



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

**DEPARTAMENTO DE
BIOTECNOLOGÍA**

**CONDUCTA METABÓLICA DE UN CONSORCIO DESNITRIFICANTE PARA
LA ELIMINACIÓN DE FENOL Y NITRITO, EMPLEANDO UN REACTOR DE
LECHO EMPACADO.**

ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA: I.B.I SERGIO DURÁN VEGA

DIRECTOR: Dr. RICARDO BERISTAÍN CARDOSO

Abril 2013

AGRADECIMIENTOS: Este proyecto fue financiado por el CONACyT, México, con el convenio (CB-2011-01 164746).

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Microbiana W-004 del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

<i>CONTENIDO</i>	<i>Página</i>
RESUMEN	1
NOMENCLATURA	2
PANORAMA ACTUAL	3
1 INTRODUCCIÓN	4
1.1 Tratamiento de aguas residuales en México	4
1.2 Principales contaminantes presentes en aguas residuales.....	5
1.3 Procesos de tratamiento de aguas residuales	7
1.4 Ciclo del nitrógeno	8
1.5 Desnitrificación	9
1.6 Microbiología y Bioquímica de la desnitrificación.....	10
1.7 Cinética de la desnitrificación.....	11
1.8 Factores que afectan la desnitrificación.....	11
1.9 Tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno	12
1.10 Biotransformación del Fenol.....	14
1.11 Hidrodinámica del Reactor.....	15
2 JUSTIFICACIÓN	16
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo General.....	17
3.2 Objetivos Específicos.....	17
4 MATERIALES Y MÉTODOS	17
4.1 Características del soporte para el reactor de lecho empacado	17
4.2 Características del reactor biológico de lecho empacado	18
4.3 Distribución de Tiempos de Residencia.....	18
4.4 Inóculo y composición del medio de cultivo.....	19
4.5 Operación del Reactor de Lecho Empacado.....	19
4.6 Métodos de Análisis.....	20
5 RESULTADOS	20

5.1 Puesta punto de las técnicas de medición.....	20
5.2 Estudio hidrodinámico del reactor de lecho empacado.....	21
5.2.1 Distribución de tiempos de residencia.....	21
5.3 Comportamiento del colorante dentro del reactor.....	23
5.4 Comportamiento de los compuestos nitrogenados y carbonados en el reactor de lecho empacado.....	23
6 CONCLUSIONES.....	26
7 ANEXOS.....	27
7.1 Curvas estándar de los compuestos fenólicos e intermediarios.....	27
7.2 Curvas estándar del trazador (Azul de metileno).....	28
7.3 Curvas estándar del nitrato y nitrito.....	29
8. BIBLIOGRAFÍA.....	30

Resumen

Las aguas residuales provenientes de la industria petroquímica tienen un gran impacto ambiental debido a la elevada concentración de amonio y compuestos aromáticos. Los compuestos fenólicos son los contaminantes mayoritarios en estos tipos de efluentes y pueden ser cancerígenos, mutagénicos y teratogénicos. Estos efluentes representan un gran desafío para su tratamiento antes de ser descargados en los cuerpos receptores, debido a su complejidad química. El proceso de nitrificación parcial (formación de nitrito) acoplado a un proceso desnitrificante es una alternativa biológica y puede ser aplicado para la eliminación de estos contaminantes. En este trabajo se evaluó el aspecto hidrodinámico y fisiológico en un reactor de lecho empacado para la eliminación simultánea de nitrito y fenol. La hidrodinámica se evaluó estimando la distribución de tiempos de residencia (DTR) a 4 tiempos de residencia hidráulica (5, 10, 18 y 25 horas). Los coeficientes de dispersión indicaron que el patrón de flujo fue intermedio, entre el flujo pistón y el de mezcla completa, obteniéndose volúmenes muertos alrededor del 40%. En el TRH de 25 h y en el estado estacionario, la E% para el fenol fue de 98.9%, y la de nitrito de 83%. El nitrito se recuperó principalmente como N_2 , con un $Y-N_2$ de 0.66. Posteriormente, el TRH se incrementó a 40 h, para tener evidencia si la baja eficiencia de consumo de nitrito fue un problema hidrodinámico o metabólico. La respuesta respiratoria sugirió que la baja eficiencia de consumo de nitrito no fue un problema hidrodinámico, sino un problema metabólico inducido posiblemente por el nitrito. Sin embargo, este estudio dio las primeras evidencias del potencial del nitrito para eliminar el fenol en un reactor continuo de lecho empacado.

Nomenclatura

NO_2^-	Nitrito
NO_3^-	Nitrato
NH_4^+	Amonio
NH_3	Amoniaco
H_2O	Agua
O_2	Oxígeno
H^+	Protones
N_2	Nitrógeno molecular
RLE	Reactor de Lecho Empacado
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles.
Qv	Velocidad de carga (mg/L-d)
E%	Eficiencia de consumo (%)
Y	Rendimiento de producto
OMS	Organización Mundial de la Salud
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
EPA	Enviromental Protection Agency
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
APHA	American Public Health Association.
DTR	Distribución de Tiempos de Residencia
RLE	Reactor de Lecho Empacado.

Panorama Actual

La contaminación del agua causada por las actividades humanas es un fenómeno ambiental de importancia, el cual se comienza a producir desde los primeros intentos de industrialización, para transformarse luego en un problema tan habitual como generalizado. El crecimiento de las ciudades y las fábricas, ha contribuido a la magnitud y complejidad del problema de la contaminación ambiental, generando situaciones de costosa corrección, poniendo en peligro la salud pública y encareciendo el proceso de potabilización. De acuerdo al Banco Mundial, menos del 5% de las aguas de alcantarillado de las ciudades reciben tratamiento. Con la ausencia de tratamiento, las aguas negras son generalmente vertidas en aguas superficiales, creando un riesgo para la salud humana, la ecología y los animales (Reynolds, 2002).

Las aguas residuales son aquellas que proceden de viviendas e instalaciones de servicios industriales, sanitarios o agrícolas, estas son desechadas mediante las instalaciones públicas o privadas de saneamiento a los distintos receptores, diluidas o no, con cualquier agua subterránea, superficial o pluvial que se le haya incorporado. Estas aguas residuales pueden ser tratadas dentro del sitio en el cual es generada (por ejemplo: tanques sépticos u otros medios de depuración) o recogido y llevado mediante una red de tuberías y eventualmente bombas a una planta de tratamiento municipal. Los esfuerzos para coleccionar y tratar las aguas residuales domésticas de la descarga están típicamente sujetos a regulaciones y estándares locales, estatales y federales.

1. Introducción

1.1 Tratamiento de aguas residuales en México

En México, como en muchos países del mundo, las principales fuentes de contaminación del agua se clasifican en tres grupos, de acuerdo con su procedencia: 1) Sector social, corresponde a las descargas de residuos de origen doméstico y público que constituyen las aguas residuales municipales. Está relacionado con la cobertura de los servicios de agua potable y alcantarillado, se incrementa en los grandes asentamientos urbanos. El 60 % de la población mexicana está concentrada en las grandes ciudades. Se calcula que el 57 % de las aguas residuales son generadas por la población, principalmente por las zonas localizadas en torno a las ciudades de México (23 %), Monterrey (4.1 %) y Guadalajara (4 %). Se estima que sólo el 50% de la población dispone de sistema de alcantarillado, 2) Sector industrial, integrado por las descargas generadas de las actividades de extracción y transformación de recursos naturales usados como bienes de consumo para la población. Se calcula que la industria genera el 43 % de las aguas residuales. En México, el sector industrial se clasifica en 39 grupos, de acuerdo a los índices de extracción, consumo y contaminación, que generan el 82 % del total de aguas residuales de la industria y de estas las industrias farmacéuticas, químicas y petroquímicas aportan el 30% de la contaminación, 3) Sector agropecuario, constituido por los efluentes de las instalaciones dedicadas a la crianza y engorda de ganado mayor y menor, y por las aguas de retorno de los campos agrícolas. Las aguas de retorno agrícola son una fuente de contaminación importante cuyo impacto se manifiesta en el alto porcentaje de cuerpos de agua que se encuentran en condiciones de eutrofización (alta concentración de nutrientes en el medio), y 4) Compuestos minerales, estos pueden ser sustancias tóxicas como los metales pesados (plomo, mercurio, etc.), nitratos y nitritos. Otros elementos afectan las propiedades organolépticas (olor, color y sabor) del agua, como son: el cobre, el hierro, etc. Otros producen el desarrollo de las algas y la eutrofización, como es el caso del fósforo.

De acuerdo a los datos presentados por el INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) en el 2006, las descargas de agua procedente de procesos industriales ascendieron a 183 m³/s, de la cual solamente se dio tratamiento al 15% del total. Lo cual clasifica al país con nivel bajo respecto al tema de tratamiento de aguas residuales. Por otra parte de acuerdo a la CONAGUA (Comisión

Nacional del Agua) el país ha pasado de tratar el 23% (2002) al 38% (2007) de las aguas residuales totales.

1.2 Principales contaminantes presentes en las aguas residuales

Las descargas de aguas residuales provenientes de la industria petroquímica tienen gran relevancia a nivel mundial, por la presencia de compuestos aromáticos (*p*-cresol, *o*-cresol, fenol, etc.), amonio y altas concentraciones de sulfuro principalmente; los cuales tienen un impacto adverso en los ecosistemas naturales y en la salud pública. Debido a esto, cobra importancia la necesidad de desarrollar y caracterizar fisiológicamente sistemas biológicos que permitan que las descargas de aguas residuales no causen un deterioro a los cuerpos receptores de agua. Los compuestos nitrogenados se pueden encontrar en diversas formas debido al número de estados de oxidación que puede presentar el nitrógeno, siendo el amoniaco la forma más reducida (NH_3), y el nitrato (NO_3^-) la forma más oxidada. El máximo nivel de contaminante establecido por la agencia de protección ambiental (EPA) es de 10 mg N- NO_3^- /L. La exposición de nitrato arriba del límite máximo permitido puede causar: diuresis, hemorragia de la bilis, depósitos de almidón, falta de aire y el síndrome del bebe azul. Respecto al nitrito, puede reaccionar con aminas y amidas secundarias en el organismo y producir compuestos nitrosos que son potencialmente cancerígenos en humanos, por lo que la EPA establece un límite máximo permisible para este compuesto más estricto (1 mg N- NO_2^- /L).

