



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

400282



61060

DESNITRIFICACION: PRUEBA EN LOTE CON METANO  
COMO FUENTE DE CARBONO Y ENERGIA

T E S I S

Que para obtener el título de  
B I O L O G O

Presenta  
MARIBEL QUEZADA CRUZ

BO 1160/95  
Ej. 2

17/11/60

MEXICO, D.F.

1995



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIAS**

*A MIS PADRES:*

*J. M. Rafael Quezada Carmona y Catalina  
Cruz García, que son la razón de mi vida.  
Por su cariño y dedicación, por su gran  
ejemplo de amor y de esfuerzo por las cosas  
buenas de esta vida.  
LOS QUIERO MUCHO.*

*A MI ESPOSO:*

*Andrés Baltazar Uribe, porque es lo  
mejor que me ha sucedido en la vida.  
Porque sus ganas de vivir y de hacer  
todo bien y con mucho amor, son un  
ejemplo, no solo para mí si no también  
para toda las personas.  
Andy, gracias por estar presente en mi  
vida. TE AMO.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Gracias a DIOS por hacer realidad uno de mis más grandes sueños. Gracias por todas las experiencias tan hermosas de esta etapa de mi vida y por permitirme hacer felices a mis padres a Andy y a las personas que me quieren.*

*Al Dr. Adalberto Noyola Robles  
Coordinador de Bioprocesos Ambientales  
del Instituto de Ingeniería de la UNAM, por  
compartir conmigo sus conocimientos y gran  
experiencia. Porque a su lado aprendí la  
importancia que tiene la investigación.*

*A la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez,  
por ser una verdadera amiga, que me dió  
su apoyo técnico, consejos y conocimientos.  
Gracias Gloria por tu ayuda tan valiosa.*

*A la Dra. Susana Saval Bohorquez  
por sus recomendaciones.*

*A los Ingenieros Bioquímicos, Roberto Briones Méndez y Antonio Espinoza García, por su ayuda técnica y consejos.*

*A los BECARIOS de la Coordinación de Bioprocesos Ambientales, por sus recomendaciones y por levantarme el ánimo siempre que lo necesite. En especial gracias a Ady, Lucy y Rosita.*

*A la abuelita más buena y desinteresada del mundo, Justa García González, por su gran cariño y porque siempre ha buscado mi bienestar.*

*A mis tíos, José Luis Cruz García y Teresa Ramírez de Cruz, porque siempre me dieron su mano amiga en el momento que necesité. Gracias por su ayuda espiritual tan bonita.*

*A toda mi familia, porque siempre ha estado pendiente de lo que hago.*

*Al personal de la empresa VANEQUIM, S. A. de C.V., en especial al Ing. Javier Rubio y al Lic. Roberto Domínguez, por darme el tiempo necesario para realizar los trámites de mi tesis.*

# CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	I
LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE TABLAS	IV
NOMENCLATURA	V
INTRODUCCION	VI
1 EL CICLO DEL NITROGENO Y SUS EFECTOS EN EL AMBIENTE	1
1.1. Transformación biológica del nitrógeno	1
1.1.1 Fijación	3
1.1.2 Desaminación	4
1.1.3 Asimilación	4
1.1.4 Nitrificación	5
1.1.5 Desnitrificación	5
1.2. Contaminación del agua por compuestos nitrogenados	5
1.2.1 Fuentes contaminantes de nitrógeno	5
1.2.2 El nitrógeno como contaminante	7
1.2.2.1 Nitrógeno como ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ )	7
1.2.2.2 Nitrógeno como amoniaco ( $\text{NH}_3$ )	8
1.2.2.3 Nitrógeno en forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )	8
1.2.2.4 Nitrógeno en forma de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ )	10

<b>2 PROCESOS PARA ELIMINAR NITROGENO DEL AGUA RESIDUAL</b>	12
2.1. Tratamientos biológicos	12
2.1.1 Nitrificación	13
2.1.1.1 Definición	13
2.1.1.2 Bacterias que intervienen en el proceso	13
2.1.1.3 Factores que influyen en la nitrificación	14
2.1.2 Desnitrificación	15
2.1.2.1 Definición	15
2.1.2.2 Bacterias que intervienen en el proceso	16
2.1.2.3 Factores que influyen en la desnitrificación	17
2.2. Tratamientos fisicoquímicos	20
2.2.1 Desorción de amoníaco con aire (stripping)	21
2.2.2 Intercambio iónico	21
2.2.3 Osmosis inversa	22
2.2.4 Cloración hasta el punto de quiebre	22
<b>3 SISTEMAS PARA LA REMOCION BIOLÓGICA DE NITROGENO</b>	24
3.1. Sistema BARDENPHO	24
3.2. Sistema ANANOX	26
3.3. Sistema ANAEROBIO-ANOXICO-AEROBIO A <sup>2</sup> /O	27
3.4. ANAEROBIO-ANOXICO-AEROBIO (AAA)	28

<b>4 ANTECEDENTES</b>	31
<b>OBJETIVOS</b>	36
<b>5 METODOLOGIA</b>	37
5.1. Desarrollo de una metodología para la prueba de desnitrificación en lote (Batch)	37
5.2. Condiciones de operación de las corridas realizadas	40
5.3. Técnicas analíticas	41
<b>6 RESULTADOS Y DISCUSION</b>	44
6.1. El metano como fuente de carbono y energía durante el proceso de desnitrificación	44
6.2. Influencia de la temperatura en la tasa de desnitrificación	66
6.3. Influencia de la concentración de nitratos en la tasa de desnitrificación	68
<b>CONCLUSIONES</b>	74
<b>REFERENCIAS</b>	76
<b>APENDICE 1</b>	81
<b>APENDICE 2</b>	87

## RESUMEN

Se desarrolló una metodología en lote (batch), para observar la actividad desnitrificante de un lodo.

Se utilizó metano como fuente de carbono y energía, ya que es un subproducto de la digestión anaerobia de la materia orgánica en los procesos de tratamiento anaerobio de lodos y de agua residual.

Se realizaron cinco corridas en lote, en las que se probaron cuatro temperaturas (13, 20, 27 y 30°C) y 16 concentraciones de nitratos (16, 20, 30, 40, 60, 80, 90, 100, 120, 140, 150, 200, 250, 300, 400 y 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l), para observar su influencia en el proceso de desnitrificación.

La metodología que se desarrolló es sencilla y permitió observar la actividad desnitrificante de los microorganismos presentes en el lodo.

Los resultados de las corridas mostraron que es factible utilizar metano como donador de electrones en el proceso de desnitrificación, aunque las tasas son bajas (0.16-0.52 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h) comparadas con las que se obtienen con metanol.

Durante la experimentación se observó que los microorganismos se adaptaron a la fuente de carbono y energía, obteniéndose tasas de desnitrificación más altas. Para un lodo adaptado, la tasa de desnitrificación fue de 0.52 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h (14.73 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d como actividad específica); para un lodo no adaptado, de 0.30 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h (5.0 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d como actividad específica) y para un lodo reactivado, de 0.63 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h (6.15 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d como actividad específica).

Se observó que la tasa de desnitrificación aumenta conforme se incremente la temperatura, de tal modo que la máxima tasa de desnitrificación siempre se obtuvo a 30°C.

Con respecto a la influencia de la concentración de nitratos, no se pudo observar un comportamiento claro. Con el lodo adaptado, la máxima tasa de desnitrificación se obtuvo con una concentración de 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l; para el lodo no adaptado, con una concentración de 40 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l y para el reactivado, con una concentración de 150 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l.

Este comportamiento se presentó debido a la limitación de la fuente de carbono y energía (metano) para reducir una mayor cantidad de nitratos. Además, se observó que debido a la baja solubilidad del metano, este sustrato no estuvo totalmente disponible para los microorganismos.

## LISTA DE FIGURAS

No. Figura		Pág.
1.1	Ciclo del nitrógeno (Barnes y Bliss, 1983).	2
1.2	Etapas del proceso de eutroficación.	9
2.1	Velocidad de una reacción en función de la concentración del sustrato.	20
3.1	Sistema BARDENPHO para la remoción de nitrógeno.	25
3.2	Sistema ANANOX para la remoción de nitrógeno.	26
3.3	Sistema A <sup>2</sup> /O para remoción de nitrógeno.	28
3.4	Sistema Anaerobio-Anóxico-Aerobio para la remoción de nitrógeno.	29
6.1	Evolución del gas nitrógeno a 30°C con una concentración inicial de nitratos de 30 mg/l.	48
6.2	Evolución del gas metano a 30°C con una concentración inicial de nitratos de 30 mg/l.	49
6.3	Seguimiento del gas nitrógeno a 13°C con una concentración de nitratos de 16 mg/l.	50
6.4	Seguimiento del gas metano a 13°C con una concentración de nitratos de 16 mg/l.	51

6.5	Reducción de nitratos con una concentración inicial de 60 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.	53
6.6	Reducción de nitratos con una concentración inicial de 200 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.	54
6.7	Reducción de nitratos con una concentración inicial de 500 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.	55
6.8	Actividad desnitrificante de la corrida 2.	56
6.9	Seguimiento del gas nitrógeno a 27°C con una concentración inicial de 500 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.	57
6.10	Seguimiento de gas metano a 30°C con una concentración de 500 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.	59
6.11	Comportamiento de un testigo a 27°C con una concentración inicial de 200 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.	60
6.12	Actividad desnitrificante en lote de las corridas 3 y 4.	63
6.13	Actividad desnitrificante neta de la corrida 5 (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /g SSV·d)	69

## LISTA DE TABLAS

No.Tabla		Pág.
5.1	Condiciones experimentales de operación para las pruebas de desnitrificación en lote.	42
5.2	Combinaciones de temperatura y concentración de nitratos obtenidas a partir del método Ortogonal Central Compuesto. (Primera corrida)	43
6.1	Caracterización física del lodo utilizado en las pruebas de desnitrificación en lote.	45
6.2	Resultados de la fase líquida en la corrida 1.	47
6.3	Actividad específica (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /g SSV·d) de la corrida 2.	55
6.4	Actividad desnitrificante obtenida en lote en las corridas 3 y 4.	62
6.5	Comparación de la tasa de desnitrificación en diferentes estudios.	65
6.6	Actividad desnitrificante (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /g SSV·d) con metano como fuente de carbono y energía obtenida en la corrida 5	70

## NOMENCLATURA

DQO	Demanda Química de Oxígeno
IVL	Indice Volumétrico de Lodos
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrógeno en forma de nitrato
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrógeno en forma de nitrito
N <sub>2</sub>	Nitrógeno molecular
N-NH <sub>3</sub>	Nitrógeno en forma de amoniaco
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Nitrógeno en forma de amonio
OPS	Organización Panamericana de la Salud
OMS	Organización Mundial de la Salud
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSF	Sólidos Suspendidos Fijos
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles
SSVLM	Sólidos Suspendidos Volátiles de Licor Mezclado
Tasa	Velocidad de reacción (sus unidades son mg/l·d)
psi	Unidad de presión medida en lb/pulg <sup>2</sup> o kg/cm <sup>2</sup> (1 psi equivale a 0.703 kg/cm <sup>2</sup> )

## INTRODUCCION

El nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento de plantas y microorganismos, ya que constituye entre un 12 y 14% de la proteína celular. Sin embargo, si este nutriente es liberado al medio natural, como en el caso de los efluentes de las plantas de tratamiento de agua residual, puede causar varios problemas al hombre y al medio ambiente, por lo que en ciertos casos es necesaria su eliminación en el proceso de tratamiento.

La experiencia muestra que la vía más efectiva y económica para la remoción de nitrógeno de aguas residuales domésticas es la biológica. Por este medio el nitrógeno contaminante se transforma hasta nitrógeno molecular, compuesto inocuo al medio ambiente. Dentro de la vía biológica existen dos procesos, que combinados llevan a la remoción de nitrógeno: la nitrificación y la desnitrificación.

La nitrificación es la oxidación de nitrógeno en forma de amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ) hasta nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) y nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ). Por otra parte, la desnitrificación es la reducción de los nitratos y nitritos hasta nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ), para lo cual es necesaria una fuente donadora de electrones. Por lo general se utiliza metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), ya que se obtienen altas tasas de desnitrificación, pero su costo es elevado, lo cual puede limitar su empleo a nivel industrial.

Una alternativa es utilizar el metano ( $\text{CH}_4$ ), que representa aproximadamente el 70% del biogás producido durante los procesos de tratamiento anaerobio del agua residual. Este gas con frecuencia es quemado o liberado a la atmósfera, por lo que su recuperación y empleo en un proceso de

desnitrificación resulta atractivo por que abatiría los costos de utilización de metanol al servir como fuente de carbono y energía a las bacterias desnitrificantes.

En este sentido, se han realizado varios estudios de desnitrificación a nivel continuo y lote (batch), con metanol como fuente donadora de electrones, pero los estudios con metano son muy escasos. Por lo antes expuesto, es evidente el interés económico y de investigación para estudiar el metano como fuente donadora de electrones.

# 1 EL CICLO DEL NITROGENO Y SUS EFECTOS EN EL AMBIENTE

## 1.1. TRANSFORMACION BIOLOGICA DEL NITROGENO

El nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos, ya que se utiliza para la síntesis de las proteínas, los ácidos nucleicos y otros compuestos nitrogenados como tetrapirroles y vitamina B (Barnes y Bliss, 1983). Este elemento se puede encontrar en el medio ambiente como nitrógeno orgánico y amoniacal (estado de oxidación -3), nitrógeno molecular (cero), nitrito (+3) y nitrato (+5). El estado de oxidación del nitrógeno puede variar, como resultado de la actividad metabólica de algunos microorganismos y de las transformaciones que pueden ser llevadas a cabo por medios artificiales, o por descargas eléctricas a la atmósfera (Barnes y Bliss, 1983).

Las principales transformaciones biológicas dentro del ciclo del nitrógeno se muestran en la Fig. 1.1, en donde se indican

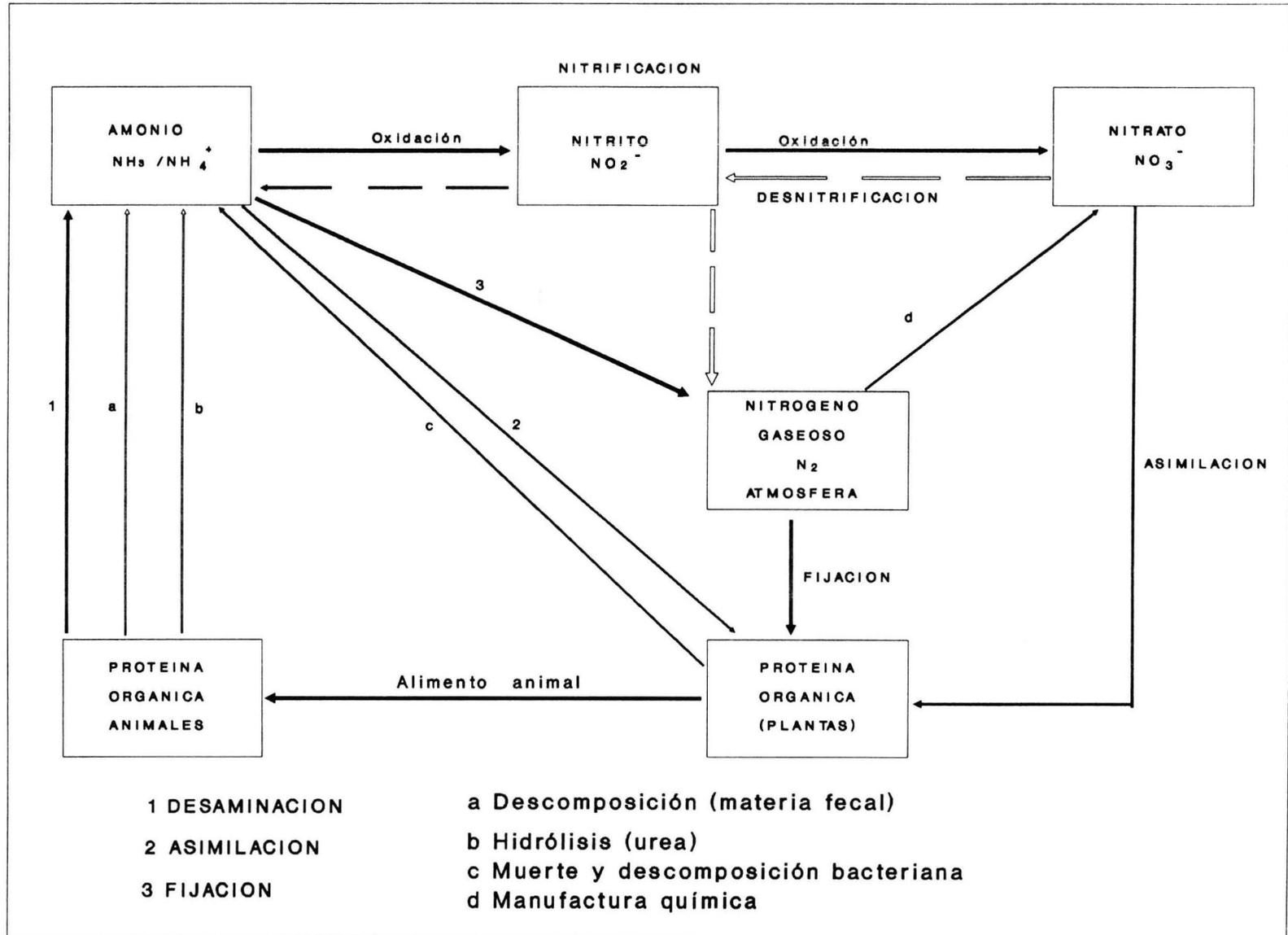


Fig. 1.1 Ciclo del nitrógeno (Barnes y Bliss, 1983)

los procesos más importantes durante el flujo del nitrógeno en la biósfera como son la fijación, desaminación (amonificación), asimilación, nitrificación y desnitrificación (Barnes y Bliss, 1983).

### 1.1.1 Fijación.

El gas nitrógeno ( $N_2$ ) es fijado directamente de la atmósfera por 2 grupos de microorganismos de vida libre, 1) bacterias no simbióticas como *Azotobacter* y *Clostridium*, y 2) algas verde-azules como *Anabaena* y *Nostoc* (Mitchell, 1974).

Otra forma de fijación del nitrógeno es por medio de la asociación de bacterias del género *Rhizobium* con plantas leguminosas como el chícharo, frijol, trébol y alfalfa. Esta asociación se presenta cuando estas bacterias invaden las raíces de esas plantas, formando nódulos radiculares, variedad de tumor inofensivo. En ellos hacen el nitrógeno aprovechable para la planta y, a su vez, las bacterias utilizan los nutrientes procedentes de los tejidos de las plantas para su crecimiento y reproducción. Es por lo tanto un proceso en el que tanto las plantas como las bacterias se benefician de la asociación (Barnes y Bliss, 1983).

El primer producto importante de la fijación, por medio de estos microorganismos, es el amoniaco ( $NH_3$ ) que puede utilizarse por otras formas de vida ya sea directamente o después de su conversión en otros compuestos solubles, tales como los nitritos, nitratos o aminoácidos.

Una vez que el nitrógeno es fijado, las plantas lo utilizan para convertirlo en proteínas vegetales. A su vez, las plantas son comidas por los animales y se forman proteínas animales. En ambos casos, las proteínas son susceptibles de

ser aprovechadas por organismos superiores en la cadena alimenticia.

#### 1.1.2 Desaminación.

Se conoce también como mineralización o amonificación y consiste en la degradación de los compuestos orgánicos hasta compuestos inorgánicos (amoníaco).

Esta reacción bioquímica se da en la materia fecal animal, en los tejidos muertos de plantas y animales, durante la respiración endógena para la subsistencia de células bacterianas y por la muerte y lisis celular. La urea también es una fuente importante para la formación de amoníaco (Barnes y Bliss, 1983).

Los compuestos mineralizados con mayor frecuencia son las proteínas, las cuales sufren una ruptura que da como resultado la liberación de aminoácidos; éstos sufren una desaminación y producen  $\text{NH}_4^+$ . En la degradación de estas proteínas el carbono orgánico puede servir como energía y para la síntesis de substratos (Barnes y Bliss, 1983).

#### 1.1.3 Asimilación.

Es la incorporación del amonio o nitrato al tejido celular, mediante la síntesis de aminoácidos que posteriormente son polimerizados en proteínas. Los iones amonio pueden ser asimilados por numerosas plantas y muchos microorganismos.

Los nitratos son asimilados después de su reducción a  $\text{NH}_4^+$  por pocas especies bacterianas y por casi todas las especies de algas verde azules (Atlas y Bartha, 1993).

#### 1.1.4 Nitrificación.

Este proceso se realiza en dos etapas, en la primera se oxida el amonio a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y en la segunda se oxida el nitrito hasta nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). La liberación de energía en esta oxidación se emplea para la síntesis de material celular a partir de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ).

#### 1.1.5 Desnitrificación.

En ausencia de un adecuado suministro de oxígeno molecular ( $\text{O}_2$ ) disuelto para usar en la respiración, muchas bacterias heterótrofas son capaces de reducir el nitrato hasta nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ), el cual es liberado a la atmósfera. En el capítulo siguiente se hablará con más detalle de estos dos últimos procesos (Barnes y Bliss, 1983).

### 1.2. CONTAMINACION DEL AGUA POR COMPUESTOS NITROGENADOS

#### 1.2.1 Fuentes de contaminación de nitrógeno

Los residuos de nitrógeno más importantes son los que generan los sectores de la industria química que fabrican y utilizan compuestos de nitrógeno, así como los residuos humanos, los de animales y los de la industria procesadora de alimentos (Winkler, 1986).

Las fuentes de productos nitrogenados se dividen en naturales y artificiales.

## Fuentes naturales

Una enorme cantidad de nitrógeno del aire se convierte en compuestos asimilables de nitrógeno por medio de la llamada "fijación de nitrógeno", que realizan las bacterias fijadoras de nitrógeno. Además, durante las tormentas, grandes cantidades de nitrógeno son oxidadas a pentóxido de nitrógeno ( $N_2O_5$ ), y éste al unirse con el agua produce ácido nítrico ( $HNO_3$ ), el cual es transportado por la lluvia hasta los cuerpos receptores (Winkler, 1986).

## Fuentes artificiales

### a) Fertilizantes.

Generalmente se utilizan fertilizantes para aumentar la producción de los cultivos. Sin embargo, debido a que los fertilizantes artificiales se componen de amonio, nitratos y urea, además de distintos elementos químicos como calcio, potasio, y sodio, se provoca un arrastre de nitrógeno por las aguas pluviales, lo que causa un problema de contaminación.

