



01190  
12  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO  
EN INGENIERÍA

CAMPO DEL CONOCIMIENTO: INGENIERÍA AMBIENTAL

BIODEGRADACIÓN DE COMPUESTOS  
NITROAROMÁTICOS Y UN COLORANTE  
AZO POR MEDIO DE UN BIOFILTRO  
DISCONTINUO ANAEROBIO/AEROBIO

**T E S I S**

Q U E P R E S E N T A:

M. I. ROSA MARÍA MELGOZA ALEMÁN  
PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN INGENIERÍA

DIRIGIDA POR:

DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ

MÉXICO, D.F.

2003

A



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## JURADO ASIGNADO

Presidente:	Dr. Simón González Martínez
Primer Vocal:	Dr. Germán Buitrón Méndez
Segundo vocal:	Dra. Georgina Fernández Villagómez
Tercer vocal:	Dr. Elías Razo Flores
Secretario:	Dra. Petia Mijaylova Nacheva Bogdanova
Primer suplente:	Dr. Alfonso Durán Moreno
Segundo suplente:	Dr. Sergio Revah Moiseev

### Lugar donde se desarrolló la investigación:

Instituto de Ingeniería, U.N.A.M.  
Coordinación de Bioprocesos Ambientales

### DIRECTOR DE TESIS

Vo.Bo.

Dr. Germán Buitrón Méndez



---

### SUSTENTANTE

M.I. Rosa María Melgoza Alemán

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas o UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcionado.

NOMBRE: Rosa María Melgoza Alemán

FECHA: 02/02/02

FIRMA: [Handwritten Signature]

## AGRADECIMIENTOS

Al **Instituto de Ingeniería de la U.N.A.M.**, a través de la Coordinación de *Bioprocesos Ambientales* por el apoyo brindado para la realización de la investigación

A la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos**, a través del *Programa de Becas PROMEP* (Programa de mejoramiento al profesorado) por la beca otorgada para la realización de los estudios doctorales y a la *Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería*, por el apoyo proporcionado para la obtención del grado.

Al **Dr. Germán Buitrón Méndez**, por la dirección del presente trabajo y por sus valiosas enseñanzas y apoyo durante el desarrollo de la investigación.

Al **Dr. Simón González Martínez** y a la **Dra. Petia Mijaylova Nacheva**, integrantes del Comité Tutoral y del Jurado Doctoral por sus valiosas aportaciones a lo largo de la investigación.

A los integrantes del **H. Jurado Doctoral**:

Dra. Georgina Fernández Villagómez,  
Dr. Elías Razo Flores,  
Dr. Alfonso Durán Moreno  
Dr. Sergio Revah Moiseev,

por su colaboración e invaluable aportaciones para mejorar el presente trabajo de tesis.

C

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis amigas de siempre de la FCQI – UAEM, la M.C. Raquel Arellano Martínez, Martha L. Domínguez Patiño y Q.I. Estela Flores Martínez por su colaboración, apoyo y amistad.

A Arturo Cruz Ojeda, Gloria Moreno Rodríguez, Wilder Rodríguez por la colaboración, apoyo y amistad que me brindaron durante mi estancia en el Instituto de Ingeniería.

A mis compañeros de grupo del Instituto de Ingeniería: Maribel Quezada, Ivan Moreno, Mario Chew, Alejandro Fonseca, Leonardo Jiménez, Gabriela Soto, Laura Ojeda, gracias por su amistad.

A todas las personas que de alguna manera me apoyaron para la culminación de este trabajo.

## **DEDICATORIAS**

**A DIOS**

**Por permitirme culminar esta fase de mi vida.**

**A MI HIJA ALEJANDRA**

**Con mucho amor por su cariño, comprensión, confianza y por alentarme a terminar este proyecto.**

**A MI MADRE SRA. EMA ALEMÁN MARTÍNEZ**

**Por su incondicional amor, apoyo y paciencia en cada momento de mi vida.**

**CON CARIÑO**

**A mis hermanos Claudia, Miguel Ángel y José Marcos.**

**A mis sobrinos: Claudia, Miguel Ángel, Marcos Gerardo, Jorge Fernando, Oliver Eduardo y Alfreedito.**

## RESUMEN

Se estudió el proceso anaerobio/aerobio integrado con el fin de mineralizar compuestos tóxicos que son difíciles de tratar por procesos anaerobios o aerobios. Se observó que los compuestos tóxicos fueron biotransformados en la fase anaerobia generando productos secundarios fácilmente degradados aeróbicamente. Las secuencias de fases anaerobias y aerobias se obtuvieron usando reactores discontinuos secuenciados (SBR).

El tratamiento de compuestos nitroaromáticos y un colorante azo se estudió usando un reactor anaerobio/aerobio discontinuo secuencial. El estudio se dividió en cuatro etapas. En la primera etapa, se determinaron las características físicas del material de soporte del biofiltro, las pérdidas abióticas debidas al p-nitrofenol (PNF), que fue el compuesto modelo para el estudio y la factibilidad del tratamiento anaerobio/aerobio integrado en un reactor, realizando pruebas de biodegradabilidad para evaluar de manera sencilla y rápida el potencial de biotransformación y degradación del PNF. En la segunda etapa, se realizó la evaluación del proceso anaerobio/aerobio en la mineralización del PNF utilizando un biofiltro piloto operado en SBR. En la tercera etapa se trató un efluente real de la industria químico-farmacéutica en el sistema anaerobio/aerobio y finalmente en la cuarta etapa se evaluó el proceso en el tratamiento del colorante mono azo azul disperso 79, en un reactor SBR con biomasa suspendida.

La mineralización del PNF se llevó a cabo en un biofiltro empacado con tezontle. El biofiltro operó durante 596 días. El proceso se realizó en dos fases: en la primera fase anaerobia el PNF fue reducido a p-aminofenol (PAF) utilizando un co-sustrato como fuente de electrones y de energía y en la segunda fase oxidativa el PAF fue mineralizado a  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , y nitrógeno inorgánico en forma de  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_2^-$  y  $\text{N-NO}_3^-$ . Los resultados mostraron que la remoción global del PNF fue de 98 % y la biotransformación de PNF a PAF fue de 85 %. En la fase aerobia la remoción del PAF fue de 98 %. Los tiempos de reacción fueron de 4 h de fase anaerobia y 3.5 h de fase aerobia. Se alcanzó la destoxificación del efluente con reducción de la toxicidad de 14.3 unidades de toxicidad a niveles no detectados en el efluente.

Para el tratamiento del efluente de la industria farmacéutica, el biofiltro operó durante 150 días y la biomasa se fue aclimatando al agua residual industrial incrementando la carga orgánica de 1 a 7.7 kg DQO/m<sup>3</sup>-d. La remoción global de DQO<sub>1</sub> fue de 95 %. En la fase anaerobia la remoción de DQO, en promedio fue de 70 % y en la fase aerobia de 25 % para valores de DQO<sub>1</sub> hasta de 28 400 mg/L en el efluente, con un tiempo de retención de 24 h (18 h de fase anaerobia y 6 h de fase aerobia). Se realizaron pruebas de toxicidad para evaluar la reducción de la toxicidad del efluente y se alcanzó la reducción de 82 % de la toxicidad del efluente industrial.

Para el tratamiento de agua residual sintética conteniendo colorante azo azul disperso 79 (AD79), por un reactor discontinuo con biomasa suspendida, la remoción global fue de 92 %. En la etapa anaerobia la biotransformación a aminas aromáticas fue de 65 %. La mineralización de las aminas producidas por la ruptura del enlace azo fue de 96 %. Con relación a la reducción de la toxicidad, el colorante AD79 es un compuesto no tóxico, que da origen a aminas aromáticas tóxicas (14 unidades de toxicidad). Después del tratamiento anaerobio/aerobio secuenciado, la toxicidad fue eliminada a niveles no detectados en el efluente.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## ABSTRACT

An anaerobic/aerobic integrated process was studied with the purpose of mineralize toxic compounds that are difficult to treat by the anaerobic or aerobic processes alone. It was observed that the toxic compounds were partially degraded by the anaerobic process generating more easily aerobic biodegradable by-products. The sequences of anaerobic and aerobic phases were obtained by using sequencing batch reactors (SBR).

The treatment of nitroaromatic compounds and azo-dye was studied using the anaerobic/aerobic SBR. For this, the study was divided in four stages. On the first stage, the physical characteristics of the packing material and the abiotic removal of the p-nitrophenol (PNP), used the model compound were determined. In this stage presumptive biodegradability test, to evaluate the biotransformation potential and degradation of PNP, were also conducted. The second stage was conducted in order to evaluate the degradation of PNP in the anaerobic/aerobic reactor. A real effluent from the industry of organic synthesis, containing a high COD concentration and o-nitroaniline was treated in the third stage. Finally, in the fourth stage, the performance of the process with suspended biomass was evaluated to biodegrade the azo-dye disperse blue azo 79.

The mineralization of the p-nitrophenol was carried out in a biofilter packed with puzolane. The biofilter operated during 596 days. The process was carried out in two phases: in the first phase anaerobic PNP was reduced to p-aminophenol (PAP) using a co-substrate as source of electrons and of energy and in the second phase aerobic PAP was mineralized to  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , and inorganic nitrogen in form of  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_2^-$  and  $\text{N-NO}_3^-$ . The results showed that the efficiency of global removal of PNP was 98 % and the biotransformation efficiency to PAP it was of 85 %. In the aerobic phase the removal efficiency of PAP was of 98 %. The reaction times were 4 h for the anaerobic phase and 3.5 h of aerobic one. The detoxification of the effluent was achieved, obtaining a toxicity reduction from 14.3 toxicity units to levels not detected in the effluent.

The biofilter was operated during 150 days to treat the effluent of a pharmaceutical industry. The biomass was acclimated to the industrial wastewater increasing, stepwise, the organic load from 1 to 7.7 kg DQO/ $\text{m}^3\text{-d}$ . The global removal efficiencies, as COD, were of 95 %. For the anaerobic phase the average removal efficiency was 70 % (as COD) and 25 % for the aerobic phase. It was possible to treat efficiently initial effluent concentrations up to 24 800 mg COD/L with 24 h of retention time (18 h of anaerobic phase and 6 h of aerobic phase). It was obtained 82 % of toxicity reduction in the effluent with the anaerobic/aerobic process.

A global removal efficiency of 92 % was obtained during the treatment of a synthetic wastewater containing the azo-dye dispersed blue 79 (DB79), by the SBR with suspended biomass. In the anaerobic stage the azo-dye was transformed to amines and the biotransformation efficiencies were of 65 %. The amines were mineralized in the aerobic phase with 96 % of efficiency. It was observed that the synthetic wastewater containing DB79 was not toxic, but the water generated during the reduction step was toxic (14 toxicity units). However, after the aerobic stage, the toxicity was diminished to levels not detected in the effluent.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

# ÍNDICE GENERAL

	Página
Resumen .....	i
Abstract .....	iii
Índice general .....	v
Índice de tablas .....	x
Índice de figuras .....	xii
Índice de fotografías .....	xiv
Nomenclatura .....	xv
Introducción .....	xix
<b>CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES .....</b>	<b>1</b>
1.1. Biodegradación anaerobia/aerobia .....	1
1.1.1. Biodegradación anaerobia/aerobia integrada .....	2
1.1.2. Co-cultivos anaerobios/aerobios .....	4
1.1.3. Tolerancia de anaerobios estrictos al oxígeno .....	5
1.1.4. Actividad anaerobia de procesos aerobios .....	6
1.1.5. Coexistencia de anaerobios y aerobios .....	6
1.2. Compuestos nitroaromáticos .....	9
1.2.1. Toxicidad de compuestos nitroaromáticos .....	9
1.2.2. Química del grupo aromático nitro .....	10
1.2.3. Degradación microbiana de compuestos nitroaromáticos .....	11
1.2.3.1. Remoción oxigenolítica .....	12
1.2.3.2. Degradación de nitroaromáticos por reacciones iniciales de reducción .....	13
1.2.3.3. Remoción reductiva completa del grupo nitro .....	13
1.2.3.4. Degradación de nitroaromáticos vía reducción parcial y reacciones de reemplazamiento .....	13
1.2.3.5. Degradación anaerobia de compuestos nitroaromáticos .....	15
1.2.4. Biodegradación de nitrofenoles .....	17
1.2.4.1. Vía metabólica oxidativa .....	19
1.2.4.2. Vía metabólica reductiva .....	20
1.2.5. Degradación aerobia de aminas aromáticas .....	21
1.3. Colorantes azo .....	23

	Página
1.3.1. Colorantes en el ambiente .....	23
1.3.2. Toxicidad de los colorantes azo .....	25
1.3.3. Biodegradación de colorantes azo .....	25
1.3.4. Vías de degradación .....	26
1.3.4.1. Vías metabólicas aerobias .....	26
1.3.4.2. Vías metabólicas anaerobias.....	28
1.3.5. Biodegradación anaerobia/aerobia de colorantes azo .....	31
1.3.6. Colorante azo azul disperso 79 .....	33
1.4. El uso del proceso SBR para la eliminación de compuestos xenobióticos .....	35
<b>CAPÍTULO 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....</b>	<b>39</b>
2.1. Objetivo general .....	39
2.2. Objetivos específicos .....	39
2.3. Hipótesis .....	40
<b>CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA .....</b>	<b>41</b>
3.1. Caracterización del material de soporte y pérdidas abióticas .....	41
3.2. Métodos de análisis .....	44
3.2.1. Métodos APHA .....	44
3.2.2. Técnicas específicas .....	45
3.2.2.1. Determinación del PAF .....	45
3.2.2.2. Determinación del colorante AD79 .....	45
3.2.2.3. Determinación de la sorción del AD79 .....	45
3.2.2.4. Pruebas de respirometría de la biomasa suspendida y fija en el biofiltro .....	45
3.2.3. Técnicas especiales .....	46
3.2.3.1. Cromatografía de líquidos de alto rendimiento .....	46
3.2.3.1.1. Determinación del PNF y PAF .....	46
3.2.3.1.2. Determinación del AD79 y de la BDNA .....	47
3.2.3.1.3. Determinación de la o-nitroanilina .....	48
3.2.3.2. Cromatografía de gases .....	48
3.2.3.3. Caracterización de la biomasa del biofiltro mediante la técnica del perfil de ácidos grasos .....	49
3.2.3.4. Clasificación por grupos fisiológicos de la población anaerobia en el biofiltro .....	50

	Página
3.2.3.5. Prueba de auto-oxidación del PAF .....	50
3.2.3.6. Prueba de toxicidad por Microtox .....	50
3.3. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para la degradación del p-nitrofenol .....	51
3.3.1. Sistema experimental .....	51
3.3.2. Inóculo .....	52
3.3.3. Agua residual sintética .....	52
3.3.4. Arranque y operación del biofiltro .....	53
3.3.5. Evaluación de co-sustratos para optimizar la velocidad de reducción del p-nitrofenol.....	55
3.3.6. Desempeño del biofiltro anaerobio/aerobio a concentraciones intermedias y altas de p-nitrofenol .....	55
3.3.7. Evaluación de la toxicidad .....	56
3.4. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento de un efluente industrial .....	56
3.4.1. Sistema experimental .....	56
3.4.2. Inóculo .....	56
3.4.3. Agua residual .....	56
3.4.4. Estrategia de arranque y operación .....	57
3.4.5. Evaluación de la toxicidad .....	59
3.5. Degradación del colorante azo azul disperso 79 en ambientes anaerobios/aerobios integrados en un reactor .....	59
3.5.1. Pruebas de biodegradabilidad .....	59
3.5.2. Determinación de la sorción del colorante en el tezontle e influencia del medio mineral .....	60
3.5.3. Biodegradación del colorante azul disperso 79 en un reactor SBR anaerobio/aerobio con biomasa suspendida .....	60
3.5.3.1. Sistema experimental .....	60
3.5.3.2. Inóculo .....	61
3.5.3.3. Agua residual sintética .....	61
3.5.3.4. Arranque y operación del reactor .....	61
3.6. Cálculo de las variables del proceso .....	62
3.6.1. Tasas específica y volumétrica de degradación .....	62
3.6.2. Eficiencia de degradación .....	63
3.6.3. Carga orgánica aplicada y eliminada .....	63
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>65</b>
4.1. Características físicas del material de soporte .....	65

	Página
4.2. Pérdidas abióticas del PNF .....	65
4.3. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para la degradación del p-nitrofenol .....	66
4.3.1. Arranque y aclimatación del biofiltro .....	66
4.3.2. Análisis espectral .....	69
4.3.3. Perfiles de potencial redox .....	70
4.3.4. Operación del biofiltro .....	70
4.3.5. Evaluación de co-sustratos para mejorar la velocidad de reducción del PNF .....	73
4.3.5.1. Ácido acético .....	73
4.3.5.2. Agua residual municipal .....	74
4.3.5.3. Mezcla de ác. acético/propiónico (1:1) .....	75
4.3.5.4. Ácido propiónico .....	76
4.3.5.5. Evaluación de la velocidad de reducción .....	76
4.3.5.6. Balance de hidrógeno .....	78
4.3.6. Operación del biofiltro con concentraciones intermedias y altas .....	79
4.3.6.1. Pruebas en cromatografía de placa fina .....	85
4.3.6.2. Pruebas de respirometría de la biomasa suspendida y fija en el tezontle .....	86
4.3.7. Cuantificación de la biomasa .....	86
4.3.8. Clasificación por grupos fisiológicos de la población anaerobia del biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	88
4.3.9. Caracterización de la biomasa del biofiltro mediante la técnica del perfil de ácidos grasos celulares .....	90
4.3.10. Discusión de los resultados .....	92
4.3.10.1. Evaluación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	92
4.3.10.2. Balance de la reacción de reducción .....	93
4.3.10.3. Tasas de degradación .....	94
4.3.10.4. Carga orgánica .....	95
4.3.10.5. Destino del PNF .....	96
4.3.10.6. Mecanismo de reacción .....	100
4.3.10.7. Cinética de degradación .....	102
4.3.10.8. Evaluación de toxicidad en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio...	106
4.3.11. Conclusiones parciales .....	108
4.4. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para el tratamiento de un efluente industrial de la industria químico-farmacéutica .....	111
4.4.1. Agua residual industrial .....	111
4.4.2. Arranque y aclimatación del biofiltro .....	113

	Página
4.4.3. Operación del SBB anaerobio/aerobio .....	114
4.4.4. Discusión de los resultados .....	118
4.4.4.1. Evaluación del SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento del efluente industrial .....	118
4.4.4.2. Tasas de degradación .....	118
4.4.4.3. Carga orgánica .....	120
4.4.5. Reducción y oxidación de la o-nitroanilina .....	121
4.4.6. Evaluación de la toxicidad del efluente industrial .....	124
4.4.7. Conclusiones parciales .....	126
4.5. Degradación del colorante azul disperso 79 en un reactor SBR en ambientes anaerobios/aerobios .....	127
4.5.1. Arranque y aclimatación del reactor .....	127
4.5.2. Análisis espectral .....	128
4.5.3. Operación del reactor SBR anaerobio/aerobio .....	130
4.5.4. Discusión de los resultados .....	133
4.5.4.1. Evaluación del reactor SBR anaerobio/aerobio en la degradación del AD79 .....	133
4.5.4.2. Tasas de degradación y carga orgánica .....	134
4.5.4.3. Cinética de degradación .....	136
4.5.4.4. Destino del colorante AD79 .....	136
4.5.5. Análisis de toxicidad .....	139
4.5.6. Conclusiones parciales .....	140
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>141</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>143</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>155</b>
Anexo 1. Resultados analíticos .....	157
Anexo 2. Técnicas de análisis .....	175
Anexo 3. Resultados de técnicas especiales de análisis .....	185
Anexo 4. Lista de publicaciones generadas de la investigación .....	193