Respecto a la presencia de los compuestos fenólicos en las aguas residuales, estos deben ser eliminados, debido a su alta toxicidad y efecto cancerígeno. Los compuestos fenólicos son producidos industrialmente y tienen múltiples usos: fabricación de explosivos, pinturas, medicamentos, textiles, antibacteriales, entre otros. La agencia de protección ambiental (EPA) ha establecido un límite para agua dulce de 600 $\mu\text{g/L}$. Por ejemplo, cuando los fenoles son aportados al suelo, formando parte de la lignina presente en restos de plantas (hojas, ramas, frutos), interactúan con la rizosfera y con el suelo. Su interacción con la rizosfera tiene un carácter inhibitor del crecimiento. También se ha detectado su efecto alelopático al encontrarse poblaciones con mutaciones genéticas y por el crecimiento de plantas transgénicas en áreas con elevado contenido de fenoles en los distintos niveles del suelo. Los compuestos fenólicos presentes en el suelo son arrastrados por las aguas superficiales, sufren la filtración en las aguas

subterráneas y son conducidos hasta el ambiente marino. Los productos introducidos en el agua se pueden diluir o dispersarse en función de la fuerza y dirección de las corrientes existentes en el ambiente marino (Benner, 2004). De igual forma son susceptibles a foto-oxidarse cerca de la superficie acuática. Este proceso comprende la hidroxilación del anillo, su condensación y dimerización y su eliminación fotoinducida. La foto-oxidación es mayor en aguas transparentes, mientras que en zonas costeras turbias, sujetas a la influencia de grandes aportes fluviales, disminuye (Bianchi *et al.*, 1999). Además, los fenoles pueden adsorberse a las partículas suspendidas y precipitarse posteriormente. Por lo tanto, los compuestos fenólicos en los ecosistemas marinos pueden estar tanto en la columna de agua como en el sedimento, y sus concentraciones varían entre cada fase y tipo de compuesto. Los valores más elevados de concentración se han localizado en las zonas costeras en el área próxima a las descargas de ríos y decrecen hacia mar abierto. Hedges y Parker (1976) determinaron que los sedimentos de mar abierto contenían altos niveles de *p*-hidroxifenoles que provienen fundamentalmente de algas y organismos marinos; mientras que los sedimentos de zonas costeras contenían básicamente fenoles simples, productos de la descomposición de fragmentos de plantas terrestres. Bajo este contexto, es necesario estudiar procesos biológicos para biotransformar los compuestos fenólicos antes de ser descargados a los diferentes cuerpos receptores.

Dentro de los contaminantes, aquellos que contienen azufre, también tienen gran relevancia debido al impacto ambiental adverso que provocan en los ecosistemas naturales. El ácido sulfhídrico, H₂S, es emitido al ambiente por un gran número de industrias como la petrolera, tenerías, producción de viscosa y celofán, del tratamiento anaerobio de aguas residuales que contienen sulfato, de la extracción de gas natural y es un intermediario de la oxidación biológica de CS₂ (Revah y col., 1995). Sus propiedades corrosivas están relacionadas con el daño a paredes de concreto de los reactores, sistemas de drenaje y tuberías de acero; su emisión al ambiente además de su toxicidad genera olores desagradables y lluvia ácida. Es común que se establezca como límite para descargas valores menores a 1 mg/L, por diferentes razones: de salud pública (toxicidad), ambientales (control de olor), ecológicas (deficiencia de oxígeno en cuerpos receptores de agua) y económicas (corrosión de equipo).

1.3 Procesos de tratamiento de las aguas residuales

El tratamiento de las aguas residuales es un proceso que a su vez incorpora procesos físicos, químicos y biológicos, los cuales eliminan los contaminantes presentes en el agua. El objetivo del tratamiento es producir un efluente tratado o reutilizable en el ambiente y un residuo sólido o fango también convenientes para utilizarlo en un futuro. Durante varias décadas se ha utilizado tecnología convencional para el tratamiento de aguas residuales, como los lechos percoladores conocidos también como filtros biológicos, los cuales tienen la función de eliminar biológicamente aquellos contaminantes presentes en las aguas residuales, tanto en solución como en suspensión. Una de las tecnologías que más se utilizan son los lodos activados, esta tecnología consiste en un tanque agitado en el cual se desarrolla un cultivo microbiano, generalmente en forma de flóculos, donde debe de haber una gran cantidad de oxígeno atmosférico disuelto. Este tanque es alimentado con el agua residual y ahí se metabolizan los contaminantes como nutrientes. Aunque se ha llegado a la conclusión de que estos métodos no son técnica ni económicamente adecuados debido a los elevados costos de construcción, operación y mantenimiento (*Cervantes y col., 2000*).

Los procesos de tratamiento biológico son recomendados como alternativa o tratamiento complementario a los métodos fisicoquímicos, dado que generalmente estos últimos ocasionan contaminación colateral durante su aplicación, además de tener costos mayores que los biológicos y ser menos amigables con el ambiente. Una nueva solución a ese inconveniente aparece en el campo biotecnológico, ya que combina conocimientos de ingeniería, ecología, microbiología entre otras, diseñando ecosistemas artificiales para purificar las aguas residuales, donde los residuos se transforman y se reintegran al ambiente en forma no agresiva. La recuperación de aguas residuales industriales representa un mayor reto para la capacidad metabólica de los microorganismos, ya que varias de ellas, por su composición química compleja, hacen que los procesos biológicos puedan ser lentos, ineficientes y que los productos finales sean indeseables. La eliminación biológica del nitrógeno por los procesos acoplados de nitrificación y desnitrificación constituye una alternativa de tratamiento efectiva, sustentable y económicamente factible para la recuperación de aguas residuales (*Cervantes y col., 2000*).

1.4 Ciclo del Nitrógeno

El nitrógeno es un elemento que se encuentra en nuestro planeta en cantidades considerables y en formas múltiples. El ciclo del nitrógeno es uno de los ciclos bioquímicos más importantes del ecosistema, ya que se mueve lentamente a través del ciclo y en su trayectoria se almacena en la atmósfera, en organismos vivos, suelos y océanos. La mayor parte del nitrógeno de la tierra se encuentra en la atmósfera. Aproximadamente un 80% de las moléculas de la atmósfera de la tierra están hechas por dos átomos de nitrógeno que están unidos entre sí. El nitrógeno es un factor limitante para el crecimiento de las plantas. Los animales obtienen el nitrógeno que necesitan consumiendo plantas u otros animales, los cuales contienen moléculas orgánicas parcialmente compuestas de nitrógeno. Cuando los organismos mueren, sus cuerpos se descomponen y llevan el nitrógeno al suelo, tierra u océanos. A medida que las plantas y los animales sin vida se descomponen, el nitrógeno adquiere formas orgánicas como las sales de amonio (NH_4^+) mediante un proceso conocido como mineralización. Las sales de amonio son absorbidas y oxidadas a nitrito (NO_2^-) y posteriormente a nitrato (NO_3^-) [Madigan y col., 2003]. Como en todos los ciclos, si no existe un flujo adecuado de cada uno de los compuestos que contienen nitrógeno para la transformación de amonio, este puede alcanzar concentraciones muy altas teniendo como consecuencia la erosión de los suelos, y la muerte de flora y fauna en ecosistemas acuáticos. Por lo tanto, a fin de disminuir el impacto ambiental del amonio en los ecosistemas, es importante identificar algunas de las etapas limitantes del ciclo del nitrógeno, en particular la desnitrificación y nitrificación (Silva, 2007).

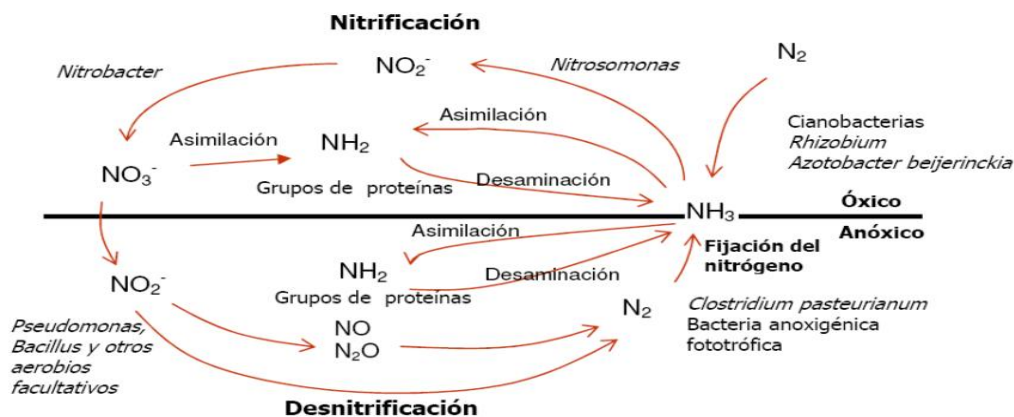
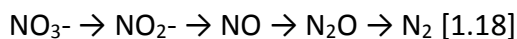


Figura 1. Ciclo del nitrógeno

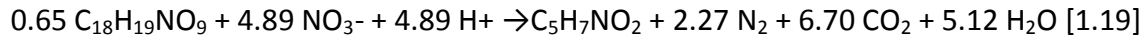
1.5 Desnitrificación

La desnitrificación es el único proceso biológico en el que el nitrógeno combinado pasa a nitrógeno molecular. Este proceso, considerado globalmente, es de una importancia decisiva para el mantenimiento de la vida y de la biomasa de la tierra. En los suelos aireados normalmente, así como en las aguas, el nitrato es el producto final de la mineralización. Debido a su elevada solubilidad en el agua y a su baja absorción para el suelo los iones nitrato serían lavados y se acumularían en las aguas del mar; esto supondría que la atmosfera fuera empobreciéndose en nitrógeno molecular. Sobre la tierra cesaría el crecimiento de los vegetales y la producción de biomasa.

La desnitrificación es un proceso biológico que consiste en la reducción del nitrato a nitrógeno molecular en condiciones anaerobias. El nitrato funciona como el último aceptor de electrones en la cadena respiratoria sustituyendo a la molécula de oxígeno. El proceso de desnitrificación también se conoce como reducción desasimilatoria, para distinguirlo de la reducción asimilatoria en la que el nitrito y el nitrato son reducidos a amonio, el cual es empleado por los microorganismos para su crecimiento. Las reacciones secuenciales implicadas en la desnitrificación se indican en la Ecuación 1.18.



El nitrato se reduce a N_2 vía 3 intermediarios; nitrito, óxido nítrico y finalmente óxido nitroso. Dependiendo de la naturaleza del agua residual, el crecimiento de la biomasa desnitrificante puede realizarse a partir de nitrato o de amonio, habiéndose encontrado que la presencia de este último favorece dicho crecimiento y por tanto, la actividad desnitrificante. Esto es debido, probablemente, a que la presencia de amonio hace innecesaria la reducción asimilatoria del nitrato, que tiene lugar cuando únicamente se emplea este como fuente de nitrógeno. Por otro lado, para que se lleve a cabo el proceso desnitrificante es necesaria la presencia de una fuente de carbono orgánico que funcione como donador de electrones. Por ejemplo, si empleamos materia orgánica presente en el agua residual ($\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_9$) como fuente de carbono y tenemos en cuenta la síntesis de biomasa celular, la estequiometría para la desnitrificación viene dada por la Ecuación 1.19 (M.Eiroa.M, 2004).



