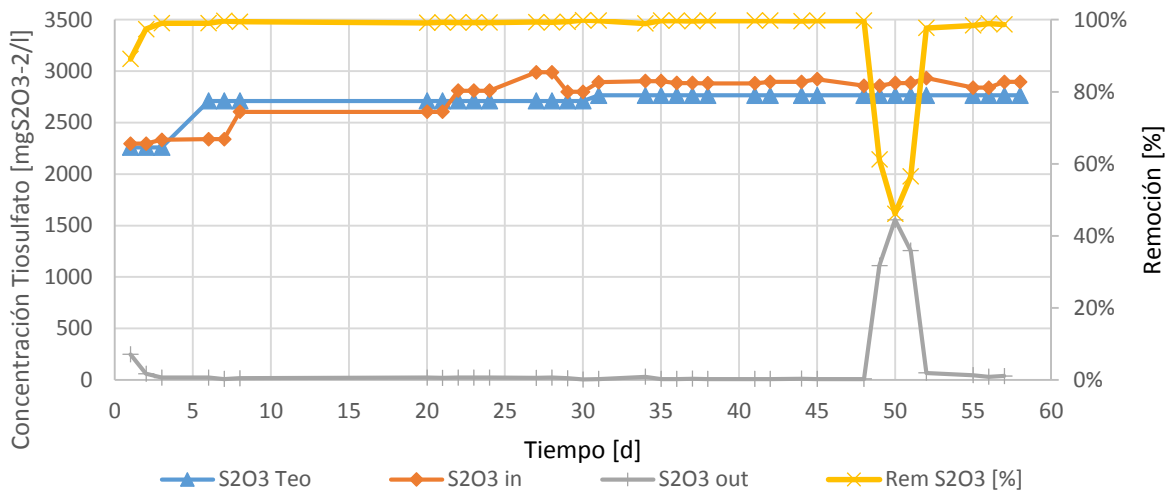


Figura 29. Evolución de la remoción del ion tiosulfato durante la operación continua del reactor

La casi nula presencia de tiosulfato de sodio en el efluente genera muy baja interferencia en la medición del ion nitrato mediante espectrofotometría, con lo que se puede asegurar la confiabilidad de la prueba en los parámetros del efluente.

Se hace un seguimiento de los iones SO_4^{2-} y NO_2^- como medida de asegurar la completa metabolización de los compuestos presentes en el ril: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y NaNO_3 respectivamente, representados en la figura 30.

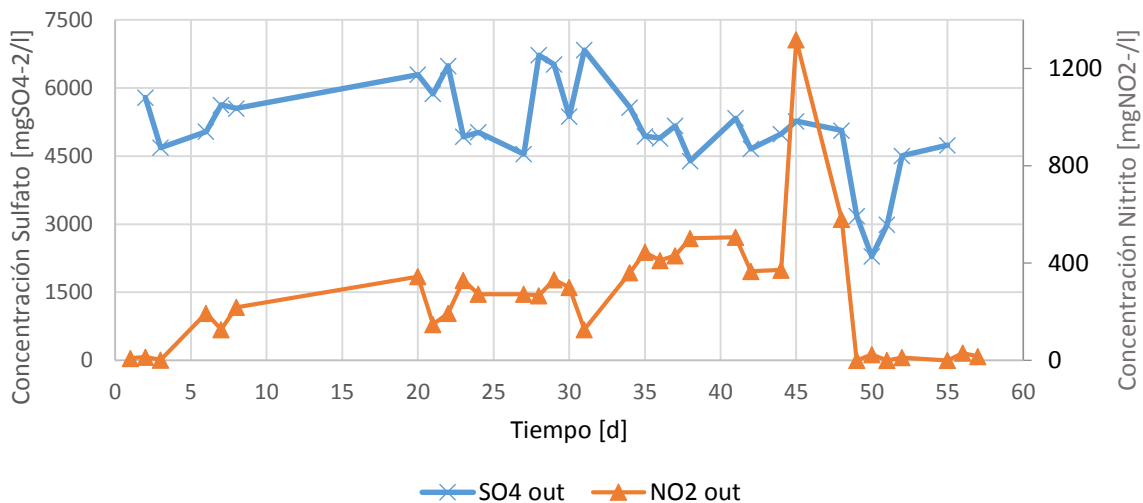


Figura 30. Acumulación de productos intermedios y finales de la metabolización de compuestos en el ril

El pH se mide para analizar la relación de coexistencia entre ambas especies de bacterias, siendo el principal indicador de desequilibrio entre el crecimiento de éstas.

Se ajusta una cantidad de tampón fosfato según el modelo de Henderson – Hasselbalch, el cual agrega suficiente capacidad tampón para controlar bruscos cambios en las concentraciones de protones e hidroxilos en el reactor.

Se puede observar en la figura 31 que el pH se mantiene constantemente en un rango óptimo de 6,5 – 7,5. El punto de muestreo excepcional se ubica en el período de desestabilización de las variables de remoción, punto que alcanza un valor de pH de 7,7. Dicho indicador se estabiliza casi de manera inmediata luego de reajustados los parámetros operacionales, tendiendo a un valor muy cercano a 7.

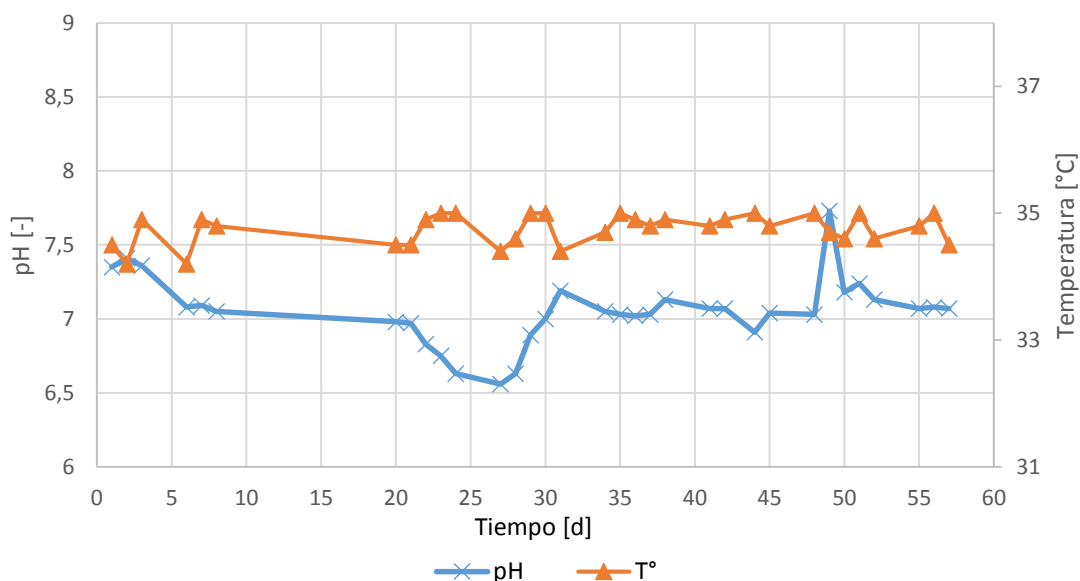


Figura 31. Seguimiento de pH y temperatura de operación de reactor UASBF

Se pueden observar eventos en los cuales el valor de pH muestra claras tendencias al alza o baja. A partir del día 21 se ve una tendencia a la acidificación del medio, el cual ocurre simultáneamente con el alza en la remoción de materia orgánica desde un 29,4% hasta un 88,9%, punto en el cual el pH tiende un valor neutro, estabilizándose cerca del valor de pH 7, mientras que la remoción de DQO se estabiliza en valores rondando el 80%.

El valor de temperatura se controla mediante una termocupla asociada a un sistema de calefacción, el cual mantiene todo el sistema en una temperatura promedio de 34,8°C, con máximos de 35°C y mínimos de 34,2°C.

Análisis de Datos

Se procederá a presentar datos combinados para poder observar y analizar tendencias, y justificar comportamientos del sistema. Se denotan los eventos de alza de velocidad de carga en los gráficos como líneas segmentadas verticales.