### b) Desechos municipales.

Las descargas de los desechos municipales también representan una fuente importante de compuestos de nitrógeno que al depositarse en las aguas superficiales, aceleran el proceso natural de enriquecimiento (eutroficación). La cantidad anual de nitrógeno en desechos humanos se estima en 5 kg por persona (OPS y OMS, 1980; citados por Rubio, 1988).

### c) Excretas animales.

Las excretas de animales contienen grandes cantidades de sustancias nitrogenadas susceptibles de convertirse en nitratos. Por ejemplo, un novillo de 450 kg excreta alrededor de 43 kg de nitrógeno por año.

La ganadería en pastizales o con retorno de las excretas a las tierras de cultivo, puede crear problemas ya que sólo el 10% se incorpora a la tierra y el nitrógeno restante es arrastrado por la lluvia.

### d) Descargas industriales.

Las fuentes más importantes de contaminación con residuos nitrogenados son los sectores de la industria, debido a que el amoníaco y el ácido nítrico son productos químicos clave. Las descargas con mayor contenido de nitrógeno provienen principalmente de las industrias de alimentos, productoras de fertilizantes, procesadoras de carne y leche, refinerías de petróleo, algunas plantas de fibras sintéticas e industrias que limpian con compuestos que contienen amoníaco (WPCF, 1983).

## 1.2.2 El nitrógeno como contaminante

### 1.2.2.1 Nitrógeno como ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ).

El nitrógeno, como ion amonio o como amoníaco libre ( $\text{NH}_3$ ), es el contaminante que se encuentra con mayor frecuencia, ya que además de ser un producto natural de descomposición, es un producto industrial muy importante. Su olor es muy desagradable, y a concentraciones por arriba de 0.5 mg/l causa irritación de los conductos respiratorios del hombre.

Otro problema que produce el amonio es que ejerce una alta demanda de oxígeno en las corrientes de agua, pues se necesitan 4.57 mg de oxígeno para oxidar cada gramo de  $N-NH_4^+$  (Barnes y Bliss, 1983).

#### 1.2.2.2 Nitrógeno como amoniaco ( $NH_3$ ).

En solución acuosa, el amoniaco es tóxico para la fauna acuática. Los peces expuestos a niveles de amoniaco de  $1\text{ g/m}^3$  se pueden asfixiar como resultado de una significativa reducción de la capacidad de combinación del oxígeno en la sangre. Se ha observado que son letales concentraciones de  $3\text{ g/m}^3$  para percas, gobidos y truchas arcoiris durante un período de 2 a 20 horas, y de  $2.5\text{ g/m}^3$  para peces dorados, durante un período de 24 a 96 horas (WPCF, 1983).

Por otra parte, el amoniaco reduce la efectividad de la cloración, la cual se usa ampliamente como una etapa final del tratamiento de agua residual para eliminar trazas de materia orgánica, incluyendo microorganismos (WPCF, 1983).

La actividad desinfectante de la cloración resulta del ácido hipocloroso no ionizado ( $HClO$ ), formado por la reacción del cloro con el agua. El ácido hipocloroso reacciona con el amoniaco para formar cloraminas, que son mucho menos efectivas como desinfectantes (Winkler, 1986).

#### 1.2.2.3 Nitrógeno en forma de nitrato ( $NO_3^-$ ).

La eutroficación es un proceso natural de los lagos por enriquecimiento de nutrientes. Sin embargo, este proceso natural se ha visto acelerado en aquellos cuerpos de agua en

donde hay aporte continuo, y en altas concentraciones, de nutrientes como el nitrógeno ( $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ ) y el fósforo ( $\text{PO}_4^-$ ). Para llegar al estado de lagos eutróficos es necesario pasar por varias etapas, una llamada oligotrófica; la cual se caracteriza por tener una productividad baja debido a que la carga de nutrientes es pequeña. Posteriormente, pasan por un estado mesotrófico, que presenta la carga más grande de nutrientes, y al final un estado eutrófico, en donde hay una productividad abundante debido a la alta concentración de nutrientes (Fig. 1.2).

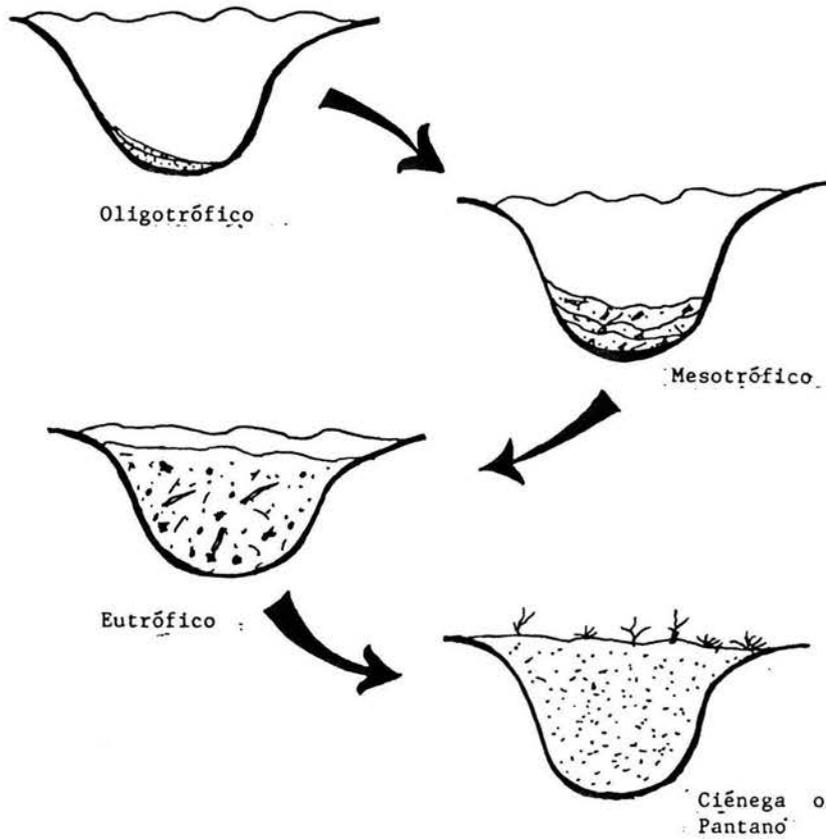


Fig. 1.2 Etapas del proceso de eutrofización

En el estado eutrófico, debido al gran aporte de nutrientes, aparece un crecimiento excesivo de algas conocido como florecimiento algal. Esto trae como consecuencia que durante la noche, las algas utilicen el oxígeno para obtener energía a partir de la ruptura oxidativa de compuestos sintetizados previamente (Margalef, 1989).

Estas fluctuaciones de oxígeno disuelto son perjudiciales para las diversas formas de vida en el lago, en especial para los peces. Con el tiempo mueren y se depositan en el fondo del lago, en donde se descomponen, restandole profundidad a los cuerpos acuíferos y dando lugar a una ciénega o pantano (Mitchell, 1974; WPCF, 1983).

#### 1.2.2.4 Nitrógeno en forma de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ).

En adultos sanos, los nitratos y nitritos son absorbidos rápidamente por el sistema gastrointestinal y excretados por el riñón. Sin embargo, en el sistema digestivo de todos los infantes el pH es alcalino debido a que no han desarrollado ácido clorhídrico en sus jugos gástricos. Estas condiciones alcalinas permiten que se desarrollen bacterias nitrorreductoras que reducen los nitratos a nitritos antes de que los primeros puedan ser absorbidos. Los nitritos formados provocan una enfermedad llamada metahemoglobinemia, pues son reoxidados a nitrato utilizando el hierro de la hemoglobina como agente oxidante. De este modo la hemoglobina se transforma en metahemoglobina, la cual adquiere un color café y es incapaz de transportar oxígeno, lo que provoca la asfixia en lactantes (Horan, 1991).

La metahemoglobinemia también se conoce como cianosis infantil o síndrome del bebé azul.

En los adultos esta metahemoglobina se convierte en oxihemoglobina por la acción de los sistemas reductores como la NADH metahemoglobina reductasa( Mitchell, 1974; Winkler, 1986).

Por otra parte, al utilizar agua con nitritos para preparar alimentos, se corre el riesgo de que formen sustancias carcinogénicas denominadas nitrosaminas, a través de la combinación con los compuestos de nitrógeno orgánico que se forman a su vez por la descomposición de las proteínas presentes en los alimentos (Winkler, 1986).

## 2 PROCESOS PARA ELIMINAR NITROGENO DEL AGUA RESIDUAL

### 2.1. TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

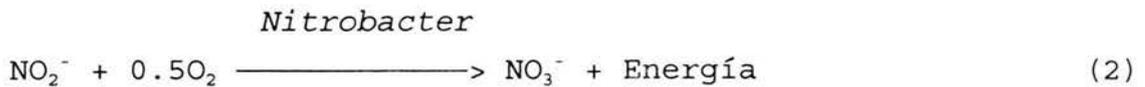
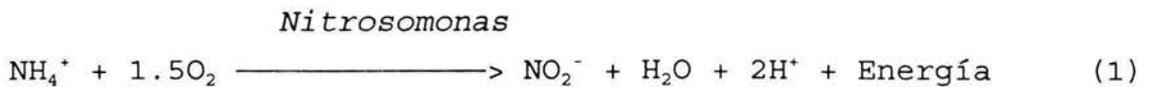
En la actualidad, se considera que el sistema biológico combinado de nitrificación-desnitrificación es el proceso más adecuado para la remoción de nitrógeno, debido a que presenta varias ventajas: 1) tiene elevadas eficiencias de remoción 2) es un proceso altamente estable 3) se controla con relativa facilidad 4) con bajos requerimientos de área y 5) costos moderados (Metcalf y Eddy, 1985).

La remoción de nitrógeno a través de un proceso de nitrificación-desnitrificación se realiza en dos etapas. En la primer etapa el amonio es oxidado hasta nitratos (nitrificación) y en la segunda los nitratos son reducidos hasta nitrógeno molecular (desnitrificación).

## 2.1.1 Nitrificación

### 2.1.1.1 Definición

La nitrificación es la oxidación biológica del nitrógeno amoniacal en nitratos. La reacción se lleva a cabo en dos pasos de acuerdo con las siguientes ecuaciones.



La energía liberada en estas reacciones es usada por los organismos autótrofos nitrificantes en la síntesis de sus compuestos orgánicos a partir de fuentes de carbono inorgánico tales como dióxido de carbono, bicarbonato y carbonato.

### 2.1.1.2 Bacterias que intervienen en el proceso

Las bacterias nitrificantes pertenecen a los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, que se caracterizan por ser aerobias obligadas, gram negativas y no formar esporas. Son autótrofas, aunque existen microorganismos heterótrofos de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nocardia* y *Streptomyces* que son capaces de efectuar la nitrificación.

El primer paso de la nitrificación es la oxidación del amonio hasta nitritos (Ec.1), realizado por bacterias del género *Nitrosomonas* y la especie aislada con más frecuencia de los

sistemas de tratamiento de aguas residuales es *Nitrosomonas europaea* (Barnes y Bliss, 1983; Winkler, 1986).

La oxidación de nitrito a nitrato (Ec. 2) es efectuada por bacterias del género *Nitrobacter* y la especie identificada en los sistemas de tratamiento de aguas residuales es *Nitrobacter agilis* (Barnes y Bliss, 1983).

#### 2.1.1.3 Factores que influyen en la nitrificación

##### pH y Temperatura

La mayoría de los estudios muestran un intervalo de pH óptimo para la nitrificación de 7.5 a 8.0, y lo identifican como un factor muy importante debido a que la nitrificación consume carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (WPCF, 1983).

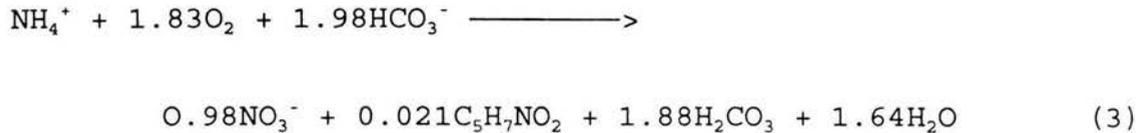
En cuanto a la temperatura, se ha observado que el proceso se realiza en un intervalo de 5 a 40°C con un óptimo de 30°C.

##### Oxígeno disuelto

Para que se realice el proceso de nitrificación es necesario la presencia de oxígeno. Barnes y Bliss (1983) reportan que se necesita una concentración mayor a 4.0 mg/l de oxígeno disuelto para realizar una nitrificación con alta eficiencia, mientras que Stenstrom y Poduska, (1979) mencionan que se obtiene una alta nitrificación con una concentración de oxígeno disuelto en un intervalo de 0.5 a 1.0 mg/l, y que la concentración más baja a la que se realiza el proceso, es de 0.3 mg/l.

## Alcalinidad

Durante la oxidación del amonio existe un consumo de carbonato de calcio (Ec. 3), se ha calculado que se requiere de 7.14 mg de alcalinidad como carbonato de calcio por cada mg de nitrógeno amoniacal oxidado (Barnes y Bliss, 1983).



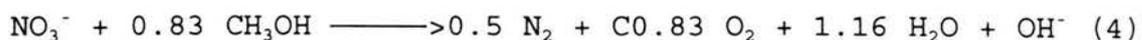
## Inhibición

La nitrificación puede inhibirse por una gran variedad de compuestos químicos orgánicos e inorgánicos. Sin embargo, algunos compuestos son más tóxicos para *Nitrobacter* y *Nitrosomonas*, entre los que se encuentran el clorato de potasio, cianato de sodio, sulfato de hidrazina y azida de sodio (Barnes y Bliss, 1983). Por otra parte, se encontró que compuestos como glucosa, glicerol y acetato no son tóxicos para *Nitrosomonas* aunque la peptona a concentraciones de 1 y 10 mg/l reducen la tasa de crecimiento a 25 y 60% respectivamente (WPCF, 1983).

### 2.1.2 Desnitrificación

#### 2.1.2.1 Definición

La desnitrificación es un proceso anóxico en el que se reduce el nitrógeno oxidado ( $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ ) hasta nitrógeno molecular, de acuerdo con la Ec. 4 (Knowles, 1982; Jiménez, 1986).



Existen tres formas de reducción de nitrógeno.

a) Reducción asimilativa. Es la formación de compuestos amoniacales a partir de nitratos y nitritos y su transformación posterior en material celular.

b) Reducción por desasimilación incidente. Esta reacción bioquímica sucede bajo condiciones muy específicas y es la reducción de los nitratos a nitritos.

c) Reducción por desasimilación. De los tres mecanismos, éste se considera como desnitrificación verdadera, y es la reacción bioquímica mediante la cual los microorganismos transforman el nitrógeno oxidado ( $\text{N-NO}_3^-$ ) en nitrógeno molecular (Jiménez, 1986; Akunna et al., 1992).

#### 2.1.2.2 Bacterias que intervienen en el proceso

Las bacterias desnitrificantes son heterótrofas en su mayoría con algunas especies autótrofas y realizan la reducción de nitratos por desasimilación. Una gran variedad de bacterias anaerobias facultativas, entre las que se incluyen *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Spirillum*, *Staphylococcus* y *Vibrio* reducen los nitratos bajo condiciones anaerobias a nitritos. Además, bajo condiciones apropiadas, algunos de estos géneros reducen nitritos vía hidroxilamina a amonio (nitrato amonificación). Estos organismos no producen compuestos

nitrogenados gaseosos, es decir, no desnitrifican (Mitchell, 1974).

Las bacterias nitrato reductoras desnitrificantes tales como *Paracoccus denitrificans*, *Thiobacillus denitrificans*, y varias *Pseudomonas* tienen una ruta de reducción más completa, en la que convierten nitrato a nitrógeno molecular a través de nitrito, óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N<sub>2</sub>O). En el suelo los principales géneros desnitrificantes son *Pseudomonas* y *Alcaligenes*; otros géneros adicionales, tales como *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas* y *Propionibacterium* también son considerados como desnitrificantes (Knowles, 1982; Atlas y Bartha, 1993).

#### 2.1.2.3 Factores que influyen en la desnitrificación

La desnitrificación es afectada por diversos factores químicos y ambientales como el pH, la temperatura, la concentración de oxígeno, la fuente de carbono y la concentración de nitratos (Knowles, 1982; Timmermans y Van Haute, 1983; Jiménez, 1986).

##### pH.

El intervalo de pH adecuado para la desnitrificación es de 6.5 a 7.5, con un óptimo cercano a la neutralidad (Dawson y Murphy, 1973; Ressel et al., 1978). Por si misma, la desnitrificación es una reacción que provoca el aumento de alcalinidad, como se observa en la Ec.4 basada en la reducción total de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> con metanol como fuente de energía (Jiménez, 1986).

### Temperatura.

La mayor tasa de desnitrificación se obtiene en el intervalo de 35 y 50°C y la velocidad de reacción se incrementa por un factor de 1.5 a 2 por cada 10°C, entre 5 y 15°C de acuerdo con Dawson y Murphy (1973).

### Concentración de oxígeno.

A la fecha, no existe un criterio unificado respecto a la adecuada concentración de oxígeno para el proceso de desnitrificación. Algunos autores reportan que la concentración de oxígeno debe ser inferior a 0.5 mg/l para que se lleve a cabo la desnitrificación en cultivos en suspensión (Henze y Harremoos, 1977 citados por Werner y Kayser, 1990).

Jiménez (1986) reporta que es necesario una concentración de oxígeno disuelto en un sistema de biomasa fija inferior a 1 mg/l para obtener rendimientos de desnitrificación superiores al 90%.

Por el contrario, Hamer y Mechsner (1984) citados por Werner y Kayser (1990) muestran que no hay inhibición de la desnitrificación en presencia de concentraciones elevadas de oxígeno disuelto (superior a 6.4 mg/l).

### Fuente de carbono.

En el proceso de desnitrificación, los nitratos y nitritos actúan como aceptores de electrones, por lo que son necesarios los donadores de electrones.

De acuerdo al origen de la fuente de carbono el proceso de

desnitrificación se puede clasificar en proceso con fuente externa de carbono y proceso con fuente interna de carbono.

Proceso con fuente externa de carbono. En este proceso la fuente de carbono es añadida al agua que se va a desnitrificar. Muchos compuestos orgánicos como carbohidratos, alcoholes y sales de ácidos orgánicos, pueden servir como fuente de carbono para las bacterias desnitrificantes. Sin embargo, el compuesto empleado con mayor frecuencia es el metanol, debido a que se obtienen altas tasas de reducción de nitratos (Grabinska-Loniewska et al., 1985; Jiménez, 1986; Keisuke y Polprasert, 1989 y Knowles, 1982).

Proceso con fuente interna de carbono. Este tipo de fuente de carbono puede provenir de los compuestos liberados durante la respiración endógena. En este caso, la desnitrificación depende de la rapidez con la cual se utilice el material celular, por esta razón en la práctica es un proceso muy lento.

Otra posibilidad es que la fuente de energía sea precisamente el agua a tratar (Rubio, 1988).

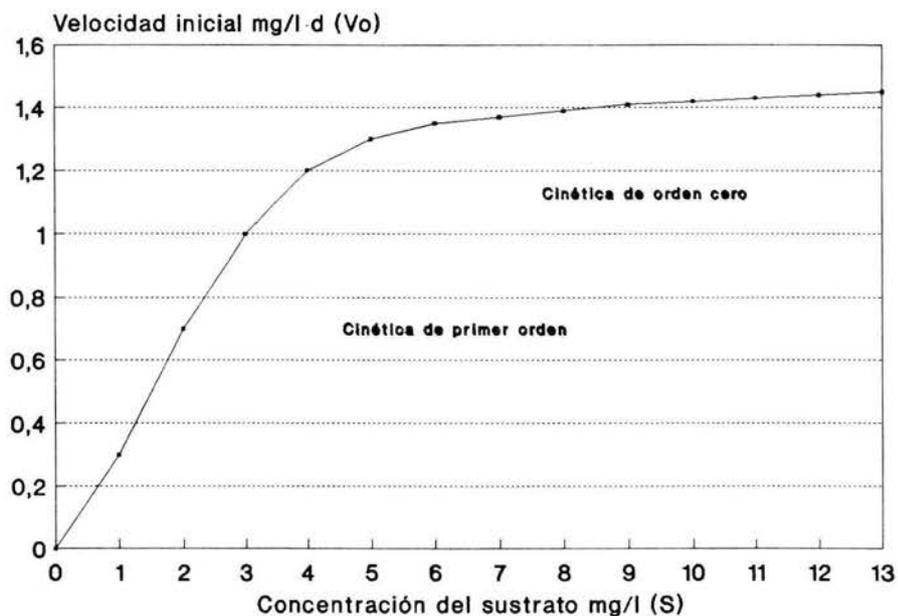
### Concentración de nitratos

La velocidad de desnitrificación puede describirse mediante la ecuación de Monod, en la cual la constante de velocidad media (Michaelis-Menten) es de  $0.08 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}$ . Así, teóricamente para concentraciones superiores a  $0.5 \text{ mg/l}$  la reacción es de orden cero en relación con la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$ . Es decir, que la velocidad de la reacción es independiente de la concentración del reactivo (Fig. 2.1).

Se ha observado que a concentraciones superiores a los 1700 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l se observa inhibición de la desnitrificación (Francis y Hancher, 1981 citados por Winkler, 1986).

### Inhibición de la desnitrificación.

Se reporta que hay inhibición con concentraciones de níquel de 0.5 g/m<sup>3</sup> y que el metanol es inhibitorio hasta llegar a concentraciones de 15 kg/m<sup>3</sup> (Francis y Hencher, 1981 citados por Winkler, 1986).



**Fig. 2.1 Velocidad de una reacción en función de la concentración del sustrato (Lehninger, 1988)**

## **2.2. TRATAMIENTOS FISICOQUIMICOS**

Actualmente los procesos biológicos para el tratamiento de

aguas residuales son ampliamente utilizados. Sin embargo, los procesos fisicoquímicos pueden ser técnica y económicamente factibles en algunas situaciones. Entre los principales procesos fisicoquímicos para la remoción de nitrógeno se encuentran, la desorción de amoniaco con aire (stripping), el intercambio iónico, la ósmosis inversa y la cloración hasta el punto de quiebre (Rubio, 1988).

#### 2.2.1 Desorción de amoniaco con aire (stripping)

Es un proceso de transferencia de masa, que consiste en alcalinizar el agua residual para aumentar el pH y así convertir el ion amonio a amoniaco.