Asumiendo que toda la energía se usa para el crecimiento, la relación máxima de conversión de sustrato para este proceso es de 0.44 g biomasa/g materia orgánica consumida. Esta relación se eleva a 0.47 g biomasa/g materia orgánica consumida en el caso de que la biomasa asimile amonio para el crecimiento. La relación C/N estequiométrica es de 1.28, aunque en la práctica es necesaria una relación C/N superior a 2.39 debido a la demanda de carbono adicional para la síntesis celular. El proceso de desnitrificación origina un aumento en la alcalinidad del medio. Por 1 kg de N-NO_3^- reducido a nitrógeno molecular se producen 3.57 kg de alcalinidad como CaCO_3 . También en el proceso de desnitrificación existe la posibilidad de acumulación de intermediarios debido al sustrato empleado, a las condiciones de operación, o a la presencia de sustancias tóxicas. Por ejemplo, la acumulación de nitrito en el sistema puede ser debido a la represión de la síntesis de la enzima nitrito-reductasa, a la selección o al enriquecimiento de los microorganismos capaces de reducir nitrato (Knowles, 1982). Por lo tanto, con el fin de obtener nitrógeno molecular como producto final del proceso de desnitrificación, es necesario controlar el oxígeno disuelto, la fuente de carbono orgánico, la concentración de nitrato, la relación C/N, el pH, la temperatura y la posible presencia de sustancias tóxicas.

1.6 Microbiología y bioquímica de la desnitrificación

Los microorganismos desnitrificantes son bacterias aerobias facultativas capaces de utilizar los aniones de nitrógeno como compuestos aceptores de electrones en ausencia de oxígeno. La mayor parte de las bacterias desnitrificantes son heterótrofas, pero algunas crecen autotróficamente utilizando hidrógeno molecular o compuestos reducidos del azufre como donadores de electrones (Knowles, 1982; Mateju y col., 1992). Las *Pseudomonas* son las bacterias desnitrificantes más activas en los medios naturales, pero en la desnitrificación intervienen también otros géneros de bacterias como son: *Acinetobacter*, *Paracoccus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus*, *Bacillus*, *Hyphomicrobiu*, entre otras. El proceso desnitrificante tiene lugar en una serie de etapas (Ecuación 1.18) catalizadas por diversas enzimas. La reducción de nitrato a nitrito está catalizada por la enzima nitrato-reductasa, asociada a la membrana celular. El factor clave para la inducción de la síntesis de dicha enzima es la ausencia de oxígeno

molecular, dándose la máxima producción normalmente en presencia de nitrato. La reducción de nitrito a óxido nítrico se realiza a través de la enzima nitrito-reductasa y el paso de óxido nítrico a óxido nitroso por la enzima óxido nítrico-reductasa. Por último, la enzima óxido nitroso-reductasa lleva a cabo la reducción de óxido nitroso a nitrógeno molecular.

1.7 Cinética de la desnitrificación

Para describir la cinética de las biotransformaciones microbianas normalmente se usan las expresiones de Monod teniendo en cuenta ambos sustratos, pero en el caso de la desnitrificación, si el sustrato no es el limitante se puede simplificar a una ecuación de orden cero (Gamo y col., 1996) (Ecuación 1.20).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_{\text{NO}_3^-}}{(S_{\text{NO}_3^-} + K_{\text{NO}_3^-})}$$

Donde μ = velocidad específica de crecimiento (t^{-1})

μ_{\max} = velocidad específica máxima de crecimiento (t^{-1})

$S_{\text{NO}_3^-}$ = concentración de nitrato (mg/L)

$K_{\text{NO}_3^-}$ = constante de afinidad para el nitrato (mg/L)

Si se usa una fuente de carbono externa, por ejemplo, ácido acético o metanol, es posible que se pueda prevenir la limitación de sustrato. En caso de haber materia orgánica en el agua residual será ésta la que limite la velocidad de eliminación del nitrato. Las constantes de afinidad para el nitrato son muy bajas, de manera que la desnitrificación se considera, en general, independiente de la concentración de nitrato.

1.8 Factores que afectan la desnitrificación

La oxidación de la materia orgánica con oxígeno está más favorecida energéticamente que si se lleva a cabo por los compuestos oxidados del nitrógeno. La presencia de este compuesto en el medio inhibe el proceso de desnitrificación, debido a que el oxígeno compite con el nitrato y nitrito como último aceptor de electrones en el metabolismo energético de las células. Existen discrepancias en cuanto a la mínima concentración de oxígeno que permite la desnitrificación. Algunos autores han establecido que generalmente a una concentración superior a 0.1 mg O₂/L

existe inhibición del proceso de desnitrificación (Lie y Welander, 1994). Sin embargo, investigaciones recientes muestran la existencia de especies capaces de llevar a cabo el proceso de desnitrificación en condiciones aerobias (Hwang y Hanaki, 2000; Pai y col., 1999). Oh y Silverstein (1999) observaron desnitrificación a concentraciones de hasta 5.6 mg O₂/L pero sólo al 4% de la velocidad alcanzada en condiciones anóxicas. Kornaros y Lyberatos (1998) descubrieron que la reducción partiendo de nitrato resulta menos sensible a la presencia de oxígeno que si partimos de otras especies más reducidas. La diversidad de los resultados obtenidos en los estudios al respecto puede deberse a que, como se ha indicado anteriormente, la medida del oxígeno disuelto en la fase líquida no coincide con su concentración en el interior de los flóculos, la cual depende en gran medida del tamaño y del grado de compactación de los mismos.

Los valores óptimos de pH se encuentran entre 7 y 8, aunque el proceso de desnitrificación puede tener lugar a valores de pH comprendidos entre 4 y 11 (Knowles, 1982). Si el pH es inferior a 7 aparece óxido nitroso, y a pH 4 se convierte en el producto mayoritario. Esto se debe a que a medida que desciende el pH, las enzimas encargadas de la reducción del óxido nitroso a nitrógeno molecular se ven inhibidas. Un pH superior a 7.3 conlleva que el producto final sea nitrógeno molecular, pero un pH superior a 9 supone que el amonio presente en el medio se presente como amoníaco.

La dependencia del proceso de desnitrificación de la temperatura es elevada, el rango óptimo se encuentra entre 10 y 35°C (Knowles, 1982, J. Carrera. M, 2001). A temperaturas superiores la velocidad de desnitrificación desciende rápidamente. A temperaturas entre 0 y 5°C la desnitrificación es muy baja aunque detectable y se va duplicando cada 10°C. En algunos casos se ha detectado un efecto sinérgico de la temperatura y la concentración de oxígeno sobre la desnitrificación, ya que a mayor temperatura la solubilidad del oxígeno es menor, lo que incrementa la velocidad del proceso.

1.9 Tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno

A continuación se resumen las principales tecnologías disponibles para llevar a cabo los procesos biológicos de eliminación de nitrógeno de las aguas residuales. Estas tecnologías se clasifican en sistemas con biomasa en suspensión y sistemas con biomasa adherida a un soporte móvil o fijo (Tabla 1).

Tabla 1 Equipos empleados para los procesos de nitrificación y desnitrificación.

Equipos	Nitrificación	Desnitrificación
Biomasa en suspensión	Lodos activados	Reactores anóxicos Reactores UASB
Biomasa adherida	Filtros percoladores Filtros anóxicos Filtros sumergidos Lecho fluidizado Biodiscos	Lecho fluidizado Reactores airlift

Los bioprocesos de biopelícula se basan en que los microorganismos se adhieren a un soporte inerte que puede ser móvil o fijo, formando lo que se conoce como biopelícula, así se favorece la permanencia de la biomasa en el reactor. La inmovilización de las bacterias en biopelículas puede tener lugar espontáneamente o usando técnicas de inmovilización artificial. En estos sistemas de biopelícula la concentración microbiana suele estar comprendida entre 20 y 30 g SSV/L. Por ejemplo, en los filtros anóxicos los microorganismos se adhieren formando una biopelícula, sobre un soporte de material inerte que puede estar distribuido al azar o de forma ordenada. Las principales desventajas de estos sistemas son la existencia de canales preferenciales al flujo del agua residual y la presencia de problemas de taponamiento por crecimiento celular. El problema de taponamiento se puede controlar manejando una relación C/N cercana a la estequiométrica, donde el proceso catabólico predomina. En los reactores de lecho fluidizado la biomasa se adhiere a un soporte de pequeño tamaño y de baja densidad. El medio es fluidizado por la alta velocidad ascensional del flujo combinado del influente y la recirculación. Las ventajas que ofrecen estos sistemas son numerosas, se alcanza una elevada concentración de biomasa en el

reactor, no se producen obstrucciones ni caminos preferenciales. La desventaja es el gasto energético en el sistema de recirculación.

1.10 Biotransformación del fenol

El fenol puede ser biotransformado por reacciones abióticas y por medio de la actividad microbiana (WHO, 1994). Durante la descomposición microbiana, fundamentalmente en el sedimento, se pueden eliminar diferentes compuestos fenólicos, así como plaguicidas que producen intermediarios fenólicos. La degradación involucra en su mayoría procesos aerobios, efectuados principalmente por bacterias de los géneros *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.* y *Pseudomonas spp.*, que toleran concentraciones de 10-25 g/L de fenol. Los mecanismos anaerobios como la desnitrificación, sulfato-reducción y la metanogénesis están presentes en una menor proporción, pues se requiere además de la participación de consorcios bacterianos (agrupaciones de dos especies bacterianas), donde el segundo microorganismo generalmente metaboliza el anillo aromático (Young, 1987; Holub et. al, 2000). Los compuestos fenólicos también se pueden biotransformar por vía anaerobia o anóxica. Evans y Fuchs y col. (1988) propusieron una ruta bioquímica anaerobia para la oxidación del fenol, donde el fenol se debe descarboxilar previamente para el posterior rompimiento del anillo aromático (Figura 2).

En reactores en continuo también se ha eliminado el fenol de forma eficiente utilizando el nitrato como el aceptor final de electrones. Por ejemplo, Puig-Grajales y col. (2003) observaron la eficiente eliminación de fenol y 3,4-dimetilfenol bajo condiciones desnitrificantes utilizando un reactor tipo UASB. Por otro lado, Beristain-Cardoso y col. (2009) observaron la oxidación de sulfuro y fenol en un reactor de lecho fluidificado inverso de biopelícula desnitrificante, alcanzando eficiencias de consumo cercanas al 100% y un rendimiento desnitrificante (Y_{N_2}) de 0.89 mg N_2 /mg $N-NO_3^-$ consumido. En la actualidad se están estudiando sistemas de eliminación biológica del nitrógeno de las aguas por nitrificación-desnitrificación vía nitrito. En estos sistemas se intentan conseguir las condiciones necesarias para oxidar el amonio a nitrito y después llevar a cabo el proceso de desnitrificación (Hyungseok y col., 1999). De este modo se requiere menor cantidad de carbono ya que en la desnitrificación del nitrito se consume menos que en el caso del nitrato y además se disminuyen las necesidades de aireación.