La velocidad de carga de nitrógeno fue el parámetro principal con el cual se planean los cambios operacionales del reactor. La figura 32 muestra la evolución del aumento programado, hasta alcanzado el valor de $0,87 \text{ [gN-NO}_3^-/\text{l/d]}$, condición en la cual el sistema muestra un decrecimiento abrupto en rendimiento, por lo que retrocede hasta un valor considerado óptimo de $0,82 \text{ [gN-NO}_3^-/\text{l/d}]$.

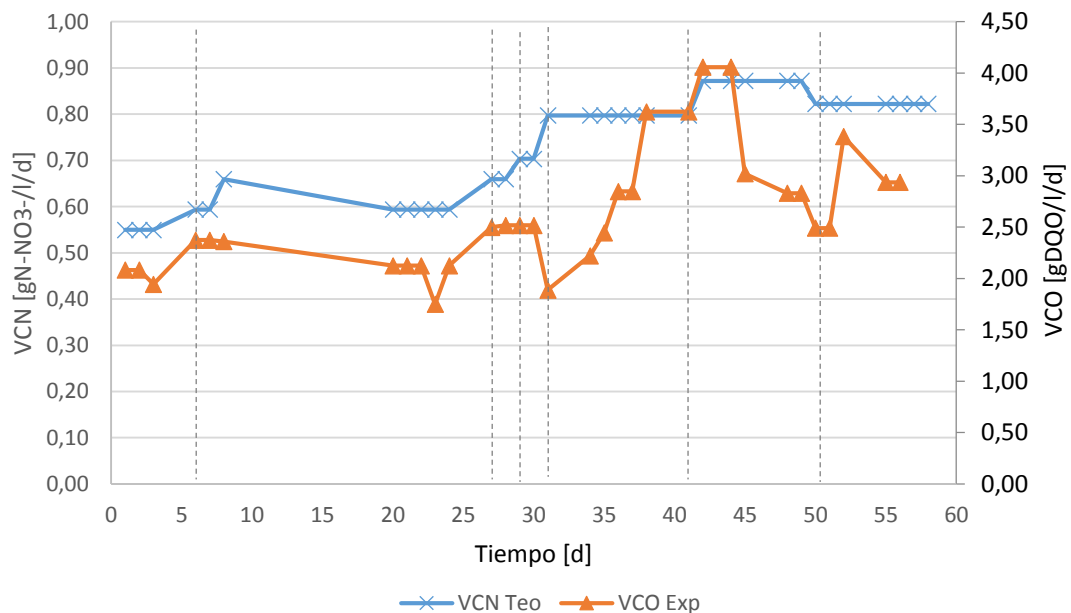


Figura 32. Seguimiento de velocidad de carga de compuestos de alto interés para la experiencia

La velocidad de carga orgánica evoluciona de manera paralela a la VCN, con visibles irregularidades respecto de la última, principalmente debido a la fidelidad de la prueba. Entre los días 31 – 45 existen dificultades de medición debido a problemas en la preparación de una de las soluciones utilizadas en la prueba de titulación de DQO. A pesar de esto, se registra un aumento sostenido, y se observa una desestabilización del sistema al alcanzar los $4,1 \text{ [gDQO/l/d]}$, por lo que se disminuye hasta los 3 [gDQO/l/d] , valor que se considera óptimo.

La remoción de nitrato, DQO y tiosulfato son los principales parámetros de seguimiento de la experiencia, y se representan en la figura 33. Las curvas de remoción de nitrato y tiosulfato muestran leves inestabilidades, coincidiendo con los eventos de alza de velocidad de carga (tomando en cuenta un tiempo de respuesta del sistema de aproximadamente 3 TRH). A diferencia de éstos, la remoción de DQO se observa errática, con poca tendencia a la estabilidad, principalmente atribuido al bajo volumen de inóculo heterótrofo cargado al reactor en último momento, lo que aportó a la pobre fijación de las bacterias al medio del filtro; y a la prueba de medición de DQO, que mostró irregularidades durante la experiencia.

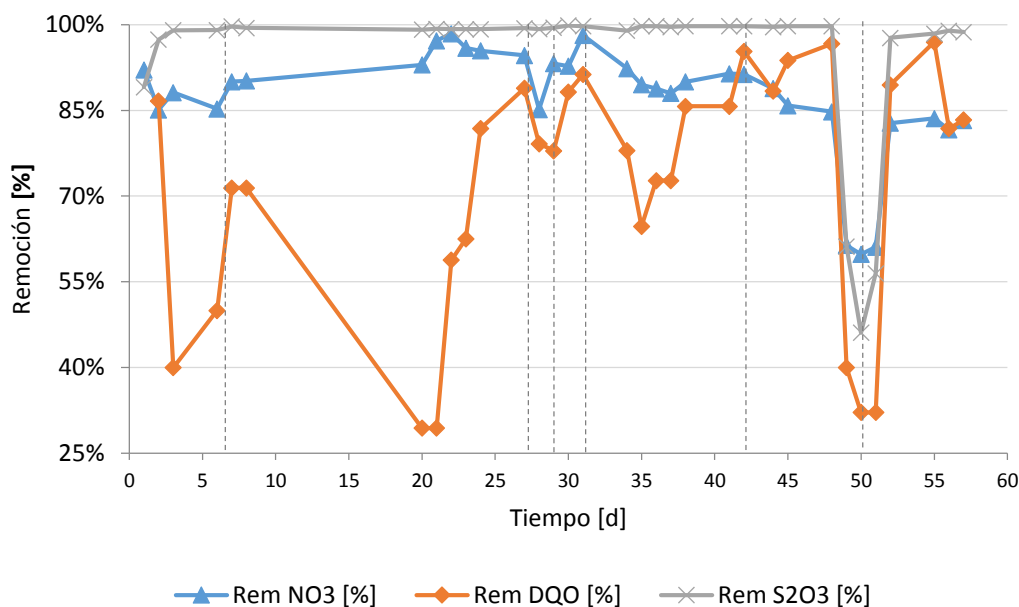


Figura 33. Evolución de la remoción de cada compuesto de interés en contraste con variaciones de velocidad de carga aplicadas

La alta y constante remoción de ion tiosulfato (siempre superior a 99%), sumado a la buena remoción de nitrato durante toda la operación refleja una buena adaptación al sustrato por parte de la familia de bacterias autótrofas.

A pesar de observar un comportamiento errático de la remoción de DQO, la estabilidad de la remoción de nitrato hace pensar que la inestabilidad de la última es mayormente influenciada por problemas con la medición de DQO. A pesar de esto, se puede observar cómo las curvas de remoción están estrechamente relacionadas, particularmente durante los días 24 al 42, entre los cuales las variaciones experimentadas por ambas son muy similares. Las alteraciones se ven amortiguadas en la curva de remoción de nitrato, en contraste con las de la remoción de DQO, lo que sugiere que las falencias en la familia heterótrofa eran

suplidas por las autótrofas, consumiendo mayor cantidad de nitrato cuando las anteriores mostraban actividad reducida.

Se puede observar un claro declive en las remociones de todos los compuestos de interés luego del alza de velocidad de carga del día 42 (subida a 0,87 [gN-NO₃⁻/l/d]), luego de pasados aproximadamente 7 TRH. Se puede apreciar acumulación de otros compuestos intermediarios antes de la brusca pérdida de eficiencias ocurridas en el día 49, bajando hasta remociones de 56,5% [gNO₃⁻/l], 46,1% [gS₂O₃⁻²/l] y 32,1% [gDQO/l]. A partir de dicho punto, se reduce la velocidad de carga a 0,82 [gN-NO₃⁻/l/d], lo que repercute inmediatamente en el sistema, reestabilizando las remociones hasta valores superiores a 80% en todos los casos. Una mayor recuperación de la remoción de DQO sugiere que la familia de bacterias heterótrofas soportó el impacto de mejor manera, y se recuperó más rápidamente que la autótrofa.

Las bacterias poseen un rango de pH en el cual pueden sobrevivir y metabolizar efectivamente los compuestos que desean ser tratados. Dicho pH es afectado por los elementos que ingresan al reactor, conformando el medio acuoso en el que se desenvuelven los microorganismos, y por la misma acción metabólica de las bacterias.