El efluente con amoniaco se pasa a través de una torre desorbedora, empacada o de platos, en la que el amoniaco es transferido a una corriente de aire que fluye a contracorriente del agua. El amoniaco puede recuperarse en otra columna desorbedora por medio de una disolución ácida (Winkler, 1986).

Este proceso presenta algunos problemas, como la formación de incrustaciones de carbonato de calcio dentro de la torre y conductos de alimentación, así como bajo rendimiento al operar a bajas temperaturas (Metcalf y Eddy, 1985).

#### 2.2.2 Intercambio iónico

Para realizar intercambio iónico se requiere un material de intercambio que sea altamente selectivo. Se ha observado que la clinoptilolita, zeolita natural, es suficientemente selectiva para la remoción de iones amonio. Una vez que la

zeolita se agota, es regenerada con una disolución de cloruro de sodio (NaCl).

Los costos principales de este método se deben a que la regeneración del material de intercambio y la solución regenerativa necesitan un tratamiento adicional para remover los iones amonio recuperados (Winkler, 1986; Rubio, 1988).

### 2.2.3 Osmosis inversa

Es un proceso en el que el agua se separa de las sales disueltas mediante su filtración a través de una membrana semipermeable, a una presión mayor que la osmótica causada por las sales disueltas en el agua residual.

Los componentes básicos de una unidad de ósmosis inversa son la membrana, una estructura de soporte para la misma, un tanque y una bomba de alta presión. El acetato de celulosa y el nylon han sido utilizados como materiales para la membrana.

Las limitaciones fundamentales de la ósmosis inversa son su costo elevado y una carencia de experiencia en el tratamiento de aguas residuales domésticas (Metcalf y Eddy, 1985).

### 2.2.4 Cloración hasta el punto de quiebre

Este método consiste en la adición de cloro al agua residual para oxidar el amonio a cloraminas y posteriormente a nitrógeno molecular. El punto de ruptura se encuentra al lograr la neutralización de amonio y se tiene un incremento en la concentración de cloro libre (Reynolds, 1982). Sin embargo, al añadir cloro a un agua residual, las sustancias fácilmente oxidables tales como hierro ( $Fe^{++}$ ), manganeso ( $Mn^{++}$ ), sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) y la materia orgánica

reaccionan con el cloro, lo que provoca que la mayor parte se reduzca a ion cloro. Posteriormente, el cloro reacciona con el amoníaco para formar cloraminas. Algunas cloraminas se convierten en tricloruro de nitrógeno, mientras que las restantes se oxidan a óxido nitroso y nitrógeno molecular.

Con este sistema, además de eliminar el nitrógeno se desinfecta el agua, sin embargo, se incrementan los sólidos disueltos y el cloro tiene un alto costo (Winkler, 1986).

### **3 SISTEMAS PARA LA REMOCION BIOLOGICA DE NITROGENO**

Se han diseñado muchas configuraciones de sistemas para la remoción biológica de nitrógeno; en todas estas se incluyen alternativas con zonas de tratamiento anaerobias, anóxicas y aerobias.

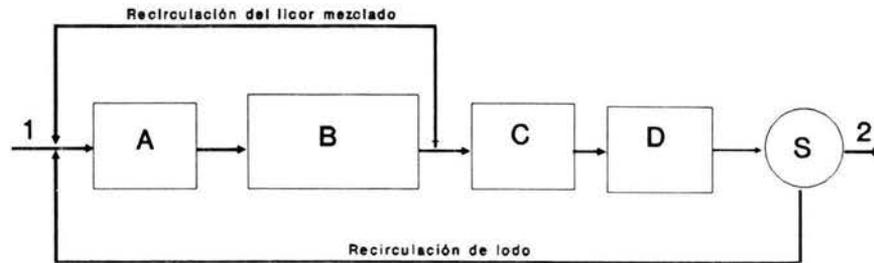
Dentro de las configuraciones que se proponen para la remoción de nitrógeno, destacan el sistema Bardenpho, Ananox, Anaerobio-Anóxico-Aerobio (A<sup>2</sup>/O) y AAA.

#### **3.1. SISTEMA BARDENPHO**

El sistema típico de estas configuraciones es el de 4 etapas llamado Bardenpho (ver Fig. 3.1). Este tipo de sistemas

utiliza el carbono del agua residual así como el endógeno para llevar a cabo la desnitrificación.

### SISTEMA BARDENPHO



- |  |              |
|--|--------------|
| A) Reactor anóxico (desnitrificador)         | 1) INFLUENTE |
| B) Reactor aerobio (oxidación-nitrificación) | 2) EFLUENTE  |
| C) Reactor anóxico                           |              |
| D) Segundo reactor aerobio                   |              |
| S) Sedimentador                              |              |

**Fig. 3.1 Sistema BARDENPHO para la remoción de nitrógeno**

El agua residual a tratar entra en una zona anóxica, en la cual se realiza la desnitrificación. En esta etapa, la tasa de desnitrificación es muy rápida debido a que se utiliza como fuente de carbono y energía el carbono presente en el agua residual. En la siguiente zona (aerobia) el amonio es nitrificado y el licor mezclado se recircula a la primer zona anóxica. Posteriormente, el agua pasa a una segunda zona anóxica, en la que se realiza una desnitrificación adicional. En este caso es una reacción lenta debido a que se utiliza una fuente de carbono endógena (Metcalf y Eddy, 1985; Horan, 1991).

Previo al sedimentador, se encuentra una segunda zona aerobia que permite la liberación del gas nitrógeno formado durante la desnitrificación y una mejor estabilización del lodo. En esta zona se nitrifica el amonio liberado de los lodos de la segunda zona anóxica (Horan, 1991; Sedlak, 1991).

### 3.2. SISTEMA ANANOX

Este sistema consta de un reactor anaerobio con 3 cámaras de flujo ascendente, en el que se realiza la fase anaerobia y anóxica (Ver Fig. 3.2). La tercer cámara esta empacada con material de poliuretano para aumentar la retención de sólidos biológicos bajo condiciones de altas tasas de flujo.

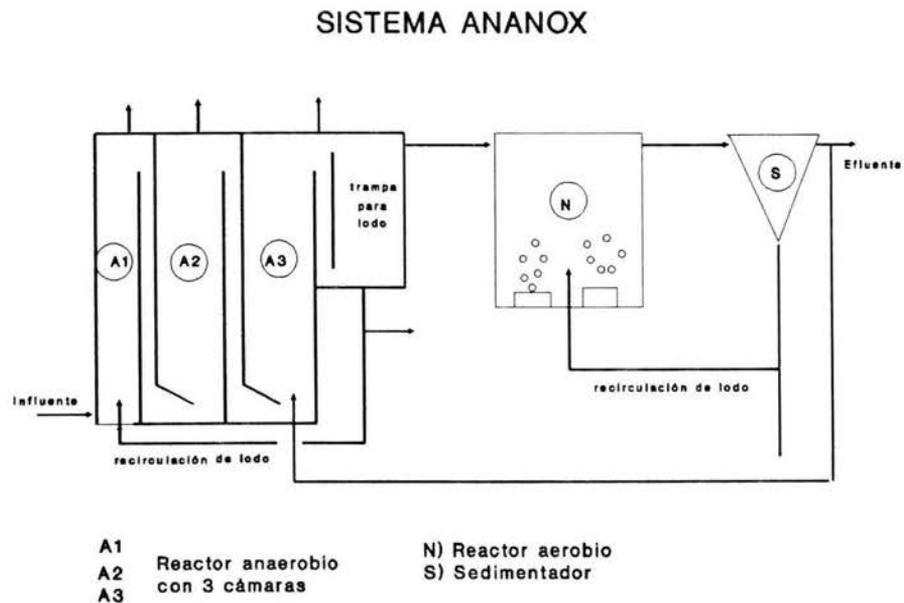


Fig. 3.2 Sistema ANANOX para la remoción de nitrógeno

Posteriormente se tiene un tanque de oxidación, en el que se realiza la nitrificación y un clarificador.

El efluente clarificado es parcialmente recirculado a la zona anóxica para su desnitrificación, mientras el lodo almacenado es recirculado al tanque aerobio (Garuti et al., 1991).

El proceso se ha utilizado en el tratamiento de aguas residuales municipales y ha demostrado una eficiencia del 89.6 % de remoción de DQO, 89.2 % de SST, 92 % de remoción de nitrógeno en forma amoniacal, 63% de nitrógeno en forma de nitrato y una producción de lodos de solo 0.2 Kg SST/Kg DQO removida. Este último valor es aproximadamente 50% menor si se compara con el proceso tradicional de nitrificación-desnitrificación (Garuti et al., 1991).

### **3.3. SISTEMA ANAEROBIO-ANOXICO-AEROBIO A<sup>2</sup>/O**

El sistema (A<sup>2</sup>/O) está constituido por tres zonas, una anaerobia, después una anóxica y al final una aerobia (Fig. 3.3).

En la primer zona, se lleva a cabo la remoción de la mayor parte de la materia orgánica, y el influente es mezclado, por medio de una recirculación, con el lodo activado que se obtiene al final del proceso.

En el segundo reactor (anóxico), se recircula el licor mezclado de la zona aerobia, de modo que las bacterias desnitrificantes realicen la reducción de los nitratos hasta nitrógeno molecular.

En este caso utilizan la DBO remanente del influente como fuente de carbono.

En la tercer zona, que es la aerobia, se oxida el nitrógeno a nitrato (nitrificación), y hay remoción de fósforo vía los lodos de purga.

## SISTEMA A<sup>2</sup>/O

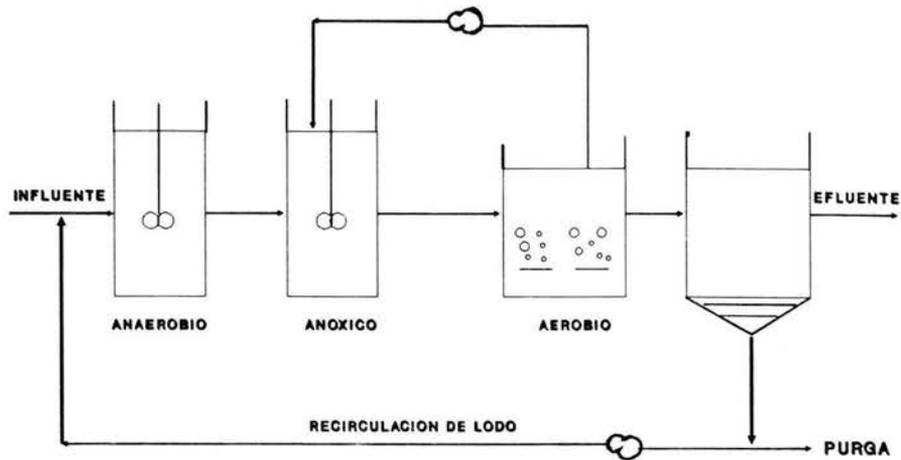


Fig. 3.3 Sistema A<sup>2</sup>/O para la remoción de nitrógeno

La característica más notable del sistema A<sup>2</sup>/O es la alta tasa de operación. Este sistema comparado con el sistema Bardenpho modificado, tiene un tiempo de retención de sólidos relativamente corto y una alta tasa de carga orgánica, de tal manera que se obtiene un incremento en la producción de lodo y por lo tanto una tasa de remoción de fósforo relativamente alta. Con este sistema se puede remover del 40 al 70 % de nitrógeno (Horan, 1991; Sedlak, 1991).

### 3.4. SISTEMA ANAEROBIO-ANOXICO-AEROBIO (AAA)

Es un sistema biológico de reciente desarrollo en México, que consta de un reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente (UASB), un reactor anóxico tipo UASB y un reactor nitrificador con biomasa fija (filtro sumergido), como se observa en la Fig. 3.4 (Morgan-Sagastume *et al.*, 1994).

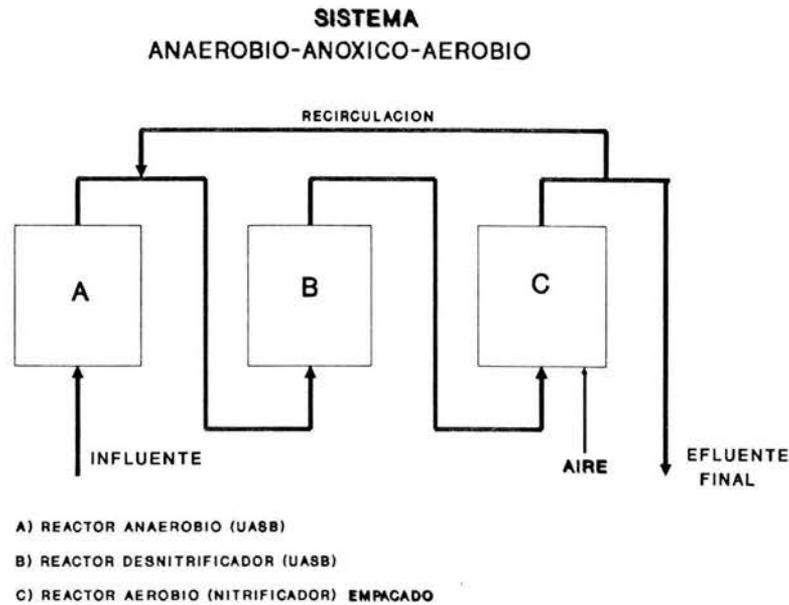


Fig. 3.4 Sistema Anaerobio-Anóxico-Aerobio para la remoción de nitrógeno

En el reactor anaerobio se degrada la materia orgánica hasta compuestos tales como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  y  $\text{NH}_3$ . En los reactores aerobio y anóxico se remueve el nitrógeno mediante los procesos de nitrificación y desnitrificación respectivamente.

En este tren los reactores están físicamente separados y son de tipo biomasa fija, a diferencia de los procesos anteriores, lo que hace que el arranque, la operación y el mantenimiento sean sencillos.

Conforme al diseño de un reactor UASB tanto el reactor anaerobio como el reactor desnitrificador tienen en la parte superior un sistema de separación sólido-líquido-gas, lo cual evita el arrastre de sólidos suspendidos por el efluente y favorece la evacuación de biogás formado.

El reactor nitrificador está empacado, y en la parte inferior se localiza el sistema distribuidor de aire para la oxigenación del medio. El proceso remueve el 80 % de carbono orgánico total (COT), el 62 % de nitrógeno y 90 % de SST.

La diferencia del sistema de tratamiento anaerobio-anóxico-aerobio con otros procesos radica en que la mayoría poseen el sistema de remoción de nitrógeno en lodos activados con zona anóxica, esto genera el uso de sedimentadores y de recirculación de lodo, lo cual eleva el costo del sistema de tratamiento (Morgan-Sagastume et al., 1994).

## 4 ANTECEDENTES

Entre los trabajos dirigidos al estudio de la influencia de la temperatura en el proceso de desnitrificación, está el que llevaron a cabo Dawson y Murphy (1971) en pruebas en lote con citrato de sodio como fuente de carbono y energía. Estos autores obtuvieron una tasa máxima de desnitrificación de 0.013 y 0.16 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/mg SSV·h a 5 y 27°C respectivamente.

En otro estudio efectuado por Lewandoswki (1982), se probaron tres fuentes de carbono en un proceso de desnitrificación en lote con 7 diferentes temperaturas (2.5, 5, 10, 15, 25, 30 y 35°C). Las fuentes de carbono utilizadas fueron metanol, acetona y ácido acético.

Lewandoswki observó que existe una relación lineal entre la tasa de reacción específica y la temperatura, así como también, que la tasa de desnitrificación con ácido acético a 5°C era aproximadamente la misma que a 23°C sin adición de fuente de carbono.

La tasa de desnitrificación más alta se obtuvo con ácido acético, seguida de la obtenida con metanol. Con acetona, la

tasa de desnitrificación fue pequeña, semejante a la obtenida sin adición de fuente de carbono.

Con respecto a la influencia de la concentración de nitratos en la desnitrificación, no se han reportado trabajos. Sin embargo, Grabinska-Loniewska *et al.* (1985) realizaron un estudio en un reactor tipo UASB, a nivel laboratorio, con cargas de nitratos de 220, 670 y 1330 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·d; como fuente de carbono utilizaron glicerol.

De acuerdo con sus resultados, las máximas eficiencias de remoción de nitrógeno, del 97 y 85%, se obtuvieron con las cargas de 220 y 1330 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/mg·d, respectivamente. En sus condiciones mencionan que es necesaria una relación C:N igual a 1 (con C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-(OH)<sub>3</sub> como carbono y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como nitrógeno), de modo que el requerimiento de glicerol es más bajo que el de metanol (2.6 mg C-CH<sub>3</sub>OH/mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> determinado por Cheung 1980 y Davis y Pretorius 1975).

En otro trabajo realizado por Akunna *et al.* (1993) se observó la influencia de un medio sintético con nitratos y otro con nitritos en el proceso de la desnitrificación. La prueba se realizó en lote (batch) con cinco fuentes de carbono: ácido acético, ácido láctico, glucosa, glicerol y metanol. Ellos observaron una acumulación de nitrógeno en forma de amonio al utilizar glicerol y glucosa, así como una baja desnitrificación, que se hizo más evidente con la glucosa (2.7 y 5.9 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSVLM·h con nitratos y nitritos respectivamente) que con el glicerol (7.4 y 10.1 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSVLM·h con nitratos y nitritos respectivamente). Consideran que la acumulación de amonio se debió a que la principal ruta de reducción de nitrato en un digestor anaeróbico es hasta amonio, debido a la abundancia de microorganismos anaerobios facultativos y obligados (formas que utilizan el amonio).

Además, se considera que la reducción de nitratos a amonio es favorecida en medios ricos en carbono (Tiedeje, 1981, 1988 citado por Akunna et al., 1993). Lo que fue confirmado en los estudios con glucosa como fuente de carbono (Akunna et al., 1992).

Con ácido láctico la tasa de desnitrificación fue de 23.8 y 27.8 mg  $\text{N-NO}_3^-/\text{g SSVLM}\cdot\text{h}$  con nitrito y nitrato respectivamente y para ácido acético fue de 27.8 y 23.8 mg  $\text{N-NO}_3^-/\text{g SSVLM}\cdot\text{h}$  con nitritos y nitrato respectivamente.

Con estas dos últimas fuentes de carbono no hubo acumulación de amonio. Con respecto al medio que contenía metanol, sólo mencionan que la tasa de desnitrificación fue muy lenta.

Se ha observado que la tasa de desnitrificación no sólo depende de la temperatura si no también del tipo de compuesto utilizado como donador de electrones (fuente de energía). También se ha descubierto que el tipo de fuente de carbono influye en los productos obtenidos durante la reducción de nitrógeno oxidado y en la selección y crecimiento de los microorganismos participantes (Grabinska-Loniewska et al., 1985).

La fuente de energía utilizada con frecuencia es el metanol, ya que se obtienen altas tasas de desnitrificación (Rhee y Wolfgang, 1978). Sin embargo, como es un compuesto caro, en el presente trabajo se propone utilizar biogás.

Entre los pocos estudios que se han reportado sobre el empleo de metano o biogás como fuente de carbono y energía, se encuentra el de Sollo et al. (1976) y el de Werner y Kayser (1990).

Sollo et al. (1976) llevaron a cabo un estudio de la desnitrificación en una columna de vidrio empacada con arena y metano como fuente de carbono y energía. El metano

era alimentado por la parte superior de la columna y el medio lo recircularon con flujo ascendente para promover una mayor transferencia del metano a la fase líquida.

La tasa máxima de desnitrificación que obtuvieron en ese trabajo fue de  $0.70 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$ , la cual es pequeña si se compara con la que se obtiene al utilizar metanol ( $4.6 \text{ mg N}/\text{l}\cdot\text{h}$ , de acuerdo con los mismos autores). Pensaron que este valor se debía a una insuficiente concentración de metano en solución y por lo tanto, realizaron otro estudio con adición continua de metano. Sin embargo, la tasa de desnitrificación fue similar a la anterior con  $0.74 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$ .

Con base en los resultados obtenidos, los autores de éste trabajo concluyeron que no es factible utilizar metano como fuente de carbono y energía.

Werner y Kayser (1990) hicieron un estudio de desnitrificación en presencia de oxígeno y metano como fuente de carbono y energía en tres reactores a escala laboratorio, uno de lodos activados, un filtro percolador y un lecho fluidificado.

Bajo estas condiciones se obtuvieron unas tasas de desnitrificación de 2.5, 6.25 y 22.91  $\text{mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$  en el reactor de lodos activados, filtro percolador y lecho fluidificado respectivamente.

Mencionan que el medio líquido siempre tuvo una concentración de oxígeno disuelto de 1  $\text{mg}/\text{l}$ .

A diferencia de lo propuesto por Sollo *et al.* (1976), Werner y Kayser concluyen que el metano si se puede utilizar como única fuente de carbono y energía, pero con la adición de oxígeno. Ellos mencionan que su concentración en el medio líquido durante toda su experimentación fue de 1  $\text{mg}/\text{l}$ .

En el capítulo anterior se describió el sistema AAA de reciente desarrollo en México, en donde la calidad del efluente obtenido permite utilizarlo para riego de áreas verdes. Actualmente se estudia la posibilidad de utilizar el efluente para descargas de sanitarios; sin embargo, la concentración de nitratos que contiene ( $15 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}$ ) podría provocar el crecimiento de algas. Para abatir por completo esas concentraciones se propone colocar un reactor desnitrificante después del reactor nitrificante, y para no adicionar una fuente de carbono externa, ya que aumentaría el costo de operación, se pensó utilizar el biogás producido en el reactor anaerobio. Sin embargo como se mencionó anteriormente, son pocos los estudios realizados con metano o biogás como fuente de carbono y energía. Por lo anterior, se consideró necesario realizar el presente estudio, para observar la factibilidad de utilizar metano como donador de electrones en el proceso de desnitrificación.

## **OBJETIVOS**

Proponer una metodología en lote (Batch) para evaluar la capacidad de desnitrificación de un lodo, con metano como fuente de carbono y energía.

Identificar las condiciones adecuadas de temperatura y concentración de nitratos para obtener altas tasas de desnitrificación, en lote con metano como fuente de carbono y energía.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1. DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA PARA LA PRUEBA DE DESNITRIFICACION EN LOTE (BATCH)

La siguiente metodología se desarrolló en el laboratorio de Bioprocesos Ambientales del Instituto de Ingeniería de la UNAM, con el propósito de evaluar la capacidad de desnitrificación de un lodo con metano como fuente de carbono y energía. Para ello, se tomó en cuenta el procedimiento para la prueba de actividad metanogénica propuesto por Balch y Wolfe (1979).