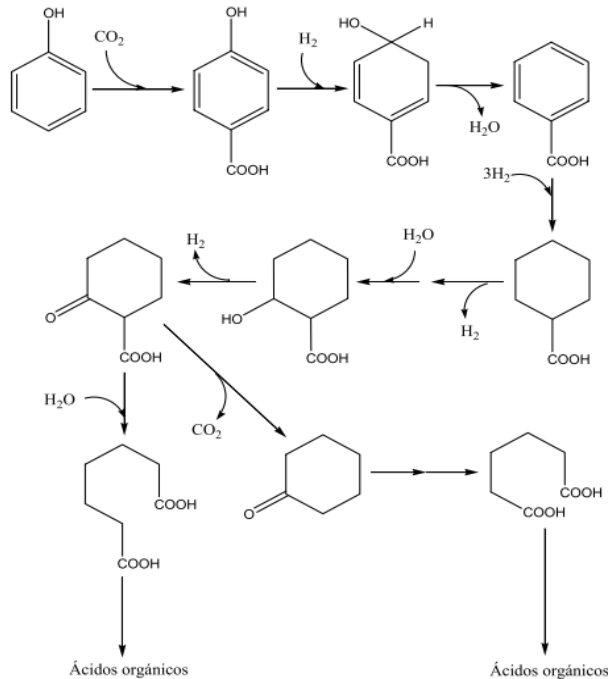


Figura 2. Ruta de biodegradación anaerobia del fenol (Evans y Fuchs, 1988; Borracino, 1977)

1.11 Hidrodinámica del reactor

Los modelos ideales de mezcla completa y flujo pistón, representan los 2 extremos opuestos del espectro de la hidrodinámica de los reactores. Sin embargo, en muchas situaciones reales, las desviaciones pueden ser importantes, debido al efecto del transporte convectivo y/o difusional. Para describir el flujo en los reactores se emplean tres conceptos: tiempo de mezcla, calidad de la mezcla y distribución de tiempos de residencia. Dependiendo de la configuración del reactor o de las características del fluido, habrá elementos de fluidos que puedan mezclarse pronto o más tarde. La distribución de los tiempos de residencia de un reactor es una característica del mezclado que ocurre dentro de él, su determinación es básica para el diseño de cualquier tipo de reactor en escala real. Este aspecto es importante en sistemas donde se alimentan dos o más corrientes (solución de substrato, solución de nutrientes, etc), ya que el tiempo que tarda en mezclarse, tiempo de mezcla, condicionará el tiempo de mezcla de la reacción. (Gódia Casablanca, 2005).

La distribución de tiempos de residencia (DTR) en reactores de flujo da información cualitativa inmediata sobre las características de flujo interno y permite detectar comportamientos anómalos (canalizaciones, zonas muertas, recirculación interna, etc).

En el caso de reactores biológicos, donde las velocidades de reacción son moderadas o lentas, los aspectos relacionados con el tiempo y calidad de mezcla tienen menos importancia, siendo, por tanto, la determinación de la DTR en el reactor uno de los principales factores a tener en cuenta para poder conocer la aproximación del comportamiento del reactor. Además la determinación de la DTR puede ser empleada para estimar el volumen de gas atrapado en el reactor, tanto en fermentaciones anaerobias, debido a la producción de metabolitos gaseosos, como aerobias.

Para obtener la DTR de un fluido en un sistema, se recurre a una serie de técnicas experimentales que se engloban bajo la denominación general de técnicas estímulo-respuesta. En este tipo de experimentación se introduce una perturbación en el sistema (trazador) analizándose conjuntamente la señal de entrada y la respuesta del sistema. Como estímulo se puede emplear cualquier tipo de señal de entrada de trazador (impulso, escalón, periódica, aleatoria, etc.) y se puede obtener la misma información; sin embargo, las señales aleatoria y periódica conllevan a una serie de complicaciones en el análisis matemático y de tipo experimental.

La selección del trazador más adecuado es un paso crítico y se puede hacer en base a las siguientes consideraciones: 1. Debe ser miscible y tener propiedades físicas similares a las de la corriente fluida que se va a investigar; 2. No debe afectar la velocidad de reacción dentro del reactor; 3. Debe ser detectable con precisión a bajas concentraciones, para que su introducción no afecte el flujo de corriente del fluido; 4. No debe reaccionar con el contenido del reactor; 5. En sistemas multifásicos, el trazador no debe ser transferido de una fase a otra; 6. La concentración previa de trazador en el sistema debe ser constante. El valor del número de Peclet (Pe) es un indicativo del grado de mezcla. Si el Pe es nulo ($DA \rightarrow \infty$), indica que el sistema está perfectamente mezclado, mientras que para valores muy grandes, $Pe = \infty$ ($DA = 0$), la dispersión es despreciable y, por lo tanto, se trata de flujo en pistón. (Levenspiel, 2004, Gódia Casablanca, 2005) Si se obtienen valores intermedios, se tendría un flujo no ideal.

2. Justificación

Para tratar las aguas residuales de composición química compleja, tales como las provenientes de la industria petroquímica, química, del papel y tenerías, es necesario acoplar la nitrificación y la desnitrificación. Esto es debido a que estos tipos de efluentes contienen amonio en vez de nitrato. En el proceso nitrificante el amonio puede ser oxidado parcialmente a NO_2^- , la materia orgánica a intermediarios y el sulfuro a sulfato. El NO_2^- puede eliminarse fácilmente en forma de N_2 , en un proceso desnitrificante organotrófico o litotrófico, teniendo así, un tren de tratamiento exitoso y eficiente para la eliminación simultánea de compuestos nitrogenados, azufrados y carbonados. En el presente trabajo, se estudiará sólo el proceso desnitrificante de forma integral en presencia de fenol y nitrito, y así contribuir al conocimiento para identificar las etapas de control del proceso. Mayor comprensión de la conducta hidrodinámica y fisiológica permitirá obtener y operar procesos más eficientes, mayor control metabólico y más rápidos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el aspecto metabólico del proceso desnitrificante en presencia de fenol y nitrito utilizando un reactor continuo de lecho empacado.

3.2 Objetivos específicos

1. En un reactor continuo de lecho empacado se evaluará la distribución de tiempos de residencia en función del tiempo de residencia hidráulica.
2. En el reactor continuo de lecho empacado se evaluará el proceso respiratorio de la desnitrificación en función del tiempo de residencia hidráulica.

4 Materiales y métodos

4.1 Características del soporte para el reactor de lecho empacado

Se utilizó como soporte anillos elaborados con material de polietileno para la adhesión de la biomasa, el cual fue complementado con anillos de PVC con la finalidad de aumentar su densidad y evitar su flotabilidad. El diámetro promedio de los anillos fueron de 1.8 cm, con una longitud de 2.9 cm (Figura 3).

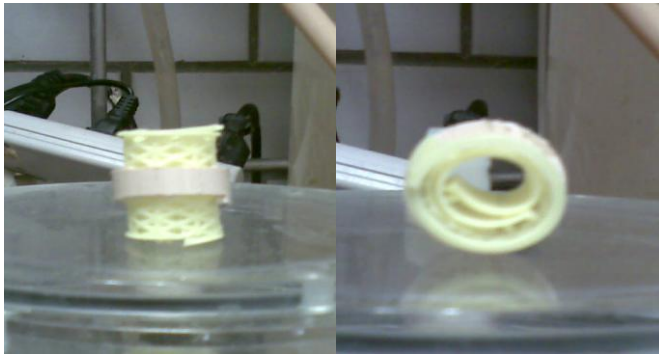


Figura 3. Soporte: Anillos de polietileno.

4.2 Características del reactor de lecho empacado

Se utilizó un reactor de acrílico con un volumen nominal de 6.7 L., y un volumen operacional de 6 L (sin soporte), siendo el volumen útil de 4.85 Litros (Figura 4). El influente se bombeó al reactor utilizando una bomba peristáltica, y la temperatura se controló a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ utilizando una chaqueta de tubo de plástico conectado a un termostato. El nitrógeno molecular se recuperó utilizando una botella invertida con una solución concentrada de cloruro de sodio (300 g/L).



Figura 4. Reactor de lecho empacado

4.3 Distribución de tiempos de residencia

Para evaluar la distribución de tiempos de residencia se utilizó la técnica estímulo-respuesta. Donde se utilizó como trazador un colorante; azul de metileno. Se preparó una solución de azul de metileno de 1.2 g en 100 mL de agua destilada, inyectando un pulso de 2.5 ml de trazador, y alcanzando una concentración dentro del reactor de 60 mg. La DTR se evaluó a diferentes tiempos de residencia hidráulica: 5, 10, 18 y 24 horas.

4.4 Inoculo y composición del medio de cultivo

El inóculo que se utilizó fue un lodo nitrificante procedente del laboratorio de fisiología microbiana de la UAM-Iztapalapa. EL RCTA se inoculó con una concentración de 10 g de sólidos suspendidos volátiles (SSV)/L. En la Tabla 2, se muestra la composición del medio de cultivo que se utilizó para alimentar el RLE, donde se adicionó también 1 ml/L del concentrado de elementos traza (Beristain-Cardoso y col., 2009). Para el proceso desnitrificante el fenol se utilizó como fuente de energía y carbono, mientras que el nitrito fue el aceptor final de electrones.

Tabla 2 Composición química del medio de cultivo

Compuesto	Peso (g/L)
NaNO_2^-	0.98
$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	0.144
NaHCO_3	0.12
K_2HPO_4	1.20
KH_2PO_4	0.80

4.5 Operación del reactor de lecho empacado

En la primera etapa, el RLE se operó a un TRH de 24 horas hasta alcanzar el régimen estacionario, es decir, cuando la velocidad de producción de N_2 presentó una variación menor al 10%. En una segunda etapa, el TRH se incrementó a 40 h, hasta alcanzar nuevamente el estado estacionario. En cada régimen estacionario se evaluó el proceso desnitrificante a través de las siguientes variables de respuesta:

$$\text{Rendimiento de producto: } Y_{\text{producto}} = \frac{\text{mg producto formado}}{\text{mg sustrato consumido}}$$

$$\text{Eficiencia de consumo de sustrato: } E\% = \left(\frac{\text{mg sustrato consumido}}{\text{mg sustrato a lim entado}} \right) * 100$$

La eficiencia de consumo del sustrato se define como $E = ((S \text{ inicial} - S \text{ final}) / S \text{ inicial}) * 100$. Mientras que el rendimiento de producción se define como $Y = (\text{mg N o C formado} / \text{mg N o C consumido})$. El rendimiento puede proporcionar información relacionada con las vías metabólicas.