## ÍNDICE DE TABLAS

No. de Tabla	Página
1.1. Microorganismos que reducen nitroaromáticos pero no los mineralizan .....	16
1.2. Principales características de los nitrofenoles .....	18
1.3. Bacterias anaerobias degradadoras de nitrofenoles .....	21
1.4. Bacterias aerobias degradadoras de nitrofenoles .....	21
1.5. Localización de plantas de tratamiento de aguas residuales con reactores SBR ....	37
3.1. Composición del medio mineral dentro del reactor, pH 7.2 unidades .....	43
3.2. Métodos de análisis APHA (1992) durante la operación del biofiltro SBB .....	44
3.3. Condiciones de operación para la determinación del PNF y PAF .....	47
3.4. Condiciones de operación para la determinación del AD79 y BDNA .....	47
3.5. Condiciones de operación para la determinación de la ONA .....	48
3.6. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner 1200.	48
3.7. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases VARIAN STAR 3600 CXGC .....	49
3.8. Estrategias de arranque y operación en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	54
3.9. Parámetros de control y frecuencia de análisis en la operación del biofiltro .....	54
3.10. Estrategia de arranque y operación en el SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento del efluente industrial .....	58
3.11. Parámetros de control en el tratamiento del efluente industrial .....	58
3.12. Condiciones de operación para las pruebas de selección de co-sustrato .....	59
3.13. Estrategia de arranque y operación en el reactor SBR anaerobio/aerobio .....	61
3.14. Parámetros de control en el tratamiento del colorante AD79.....	62
4.1. Características del tezonle .....	65
4.2. Parámetros de operación en el arranque del biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	66
4.3. Velocidades de reducción del PNF y formación de PAF en la evaluación de co-sustratos .....	77
4.4. Velocidades específicas y volumétricas de reducción del PNF y formación de PAF en la evaluación de co-sustratos .....	77
4.5. Biomasa como SV en el soporte del biofiltro .....	87
4.6. Resultados de la cuantificación de bacterias anaerobias por grupos tróficos del biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	88
4.7. Distribución de los ácidos grasos celulares en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio.	91
4.8. Balance de nitrógeno durante la biodegradación anaerobia/aerobia del PNF .....	97
4.9. Tasas de degradación y cargas orgánicas volumétricas de PNF tratadas en diferentes reactores .....	98
4.10. Tasas de degradación como DQO y velocidades de degradación específica en diferentes sistemas .....	99
4.11. Resumen de operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio (valores promedio) ..	99
4.12. Resumen de operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio (valores promedio) ..	100
4.13. Valores de q para la linearización de la ec. 4.6 por el método de Lineweaver-Burk .....	105
4.14. Velocidades de reacción en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	106

---

No. de Tabla	Página
4.15. Remoción de la toxicidad aguda en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio.....	107
4.16. Clasificación de toxicidad basada en unidades de toxicidad .....	107
4.17. Caracterización del agua residual industrial .....	112
4.18. Parámetros de operación en el arranque del SBB para el tratamiento de un efluente industrial .....	113
4.19. Resumen de operación del SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento de un efluente industrial .....	115
4.20. Tasas de degradación en el tratamiento del efluente industrial .....	120
4.21. Balance de nitrógeno durante el ciclo 80 en la operación del SBB anaerobio/aerobio .....	124
4.22. Remoción de la toxicidad aguda en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	125
4.23. Parámetros operacionales del reactor SBR anaerobio/aerobio .....	127
4.24. Balance de nitrógeno durante la biodegradación anaerobia/aerobia del colorante AD79 durante el ciclo 29 .....	137
4.25. Remoción de la toxicidad aguda en el reactor SBR anaerobio/aerobio .....	139

## ÍNDICE DE FIGURAS

No. de figura	Página
1.1. Reducción de grupos nitro por mecanismos de uno o dos electrones .....	11
1.2. Vía de degradación oxidativa del p-nitrofenol por <i>Moraxella</i> sp y <i>arthrobacter</i> sp 12	12
1.3. Vía de remoción del grupo nitro de nitroaromáticos por reacciones iniciales de reducción .....	13
1.4. Vía metabólica propuesta para la remoción reductiva completa de un grupo nitro del ácido pírico .....	14
1.5. Vía metabólica propuesta para la degradación de nitroaromáticos por (a) reducción a hidroxilamina y (b) reacciones de reemplazamiento o rearrreglos tipo Bamberger .....	14
1.6. Vía metabólica reductiva para la biotransformación del p-nitrofenol.....	20
1.7. Clasificación de colorantes por su aplicación .....	24
1.8. Vía metabólica propuesta para la degradación catalizada por peroxidasas de colorantes sulfonados azo .....	27
1.9. Sistema modelo para la degradación anaerobia de colorantes azo .....	29
1.10. Mecanismo propuesto para la reducción de colorantes azo dependiente de mediadores redox por la cepa BN6 .....	30
1.11. Sistema modelo para la degradación anaerobia/aerobia de colorantes mono azo ....	32
1.12. Estructura del colorante azo azul disperso 79 .....	33
1.13. Vía reductiva del colorante azo azul disperso 79 .....	34
3.1. Diagrama de flujo del estudio de la biodegradación de compuestos nitroaromáticos y un colorante azo por medio de un biofiltro discontinuo anaerobio/aerobio .....	42
3.2. Biofiltro discontinuo secuenciado (SBB) anaerobio/aerobio utilizado para la degradación del PNF .....	52
4.1. Evolución de los tiempos de reacción en el arranque del biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	67
4.2. Remoción y biotransformación del PNF y PAF en el arranque del biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	68
4.3. Espectros UV-VIS de estándares de PNF y PAF .....	69
4.4. Análisis espectral del ciclo de operación 28 en el que se muestra el PNF y su producto de biotransformación PAF y la mineralización de éste .....	69
4.5. Perfil de mediciones del potencial de oxido reducción en los ciclos de arranque del biofiltro .....	70
4.6. Evolución de las concentraciones de PNF y PAF en el influente y efluente del biofiltro .....	71
4.7. Remoción y biotransformación del PNF en el SBB .....	71
4.8. Evolución de la tasa volumétrica de degradación y del tiempo de reacción a) Fase anaerobia, b) Fase aerobia .....	72
4.9. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF con ác. acético como co-sustrato en el ciclo 19 .....	74
4.10. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF utilizando agua residual municipal como co-sustrato durante el ciclo 19 .....	75

No. de figura	Página
4.11. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF con mezcla de ácidos como co-sustrato durante el ciclo 13 .....	75
4.12. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF utilizando ác. propiónico como co-sustrato durante el ciclo 13 .....	76
4.13. Evolución de las concentraciones intermedias y altas de PNF.....	79
4.14. Biotransformación de PNF y remoción de PNF y PAF en las concentraciones intermedias .....	80
4.15. Evolución de las tasas de degradación durante la etapa de concentraciones intermedias de PNF .....	81
4.16. Remoción y biotransformación de PNF en la etapa de concentraciones altas .....	82
4.17. Evolución de la tasa específica de degradación ( $q_x$ ) y del tiempo de reacción durante la etapa de concentraciones altas de PNF .....	82
4.18. Comportamiento del color durante la etapa de concentraciones intermedias y altas de PNF. a) Fase anaerobia; b) Fase aerobia .....	85
4.19. Evolución de los SSV en el efluente durante la operación del biofiltro SBB .....	88
4.20. Reacciones efectuadas durante la reducción del PNF .....	93
4.21. Tasas específicas de degradación en función de la concentración de PNF y PAF ..	95
4.22. Carga orgánica aplicada y eliminada como DQO en el biofiltro .....	96
4.23. Remoción de $COT_d$ durante el proceso anaerobio/aerobio para la degradación de PNF .....	97
4.24. Mecanismo de reacción para la mineralización del PNF.....	101
4.25. Cinéticas de reacción en el ciclo 102 (día de operación 240), utilizando el modelo de orden cero .....	102
4.26. Cinéticas de reacción en el ciclo 102 (día de operación 240), utilizando el modelo de primer orden .....	103
4.27. Cinéticas de la formación del PAF en el ciclo 102 (día de operación 240), a) Utilizando el modelo de primer orden, b) Utilizando el modelo de primer orden .	104
4.28. Linearización del modelo de Monod por el método gráfico de Lineweaver-Burk ...	105
4.29. Evolución de la remoción de $DQO_t$ en la aclimatación del biofiltro SBB .....	114
4.30. Desempeño del SBB en el tratamiento del efluente industrial .....	114
4.31. Eficiencias de remoción de $DQO_t$ en la degradación del efluente industrial .....	117
4.32. Remoción del color en el tratamiento del efluente industrial .....	117
4.33. Cinética de degradación del agua residual industrial como $DQO_t$ en el ciclo 146, día de operación 85 .....	119
4.34. Tasa de degradación específica $q_x$ (mg $DQO/g$ SSV-d) en el SBB anaerobio/aerobio .....	119
4.35. Carga orgánica aplicada y eliminada en el SBB anaerobio/aerobio .....	121
4.36. Reacciones de reducción y oxidación de la o-nitroanilina en el SBB .....	122
4.37. Espectro UV-VIS de la o-nitroanilina, grado HPLC en solución acuosa a pH 7 .....	122
4.38. Cromatogramas HPLC- UV-VIS del ciclo de operación 158 del SBB anaerobio/aerobio .....	123
4.39. Espectros UV-VIS de los estándares de la 2-br-4,6-dinitro anilina (BDNA) y el colorante mono azo azul disperso 79 (AD79) .....	129
4.40. Espectro UV-VIS del influente y efluente del reactor SBR anaerobio/aerobio durante el ciclo 13 .....	129

No. de figura	Página
4.41. Cromatogramas HPLC-UV del influente y efluente de la fase anaerobia y aerobia del proceso anaerobio/aerobio en el ciclo 13 .....	130
4.42. Evolución de la biomasa en el reactor SBR anaerobio/aerobio .....	131
4.43. Evolución de las concentraciones de AD79 en el reactor SBR anaerobio/aerobio ..	131
4.44. Remoción del AD79 con relación a su concentración inicial en el reactor SBR anaerobio/aerobio .....	132
4.45. Tasa específica de degradación del AD79 en función de la concentración inicial ...	134
4.46. Tasa específica de degradación de aminas en función de la concentración inicial ...	135
4.47. Carga orgánica aplicada y eliminada en el reactor SBR anaerobio/aerobio .....	135
4.48. Cinéticas de reducción del colorante AD79 y formación y mineralización de BDNA. Perfil redox en el reactor SBR anaerobio/aerobio durante el ciclo de operación 29 .....	136
4.49. Mecanismo de reacción para la mineralización del colorante AD79 .....	138

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

No. de fotografía	Página
3.1. Biofiltro discontinuo secuenciado (SBB) anaerobio/aerobio utilizado para el tratamiento de un efluente de la industria químico-farmacéutica .....	57
3.2. SBR anaerobio/aerobio secuenciado con biomasa suspendida .....	60
4.1. Biomasa en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio .....	87

## NOMENCLATURA

A	Superficie cubierta por una molécula adsorbida, (Å)
Å	Ángstrom
Ac.Na	Acetato de sodio
AD79	Azul disperso 79
ADP	Adenosin difosfato
AGC	Ácidos grasos celulares
AM	Azul de metileno
APHA	Asociación Americana de Salud Pública/ Washington D.C. U.S.A.
As	Área superficial del tezontle, (m <sup>2</sup> )
ATP	Adenosin trifosfato
BDNA	2-bromo-4,6-dinitroanilina
B <sub>va</sub>	Carga orgánica aplicada, (kg DQO/m <sup>3</sup> -d)
B <sub>ve</sub>	Carga orgánica eliminada, (kg DQO/m <sup>3</sup> -d)
C <sub>eq</sub>	Concentración final de la solución o concentración de equilibrio, (g AM/L)
CG	Cromatografía de gases
Co	Concentración de sustrato en el reactor, (Kg DQO/m <sup>3</sup> )
CO <sub>2</sub>	Bióxido de carbono
COT <sub>d</sub>	Carbono orgánico total disuelto, (mg/L)
C <sub>s</sub>	Cantidad de soluto adsorbido por gramo de adsorbente, (mg AM/g piedra)
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQO	Demanda química de oxígeno, (mg/L)
DQO <sub>t</sub>	Demanda química de oxígeno total, (mg/L)

---

EC <sub>50</sub>	Concentración efectiva al 50 %
f	Factor de conversión a kg DQO/m <sup>3</sup> -d
HPLC	Cromatografía de líquidos
IR	Espectroscopia de infrarrojo
K	Constante relacionada con el calor de adsorción
L	Litro
mg/L	Miligramos por litro
MLSS	Sólidos suspendidos en el licor de mezcla
mV	Milivolts
E	Eficiencia de degradación
NAD	Dinucleótido de nicotinamida adenina
NADH	Dinucleótido de nicotinamida adenina reducido
NADPH	Dinucleótido de nicotinamida adenina (fosfato) reducido
Nm	Nanómetros
NNDB	1,4-diaminobenceno N,N-disustituido
No	Número de avogadro, (moléculas/g mol)
ORP	Potencial de oxido-reducción
OD	Oxígeno disuelto
ONA	o-nitroanilina
PAF	para-aminofenol
PNF	para-nitrofenol
q <sub>v</sub>	Tasa volumétrica de degradación, (mg sustrato/L-h)
q <sub>x</sub>	Tasa específica de degradación, (mg sustrato/mg SSV/d)
r.p.m.	Revoluciones por minuto
S <sub>e</sub>	Superficie específica, (m <sup>2</sup> /g de piedra)

---

$S_{ef}$	Concentración de sustrato en el efluente, (mg/L)
$S_{inf}$	Concentración de sustrato en el influente, (mg/L)
$S$	Concentración de sustrato, (mg/L)
$S_o$	Concentración de sustrato dentro del reactor, (mg/L)
SBB	Biofiltro discontinuo secuencial
SBR	Reactor discontinuo secuencial
SST	Sólidos suspendidos totales, (mg/L)
SSV	Sólidos suspendidos volátiles, (mg/L)
SOD	Enzima Superóxido bismutasa
$t_d$	Tiempo de degradación, (h)
TRE	Evaluación de reducción de la toxicidad
TRH	Tiempo de retención hidráulica
UASB	Reactor anaerobio de lecho fluidizado
US EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica
UT	Unidades de toxicidad
UV-VIS	Ultra violeta-visible
$V_{int}$	Volumen de intercambio al final de cada ciclo, (L)
$V$	Volumen de operación del reactor, (L)
$X$	Concentración de biomasa en el reactor, (mg SSV/L)
$X_{ef}$	Concentración de biomasa en el efluente, (mg SSV/L)
$X_m$	Cantidad de adsorbato para formar una monocapa sobre un gramo de adsorbente, (mg AM/g de piedra)
$X_o$	Concentración de biomasa inicial inoculada al reactor, (mg SSV/L)
$Y_{x/s}$	Producción de biomasa, (mg SSV/mg sustrato)

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento importante para la industria. Se utiliza directamente en el proceso productivo como solvente o mezcla, o de manera indirecta en los lavados y procesos de enfriamiento. Sin embargo, el deterioro en la calidad del agua ha aumentado debido al alto contenido de contaminantes producidos por el hombre a través del avance industrial.

En México, de acuerdo con cifras del Programa Hidráulico 1995-2000, la demanda de agua en la industria es de 244 m<sup>3</sup>/s y se descargan 65 m<sup>3</sup>/s como agua residual. En términos de carga orgánica total, la industria genera 1.6 millones de toneladas anuales. El crecimiento explosivo de la industria durante las últimas décadas ha generado un aumento considerable de las aguas residuales, su complejidad y variabilidad, sobresaliendo el sector económico de la manufactura, con un total de 265 346 industrias en todo el país. Con relación a las sustancias químicas la producción para 1996 fue de 20 346 822 toneladas. Entre las industrias que más contaminan el agua, se encuentran 16 giros industriales, destacando la industria química y petroquímica (INE, 1999).

La industria química de síntesis orgánica está integrada por diversos sectores como son las industrias de polímeros y resinas sintéticas, plaguicidas, pinturas y química farmacéutica. Las descargas de estas industrias tienen como característica una elevada carga orgánica y sobretodo, la elevada toxicidad de muchos de los compuestos presentes teniendo un efecto acumulativo, bioestático o de inhibición sobre los sistemas biológicos de tratamiento. Por la complejidad de este tipo de aguas residuales, resulta difícil tratarlas por procesos convencionales aerobios o anaerobios siendo necesario buscar métodos alternativos para su tratamiento o bien la integración de los existentes. Actualmente existe gran interés por remover compuestos químicos orgánicos tóxicos del agua residual, debido a las condiciones de calidad del agua cada vez más estrictas para la disposición del agua tratada a cuerpos receptores y sistemas de alcantarillado, para cumplir con la Legislación vigente.

Tradicionalmente los sistemas de tratamiento biológico aerobio de agua residual fueron empleados como sistemas costo-efectivo confiables para la remoción de DBO. La digestión anaerobia es considerada una tecnología madura para el tratamiento de aguas residuales. Su éxito está relacionado con los bajos costos, comparado con los sistemas de tratamientos biológicos aerobios o fisico-químicos. Su desventaja es que raramente produce un efluente de calidad suficiente para ser descargado directamente al medio ambiente, por lo que las aguas residuales tratadas por vía anaerobia requieren un postratamiento el cual es generalmente biológico de tipo aerobio (Macaric y Guiot, 1996).

Un método costo-efectivo para el tratamiento de los efluentes de la industria de síntesis orgánica es el proceso discontinuo secuenciado anaerobio/aerobio integrado en un biofiltro SBB (Sequencing Batch Biofilter, por sus siglas en inglés). La determinación de la aplicabilidad del proceso y la posibilidad de adaptación de los microcultivos a la composición química de estas aguas residuales con alta carga orgánica y compuestos tóxicos inhibitorios, contribuirá al desarrollo de tecnología de tratamiento apropiada y a la solución de la problemática para el control de la contaminación que el sector químico está causando al medio ambiente.

## Problemática de la industria química de síntesis orgánica en México

Las aguas residuales de los procesos de síntesis orgánica contienen alta carga orgánica y compuestos tóxicos que presentan efectos de bioacumulación, causando efectos nocivos al medio ambiente y a la salud humana.

Los tratamientos de aguas residuales que actualmente se están utilizando en México para el tratamiento de estos efluentes no tienen la eficiencia necesaria para cumplir con la normatividad vigente. Generalmente el único tratamiento que se les da en las instalaciones de la empresa es un tratamiento primario. Con este proceso no se alcanza la calidad del agua requerida para descargar a los cuerpos receptores; en muchas ocasiones estas descargas en los sistemas de drenajes pueden provocar alteraciones en los procesos de las plantas de tratamiento municipales, debido a la alta toxicidad aún presente.

En relación con el tratamiento de las aguas residuales industriales en México la situación es la siguiente (CNA, 1999):

De un gasto total de 22 021 L/s de aguas residuales provenientes de las plantas industriales en el país, principalmente del tipo de lodos activados y sistemas lagunares, se tienen 1 367 plantas de tratamiento de aguas residuales en operación. Un resumen de los tratamientos de aguas residuales que se da en las industrias es el siguiente:

	Plantas	Volumen (L/s)
Tratamiento primario:	534	5 597
Tratamiento secundario:	769	15 270
Tratamiento terciario:	54	1 133
Tratamiento no específico:	22	21

El nivel de tratamiento más utilizado en las plantas de aguas residuales industriales es el secundario, con 769 plantas y un gasto de operación de 15 270 L/s. En segundo nivel está el tratamiento primario con 534 plantas y un volumen de tratamiento industrial de 5 597 L/s y en tercer nivel el tratamiento terciario con 54 plantas y un volumen de agua tratada de 1 132 L/s.