Se comparan las evoluciones de remoción de nitrato y DQO, excluyendo la de tiosulfato debido a su comportamiento invariante durante casi todo el período, con el pH medido del efluente. Se ven relaciones en eventos de perturbación entre todas las curvas de la figura 34.

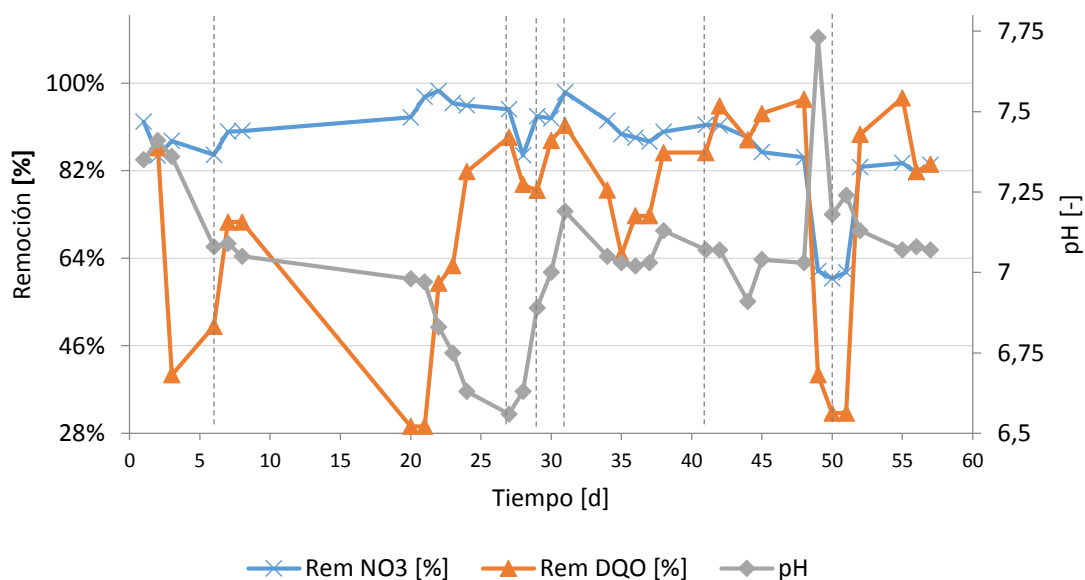


Figura 34. Contraste entre comportamiento del pH del efluente y las variables de remoción

A partir del día 21 se puede observar un decaimiento del pH, lo que se puede interpretar como una acidificación del medio por parte de la familia de bacterias autótrofas, que libera protones durante la metabolización de nitrato. Esto combinado con el alza en remoción de nitrato a partir del mismo día puede interpretarse como una sobreactividad de desnitrificación autótrofa. Casi simultáneamente se aprecia un alza en la remoción de DQO, acompañado de un posterior descenso en la remoción de nitrato y una desaceleración en la acidificación del efluente, que sugiere una rápida adaptación de la familia heterótrofa, mientras que la autótrofa disminuye su actividad total, debido a la competencia que existe entre ambas por el nitrato.

Entre los días 27 y 31 se registra una rápida alza en el pH, acompañada por una simultánea desestabilización de las remociones de nitrato y DQO, aunque luego de dicho período se logra una parcial estabilización de variables, percibiéndose un comportamiento similar entre todas.

La desestabilización del sistema por velocidad de carga viene acompañada de una rápida basificación del medio, el cual vuelve a pH neutro una vez retomada la velocidad de carga óptima.

El rango de pH durante toda la operación, excluyendo la desestabilización final, fue de 6,6 a 7,4, el cual se encuentra dentro del margen óptimo para el desarrollo de ambas familias de bacterias. Se puede deducir de esto que la proporción de inoculado y la relación N/C permitió un equilibrio tal que ninguna familia inhibiese a la otra.

Ciertos compuestos generan inhibiciones en el proceso de metabolización de los microorganismos cuando se encuentran por sobre un rango de concentraciones. Es posible observar en la figura 35 cómo la evolución en la concentración de dichos compuestos afecta la eficacia del tratamiento de nitrato del sistema.

La tendencia que más se ajusta a las variaciones en remoción de nitrato es la de concentración de azufre en forma de ion sulfato, el cual se encuentra siempre entre los 1.460 y 2.280 [mgS-SO₄⁻²/l] (sin tomar en consideración los valores alcanzados durante el desajuste final). Dicho rango de concentración se encuentra en niveles en los que se han registrado inhibiciones de desnitrificación autótrofa a partir de nitrato. Se pueden asociar las alzas de concentración de azufre en forma de sulfato con los cambios en la remoción de nitrato en los días 27, 31, y 41, debido a que el último parámetro también va de la mano con el consumo de tiosulfato para la formación de sulfato en la descarga, y que la acumulación de dicho compuesto afecta la remoción de nitrato por inhibición, formando un sistema retroalimentado entre ambos parámetros.

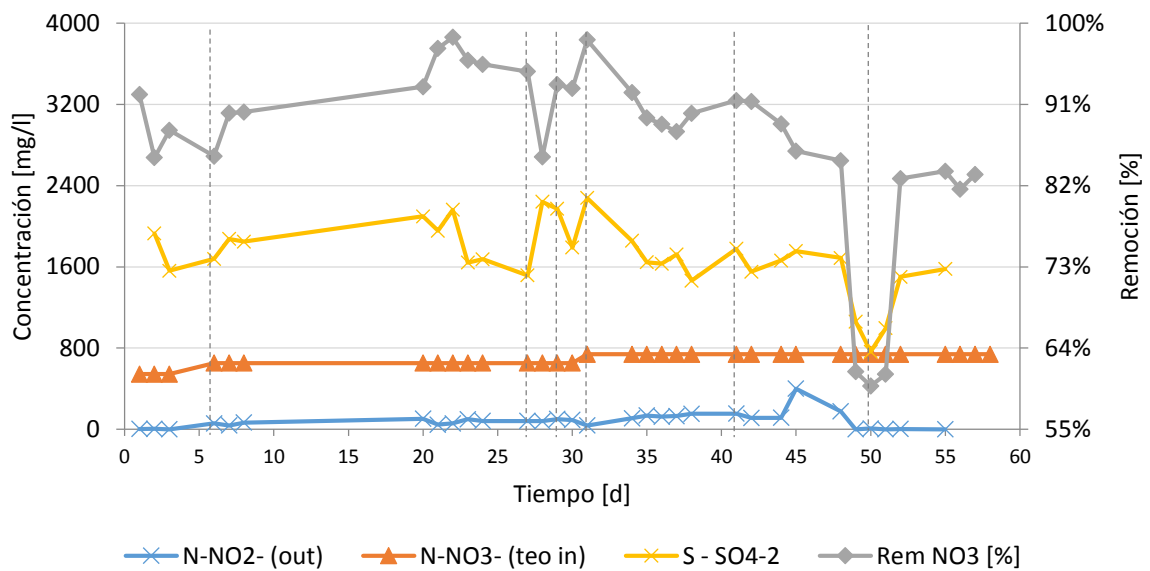


Figura 35. Concentración en el tiempo de compuestos con posibles efectos inhibitorios en contraste con la remoción de nitrato

Durante la caída de remociones registrada el día 49, la concentración de azufre baja junto con la remoción de nitrato, aparentemente contradiciendo lo expuesto anteriormente, pero esto se justifica con una fuerte baja en la metabolización del tiosulfato de sodio, principal materia prima para la sintetización del ion sulfato.

El comportamiento de la concentración de nitrato de entrada también muestra cierta correlación con la remoción del mismo, principalmente debido a las alzas en VCN. Para el día 31 se registra una concentración de 740 [mgN-NO₃⁻/l], y a partir de dicho punto se observa una consistente pérdida de remoción de nitrato, con lo cual se puede deducir que se está generando una inhibición por toxicidad de nitrato.