4.6 Métodos de análisis

La cuantificación del nitrito (NO_2^-) fue por electroforesis capilar (Beckman Coulter). Este método se basa en la migración electroforética de iones al aplicar un voltaje a través de una columna capilar hacia el electrodo respectivo. El fenol y sus intermediarios fueron cuantificados por cromatografía de líquidos de alta resolución, HPLC (Perkin Elmer series 2000). Este método utiliza una fase móvil de acetonitrilo-agua (60:40), y una columna (C-18) específica para la separación de los compuestos fenólicos. El análisis del azul de metileno fue por espectrofotometría a una absorbancia de 640 nm, esta técnica se basa en la absorción de fotones por una o más sustancias presentes en una muestra. El nitrógeno molecular se identificó por Cromatografía de Gases. Este método consiste en la medición de muestras gaseosas, utilizando una columna de acero empacada con Porapak Q malla 80-100. Se utilizará un detector de conductividad térmica. Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se cuantificaron por el método del APHA, donde la materia orgánica se calcina a 550°C (APHA 1985).

5 RESULTADOS

5.1 Puesta punto de las técnicas de medición

En primera instancia, se pusieron a punto las técnicas analíticas para la medición de los compuestos carbonados y nitrogenados. Se realizaron repeticiones de curvas patrón de cada técnica analítica, con la finalidad de garantizar la reproducibilidad del método y la confiabilidad de los valores experimentales (Tabla 3 y Anexos). Un coeficiente de variación (CV) menor al 10% es un indicativo de que se cumplió lo mencionado anteriormente.

Tabla 3. Coeficientes de variación de las curvas patrón.

Curva	Promedio	Desviación estándar	CV (%)
Azul de metileno	0.0518	0.00	8.46
Nitrito	4178.85	280.93	6.72
Fenol	187865.50	2645.29	1.41
<i>p</i> -hidroxibenzoato	156965.50	11820.70	7.53
<i>p</i> -hidroxibenzaldehido	32580.50	243.95	1.75

5.2 ESTUDIO HIDRODINÁMICO DEL REACTOR DE LECHO EMPACADO

5.2.1 Distribución de tiempos de residencia (DTR)

Se utilizó un reactor empacado con anillos de polietileno. Son escasos los estudios que muestran la hidrodinámica en este tipo de sistemas, por lo que se evaluó el efecto del TRH sobre la distribución de los tiempos de residencia, a través de la técnica estímulo-respuesta, utilizando como trazador un colorante (Olivet y col., 2005). La distribución de tiempos de residencia es un modelo matemático de orden estadístico, que tiene como finalidad describir como ocurre el transporte de masa en el interior de un reactor que trabaja de forma continua.

5.3 Comportamiento del colorante dentro del reactor

Un modelo de DTR se deduce experimentalmente mediante la adición de un trazador junto a la alimentación del reactor. Un trazador es una pequeña porción de una sustancia que se comporta en forma similar al material de alimentación y que posee una propiedad que lo distingue de él y

que permite su detección a la salida del reactor. El reactor de lecho empacado se evaluó a cuatro tiempos de residencia hidráulica: 5, 10, 18 y 25 horas. En la Figura 5 se observa el perfil de la distribución de tiempos de residencia (θ). Estos perfiles muestran claramente una zona de estancamiento del trazador. La retención del trazador podría estar asociada a dos factores: a) al tipo de empaque, imposibilitando así su distribución ó 2) al tiempo que tarda el trazador en solubilizarse, el cual probablemente es lento.

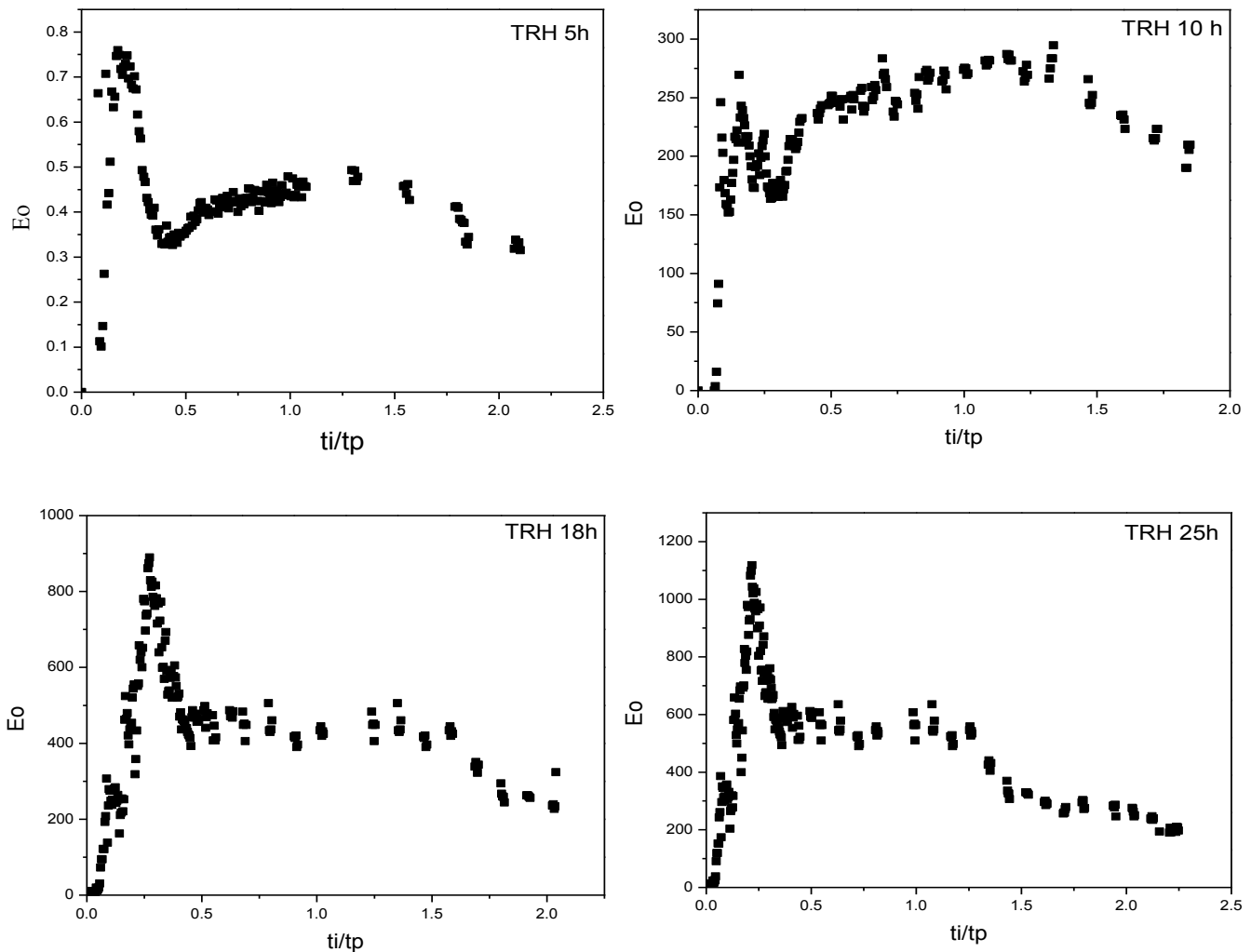


Fig 5. Distribución de tiempos de residencia (E_o) en función del tiempo de residencia hidráulica t_i ; tiempo puntual, t_p ; tiempo medio de residencia

En la Tabla 4 se muestran los parámetros hidrodinámicos obtenidos del estudio experimental. Los resultados mostraron volúmenes muertos de 54, 41, 41 y 45%, para los TRHs de 5, 10, 18 y 25 horas, respectivamente, lo que indicó un volumen útil alrededor del 60% en promedio. Los tiempos medios de residencia obtenidos, son aproximadamente el 50% del respectivo TRH evaluado, sugiriendo así, que no hay una distribución homogénea de las partículas en todo el sistema. El tiempo de residencia medio nos indica el tiempo promedio en que permanece el trazador dentro del reactor. No obstante, con los valores obtenidos como se observa en la (Fig. 5), el número de dispersión ($1/Pe$) para los cuatro casos, sugiere que el patrón de flujo fue intermedio, entre el tipo pistón y el de flujo mezclado, con una mayor tendencia al comportamiento que presentan las partículas en los reactores de mezcla completa. Por ejemplo, Rodríguez-Chaparro y col. (2004) evaluaron la distribución de tiempos de residencia en un reactor de lecho empacado con anillos de cerámica, observando que la distribución se asemejó al comportamiento que tienen las partículas en reactores de flujo completamente mezclado.

Tabla 4. Coeficientes de dispersión a diferentes TRHs en el RLE

TRH (h)	Trazador (mg)	FLUJO (ml/min)	TRAZADOR RECUPERADO (mg)	Σ	σ_{dim}	$1/Pe$
5	60	16.6	37.88	7225.91	0.38	0.26
10	60	8.08	31.20	24290.49	0.27	0.16
18	60	4.48	42,07	86457.27	0.30	0.30
25	60	2.12	32.41	136302.86	0.29	0.31

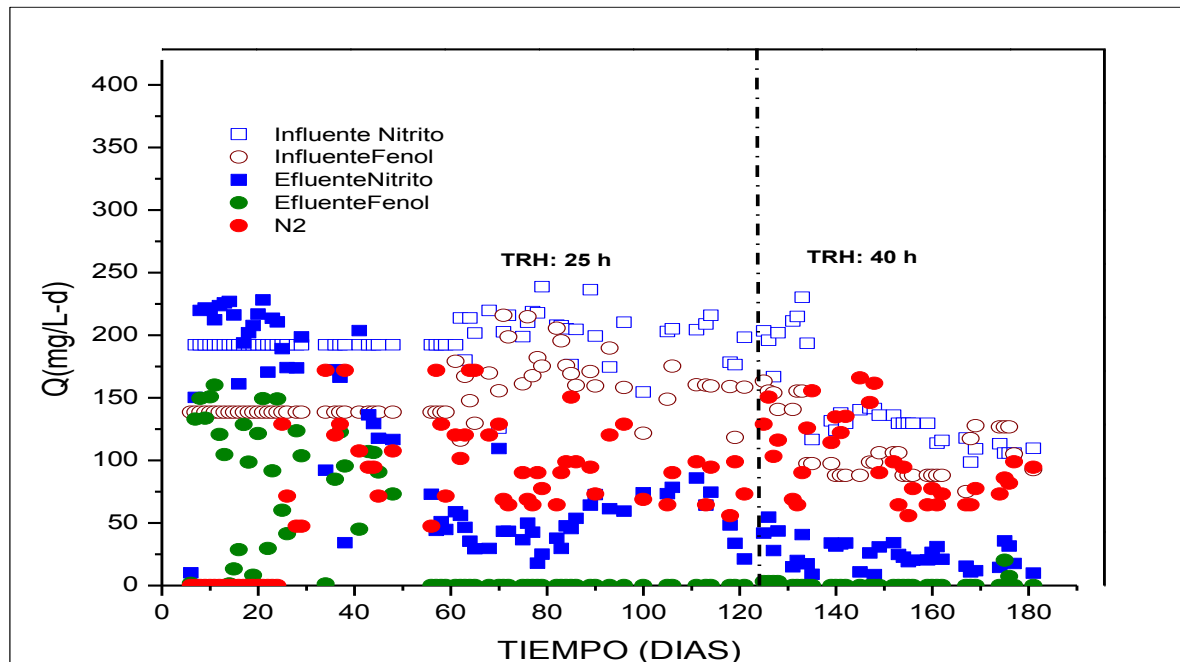
σ_{dim} = Varianza, o una medida de dispersión de la curva, $Pe= uL/D$ relaciona la velocidad de transporte de materia debida al flujo convectivo y difusional, donde u : velocidad tomada a partir de un caudal, L : longitud del reactor, y D : coeficiente de dispersión.