El lodo que se utilizó como inóculo para las pruebas en lote se obtuvo de un reactor desnitrificador tipo lecho de lodos, a escala piloto, alimentado con el efluente de un reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) que trata aguas residuales domésticas en la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria (UNAM). El lodo se encontraba adaptado a concentraciones de 10-20 mg/l de  $N-NO_3^-$

y a la materia orgánica (100-120 mg DQO/l) presente en el efluente anaerobio.

Previo a la determinación de la actividad desnitrificante, el lodo se mantuvo durante 48 horas dentro de la precámara de acceso a la cámara anaerobia (Mc Coy), bajo un vacío de 20 mm de Hg para permitir que las bacterias agotaran los sustratos residuales y que el biogás fuera liberado, para así reducir al mínimo su influencia.

La prueba se llevó a cabo en botellas serológicas con una capacidad de 160 ml siguiendo la metodología que a continuación se describe.

#### Preparación de las botellas

1. A cada botella se le adicionaron 32 ml del medio para bacterias desnitrificantes (Ver Apéndice 1) propuesto por Timmermans y Van Haute (1983).

2. Las botellas se cerraron con tapón de hule y sello de aluminio. Después se esterilizaron durante 15 minutos a 121°C y 1.055 Kg/cm<sup>2</sup> (15 lb/pulg<sup>2</sup>) de presión, cuidando de mantener un pH final de 7.5.

#### Inoculación de las botellas

3. A cada botella con medio estéril se le adicionaron 8 ml de lodo en condiciones de asepsia.

4. Se cambió la atmósfera interna por metano durante 2 minutos, de la siguiente forma: con una jeringa conectada a un cilindro de gas se introdujo una corriente de metano a una presión de 0.281 Kg/cm<sup>2</sup> (4 lb/pulg<sup>2</sup>), la cual era evacuada con una segunda aguja.

5. Una vez transcurrido el tiempo fijado, se retiró la aguja de evacuación del gas y se incrementó la presión interna con metano hasta  $1.05 \text{ Kg/cm}^2$  ( $15 \text{ lb/pulg}^2$ ), medida con un transductor de presión Cole Parmer de  $0\text{-}15 \text{ lb/pulg}^2$ .

6. Posteriormente, se agregaron  $10 \text{ ml}$  de una solución con concentración variable de nitratos (Ver Tabla 4.1), en forma de nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ), de tal manera que las botellas tuvieran las concentraciones experimentales preestablecidas (ver ejemplo de cálculo en Anexo 1). En este paso, el volumen final de medio, lodo y solución de nitratos fue de  $50 \text{ ml}$ .

Nota: De las 5 corridas que se realizaron, a las botellas de la primera corrida se les fijó la presión a  $0.3519 \text{ kg/cm}^2$  ( $5 \text{ lb/pulg}^2$ ) y se les adicionó  $1 \text{ ml}$  de solución de nitratos.

#### Seguimiento por fase líquida

7. Inmediatamente después de adicionar la solución de nitratos, con una jeringa purgada con gas metano, se tomó una muestra líquida homogénea de  $1.0 \text{ ml}$  a cada botella para determinar la concentración inicial de nitratos (tiempo cero).

8. La muestra se colocó en un tubo eppendorf con  $10 \mu\text{l}$  de ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ ) al  $50\%$  y se centrifugó a  $13,000 \text{ rpm}$ , durante  $13 \text{ minutos}$ . El sobrenadante se refrigeró hasta el momento de realizar la determinación de nitratos. Este procedimiento se repitió en cada toma de muestra, durante el tiempo que duró cada corrida (Ver Tabla 5.1).

### Seguimiento por fase gaseosa

Para observar el comportamiento del gas metano y nitrógeno, se inyectaron muestras de 0.3 ml de la fase gas de las botellas, a un cromatógrafo de gases de conductividad térmica (Fisher gas partitioner modelo 1200) de doble columna (Porapak Q y malla molecular 5 Å) con helio como gas acarreador. Las condiciones de operación del cromatógrafo fueron: columna 50°C, corriente del puente 150 mA, atenuador 4, flujo de gas acarreador 25 ml/min.

Para el gas nitrógeno, este seguimiento se realizó solo en las corridas 1 y 2 ya que se observó que no era la forma adecuada de cuantificar el nitrógeno molecular.

Con lo que respecta al gas metano, se pasaron muestras diariamente de las corridas 1 y 2. Mientras que para la 3, 4 y 5 sólo se pasaron muestras al inicio, a la mitad y al final de las corridas. Esto con el fin de eliminar la posibilidad de tener fugas de gas por picar constantemente el tapón de hule.

### **5.2. CONDICIONES DE OPERACION DE LAS CORRIDAS REALIZADAS**

Durante la experimentación se realizaron 5 corridas en lote. Las condiciones de operación para cada corrida se muestran en la Tabla 5.1.

Para la primera corrida, las concentraciones iniciales de nitratos y las temperaturas a experimentar se obtuvieron a partir del método estadístico denominado Ortogonal Central Compuesto (Tabla 5.2). De esta manera, la concentración más pequeña de nitratos que se obtuvo fue de 10 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l y la más alta de 50 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l. Con respecto a la temperatura, la más pequeña fue de 10°C y la más alta de 30°C.

El empleo de esta metodología requiere relativamente pocas observaciones, lo que ahorra mucho tiempo y costo de experimentación así como evita el manejo de gran cantidad de muestras al mismo tiempo. Además, no es necesario hacer replicas (Box y Wilson, 1951; Myers, 1971 y Wead y Pike, 1975 citados por Saval, 1992). Sin embargo, después de realizar la primera corrida y analizar los datos se decidió abandonar este método. (La explicación de esto se encuentra en el capítulo 6, en los resultados de las corridas 3 y 4). Las concentraciones de nitratos y temperatura para las siguientes corridas se determinaron dependiendo de los resultados que se obtenían al término de cada corrida.

### **5.3. TECNICAS ANALITICAS**

Se realizó una caracterización del lodo para lo cual se determinaron los Sólidos Suspendidos Totales (SST), Volátiles (SSV) y Fijos (SSF), Velocidad de Sedimentación e Índice Volumétrico de Lodos (IVL). Debido a las características de la muestra, las técnicas de IVL y Velocidad de sedimentación se modificaron de acuerdo con Moreno (1994).

La concentración de nitratos se determinó reduciendo los nitratos a nitritos en una columna empacada con cadmio. Los nitritos producidos se determinaron por diazotización con sulfanidamida y acoplándose con N-(1-naftil)-etilendiamina dihidrocloruro para formar un compuesto azo altamente coloreado que fue medido colorimétricamente. Todas las técnicas analíticas se realizaron de acuerdo a los métodos estándar (APHA, 1989).

La actividad de los microorganismos se calculó dividiendo la tasa máxima de desnitrificación (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> removidos por unidad de tiempo) entre la cantidad de SSV de la botella y se expresa como mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d (ver ejemplo de cálculo en el Anexo 1).

Tabla 5.1 Condiciones experimentales para las pruebas de desnitrificación en lote.

C O R R I D A S					
Condiciones experimentales	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	CUARTA	QUINTA
Presión con CH <sub>4</sub> (kg/cm <sup>2</sup> )	0.35	1.05	1.05	1.05	1.05
Volumen de solución de nitratos adicionado a cada botella (ml)	1	10	10	10	10
pH inicial	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Concentración inicial de nitratos dentro de la botella (mg/l)	16, 30 y 44	60, 200 y 500	20, 40, 60, 80, 100, 120 y 140	20, 40, 60, 80, 100, 120 y 140	30, 60, 90, 120, 150, 200, 250, 300, 400, 500
Temperatura (°C)	13, 27 y 30	13, 27 y 30	20	27 y 30	30
Repeticiones		Duplicados	Triplicados	Triplicados	Triplicados
Duración de la corrida (días)	11	33	26	26	12

Tabla 5.2 Combinaciones de temperatura y concentración de nitratos obtenidas a partir del método Ortogonal Central Compuesto (Primera corrida)

Número de observaciones	Concentración de nitratos (mg/l N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Temperaturas (° C)
1	-1 (16)	-1 (13)
2	-1 (16)	+1 (27)
3	+1 (44)	-1 (13)
4	+1 (44)	+1 (27)
5	0 (30)	0 (20)
6	-1 (16)	0 (20)
7	+1 (44)	0 (20)
8	0 (30)	-1 (13)
9	0 (30)	+1 (27)
10	- $\alpha$ (10)	0 (20)
11	+ $\alpha$ (50)	0 (20)
12	0 (30)	- $\alpha$ (10)
13	0 (30)	+ $\alpha$ (30)

## 6 RESULTADOS Y DISCUSION

### 6.1. EL METANO COMO FUENTE DE CARBONO Y ENERGIA DURANTE EL PROCESO DE DESNITRIFICACION

En las corridas 1, 2, 3 y 4 se analiza el efecto de la adición de metano, como única fuente de carbono y energía y la influencia de la temperatura durante el proceso de la desnitrificación.

En la corrida 5 se analiza específicamente la influencia de la concentración de nitratos en el proceso de la desnitrificación.

Los resultados de la caracterización física del lodo desnitrificante utilizado en las cinco corridas en lote se muestran en la Tabla 6.1. En ésta se observa que tuvo una moderada fracción volátil, ya que representa entre el 55.16 al 58.35 % de los sólidos suspendidos totales. Los valores de IVL y Velocidad de sedimentación mostraron que se trata de un lodo tipo floculento con baja capacidad de sedimentación; sobre todo al considerar que proviene de un

reactor anaerobio tipo UASB. Los valores típicos de un lodo granular son de 10-20 ml/g para IVL (Lettinga et al., 1980) y de 20-60 m/h para velocidad de sedimentación (Hulshoff, 1989).

Tabla 6.1 Caracterización física del lodo utilizado en las pruebas de desnitrificación en lote

PARAMETRO	C O R R I D A S				
	1	2	3	4	5
SST (g/l)	16.70 (100%)	9.22 (100%)	25.80 (100%)	16.18 (100%)	30.2 (100%)
SSF (g/l)	7.7 (46.10%)	3.83 (41.54%)	11.51 (44.61%)	6.21 (38.38%)	13.54 (44.83%)
SSV (g/l)	9.52 (56.88%)	5.38 (58.35%)	14.29 (55.38%)	9.21 (56.92%)	16.66 (55.16%)
IVL (ml/g)	60	108.45	38.75	44.49	45.03
Vel. de sedimentación (m/h)	1.41	1.38	3.84	4.98	4.60

### CORRIDA 1

En esta corrida se experimentó con tres de las cinco concentraciones de nitratos que se obtuvieron a partir del método Ortogonal Central Compuesto (16, 30 y 44 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l) a 13, 27 y 30°C (ver Tabla 5.2).

Con respecto a esta primera corrida en lote, se decidió seguir el proceso de la desnitrificación por fase líquida a través del consumo de nitratos, y por fase gaseosa mediante la cuantificación del nitrógeno producido.

#### Fase líquida.

En un principio se decidió tomar muestras de la fase líquida al inicio de la prueba (tiempo cero), en el momento de observar un aumento en la producción de nitrógeno y al finalizar la corrida (al tiempo en el que la producción de nitrógeno fuera constante, lo que indicaría el consumo total de los nitratos).

Los resultados obtenidos son los que se muestran en la Tabla 6.2. Como se puede observar, en todas las condiciones de concentración inicial de nitratos (16, 30 y 44 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l) a diferentes temperaturas (13, 27 y 30°C) se presentó la reducción de los nitratos. Sin embargo, debido a que en la fase gaseosa no fue evidente el incremento de la producción de nitrógeno sólo se tomaron muestras en algunas botellas a los 7, 10 y 11 días posteriores al inicio de la corrida. Esto ocasionó que se perdieran algunos valores intermedios de la curva de consumo de nitratos y no se observara un comportamiento claro. Por ejemplo, en la muestra a 13°C con una concentración de 16 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> /l (ver Tabla 6.2), no se pudo observar si antes del día siete la concentración de nitratos ya era de 2 mg/l.

En esta corrida, la actividad desnitrificante de los microorganismos no se pudo calcular, debido a que únicamente se tenían datos de la concentración de nitratos, al iniciar y al finalizar la prueba para cada muestra.

Tabla 6.2 Resultados de la fase líquida en la corrida 1.

TIEMPO (días)	13°C			27°C			30°C
	16*	30*	44*	16*	30*	44*	30*
0	15.24 15.24	27.88 30.0	42.80 46.12	14.30 15.24	26.66 27.00	46.84 42.08	29.24 28.82
7	2.08 2.52	9.11 8.07	20.25 20.46				
10				0.93	2.73		3.74
11			3.02			2.73	

\*Concentración de nitratos en mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l.

Fase gaseosa.

En esta fase se esperaba el incremento en la producción de nitrógeno molecular y la reducción en la concentración del gas metano, como resultado del proceso de la desnitrificación, durante el cual, el metano sería utilizado por las bacterias como fuente de carbono y energía. Sin embargo, la respuesta en ambos casos no fue muy evidente.

Con respecto al gas nitrógeno, su concentración se mantuvo estable durante el tiempo que duró la prueba, como se ejemplifica con la Fig. 6.1, en donde las moles de nitrógeno se mantuvieron entre 3 y 4 x 10<sup>-4</sup> moles, para una botella a 30°C con una concentración inicial de 30 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l.

## GAS NITROGENO

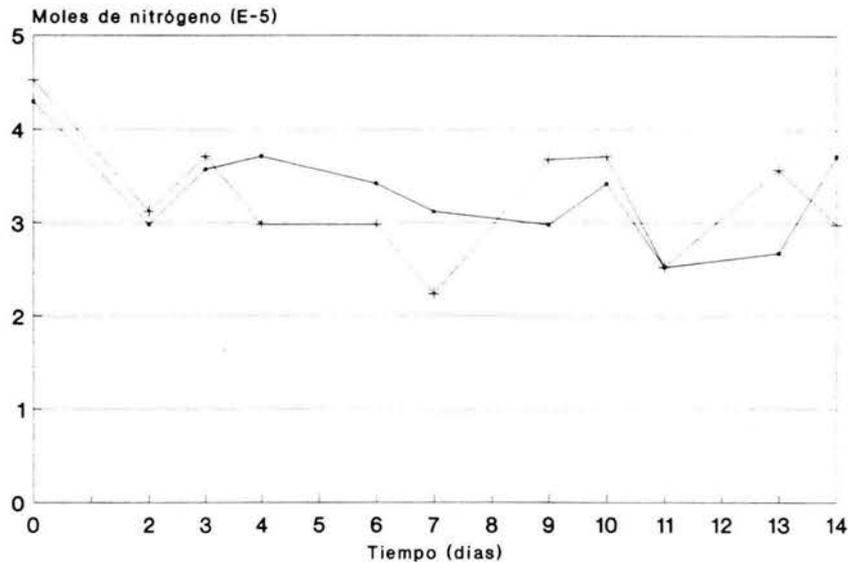


Fig. 6.1 Evolución del gas nitrógeno a 30°C con una concentración inicial de nitratos de 30 mg/l

En cuanto al gas metano, se observó un comportamiento similar al anterior para cada uno de los ensayos, es decir, la cantidad de moles de metano permaneció estable como se ve en la Fig. 6.2, en una botella a 30°C con una concentración inicial de 30 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l).

Se pensó que este comportamiento se debía a las concentraciones tan pequeñas de nitratos que se manejaron en las pruebas en lote, razón por la cual el metano consumido fue mínimo, lo que originó una producción reducida de N<sub>2</sub>.

## GAS METANO

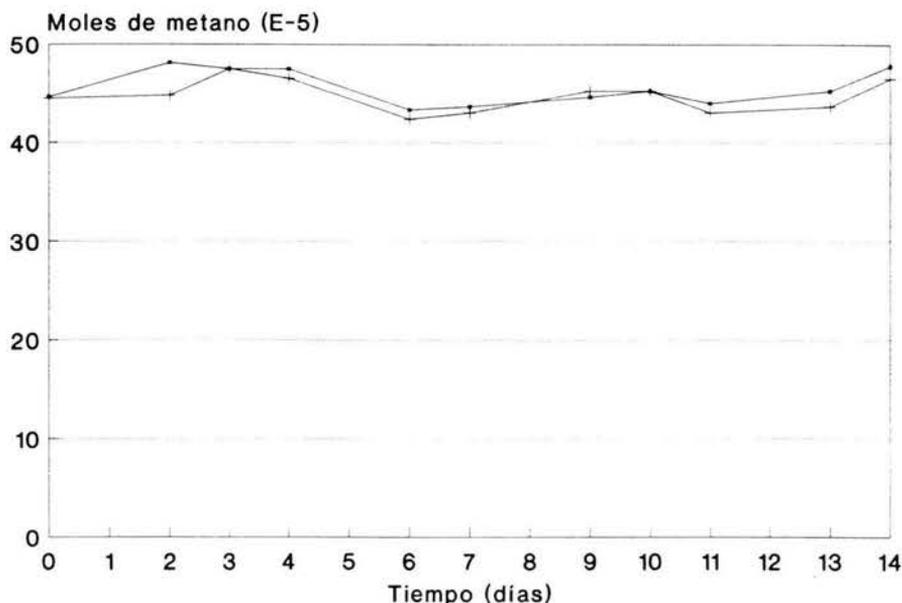


Fig. 6.2 Evolución del gas metano a 30°C con una concentración inicial de nitratos de 30 mg/l

Todas las muestras presentaron un comportamiento similar al anterior, excepto las que permanecieron a 13°C. En éstas se observó un aumento en la producción de nitrógeno y una disminución del gas metano.

Como se observa en la Fig. 6.3, la cantidad de moles de nitrógeno aumenta en una botella con una concentración de 16 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l. Sin embargo, este comportamiento no se esperaba, pues como se sabe, al disminuir la temperatura la actividad metabólica de los microorganismos decrece. Una probable explicación para el incremento del nitrógeno es que en cada toma de muestras para inyectar al cromatógrafo de gases se introdujo aire a las botellas.

## GAS NITROGENO

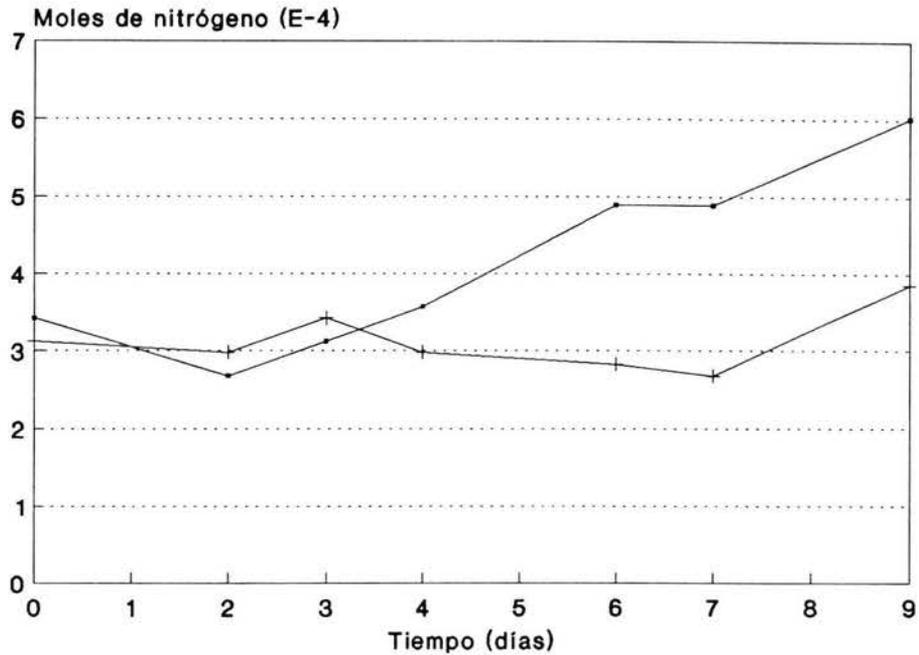


Fig. 6.3 Seguimiento del gas nitrógeno a 13°C con una concentración de nitratos de 16 mg/l

Con respecto al gas metano, se observó una disminución considerable de la cantidad de metano de 45 a 30 x 10<sup>-4</sup> moles (Ver Fig. 6.4). Sin embargo, ésta pudo deberse a la presión de este gas en las botellas (0.351 kg/cm<sup>2</sup>) y a la baja temperatura (13°C), las cuales promovieron una mayor solubilización del metano.

## GAS METANO

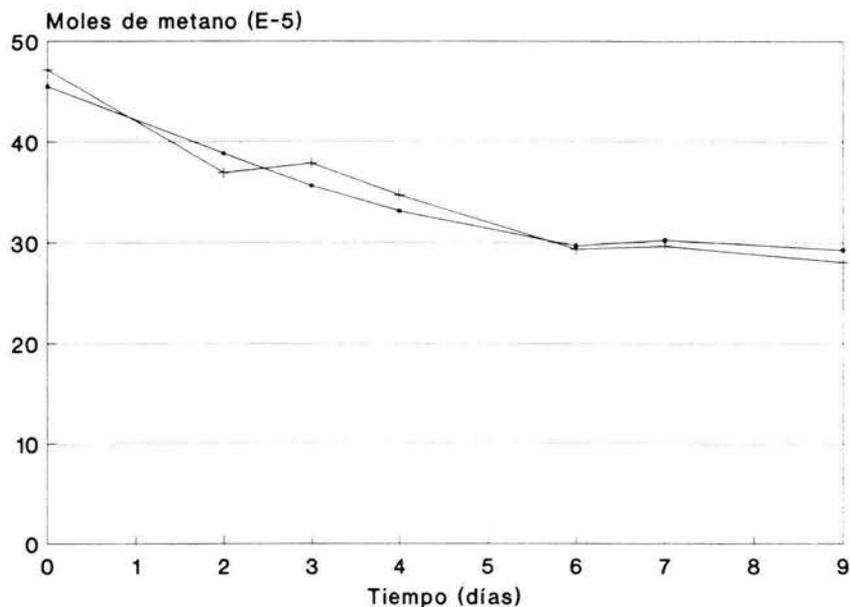


Fig. 6.4 Seguimiento del gas metano a 13°C con una concentración de nitratos de 16 mg/l

## CORRIDA 2

Con base en los resultados anteriores, y con el propósito de hacer más evidente la respuesta del metano y nitrógeno en la fase gaseosa, se decidió realizar una segunda corrida (Tabla 5.1) con concentraciones más altas de nitratos (60, 200 y 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l), considerando que no se reportan casos de inhibición a esas concentraciones (Grabinska-Loniewska, 1985, Werner y Kayser, 1990 y Akunna *et al.*, 1993).