Junto con la inhibición descrita anteriormente, a partir del día 34 se aprecia un alza en la concentración de nitrito, producto de la toxicidad causada por el exceso de nitrato en el afluente. Dicha acumulación de nitrito supera los 100 [mgN-NO₂⁻/l] en los cuales se han registrado inhibiciones en la desnitrificación autótrofa, lo cual puede adicionarse como un factor de reducción en la eficacia del tratamiento del nitrato de entrada. Se registra un cambio en la remoción por los efectos antes mencionados, bajando de un promedio de 92,7% a un promedio de 89,5%, indicando que los efectos inhibitorios presentados no generan un impacto muy grande en la eficacia del sistema.

A pesar de presentarse la acción de ambos compuestos inhibitorios, la remoción parece recuperarse levemente a partir del día 38, subiendo de un mínimo local de 88% a 91,4%. También se registra un leve descenso en la concentración de nitrito en el efluente, sólo para ser seguido de una fuerte alza del mismo,

alcanzando 400 [mgN-NO₂⁻/l], el cual posiblemente cause el desplome en la remoción de compuestos de interés por toxicidad. Una vez reajustada la velocidad de carga de elementos, se observa que el sistema transforma completamente el nitrato a nitrógeno molecular, debido a la ausencia de nitrito en las muestras tomadas, lo que indica una completa recuperación y reestabilización de la biomasa del reactor.

Se busca la reducción del ion nitrato hasta nitrógeno gaseoso debido a que presenta menor impacto ambiental respecto de otras formas en las que se presenta el nitrógeno. A pesar que, por teoría y diseño de la experiencia, se esperaba una conversión del 100% del nitrógeno metabolizado por las bacterias hasta nitrógeno molecular, este valor no se alcanzó debido a la acumulación de productos intermediarios, de los cuales sólo se hizo medición del nitrito.

La curva de la figura 36 que representa la concentración de nitrógeno molecular se calcula a partir de la diferencia entre las concentraciones de nitrógeno en forma de nitrato en el afluente y efluente, menos la cantidad de nitrógeno en forma de ion nitrito medido a la salida del reactor. Dicha curva se utiliza como referencia para estimar la reducción hasta nitrógeno gaseoso, pero no considera la posible acumulación de otros intermediarios, tales como óxido nitroso u óxido nítrico, debido a que no se realizaron mediciones de dichos compuestos.

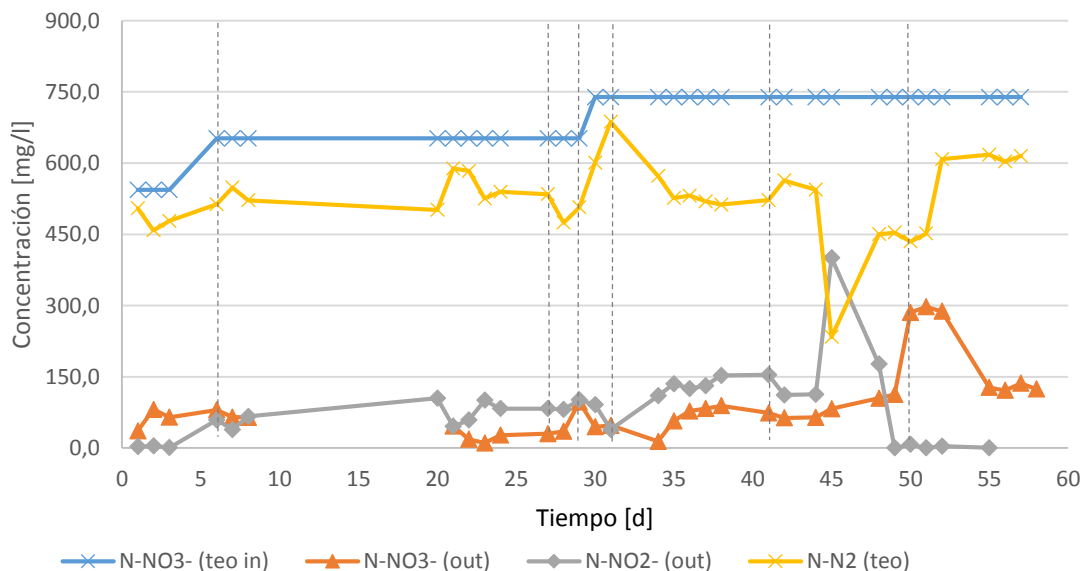


Figura 36. Seguimiento de la concentración de formas presentes de nitrógeno medidas

Se puede observar la cercanía entre las curvas que representan la entrada de nitrato y la salida de nitrógeno gaseoso, con lo que es posible asumir una alta tasa de metabolización completa, sin gran acumulación de metabolitos intermediarios. Las curvas se alejan a partir del alza de velocidad de carga del día 31, y se aprecia un incremento en las concentraciones de nitrato y nitrito en el efluente, producto de la desestabilización del sistema. La mínima concentración de nitrógeno molecular va en conjunto con la máxima concentración de nitrito, y con una subsecuente alza de nitrato eliminado en el efluente. Luego de aplicarse la nueva velocidad de carga supuesta como óptima, la curva de nitrógeno gaseoso vuelve a aproximarse a la de nitrato de entrada, y los compuestos medidos en el efluente bajan su concentración, indicando una nueva condición de estabilidad.

Otro compuesto de interés es el tiosulfato, el cual se utiliza como aceptor de electrones en la desnitrificación autótrofa, eliminando sulfato como residuo metabólico. Se aprecia en la figura 37 como la curva de concentración de azufre en forma de sulfato supera de manera constante la concentración de azufre en forma de tiosulfato medurado en el afluente. Esto sugiere una acumulación de sulfato en el sistema, lo cual puede generar inhibiciones como consecuencia de la toxicidad de dicho compuesto.

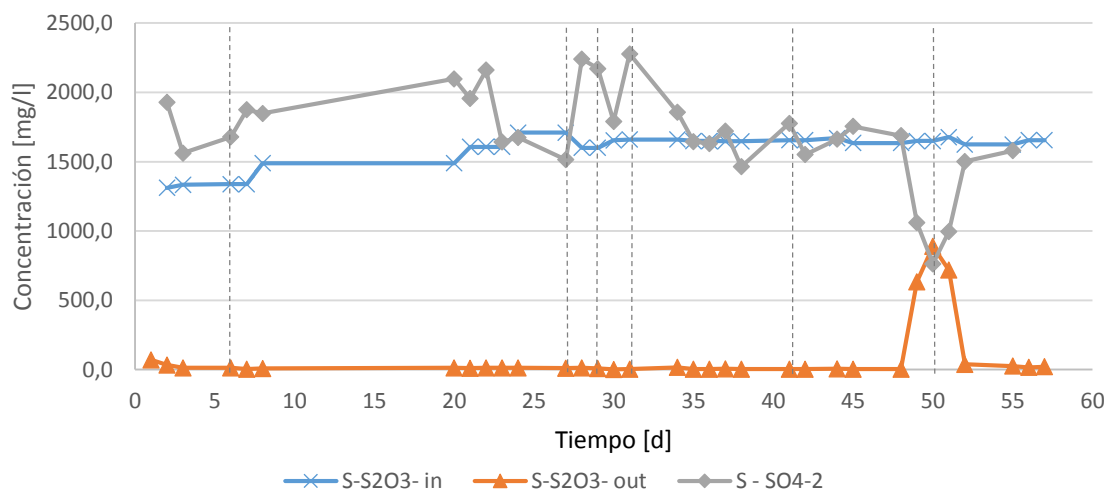


Figura 37. Seguimiento de la concentración de las formas presentes de azufre medidas

Es notoria la estabilidad en valores casi nulos de azufre en forma de tiosulfato en el efluente, lo que indica la alta conversión del tiosulfato de entrada hasta sulfato. Esto apunta a una estable actividad metabólica por parte de la familia de bacterias autótrofas, a pesar de la toxicidad por parte de la concentración de sulfato.

5. Conclusiones

El reactor presentó un lecho no superior al 50% del volumen del reactor, a pesar de las altas velocidades superficiales a las que se sometió el equipo mediante el uso de la bomba de recirculación. La baja presencia de sólidos en el efluente sugiere que el efecto de retención generado por el filtro instalado en la parte superior permite al equipo operar con caudales más altos que los mencionados en la literatura. La presencia del lecho de microorganismos distinguible en el reactor asegura que éste no opera como un sistema perfectamente agitado.