5.4 COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS NITROGENADOS Y CARBONADOS EN EL REACTOR BIOLÓGICO DE LECHO EMPACADO

Inicialmente el RLE se operó a un TRH de 25 h, con una velocidad de carga en el influente de 200 mg N-NO₂⁻/L d y 144 mg C-fenol/L d (Figura 6). El C-fenol fue la única fuente de carbono y energía, mientras que el nitrito fue la única fuente oxidante y de nitrógeno para ser empleado en las rutas biosintéticas. La relación C/N alimentada al RLE fue estequiométrica, es decir, el

carbono fue suficiente para reducir completamente el nitrito hasta N_2 . El RLE alcanzó el estado estacionario para el día 70, es decir cuando la velocidad volumétrica de producción de N_2 mantuvo un coeficiente de variación menor al 10%. En dicho estado estacionario, la eficiencia de consumo de fenol fue del 98.9%, mientras el consumo de nitrito fue del 83% (Tabla 5). Parte del $N-NO_2^-$ fue recuperado como N_2 , con un $Y-N_2$ de 0.66 ± 0.38 mg N_2 /mg $N-NO_2^-$ consumido. Respecto a los compuestos carbonados, se estimó el grado de mineralización a través de los miliequivalentes de electrones (3 meq e^- /mol NO_2^- y 28 meq e^- /mol fenol), obteniéndose un rendimiento de mineralización ($Y-HCO_3^-$) de 0.37 mg $C-HCO_3^-$ /mg C-fenol consumido. A este TRH evaluado (25 h), no se sabe aún si la baja eficiencia de nitrito estuvo asociada a un problema hidrodinámico o metabólico. El TRH real fue de 25 h, pero el estudio hidrodinámico mostró que el volumen útil fue sólo el 60%, indicando así, que el TRH real fue aproximadamente de 15 h, un menor volumen disponible para las reacciones bioquímicas. Evaluar TRHs cortos, dentro del intervalo evaluado en el estudio hidrodinámico, no tendría lógica, ya que la eficiencia de consumo empeoraría en lugar de mejorar. Por lo que se decidió incrementar el TRH a 40 h, para darle mayor tiempo de reacción a la desnitrificación, ya que la C/N evaluada fue la estequiométrica, y así descartar un problema hidrodinámico. En el nuevo estado estacionario, la eficiencia de consumo de fenol fue de 100%, mientras la eficiencia de consumo de nitrito fue de 79.23% (Tabla 5). Los rendimientos de producción; $Y-N_2$ y $Y-HCO_3^-$ fueron de 0.78 ± 0.17 mg N /mg $N-NO_2^-$ y 0.42 ± 0.07 mg $C-HCO_3^-$ /mg C-fenol, respectivamente. Se realizó un estudio estadístico (Prueba de Turkey, $\alpha = 0.05$), el cual indicó que las eficiencias de consumo, así como los rendimientos de producción no cambiaron significativamente, lo que mostró que el incremento del TRH no afectó el metabolismo de la desnitrificación. Esta respuesta metabólica sugirió que la baja eficiencia de nitrito no estuvo asociada a un problema hidrodinámico, si no al aspecto metabólico. La baja eficiencia de consumo de nitrito se debió a que parte del fenol consumido se utilizó para aspectos biosintéticos; producción de biomasa (inmovilización) y exopolímeros. Esta desviación de la fuente carbonada originó que ya no hubiese suficiente fuente de energía (fenol) para reducir el nitrito residual hasta N_2 . Por ejemplo, Beristain-Cardoso y col. (2009) observaron que en un sistema de biopelícula, a una C/N estequiométrica, alimentado con fenol y nitrato, se puede obtener un proceso principalmente catabólico, con una

producción mínima de biomasa. Sin embargo, en el presente trabajo, el uso de nitrito modificó el metabolismo. Este cambio metabólico podría estar asociado a los efectos negativos causados por el nitrito, ya que es bien conocido como un desacoplante energético a nivel de la cadena respiratoria. Una estrategia para la eliminación del nitrito residual podría ser la presencia de otro compuesto orgánico, actuando como agente reductor y así reducir el NO_2^- a N_2 . En las aguas residuales provenientes de la industria esto es posible, no obstante, se requiere realizar más trabajo experimental para confirmar esta hipótesis.



Figura

6. Perfil de los compuestos nitrogenados y carbonados en el RLE

Finalmente, los resultados experimentales mostraron el potencial del nitrito para la oxidación del fenol, acoplado a la reducción de nitrito a N_2 . Estos resultados son de vital importancia, ya que actualmente se está buscando el acoplamiento nitrificación-desnitrificación “vía nitrito” como fue reportado por Peng y Zhu, 2006. Debido a lo siguiente: 1) Bajo requerimiento de oxígeno en la nitrificación (Implica el 60% en ahorro energético), 2) Baja producción de lodos en la desnitrificación (alrededor del 55%), 3) Bajo requerimiento de donadores de electrones en la desnitrificación (hasta un 40%), y 4) La desnitrificación con nitrito ha mostrado velocidades desnitrificantes con acetato de 1.5 a 2 veces más rápidas con respecto a la desnitrificación con nitrato.

Tabla 5. Eficiencias de consumo de los sustratos y producción de nitrógeno molecular en el RLE a un TRH de 25 y 40 h, en el estado estacionario.

TRH (h)	E% (NO_2^-)	E% (Fenol)	Y- N_2	Y C- HCO_3^-
25	83.08 ± 8.07	98.98 ± 1.10	0.66 ± 0.38	0.37 ± 0.05
40	79.25 ± 4.16	100 ± 2.0	0.78 ± 0.17	0.42 ± 0.07

6 CONCLUSIONES

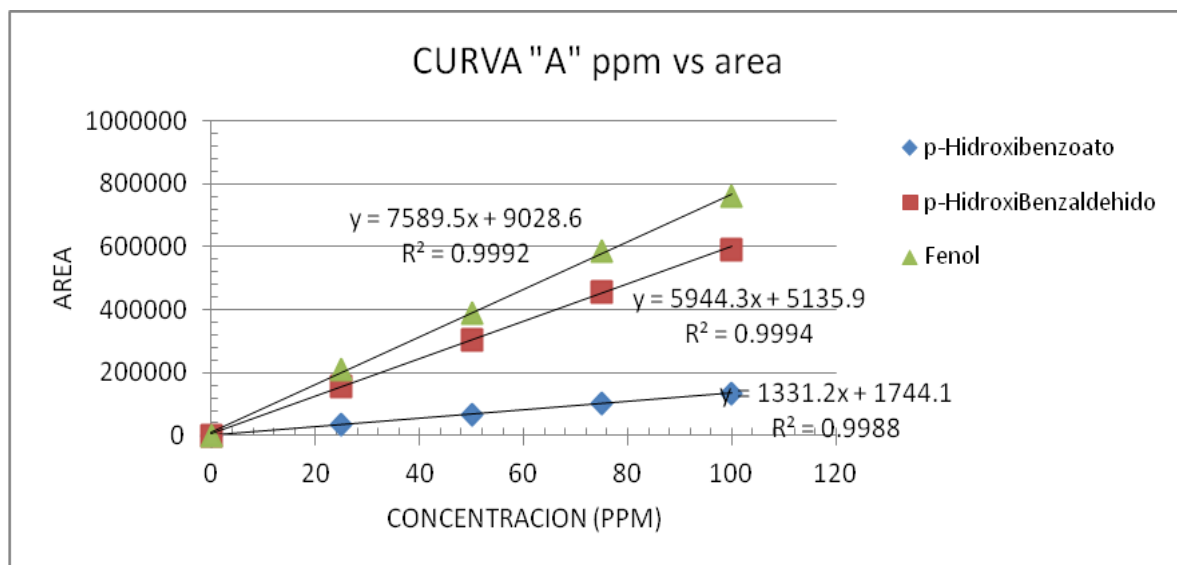
El estudio hidrodinámico indicó que la dispersión en el reactor fue un flujo no ideal, entre el flujo pistón y el completamente mezclado, con volúmenes muertos alrededor del 40%. La desnitrificación evaluada en el reactor de lecho empacado sugirió que el problema de la baja eficiencia de consumo del nitrito fue debido a un problema metabólico inducido por el nitrito más que a un aspecto hidrodinámico. No obstante, en el reactor de lecho empacado, el lodo microbiano mostró la capacidad metabólica para desnitrificar con nitrito, oxidando el fenol y recuperando el nitrito principalmente como nitrógeno molecular. Para tener procesos rápidos y eficientes, y sobre todo buscar la descarga cero, es relevante considerar tanto el aspecto

hidrodinámico para un buen diseño de los reactores, así como el aspecto metabólico, para tener procesos biológicos eficientes, es decir, garantizar la formación de productos que no van a tener un efecto negativo en el ambiente. Finalmente, este estudio dio las primeras evidencias del potencial del nitrito para eliminar el fenol en un reactor continuo de lecho empacado.

7 ANEXOS

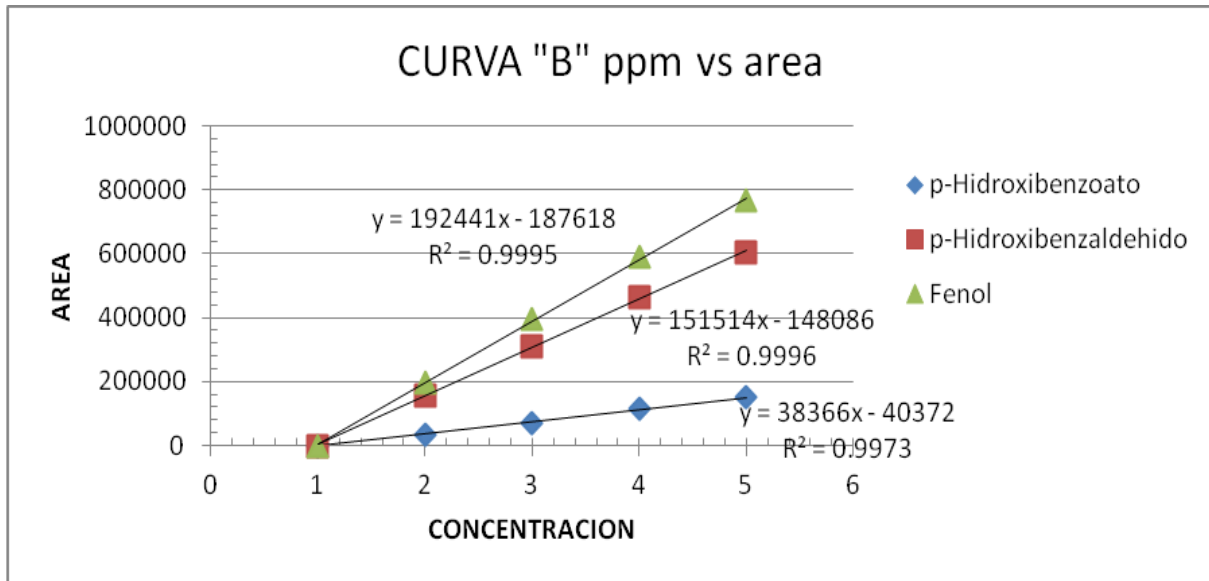
7.1 ESTANDARES (COMPUESTOS FENOLICOS Y SUS INTERMEDIARIOS)

ESTANDAR A



Grafica 1. Estándares del fenol y sus intermediarios (Estándar A).