Del total de las plantas de tratamiento, 475 cumplen con las condiciones particulares de descarga fijadas por la Comisión Nacional del Agua, tratando un gasto de 7 621 L/s; 892 plantas no cumplen con las condiciones particulares de descargas con un gasto total de 14 666 L/s, lo que significa que del total de plantas sólo el 35 % cumplen con las condiciones particulares de descarga para descargar a cuerpos receptores o sistemas de drenaje (CNA, 1999). En total sólo se cumple con un tratamiento efectivo para 7 621 L/s del total de aguas industriales.

Como puede observarse los tratamientos que actualmente se están utilizando para el tratamiento de efluentes industriales, no tienen la eficiencia necesaria para cumplir con la

normatividad vigente, por lo que es necesaria la introducción de nuevos sistemas de tratamiento o bien la combinación de los existentes para producir efluentes que cumplan con los requerimientos de la Legislación Mexicana dentro del desarrollo sustentable.

Con relación a los compuestos xenobióticos tóxicos que son difíciles de degradar anaeróbicamente, pueden ser fácilmente biotransformados mediante reacciones de reducción (Field *et al.*, 1995). Los productos de la biotransformación anaeróbica resisten la mineralización anaerobia, pero son buenos sustratos para la biodegradación aerobia, por lo que en la mineralización total de muchos contaminantes tóxicos, la mejor estrategia que debería utilizarse es el tratamiento anaerobio/aerobio secuenciado (Zitomer y Speece, 1993). El tratamiento biológico combinado anaerobio/aerobio es en muchos casos la única forma de mineralizar compuestos tóxicos que no pueden ser completamente degradados por un sólo proceso convencional aerobio o anaerobio, pero que pueden ser parcialmente transformadas aeróbica o anaeróbicamente en productos biodegradables por el tratamiento opuesto.

En este trabajo se implementó un proceso anaerobio/aerobio integrado en un solo biofiltro operado en forma SBR, para el tratamiento de aguas residuales industriales con alta carga orgánica y compuestos xenobióticos, que presentó ventajas respecto a los tratamientos convencionales debido a que el uso de un solo reactor integrado ofreció la reducción de espacio, costos y además un intercambio permanente de metabolitos entre los microorganismos aerobios y anaerobios, lo que favoreció el establecimiento de cadenas tróficas.

El compuesto modelo que se eligió fue el p-nitrofenol (PNF), que es una estructura sencilla que ha sido estudiada tanto en ambientes anaerobios como aerobios, conociéndose la biotransformación anaerobia a p-aminofenol (PAF); se alcanzó la mineralización del PAF en una fase aerobia en secuencia a la reducción anaerobia, combinando los metabolismos de ambos microorganismos. Una vez que se tuvo el control del proceso, se evaluó éste en el tratamiento del colorante mono azo azul disperso 79 (AD79) y en el tratamiento de un efluente industrial de la industria químico-farmacéutica de síntesis orgánica.

En el área ambiental el PNF es un contaminante prioritario según la clasificación de la U.S. E.P.A., ya que presenta actividad mutagénica y carcinogénica y es ampliamente utilizado como materia prima o intermediario en la fabricación de explosivos, productos farmacéuticos, plaguicidas, pigmentos, colorantes, preservadores para madera y plásticos. En México no está considerado dentro de las sustancias tóxicas de atención prioritaria, pero se utiliza como intermediario en la fabricación de plaguicidas que sí se encuentran en este grupo (INE, 1997), de aquí la importancia de su estudio ya que como se mencionó antes, los tratamientos anaerobios han logrado destoxificar el PNF a PAF en sistemas anaerobios, pero no la mineralización total del PAF, del que se ha logrado sólo parcialmente alrededor del 22 % (Donlon *et al.*, 1997) proponiendo una fase aerobia posterior para lograr la completa biodegradación del compuesto.

Por otra parte, el colorante AD79 es uno de los colorantes azo que más aplicación tiene en la industria textil (Weber y Adams, 1995). El AD79 por sí mismo no es tóxico, pero en ambientes reductivos produce aminas aromáticas que se ha comprobado son carcinogénicas a los microorganismos y al hombre de aquí el gran interés en realizar estudios para su degradación.

La aplicación de los procesos de tratamiento secuenciales es importante debido a que las condiciones de descarga de efluentes industriales son cada más estrictas y los procesos combinados son una alternativa viable para degradación de compuestos orgánicos específicos, incluyendo compuestos orgánicos volátiles que se liberan a la atmósfera, fenoles policlorados, nitrobenzenos, nitrotoluenos, colorantes azo, bifenilos clorados y plaguicidas.

El conocimiento acerca de la exposición de una población bacteriana expuesta a secuencias anaerobias/aerobias en un solo reactor para el tratamiento de compuestos tóxicos es escaso y se deben desarrollar más investigaciones para conocer los beneficios de los procesos en ambientes secuenciales.

En el capítulo 1 de la presente investigación se presentan los antecedentes relacionados al proceso anaerobio/aerobio integrado y el tipo de compuestos sobre los que es factible su aplicación. En el capítulo 2 se presentan los objetivos y la hipótesis de la investigación. La metodología de los experimentos realizados se encuentra en el capítulo 3 y finalmente en el capítulo 4 los resultados y las conclusiones obtenidas de la investigación. En la sección de anexos se presentan los resultados analíticos y técnicas de análisis, así como una lista de las publicaciones generadas de la investigación.

# Capítulo 1

## ANTECEDENTES

### 1.1. BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA/AEROBIA

Muchos compuestos xenobióticos que son refractarios bajo condiciones aerobias, pueden ser transformados anaeróbicamente. Los productos transformados y/o parcialmente degradados pueden ser completamente mineralizados por microorganismos aerobios (Beunink y Rehm, 1990; Shen *et al.*, 1995; Macarie y Guiot, 1996). Estos hechos sugieren que los tratamientos anaerobios y aerobios son complementarios y que la mineralización total de compuestos xenobióticos puede realizarse a través de una serie de etapas reductivas y oxidativas por procesos secuenciales anaerobios/aerobios, en los que la digestión anaerobia es un tratamiento primario para suministrar parcial o completamente compuestos destoxificados para el pulimento aerobio (Zitomer y Speece, 1993).

Los procesos de tratamiento biológico anaerobio y aerobio convencionales pueden ser combinados acoplando ambientes anaerobios/aerobios secuenciales en unidades separadas o integrados en un reactor, para remover compuestos químicos orgánicos tóxicos del agua residual ya que en muchos casos es la única forma de mineralizar estos compuestos, para dar cumplimiento a la normatividad ambiental cada vez más estricta tendiente a la reducción de toxicidad de los efluentes.

En un sistema anaerobio/aerobio secuencial se utilizan dos reactores: el primero bajo condiciones anaerobias y el segundo bajo condiciones aerobias por lo que las funciones de las bacterias anaerobias y aerobias en las unidades separadas se complementan una y otra. Este tipo de configuración de reactores se ha utilizado principalmente en el caso la biodegradación de compuestos tóxicos para reducir toxicidad y en la degradación de colorantes azo y compuestos nitroaromáticos, sin embargo en varios casos no existen evidencias claras de la mineralización de los compuestos reducidos.

En un sistema anaerobio/aerobio integrado, se utiliza solo un reactor en el que las condiciones anaerobias y aerobias son creadas bajo periodos de no-aireación y de aireación en los que los microorganismos cooperan benéficamente en una sola biopelícula favoreciendo la formación de micro ecosistemas con mecanismos que integran nichos óxicos y anaerobios creando sinergismo entre los catabolismos de reducción y de oxidación (Zitomer y ShROUT, 1998).

La coexistencia de microorganismos anaerobios y aerobios en ambientes óxicos y anaerobios indican la posibilidad de supervivencia de estos en sistemas combinados (Gerritse y Gottschal, 1992 y 1993). Bajo condiciones limitadas de oxígeno, la respiración aerobia de los microorganismos puede mantenerse evitando la completa inhibición de los anaerobios. Aún en los procesos aerobios, el consumo de oxígeno por las bacterias aerobias de la periferia de una

biopelícula inmovilizada, resulta formador de un gradiente de oxígeno (Beunink y Rehm, 1990), dejando la capa interna de la biopelícula libre de oxígeno para prevenir su toxicidad. Las bacterias facultativas sobre la periferia crean un gradiente elevado de oxígeno en el lodo, que ayuda a prevenir la toxicidad del oxígeno a las bacterias metanógenas sensitivas al oxígeno localizadas en el centro del lodo (MacLeod *et al.*, 1990). Las bacterias anaerobias estrictas en el lodo granular tienen la habilidad de supervivencia cuando se exponen a condiciones limitadas de oxígeno, siempre y cuando existan bacterias facultativas para su protección (Kato *et al.*, 1993 b; Gerritse *et al.*, 1990; Field *et al.*, 1995).

### 1.1.1. Biodegradación anaerobia/aerobia integrada

Recientemente se ha comenzado a explorar la biodegradación anaerobia/aerobia integrada en un solo reactor con el fin de mineralizar completamente compuestos tóxicos recalcitrantes, mediante el co-metabolismo de las poblaciones bacterianas anaerobias, aerobias y facultativas en una biopelícula manteniendo baja difusión y concentración de oxígeno con el fin de crear micronichos anaerobios y aerobios (Tan, 2001). También ha surgido un reciente interés en sistemas de microorganismos co-inmovilizados ya sea en perlas o en reactores con biopelícula. Estos sistemas son altamente eficientes para conducir dos o más bioprocesos comensalistas consecutivos. Un proceso comensalista anaerobio/aerobio (o anóxico) se puede acoplar de manera eficiente debido al gradiente de oxígeno. La proximidad de las dos etapas acelera el proceso completo siendo esta una ventaja que no se puede tener en la operación de dos unidades separadas. La co-inmovilización de microorganismos anaerobios, aerobios y facultativos provee la completa transformación del sustrato y maximiza las velocidades de biotransformación debido al acortamiento de las vías de difusión y a la rápida eliminación de intermediarios tóxicos (Tartakovsky *et al.*, 1998). En otro estudio realizado por Shen *et al.*, (1995), demostraron que un reactor acoplado anaerobio/aerobio puede ser exitosamente operado bajo condiciones limitadas de oxígeno siendo un ecosistema ideal de ingeniería que integra nichos óxicos y anaerobios.

De acuerdo con estudios realizados por Tan *et al.*, (1999 b), la integración de condiciones anaerobias y aerobias en un biorreactor único es una buena estrategia para la mineralización de colorantes azo mediante una biopelícula expuesta a oxígeno, siempre y cuando esté presente un co-sustrato, ya que estimula la respiración de oxígeno; los autores estudiaron el efecto del oxígeno sobre la reducción del colorante sulfonado azo naranja mordante 1, utilizando frascos con lodo granular metanogénico, medio basal, etanol o acetato como co-sustrato y colorante, incubándolos por 24 h a 30 °C en condiciones anaerobias, después de este periodo eliminaron los gases producidos y aplicaron oxígeno en el mismo volumen que se eliminó y reportaron la importancia que tiene el co-sustrato ya que es metabolizado aeróbicamente por las bacterias anaerobias facultativas que efectúan el consumo del oxígeno presente, además de proveer los equivalentes reductores a los microorganismos anaerobios para la reducción del colorante azo. Sin embargo en la presencia de oxígeno no lograron la degradación de las aminas aromáticas debido a la carencia de una población aerobia adecuada en el lodo granular.

En trabajos realizados por Haug *et al.*, (1991), mostraron la mineralización del colorante sulfonado azo amarillo mordante 3 con un tratamiento anaerobio/aerobio, utilizando un cultivo mixto aerobio adaptado a la degradación del ácido 6-aminonaftaleno-2-sulfónico como fuente de carbono y energía. Para las transformaciones anaerobias el cultivo mixto fue incubado a 30 °C

# PAGINACIÓN DISCONTINUA

durante 3 días en tubos Hungate, adicionando glucosa como co-sustrato y el colorante. Bajo condiciones anaerobias el colorante fue reducido a las aminas 6-amino-2-naftalensulfonato y 5-aminosalicilato. El mismo cultivo que llevó a cabo la reducción fue transferido a matraces que fueron agitados aeróbicamente, llevándose a cabo la mineralización de las aminas formadas bajo condiciones aerobias presentándose la formación de compuestos oscuros que indicaron que parte del 5-aminosalicilato fue perdido por auto-oxidación. Este colorante también fue estudiado por Kudlich *et al.*, (1996), inmovilizando la bacteria *Sphingomonas* sp BN6 en perlas de alginato de calcio, efectuando la incubación bajo condiciones aerobias con el colorante y concluyeron que las células del centro anaerobio de las perlas de alginato redujeron el colorante amarillo mordante 3 a 6-amino-2-naftalensulfonato y que éste fue oxidado a 5-aminosalicilato por las células que fueron inmovilizadas en las zonas aerobias externas de las perlas de alginato, verificando los gradientes de oxígeno con micro electrodos. Los autores sugieren que para el desarrollo tecnológico del proceso se debe buscar un material más rígido para la inmovilización, combinado con la habilidad de los microorganismos para permitir un gradiente de oxígeno.

Para alcanzar la degradación de las aminas aromáticas algunos autores han enriquecido los lodos granulares anaerobios con cepas degradadoras de aminas aromáticas, como Peres *et al.*, (1998), quienes reportaron la mineralización del nitrobenzeno en un reactor único con una población mezclada proveniente de un consorcio reductor capaz de reducir el nitroaromático a anilina y una cepa de *Comamonas acidovorans* que le confirió al consorcio una nueva habilidad metabólica para mineralizar la anilina. La reacción co-metabólica requirió de una mezcla de glucosa y succinato de sodio como donador de equivalentes de reducción. La anilina fue mineralizada a CO<sub>2</sub> en menos de dos días. Por otra parte Tan *et al.*, (1999 b) investigaron la degradación de los colorantes azo 4-fenilazofenol y amarillo mordante 1 bajo condiciones integradas anaerobias/aerobias formando co-cultivos con lodo granular anaerobio y cultivos enriquecidos con bacterias degradadoras de aminas aromáticas utilizando frascos con lodo granular metanogénico y sedimentos aerobios adaptados a la degradación de aminas aromáticas, medio basal, etanol como co-sustrato y colorante, incubándolos por 24 h a 30 °C en condiciones anaerobias, después de este período eliminaron los gases producidos y aplicaron oxígeno en el mismo volumen que se eliminó etanol como co-sustrato. Los resultados mostraron la formación de las aminas aromáticas 4-aminofenol y anilina de la reducción del 4-fenilazofenol, ácido 5-aminosalicílico y ácido sulfanílico de la reducción del amarillo mordante 10, las cuales fueron degradadas por bacterias facultativas aerobias presentes en el lodo granular anaerobio, excepto p-aminofenol que presentó auto-oxidación.

En los trabajos descritos antes se sugiere el uso de lodo granular anaerobio como soporte de la biopelícula ya que presenta alta tolerancia al oxígeno, pero también puede utilizarse otro material de soporte por ejemplo tezontle y poblaciones bacterianas mixtas, por que con relación a las poblaciones mixtas se pueden establecer procesos co-metabólicos que permiten la degradación de compuestos tóxicos, en relación al soporte, las poblaciones anaerobias se desarrollaran en la parte interna del material y en las capas externas crecerán las bacterias facultativas y aerobias.

Las condiciones anaerobias/aerobias en un reactor también pueden crearse a partir de periodos de aireación y no-aireación a una frecuencia determinada, éste esquema de operación ha sido aplicado en el tratamiento de aguas residuales municipales (González y Wilderer, 1991; Fernández-Polanco y García, 1994) pero se han reportado pocas aplicaciones en el tratamiento de compuestos tóxicos. Tai y Shieh (1999), reportaron la biodegradación de aminobenceno, que fue

utilizado como fuente de carbono y nitrógeno en un reactor de lecho fluidizado con volumen de 1.0 L operado en forma discontinua de modo anóxico/óxico por ciclos de aireación y no-airación de 6 h cada uno a temperatura ambiente de  $22 \pm 2$  °C, sin recirculación. El aminobenceno fue removido con eficiencias mayores al 91 % y aproximadamente del 53-63 % de remoción de nitrógeno total. El balance de nitrógeno en el reactor indicó que el  $N-NH_2$  fue oxidado a  $N-NO_3$  mediante nitrificación y también fue utilizado como fuente de nitrógeno en la síntesis celular.

En trabajos realizados por Lourenço *et al.*, (2000), estudiaron la remoción biológica del color de un efluente textil sintético conteniendo el colorante reactivo azo violeta remazol brillante 5R utilizando un reactor discontinuo de volumen de 1.0 L operado en SBR con ciclos de 24 h, con fases de reacción no aireadas de 13 h y fases aireadas de 8 h, utilizando como inóculo lodos activados. La temperatura de operación fue de 22-27 °C. Los principales resultados que obtuvieron fueron un 90 % de remoción de color debida a la conversión biológica del colorante a aminas aromáticas base benceno y naftaleno durante la fase anaerobia; también encontraron que los iones nitrato influyeron en la decoloración del sistema, disminuyendo la eficiencia de remoción, sugiriendo que los nitratos pueden competir con el colorante por los equivalentes reductores formados durante la fase de no-airación. Durante la fase aerobia no lograron la mineralización de las aminas formadas debido a la ausencia de una población aerobia capaz de metabolizar las aminas aromáticas, como también fue observado por Tan *et al.*, (1999 a).

### 1.1.2. Co-cultivos anaerobios/aerobios

El tratamiento biológico secuenciado de cloroaromáticos, nitroaromáticos y colorantes azo en fases separadas anaerobias y aerobias sugieren que la biodegradación de estos contaminantes persistentes puede ser mejorada por las actividades combinadas de distintos consorcios microbianos. El consorcio puede estar separado en diferentes reactores o en un solo reactor. Los anaerobios estrictos pueden existir en micronichos anaerobios localizados dentro de biopelículas y gránulos ya que pueden tener habilidad para sobrevivir periódicamente expuestos al oxígeno. Cada célula de bacterias de crecimiento aerobio es capaz de efectuar bioconversiones típicamente anaerobias bajo condiciones de limitación de oxígeno, por lo que las capacidades biodegradativas anaerobias y aerobias pueden ser utilizadas sincronizadamente en un solo biorreactor (Field *et al.*, 1995). Las bacterias aerobias crean ambientes anaerobios por el consumo de oxígeno. El oxígeno tiene baja solubilidad y lenta difusibilidad en agua. El tratamiento aerobio de agua residual es originado por la fuerza convectiva del transporte de oxígeno en el mezclado. Aún en sistemas bien aireados cuando hay una barrera para el mezclado (biopelícula), el oxígeno es limitante de la velocidad ya que hay resistencia a la transferencia de masa convectiva (Cussler, 1992), por lo que el abastecimiento de oxígeno a los niveles profundos es limitado a los lentos procesos de difusión (De Beer, 1993). Basados en estas observaciones, se espera que los micronichos anaerobios se formen a los lados de las partículas matrices localizadas en macro ambientes aerobios. En los biorreactores aerobios con biomasa inmovilizada, la limitación de oxígeno es debida a la propia biopelícula donde las concentraciones de oxígeno disminuirán hacia el centro y la penetración dependerá de la difusión y consumo de oxígeno. La difusión será más influenciada por la concentración de oxígeno en la fase líquida y el espesor de la biopelícula, mientras que el consumo de oxígeno es influenciado por la presencia de sustratos realmente metabolizables. Generalmente el gradiente de oxígeno disminuye de las capas óxicas

externas a las capas anóxicas en el centro (Peters *et al.*, 1987). Cuando la concentración de bacterias activas aerobias excede de 1 g/L de biomasa de fase inmovilizada, el oxígeno raramente penetra más de unos pocos cientos de  $\mu\text{m}$  debido a su rápido consumo comparado con su lenta difusión. En los sistemas con sustrato limitado, como suelos, la velocidad de consumo de oxígeno es más lenta y consecuentemente puede esperarse una más profunda penetración de oxígeno. Los microperefiles de oxígeno de suelos indican una penetración de 3 mm (Tiedje *et al.*, 1984). La existencia de micronichos anaerobios en ambientes aerobios es ilustrada por el aislamiento de anaerobios estrictos de lodos activados aerobios. La presencia de metanógenos en lodos aerobios se demostró cuando *Methanothrix soehngenni* fue enriquecido a partir de muestras de lodos (Huser *et al.*, 1982); *Methano bacterium*, *Methanococcus* y *Methano sarcina* se observaron en lodos activados floculentos y lodos granulares anaerobios (Wu *et al.*, 1987). Los lodos activados frecuentemente son utilizados como inóculo para el arranque de reactores anaerobios para los tratamientos de aguas residuales (Noyola y Moreno, 1994). El éxito puede ser atribuido a la presencia de bacterias metanogénicas en el lodo aerobio.