Se aplicaron velocidades de carga de nitrógeno desde 0,55 hasta 0,87 [gN-NO₃⁻/l/d], velocidades de carga orgánica desde 2,1 hasta 4,1 [gDQO/l/d] y velocidades de carga de azufre desde 1,31 hasta 1,87 [gS-S₂O₃⁻²/l/d]. El promedio de remoción alcanzado por cada compuesto fue de: 90% para el nitrato, 88% para la DQO y 99,4% para el tiosulfato.

Debido al comportamiento de las variables medidas durante toda la experiencia, se puede concluir que el sistema diseñado opera de manera estable hasta cargas de 0,82 [gN-NO₃⁻/l/d].

Luego de la desestabilización ocasionada por sobrecarga, las remociones sufrieron una baja hasta valores promedio de: 82,8% para el nitrato, 87,9% para la DQO y 98,5% para el tiosulfato. La baja en dichos parámetros sugiere un posible resentimiento de la biomasa luego de un alza de concentración de nitrito en el efluente hasta 400 [mgN-NO₂⁻/l].

Durante la operación se aprecia una acumulación de azufre en el equipo, superando la concentración esperada teóricamente por un 40% en ciertas mediciones, con un promedio de 1.790 [mgS-SO₄⁻/l], con un valor máximo de 2.280 [mgS-SO₄⁻/l]. Dicha acumulación evoluciona de manera consistente con el comportamiento de los parámetros de remoción de compuestos de interés, por lo que se puede deducir una reducción en actividad microbiológica debido a toxicidad por sulfato durante casi la totalidad de la experiencia.

Se asume como principales causas del desequilibrio del sistema biológico, la sobrecarga del sistema por velocidad de carga de compuestos, y una fuerte inhibición por acumulación de nitrito en el reactor. Esto se deduce al observar el decaimiento en los parámetros de remoción de compuestos de interés luego de una combinación de los efectos anteriormente mencionados.

Los resultados presentados permiten concluir que una tecnología compuesta por un reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente y filtro superior (UASBF), y un inóculo con las características descritas en este documento, es una opción viable para el tratamiento de aguas residuales con presencia de nitrato, materia orgánica y compuestos sulfurados. En base a los resultados obtenidos se recomienda seguir realizando estudios en la opción tecnológica presentada, con mediciones de compuestos metabólicos intermediarios para validar la total reducción del nitrato a nitrógeno molecular, y con seguimiento directo de compuestos orgánicos introducidos en vez de la medición de DQO, con el objeto de tener una representación más real de la capacidad de tratamiento de materia orgánica del equipo.

6. Referencias

- Aguirre, J. P., 2014. *Diseño y puesta en marcha de un reactor UASB híbrido para la desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa*, Memoria para obtener el título de Ingeniero Civil Ambiental, UTFSM, Valparaíso, Chile
- APHA, 2012. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington DC: APHA, AWWA, WEF.
- Azimi, A. y Zamanzadeh, M., 2004. *Determination of design criteria for UASB reactors as a wastewater pretreatment system in tropical small communities*, Tehran, Iran: International Journal of Environmental Science and Technology.
- Baden, S., Loo, L. y Phil, L., 1990. Effects of eutrophication on benthic communities including fish: Swedish west coast. *Ambio* 19, pp. 113-122.
- Barrenstein, A., Kramer, U. y Obermann, P., 1986. Underground Treatment of Nitrate Rich Groundwater by Infiltration with Treated Wastewater or Methane-Rich Natural Gas. *DVGW-Schriftenreihe*, Volumen 106, pp. 99-116.
- Batchelor, B. y Lawrence, A., 1978. Stoichiometry of Autotrophic Denitrification using elemental Sulphur. En: A. Rubin, ed. *Chemistry of Wastewater Technology*. Michigan: Ann Arbor Science Publishers, pp. 421-440.
- Brimblecombe, P. y Hammer, C., 1989. *Evolution of the global biogeochemical sulphur cycle*. Primera ed. Chichester: John Wiley y Sons Ltd.
- Brock, T., Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J., 1994. *Biology of Microorganisms*. Séptima Edición ed. New Jersey: Prentice Hall International Editions.
- Campos, J., Vázquez-Padín, J., Fernández, I. y Fajardo, C., 2009. *Tecnologías avanzadas para el tratamiento de aguas residuales*. Santiago de Compostela, USC, p. Capítulo 4.
- Chameides, W. y Kasibhatla, P., 1994. *The growth of continental-scale metro-agro-plexes, regional ozone pollution, and world food production*.
- Claus, G. y Kutzner, H., 1985. Physiology and Kinetics of Autotrophic Denitrification by Thiobacillus Denitrificans. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 22(2), pp. 283-288.
- Dahab, M., 1982. *Effects of media design on anaerobic filter performance*, Ames: Iowa State University.
- Ecological Society of America, 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. *Issues in Ecology*, pp. 3-4.
- Edwards, P., 1998. *Sulfur Cycling, Retention, and Mobility in Soils: a review*, Radnor: USDA Forest Service.
- Fajardo, M. d. C., 2011. *Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds*, Memoria para optar al grado de Doctor, Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela.

- FAO, 1992. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Food and agriculture production yearbook*.
- Gaudy, A. y Gaudy, E., 1980. *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. New York: McGraw-Hill.
- Gayle, B., Boardman, G., Sherrard, J. y Benoit, R., 1989. Biological Denitrification of Water. *Journal of Environmental Engineering Division*, 115(5), pp. 930-943.
- Gómez, M. y Hontoria, E., 2002. Effect of dissolved oxygen concentration on nitrate removal from groundwater using denitrifying submerged filter. *J Hazard Mater*, Issue 90, pp. 267-278.
- Hallberg, K. y Johnson, B., 2005. Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of the Total Environment* 338, pp. 3-14.
- Harada, H., Uemura, S., Chen, A. y Jayadevan, J., 1996. Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. *Bioresource technology*, Issue 55, pp. 215-221.
- Harris, D., 2007. *Análisis Químico Cuantitativo*. Sexta ed.:Editorial Iberoamericana.
- Herniksen, A. y Brakke, D., 1988. Increasing contributions of nitrogen to the acidity of surface waters in Norway. *Water, Air and Soil Pollution* 42, pp. 183 - 201.
- Karanasios, K., Vasiliadou, I., Pavlou, S. y Vayenas, D., 2010. Hydrogenotrophic denitrification of potable water: a review. *J Hazard Mater*, Issue 180, pp. 20-37.
- Karthikeyan, O. y Joseph, K., 2006. *Anammox: a novel process for nitrogen management in bioreactor landfills - a review*, Thanjavur: Periyar Maniammai College of Technology for Women.
- Kates, R., Turner, B. y Clark, W., 1990. *The earth as transformed by human action*. Cambridge, England: Cambridge University Press.
- Kim, I. y Son, J., 2000. *Impact of COD/N/S ratio on denitrification by the mixed cultures of sulfate reducing bacteria and sulfur denitrifying bacteria*, Water Science.
- Klimont, Z., Smith, S. y Cofala, J., 2013. The last decade of global anthropogenic sulfur dioxide: 2000-2011 emissions. *Environmental Research Letters* 8, pp. 14003-14009.
- Kuenen, G. y Robertson, L., 1994. Combined nitrification-denitrification processes. *Microbiology Reviews* 15, pp. 109-117.
- Leonardson, L., 1994. *Wetlands as nitrogen sinks: Swedish and international experience*, Estocolmo, Suiza: Natur Vards Verket.
- Likens, G., Driscoll, C., Buso, D. y Mitchell, M., 2001. The biogeochemistry of sulfur at Hubbard Brook. *Biogeochemistry* 60, pp. 235-316.
- Liu, D. y Lipták, B., 1999. Nutrient (Nitrogen and Phosphorus) Removal. En: D. H. Liu, ed. *Environmental Engineer's Handbook*. London: Lewis Publishers, pp. 806-808.
- Liu, F., Huang, G. y Fallowfield, H., 2014. *Study on Heterotrophic-Autotrophic Denitrification Permeable Reactive Barriers (HAD PRBs) for In Situ Groundwater Remediation*. Beijing.