Con respecto a la temperatura (13, 27 y 30°C), parecía no haber diferencia aparente en la actividad desnitrificante. Por esta razón, la nueva corrida se realizó a éstas mismas temperaturas.

En cuanto al método Ortogonal Central Compuesto se decidió abandonarlo, por lo menos mientras se obtenía una respuesta clara de la producción de nitrógeno.

En esta corrida se decidió aumentar la cantidad de metano dentro de las botellas serológicas, a través del incremento de la presión de este gas hasta 1.05 Kg/cm<sup>2</sup> (15 psi). Esto con el fin de incrementar la fuente de carbono y energía, y que estuviera en exceso. El volumen de solución de nitratos, inyectada a cada botella, se aumentó de 1 a 10 ml para tomar un número mayor de muestras y realizar un seguimiento más minucioso de los nitratos en la fase líquida.

El lodo utilizado fue el mismo de la primera corrida, esto con el fin de observar si los microorganismos se habían adaptado a su nueva fuente de energía (metano) y de esta manera obtener un aumento en la actividad desnitrificante.

Fase líquida.

Los resultados de la segunda corrida muestran que en todas las condiciones experimentales de concentración de nitratos y temperatura, los microorganismos realizaron la desnitrificación. Para las diferentes temperaturas y la concentración de 60 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l, los microorganismos llevaron a cabo la reducción de una forma más lenta a 13°C (ver Fig. 6.5), pues hasta el día 25 se logró una concentración

inferior a 10 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l. En cambio a 27 y 30°C con la misma concentración de nitratos, para el día seis la concentración ya era menor a 10 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l.

## CORRIDA 2

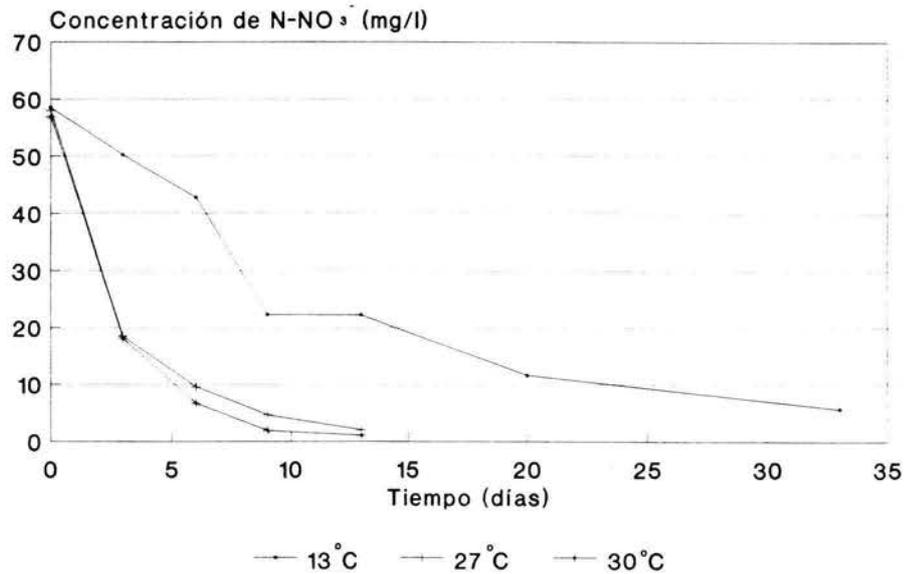


Fig. 6.5 Reducción de nitratos con una concentración inicial de 60 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l

En cuanto a las concentraciones de 200 y 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l, la diferencia en la velocidad de reducción de los nitratos no se ve tan marcada a las tres temperaturas (Figs. 6.6 y 6.7). Sin embargo, a 13°C la reducción siempre fue menor que a 27 y 30°C.

De este modo, a 13°C se obtuvo una tasa máxima de desnitrificación de 3.98 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·d (4.62 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d como actividad específica), (Tabla 6.3) y a 27 y 30°C de 10.19 y 12.68 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·d (11.83 y 14.73 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d como actividad específica) respectivamente.

En las figuras 6.6 y 6.7 se puede observar que durante los primeros días de la corrida, la reducción de los nitratos fue mayor. Después del día 13 la reducción de los nitratos disminuye, esto debido tal vez a la falta de fuente de carbono y energía.

## CORRIDA 2

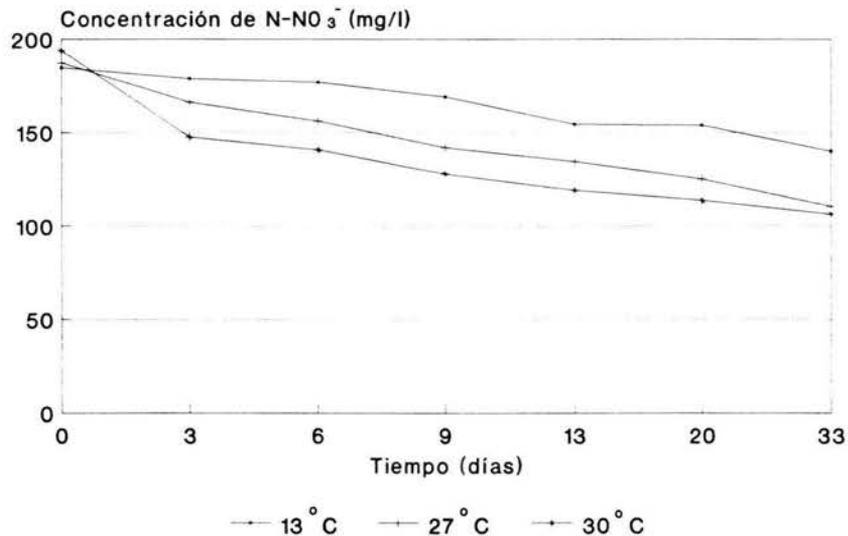


Fig. 6.6 Reducción de nitratos con una concentración inicial de 200 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l

## CORRIDA 2

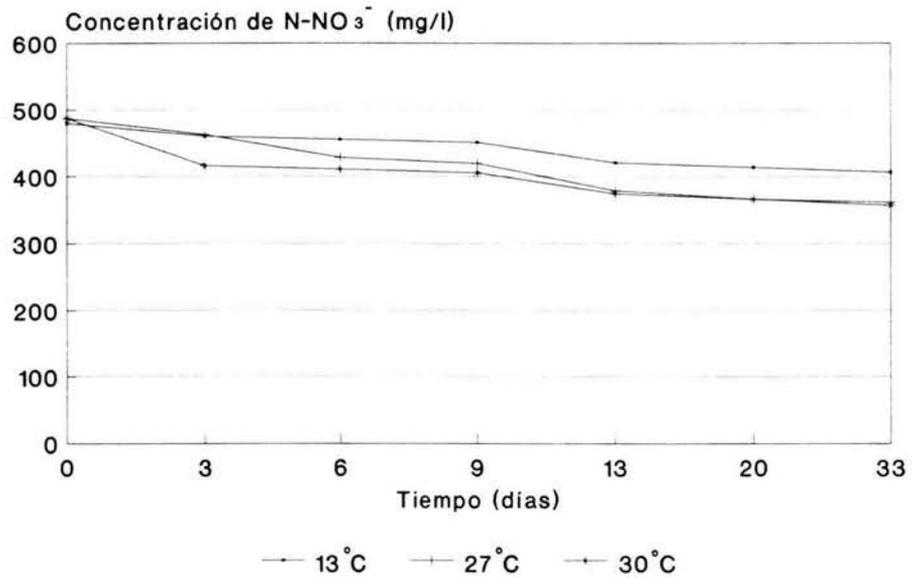


Fig. 6.7 Reducción de nitratos con una concentración de 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l

Tabla 6.3 Actividad específica (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> /g SSV·d) de la corrida 2

Concentración inicial de nitratos (mg/l)	13°C	27°C	30°C
60	4.50	9.38	9.73
200	3.75	6.02	6.44
500	4.62	11.83	14.73

Durante esta segunda corrida, si fue posible calcular la actividad de las bacterias desnitrificantes, con metano como

fuente de carbono y energía (Fig. 6.8). La máxima actividad desnitrificante fue de 14.73 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d que se obtuvo con una concentración inicial de 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l a 30°C.

Fase gaseosa.

En esta corrida se obtuvo producción de nitrógeno (Fig. 6.9); sin embargo, ésta fue muy pequeña (3 a 4x10<sup>-4</sup> moles). Para explicar este comportamiento se deben de tomar en cuenta varios aspectos.

Una posible explicación, es que conforme se realizó el proceso de desnitrificación, el nitrógeno producido se solubilizó en el medio, debido a la alta solubilidad del nitrógeno en el agua. Esto aumentado por a la alta presión dentro de la botella.

### ACTIVIDAD DESNITRIFICANTE

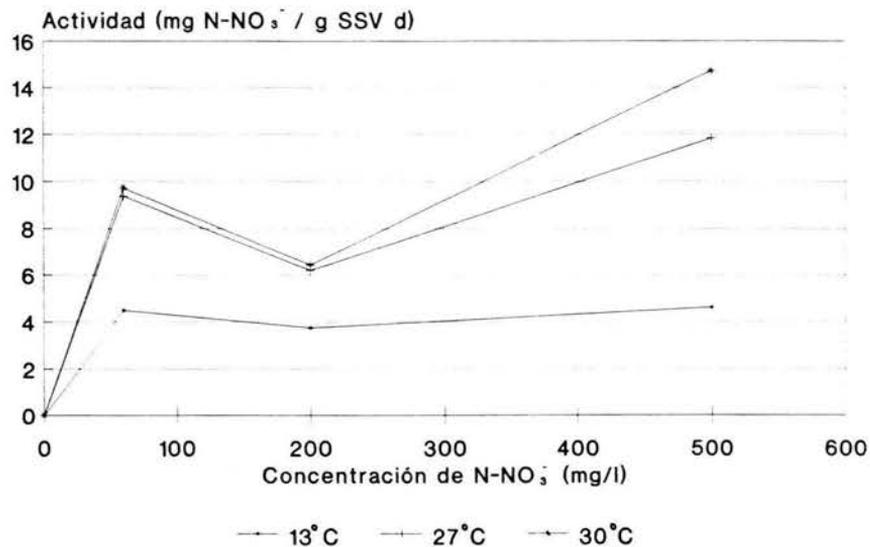


Fig. 6.8 Actividad desnitrificante de la corrida 2

## GAS NITROGENO

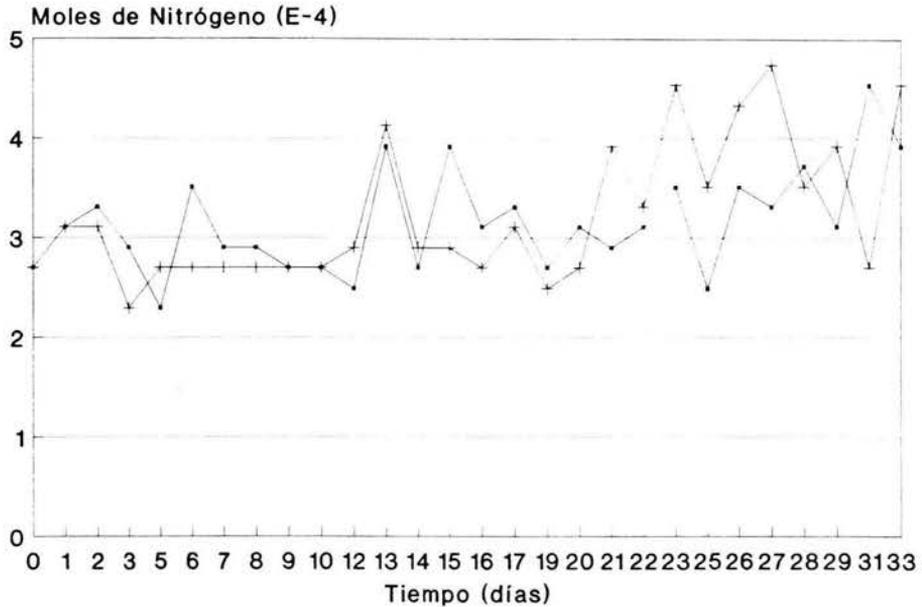


Fig. 6.9 Seguimiento del gas nitrógeno a 27°C con una concentración de nitratos de 500 mg/l

También se debe tomar en cuenta que la mayoría de las bacterias desnitrificantes son capaces de convertir cantidades relativamente pequeñas de nitrato a amonio, para sus requerimientos en el crecimiento celular, simultáneamente con la desnitrificación (Dawson y Murphy, 1972). Es decir, que tal vez parte de los nitratos no se expresaron como nitrógeno molecular.

Generalmente, en los estudios reportados sobre desnitrificación, sólo se realiza el seguimiento de las muestras por fase líquida para observar la evolución de la reducción de los nitratos. Sin embargo, en muy pocos estudios se cuantifica el nitrógeno producido. Esto se debe,

tal vez, a la complicación que representa su solubilidad en agua, como en el caso del presente estudio.

No obstante, sería recomendable cuantificar el nitrógeno por fase líquida, ya que es el producto final del proceso de la desnitrificación y por otra parte se asegura que la reacción no se detuvo en algún paso intermedio, pues si la reacción se detiene, se corre el riesgo de producir gases como el óxido nítrico, el cual es altamente tóxico para los humanos (Gessner, 1988).

En cuanto al gas metano, se observó una disminución de 50 a  $40 \times 10^{-4}$  moles en función del tiempo como se muestra en la Fig. 6.10 y aunque ésta fue pequeña, permite afirmar que los microorganismos sí utilizaron el metano como donador de electrones.

Lo anterior se puede confirmar al observar en la Fig. 6.11 el comportamiento de un testigo (muestra sin metano) a 27°C con una concentración inicial de 200 mg/l de nitrógeno como nitrato, en donde el testigo tuvo una actividad más pequeña que la muestra con metano. Todos los testigos tuvieron un comportamiento similar.

Aquí es preciso mencionar, que no se esperaba que los testigos presentaran actividad. Sin embargo, ésta pudo deberse al aporte de sustrato que representa la respiración endógena, proceso en donde el material celular es utilizado internamente, en ausencia de materia orgánica externa, con lo que se obtiene energía para el mantenimiento de las células (Metcalf y Eddy, 1985; Ville, 1985).

## GAS METANO

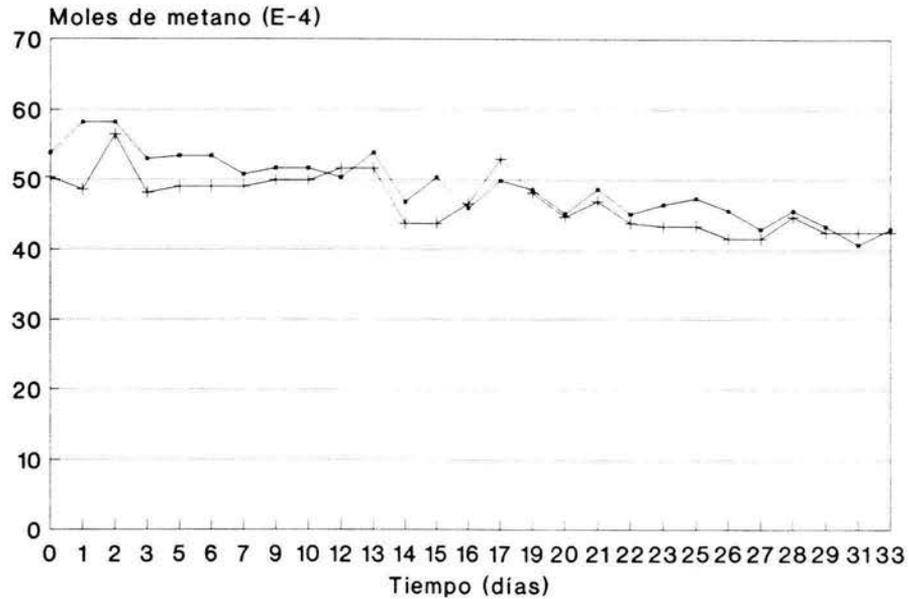


Fig. 6.10 Seguimiento del gas metano a 30°C con una concentración de 500 mg de  $\text{N-NO}_3^-/\text{l}$

Hasta este momento de la experimentación, la prueba de desnitrificación en lote con metano como fuente de carbono y energía permitió hacer algunas observaciones.

Conocer la cinética de la reducción de los nitratos en pruebas en lote.

Que las bacterias desnitrificantes son capaces de utilizar metano como fuente de carbono y energía.

Con respecto a la influencia de la temperatura, se observó que la actividad de los microorganismos se incrementa conforme se aumenta la temperatura.

CORRIDA 2  
TESTIGO

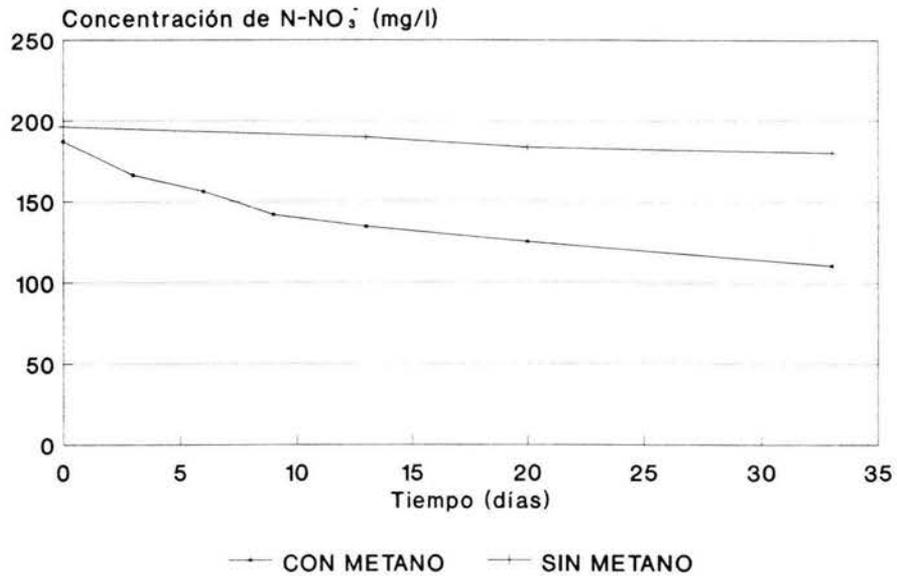


Fig. 6.11 Comportamiento de un testigo a 27°C con una concentración inicial de 200 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l

En cuanto a la influencia de la concentración de nitratos, el comportamiento de las muestras no era muy claro (Fig. 6.8), sin embargo, indicaba un comportamiento parecido a la cinética del modelo de Monod.

## CORRIDAS 3 Y 4

Debido a los resultados obtenidos en la corrida 2, se consideró necesario realizar una tercera corrida con siete concentraciones de nitratos (20, 40, 60, 80, 100, 120 y 140 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l ) a 20°C y otra corrida (corrida 4) con las mismas concentraciones pero a 27 y 30°C (Tabla 5.1).

En esta corrida se decidió realizar el seguimiento solo por fase líquida, ya que por fase gaseosa, como ya se ha visto no era adecuado. El método Ortogonal Central Compuesto se abandonó, debido a que se deseaba saber si el comportamiento de las muestras al graficar actividad desnitrificante contra concentración de nitratos correspondía al tipo Monod. Por lo tanto, se necesitaba hacer una prueba con todas las combinaciones de concentraciones de nitratos y temperaturas, lo cual no se ajusta al método Ortogonal Central Compuesto.

Los resultados se muestran en la Tabla 6.4. En estas dos corridas la máxima actividad de desnitrificación se obtuvo a una concentración de 40 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l con una temperatura de 30°C (5 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d).

Al comparar la actividad máxima de la segunda corrida (14.73 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d) con la de la cuarta corrida a la misma temperatura de 30°C (5.0 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/ g SSV·d) se puede ver que hay una diferencia importante. La explicación puede basarse en dos aspectos: uno, que en la segunda corrida se experimentó con concentraciones de nitratos más altas (500 mg/l contra 40 mg/l para las máximas actividades reportadas), y dos, que el lodo de la segunda corrida se adaptó al metano como donador de electrones durante la primera corrida; en cambio el lodo de la tercera y cuarta corrida era, para cada

una de ellas, lodo desnitrificante no adaptado. Cabe mencionar además, que este último lodo no recibió alimentación durante cuatro meses, debido a que se suspendió

Tabla 6.4 Actividad desnitrificante en lote de las corridas 3 y 4

Concentración inicial de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	ACTIVIDAD (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /g SSV·d)		
	CORRIDA 3	CORRIDA 4	
	20°C	27°C	30°C
20	1.11	3.62	4.21
40	1.60	4.74	5.00
60	2.27	3.77	4.08
80	2.47	2.80	4.40
100	2.47	3.16	3.87
120	1.94	2.97	3.03
140	1.34	1.76	2.37

la operación del reactor desnitrificante que sirvió de fuente de inóculo, lo cual seguramente influyó en la actividad de los microorganismos.

Por otro lado, la disminución de la actividad desnitrificante con concentraciones superiores de 40 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l a 27 y 30°C (ver Fig. 6.12), pudo deberse a que la cantidad de fuente de carbono (CH<sub>4</sub>) no era suficiente para la reducción de los

nitratos presentes, pues solo se adicionó el gas a las botellas al inicio de la corrida.

Con respecto a la temperatura de 20°C, la actividad desnitrificante disminuyó hasta concentraciones superiores a 100 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l; esto, en comparación con las tendencias encontradas en las otras dos temperaturas, pudo deberse a la mayor disponibilidad de fuente de carbono, ya que al disminuir la temperatura aumenta la solubilidad del gas.