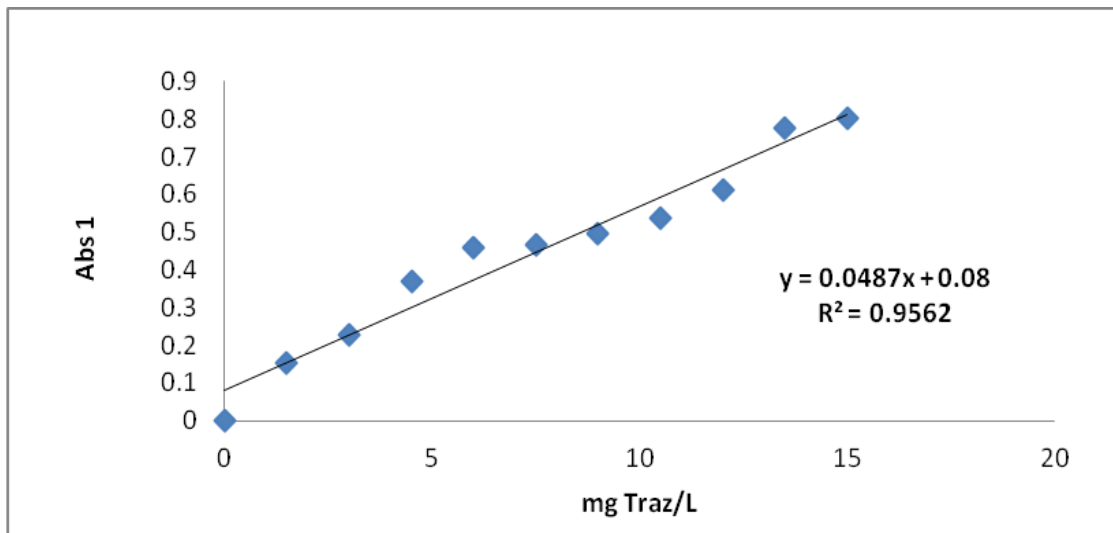
ESTANDAR B



Grafica 1.1 Estándares del fenol y sus intermediarios (Estándar B).

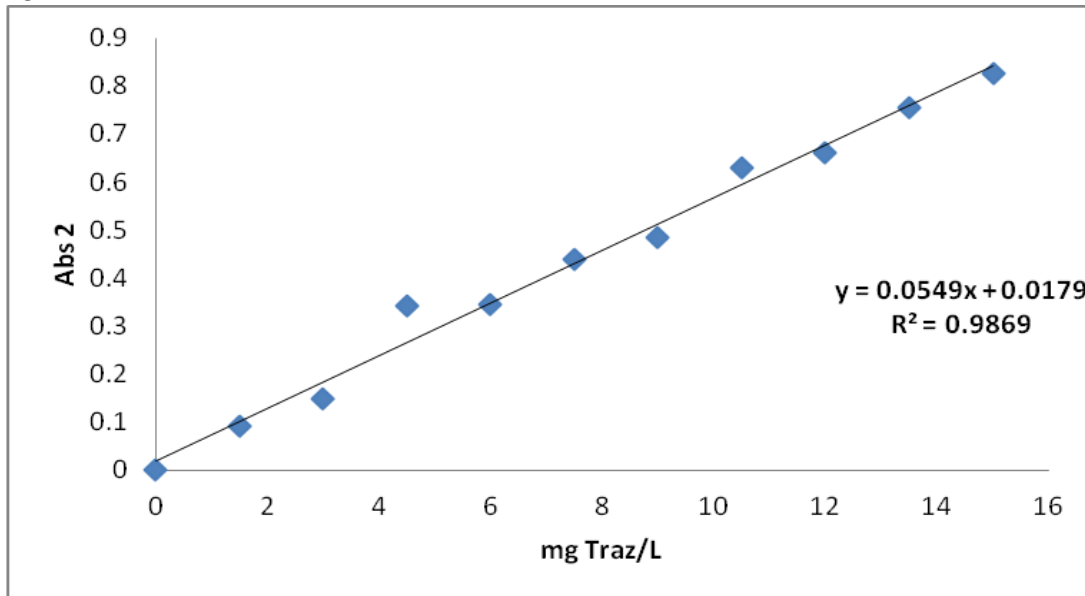
7.2 ESTANDARES TRAZADOR (AZUL DE METILENO)

ESTANDAR A



Grafica 2. Estándares del colorante (Estándar A).

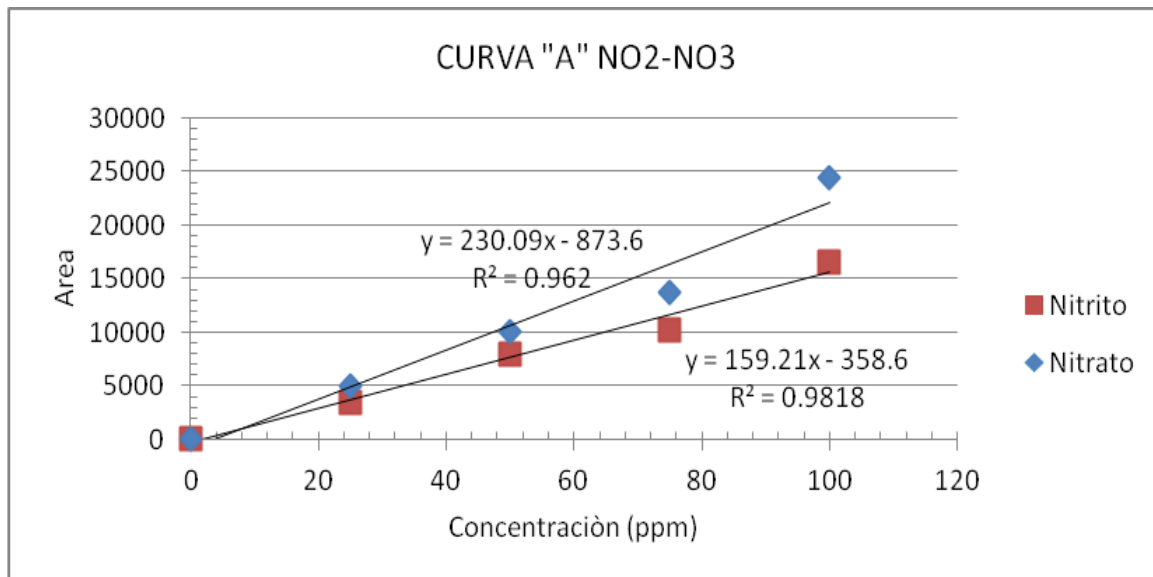
ESTANDAR B



Grafica 2.1. Estándares del colorante (Estándar B).

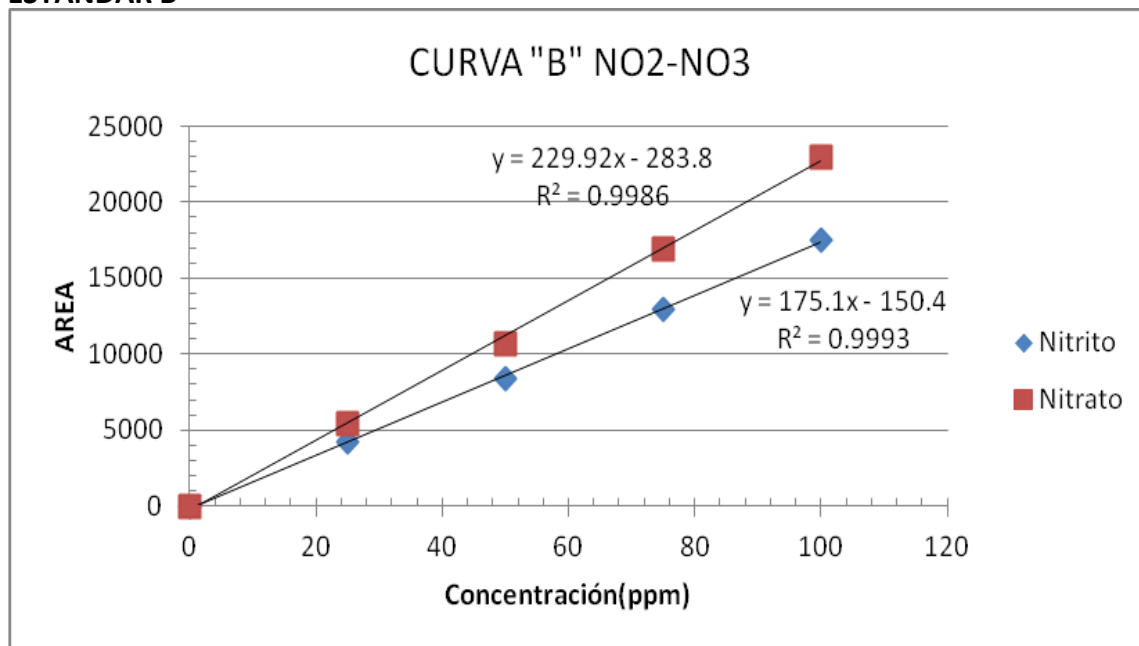
7.3 ESTANDARES (NITRATO Y NITRITO)

ESTANDAR A



Grafica 3 Estándares del nitrato y nitrito (Estándar A).

ESTANDAR B



Grafica 3.1 Estándares del nitrato y nitrito (Estándar B).

8. Bibliografía

Referencias para el estudio hidrodinámico

Francesc Gódia Casablanques y Josep López Santín. Ingeniería Bioquímica. Editorial Síntesis, S.A. Primera Edición 2005, España.

Octave Levenspiel. Ingeniería de las Reacciones Químicas. Editorial Limusa S.A de C.V. Tercera Edición 2004, México.

Tania Rodríguez Chaparro, Luz Helena Pinzón, Carlos Alberto Arámbula. Estudio de Distribución de Tiempos de Residencia en un Reactor Biológico de Lecho Empacado Cerámico. Ciencia e Ingeniería Neogranadina, noviembre, número 014 Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia. Pp. 1-11

Referencias para el proceso de la desnitrificación

Abeling U., Seyfried C. F. 1992 Anaerobic-aerobic treatment of highstrength ammonium wastewater-nitrogen removal via nitrite. Water Sci. Technol. 26 (5/6), 1007-1015.

Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R. 1992 Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO_x- ratio. *Environ. Technol.* 13, 825-836.

Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R. 1993 Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Water Res.* 27 (8), 1303-1312.

Andersson B., Asprengen H., Parker D. S., Lutz M. P. 1994 High rate nitrifying trickling filters. *Water Sci. Technol.* 29 (10/11), 47-52.

Anthonisen A. C., Loehr B. C., Prakasam T. B. S., Srinath E. G. 1976 Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed.* 48 (5), 835-852.

Balmelle B., Nguyen K. M., Capdeville B., Cornier J. C., Deguin A. 1992 Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification. *Water Sci. Technol.* 26 (5/6), 1017-1025.

Bilanovic D., Battistoni P., Cecchi F., Pavan P., Mata-Álvarez J. 1999 Denitrification under high nitrate concentration and alternating anoxic conditions. *Water Res.* 33 (15), 3311-3320.

Burrell P., Keller J., Blackall L. L. 1999 Characterisation of the bacterial consortium involved in nitrite oxidation in activated sludge. *Water Sci. Technol.* 39 (6), 45-52.

Campos J. L. 1995 Estudios de nitrificación en continuo: efectos da carga nitroxenada e da presenza de antibióticos. Tesis de Licenciatura, Universidad de Santiago de Compostela.

Campos J. L., Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. 1999 Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit. *Bioresource Technol.* 68, 141-148.

Cantó M., Gómez J., Kennes C., Veiga M. C. 1998 Integrated anoxic-aerobic treatment of wastewaters from a synthetic resin producing factory. *European Conference on New Advances in Biological Nitrogen and Phosphorus Removal for Municipal or Industrial Wastewaters*, Narbonne, France, pp. 289-292.

Çeçen F., Gönenç I. E. 1994 Nitrogen removal characteristics of nitrification and denitrification filters. *Water Sci. Technol.* 29 (10/11), 409-416.

Cheng S., Chen W. 1994 Organic carbon supplement influencing performance of biological nitrification in a fluidized bed reactor. *Water Sci. Technol.* 30 (11), 131-142.

Cuervo F. M., Martínez F., Gutiérrez-Rojas M., Noyola R. A., Gómez J. 1999 Effect of nitrogen loading rate and carbon source on denitrification and sludge settleability in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Water Sci. Technol.* 40 (8), 123-130.

Fernández-Peteiro A., Omil F., Lema J. M. 2003 Tratamiento de los efluentes de producción de tableros de fibra. *Ingeniería Química*, Enero, 68-78.

Fernández-Polanco F., Villaverde S., García P. A. 1994 Temperature effect on nitrifying bacteria activity in biofilters: activation and free ammonia inhibition. *Water Sci. Technol.* 30 (11), 121-130.

Gamo E., Alonso V., Martín A., Borja R. 1996 Eliminación biológica de nitrógeno en aguas residuales. *Ingeniería Química*, Septiembre, 333-341.

Garrido J. M. 1996 Nitrificación e desnitrificación de aguas residuales con concentraciones elevadas de formaldehído e urea. Tesis de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela. Hanaki K., Wantawin C., Ohgaki S. 1990 Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended growth reactor. *Water Res.* 24 (3), 297-302.

Hanaki K., Hong Z., Matsuo T. 1992 Production of nitrous oxide gas during denitrification of wastewater. *Water Sci. Technol.* 26 (5/6), 1027-1036.

Henze M., Harremoës P., Jansen J. C., Arvin E. 1996 Basic biological processes. *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes*, 2nd Ed., Springer-Verlag, Berlin. Hwang S., Hanaki K. 2000 Effects of oxygen concentration and moisture content of refuse on nitrification, denitrification and nitrous oxide production. *Bioresource Technol.* 71, 159-165.

Hyungseok Y., Kyu-Hong A., Hyung-Jib L., Kwang-Hwan L., Youn-Jung K., Kyung-Guen S. 1999 Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. *Water Res.* 33 (1), 145-154.

Ilies P., Mavinic S. 2001 A pre- and post- denitrification system treating a very high ammonia landfill leachate: effects of pH change on process performance. *Environ. Technol.* 22, 289-300.

Knowles R. 1982 Denitrification. *Microbiol. Reviews* 46 (1), 43-60.

Kornaros M., Lyberatos G. 1998 Kinetic modelling of *Pseudomonas Denitrificans* growth and denitrification under aerobic, anoxic and transient operating conditions. *Water Res.* 32 (6), 1912-1922.

Lee M. W., Park J. M. 1998 Biological nitrogen removal from coke plant wastewater with external carbon addition. *Water Environ. Res.* 70 (5), 1090-1095.

Lie E., Welander T. 1994 Influence of dissolved oxygen and oxidation reduction potential on the denitrification rate of activated sludge. *Water Sci. Technol.* 30 (6), 91-100.

Mateju V., Cizinska S., Krejci J., Janoch T. 1992 Biological water denitrification - A review. *Enzyme Microbiol. Technol.* 14, 170-183.

Méndez R., Sánchez M., Garrido J. M., Lema J. M. 1996 Evaluación de tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno. *Comunicaciones del III Congreso Ibérico de Biotecnología*, Valladolid, España, pp. 3944.

Mosquera A. 1998 Eliminación biológica de carbono y nitrógeno de efluentes de la industria conservera de productos marinos. Tesis de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela.

Nyberg U., Aspegren H., Andersson B., Jansen J. C., Villadsen I. S. 1992 Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. *Water Sci. Technol.* 26 (5/6), 1077-1086.

Nyberg U., Andersson B., Aspegren H. 1996 Long-term experiences with external carbon sources for nitrogen removal. *Water Sci. Technol.* 33 (12), 109-116.

Oh J., Silverstein J. 1999 Oxygen inhibition of activated sludge denitrification. *Water Res.* 33 (8), 1925-1937.

Pai S., Chong N., Chen C. 1999 Potential applications of aerobic denitrifying bacteria as bioagents in wastewater treatment. *Bioresource Technol.* 68, 179-185.

Purtschert I., Siegrist H., Gujer W. 1996 Enhanced denitrification with methanol at WWTP Zürich-Werdhölzli. *Water Sci. Technol.* 33 (12), 117-126.

Rotaetxe J. 1996 Los lodos activados en el control de una planta de tratamiento de aguas residuales. *Ingeniería Química*, Noviembre, 127-133.

Tam N. F. Y., Wong Y. S., Leung G. 1992 Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification denitrification process. *Water Res.* 26 (9), 1229-1236.

Tseng C., Potter T. G., Koopman B. 1998 Effect of influent chemical oxygen demand to nitrogen ratio on a partial nitrification/complete denitrification process. *Water Res.* 32 (1), 165-173.

Walker J. F. 1964 Formaldehyde. *American Chemical Society Monograph Series*, 3rd Ed., Reinhold Publishing Corporation, New York, Amsterdam, London.

Watson S. W., Bock E., Harms H., Koops H. P., Hooper A. B. 1989 Nitrifying bacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 8th Ed., Vol. 3, Williams and Wilkins (Eds.).

Wilén B., Balmér P. 1999 The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.* 33 (2), 391-400.

Referencias respecto a los fenoles

Almeida, M.; de Armas, Y. 2008. Evaluación preliminar de la calidad ambiental de las playas: Judío, Tenis, Allende y Buey Vaca. Matanzas. Documento presentado en el postgrado de Gestión Ambiental.

Alonso, M. C.; Puig, D.; Silgoner, I.; Graserbauer, M.; Barceló, D. (1998). "Determination of priority phenolic compounds in soil samples by various extraction methods followed by liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry". *J. Chromatography*. 823 (1-2): 231-239

Almería, Colectivo de Plataforma Solar. 2005. Aplicación de la energía solar ultravioleta al tratamiento de la contaminación por compuestos no biodegradables. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas.

Brewster, R. Q.; McEwen, W.E. 1966 *Química Orgánica*. Edición Revolucionaria (Cuarta Edición 1963).

Boyd, T.J., 1994. Identification and quantification of mono-, di- and trihydroxybenzenes (phenols) at trace concentrations in seawater by aqueous acetylation and gas chromatographic–mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography A* 662, 281– 292

Buikema, A. L., M. J. McGinniss & J. Cairns JR. 1979. Phenolics in aquatic ecosystems: a selected review of recent literature. *Mar. Environ. Res.* 2: 87-181

CEE 1983. Resolución del Consejo de 7 de febrero de 1983 relativa a la lucha contra la contaminación de las aguas. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 15/Vol 04, C46/17:99 (17-02-1983)

Environment Agency 2003 *Contaminants in Soil: Collation of Toxicological Data and Intake Values for Humans*. Phenol. R&D Publication TOX 9.

Feidieker, D., P. Kaempfer & W. Dott. 1994. Microbiological and chemical evaluation of a site contaminated with chlorinated aromatic compounds and hexachlorocyclohexanes. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 15(3-4): 265-278

Folke, J.; Birklund, J. 1986. Danish coastal levels of 2,3,4,6-tetrachlorophenol, pentachlorophenol, and total organohalogens in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Chemosphere* 15(7): 895-900

Hedges, J. I. & P. L. Parker. 1976. Land-derived organic matter in surface sediments from the Gulf of Mexico. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 40: 1019-1029

Holub, W., M. Przytocka-Jusiak, M. Blasczyk & R. Mycielski. 2000. Nitrite as agent selecting anaerobic phenol-degrading microflora in petroleum refining sediments. *Water Res.* 34(4): 1354-1358

Malato, S.; Blanco, J.; Vidal, A.; Richter, C. 2002 Photocatalysis with solar energy at a pilot – plant scale: an overview. *Applied Catalysis B. Environmental* 37, 1-15

Mbui, D.N.; Shiundu, P.M.; Ndonge R.M. and Kamau G.N. 2002. Adsorption and detection of some phenolic compounds by rice husk ash of Kenyan origin. *J. Environ. Monit.*, 4, 978–984

Merck 1983 Merck Index 10th Edition. Ed. Windholz, M.; Merck and Co., Inc. (Rahway, N.J., EE.UU.

Moreno, J.; Colin, A.; Vazquez, O. 1992. Remoción de fenoles, detergentes y coliformes presentes en aguas residuales por medio de irradiación. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 8 (I), 29-35

Ventura, F.; Rivera, J. 1986. Potential formation of bromophenols in Barcelona tap's water due to daily salt mine discharges and occasional phenol spills. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 36(2): 219-225

Wang, Y.T.; Muthukrishnan, S. 1997. Effect of acclimates on methanogenic degradation of chlorophenols. *Proceedings of the 50th Conference Industrial Waste*, p. 469

WHO. World Health Organization. 1994. International Programme on Chemical Safety Environmental Health. Criteria 161: Phenol.