### 1.1.3. Tolerancia de anaerobios estrictos al oxígeno

El oxígeno es considerado como un compuesto tóxico para varios metanógenos que son anaerobios estrictos (Rolfe *et al.*, 1978). El oxígeno es poderosamente reactivo debido a que reduce especies como superóxidos y peróxidos de hidrógeno que son espontáneamente generados como radicales tóxicos potenciales a todas las células vivientes (Spain, 1995). El efecto tóxico puede dañar el DNA cromosomal, como fue sugerido para *Roseburia cecicola* que es un anaerobio estricto intolerante al oxígeno (Martin y Savage, 1988). Las bacterias anaerobias obligadas, contrariamente a las bacterias aerobias y facultativas, pueden ser definidas como aquellos microorganismos incapaces de sintetizar una cadena respiratoria con oxígeno como aceptor terminal de electrones y oxidar sustratos orgánicos a dióxido de carbono y agua, además de que viven estrictamente sin oxígeno. Por otro lado puede esperarse que todas las anaerobias estrictas toleren oxígeno a cierta concentración si están presentes en un cultivo mixto junto con bacterias facultativas que consumen el oxígeno, formando micronichos protectores (Field *et al.*, 1995). Las bacterias aerobias y facultativas poseen mecanismos protectores apropiados contra los radicales oxígeno. Las principales hipótesis para los mecanismos de protección son la habilidad para producir dos enzimas, la superóxido-dismutasa (SOD) y la catalasa. La SOD es indispensable para todos los aerobios, a pesar de la advertencia de que algunos aerobios carecen de ellas. La carencia total de SOD también ha sido sugerida como la razón para la intolerancia al oxígeno entre anaerobios estrictamente obligados (Rolfe *et al.*, 1978). Los anaerobios obligados difieren en su sensibilidad al oxígeno variando desde aquellos con intolerancia estricta a otros que poseen alguna tolerancia intrínseca.

Los cultivos mixtos naturales representan un consorcio complejo de microorganismos, donde el consumo de oxígeno en un reactor anaerobio puede ser probable que ocurra debido a la presencia de bacterias facultativas en los lodos anaerobios. Cuando el oxígeno fue adicionado a quimiostatos (Gerritse *et al.*, 1990; Shelton y Tiedje, 1984) o frascos (Kato *et al.*, 1993 a) conteniendo consorcios metanogénicos naturales, el consumo de oxígeno inició inmediatamente. La actividad específica inicial consumiendo oxígeno de lodo granular anaerobio recuperado de varios reactores UASB y alimentados con etanol en rangos de 1 a 11 g de  $\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$ , indicó una amplia actividad de las bacterias facultativas en cultivos mezclados de bacterias anaerobias.

Debido a los problemas de la tolerancia intrínseca que había sido reportada para algunos anaerobios estrictos como los metanógenos, la creación de ambientes anaerobios por bacterias facultativas es probablemente el factor más importante para la protección de metanógenos en lodos anaerobios contra la exposición a oxígeno (Kato *et al.*, 1993 b).

#### 1.1.4. Actividad anaerobia de procesos aerobios

La actividad anaerobia no está restringida a bacterias estrictamente anaerobias. Los procesos aerobios son capaces de realizar reacciones típicamente anaerobias en ambientes reducidos gracias a las bacterias facultativas. Debido a que los microorganismos aerobios pueden crecer más rápido que los microorganismos anaerobios, utilizando bacterias aerobias podría facilitarse la implantación de un proceso mezclado anaerobio/aerobio. Muchas bacterias aerobias facultativas son capaces de reducir sustituyentes aromáticos electro-aceptores cuando se incuban anaeróticamente como anaerobios (Field *et al.*, 1995). En un estudio realizado por Liu *et al.*, (1984), los lodos activados incubados anaeróticamente causaron la reducción de 2,4-dinitrotolueno a 2-nitroso-4-nitrotolueno, 4-nitroso-2-nitrotolueno, 2-amino-4-nitrotolueno y 4-amino-2-nitrotolueno cuando un donador de electrones adecuado fue adicionado. Igualmente, las células de lodos activados decoloraron varios colorantes azo bajo condiciones anaerobias (Wuhrmann *et al.*, 1980). En sistemas de reactores secuenciados anaerobios/aerobios para la biodegradación de colorantes azo, la biomasa recuperada de la etapa de post-tratamiento aerobio del amarillo mordante 3, fue reciclada a la etapa anaerobia donde los enlaces azo fueron abiertos reductivamente (Glaesser *et al.*, 1992). Estos estudios muestran que la reducción de xenobióticos con sustituyentes electro-aceptores no está necesariamente restringida a consorcios anaerobios maduros.

#### 1.1.5. Coexistencia de anaerobios y aerobios

La coexistencia de anaerobios y aerobios en co-cultivos no sólo requiere que los anaerobios estén protegidos de la toxicidad del oxígeno, sino también deben ser capaces de competir por el sustrato para sobrevivir períodos grandes. Los aerobios facultativos heterótrofos que utilizan oxígeno para la respiración, pueden obtener grandes niveles de energía del sustrato y consecuentemente se espera que crezcan más rápido que las bacterias anaerobias que compiten por el mismo sustrato (Field *et al.*, 1995). Los microorganismos anaerobios pueden ser mantenidos en co-cultivos anaerobios/aerobios si el abastecimiento de sustrato en términos de DBO es más grande que la transferencia de oxígeno en la fase líquida. Como las bacterias aerobias o facultativas consumen adecuadamente el abastecimiento limitado de oxígeno, la concentración resultante de oxígeno disuelto será muy bajo. Estudios con co-cultivos anaerobios/aerobios revelan que los metanógenos pueden ser mantenidos en condiciones aireadas si el abastecimiento de oxígeno no es excesivo (Gerritse *et al.*, 1990; Gerritse y Gottschal, 1993). En biopelículas complejas, los co-cultivos anaerobios/aerobios pueden mantenerse en ambientes sin límite de oxígeno. Un lodo anaerobio granular tolerante al oxígeno convirtió de 3 a 25 % de etanol a metano en tres días, mientras de 23 a 2 mg/L de oxígeno disuelto prevalecieron en el medio. El metano fue producido en condiciones donde el abastecimiento de oxígeno excedió al sustrato DBO. Estos hallazgos solo pueden ser explicados por la existencia de micronichos profundos microaerófilos o anaerobios a los lados de la

biopelícula donde el contenido de oxígeno es tan bajo que la velocidad de respiración aerobia es limitada debido al bajo flujo de oxígeno. El etanol y los ácidos grasos volátiles tenían más altas solubilidades acuosas que el oxígeno, por lo que tuvieron más alta difusión de transporte de masa dentro de la biopelícula que el oxígeno. Por lo que estos sustratos penetraron potencialmente la biopelícula más que el oxígeno y estuvieron presentes en los micronichos anaerobios a concentraciones adecuadas (Kato *et al.*, 1993 b).

La existencia de zonas anaerobias en biopelículas aerobias fue inicialmente vista como una limitante de la velocidad en las cinéticas promedio de bioconversiones aerobias. Sin embargo, esta desventaja puede ser ahora usada para promover la biodegradación completa de compuestos aromáticos típicamente recalcitrantes y xenobióticos caracterizados por sustituyentes electroaceptores. Las zonas anaerobias que se desarrollan dentro de las biopelículas pueden ser usados como nichos de los microorganismos que despliegan actividad anaerobia hacia la reducción de estos sustituyentes xenobióticos. Concomitantemente los microorganismos en las zonas aerobias pueden ser usados para mineralizar los productos reducidos capaces de beneficiar el tratamiento de secuencias anaerobias/aerobias en un reactor.

Las actividades metabólicas anaerobias y aerobias son un prerequisite para la completa biodegradación de contaminantes aromáticos xenobióticos que contienen sustituyentes electroaceptores (Field *et al.*, 1995). Mientras los contaminantes aromáticos con sustituyentes cloro, nitrógeno y azo son frecuentemente recalcitrantes o problemáticos para el ataque oxigenolítico por aerobios, estos sustituyentes son fácilmente reducidos por microorganismos anaerobios y por células en reposo de microorganismos aerobios incubados anaerobiamente. De hecho los productos reducidos son aromáticos menos clorados o aminas aromáticas resistentes a la degradación anaerobia. Sin embargo son mineralizados por bacterias bajo condiciones aerobias. La biotecnología ambiental deberá intentar mejorar ambos ambientes anaerobios y aerobios para promover la mineralización de estos contaminantes xenobióticos. Los ambientes anaerobios y aerobios pueden ser mejorados en reactores en secuencia. Sin embargo como los micronichos anaerobios son fácilmente establecidos en biopelículas aerobias, lo mejor de ambos ambientes puede ser obtenido en un solo biorreactor. La naturaleza recalcitrante de aromáticos polinitro y policloro así como colorantes azo puede ser sobrellevada por la utilización de co-cultivos anaerobios/aerobios. (Field *et al.*, 1995; Zitomer y Speece, 1993).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## 1.2. COMPUESTOS NITROAROMÁTICOS

Los compuestos nitroaromáticos son liberados a la biosfera casi exclusivamente de fuentes antropogénicas. En general son contaminantes resultado de numerosas aplicaciones industriales y agrícolas (Spain, 1995). Algunos compuestos son producidos por combustión incompleta de combustibles fósiles y otros son usados en la producción de compuestos químicos, plásticos, farmacéuticos, colorantes, plaguicidas y explosivos (Gorontzy *et al.*, 1993). La mayoría de los compuestos nitroaromáticos son altamente tóxicos a los microorganismos y pueden desestabilizar el proceso continuo de los sistemas de tratamiento de aguas residuales por inhibición (Bruhn *et al.*, 1987), frecuentemente son resistentes a la biodegradación y tienden a acumularse en el medio ambiente (Field *et al.*, 1995; Spain, 1995). Los nitroaromáticos son considerados como uno de los más importantes mutanógenos y carcinógenos en el ambiente (Matsushita *et al.*, 1986). La reacción más común del grupo nitro en sistemas biológicos es la reducción. La secuencia de reacciones involucradas en la reducción del grupo nitro a aminas produce intermediarios altamente reactivos del tipo de grupos nitroso e hidroxilamina, que son electrofílicos que pueden interactuar con biomoléculas para causar efectos tóxicos, carcinogénicos y mutagénicos. Los compuestos nitroaromáticos como nitrofenoles, nitrobencenos, nitrotoluenos y nitrobenzoatos son de considerable importancia en la industria química y petroquímica (Marvin - Sikema y de Bont, 1994).

### 1.2.1. Toxicidad de compuestos nitroaromáticos

Los compuestos nitroaromáticos son altamente tóxicos al hombre y a los mamíferos, son fácilmente reducidos por enzimas a derivados nitroso e hidroxilaminas. Estos derivados permiten la formación de metahemoglobina que es incapaz de ligarse al oxígeno o a nitrosaminas que son carcinógenas. La mayoría de nitroaromáticos son altamente tóxicos a las bacterias y pueden inhibir el crecimiento microbiano. De hecho la toxicidad y la pobre biodegradabilidad de estos compuestos, es el principal problema para la aplicación de procesos de tratamiento biológico al agua residual que los contiene (Field *et al.*, 1995). La toxicidad de los compuestos nitroaromáticos del tipo de nitrofenoles y sus metabolitos ha sido atribuida al hecho de que actúan como agentes desacopladores en la fosforilación oxidativa, esto es que se interrumpe la fosforilación oxidativa y el hidrógeno eliminado en el ciclo de los ácidos tricarbónicos queda sin utilizar energéticamente. Tan solo puede utilizarse el fosfato rico en energía formado en la hidrólisis de la succinil-CoA. Por lo que, cuando hay desacoplamiento, la regulación se pierde y la velocidad de respiración celular continúa incrementándose hasta que las reservas intracelulares son agotadas (Okey y Stensel, 1998).

Donlon *et al.*, (1995), estudiaron la toxicidad de compuestos nitroaromáticos a la actividad metanogénica acetoclástica utilizando acetato como co-sustrato, debido a que es un pobre donador de electrones que modifica al mínimo al compuesto, y demostraron que estos compuestos fueron muy tóxicos a los metanógenos con valores  $IC_{50}$  de 0.014 a 0.12 mM. Las aminas aromáticas fueron menos tóxicas con valores  $IC_{50}$  de 3.2 y 67 mM. Los compuestos nitroaromáticos fueron en promedio 500 veces más tóxicos que su análogo aminado, indicando que la reducción que ocurre en ambientes anaerobios puede ser responsable de la disminución de la toxicidad a los metanógenos. También relacionaron su estructura con la toxicidad a las

bacterias metanogénicas acetoclásticas, la cual dependió de la apolaridad del compuesto (log P) y concluyeron que los fenoles nitrosustituídos tenían una toxicidad de más de dos órdenes de magnitud que los clorofenoles o alquilfenoles, mostrando que la reactividad química de los nitroaromáticos es muy importante y demostraron la habilidad de los consorcios anaerobios para remover y detoxificar los grupos nitro en aminoaromáticos y la posibilidad de utilizar el tratamiento anaerobio seguido de un post-tratamiento aerobio para completar la mineralización del compuesto.

Razo-Flores *et al.*, (1996), reportaron la biodegradabilidad de aromáticos nitrosustituídos en condiciones metanogénicas con lodo no aclimatado y con lodo aclimatado a 2-nitrofenol, observándose la reducción del período de degradación del 2-aminofenol de 110 a menos de 5 días respectivamente. También señalaron la mineralización parcial del 4-aminofenol y la mineralización del 5-aminosalicilato y del 4-aminobenzoato bajo condiciones anaerobias.

### 1.2.2. Química del grupo aromático nitro

El grupo nitro existe como un híbrido de resonancia debido a que los átomos de oxígeno son más electronegativos que el átomo de nitrógeno, la polarización del enlace nitrógeno-hidrogeno causa que el átomo de nitrógeno tenga una carga parcial positiva y sirva como electrofílico. Sin embargo, la mayoría de las reacciones del grupo nitro en sistemas biológicos son de reducción, la cual procede por mecanismos de uno o dos electrones (figura 1.1). El Fe (II) y otros metales y compuestos reductores de azufre pueden servir como reductores en la reducción no enzimática de compuestos nitroaromáticos. Los grupos nitro y amino son relativamente estables pero la secuencia de reacciones involucradas en la reducción del grupo nitro a amino produce intermediarios altamente reactivos como grupos nitrosos e hidroxilaminas (Spain, 1995).

El mecanismo de un electrón para la reducción del grupo nitro produce un radical nitro anión, que puede ser oxidado al compuesto no reducido por el oxígeno molecular con la producción concomitante de superóxido. Es debido a este ciclo, que se ha llamado a las enzimas que catalizan la reducción de un electrón del grupo nitro como "enzimas sensitivas al oxígeno" (Bryant y De Luca, 1991). Estas reacciones son catalizadas por bacterias estrictamente anaerobias como *Clostridium spp.*, bacterias facultativas como *Escherichia coli* y *Enterobacter spp.*, así como por plantas y animales.

La reducción del grupo nitro por la adición secuencial de pares de electrones es "insensitiva al oxígeno" debido a que no se producen radicales. Las nitrorreductasas de este tipo convierten grupos nitro a hidroxilaminas o aminas por la adición de pares de electrones donados por reducción de nucleótidos piridina. La vía de reacción incluye derivados nitrosos, pero son difíciles de detectar debido a que son muy inestables y reactivos. La alta reactividad de los intermediarios nitroso e hidroxilamina son responsables de la toxicidad y carcinogenicidad atribuida a los compuestos nitroaromáticos (Weisburger, 1978).

La fácil reducción del grupo nitro depende de la naturaleza de los otros sustituyentes del anillo y de la potencial reducción del ambiente. Los grupos electroaceptores activan la molécula para la reducción del grupo nitro, mientras que los grupos electrodonadores hacen al anillo más susceptible al ataque electrofílico. En el caso de los nitrotoluenos, la probabilidad de reducción se

incrementa y la probabilidad de ataque electrofílico disminuye cuando el número de grupos nitro aumenta, por lo que la reducción de un grupo nitro del trinitrotolueno (TNT) es muy rápida bajo una variedad de condiciones, incluyendo aquellas donde prevalecen cultivos en crecimiento de bacterias aerobias. En contraste, la reducción de 2-amino-4,6-dinitrotolueno (ADNT) requiere de bajos potenciales redox; la reducción de 2,4-diamino-6-nitrotolueno (DANT) requiere un potencial redox abajo de  $-200$  mV (Funk *et al.*, 1993), debido a que las propiedades electrodonadoras de los grupos amino incrementan la deficiencia de electrones de la molécula.

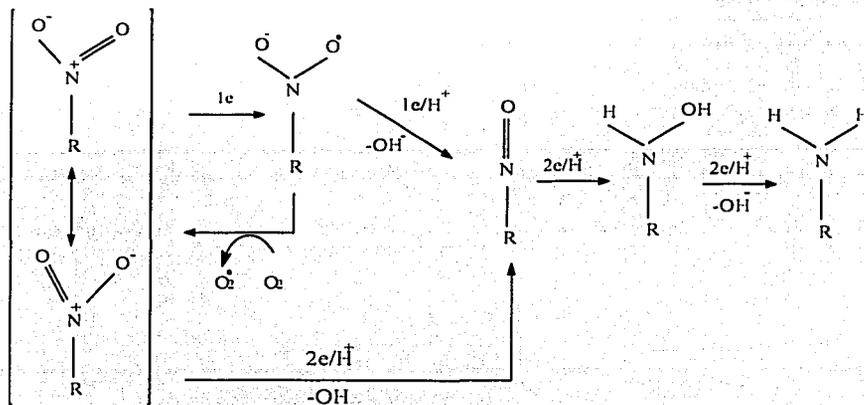


Figura 1.1. Reducción de grupos nitro por mecanismos de uno o dos electrones.  
(Fuente: Spain, 1995)

### 1.2.3. Degradación microbiana de compuestos nitroaromáticos

La degradación microbiana de compuestos nitroaromáticos homocíclicos puede ocurrir por vías metabólicas aerobias y anaerobias bajo los siguientes mecanismos:

1. Reacción inicial de oxigenación produciendo nitritos
2. Reducción inicial produciendo aminas aromáticas, que después pueden ser metabolizadas
3. Eliminación reductiva completa del grupo nitro produciendo nitritos
4. Reducción parcial del grupo nitro a hidroxilamina, la que después de un rearrreglo, es metabolizada
5. Reducción del nitroaromático al aminoaromático correspondiente

Los mecanismos del 1 al 4 corresponden a la degradación aerobia vías catecol y protocatehuato, donde las bacterias utilizan el compuesto como fuente de carbono y energía y en algunos casos como fuente de nitrógeno. El mecanismo 5 corresponde a la degradación anaerobia de nitroaromáticos (Marvin-Sikkema y de Bont, 1994).