- Liu, Y., Hai-Lou, X., Shu-Fang, Y. y Joo-Hwa, T., 2003. Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Research*, Issue 37, pp. 61-73.
- Lorenzo, Y. y Obaya, M. C., 2006. La digestión anaerobia y los reactores UASB: Generalidades. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar*, XL(1), pp. 13-21.
- Lyubchenko, O., Mogilevich, N. y Gvozdyak, P., 1996. Microbial nitrification and sewage treatment. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 18(1), pp. 98-112.
- McHugh, S. y O'Reilly, C., 2003. *Anaerobic Granular Sludge Bioreactor Technology*, s.l.: Reviews in Environmental Science and Biotechnology.
- McHugh, S., O'Reilly, C. y Mahony, T., 2003. Anaerobic granular sludge bioreactor technology. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, Issue 2, pp. 225-245.
- Moura, I. y Moura, J., 2001. Structural aspects of denitrifying enzyme. *Current Opinion in Chemical Biology*, Issue 5, pp. 168-175.
- Pareboom, J., 1994. Size distribution model for methanogenic granules from full scale UASB and IC reactor. *Water Science and Technology*, Issue 30, pp. 211-221.
- Park, J.-H., Kim, S.-H. y Delaune, R., 2015. Enhancement of nitrate removal in constructed wetlands utilizing a combined autotrophic and heterotrophic denitrification technology for treating hydroponic wastewater containing high nitrate and low organic carbon concentrations. *Agricultural Water Management*, Issue 162, pp. 1-14.
- Park, S., 2010. *Sulfur-utilizing autotrophic denitrification process for the treatment of nitrate-rich water*, Shanghai, China: Worcester Polytechnic Institute.
- Pavez, M., 2015. *Puesta en marcha y operación de un reactor UASB para desnitrificación autótrofa a partir de nitrito*, Memoria para obtener el título de Ingeniero Civil Ambiental, UTFSM, Valparaíso, Chile.
- Poth, M. y Focht, D., 1985. N Kinetic analysis of production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification. *Applied Environmental Microbiology* 49, pp. 1134-1141.
- Ramirez, I., 2012. AMD1 applications for a hybrid up-flow anaerobic sludge-filter bed reactor performance and for a batch thermophilic anaerobic digestion of thermally pretreated waste activated sludge. *Facultad de Ingeniería de Antioquia*, Issue 65, pp. 167-179.
- Remde, A. y Conrad, R., 1990. Production of nitric oxide in *Nitrosomonas europaea* by reduction of nitrite. *Archives in Microbiology* 154, pp. 187-191.
- Reyes-Avila, J., Razo-Flores, E. y Gomez, J., 2004. Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, Issue 38, pp. 3313-3321.
- Robertson, L. y Kuenen, G., 1992. Nitrogen removal from water and waste. En: *Microbial Control of Pollution*, pp. 227-267.
- Robertson, L. y Kuenen, J., 1992. Nitrogen removal from water and waste. En: *Microbial control of pollution*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 227-267.

- Rodríguez, R., 2011. *Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor: Modelling, Licenciate Thesis in Chemical Engineering*, Estocolmo, Suecia: Department of Chemical Engineering and Technology, Royal Institute of Technology.
- Sand, W., 1987. Importance of Hydrogen Sulfide, Thiosulfate and Methylmercaptan for Growth of Thiobacilli during Simultaneous Concrete Corrosion. *Applied and Environmental Microbiology* 53, pp. 1654-1648.
- Schaefer, D. y Driscoll, C., 1990. The episodic acidification of Adirondack lakes during snowmelt. *Water Resources Research* 26, pp. 1639-1647.
- Severiche, C. y González, H., 2012. Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. *Ingeniería USBMed*, 2(3), p. 6.
- Shih-Hui, P., 2007. *Autotrophic Denitrification of Groundwater in a Granular Sulfur-Packed Up-Flow Reactor, Thesis presented as partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy*, Arlington: University of Texas.
- Shijie, A., 2010. *A Comparative Study of Autotrophic and Heterotrophic Denitrification using sulphide and acetate, Thesis in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Science of Environmental Engineering*, Saskatoon: University of Saskatchewan.
- Smith, S., van Aardene, J. y Klimont, Z., 2011. Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850 - 2005. *Atmospheric Chemistry and Physics* 11, pp. 1101-1116.
- Strous, M., Kuenen, J. y Jetten, M., 199. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Applied Environmental Microbiology*, Issue 65, pp. 3248-3250.
- Tam, N., Leung, G. y Wong, Y., 1994. The effect of external carbon loading on nitrogen removal in sequencing batch reactors. *Water Science and Technology* 30, pp. 73-81.
- Tam, N., Wong, Y. y Leung, G., 1992. *Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process*.
- Tanaka, Y. y Yatagai, A., 2007. *Autotrophic denitrification and chemical phosphate removal of agroindustrial wastewater by filtration with granular medium*, Tsukuba, Japon: Bioresource Technology.
- Thamdrup, B., 2010. *Distribution and controls of anaerobic ammonium oxidation in natural environments*, Odense: University of Southern Denmark.
- Turner, R. y Rabalais, N., 1991. Changes in Mississippi River water quality this century. *Bioscience* 41, pp. 140 - 147.
- Van De Graaf, A., Mulder, A. y Bruijn, P., 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Applied Environmental Microbiology*, Issue 61, pp. 1246-1251.
- Van Niel, E., 1991. *PhD Thesis: Nitrification by heterotrophic denitrifiers and its relationship to autotrophic nitrification*, Delft: Delft University of Technology.

van Niftrik, L., Geerts, W. y van Donselaar, E., 2009. Cell division ring, a new cell division protein and vertical inheritance of a bacterial organelle in anammox planctomyces. *Molecular Microbiology*, Issue 73, pp. 1009-1019.

van Rijn, J., Tal, Y. y Schreier, H., 2005. *Denitrification in recirculating systems: theory and applications*, Baltimore: University of Maryland.

Vitousek, P., Aber, J. y Howarth, R., 1997. *Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences*, Washington: Ecological Society of America.

Volokita, M., Belkin, S., Abeliovich, A. y Soares, M., 1996. Biological denitrification of drinking water using newspaper. *Water Research*, Issue 30, pp. 965-971.

Ward, B., 2012. *The global Nitrogen Cycle*, Blackwell Publishing.

Xiaojin, L., 2014. *Nitrogen removal by combined nitrification-anammox process in an upflow anaerobic sludge blanket reactor*, Thesis submitted in partial fulfillments of the requirements for the degree of Master of Science, Iowa: Iowa State University.

Anexos

Anexo A: Medición de nitrato (APHA, 2012)

Medición del nitrato por espectrofotometría, con lectura de datos de absorbancia respecto de una longitud de onda programada.

Materiales:

- Espectrofotómetro *MECASYS Optizen Pop*
- Celdas de cuarzo
- Matraces aforado de 100 y 50 [ml]
- Vaso de precipitado de 100 [ml]
- Micropipeta de hasta 5 [ml]
- Ácido clorhídrico 1 [M]



Figura 38. Estación de mediciones de nitrato con sus implementos y reactivos

Procedimiento:

- Encender el espectrofotómetro y esperar a que se calienten los focos por 20 [min]
- Colocar 1 [ml] de muestra previamente filtrada en cada matraz aforado de 100 [ml], no agregar nada en el matraz de 50 [ml]
- Agregar 2 [ml] de ácido clorhídrico 1 [M] a cada matraz de 100 [ml], y 1 [ml] al matraz de 50 [ml]
- Enrasar los matraces con agua destilada, y diluir bien con agitación
- Vaciar volumen de análisis en celda de cuarzo, ambientando previamente 3 veces
- Colocar la celda con muestra “blanco” del matraz de 50 [ml] en la posición 1, y las demás celdas en posiciones restantes del espectrofotómetro y cerrar la tapa
- Configurar espectrofotómetro para analizar con onda doble, con longitudes de onda de 205 [nm] y 275 [nm]; configurar posiciones a analizar según colocadas las celdas con las muestras
- Correr análisis de muestra blanco para configurar valor 0
- Ejecutar análisis y recopilar datos entregados

La ecuación utilizada para calcular la concentración de nitrato es la siguiente:

$$Conc \left[\frac{mgNO_3^-}{l} \right] = Dil \cdot ((Abs(205) - 2 \cdot Abs(275)) \cdot B + M)$$

- ✓ Abs(205) = valor de absorbancia en longitud de onda 205 en [nm]
- ✓ Abs(275) = valor de absorbancia en longitud de onda 275 en [nm]
- ✓ B = valor de pendiente de regresión de datos del espectrofotómetro, [-]
- ✓ M = valor de intercepto de regresión de datos del espectrofotómetro, [-]
- ✓ Dil = dilución de la muestra, adimensional [-]

Anexo B: Medición de nitrito (APHA, 2012)

Medición del nitrito por espectrofotometría, con lectura de datos de absorbancia respecto de una longitud de onda programada.