De acuerdo con el estudio de desnitrificación que realizaron Sollo *et al.* (1976), la tasa máxima de desnitrificación obtenida fue de 0.70 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h (Tabla 6.5), más alta que la obtenida en este trabajo de 0.30 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h. (5.0 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d como actividad específica, para el lodo no adaptado). Sin embargo, los autores reportan una tasa por

#### CORRIDA 3 Y 4 ACTIVIDAD DESNITRIFICANTE

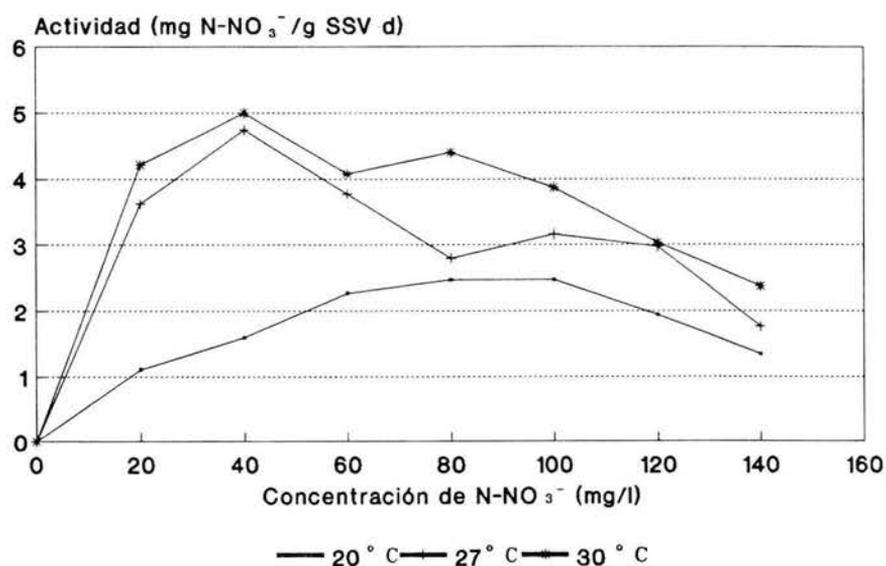


Fig. 6.12 Actividad desnitrificante de las corridas 3 y 4

unidad de volumen de reactor, y no informan sobre la concentración de SSV, lo que implica que no necesariamente ocuparon la misma cantidad de biomasa que la utilizada en este trabajo. Este es un punto de diferencia importante entre la actividad desnitrificante reportada por estos autores con respecto a la de este estudio, que impide una adecuada comparación.

Otra diferencia entre los dos estudios, es que en el estudio de referencia se utilizó una recirculación del medio con flujo ascendente para solubilizar el metano, a diferencia de este estudio donde la prueba en lote se llevó a cabo en condiciones estáticas, lo cual no favoreció la transferencia de masa y limitó la disponibilidad del metano para su utilización por las bacterias desnitrificantes.

Werner y Kayser (1990) realizaron un estudio de la desnitrificación en tres diferentes reactores, uno de lodos activados, un filtro percolador y un lecho fluidificado, con metano como fuente de carbono y energía. Ellos obtuvieron la tasa de desnitrificación más alta en el lecho fluidificado con (23 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·h). Esta tasa de desnitrificación es muy alta comparada con la que se obtuvo en este trabajo, como se muestra en la Tabla 6.5. Sin embargo, era de esperarse esta respuesta debido a que la elevada velocidad ascendente con la que se operan los reactores de lecho fluidificado promueven un mayor contacto de los microorganismos con el sustrato, lo que permite una mejor transferencia de masas. Además, este constante movimiento favorece una mayor solubilidad del gas metano y en consecuencia una mayor disponibilidad para los microorganismos.

Tabla 6.5 Comparación de la tasa de desnitrificación en diferentes estudios

Características del estudio	Sollo et al. (1976)	Werner y Kayser, (1990)	Presente trabajo
Fuente de carbono y energía	Metano	Biogás con oxígeno	Metano
Tipo de reactor	Columna de vidrio empacada con arena	Lecho fluidificado	Prueba en lote (batch)
Temperatura (°C)	-	18-21	30
Tasa máxima de desnitrificación (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l·h)	0.70	23	Lodo no adaptado 0.30 Lodo adaptado 0.52
Condiciones de la biomasa	Con recirculación del medio (flujo ascendente)	Microorganismos adheridos a un soporte, en movimiento constante	Condiciones estáticas

- No reportada

Por otra parte, la alta tasa de desnitrificación se puede deber a que estos autores adicionaron oxígeno en su proceso, ya que consideran que este gas juega un papel muy importante por que hay un paso en donde el metano es oxidado a metanol (es necesario el oxígeno) por medio de bacterias metanotróficas y posteriormente el metanol lo utilizan

bacterias metilotróficas para la reducción de nitratos a nitrógeno molecular.

## 6.2. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA TASA DE DESNITRIFICACION

De acuerdo con Dawson y Murphy (1973) y con Timmermans y Van Haute (1983), el proceso de desnitrificación se presenta en un intervalo de temperatura de 5 a 50°C, y la tasa de desnitrificación más alta se obtiene en un intervalo de 35 a 50°C. En este sentido, como se puede observar en las Figs. 6.8 y 6.12, los microorganismos realizaron la reducción de los nitratos a las cuatro temperaturas experimentadas (13, 20, 27 y 30°C).

En ambos lodos la actividad máxima se obtuvo a 30°C, de manera que para el lodo adaptado (corrida 2) fue de 14.73 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d y para el no adaptado (corrida 3 y 4) de 5.0 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d.

Este comportamiento era de esperarse debido a que en casi todas las reacciones enzimáticas, al igual que en otras reacciones, la actividad se multiplica por dos al aumentar la temperatura 10°C (Villem, 1985).

Timmermans y Van Haute (1983) encontraron que la temperatura influye en el proceso de desnitrificación, de manera que la tasa de reacción decrece con un factor de 3.3 al disminuir la temperatura en 10°C. En este trabajo la actividad aumentó aproximadamente 2 veces su valor al incrementar 10°C la temperatura, excepto en las cuatro últimas muestras de la tercera y cuarta corrida (Tabla 6.4).

De los resultados anteriores, se concluye que la mejor temperatura para la actividad desnitrificante en lote bajo las condiciones aquí experimentadas fue la máxima aplicada (30°C).

## CORRIDA 5

### 6.3. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE NITRATOS EN LA TASA DE DESNITRIFICACION

Con anterioridad se mencionó que las máximas actividades de desnitrificación se obtuvieron a 30°C, pero a diferentes concentraciones iniciales de nitratos. En efecto, en el lodo adaptado (corrida 2) se obtuvo con una concentración inicial de nitratos de 500 mg/l y en el lodo no adaptado (corrida 3 y 4) con una concentración inicial de 40 mg/l.

Con base en los resultados anteriores, se decidió realizar una última corrida a 30°C con diez concentraciones iniciales de nitratos ( 30, 60, 90, 120, 150, 200, 250, 300, 400 y 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l), con el propósito de observar en forma más clara la influencia de la concentración de los nitratos en la tasa de desnitrificación en lote.

Esta corrida se realizó a 30°C, debido a que a esta temperatura se obtuvo la máxima actividad desnitrificante.

El lodo utilizado se alimentó durante seis días con una solución de nitratos de 200 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l con metanol como fuente de carbono y energía. Esto debido a que el lodo tenía seis meses sin alimentar y se buscó reducir la limitación en la tasa de desnitrificación por utilizar lodo no adaptado.

Durante la prueba, la fuente de carbono y energía (metano) se mantuvo constante, es decir las botellas siempre tuvieron una presión de 15 lb/pulg<sup>2</sup>, mediante adiciones en el momento requerido. La razón de esto, como se mencionó en las corridas 3 y 4, es por que se pensaba que la fuente de carbono y energía fue limitante.

Los resultados de esta quinta corrida se muestran en la Fig. 6.13. En este caso se obtuvo una máxima actividad de 5.15 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d (5.68 como actividad neta) con una

concentración inicial de nitratos de 150 mg/l, y conforme se aumentó la concentración, la actividad no mostró un incremento.

A las actividades de cada muestra se les restó la actividad del testigo correspondiente para obtener la actividad neta; en la Tabla 6.6 se puede observar que la actividad de los testigos es muy pequeña, al igual que en las corridas anteriores.

### ACTIVIDAD NETA

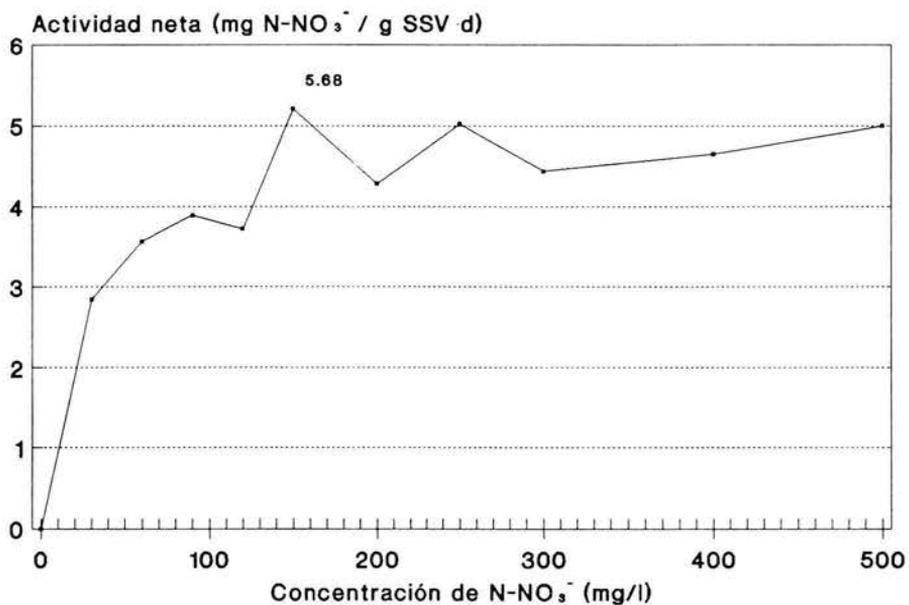
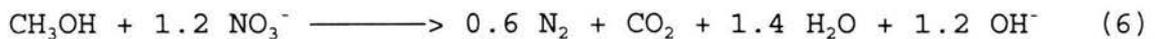


Fig. 6.13 Actividad desnitrificante neta de la corrida 5 (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d)

Tabla 6.6 Actividad desnitrificante (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV·d) con metano como fuente de carbono y energía obtenida en la corrida 5

Concentración inicial de nitratos (mg/l)	Actividad (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /g SSV.d)	Testigo (sin metano)	Actividad neta
30	4.9	1.03	3.87
60	4.71	0.76	3.75
90	5.73	0.92	4.81
120	4.75	0.41	4.34
150	6.15	0.47	5.68
200	4.9	0.31	4.59
250	6.04	0.51	5.53
300	5.26	0.41	4.85
400	5.25	0.30	4.95
500	5.41	0.41	5.00

Werner y Kayser (1990), indican que si en el proceso de desnitrificación se utiliza metano como fuente de carbono y energía, es necesaria la presencia de oxígeno (Ec. 5 y 6).



De este modo, se necesita 1 mol de CH<sub>4</sub> y O<sub>2</sub> para reducir 1.2 moles de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Es decir, para la cantidad de nitratos que se redujo en esta corrida (hasta 69.20 mg/l N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), por esta vía

se necesitarían 65.90 mg/l de O<sub>2</sub>. Sin embargo a las botellas no se les adicionó oxígeno y la cantidad de este gas que pudo incorporarse durante la experimentación fue mínima.

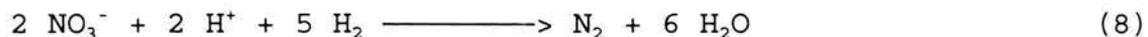
Se pudo incorporar oxígeno durante la preparación del medio, ya que no se realizó en un lugar totalmente anaerobio. Sin embargo, después de la esterilización se cambiaron atmósferas con gas metano, de tal modo que el oxígeno presente en el aire fue desplazado.

Otra posible fuente mínima de oxígeno, fue durante la toma de muestras para determinar la concentración de nitratos, pues los tapones de las botellas se perforaron en varias ocasiones. Debido a lo anterior, se puede asegurar que la cantidad de O<sub>2</sub> incorporado no fue suficiente para que se realizara el proceso como indican las ecuaciones 5 y 6.

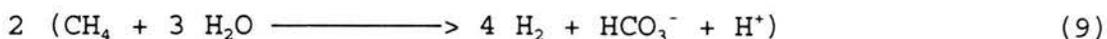
Se podría plantear la Ec. 7 como una posible ruta para el proceso de desnitrificación. En la cual, no es necesaria la presencia de oxígeno.



En la literatura no se ha reportado que microorganismos utilicen el metano directamente para reducir nitratos, es decir, que biológicamente sea posible la reacción. Sin embargo, termodinámicamente es posible su realización de acuerdo con el cálculo de  $\Delta G$  que se indica en las ecuaciones 8, 9, 10 y 11.

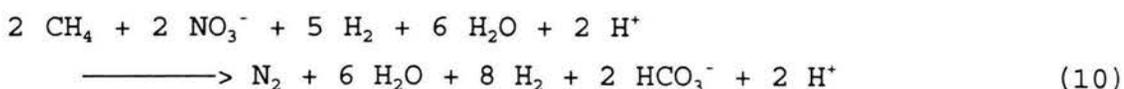


$$\Delta G = - 1120.5 \text{ kJ/reacción}$$

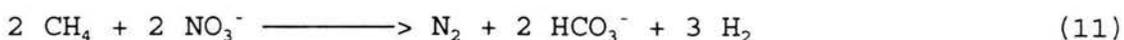


$$\Delta G = 2 (+135.6) \text{ kJ/reacción}$$

Combinando ambas reacciones:



Resulta en la reacción final:



$$\Delta G = - 849.3 \text{ kJ/reacción}$$

La Ec. 8 nos indica que la  $\Delta G$  para la reducción de nitratos hasta  $\text{N}_2$  es de -1220.5 kJoules por reacción.

La  $G$  de la reacción de metano hasta  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}^+$  y  $\text{HCO}_3^-$ , es de +135.6 kJoules por reacción (Ec. 9). Si se forma una sola reacción (Ec. 11), se obtiene una  $\Delta G$  de -849.3 kJoules por reacción. Esto nos indica que energéticamente es una reacción favorable. Sin embargo, es necesario realizar estudios bioquímicos, fisiológicos y cinéticos para aclarar el verdadero mecanismo por el cual se realizó el proceso de desnitrificación.

En el apéndice 1 aparecen los cálculos necesarios para conocer las moles de metano que estuvieron presentes en las botellas. Los resultados indican que cada botella tenía  $46.5 \times 10^{-4}$  moles de metano, suficientes para reducir  $55.8 \times 10^{-4}$  moles de nitrato, que para las condiciones de la prueba se

traduce en una concentración de 345.9 mg/l de  $\text{NO}_3^-$ , es decir 78.12 mg/l N- $\text{NO}_3^-$ . Sin embargo, la máxima cantidad de nitratos reducidos en esta corrida fue de 69.20 mg/l. Si en este trabajo la reacción se realizó como en la Ec. 11, esto indica que la cantidad de metano estuvo en exceso para reducir más de 69.20 mg/l de nitratos, pues se adicionó metano siempre que se requería para mantener constante la presión. Aparentemente, su baja solubilidad no permitió que estuviera disponible para los microorganismos, lo que sugiere limitaciones cinéticas por resistencia al transporte de masa.

Otra posibilidad es que la cantidad de nitratos reducida fue pequeña por una inhibición de la reacción a esas concentraciones de nitratos. Sin embargo, en la literatura no se menciona este efecto, aun cuando se han utilizado concentraciones de hasta 550 mg/l N- $\text{NO}_3^-$  (Timmermans y Van Haute, 1983; Werner y Kayser, 1990).

## CONCLUSIONES

La metodología que se propone en este trabajo es sencilla y permite determinar la tasa de desnitrificación en lote con metano como donador de electrones, o con otros sustratos. Para el caso del metano debe incrementarse la transferencia del gas hacia la fase líquida mediante agitación y asegurar la presencia no limitante de sustrato.

Es factible utilizar metano como fuente de carbono y energía, aunque las tasas de desnitrificación son bajas  $0.16 - 0.52 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$  ( $4.50 - 14.73 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{g SSV}\cdot\text{d}$  como actividad específica) en comparación con las que se obtienen con metanol.

La adaptación previa del lodo al sustrato alimentado permite un incremento en los valores de su actividad, de tal modo que para el lodo adaptado (corrida 2) la tasa de desnitrificación más alta fue de  $0.52 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$  ( $14.73 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{g SSV}\cdot\text{d}$  como actividad específica) para el lodo no adaptado (corrida 3 y 4) de  $0.30 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$  ( $5.0 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{g SSV}\cdot\text{d}$  como actividad específica) y para el lodo reactivado con metanol (corrida 5) de  $0.63 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{h}$  ( $5.68 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{g SSV}\cdot\text{d}$  como actividad específica).

De acuerdo con los resultados obtenidos, al aumentar la temperatura la actividad desnitrificante se incrementa. Tanto para el lodo adaptado como para el no adaptado, la máxima actividad desnitrificante se obtuvo a  $30^\circ\text{C}$ .

Con respecto a la influencia de la concentración de nitratos, no se observó un comportamiento claro. La actividad de

desnitrificación más alta, para el lodo adaptado, se obtuvo con una concentración de 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l; para el lodo no adaptado con una concentración de 40 mg/N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l y para el lodo reactivado, con una concentración de 150 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l. Se encontró que este comportamiento se debía muy probablemente a la falta de solubilidad de la fuente de carbono y energía. Lo anterior se pensó porque en la corrida 5, la cantidad de metano se mantuvo constante en 46.5 x10<sup>-4</sup> moles, suficientes para reducir 78.12 mg/l N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Sin embargo la máxima cantidad de nitratos reducidos en esta corrida fue de 69.20 mg/l. La actividad desnitrificante con metano como fuente de carbono y energía en ausencia de oxígeno, tal como se observó en este trabajo, lleva a plantear la hipótesis de la siguiente reacción:



con una  $\Delta G$  de -849.3 kJ/reacción, lo que la hace favorable termodinámicamente. Esta reacción no se indentificó reportada de la literatura, por lo que deberá ser comprobada en un experimento diseñado para tal fin.

Es importante realizar estudios microbiológicos, ya que proporcionarán información sobre los grupos bacterianos que pueden utilizar metano como fuente de carbono y energía, y del posible mecanismo por el cual se realizó el proceso de desnitrificación.



## REFERENCIAS

- Akunna, J. C., Bizeau, C. and Moletta, R. (1992). "Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO<sub>x</sub> ratio. *Enviromental Technology*. Vol. 13. Págs. 825-836.
- Akunna, J. C., Bizeau, C. and Moletta, R. (1993). "Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon source: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol". *Water Research*. Vol.27 No. 8. Págs. 1303-1312.
- Atlas, M. R. and Bartha, R. (1993). Microbial Ecology Fundamentals and Applications. 3<sup>th</sup>. edition. Ed. The Benjamin/Cummins Publishing Company, Inc. Págs. 314-322.
- APHA-AWWA-WPCF. (1989). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16<sup>th</sup> edition. Ed. American Public Health Association. Washington D.C.
- Balch, W. E. and Wolfe, R. S. (1979). "Methanogens: reevaluation of a unique biological group". *Microbiol. Rev.* Vol. 43. Págs. 260-296.
- Barnes, D. and Bliss, P.J. (1983). Biological control of nitrogen in wastewater treatment. Ed. E. & F.N. Spon. New York. Págs. 146-148.
- Cheung, P. S. and Krauth, E. (1980). The effects of nitrate concentration and retention period on biological denitrification in the rotating disc system. *Journal WPCF*. Vol. 78. Págs. 99-105.

- Davis, T. R. and Pretorius, W. A. (1975). Denitrification with bacterial disc unit. *Water Research*. Vol. 9 Págs. 459-463.
- Dawson, R. N. and Murphy, K. L. (1971). "The temperature dependency of biological denitrification". *Water Research*. Vol. 6. No. 12. Págs. 71-83.
- Dawson, R. N. and Murphy, K. L. (1973). Factors Affecting Biological Denitrification of Waste Water. *Advances in Water Pollution Research*. Ed. Pergamon Press. Inglaterra. Págs. 74-78.
- Garuti, G., Dohanyos, M. and Tilche, A. (1991). "Anaerobic-aerobic combined process for the treatment of sewage with nutrient removal: The ANANOX process". *Water Technology and Enviromental Engineering*. Págs. 371-380.
- Gessner, G. H. (1988). Diccionario de química y productos químicos. Edit. Omega. Barcelona, España. Págs. 614, 618 y 621.
- Grabinska-Loniewska, A., Slomczynski, T. and Kanska, Z., (1985). "Denitrification studies with glycerol as a carbon source". *Water Research*. Vol. 19. No. 12. Págs. 1471-1477.
- Horan, N.J. (1991). Biological Wastewater Treatment Systems. Ed. John Wiley & Sons. New York. U.S.A. Págs. 187-233.
- Hulshoff, P. L. W. (1989). "The phenomenon of granulation of anaerobic sludge". Doctoral Thesis. Wageningen. Agricultural University. Netherlands. Pág. 120.

- Jiménez, C. B. (1986) "Influencia del Oxígeno disuelto sobre la Desnitrificación". En *Memorias del V Congreso Nacional SMISAAC*. Puebla, México. Págs. 119-130.
- Keisuke, H. and Polprasert, C. (1989). "Contribution of methanogenesis to denitrification with upflow filter". *Journal WPCF*. Vol. 61. No. 9. Págs. 1604-1611.
- Knowles, R. (1982). "Denitrification". *Microbiological Reviews*. Vol. 46. No. 1. Págs. 46-69.
- Lehninger, A.L. (1988). Bioquímica. Edit. Omega. 2<sup>da</sup>. edición. México, D.F. Págs. 212-217.
- Lettinga, G., van Velsen, A. F. M., Hobma, S.W., de Zeeuw, W. and Klapwijk, A. (1980). "Use of the Uplow Sludge Blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment". *Biotech. Bioeng.* Vol. 22. Págs. 699-734.
- Lewandoswki, Z. (1982). "Temperature dependency of biological denitrification with organic materials addition". *Water Research*. Vol. 16. Págs. 19-22.
- Margalef. (1989). Ecología. Ed. Omega. Barcelona, España. Págs. 759 y 760.
- Metcalf and Eddy. (1985). Wastewater engineering treatment disposal, reuse. 2a. edición. Ed. Labor. Barcelona, España. Págs. 253-259.
- Mitchell, R. (1974). Introduction to enviromental microbiology. Ed. Prentice Hall. USA. Pág. 335.