## 1.2.3.1. Remoción oxigenolítica

La remoción oxidativa del grupo nitro del núcleo aromático produciendo nitritos se ha demostrado en varias bacterias y en la degradación de varios nitroaromáticos (figura 1.2). Las enzimas responsables de remover el grupo nitro como nitrito han sido aisladas y purificadas en una cepa de *Moraxella* que degrada PNF por un ataque inicial oxigenasa que libera nitritos y acumula hidroquinona, requiriendo dos moles de NADPH para oxidar cada mol de PNF, siendo el mecanismo de reacción una monohidroxilación y la enzima una flavoproteína monooxigenasa (Spain y Gibson, 1991). La hidroquinona producida sirve como sustrato para la reacción de rompimiento del anillo catalizada por iones ferrosos dependientes de dioxigenasas; el producto es oxidado a ácido maleilacético que es reducido a  $\beta$ -cetoadipato, requiriendo cantidades catalíticas de  $\text{NAD}^+$ . La cepa de *Arthrobacter* sp. degrada p-nitrofenol vía 4-nitrocatecol, produciéndose 1,2,4-bencenotriol por reacciones iniciales y después es oxidado a ácido maleilacético. La enzima no ha sido estudiada (Spain, 1995). Bacterias como *flavobacterium* sp. convierten el nitrofenol a nitrocatecol como paso inicial del ataque y algunas *Pseudomonas* y *Nocardia* transforman el nitrobenzeno a nitrocatecol. En algunos organismos convierten el nitroaromático a nitrocatecol catalizadas por enzimas codificadas por el plásmido TOL. En *Nocardia* sp ambas rutas están presentes, la predominancia de alguna depende de la presencia del plásmido TOL (Delgado *et al.*, 1992). La remoción oxigenolítica también se ha observado en nitroaromáticos con dos y tres grupos nitros.

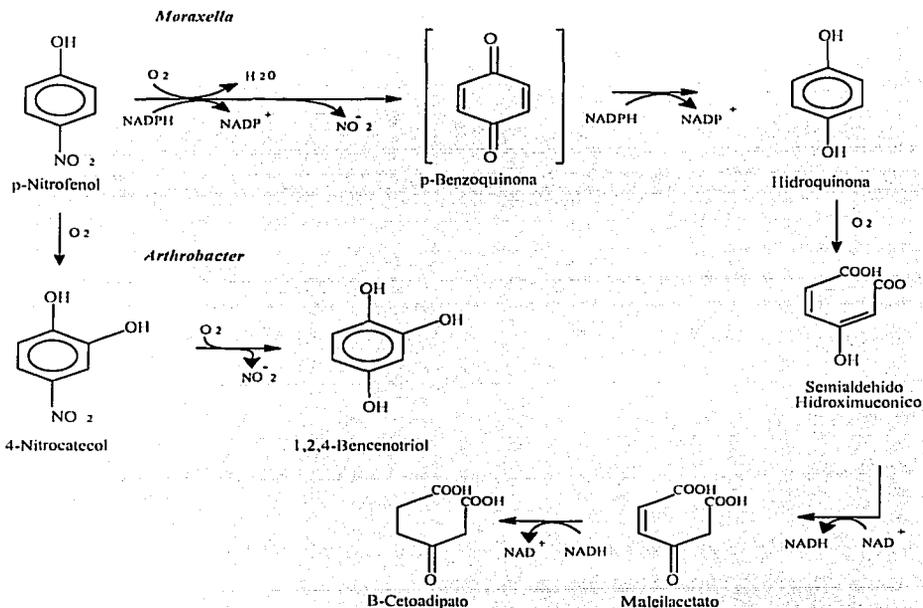


Figura 1.2. Vía de degradación oxidativa del p-nitrofenol por *Moraxella* sp y *Arthrobacter* sp. (Fuente: Spain, 1995)

### 1.2.3.2. Degradación de nitroaromáticos por reacciones iniciales de reducción

Varios microorganismos degradan nitroaromáticos por reducción inicial del grupo nitro a una amina por nitrorreductasas. La reducción procede vía grupos nitroso e hidroxilamina. El producto aminoaromático es después degradado en la presencia de oxígeno por anilina oxigenasas a amoníaco y catecol, el cual es después mineralizado por reacciones de rompimiento del anillo (figura 1.3). Esta vía involucra la degradación de nitrobenzoatos, nitrotoluenos y nitrofenoles. Algunas bacterias no son capaces de mineralizar nitroaromáticos completamente después de la reducción del grupo nitro, pero usan el amoníaco liberado como fuente de nitrógeno (Boopathy *et al.*, 1993).

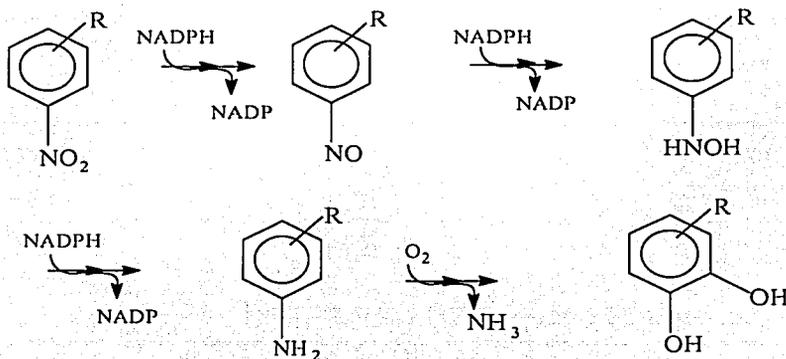


Figura 1.3. Vía de remoción del grupo nitro de nitroaromáticos por reacciones iniciales de reducción. (Fuente: Marvin-Sikkema y de Bont, 1994)

### 1.2.3.3. Remoción reductiva completa del grupo nitro

Esta vía de degradación (figura 1.4) es caracterizada por la completa remoción reductiva del grupo nitro como nitritos y la formación de un complejo hidruro de Meisenheimer indicando que la degradación empieza con un ataque nucleofílico sobre el anillo aromático (Lenke y Knackmuss, 1992).

### 1.2.3.4. Degradación de nitroaromáticos vía reducción parcial y reacciones de reemplazamiento

Una cuarta vía de degradación de nitroaromáticos empieza con la reducción del grupo nitro a hidroxilamina, y conversión de ésta a aminofenol (figura 1.5). Esta reacción equivale al arreglo de Bamberger. La reacción es catalizada por nitrorreductasas que requieren NAD(P)H como cofactor ya que estabiliza o activa la enzima. No se tienen evidencias claras del mecanismo. Se sugiere que la reacción procede vía arilnitreno (Groenewegen *et al.*, 1992). Nishino y Spain (1993 b) aislaron *Pseudomonas pseudoalcaligenes* que desarrolla una conversión parecida. El

organismo degradó nitrobenzeno a hidroxilaminobenceno, pero no lo convirtió a catecol sino a aminofenol. Esta reacción mediada por enzimas es semejante al rearrreglo químico de Bamberger.

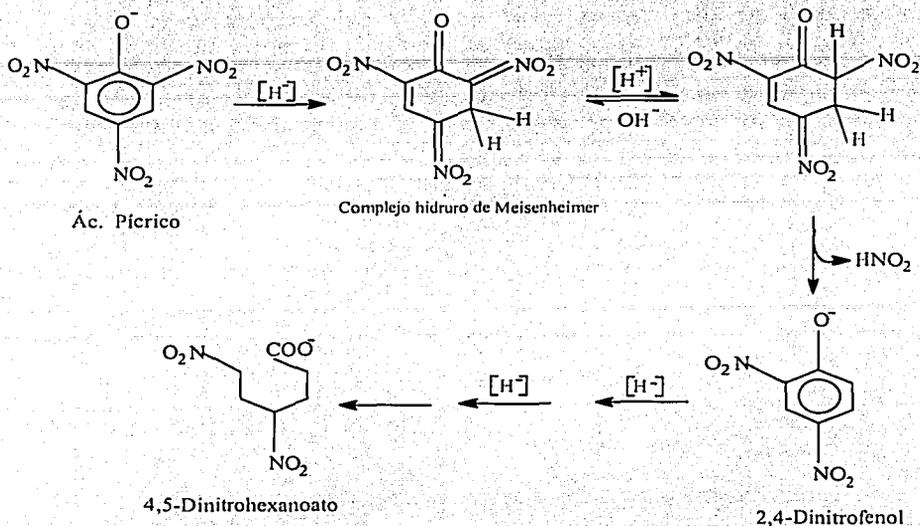


Figura 1.4. Vía metabólica propuesta para la remoción reductiva completa de un grupo nitro del ácido pítrico. (Fuente: Spain, 1995)

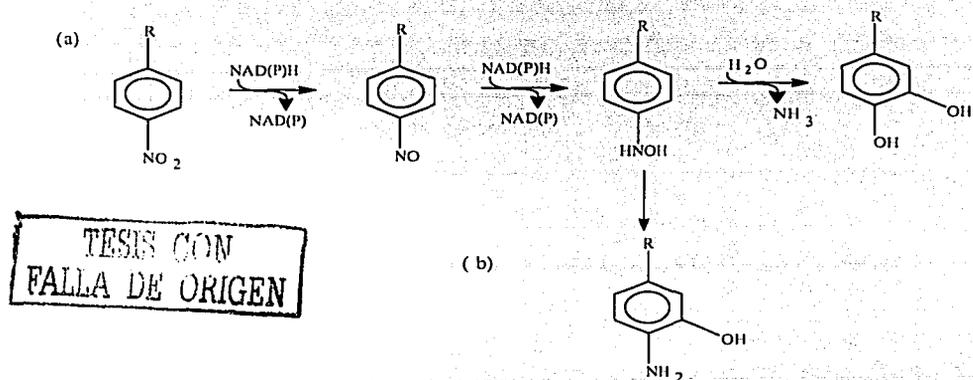


Figura 1.5. Vía metabólica propuesta para la degradación de nitroaromáticos por (a) reducción a hidroxilamina y (b) reacciones de reemplazamiento o rearrreglos tipo Bamberger. (Fuente: Zeyer y Kearney, 1984)

### 1.2.3.5. Degradación anaerobia de compuestos nitroaromáticos

Varios microorganismos son capaces de reducir el grupo nitro de nitroaromáticos pero son incapaces de mineralizarlo (Tabla 1.1). Las nitrorreductasas de estos microorganismos parecen tener un amplio espectro de sustratos (Marvin-Sikkema y de Bont, 1994). Bajo condiciones anaerobias las bacterias solo pueden transformar el compuesto nitroaromático a aminoaromático, pero no pueden utilizarlo como fuente de carbono y nitrógeno (Spain, 1995). La reducción del grupo nitro ha sido en la mayor parte de los casos una reacción fortuita de varios sistemas enzimáticos de óxido-reducción, en otros casos se piensa que el nitroaromático actúa como aceptor final de electrones en sustitución del oxígeno molecular. Entre los sistemas enzimáticos que se han estudiado se encuentran (Blasco y Castillo, 1993):

1. Cloroplastos iluminados con ascorbato-diclorofenol lindofenol como reductor
2. H<sub>2</sub> – hidrogenasa y ferredoxina de *Clostridium pasterianum* y *Veillonella alcalenses*
3. NAD(P)H nitrorreductasas de *Nocardia* sp y *Bacteroides fragilis*
4. Nitrorreductasas extracelulares de bacterias anaerobias en el tracto intestinal
5. Enzima sulfito reductasa de algunas especies de *Desulfovibrio*
6. Ferredoxina reducida vía no enzimática
7. Enzima responsable de la fotorreducción en *Rhodobacter capsulatus*

Las reacciones de compuestos nitroaromáticos en sistemas anaerobios casi exclusivamente involucran la reducción del grupo nitro como se observó en la figura 1.5. Los avances más interesantes son los descubrimientos de que los cultivos puros de especies de *Desulfovibrio* y *Clostridium* proveen una nueva línea de enzimas responsables y mecanismos de reducción del grupo nitro en estos sistemas (Spain, 1995). Los compuestos nitro y azo aromáticos son altamente electrofílicos y son fácilmente metabolizados bajo condiciones anaerobias produciendo aminas aromáticas; sin embargo los consorcios anaerobios generalmente no degradan las aminas aromáticas (Gorontzy *et al.*, 1993; Brown y Laboureur, 1983; Tan, 2001), pero la mayoría de éstas son biodegradadas bajo condiciones aerobias por ejemplo la anilina (Brown y Laboureur, 1983; Gheewala y Annachhatre, 1997; O'Neill *et al.*, 2000 a), aminas aromáticas carboxiladas (Russ *et al.*, 1994; Stolz *et al.*, 1992), aminas aromáticas cloradas (Loidl *et al.*, 1990) y bencidinas (Baird *et al.*, 1977).

Se ha reportado también que las aminas aromáticas con sustituciones carboxilo, hidroxilo y metoxilo son potencialmente mineralizadas en consorcios metanogénicos y bajo condiciones sulfato reductoras (Kudlich *et al.*, 1996 y 1999; Razo-Flores 1997; Tan *et al.*, 1999 a). Sin embargo en pruebas realizadas con 2 y 4-aminofenol, algunas veces son mineralizadas y otras son dejadas sin metabolizar (Battersby y Wilson, 1989; O'Connor y Young, 1996).

Cuando la complejidad de la amina aumenta por la introducción de grupos sulfonatos, halógenos o fenilos con estructuras ramificadas, se reduce notablemente la capacidad degradativa de los microorganismos aerobios o anaerobios causando problemas de inhibición de los sistemas de tratamiento, originando compuestos con mayor toxicidad que los compuestos originales, por lo que se requieren más estudios acerca del destino y biotransformación de las aminas aromáticas (Field *et al.*, 1995; Lourenço *et al.*, 2000).

Tabla 1.1. Microorganismos que reducen nitroaromáticos pero no los mineralizan.  
(Fuente: Marvin-Sikkema y de Bont, 1994)

Microorganismo	Sustrato	Referencia
<i>Bacteroides fragilis</i>	1-nitropireno	Kinouchi and Ohnishi, 1983.
<i>Clostridium clostridioforme</i>	1-nitropireno, 1,3 y 1,6-dinitropireno	Rafii <i>et al.</i> , 1991.
<i>Clostridium leptum</i>	1-nitropireno, 1,3 y 1,6-dinitropireno	Rafii <i>et al.</i> , 1991.
<i>Clostridium paraputrificum</i>	1-nitropireno, 1,3 y 1,6-dinitropireno	Rafii <i>et al.</i> , 1991.
<i>Clostridium pasteurianum</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina, TNT	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993; McCormick <i>et al.</i> , 1976.
<i>Clostridium perfringens</i>	1-nitropireno, 1,3 y 1,6-dinitropireno	Rafii <i>et al.</i> , 1991.
<i>Clostridium</i> sp.	1-nitropireno, 1,3 y 1,6-dinitropireno	Rafii <i>et al.</i> , 1991.
<i>Clostridium</i> sp. Cepa W1	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfovibrio gigas</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfovibrio</i> sp. Cepa AS	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfovibrio</i> sp. Cepa B	TNT, 2,4-DNF, 2,4-DNT, 2,6-DNT	Boopathy <i>et al.</i> , 1993; Boopathy and Kulpa, 1993.
<i>Desulfovibrio</i> sp. Cepa GB	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfococcus multivorans</i>	4-NF	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfoformaculum orientis</i>	4-NF	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Desulfoformaculum</i> sp. GROL	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Enterobacter cloacae</i>	4-CI-2-NF	Beunink and Rem, 1990.
<i>Escherichia coli</i>	TNT, 4-NBA, nitrofurazona, nitrofurantoina, dinitrotolueno	McCormick <i>et al.</i> , 1976; Petersen <i>et al.</i> , 1979; Thijssen and Henderson 1973.
<i>E. coli</i> B-3468	Me-4-NBA	Kitamura <i>et al.</i> , 1983.
<i>E. coli</i> B/r	Me-4-NBA	Kitamura <i>et al.</i> , 1983
<i>Halanaerobium praevalens</i> DSM 2228	NB, 2-NF, 3-NF, 4-NF, nitroanilina, 2,4-DNF, 2,4-dinitroanilina	Oren <i>et al.</i> , 1991.
<i>Methanobacterium formicicum</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanoculleus oldenburgensis</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanogenium tatonis</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanosarcina barkeri</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanosarcina frisia</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanosarcina</i> sp. Cepa KS2002	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanospirillum hungatei</i>	3-NF, 4-NF, 2,4-DNF, 4-NBA, 4-nitroanilina	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Nocardia</i> sp. Cepa V	1,4-DNB	Villanueva, 1964.
<i>Pseudomonas acidovorans</i> ATCC 15005	4-NBA, 3-CINB	Schackmann and Muller, 1991.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 17933	4-NBA, 3-CINB	Schackmann and Muller, 1991.
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 23937	4-NBA, 3-CINB	Schackmann and Muller, 1991.
<i>Pseudomonas</i> sp. Cepa CBS3	2-, 3-, 4-CINB, 2-NBA, 3-NBA, 4-NBA, 2-NF, 3-NF, 4-NF, 1-CI-2,4-DNB, TNT	Schackmann and Muller, 1991.
<i>Pseudomonas</i> sp. Cepa FR2	TNT	McCormick <i>et al.</i> , 1976.
<i>Rhodobacter capsulatus</i> E1F1	2,4-DNF, 2-NF, 3-NF, 4-NF	Blasco and Castillo, 1992.
<i>Rhodotorula glutinis</i>	2,3-DNT, 2,4-DNT, 3,4-DNT, 2,5-DNT	Kozuka <i>et al.</i> , 1978.
<i>Sporohalobacter marismoruti</i> ATCC 35420	2-NF, 3-NF, 4-NF, NB, nitroanilina, 2,4-DNF, 2,4-dinitroanilina	Oren <i>et al.</i> , 1991.
<i>Veillonella alealecenscens</i>	TNT	McCormick <i>et al.</i> , 1976

TESIS COM  
FALLA DE ORIGEN

#### 1.2.4. Biodegradación de nitrofenoles

Los nitrofenoles están entre los más importantes y versátiles compuestos orgánicos industriales. Son ampliamente utilizados como materia prima o intermediarios en la fabricación de explosivos, farmacéuticos, plaguicidas, pigmentos, colorantes, preservadores para madera y plásticos. Los nitrofenoles pueden ser producidos inadvertidamente por la hidrólisis de varios plaguicidas organofosforados, como paratión o bien por fotodegradación de plaguicidas que contienen nitrofenol. Son resultado de los procesos naturales en la biosfera y contaminantes comunes en varios ecosistemas en países desarrollados (Uberoi y Bhattacharya, 1997; Blasco y Castillo, 1992).

Entre los nitrofenoles los 2-nitrofenol (2-NP), 4-nitrofenol (4-NP) y 2,4-dinitrofenol (2,4-NP) son considerados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (U.S. E.P.A.). La producción anual de 4-NP es de 20 millones de kg. (U.S. E.P.A., 1980). Estos compuestos tienen un significativo riesgo a la salud y al ambiente, ya que presentan actividad mutagénica o carcinogénica y pueden bioacumularse en la cadena alimenticia, debido a que actúan como agentes desacoplantes en la fosforilación oxidativa (Donlon *et al.*, 1996) esto es, permiten el transporte electrónico, pero impiden la fosforilación del ADP a ATP, por lo que se dice que desacoplan las reacciones que producen energía de las que la conservan (Leninger, 1978). Las concentraciones que afectan el metabolismo celular son más bajas de 10  $\mu\text{M}$  (Schwarzenbach *et al.*, 1988). En la tabla 1.2 se presentan las principales características de estos compuestos. La toxicidad de los nitrofenoles disminuye en el orden 2,4-dinitrofenol > 4-nitrofenol, > 2 y 3-nitrofenol (Haghighi *et al.*, 1995).

La biodegradabilidad y toxicidad de los nitrofenoles a sido reportada en trabajos previos (Haghighi *et al.*, 1995; Uberoi y Bhattacharya, 1997; O'Connor y Young, 1996), en estos estudios los procesos fueron altamente modificados por reducción debido a la inapropiada selección de sustratos. La mayoría de los autores usaron medio anaerobio conteniendo sulfuros, agentes químicos reductores, que transforman compuestos nitroaromáticos, por lo que las bacterias fueron expuestas solo momentáneamente al compuesto tóxico. Boophaty (1994), sugirió que las bacterias metanogénicas mejoraron la reducción de compuestos nitroaromáticos en condiciones anaerobias, siendo esta reducción la primera etapa de degradación de los compuestos nitroaromáticos, siempre y cuando estuviera presente el donador y aceptor de electrones adecuado.