Materiales:

- Espectrofotómetro *MECASYS Optizen Pop*
- Celdas de plástico
- Matraces aforado de 100 y 50 [ml]
- Vaso de precipitado de 100 [ml]
- Micropipeta de hasta 5 [ml]
- Reactivo Griess-Ilosvays para la detección de nitrito *MERCK*



Figura 39. Puesto de medición de nitrito con sus materiales y reactivos

Procedimiento:

- Encender el espectrofotómetro y esperar a que se calienten los focos por 20 [min]
- Diluir las muestras recolectadas 50 veces en un matraz aforado de 50 [ml], y utilizar 1 [ml] de muestra diluida para nuevo matraz de 100 [ml], dejar un matraz de 50 [ml] vacío
- Agregar 2 [ml] de colorante para nitrito en cada matraz de 50 [ml], y 4 [ml] en cada aforado de 100 [ml], y enrasar con agua destilada
- Agitar bien, y dar 10 [min] al colorante para actuar
- Vaciar volumen de análisis en celda de cuarzo, ambientando previamente 3 veces
- Colocar la celda con muestra “blanco” del matraz de 50 [ml] en la posición 1, y las demás celdas en posiciones restantes del espectrofotómetro y cerrar la tapa
- Configurar espectrofotómetro para analizar con onda simple, con longitud de onda de 543 [nm]; configurar posiciones a analizar según colocadas las celdas con las muestras
- Correr análisis de muestra blanco para configurar valor 0
- Ejecutar análisis y recopilar datos entregados

La ecuación utilizada para conocer la concentración de nitrito es:

$$Conc \left[\frac{mgNO_2^-}{l} \right] = Abs(543) \cdot B \cdot Dil$$

- ✓ Abs(543) = valor de absorbancia en longitud de onda 543 en [nm]
- ✓ B = pendiente de regresión de datos de espectrofotómetro, adimensional [-]
- ✓ Dil = dilución de la muestra, adimensional [-]

Anexo C: Medición de DQO (APHA, 2012)

Método de medición basado en una oxidación de la materia orgánica con exceso de dicromato de potasio en un medio fuertemente ácido, para posterior titulación con sulfato de amonio ferroso (FAS) en presencia de un indicador químico.

Materiales:

- Tubos de ensayo con tapa rosca
- Agua destilada
- Solución digestora
- Solución catalítica
- Teflón
- Digestor DQO *VELP Scientifica ECO 16*
- Bureta autoenrasante de 25 [ml] graduada
- Solución FAS
- Vasos de precipitado de 100 [ml]
- Matraces Erlenmeyer
- Marcador de ferroína
- Gotario
- Micropipeta de hasta 5 [ml]



Figura 40. Estación de medición de DQO con todos los materiales y reactivos necesarios

Procedimiento:

- Colocar 2,5 [ml] de una muestra con una DQO inferior a 900 [mgO₂/l] (en caso de que la muestra original tenga una DQO más elevada, debe diluirse hasta el rango de análisis) en un tubo de ensayo para DQO. En cualquier caso deberá hacerse paralelamente y de modo sistemático un blanco, usando 2,5 [ml] de agua destilada como si fuera una muestra problema
- Añadir 1,5 [ml] de solución digestora
- Añadir 3,5 [ml] de solución catalítica. La adición debe hacerse cuidadosamente, dejando escurrir lentamente sobre la pared del tubo que se mantiene inclinado de modo que se forman dos capas que no se mezclan
- Colocar el teflón y tapar cerrando herméticamente
- Agitar el contenido de los tubos, colocarlos en el digestor que previamente debe estar a 150°C y mantener esta temperatura por dos horas
- Después de dos horas se sacan los tubos y se dejan enfriar a temperatura ambiente
- Vaciar el contenido de los tubos en un matraz Erlenmeyer de 25 [ml], se lavan con 1 o 2 [ml] de agua destilada, que se vierte en el Erlenmeyer. A continuación se añade una gota marcador de ferroína y se evalúa con FAS hasta el viraje de azul a rojo (inicialmente la solución tiene el color del dicromato que irá perdiendo hasta azul)
- Valoración de FAS: se pipetea 10 ml de solución patrón de dicromato 0,025 [N] y se pasan a un matraz Erlenmeyer al que se adicionan 3 [ml] de ácido sulfúrico concentrado, se enfría, se añade una gota de marcador de ferroína y se valora con solución FAS con normalidad a determinar

La ecuación utilizada para conocer la concentración de DQO es:

$$DQO \left[\frac{mgO_2}{l} \right] = \frac{(Vol_{blanco} - Vol_{muestra}) \cdot 8000 \cdot N_{FAS} \cdot Dil}{V} ; N_{FAS} = \frac{10 \cdot 0,025}{C}$$

- ✓ Vol_{blanco} = volumen desplazado de FAS al titular la muestra "blanco" en [ml]
- ✓ $Vol_{muestra}$ = volumen desplazado de FAS al titular muestra en [ml]
- ✓ N_{FAS} = normalidad del FAS utilizado, adimensional [-]
- ✓ Dil = dilución de la muestra, adimensional [-]
- ✓ V = volumen de muestra utilizado en [ml]
- ✓ C = volumen desplazado de FAS al titular sol. patrón para normalizar en [ml]

Anexo D: Filtrado de muestras

Preparación de las muestras para evitar interferencia de sólidos en suspensión.

Materiales:

- Papel filtro *ADVANTEC 5c Ashless*
- Matraz quitasato con sello de goma
- Embudo para filtrado
- Bomba de succión
- Falcon de 50 [ml]
- Agua destilada



Figura 41. Estación de filtrado con materiales necesarios

Procedimiento:

- Colocar papel filtro en embudo, encender bomba y fijar papel lavando con agua destilada 2 veces hasta que se elimine el agua agregada, luego apagar bomba
- Retirar embudo y sello de goma del matraz, insertar falcon y recolocar embudo, cuidando de colocar la boquilla dentro del falcon
- Encender bomba y verter muestra en papel filtro, cuidando que nada del líquido salga del perímetro del papel
- Mantener el filtrado hasta que se recolecte líquido sobrenadante suficiente dentro del falcon, luego retirar dicho tubo y desechar el papel filtro

Anexo E: Medición de tiosulfato (Harris, 2007)

Medición de ion tiosulfato mediante titulación con indicador con viraje de color

Materiales:

- Bureta con métrica de 25 [ml] y resolución de 0,05 [ml]
- Vasos de precipitado de 50 [ml]
- Gotario
- Solución de yodato de potasio
- Solución estandarizada de tiosulfato de sodio 1 [N]
- Solución de almidón



Figura 42. Estación de medición de tiosulfato con sus materiales y reactivos necesarios

Procedimiento:

- Colocar 15 [ml] de muestra en un vaso precipitado
- Agregar entre 2 a 6 gotas de solución de almidón a la muestra y agitar
- Titular con solución de yodato de potasio hasta viraje a color azul oscuro y registrar el volumen de solución desplazada
- Titular con solución estandarizada de tiosulfato de sodio hasta regresar del azul adquirido anteriormente a un color pálido, y registrar el volumen desplazado