- Moreno, R. G. (1994). "Obtención de lodos granulares en un reactor UASB a partir de lodos de purga". Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). UNAM. México, D.F. págs. 54 y 55.
- Morgan-Sagastume, J.M., Jiménez, B. y Noyola, R. A. (1994). Anaerobic-Anoxic-Aerobic process with recycling and separated biomass for organic carbon and nitrogen removal from wastewater. *Enviromental Tecnology*. Vol. 15. Págs. 233-243.
- Painter, H. A. (1970). "A review of inorganic nitrogen metabolism in microorganisms". *Water Research*. Vol. 4. Págs. 393-450.
- Reynolds, T. (1982). Unit Operations and Processes in Enviromental Engineering. Ed. Books/Cole Engineering Division, Wadworth Inc. Págs. 74-80 y 82-86.
- Rhee, G. and Wolfgang, F.G. (1978). "Waste water denitrification with one-carbon compounds as energy source". *Journal WPCF*. Págs. 2111-2119.
- Rubio, M.A. (1988). "Estudio de la desnitrificación en un lecho fluidizado utilizando agua residual como fuente de carbono". Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México. Págs. 13-21.
- Russel, L., Mark, G. and Gordon, L. (1978). Handbook of advanced wastewater treatment. Second edition. Ed. Van Nostrand Reinhold Co. págs. 32, 57 y 60.
- Saval, B. S. (1992). "Desarrollo de un proceso fermentativo para la producción de estreptomicina". Tesis de

Doctorado. Unidad Académica de los Ciclos Profesionales y de Posgrado. Colegio de Ciencias y Humanidades. UNAM. México. Págs. 87-90.

Sedlak, R. (1991). Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater. Ed. Lewis Publisher, N.Y. USA. Págs. 4,5,7 y 34.

Sollo, F.W., Müller, H. F. and Larson, T.E. (1976). "Denitrification of wastewater effluents with methane". *Journal WPCF*. Vol. 48. No. 7. Págs. 1840-1842.

Stenstrom, M.K. and Poduska, R.A. (1979). "The effect of dissolved oxygen concentration on nitrification". *Water Research*. Vol. 14. Págs. 643-649.

Timmermans, P. and Van Haute, A (1983). "Denitrification with metanol". *Water Research*. Vol. 17. No. 10. Págs. 1249-1255.

Villee, C. A. (1985). Biología. 7a. edición. Ed. Interamericana, México. Pág. 76.

WPCF. (1983). Nutrient Control Manual of Practice FD-7 Facilities Design. 2<sup>ed</sup>. USA. Págs. 6, 7, 15-18, 25-29.

Werner, M. and Kayser, R. (1990). "Denitrification with biogas as external carbon source". *Wat. Sci. Tech*. Vol. 23. Págs. 701-708.

Winkler, M.A. (1986). Tratamiento biológico de aguas de desecho. Ed. Limusa. México, D.F. Págs. 256-266 y 280-283.

# APENDICE 1

COMPOSICION DEL MEDIO PARA BACTERIAS  
DESNITRIFICANTES

EJEMPLO DE CALCULOS PARA SOLUCION  
DE NITRATOS, ACTIVIDAD DESNITRIFICANTE Y  
NUMERO DE MOLES DE METANO PRESENTES  
EN CADA BOTELLA

**A) Medio para bacterias desnitrificantes propuesto por Timmermans y Van Haute, (1983).**

REACTIVO	mg/l
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	35
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	2
$\text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	2
$\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	2

Además, una solución de elementos traza de acuerdo con Painter (1970) que contiene todos los elementos requeridos para el crecimiento de la biomasa desnitrificante. La solución Stock contiene 0.02 mg/l de molibdeno (Mo), cobre (Co), cobalto (Cu), manganeso (Mn) y zinc (Zn).

**B) Cálculo para obtener la concentración que debe tener la solución que se le adicione a cada botella, para lograr la concentración requerida dentro de ésta.**

Si sabemos que  $C_1 V_1 = C_2 V_2$

En donde:

$C_1$ = Concentración (mg/l) deseada dentro de cada botella

$C_2$ = Concentración de la solución que se desea inyectar a cada botella

$V_1$  = Volumen total del líquido en la botella

$V_2$  = Volumen que desea adicionar a cada botella

EJEMPLO:

Se desea tener una concentración inicial de nitratos de 200 mg/l dentro de la botella serológica para la prueba de desnitrificación en lote, a partir de la inyección de 10 ml de una solución de concentración conocida.

$C_1$  = 200 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l

8 mililitros de lodo

32 mililitros de medio

10 mililitros de solución de nitratos

$V_1$  = 50 ml

$V_2$  = 10 ml

$$C_2 = \frac{200 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{10 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 1000 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}$$

Esto significa que se debe preparar una solución con una concentración de 1000 mg/l, de la cual se tomarán 10 ml y se adicionaran a cada botella para tener una concentración inicial de 200 mg/l.

### C) Cálculos para obtener la actividad desnitrificante

1. Se calcula la pendiente máxima de la reducción de nitratos a partir de la gráfica de concentración de nitratos contra tiempo.
2. La concentración de lodo en la botella se obtiene multiplicando la concentración SSV en el lodo original (mg/l) por el volumen de lodo introducido en la botella y se divide entre el volumen de líquido total de la botella.
3. Se divide la pendiente máxima de la reducción de nitratos entre la concentración de lodo en la botella.

Ejemplo:

Calcular la actividad desnitrificante a partir de los siguientes datos:

Pendiente: 7.36 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l·d

SSV del lodo: 9.21 g/l

Cantidad de lodo en cada botella: 8 ml

Volumen total de líquido en la botella: 50 ml

Concentración del lodo en la botella=

$$\frac{9.21 \text{ g SSV/l} \times 0.008 \text{ l}}{0.050 \text{ l}} = 1.47 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}$$

Actividad desnitrificante=

$$\frac{7.36 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{l}\cdot\text{d}}{1.47 \text{ mg SSV/l}} = 5.0 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{g SSV}\cdot\text{d}$$

D) Cálculos para conocer la cantidad de moles de metano adicionadas a cada botella.

Se realiza una curva de gas metano, para lo cual se pasan diferentes volúmenes del gas a un cromatógrafo de gases y se obtienen picos de diferente tamaño.

(ml de muestra)	(cm)	Promedio		n (número de moles en el volumen inyectado)	
0.5	20.5	20.6	20.6	20.56	$1.57 \times 10^{-5}$
0.4	17.5	17.6	17.6	17.56	$1.26 \times 10^{-5}$
0.3	14.5	14.5	14.5	14.50	$9.46 \times 10^{-6}$
0.2	11.0	10.9	10.9	10.93	$6.30 \times 10^{-6}$
0.1	6.4	6.3	6.3	3.63	$3.15 \times 10^{-6}$
0.05	3.5	3.5	3.5	3.53	$1.57 \times 10^{-6}$
0.02	1.5	1.4	1.4	1.43	$6.30 \times 10^{-7}$

Considerando un comportamiento de gas ideal:

$$n = \frac{PV}{RT}$$

$$n = \frac{0.771 \text{ atm (0.0005l)}}{0.08205 \text{ atm.l/mol } ^\circ\text{K (298}^\circ\text{K)}}$$

$$n = 1.576 \times 10^{-5}$$

Se realiza una regresión lineal, considerando que los centímetros corresponden a "x" y el número de moles a "y".

$$r = 0.992$$

$$a = 1.8827$$

$$b = 1246112.405$$

$$n = 7$$

Posteriormente, se pasan muestras de las botellas experimentales y se mide cada pico; se introducen los datos a la curva y se obtienen las moles presentes.

Ejemplo:

cm obtenidos

18.0

$$X = \frac{y - a}{b}$$

$$X = \frac{18 \text{ cm} - 1.8827}{1246112.40}$$

$$1246112.40$$

$$X = 1.27 \times 10^{-5} \text{ moles en el volumen inyectado}$$

Posteriormente se multiplican las moles obtenidas por un factor que toma en cuenta el volumen total de la fase gas de la botella.

$$F = \frac{\text{Volumen de gas en la botella}}{\text{Cantidad de gas inyectada al cromatógrafo}}$$

$$F = \frac{110 \text{ ml}}{0.3 \text{ ml}} = 366.66$$

Por lo tanto:

$1.27 \times 10^{-5}$  moles (366.66)

$46.5 \times 10^{-4}$  moles en la botella

# APENDICE 2

RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LAS  
FASES LIQUIDA Y GASEOSA

Tabla A2.1 Concentración de nitratos reducidos con respecto al tiempo. Corrida 1

TEMPERATURA 13 ° C

CONCENTRACION DE NITRATOS		44 mg/l			% DE	
TIEMPO (DIAS)	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	41.80	44.12	42.96	0.00	0.0000	
6	20.25	20.46	20.36	0.11	0.2444	
11	3.02	3.02	3.02	0.00	0.0000	

CONCENTRACION DE NITRATOS 30 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS		30 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	27.88	30.00	28.94	1.06	0.0000	
7	9.11	8.07	8.59	0.52	1.7968	

CONCENTRACION DE NITRATOS 16 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS		16 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	15.24	15.24	15.24	0.00	0.0000	
7	2.08	2.52	2.33	0.22	1.4436	

TEMPERATURA 27 ° C

CONCENTRACION DE NITRATOS 44 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS		44 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	42.08	46.84	44.46	2.38	0.0000	
11	2.70	2.70	2.70	0.00	0.0000	

CONCENTRACION DE NITRATOS 30 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS		30 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	27.66	27.00	27.33	0.33	0.0000	
10	2.73	2.00	2.36	0.36	1.3355	

CONCENTRACION DE NITRATOS 16 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS		16 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	14.3	15.24	14.77	0.47	0.0000	
10	0.93	0.93	0.93	0.00	0.0000	

TEMPERATURA 30 ° C

CONCENTRACION DE NITRATOS 30 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS		30 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION	
0	29.24	28.82	29.03	0.21	1.0000	
10	3.74	3.74	3.74	0.00	0.0000	

Tabla A2.2 Concentración de nitratos reducidos con respecto al tiempo. Corrida 2

TEMPERATURA 13 °C

500 mg/l

CONCENTRACION DE NITRATOS TIEMPO (DIAS)	CONCENTRACION		$\bar{x}$	$\sigma$	% DE VARIACION
0	479.89	479.89	479.89	0.00	0.0000
3	464.11	456.74	460.42	3.68	0.7679
6	461.54	450.02	455.96	5.76	1.2510
9	456.91	445.38	451.14	5.76	1.2644
13	425.92	415.35	420.63	5.28	1.1715
20	418.20	410.02	414.11	4.09	0.9724
33	410.12	402.81	406.46	3.65	0.8826

CONCENTRACION DE NITRATOS 200 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION		$\bar{x}$	$\sigma$	% DE VARIACION
0	192.00	186.42	189.21	2.79	0.0000
3	179.80	178.00	178.90	0.90	0.4757
6	177.00	176.94	176.97	0.03	0.0168
9	169.81	168.63	169.21	0.59	0.3334
13	160.81	148.00	154.40	6.41	3.7852
20	160.71	147.21	153.96	6.75	4.3718
33	147.21	134.02	140.61	6.59	4.2836

CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION		$\bar{x}$	$\sigma$	% DE VARIACION
0	58.59	58.57	58.57	0.01	0.0000
3	50.51	50.27	50.75	0.12	0.2049
6	42.81	42.30	43.32	0.26	0.5025
9	22.26	21.00	23.53	0.63	1.4543
13	22.21	21.30	23.13	0.45	1.9337
20	11.58	10.70	12.46	0.44	1.9023
33	7.21	7.00	7.42	0.10	0.8427

TESTIGO  
CONCENTRACION DE NITRATOS 200 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION
0	189.21
3	178.90
6	176.98
9	169.21
13	154.42
20	153.96
33	140.15

Continuación de la Tabla A2.2

Temperatura 27 ° C

CONCENTRACION DE NITRATOS 500 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION		$\bar{x}$	$\sigma$	% DE
					VARIACION
0	487.17	457.97	472.57	11.921	3.0894
3	457.97	464.11	461.04	2.507	0.6658
6	431.94	420.13	426.03	4.821	1.3860
9	429.52	410.06	419.79	7.945	2.3178
13	387.00	370.42	378.71	6.769	2.1890
20	376.20	371.15	373.67	2.062	0.6757
33	357.32	352.12	354.72	2.123	0.7329

CONCENTRACION DE NITRATOS 200 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION		$\bar{x}$	$\sigma$	% DE
					VARIACION
0	188.32	186.57	187.44	0.875	0.4668
3	168.61	164.01	166.31	2.300	1.3830
6	155.21	157.39	156.30	1.090	0.6974
9	140.67	143.27	141.97	1.300	0.9157
13	133.18	136.06	134.59	1.440	1.0699
20	128.85	121.65	125.25	3.600	2.8743
33	110.69	110.11	110.40	0.290	0.2627

CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION		$\bar{x}$	$\sigma$	% DE
					VARIACION
0	57.65	58.42	58.03	0.385	0.6634
3	19.72	17.22	18.47	1.250	6.7677
6	10.58	8.52	9.55	1.030	10.7853
9	3.60	5.72	4.66	1.060	22.7468
13	2.08	2.12	2.10	0.020	0.9524

TESTIGO

CONCENTRACION DE NITRATOS 200 mg/l

TIEMPO CONCENTRACION

0	187.44
3	166.31
6	156.29
9	141.97
13	134.59
20	125.25
33	110.40

Continuación de la Tabla A2.2

Temperatura 30 ° C

CONCENTRACION DE NITRATOS 500 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			% DE	
			$\bar{x}$	$\sigma$	VARIACION
0	486.90	487.50	487.20	0.300	0.0616
3	416.55	415.92	416.23	0.315	0.0757
6	411.22	410.32	410.77	0.450	0.1096
9	406.12	405.02	405.57	0.550	0.1356
13	374.54	373.85	374.19	0.345	0.0922
20	365.12	367.18	366.15	1.030	0.2813
33	358.15	356.32	357.23	0.915	0.2561

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 200 mg/l			% DE	
	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION
0	190.44	197.46	193.95	3.510	1.8097
3	143.84	151.34	147.59	3.750	2.5408
6	139.22	142.31	140.76	1.545	1.0976
9	127.12	128.85	127.98	0.865	0.6759
13	121.65	116.70	119.17	2.475	2.0769
20	111.56	115.88	113.72	2.160	1.8994
33	101.61	110.98	106.29	4.685	4.4078

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l			% DE	
	CONCENTRACION			$\sigma$	VARIACION
0	56.45	57.48	56.96	0.515	0.9041
3	19.45	16.86	18.15	1.295	7.1350
6	7.22	6.13	0.00	0.545	0.0000
9	1.90	2.00	1.95	0.050	2.5641
13	0.82	1.36	1.09	0.270	24.7706

TESTIGO

CONCENTRACION DE NITRATOS 200 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION
0	193.95
3	147.59
6	140.76
9	127.98
13	113.72
20	106.29
33	87.65

Tabla A2.3 Concentración de nitratos reducidos con respecto al tiempo. Corrida 3

Temperatura 20 °C

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 20 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	17.40	16.43	17.30	17.33	17.20	0.436	2.514
1	14.19	12.93	14.00	14.00	17.00	0.555	3.962
3	9.80	8.25	8.03	9.53	15.00	0.788	8.265
4	6.66	6.60	11.09	6.93	13.21	2.103	30.341
5	4.63	3.17	4.97	4.25	11.06	0.781	18.372

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 40 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	39.00	35.07	39.83	37.96	39.40	2.076	5.469
1	37.76	30.70	36.66	35.04	37.40	3.102	8.851
2	33.15	27.00	33.63	31.26	36.00	3.019	9.657
3	29.04	23.20	25.27	25.83	35.21	2.418	9.360
5	23.13	20.10	21.62	21.61	30.72	1.237	5.724
8	17.00	17.72	17.72	17.48	28.17	0.339	1.942
11	14.84	14.80	12.79	14.82	*	0.957	6.458
14	6.00	6.72	6.72	6.48	26.34	0.339	5.238

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	58.20	60.20	60.20	59.53	58.00	0.943	1.584
3	42.00	37.47	42.00	40.49	*	2.135	5.274
5	35.02	32.71	35.00	34.24	48.37	1.084	3.167
8	29.89	29.89	29.00	29.59	48.20	0.420	1.418
11	23.06	24.79	23.30	23.71	*	0.765	3.228
14	21.33	22.00	21.00	21.44	45.97	0.416	1.940

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 80 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	78.29	78.29	78.54	78.37	77.01	0.118	0.150
3	67.74	67.74	62.46	67.74	75.30	2.489	3.674
5	49.58	49.58	49.87	49.67	72.98	0.137	0.275
14	44.68	44.68	44.20	44.52	67.39	0.226	0.508
19	43.38	43.07	43.21	43.22	67.00	0.127	0.293
24	32.71	32.00	32.71	32.47	0.00	0.335	1.031
26	28.39	25.31	28.31	27.29	66.93	1.433	5.253

Continuación de la Tabla A2.3

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 100 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	99.00	99.22	99.00	99.00	95.38	0.104	0.105
4	68.85	69.28	69.28	69.13	92.00	0.203	0.293
8	54.18	53.18	54.18	53.84	90.39	0.471	0.876
19	44.00	44.39	44.00	42.81	86.52	0.184	0.429
22	40.73	40.73	40.73	40.73	*	0.000	0.000
26	37.18	37.00	37.18	37.12	81.40	0.085	0.229

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 120 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	118.30	117.00	118.30	117.86	117.20	0.613	0.520
4	108.00	108.02	108.00	108.00	115.20	0.009	0.009
8	92.30	92.30	92.51	92.37	111.31	0.099	0.107
14	87.32	85.42	85.32	85.37	110.00	0.920	1.078
19	83.54	83.00	83.54	83.36	*	0.255	0.305
22	80.02	80.00	81.00	80.34	109.32	0.467	0.581
26	78.20	78.20	78.20	78.20	108.59	0.000	0.000

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 140 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	138.00	138.20	138.00	138.13	136.89	0.094	0.068
8	115.88	115.60	115.60	115.69	132.11	0.132	0.114
11	109.25	109.25	110.80	109.76	130.80	0.731	0.666
19	104.64	104.62	107.81	104.63	130.00	1.499	1.433
22	98.30	97.40	92.53	97.85	*	2.535	2.590
26	87.00	87.00	83.54	87.00	127.00	1.631	1.875

\* Muestras no determinadas

$\sigma$  DESVIACION

$\bar{x}$  PROMEDIO

Tabla A2.4 Concentración de nitratos reducidos con respecto al tiempo. Corrida 4

TEMPERATURA 27 °C

CONCENTRACION DE NITRATOS 20 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	17.76	18.80	18.00	18.45	19.80	0.445	2.410
1	12.97	13.90	12.93	13.28	17.32	0.448	3.374
2	8.68	8.64	8.64	8.65	15.98	0.019	0.218
3	2.23	2.00	2.00	2.07	13.76	0.108	5.238

CONCENTRACION DE NITRATOS 40 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	40.51	39.40	39.40	39.77	40.00	0.523	1.316
1	32.43	33.15	32.43	33.77	38.02	0.339	1.005
2	28.89	28.89	29.98	29.25	36.29	0.514	1.757
3	25.94	25.22	26.23	25.79	35.30	0.425	1.646
5	14.19	14.19	15.17	14.51	32.11	0.462	3.184
6	1.90	2.02	2.02	1.91	28.17	0.057	2.962

CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	58.30	57.90	58.88	58.96	58.00	0.402	0.682
3	47.40	46.20	48.63	47.41	57.20	0.992	2.093
6	36.50	37.00	38.91	37.47	57.00	1.038	2.772
9	21.30	21.30	20.37	20.99	55.32	0.438	2.089
10	15.30	15.20	15.07	15.19	*	0.094	0.620
12	5.40	5.40	5.46	5.42	54.21	0.028	0.522

CONCENTRACION DE NITRATOS 80 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	78.49	79.00	79.00	78.83	78.39	0.240	0.305
3	68.32	68.46	68.32	68.36	*	0.066	0.097
7	40.86	47.65	49.87	46.12	98.00	3.833	8.310
8	37.04	38.19	40.93	38.72	*	1.632	4.214
10	28.43	28.60	28.43	28.43	96.33	0.080	0.282
15	23.16	23.16	23.16	23.16	92.50	0.000	0.000

Continuación de la Tabla A2.4

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 100 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	100.31	100.00	98.39	99.56	98.80	0.842	0.845
5	76.68	76.00	74.08	75.58	98.00	1.101	1.457
10	61.54	63.13	63.13	62.60	96.33	0.750	1.197
15	44.89	47.87	49.00	47.24	92.50	1.734	3.670
19	38.20	38.40	37.20	39.06	89.40	0.525	1.344
26	35.88	38.91	35.88	37.30	88.10	1.428	3.829

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 120 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	118.80	118.80	118.93	118.96	118.29	0.069	0.058
5	82.71	82.15	82.73	81.86	117.00	0.362	0.442
10	75.67	75.00	75.00	75.22	115.18	0.104	0.138
15	72.06	71.00	78.26	73.77	114.90	2.991	4.055
19	68.60	68.00	71.49	69.36	*	1.436	2.071
26	56.30	56.30	58.95	57.68	109.30	1.082	1.876

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 140 mg/l			$\bar{x}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION						
0	138.50	139.00	138.30	138.93	137.94	0.315	0.227
5	113.29	113.29	11.99	112.85	137.34	47.650	42.224
10	105.20	106.30	106.20	105.90	135.00	0.170	0.160
15	93.00	92.50	93.30	92.93	134.29	0.327	0.352
19	84.31	89.65	98.73	89.07	128.00	4.423	4.966
26	87.92	78.50	78.69	78.50	126.50	0.090	0.114

$\bar{x}$  PROMEDIO

$\sigma$  DESVIACION

\* Muestras no determinadas

Continuación de la Tabla A2.4

Temperatura 30 °C

CONCENTRACION DE NITRATOS 20 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	21.90	19.25	19.25	20.13	18.30	1.249	6.206
1	16.00	16.71	15.71	16.14	17.34	0.420	2.603
2	10.05	11.21	10.30	10.52	17.26	0.498	4.738
3	1.95	1.00	1.00	1.35	15.00	0.448	33.173

CONCENTRACION DE NITRATOS 40 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	38.70	38.70	41.95	39.78	37.00	1.532	3.851
1	35.00	35.38	36.00	35.46	35.00	0.412	1.162
3	30.26	30.26	29.54	30.02	29.81	0.339	1.131
4	25.90	25.60	25.60	25.70	*	0.141	0.550
5	18.84	14.62	14.62	14.62	27.40	1.989	13.607
6	2.02	2.02	2.02	2.02	25.02	0.000	0.000

CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	57.38	55.21	59.55	57.38	60.00	1.772	3.088
3	45.00	45.00	46.89	45.63	57.20	0.891	1.953
6	38.34	37.21	39.23	40.50	56.34	0.827	2.041
9	20.31	20.10	22.95	21.42	54.70	1.297	6.054
10	13.60	13.60	13.69	13.63	*	0.042	0.311
12	2.30	2.00	2.63	2.31	52.30	0.000	0.000

CONCENTRACION DE NITRATOS 80 mg/l

TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$	% DE VARIACION
0	74.23	78.00	78.00	76.74	78.00	1.777	
3	66.44	73.00	72.89	70.77	75.00	3.067	4.333
7	44.24	49.50	46.38	46.70	71.02	2.160	4.625
8	36.61	35.61	35.61	35.94	*	0.471	1.312
10	26.89	26.00	26.39	26.42	65.31	0.364	1.379
15	15.16	15.16	15.30	15.20	62.00	0.066	0.434

Continuación de la Tabla A2.4

CONCENTRACION DE NITRATOS		100 mg/l						% DE
TIEMPO		CONCENTRACION		$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$		VARIACION
0	100.01	98.99	98.99	99.33	97.37	0.481		0.484
5	75.00	76.36	75.30	75.55	93.21	0.583		0.772
10	52.46	53.00	53.00	52.82	89.51	0.255		0.482
15	43.21	43.21	43.32	43.24	88.71	0.052		0.120
19	38.70	38.70	39.80	39.06	*	0.519		1.328
26	37.76	37.00	37.46	37.30	87.00	0.313		0.838

CONCENTRACION DE NITRATOS		120 mg/l						% DE
TIEMPO		CONCENTRACION		$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$		VARIACION
0	121.93	121.00	121.00	121.31	117.42	0.438		0.361
5	*	108.67	108.67	108.67	112.89	0.000		0.000
10	85.22	85.22	87.05	85.83	108.21	0.863		1.005
15	59.09	59.94	60.09	59.99	105.00	0.440		0.734
19	50.00	50.00	50.00	50.00	*	0.000		0.000
26	46.41	46.41	40.00	44.27	101.00	3.022		6.826

CONCENTRACION DE NITRATOS		140 mg/l						% DE
TIEMPO		CONCENTRACION		$\bar{X}$	TESTIGO	$\sigma$		VARIACION
0	140.10	140.00	140.10	140.00	137.00	0.047		0.034
5	127.70	127.70	122.51	125.10	130.00	2.447		1.956
10	87.05	*	106.08	104.64	125.21	2.447		1.956
15	97.43	91.67	91.00	93.36	123.00	2.886		3.091
22	89.00	89.14	89.00	89.04	*	0.066		0.074
26	78.50	78.69	78.69	78.62	120.00	0.090		0.114

\* Muestras no determinadas

$\bar{X}$  PROMEDIO

$\sigma$  DESVIACION

Tabla A2.5 Concentración de nitratos reducidos con respecto al tiempo. Corrida 5

TEMPERATURA 30 °C

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 30 mg/l			$\bar{X}$	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION					
0	30.00	29.32	29.32	29.54	0.321	1.085
1	20.30	18.30	19.00	19.20	0.829	4.316
2	8.37	8.37	9.99	8.21	0.764	9.302
3	3.20	2.08	2.08	2.45	0.528	21.550
5	0.99	0.98	0.99	0.98	0.005	0.481
7						

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 60 mg/l			$\bar{X}$	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION					
0	61.39	62.00	58.20	60.53	1.565	2.585
1	45.28	45.30	45.20	45.26	0.041	0.091
2	40.30	40.30	41.02	40.54	0.299	0.738
3	35.50	36.38	37.21	36.36	0.396	1.089
5	20.38	23.20	23.40	22.32	0.469	2.102
7	*	18.12	18.00	18.06	0.049	0.271
9	15.00	8.52	15.99	15.49	3.410	22.012
12	11.38	9.32	9.00	9.90	0.372	0.000

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 90 mg/l			$\bar{X}$	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION					
0	93.40	93.43	90.00	92.27	1.610	1.745
1	78.32	78.30	77.21	77.94	0.519	0.665
2	67.31	68.21	68.00	67.84	0.384	0.567
3	55.21	55.21	55.21	55.21	0.000	0.000
5	50.28	50.38	51.00	50.55	0.318	0.630
7	45.29	45.29	47.38	45.86	0.985	2.148
9	42.29	42.64	42.64	42.52	0.165	0.388
12	34.11	34.11	34.00	34.07	0.052	0.152

TIEMPO	CONCENTRACION DE NITRATOS 120 mg/l			$\bar{X}$	$\sigma$	% DE VARIACION
	CONCENTRACION					
0	120.48	120.00	118.00	119.49	1.074	0.899
1	109.28	107.31	107.31	107.96	0.929	0.860
2	95.42	98.39	95.31	96.37	1.427	1.480
3	90.63	90.51	91.38	90.84	0.385	0.424
5	85.42	83.21	86.52	85.05	1.376	1.618
7	80.02	79.00	79.00	79.34	0.481	0.606
9	75.42	*	74.21	74.81	0.570	0.762
12	63.32	68.50	68.21	68.35	2.376	3.477

Continuación de la Tabla A2.5

CONCENTRACION DE NITRATOS		150 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	$\sigma$	VARIACION
0	150.00	151.20	150.21	150.47	0.523	0.348
1	135.28	135.28	132.61	134.39	1.259	0.937
2	120.00	120.00	120.62	120.20	0.292	0.243
3	115.21	116.31	117.32	116.28	0.862	0.741
5	107.32	107.32	106.21	106.95	0.523	0.489
7	99.31	98.39	98.39	98.69	0.434	0.439
9	91.21	92.06	92.06	91.77	0.401	0.437
12	85.42	85.05	85.05	85.17	0.174	0.205

CONCENTRACION DE NITRATOS		200 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	$\sigma$	VARIACION
0	196.00	196.40	196.40	196.26	0.189	0.096
1	183.31	183.21	181.21	182.57	0.967	0.530
2	171.20	171.20	173.00	171.80	0.849	0.494
3	168.81	168.00	166.32	167.71	1.037	0.618
5	160.31	159.38	159.28	159.65	0.464	0.290
7	153.00	151.21	151.38	151.86	0.807	0.531
9	146.31	151.21	146.31	146.31	2.310	1.579
12	139.23	138.53	139.00	138.91	0.291	0.210

CONCENTRACION DE NITRATOS		250 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	$\sigma$	VARIACION
0	246.00	246.02	246.20	246.00	0.090	0.037
1	233.13	231.00	232.40	232.17	0.884	0.381
2	216.41	216.00	217.21	216.54	0.502	0.232
3	208.80	210.20	216.31	209.50	3.261	1.556
5	198.39	198.21	196.52	197.70	0.842	0.426
7	190.32	189.31	189.57	189.73	0.428	0.226
9	184.52	183.35	184.52	184.13	0.552	0.300
12	177.21	176.70	176.50	176.80	0.299	0.169

CONCENTRACION DE NITRATOS		300 mg/l			% DE	
TIEMPO	CONCENTRACION			$\bar{X}$	$\sigma$	VARIACION
0	289.20	289.20	289.20	289.20	0.000	0.000
1	275.44	276.00	275.00	275.48	0.409	0.149
2	260.30	268.29	261.48	263.35	3.521	1.337
3	250.00	249.32	250.00	249.77	0.321	0.128
5	244.52	244.08	245.23	244.61	0.474	0.194
7	238.00	238.32	237.52	237.94	0.329	0.138
9	230.51	231.22	229.29	230.34	0.797	0.346
12	225.42	223.32	224.05	224.26	0.870	0.388

Continuación de la Tabla A2.5

CONCENTRACION DE NITRATOS TIEMPO	400 mg/l CONCENTRACION			$\bar{x}$	$\sigma$	% DE VARIACION
	0	404.27	402.20			
1	390.95	388.56	388.61	134.39	1.115	0.830
2	377.62	376.00	376.00	120.20	0.764	0.635
3	370.23	369.31	368.00	116.28	0.915	0.787
5	364.29	362.42	362.40	106.95	0.886	0.829
7	358.61	355.32	355.00	98.69	1.632	1.653
9	350.48	349.32	350.00	91.77	0.476	0.519
12	343.32	344.58	349.21	85.17	2.532	2.973

CONCENTRACION DE NITRATOS TIEMPO	500 mg/l CONCENTRACION			$\bar{x}$	$\sigma$	% DE VARIACION
	0	488.68	489.09			
1	470.20	471.46	471.36	471.00	0.572	0.121
2	462.49	468.29	468.30	466.36	2.737	0.587
3	456.38	*	453.22	454.32	214.399	0.000
5	448.01	447.00	447.00	447.30	0.476	0.106
7	442.56	440.62	439.52	440.90	1.257	0.076
9	436.02	435.32	435.32	435.55	0.330	2.456
12	428.30	435.32	427.21	146.31	3.594	0.000

$\bar{x}$  PROMEDIO  
 $\sigma$  DESVIACION

\*Muestras no determinadas

Tabla A2.6 Seguimiento del gas nitrógeno (moles E-5). Corrida 1

TEMPERATURA (°C)	13						27						30			
CONC. DE NITRATOS (mg/l)	16		30		44		44		30		16		30		30	
TIEMPO (días)																
0	3.42	3.12	4.6	3.86	2.39	2.24	4.45	3.86	4.01	4.01	2.39	2.39	4.3	4.3	2.83	2.39
2	2.68	2.98	2.39	2.83	2.53	3.57	2.68	2.98	2.68	2.68	2.98	2.98	2.98	3.12	3.12	2.83
3	3.12	3.42	2.68	2.68	2.09	1.94	2.83	2.68	2.83	2.21	3.57	2.53	3.57	3.71	4.3	3.42
4	3.57	2.98	2.98	4.01	2.83	3.42	3.12	2.98	3.12	2.83	3.27	3.42	3.71	2.98	3.71	3.12
6	4.89	2.83	3.42	3.12	5.19	6.22	4.16	2.83	3.12	2.83	3.27	3.12	3.42	2.98	3.71	3.12
7	4.89	2.68	3.71	2.53	5.34	5.63	2.68	2.09	2.68	2.09	3.68	2.53	3.12	2.24	3.57	2.53
9	6.02	3.86	4.3	4.45	8.29	9.03	2.68	2.83	2.68	3.42	2.68	2.98	2.98	3.86	2.53	1.65
10							2.53	3.57	2.83	2.68	2.98	2.68	3.42	3.71	3.27	2.68
11							2.68	2.98	2.68	2.53	2.83	3.12	2.53	2.53	2.53	2.53
13							3.27	2.53	2.39	2.39	2.83	3.71	2.68	3.57	2.68	3.57
14							3.57	3.57	3.27	2.98	3.57	3.12	3.71	2.98	3.12	3.27

Tabla A2.7 Seguimiento del gas metano (moles E-4). Corrida 1

TEMPERATURA (°C)	13						27						30			
CONC. DE NITRATOS (mg/l)	16		30		44		16		30		44		30		30	
TIEMPO (días)																
0	47.48	44.93	42.99	45.22	45.52	47.16	44.93	45.52	45.22	46.84	47.8	46.84	47.79	47.16	44.61	44.61
2	39.84	45.22	41.75	46.21	38.89	38.98	45.89	45.52	45.22	36.66	47.79	46.84	47.79	47.79	48.11	40.79
3	35.53	41.43	37.61	38.57	35.69	37.92	44.29	47.16	48.43	37.6	47.79	47.48	47.78	48.11	47.48	47.48
4	34.43	39.2	34.75	38.57	33.15	34.75	41.11	46.21	45.88	36.34	47.48	47.16	47.16	47.16	47.48	46.52
6	29.76	33.15	31.88	32.52	29.65	29.34	37.61	42.07	42.07	33.15	42.39	41.75	42.7	43.02	43.34	42.39
7	31.5	33.7	33.1	33.9	30.29	29.65	40.16	43.34	44.61	33.1	44.93	42.39	45.57	45.89	43.66	43.02
9	32.2	32.84	32.52	33.79	29.99	28.06	40.48	44.93	46.21	30.61	40.48	44.93	46.21	45.89	44.61	45.25
10							41.43	45.25	45.89	34.43	46.21	43.98	44.93	45.57	45.25	45.25
11							38.25	41.23	43.34	34.43	43.66	43.98	42.07	43.66	43.98	43.02
13							41.43	44.93	44.93	30.61	45.57	44.3	44.93	45.89	45.25	43.66
14							42.7	46.21	46.52	38.57	46.84	44.93	45.25	46.84	47.8	46.52

Tabla A2.8 Seguimiento del gas nitrógeno (moles E-4). Corrida 2

TEMPERATURA (°C)	13						27						30					
CONC. DE NITRATOS (mg/l)	60		200		500		60		200		500		60		200		500	
TIEMPO (días)																		
0	5.77	5.36	2.7	2.08	5.36	2.7	5.77	5.15	5.15	2.7	2.7	2.7	5.77	5.77	5.56	2.9	5.56	3.51
1	0.45	0.65	0.24	1.47	2.9	2.7	3.11	2.49	1.06	1.06	3.11	3.11	3.31	3.51	0.86	1.06	3.7	2.9
2	2.7	2.9	4.13	2.9	3.11	2.7	2.9	2.9	2.7	2.49	3.11	3.27	4.95	5.36	3.31	2.9	3.92	5.15
3	2.29	1.88	4.95	3.11	2.9	2.9	2.7	2.7	2.7	3.11	2.9	2.29	5.97	4.54	3.31	3.11	5.56	5.56
5	2.7	6.99	2.9	4.74	2.7	2.9	2.7	2.7	2.9	3.11	2.29	2.7	3.11	3.11	3.72	3.92	5.36	5.15
6	3.92	7.81	3.31	4.13	3.11	6.17	2.7	4.13	4.13	3.72	3.51	2.7	3.11	4.33	3.11	3.11	3.72	3.72
7	5.36	9.86	3.72	5.15	4.13	6.38	3.11	2.7	3.92	3.72	2.9	2.7	1.88	2.9	3.92	4.13	2.7	2.49
9	6.92	9.24	5.36	9.24	5.36	9.86	2.7	4.54	2.9	2.49	2.7	2.7	3.31	3.31	3.11	4.33	2.9	2.7
10	9.24	17.84	9.84	11.29	7.81	13.1	2.9	3.92	2.7	2.9	2.7	2.7	3.51	3.51	3.51	3.31	3.11	2.9
12							3.11	3.72	3.72	3.92	2.49	2.9	3.72	3.72	3.51	3.31	2.9	2.7
13							2.7	2.7	2.7	3.11	3.92	4.13	4.33	4.33	2.9	2.9	2.9	2.7
14							3.51	3.51	3.51	3.11	2.7	2.9	3.31	3.31	5.36	3.51	4.13	3.72
15							4.33	3.51	4.13	3.92	3.92	2.9	3.51	3.51	3.51	3.11	3.31	3.11
16							3.11	4.54	4.33	3.11	3.11	2.7	2.9	3.31	4.13	2.49	3.51	3.51
17							3.31	4.13	2.9	3.11	3.31	3.11	3.51	3.92	3.11	2.49	5.15	4.33
19							3.11	3.51	4.13	4.13	2.7	2.49	4.13	3.51	3.51	3.31	3.51	3.11
20							3.72	2.7	3.51	3.31	3.11	2.7	2.9	3.11	3.51	4.33	4.54	4.33
21							3.11	4.33	4.13	3.72	2.9	3.92	2.9	3.11	4.13	2.9	5.15	4.74
22									3.11	2.7	2.9	3.31			3.72	4.74	3.31	3.51
23									4.13	3.72	3.11	3.31			4.54	3.92	3.51	3.51
25									3.72	3.31	3.51	4.54			4.13	5.97	3.92	3.72
26									3.51	3.31	2.49	3.51			2.9	6.17	2.7	3.11
27									3.51	3.31	3.51	4.33			4.13	3.51	5.77	5.36
28									3.51	3.31	3.31	4.74			3.51	3.51	5.36	4.95
29									4.54	3.92	3.72	3.51			4.95	3.72	3.92	3.92
31									3.72	3.31	3.11	3.92			3.92	4.33	3.72	3.51
33									4.5	3.72	4.54	2.7			2.29	4.95	3.11	3.11
									3.95	3.11	3.92	5.54			3.92	3.72	4.95	4.33

Tabla A2.9 Seguimiento del gas metano (moles E-4). Corrida 2

TEMPERATURA (°C)	13						27						30					
CONCENTRACION DE NITRATOS (mg/l)	60		200		500		60		200		500		60		200		500	
TIEMPO (dias)																		
0	54.70	51.62	54.70	54.70	56.90	58.22	58.66	44.13	57.78	59.54	60.42	58.22	58.66	44.13	58.66	59.10	53.82	50.29
1	59.54	54.26	57.78	54.70	59.98	59.10	61.74	48.97	61.74	62.18	60.86	60.86	61.74	48.97	62.18	59.10	58.22	48.53
2	49.41	35.33	38.41	38.85	60.42	36.21	53.82	50.29	39.73	52.50	62.62	63.06	53.82	50.29	65.26	60.42	58.22	56.46
3	36.65	35.33	30.49	30.49	49.41	30.49	50.29	46.33	37.79	49.85	41.93	44.57	50.29	46.33	54.70	56.46	52.94	48.09
5	32.69	28.29	32.69	31.37	36.21	28.85	48.97	44.57	38.41	49.41	31.81	38.41	48.97	44.57	58.66	53.38	53.38	48.97
6	30.05	24.33	31.37	30.05	32.69	27.85	46.77	31.81	32.69	31.37	36.65	36.65	46.77	31.81	57.78	52.92	53.38	48.97
7	28.29	22.57	28.51	25.89	30.05	27.41	47.85	43.25	36.21	31.37	38.41	37.09	47.85	43.25	51.17	52.06	50.73	48.97
9	25.30	18.32	26.09	23.45	28.51	25.30	46.77	43.25	37.53	33.13	38.85	37.09	46.77	43.25	56.90	52.94	51.62	49.85
10							47.85	43.69	37.09	31.37	36.65	36.65	47.85	43.69	52.94	51.17	51.62	49.85
12							45.89	41.49	35.77	31.37	35.77	35.77	45.89	41.49	53.82	51.17	50.29	51.62
13							50.73	46.77	39.73	34.89	40.81	39.73	50.73	46.77	56.02	55.58	53.82	51.62
14							41.49	38.41	33.57	28.73	40.81	39.73	41.49	38.41	45.89	38.41	46.77	43.69
15							46.77	42.37	35.77	32.69	34.89	32.25	46.77	42.37	53.99	44.57	50.29	43.69
16							43.69	40.17	34.89	33.13	37.53	31.81	43.69	40.17	54.26	41.05	45.89	46.57
17							47.21	43.25	36.65	32.25	34.89	34.01	47.21	43.25	52.94	43.25	49.85	52.94
19							45.01	41.49	36.21	31.37	37.97	37.09	45.01	41.49	53.38	41.93	48.53	48.09
20							42.88	38.47	34.50	31.41	37.09	37.53	42.88	38.47	51.17	40.68	45.09	44.65
21									35.38	31.85	36.26	33.62			53.04	40.24	48.62	46.86
22									33.17	31.41	37.15	34.50			49.50	38.91	45.09	43.77
23									35.38	32.29	35.38	34.08			52.15	39.35	46.41	43.32
25									29.20	28.32	34.94	35.82			49.50	44.21	47.30	43.32
26									35.82	33.17	30.97	30.52			51.27	40.24	45.53	41.56
27									32.73	31.41	37.15	36.26			47.74	38.47	42.88	41.56
28									33.61	32.29	33.21	33.21			49.95	39.35	45.53	44.65
29									33.17	31.41	30.60	30.80			47.74	38.03	43.32	42.44
31									30.52	30.08	30.00	30.00			46.86	32.73	40.68	42.44
33									28.32	29.20	27.60	25.40			48.18	40.24	42.88	42.44

Tabla A2.10 Seguimiento del gas metano (moles E-4). Corrida 3

TEMPERATURA (°C)	20						
CONC. DE NITRATOS (mg/l)	20	40	60	80	100	120	140
TIEMPO (días)							
0	49.18	52.13	49.18	52.12	51.83	51.83	50.95
	49.18	52.13	49.18	48.30	51.83	51.83	51.24
	49.18	52.13	49.48	50.07	51.83	51.83	50.95
3	45.07						
	45.95						
	45.83						
5	39.18						
	39.59						
	40.36						
8		38.00	37.71				
		38.59	38.59				
		37.71	40.95				
14		34.28		22.41	20.94	25.35	26.53
		36.00		21.82	22.41	26.82	26.82
		34.00		20.94	23.59	25.35	27.76
26			25.38	20.00	15.96	17.55	20.94
			21.82	21.00	14.76	15.05	15.99
			25.38	20.00	15.05	20.94	16.85

Tabla A2.11 Seguimiento del gas metano (moles E-4). Corrida 4

TEMPERATURA (°C)	20							20						
CONC. DE NITRATOS (mg/l)	20	40	60	80	100	120	140	20	40	60	80	100	120	140
TIEMPO (días)														
0	45.27	45.18	45.27	45.48	46.09	45.07	45.36	45.01	40.83	45.27	45.71	45.74	51.83	45.74
	45.95	45.36	45.27	45.83	45.83	45.36	45.51	45.01	45.27	45.27	38.30	45.36	51.83	45.36
	44.80	45.95	45.27	45.59	45.74	45.57	45.15	45.86	45.27	45.48	45.48	45.36	51.83	45.36
3	45.07							44.31						
	45.95							40.20						
	44.00							40.20						
5	36.18							36.18						
	33.59							35.20						
	36.36							35.50						
8		30.20	26.50	27.00					29.80	30.59				
		30.30	27.00	25.30					30.30	26.30				
		33.59	23.40	23.30					30.59	26.30				
14		25.35	15.30	15.62	20.42	16.21	15.31		24.32	15.62	17.31	17.61	25.35	15.62
		25.35	20.51	17.31	17.51	16.21	15.33		22.21	17.31	18.21	16.21	26.82	16.21
		26.90	15.30	17.31	17.51	20.30	15.33		22.71	17.31	17.31	15.00	25.35	17.38
26					14.38	11.30	9.82				16.20	14.20	17.55	14.21
					11.12	11.30	10.21				14.31	12.30	15.05	11.80
					11.00	10.90	10.21				15.00	12.30	20.94	10.21