La toxicidad de estos compuestos a los microorganismos, junto con su naturaleza recalcitrante (Field *et al.*, 1995), es problemática para la efectividad del tratamiento biológico. Estos compuestos son reducidos por consorcios microbianos en condiciones anaerobias a aminas aromáticas pero generalmente no son degradados, sino que es una reacción que disminuye la toxicidad mediada por ciertas enzimas y/o cofactores; (Hallas y Alexander, 1983; Johnson y Young, 1983; Boyd *et al.*, 1983; O'Connor y Young, 1989 y 1996; Gorontzy *et al.*, 1993; Razo-Flores *et al.*, 1996; Donlon *et al.*, 1995 y 1996); sin embargo, esta reducción incrementa la susceptibilidad de la molécula aromática para la degradación aerobia (Dickel *et al.*, 1993; Brown y Laboureur 1983).

Tabla 1.2. Principales características de los nitrofenoles

Característica	2-nitrofenol	4-nitrofenol	2,4-dinitrofenol
Fórmula empírica	$C_6H_5O_3N$	$C_6H_5O_3N$	$C_6H_4O_5N_2$
Peso molecular (g/mol)	139.11	139.11	184.11
Otros nombres	1) 1-hidroxi-2-nitrobenzoceno 2) o-nitrofenol 3) 2-nitrofenol	1) 4-hidroxi-nitrobenzoceno 2) p-nitrofenol 3) 4-nitrofenol	1) 1-hidroxi-2,4-dinitrobenzoceno 2) DNP 3) Aldifen 4) 2,4-DNP
Clasificación	Sustancia peligrosa (EPA)	Sustancia peligrosa (EPA) Desecho peligroso (EPA)	Sustancia peligrosa (EPA) Desecho peligroso (EPA)
Propiedades físicas	Sólido cristalino de color ligeramente amarillento, funde a 44-45°C, Peso específico=1.657 (20°C), punto de ebullición 214°C. Solubilidad en agua 2100 mg/L a 20 °C, coeficiente de partición log.octanol/agua=1.76	Sólido cristalino de color amarillo pálido, con ligero olor aromático - dulce, punto de ebullición de 279°C, punto de fusión=114.9 °C, solubilidad en agua 16000 mg/L a 25 °C; coeficiente de partición log.octanol/agua= 1.91	Existen 6 isómeros del dinitrofenol, el más importante industrialmente es el 2,4-dinitrofenol. Es un explosivo, sólido, cristalino amarillo, funde a 114-115°C, solubilidad en agua a 18 °C, 5600 mg/L, coeficiente de partición log.octanol/agua=1.53
Números de código	CAS 888-75-5 RTECS SM210000 UN 1663	CAS 100-02-7 RTECS SM2275000 UN 1663	CAS 51-28-5 RTECS SL 280000 UN 0076 UN 1599 (Solución)
Usos	Síntesis orgánica y en la elaboración de plaguicidas	Síntesis de materia colorante y otros intermediarios y plaguicidas	Obtención de colorantes, especialmente colores de azufre, ácido pícrico, ácido picrámico, conservación de tablonos, punto de partida del revelador fotográfico amidol
Límite máximo permitido:			
a) Protección de la vida acuática de agua dulce	230 µg/L	230 µg/L	230 µg/L
b) Protección de la vida acuática de agua salada	4 580 µg/L	4 580 µg/L	4 850 µg/L
c) Protección de la salud humana	70 µg/L	70 µg/L	70 µg/L

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Se ha observado que una etapa anaerobia biotransforma los nitrofenoles (reducción del grupo  $\text{NO}_2$ ) a aminofenoles, sin embargo el consorcio anaerobio no siempre mineraliza el derivado amino y la mineralización depende del tipo de inóculo usado.

En un estudio realizado por Razo-Flores (1997), cuando usó un lodo granular no aclimatado no observó mineralización del PAF; sin embargo la aclimatación previa del lodo a 2-nitrofenol, mineralizó el PAF. Donlon *et al.*, (1996), reportaron la mineralización parcial (22 %) del PAF en condiciones anaerobias, usando una mezcla de ácidos grasos volátiles como co-sustrato.

Uberoy y Bhattacharya (1997), reportaron que los nitrofenoles fueron más inhibitorios a la utilización de acetato que a la utilización de propionato y que la alta concentración de SSV produjo efectos tóxicos menos severos en los metanógenos. Varias evidencias indican que los metanógenos acetoclásticos son más sensitivos a los compuestos aromáticos tóxicos que los metanógenos hidrogenotróficos. En apariencia los metanógenos son más sensibles a la presencia de nitroaromáticos que las bacterias sulfatorreductoras (Gorontzy *et al.*, 1993).

Roldán *et al.*, (1998), estudiaron la bacteria fototrófica *Rhodobacter capsulatus* para la destoxicación de PNF y demostraron que el proceso es facilitado por la adición de sustratos adicionales como acetato, para incrementar la masa celular y de esta manera disminuye la proporción de p-nitrofenol/masa celular y la relativa toxicidad del p-nitrofenol. Recientemente se ha investigado la influencia de una fuente alterna de compuesto tóxico como el fenol sobre la actividad degradativa de cepas puras como *Nocardioides* sp NSP41 en cultivos en suspensión y células inmovilizadas en alginato de calcio y reportaron mejor actividad éstas últimas considerando que es posible su uso en el tratamiento de efluentes industriales debido a la simultánea degradación de fenol y PNF (Cho *et al.*, 2000).

Se han realizado varios estudios que demuestran la biodegradabilidad de nitrofenoles ya sea por vía aerobia o anaerobia. Estos compuestos son degradados por bacterias heterotróficas y consorcios bacterianos, a través de vías metabólicas que incluyen procesos oxidativos y reductivos.

#### 1.2.4.1. Vía metabólica oxidativa

Unas cuantas bacterias aerobias del género *Pseudomonas* han degradado nitrofenoles en cultivos puros, (Spain *et al.*, 1984; Zeyer y Kearney, 1984; Zeyer *et al.*, 1986; Bruhn *et al.*, 1987; Heitkamp *et al.*, 1990; Nishino y Spain, 1993 a) en este proceso el grupo nitro es liberado como nitrito y después el anillo aromático es oxidado. Esta vía oxidativa (figura 1.2) es catalizada por oxigenasas, caracterizadas en las especies de *Pseudomonas* (Zeyer *et al.*, 1986). Estas bacterias usan las siguientes estrategias para la remoción o transformación del grupo nitro:

- a) Eliminación del grupo nitro catalizada por monooxigenasas
- b) Inserción de dos grupos hidroxilos seguida de la eliminación del grupo nitro como nitritos, catalizada por una dioxigenasa
- c) Reducción parcial del grupo nitro a hidroxilamina, que es el sustrato para el rearreglo o reacción hidrolítica y eliminación de amonio

- d) Reducción parcial del anillo aromático para formar un complejo Meisenheimer y subsecuente eliminación del grupo nitro como nitrito

#### 1.2.4.2. Vía metabólica reductiva

La detoxificación microbiana de nitrofenoles por reducción del grupo nitro al derivado amino correspondiente en condiciones anaerobias, ha sido extensamente estudiada a nivel fisiológico, (McCormick *et al.*, 1976; Hallas y Alexander, 1983; Johnson y Young, 1983; Boyd *et al.*, 1983; Blasco y Castillo, 1993; Boopathy, 1994; Donlon *et al.*, 1995; O'Connor y Young, 1996; Razo-Flores *et al.*, 1996; Uberoi y Battacharya, 1997; Schenzle, 1997; Kadiyala y Spain, 1998) pero sólo unos cuantos estudios han caracterizado las enzimas involucradas (Blasco y Castillo, 1993; Schenzle *et al.*, 1997); las bacterias involucradas en su metabolismo son sulfato-reductoras, reductoras de nitratos y metanogénicas. El mecanismo propuesto para la reducción del PNF a PAF es el siguiente:

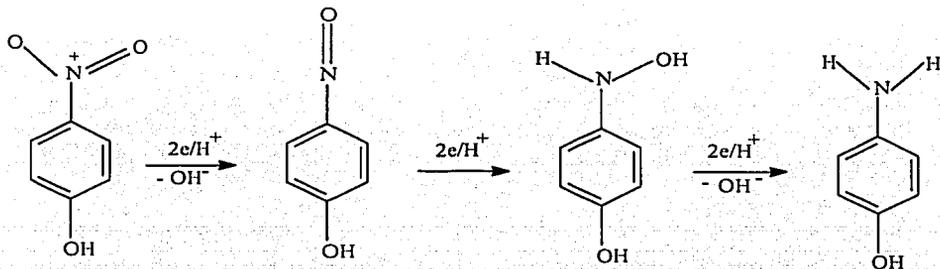


Figura 1.6. Vía metabólica reductiva para la biotransformación del p-nitrofenol.  
(Fuente: Marvin-Sikkema y de Bont, 1994)

Las bacterias anaerobias y aerobias que se han reportado como degradadoras de nitrofenoles son mostradas en las tablas 1.3 y 1.4.

TESIS CON  
FALLA DE CALIDAD

Tabla 1.3. Bacterias anaerobias degradadoras de nitrofenoles.

Bacterias anaerobias	Compuesto reducido	Referencia
<i>Veillonella alkalescens</i>	2, 3, y 4-nitrofenol 2,4-dinitrofenol	Mc Cormick <i>et al.</i> , 1976.
<i>Halainaeobium praevalens</i> dsm 2268	2, 3 y 4-nitrofenol 2,4-dinitrofenol	Oren <i>et al.</i> , 1991.
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	2, 3 y 4-nitrofenol 2,4-dinitrofenol	Blasco and Castillo, 1992 y 1993.; Roldán, 1998.
<i>Sporohalobacter marismortui</i>	2 y 3-nitrofenol	Gorontzy <i>et al.</i> , 1993.
<i>Methanococcus</i>	2,4-dinitrofenol	Boopathy, 1994.
<i>Ralstonia eutropha</i> JMP 134	3-nitrofenol	Schenzle, 1997.

Tabla 1.4. Bacterias aerobias degradadoras de nitrofenoles.

Bacterias aerobias	Compuesto reducido	Referencia
<i>Arthrobacter</i> sp.	4-nitrofenol	Spain <i>et al.</i> , 1984; Jain <i>et al.</i> , 1994.
<i>Pseudomonas putida</i> B2	2-nitrofenol	Zeyer <i>et al.</i> , 1986.
<i>Flavobacterium</i> sp	4-nitrofenol	Wiggins <i>et al.</i> , 1987.
<i>Pseudomas</i> sp N268	2,4-dinitrofenol	Bruhn, 1987.
<i>Corynebacterium</i> sp	4-nitrofenol	Zaidi <i>et al.</i> , 1988
<i>Pseudomonas putida</i>	4-nitrofenol	Spain <i>et al.</i> , 1984; Zeyer and Kearney, 1984.
<i>Janthinobacterium</i> sp	2,4-dinitrofenol	Hess <i>et al.</i> , 1990.
<i>Pseudomonas putida</i> js449	4-nitrofenol	Nishino and Spain, 1993 a.
<i>Actinomium</i>	2,4-dinitrofenol	Hess <i>et al.</i> , 1990
<i>Moraxella</i> sp	4-nitrofenol	Spain and Gibson, 1991.
<i>Bacillus sphaericus</i>	4-nitrofenol	Kadiyala and Spain, 1998.

### 1.2.5. Degradación aerobia de aminas aromáticas

En los procesos aerobios las aminas aromáticas son biodegradadas al incorporarse el oxígeno molecular al anillo aromático por medio de enzimas mono o dioxigenasas antes del rompimiento del anillo y después el oxígeno sirve como aceptor final de electrones (O'Neill *et al.*, 2000 a). El mecanismo que sigue la mineralización de las aminas es primero la hidroxilación y luego la desaminación oxidativa o bien la desaminación oxidativa es la primera etapa metabólica seguida de una hidroxilación posterior, debido a que el grupo amino es el centro de reacción primario de

los derivados aminoaromáticos. El anillo aromático es abierto solo después de que el grupo amino ha sido eliminado y reemplazado con un grupo hidroxilo.

Muchas aminas aromáticas presentan acoplamiento oxidativo (polimerización) en ambientes aerobios, lo que hace difícil su biodegradación requiriendo tiempos largos para que la población bacteriana adquiera habilidad degradativa. Los grupos hidroxilo en posición orto al grupo amino en el anillo aromático favorece la auto-oxidación de estos compuestos en presencia de oxígeno (Field *et al.*, 1995). Sin embargo los aminofenoles son considerados compuestos realmente biodegradables a pesar del efecto negativo del grupo amino sobre la velocidad de reacción. Este efecto negativo no puede ser atribuido solo a los efectos electrónicos, sino también a su complejo metabolismo. Las velocidades de degradación que presentan los aminofenoles en cultivos aerobios mixtos son del orden de 10 – 20 mg/L-h (Pitter y Chudoba, 1990).

#### 1.2.5.1. Auto-oxidación de aminas aromáticas

Algunas aminas aromáticas como fenilendiaminas, aminofenoles, aminonaftol y ácido o-amino-hidroxinaftalensulfónico tienden a auto-oxidarse bajo condiciones aerobias (Haller 1978; Kudlich *et al.*, 1999). La auto-oxidación implica un proceso en el cual el oxígeno reacciona con los productos aromáticos vía radicales libres, resultando la formación de oligómeros y polímeros coloreados (Tan, 2001). Los oligómeros inicialmente formados pueden tener efectos tóxicos y mutagénicos (Field *et al.*, 1995). El proceso de auto-oxidación elimina las aminas aromáticas y los compuestos producidos son más recalcitrantes a la degradación biológica. Para prevenir este proceso los microorganismos aerobios y anaerobios integrados en una biopelícula junto con un co-sustrato (Zitomer y ShROUT, 1998) pueden crear las condiciones óptimas para mantener bajas concentraciones y difusión de oxígeno, por lo que pueden crearse micronichos anaerobios y aerobios (Costerton *et al.*, 1994), que pueden llevar a cabo la reducción de nitroaromáticos y la oxidación de las aminas aromáticas formadas, siempre y cuando existan los donadores y aceptores de electrones adecuados, evitando de esta forma el proceso de auto-oxidación de las aminas formadas (Field *et al.*, 1995).

## 1.3. COLORANTES AZO

### 1.3.1. Colorantes en el ambiente

Los colorantes azo son compuestos químicos xenobióticos caracterizados por la presencia del cromóforo azo ( $-N=N-$ ), considerados el más grande e importante grupo de colorantes orgánicos debido principalmente a su síntesis relativamente sencilla, a su versatilidad estructural, su habilidad para enlazarse a la mayoría de fibras sintéticas y naturales y a su potencial para cubrir completamente el espectro visible (Meyer, 1981; Seshadri y Bishop, 1994; Lourenço *et al.*, 2000). De la producción mundial anual de colorantes, estimada en 1 millón de toneladas en 1994, más del 50 % son colorantes azo, representando la clase más grande y versátil que se usa actualmente, de los cuales más de 2 000 son usados en las industrias textil, de la piel, de plásticos, del papel, de farmacéuticos, de cosméticos y alimentos (Stolz, 2001).

Los colorantes azo se dividen en monoazo, diazo y triazo dependiendo del número de enlaces azo que tenga el compuesto. El grupo azo es sustituido con grupos benceno o naftaleno, los cuales contienen diferentes sustituyentes como grupos cloro (Cl), metilo ( $CH_3$ ), nitro ( $NO_2$ ), amino ( $NH_2$ ), hidroxilo (OH), ácido sulfónico ( $HSO_3$ ) y carboxilo ( $COOH$ ). Por su aplicación se clasifican en: aniónicos (ácidos y básicos), directos, reactivos, dispersos y pigmentos (figura 1.7). De esta clasificación, los colorantes dispersos han sido los más usados desde principios de los 70's, atribuyéndose su crecimiento al hecho de que son los únicos colorantes que pueden utilizarse para el teñido de fibras de poliéster, acetato, nylon y acrílico (Meyer, 1981; Cruz y Buitrón, 2000). En la categoría de colorantes dispersos la clase monoazo ha sido la de mayor crecimiento calculándose su uso en un 70 % del total de colorantes (Weber y Adams, 1995).

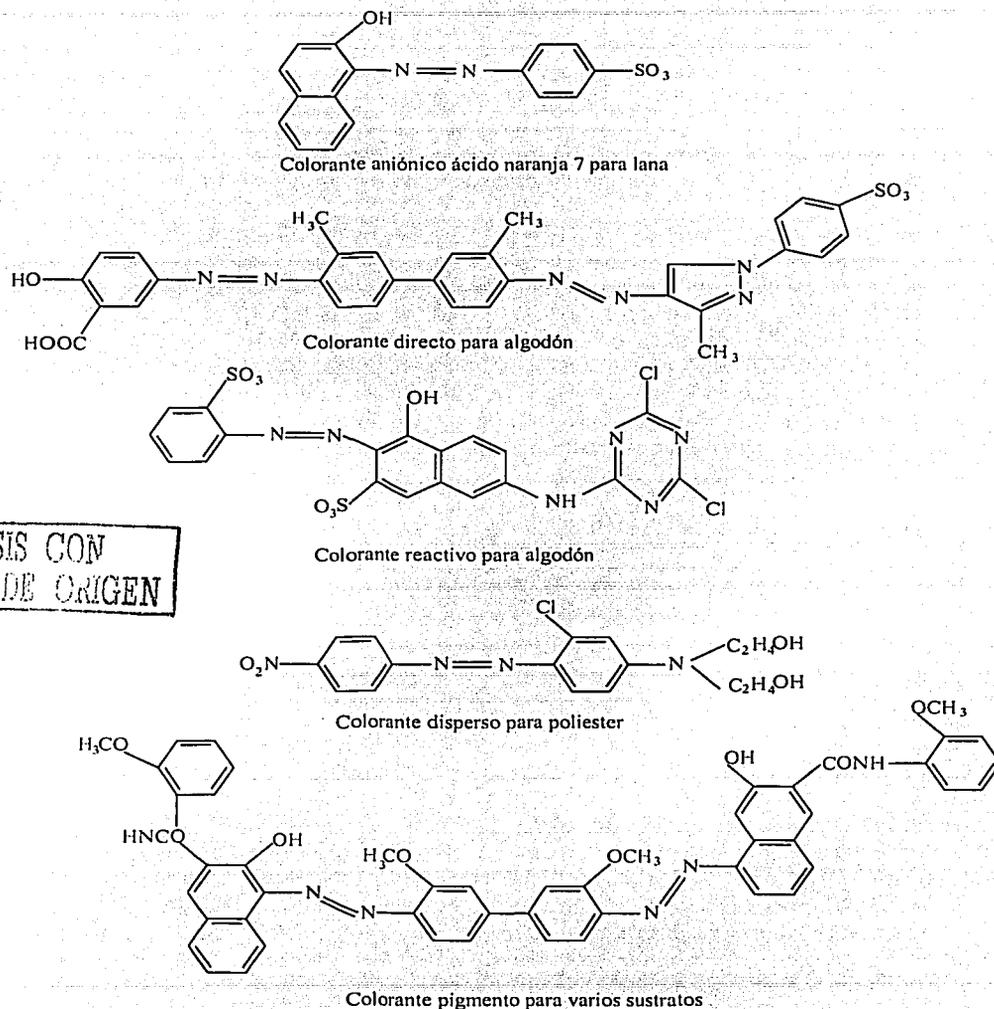
Los colorantes generalmente se liberan al ambiente por medio de dispersiones o soluciones verdaderas en efluentes industriales, siendo las principales fuentes la industria textil y la industria de manufactura de colorantes y pigmentos. Para evaluar la contaminación ambiental por colorantes se deben considerar varios factores (Meyer, 1981), entre los que destacan:

- Las cantidades descargadas
- La toxicidad a los peces
- La toxicidad a los microorganismos en la naturaleza y en las plantas de tratamiento de aguas residuales
- La acumulación en la naturaleza y en la cadena alimenticia

La industria textil consume aproximadamente dos tercios de la producción total de colorantes, que son usados para el proceso de teñido de textiles y se estima que la cantidad de colorante perdido que no se fija a las fibras, depende de la clase de colorante usado, variando del 2 % cuando se usan colorantes básicos al 50 % cuando se usan colorantes reactivos (O'Neill *et al.*, 2000 a). Estas cantidades perdidas de colorante son descargados en las aguas residuales de los sistemas de tratamiento o al ambiente en forma de dispersión o solución verdadera en efluentes industriales (Chudgar, 1985; Stolz, 2001).