La ecuación para calcular la concentración de ion tiosulfato es la siguiente:

$$Conc_{tiosul} \left[\frac{mgS_2O_3^{-2}}{l} \right] \cong PM_{S_2O_3^{-2}} \cdot 2 \cdot \left(\left(Vol_{yodo} \cdot \frac{0,05}{1000} \right) - \left(Vol_{tiosul} \cdot \frac{0,05}{1000} \right) \right) \cdot \frac{10^6}{Vol_{muestra}}$$

- ✓ $PM_{S_2O_3^{-2}}$ = Peso molecular del ion tiosulfato en [g/mol]
- ✓ Vol_{yodo} = volumen desplazado de solución de yodo en [ml]
- ✓ Vol_{tiosul} = volumen desplazado de solución estandarizado de tiosulfato en [ml]
- ✓ $Vol_{muestra}$ = volumen de muestra utilizado en [ml]

Anexo F: Medición de sulfato (Severiche & González, 2012)

Medición de ion sulfato mediante espectrofotometría

Materiales:

- Espectrofotómetro *MECASYS Optizen Pop*
- Celdas de plástico
- Vasos precipitados de 100 [ml]
- Solución patrón de sulfato de sodio de 1000 [$\text{mgSO}_4^{2-}/\text{l}$] *EMSURE*
- Solución acondicionadora de sulfato
- Cloruro de bario dihidratado
- Agitadores de vidrio
- Pipeta de 25 [ml]
- Propipeta
- Cuchara metálica
- Matraces aforados de 50 [ml]
- Agua destilada



Figura 43. Estación de medición de sulfato con sus materiales y reactivos necesarios

Procedimiento:

- Encender espectrofotómetro y dejar calentar los focos por 20 [min], luego configurar en onda simple a 420 [nm]
- Preparar solución patrón: disolver 1 [ml] de solución de sulfato de sodio en 50 [ml], utilizando un matraz aforado, y vaciar en vaso precipitado
- Diluir la muestra a medir en matraz aforado, y vaciar en vaso precipitado
- Agregar 5 [ml] de solución acondicionadora de sulfato a cada vaso precipitado, y luego agregar una cucharada de cloruro de bario dihidratado y agitar hasta observar dilución completa. Repetir en un vaso con agua destilada para utilizar como “blanco”
- Llenar las celdas de plástico a utilizar, ambientando 2 veces
- Colocar la celda con solución “blanco” en la posición 1, y marcar la opción de “autocero”
- Colocar el resto de las celdas en el equipo y realizar la medición. Recopilar datos entregados en la pantalla

La ecuación utilizada para calcular la concentración de ion sulfato es:

$$Conc_{SO_4^{-2}} \left[\frac{mgSO_4^{-2}}{l} \right] = Dil \cdot (B \cdot Abs_{420} + M) \cdot \left(1 - \frac{1000 - (Abs_{blanco} \cdot B + M)}{1000} \right)$$

- ✓ Dil = dilución de la muestra, adimensional [-]
- ✓ B = pendiente de curva de calibración, adimensional [-]
- ✓ M = intercepto de curva de calibración, adimensional [-]
- ✓ Abs₄₂₀ = absorbancia registrada de muestra en [nm]
- ✓ Abs_{blanco} = absorbancia registrada de celda con “blanco” en [nm]

Anexo G: Medición de pH (APHA, 2012)

Medición de pH mediante pHmetro

Materiales:

- Vaso precipitado
- pHmetro *Orion Star A211*
- Agua destilada



Figura 44. Estación de medición de pH con instrumentos necesarios

Procedimiento:

- Retirar varilla óptica de medición de pHmetro de solución de reposo y lavar con agua destilada
- Introducir varilla en muestra filtrada, y esperar a que el valor del equipo se estabilice
- Registrar dato de pH, lavar varilla con agua destilada y regresar a solución de reposo

Anexo H: Medición de sólidos suspendidos volátiles (APHA, 2012)

Medición de sólidos suspendidos volátiles mediante remoción de agua e incineración de compuestos volátiles

Materiales:

- Papel filtro *ADVANTEC 5c Ashless*
- Recipientes cerámicos
- Pipeta de 10 [ml] graduada
- Propipeta
- Balanza analítica
- Desecador
- Estufa
- Mufla

Procedimiento:

- Filtrar volumen determinado de muestra utilizando equipos de filtrado (referirse a anexo D) en papel filtro previamente secado en estufa y tarado en balanza analítica
- Lavar papel filtro con agua destilada 2 veces y continuar filtrado hasta eliminación total de agua
- Secar papel en estufa a 105°C durante 1 [h]
- Retirar de estufa y enfriar en desecador durante 15 [min]. Luego pesar en balanza y registrar masa post-estufa
- Colocar papel filtro en crisol de cerámica tarado previamente, doblándolo cuidadosamente
- Colocar crisol en mufla a 550°C durante 1 [h]
- Retirar crisol de mufla y enfriar en desecador durante 25 [min]. Luego pesar en balanza analítica y registrar masa post-mufla

La ecuación utilizada para conocer la concentración de sólidos suspendidos volátiles es:

$$SSV \left[\frac{mg}{l} \right] = \frac{(Masa_{post-estufa} - Tara_{papel\ filtro}) - (Masa_{post-mufla} - Tara_{crisol})}{Vol_{muestra}} \cdot 10^6$$

- ✓ $Masa_{post-estufa}$ = masa registrada luego de secado en estufa, en [g]
- ✓ $Masa_{post-mufla}$ = masa registrada luego de incinerado en mufla, en [g]
- ✓ $Tara_{papel\ filtro}$ = masa de papel filtro seco, en [g]
- ✓ $Tara_{crisol}$ = masa crisol en [g]
- ✓ $Vol_{muestra}$ = volumen de muestra filtrada en [ml]

Anexo I: Curva de calibración de bombas del sistema

Curva Bomba YZ1515x

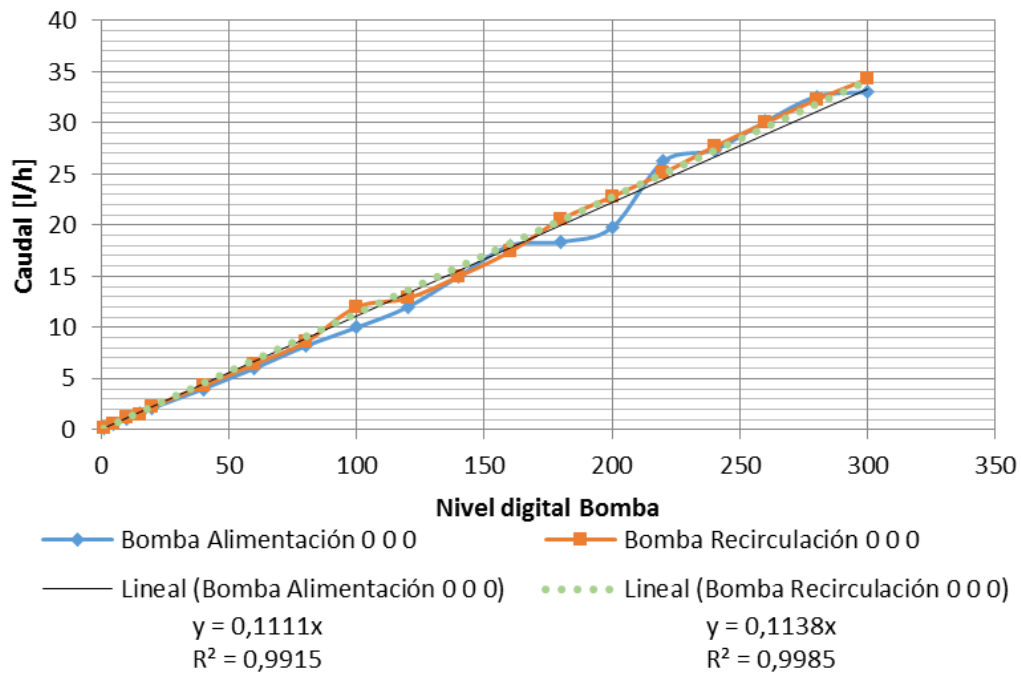


Figura 45. Curva de caudal contra nivel digital de bomba peristáltica