El estado del arte para el tratamiento de aguas residuales conteniendo colorantes son técnicas físico-químicas como adsorción, precipitación, oxidación química, fotodegradación, filtración por

membrana, concentración e incineración, que tienen serias restricciones como métodos económicamente factibles para la decoloración de aguas residuales textiles, debido a elevados costos, formación de productos peligrosos o altos requerimientos de energía, lo que ha generado un creciente interés en el uso de sistemas biológicos para el tratamiento de este tipo de aguas residuales (Meyer 1981; Stolz, 2001).



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Figura 1.7. Clasificación de colorantes azo por su aplicación. (Fuente: Meyer, 1981)

### 1.3.2. Toxicidad de los colorantes azo

La toxicidad de colorantes azo empezó a ser investigada debido a su uso en alimentos. La carcinogenicidad de derivados del aminobenceno llegó a ser de interés primordial iniciando una considerable actividad de investigación. En estudios realizados por la ADMI (American Dye Manufacturers Institute) y la ETAD (Ecological and Toxicological Association of the Dyestuffs Manufacturing Industry), revelaron que los colorantes y pigmentos no son considerados compuestos químicos peligrosos con excepción de los colorantes de la bencidina y ciertos colorantes catiónicos del tipo de trimetilmetano (Meyer, 1981).

La toxicidad a los microorganismos fue estudiada analizando sus efectos sobre digestores anaerobios, lodos aireados y sobre la oxidación de materia orgánica en una corriente (a baja concentración de microorganismos). Los efectos inhibitorios sobre la actividad y crecimiento de microorganismos fue encontrada en particular, con altas concentraciones de colorante, con algunas especies catiónicas (trifenilmetanos) aún a bajas concentraciones.

Otro aspecto importante es la acumulación de colorantes y pigmentos y su destino final que no está muy bien definido. En trabajos realizados en la industria textil revelaron que el destino depende de la estructura del colorante y de mecanismos de adsorción no controlados (Meyer, 1981). Aún a muy bajas concentraciones, los colorantes azo solubles pueden causar problemas de color en las descargas. Aunado a los efectos estéticos negativos ciertos colorantes azo y sus productos de transformación han mostrado ser tóxicos y en algunos casos estos compuestos son carcinógenos y mutagénicos por lo que su emisión debe evitarse (Tan, 2001).

Los colorantes normalmente no son citotóxicos, mutagénicos o carcinógenos, pero las aminas formadas durante la digestión anaerobia pueden tener estas características (Harmer y Bishop, 1992).

En Alemania en 1996, se prohibieron 200 de 2000 colorantes azo que representaban un riesgo a la salud, ya que producían aminas aromáticas tóxicas que se ha comprobado son carcinogénicas a humanos y animales. Las aminas aromáticas producidas fueron del tipo de la bencidina, 3,3-dinitrobencidina, p-aminoazobenzol, o-tolidina, y diclorobencidina, que son producto de la reducción anaerobia de colorantes (Wennemer, 1996).

### 1.3.3. Biodegradación de colorantes azo

Los colorantes azo generalmente se consideran compuestos xenobióticos muy recalcitrantes a los procesos biodegradativos. Sin embargo en los últimos años se ha demostrado que varios microorganismos son capaces, bajo ciertas condiciones ambientales, de transformar colorantes azo a productos no coloreados y en algunos casos mineralizarlos completamente (Stolz, 2001). La degradación de colorantes azo puede ocurrir en sistemas aerobios y anaerobios. En la degradación microbial de colorantes azo, el proceso inicial es su decoloración. El enlace azo altamente electrofílico debe ser abierto para que la decoloración tome lugar (Rajaguru *et al.*, 2000) resultando la formación de aminas aromáticas como productos finales, que después son degradados por microorganismos aerobios (Kulla, 1981; Dickel *et al.*, 1993).

Bajo condiciones aerobias ni los lodos activados (Shaul *et al.*, 1991) ni los aislamientos bacteriales aerobios fueron capaces de degradar colorantes azo (Wuhrmann *et al.*, 1980). Se han investigado vías degradativas para algunos colorantes modelo que han mostrado una real mineralización a CO<sub>2</sub>. Se han descrito procesos reductivos para algunas bacterias aerobias que pueden crecer con compuestos azo. Los microorganismos específicamente adaptados sintetizan azorreductasas que reductivamente rompen el grupo azo en presencia de oxígeno molecular. La reacción de reducción es más común originando el rompimiento del enlace azo en condiciones anaerobias. Estas reacciones usualmente ocurren con actividades específicas bajas pero son extremadamente inespecíficas respecto a los organismos involucrados y a los colorantes azo transformados. En estos procesos anaerobios inespecíficos se involucran mediadores redox de bajo peso molecular (por ejemplo flavinas y quinonas) que son enzimáticamente reducidas por las células (o químicamente reducidos por reductores en el ambiente). Estos compuestos mediadores reducen el enlace azo mediante una reacción puramente química. Las aminas que se forman en el curso de estas reacciones pueden ser degradadas aeróbicamente, por lo que se han realizado varios procesos anaerobios/aerobios continuos a escala laboratorio para el tratamiento de aguas residuales conteniendo colorantes azo (McMullan *et al.*, 2001).

### 1.3.4. Vías de degradación

#### 1.3.4.1. Vías metabólicas aerobias

Los colorantes azo son resistentes a la biodegradación aerobia en plantas de tratamiento convencionales (Pagga y Brown 1986; Shaul *et al.*, 1991). La recalcitrancia de los colorantes azo a los procesos biológicos degradativos originan una severa contaminación de ríos y agua subterránea en las áreas con alta concentración de industrias de colorantes (Stolz, 2001).

La decoloración y degradación bacterial de colorantes textiles ha sido manifestada por algunas cepas particularmente del tipo de especies de *Streptomyces* y bacterias gram negativas como *Sphingomonas chlorophenolicus* que producen peroxidasas (McMullan *et al.*, 2001). La oxidación de colorantes azo por *Streptomyces chromofuscus* A11 involucra una peroxidasa extracelular con especificidad limitada al sustrato que produce cantidades insignificantes de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> a partir de un colorante azo de relevancia industrial marcado con <sup>14</sup>C (Paszczynski *et al.*, 1992); la vía de degradación y decoloración fue propuesta por Goszczynski *et al.*, (1994), donde las peroxidasas convierten el colorante azo a un radical catión susceptible a un ataque nucleofílico de agua o peróxido de hidrógeno. Lo que origina el rompimiento del enlace azo simétrica y asimétricamente para producir intermediarios que subsecuentemente sufren varias reacciones redox antes de producir intermediarios más estables (figura 1.8).

Con excepción de los actinomicetes, el aislamiento de bacterias aerobias capaces de decolorar y degradar colorantes principalmente del tipo de colorantes azo sulfonados es difícil. En trabajos realizados por Zimmermann *et al.*, (1984), con análogos carboxilados de compuestos azo sulfonados que fueron utilizados aeróbicamente como fuente de carbono y energía por bacterias pre-adaptadas. Las azorreductasas insensitivas al oxígeno, naranja I azorreductasa [NAD(P)H: 1-(4'-sulfofenilazo)-4-naftol oxidorreductasa] y naranja II azorreductasa [NAD(P)H:1-(4'-sulfofenilazo)-2-naftol oxidorreductasa], fueron purificadas y caracterizadas de una cepa de *Pseudomonas* K24.

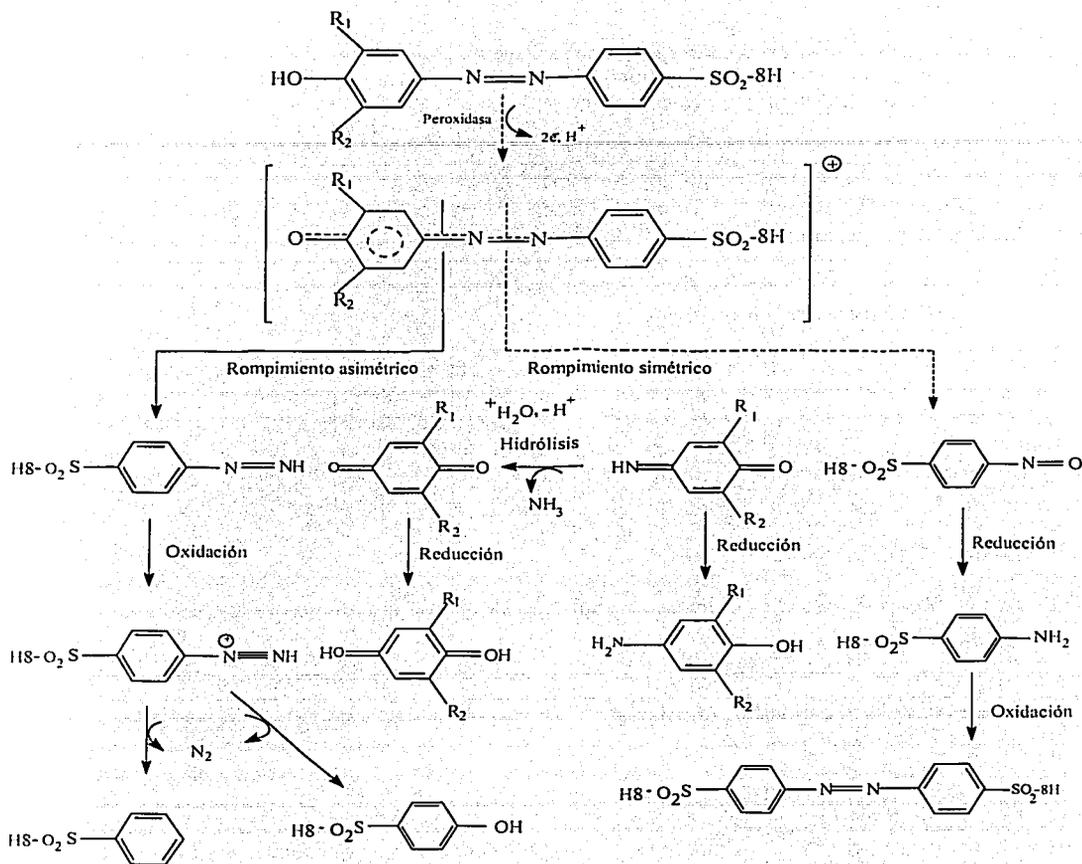


Figura 1.8. Vía metabólica propuesta para la degradación catalizada por peroxidasas de colorantes sulfonados azo. (Fuente: Goszczyński *et al.*, 1994)

Estas enzimas han sido clasificadas como la misma enzima conocida como azobencenoreductasa EC 1.6.6.7 (Zimmermann *et al.*, 1984). La habilidad de bacterias para metabolizar otra clase de colorante ha sido de interés pero con poco éxito. Recientemente Sarnaik y Kanekar (1999) describieron la mineralización aerobia de los colorantes trimetilmetano y metilvioleta por una cepa de *Pseudomonas mendocina* MCM B-402. El metil violeta fue usado como única fuente de

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

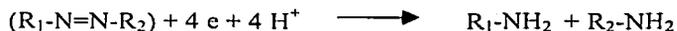
carbono y energía. En estudios preliminares mostraron que *P. mendocina* degradó el colorante vía metabolitos no identificados, a fenol vía ác.  $\beta$ -cetoadípico.

La utilización de cultivos mixtos para la degradación aerobia de colorantes azo (ácidos y básicos) ha sido reportada por varios autores (Jiang y Bishop 1994; Coughlin *et al.*, 1997). Quezada *et al.*, (2000), estudiaron los colorantes Acido Rojo 151 y un efluente industrial conteniendo una mezcla de colorantes Azul Básico 41, Rojo Básico 46 y 16, y Amarillo Básico 28 y 19 en un biofiltro aerobio operado en SBR y demostraron que el uso de sistemas periódicos es una buena alternativa para aclimatar microorganismos para tratar aguas residuales de origen textil, alcanzando la mineralización del colorante aunque con bajas velocidades de degradación.

#### 1.3.4.2. Vías metabólicas anaerobias

Bajo condiciones anaerobias se han reportado varias bacterias que realmente decoloran colorantes azo. La etapa inicial de la degradación anaerobia de colorantes azo se efectúa con el rompimiento reductivo del enlace azo, lo que origina la decoloración y la producción de aminas aromáticas incoloras potencialmente tóxicas, mutagénicas y carcinógenas. La reducción es catalizada por enzimas citoplasmáticas solubles con baja especificidad de sustrato llamadas azorreductasas. Las enzimas facilitan la transferencia de electrones vía flavinas solubles al colorante azo, que después es reducido. El papel de estas enzimas no es bien conocido (McMullan *et al.*, 2001).

El rompimiento reductivo del enlace azo sigue la reacción (Wuhrmann *et al.*, 1980):



Donde  $R_1$  y  $R_2$  son grupos fenilo y naftol. Los productos de la degradación pueden ser después degradados bajo condiciones aerobias. En un estudio realizado por Meyer (1981), estudió 14 compuestos azo y mostró que el modelo mostrado en la figura 1.9 corresponde al rompimiento reductivo del enlace azo, separando e identificando por cromatografía las aminas producidas del rompimiento reductivo del enlace azo. El autor no observó la descomposición posterior de las aminas formadas bajo condiciones anaerobias, pero sugiere que para un tratamiento efectivo del agua residual, el oxígeno puede ser introducido después de esta etapa en un proceso de dos etapas, ya que los compuestos aromáticos pueden ser degradados bajo condiciones aerobias vía hidroxilación y apertura del anillo.

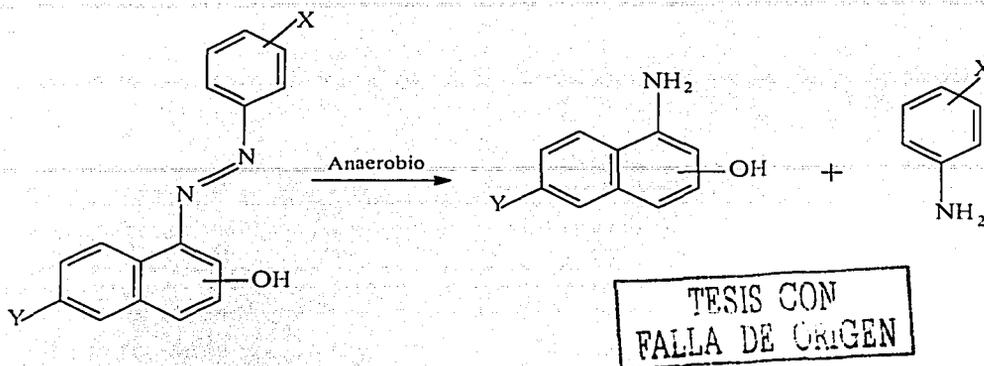


Figura 1.9. Sistema modelo para la degradación anaerobia de colorantes azo.  
(Fuente: Meyer, 1981)

La reducción anaerobia de colorantes azo es relativamente fácil de alcanzar pero su mineralización es difícil. Donlon *et al.*, (1997), reportaron la mineralización parcial del colorante azo Naranja Mordante I por lodo granular metanogénico en un reactor UASB continuo, obteniendo la mineralización de sólo un compuesto producto del rompimiento del enlace azo, el ácido 5-aminosalicílico, mientras el otro producto (1,4-fenilendiamina) se acumuló en el reactor.

Con relación a los microorganismos que son capaces de reducir compuestos azo bajo condiciones anaerobias, se encuentran bacterias anaerobias del tipo de *Bacteroides* sp, *Eubacterium* sp y *Clostridium* sp; bacterias anaerobias facultativas como *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis* y bacterias aerobias como *Bacillus* sp y *Sphingomonas* sp (Stolz, 2001).

La fisiología de las posibles reacciones que resultan del rompimiento reductivo de compuestos azo bajo condiciones anaerobias difiere significativamente de la presencia de oxígeno, debido a que varios compuestos redox activos (por ejemplo flavinas reducidas o hidroquinonas) reaccionan rápidamente con el oxígeno o con los colorantes azo. Las reacciones espontáneas de estos transportadores de electrones o compuestos mediadores con los colorantes azo permite procesos de reducción muy inespecíficos, que son gobernados principalmente por potenciales redox de los mediadores redox y los compuestos azo. La habilidad de flavin reductasas para actuar *in vitro* como azo reductasas fue demostrado por Russ *et al.*, (2000), en experimentos usando una flavin-reductasa recombinante con diferentes antecedentes genéticos. Otros compuestos mediadores redox como benzil viológeno o quinonas en compuestos estrictamente anaerobios, incrementaron significativamente la velocidad de reducción de colorantes azo (Brown, 1981). Los extractos de células mostraron generalmente más altas velocidades para la reducción de colorantes azo que los cultivos de células en reposo (Wuhrmann *et al.*, 1980).

Un modelo diferente para la reducción inespecífica de colorantes azo por bacterias, no requiere el transporte de colorante azo o flavinas reducidas a través de la membrana celular como se sugirió para *Sphingomonas xenophaga* BN6, donde la reducción fue significativamente incrementada

después de la adición de diferentes quinonas como antraquinona-2-sulfonato o 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, señalando que en este sistema las quinonas actuaron como mediadores redox, las cuales fueron enzimáticamente reducidas por las células de la bacteria y la hidroquinona formada redujo el colorante azo en el sobrenadante del cultivo en una reacción puramente química (figura 1.10).

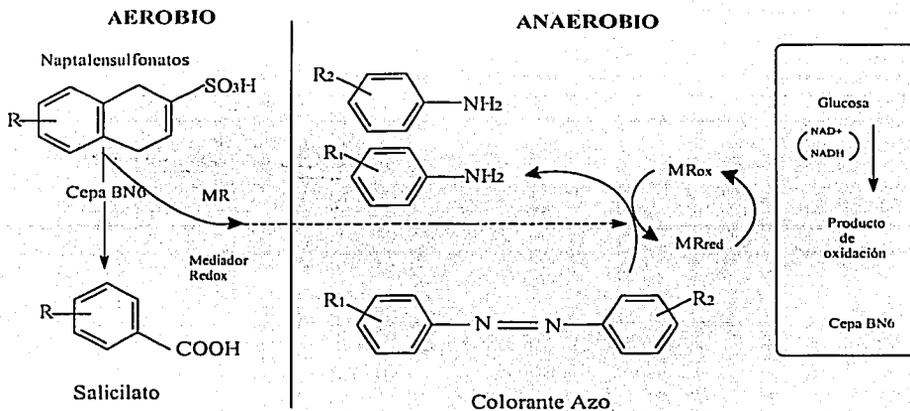


Figura 1.10. Mecanismo propuesto para la reducción de colorantes azo dependiente de mediadores redox por la cepa BN6. (Fuente: Keck *et al.*, 1997)

Bajo condiciones anaerobias muchas bacterias han mostrado reducir colorantes azo a la amina correspondiente, la degradación de estos intermediarios es realmente lograda bajo condiciones aerobias, pero los productos de esta reducción son generalmente recalcitrantes bajo condiciones anaerobias, por lo que los sistemas de tratamiento secuenciados anaerobios/aerobios para la degradación total de colorantes azo parece ser una atractiva y lógica selección (Seshadri y Bishop, 1994).

El papel de las azorreductasas bacteriales citoplasmáticas y extracelulares en la reducción de colorantes azo ha sido recientemente clasificada por Keck *et al.*, (1997), Kudlich *et al.*, (1997) y Russ *et al.*, (2000). Sus trabajos se enfocaron sobre la bacteria gram-negativa *Sphingomonas* sp BN6, la cual después de análisis moleculares representa una nueva especie llamada *Sphingomonas xenophaga* por su habilidad para degradar compuestos xenobióticos. Se ha demostrado que existe un mecanismo extracelular de reducción de colorante, en adición a las enzimas citoplasmáticas no específicas que funcionan como azorreductasas por transferencia de electrones vía grupos flavin reducidos a la molécula de colorante, semejándose a una reacción puramente química. Keck *et al.*, (1997), demostraron que ciertos compuestos base quinona generados durante el metabolismo de sustratos específicos actúan como mediadores liberando

equivalentes redox a las moléculas de colorantes azo desde la membrana celular (figura 1.10). Para investigar si las enzimas citoplasmáticas juegan un papel en la decoloración de colorantes en vivo, una flavinreductasa [NAD(P)H:flavin oxidoreductasa] fue clonada y sobreexpresada en *E. Coli* y *S. xenofaga* (Russ *et al.*, 2000) demostrando una elevada actividad azorreductasa; sin embargo en estudios celulares estas cepas demostraron poca mejoría en su capacidad decolorante. Estos hechos demuestran que la actividad azo reductasa previamente descrita en la literatura, no tenía un significativo papel en la decoloración en vivo. Finalmente Russ *et al.*, (2000), también probaron que las azorreductasas aerobias tienen una elevada actividad flavinreductasa.

### 1.3.5. Biodegradación anaerobia/aerobia de colorantes azo

Los colorantes azo son compuestos orgánicos difíciles de biodegradar por su alta estabilidad a la luz y al ataque microbiano, por lo que en la mayoría de los casos es necesario aplicar un proceso acoplado anaerobio/aerobio para alcanzar su mineralización. Los tratamientos anaerobio/aerobio en secuencia en reactores separados se han utilizado en la biodegradación de colorantes azo y en las aguas residuales de la industria textil por varios investigadores (Brown y Hamburger, 1987; Fitzgerald y Bishop, 1995; Zaoyan *et al.*, 1992; Seshadri y Bishop, 1994; Kudlich *et al.*, 1996; Rajaguru *et al.*, 2000; O'Neill *et al.*, 2000 a y b; Cruz y Buitrón, 2000). La decoloración anaerobia es relativamente fácil de lograr por microorganismos con enzimas no específicas. La primera etapa de la degradación es un fisión reductiva del enlace azo. Bajo condiciones anaerobias ninguna degradación posterior fue observada (Zaoyan *et al.*, 1992). Bajo condiciones aerobias es bien sabido que los compuestos aromáticos simples pueden ser degradados vía hidroxilación y apertura del anillo por lo que es una ventaja que el colorante sea tratado bajo condiciones anaerobias como primera etapa para la decoloración del rompimiento reductivo del enlace azo. La segunda etapa debe ser hecha en condiciones aerobias para la posterior descomposición de las aminas aromáticas tóxicas y carcinógenas. En la figura 1.11 se muestra un sistema modelo para el tratamiento anaerobio/aerobio de colorantes en aguas residuales. En la etapa anaerobia algunos complejos orgánicos solubles e insolubles en el agua residual con colorante pueden ser reducidos a compuestos orgánicos simples solubles. Los productos finales oxidados son primero ácidos grasos volátiles de cadena corta que son degradados en la siguiente etapa aerobia. Otro factor importante para tratar agua residual colorante conteniendo materia pobremente degradable es una baja carga de DQO y/o un largo tiempo de retención de sólidos biológicos (Zaoyan *et al.*, 1992).

Debido a que ciertas aminas aromáticas y aminoaromáticos sulfonados son degradados aeróbicamente, se ha sugerido repetidamente la combinación del rompimiento reductivo anaerobio de los colorantes azo con el tratamiento aerobio para degradar las aminas formadas. La factibilidad de esta estrategia fue demostrada por Haug *et al.*, (1991), para el colorante sulfonado amarillo mordante 3.

Los tratamientos anaerobios/aerobios pueden ser realizados de forma integrada o secuencial. Los procesos integrados pueden combinar las etapas anaerobias y aerobias en el mismo tanque de reacción y los secuenciales en un sistema continuo en tanques separados. El tratamiento integrado utiliza zonas anaerobias formadas dentro de cultivos básicamente aerobios como se ha observado en biopelículas, lodo granular o biomasa inmovilizada en otras matrices (Field *et al.*, 1995; Jiang y Bishop, 1994; Zhang *et al.*, 1995; Kudlich *et al.*, 1996).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

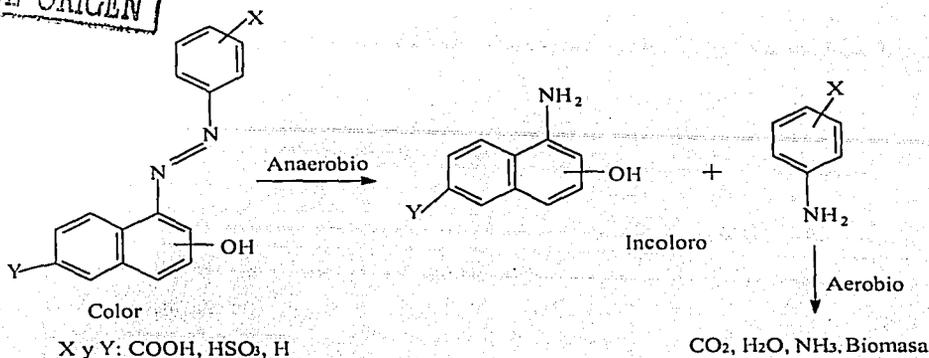


Figura 1.11. Sistema modelo para la degradación anaerobia/aerobia de colorantes mono azo.  
(Fuente: Zaoyan *et al.*, 1992)

En los sistemas de tratamiento secuenciales o integrados se requieren sustratos adicionales que abastecen a las bacterias de una fuente de equivalentes de reducción para el rompimiento del enlace azo y como fuente de carbono y energía (Tan, 2001). Aunque ciertos colorantes azo pueden ser mineralizados por tratamientos anaerobios/aerobios, también esta estrategia tiene serios problemas, como el hecho de que varias aminas formadas durante la reducción de los colorantes azo, frecuentemente del tipo o-aminohidroxinaftaleno, son inestables bajo condiciones aerobias y sufren reacciones de auto-oxidación (1.2.5.1). Kudlich *et al.*, (1999), realizaron un estudio acerca de estas reacciones de auto-oxidación indicando que el destino de diferentes o-aminohidroxinaftalenos varía dependiendo del grado de sulfonación de dímeros, de derivados de ácido cinámico desulfonado o iminas naftoquinonas formadas como principales productos de reacción, sugiriendo continuar con estos trabajos para analizar si la degradación biológica de estos o-aminohidroxinaftalenos puede competir con estas reacciones de auto-oxidación y si estos productos son accesibles para la mineralización biológica.

Durante los últimos años se han propuesto diferentes diseños de reactores para obtener un tratamiento anaerobio/aerobio efectivo de colorantes azo: un contactor rotatorio anaerobio y otro aerobio (Zaoyan *et al.*, 1992), un reactor anaerobio de lecho fluidizado y película fija seguido por un reactor aerobio de lodos activados y lecho suspendido (Fitzgerald y Bishop, 1995; Seshadri y Bishop, 1994); una combinación de reactores de tambor rotatorio (Harmer y Bishop, 1992); una columna anaerobia de lecho fijo y flujo ascendente junto con un tanque aerobio agitado (O'Neill *et al.*, 2000 a, b; Rajaguru *et al.*, 2000); un biofiltro anaerobio seguido de otro biofiltro aerobio, (Cruz y Buitrón, 2001). Es difícil comparar las eficiencias de estos sistemas de tratamiento debido a que se usaron diferentes condiciones y colorantes, la presencia de fuentes de carbono adicionales y las dificultades en el análisis de reacciones biológicas o espontáneas de las aminas formadas durante las reacciones anaerobias. En general se puede concluir que en los sistemas

continuos anaerobios/aerobios alimentados con mezclas de sustratos con un alto contenido de DQO y baja concentración de colorante, se puede alcanzar una decoloración completa del colorante y una significativa remoción de DQO en la etapa anaerobia. En la siguiente etapa aerobia, la DQO remanente de los sustratos secundarios puede ser mineralizada. Hay varios ejemplos que demuestran la remoción de 70 a 95% de DQO en el proceso anaerobio/aerobio: el tratamiento del colorante Rojo Reactivo 141 (Proción Red H-E7B) en un efluente textil sintético conteniendo almidón modificado (O'Neill *et al.*, 2000 b); en el tratamiento a escala laboratorio de agua residual de una fábrica de colorantes (Zaoyan *et al.*, 1992). Debido a que las concentraciones de colorante fueron mucho más bajas que los sustratos secundarios, el destino de las aminas formadas (especialmente si son auto-oxidables) en el tratamiento aerobio no es claro y se han publicado algunos resultados contradictorios, como en el tratamiento del colorante reactivo Violeta 5 realizado en un sistema de tres reactores de discos rotatorios donde no se indica si se llevó a cabo la mineralización de las aminas en la etapa aerobia (Harmer y Bishop, 1992). En contraste O'Neill *et al.*, (2000 a) analizaron por medio de HPLC-UV, la remoción de color, la remoción de DQO, mediciones de nitrógeno como nitrógeno orgánico total y los compuestos nitrogenados formados en la etapa anaerobia del tratamiento del colorante Rojo Reactivo 141; los autores determinaron que el colorante no se adsorbió a la biomasa sino que fue degradado anaeróbicamente a aminas, que fueron removidas aeróbicamente por medio de un tratamiento de lodos activados, sugiriendo que en la fase aerobia hubo una disminución en la concentración de los metabolitos que contenían nitrógeno, dando lugar a la mineralización del nitrógeno orgánico. Comprobaron que los derivados aminoaromáticos se formaron durante el tratamiento anaerobio y que la degradación de éstos sucedió en el tratamiento aerobio. Estos alentadores resultados obtenidos en experimentos de laboratorio demostraron que la degradación anaerobia de colorantes azo origina productos que son significativamente más disponibles para un proceso aerobio posterior.

### 1.3.6. Colorante azo azul disperso 79

Entre la familia de colorantes dispersos es de particular interés el destino del colorante azul disperso 79 (AD79) (figura 1.12), el cual es uno de los usados en más grandes volúmenes en el mercado. El rompimiento reductivo del enlace azo del AD79 resulta en la formación de 2-bromo-4,6-dinitroanilina (BDNA), que se ha mostrado que es tóxica y mutagénica, y el N,N-disustituido 1,4-diaminobenceno. Weber y Adams (1995), estudiaron la reducción química y anóxica en sedimentos del colorante AD79 y la BDNA, comprobando la reducción del AD79 transformándose a BDNA y determinando las vías de reacción para la reducción química y mediada por sedimentos (anóxica), las que resultaron similares indicando lo que puede suceder en sistemas ambientales.

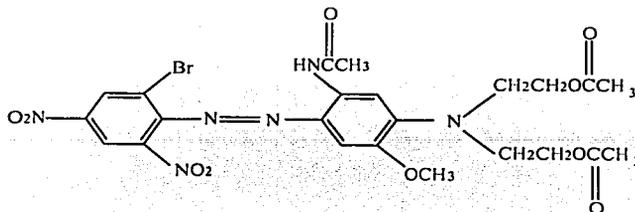
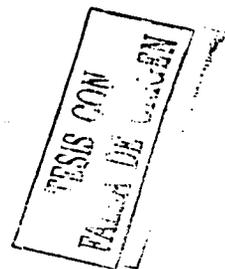


Figura 1.12. Estructura del colorante azo azul disperso 79.



## 1.3.6.1. Vía de reacción reductiva del colorante azo AD79

El mecanismo de reacción inicia con el rompimiento reductivo del enlace azo del colorante AD79, resultando la formación de BDNA y N,N-disustituido 1,4-diaminobenceno (figura 1.13). Después sucede la fácil reducción del grupo 2-nitro de la BDNA para dar 1,2-diaminobenceno, que es lentamente reducido a triaminobenceno. El N,N-disustituido 1,4-diaminobenceno sufre una reacción de ciclización a través de un ataque nucleofílico del grupo amino sin sustituir sobre el grupo amida adyacente para dar el benzimidazol. La cinética de reacción es bifásica, una pérdida inicial rápida del colorante es seguida por una mucha más lenta velocidad de reacción de transformación (Weber y Adams, 1995). Los resultados del estudio realizado por los autores sugieren que los colorantes dispersos como el AD79, experimentan una rápida transformación reductiva en sedimentos anóxicos liberando aminas aromáticas en el agua que los contiene.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

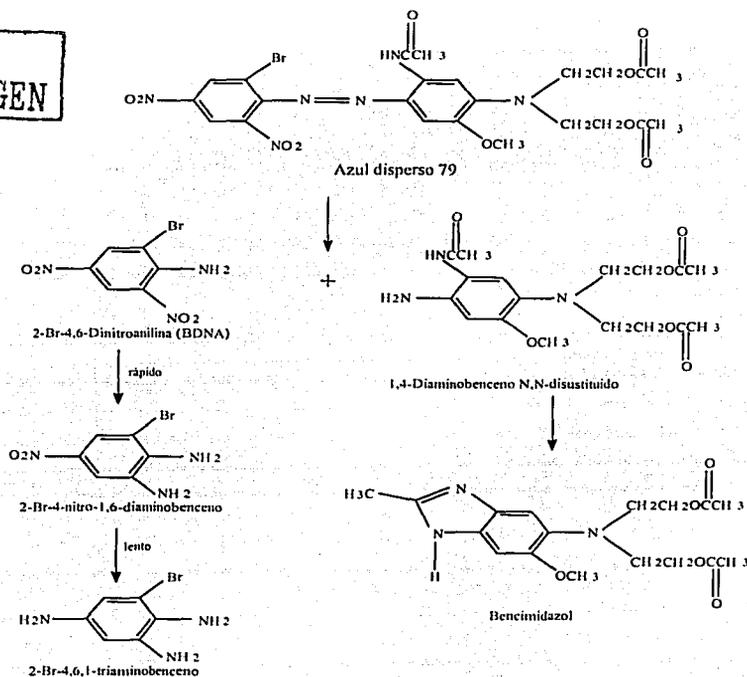


Figura 1.13. Vía reductiva del colorante azo azul disperso 79 (AD79).  
(Fuente: Weber y Adams, 1995)

## 1.4. EL USO DEL PROCESO SBR PARA LA ELIMINACIÓN DE COMPUESTOS XENOBIÓTICOS

Los procesos discontinuos secuenciales o SBR (Sequencing Batch Reactor, por sus siglas en inglés) son una alternativa innovadora para la eliminación de xenobióticos a altas concentraciones (Buitrón y Ortiz, 1997), para tratar efluentes inhibitorios muy variables y compuestos específicos presentes en efluentes industriales (Asher *et al.*, 1992; Irvine *et al.*, 1997; Ketchum, 1997).

La clave para la realización del proceso es la operación periódica que permite regular el sustrato y los gradientes de oxígeno sobre los microorganismos para soportar las variaciones del efluente y su composición (Woolard, 1997). Como resultado, un reactor SBR puede mantener un cultivo eficiente dentro del reactor (Irvine y Ketchum, 1989). El tiempo de operación facilita alternar los ciclos de operación en respuesta a las variaciones de descargas que ocurren cuando las industrias cambian sus procesos de producción. Este nivel de control del proceso no es fácil de alcanzar en los sistemas de flujo continuo.

El concepto de operación periódica ha sido recientemente extendido a sistemas con biopelícula (Wilderer, 1995), ya que mejora la actividad del reactor aumentando la cantidad de biomasa (Buitrón y Ortiz, 1997). La biopelícula del reactor discontinuo secuencial (SBBR), es el término genérico usado para describir reactores de película fija que operan en modo de llenado y vaciado. En los SBBR empacados se utilizan estructuras sólidas (arcillas, empaques de plástico, piedra volcánica etc.), para soportar el crecimiento en la biopelícula (Kaballo, 1995).

Un ciclo típico del proceso SBR se divide en cinco fases: llenado, reacción, decantación, vaciado y un período de tiempo muerto. El control del sistema se puede llevar a cabo a través de captadores de nivel, de temporizadores o de medios computarizados. La purga del lodo generado se lleva a cabo al final de la fase reacción o de la decantación (Buitrón y Ortiz, 1997).

La operación periódica del reactor origina una distribución uniforme de la biomasa a través del reactor (Woolard, 1997). Kaballo *et al.*, (1995), realizaron la comparación de un reactor empacado operado en continuo y periódicamente para tratar pentaclorofenol y o-cresol. Los microorganismos se distribuyeron mejor en el reactor operado periódicamente y como resultado soportó mayores cargas de contaminante (incrementándose 4.5 veces la concentración del influente) que en el proceso en continuo. El tiempo de llenado fue un parámetro importante para lograr una distribución uniforme de la biomasa en el reactor. El análisis de datos sugirió que la operación periódica expuso a los microorganismos de la biopelícula a variaciones en la concentración de sustrato durante cada ciclo del reactor, alcanzando velocidades de crecimiento máximas que mejoraron el potencial de reacción y sistemas estables y fuertes convenientes para el tratamiento de efluentes residuales muy variables.

El reactor SBR ha demostrado ser un medio eficiente en costo-efectivo y energía para remover compuestos orgánicos tóxicos encontrados en descargas industriales; es conveniente para la selección y enriquecimiento de las poblaciones microbianas deseadas debido a la facilidad con que se puede arrancar una estrategia de arranque y operación y las presiones selectivas que pueden implementarse (Irvine y Ketchum, 1989). La conveniencia de su operación deriva del

tiempo de duración del proceso. Específicamente, cada tanque en el sistema SBR se llena durante un período de tiempo distinto. Durante el período de llenado, la selección de organismos puede controlarse por manipulación de la velocidad específica de crecimiento de los microorganismos en ese momento y la regulación de la presión de oxígeno en el reactor, por ejemplo de condiciones anaerobias a aerobias (Asher *et al.*, 1992), después de que el tanque se ha llenado, el tratamiento continua con la operación SBR como un reactor por lotes. Durante el período de reacción, las presiones selectivas son aplicadas controlando el tiempo que los organismos se mantienen en condiciones de ayuno. Después del tratamiento, el efluente tratado es drenado del reactor durante un período adicional de descarga.

El sistema SBR presenta las siguientes ventajas con respecto a los procesos continuos (Irvine y Ketchum, 1989; Asher *et al.*, 1992):

1. Establecimiento de un consorcio de microorganismos estable y con altos rendimientos
2. Flexibilidad en su operación: en estos procesos la degradación de los compuestos se realiza en función del tiempo. En caso de haber un choque de concentración, debido al aporte de un compuesto tóxico, se puede prolongar la duración del tratamiento
3. Se disminuyen los costos de inversión, debido a que el mismo tanque sirve de reactor y de sedimentador
4. Se mejora la decantación de la biomasa debido a la operación cíclica del reactor

#### 1.4.1. Desarrollo de los reactores SBR en México

El uso de los reactores SBR para el tratamiento de aguas residuales en México, inició aproximadamente en 1993. La tecnología de reactores discontinuos secuenciales ha sido utilizada en plantas de tratamiento de aguas de origen municipal (doméstica y de servicios) e industrial. En el país se tienen instalados alrededor de 73 reactores, de los cuales 61 son usados para tratamiento de aguas residuales municipales, 47 para las aguas residuales de servicios y 14 para aguas residuales domésticas, tratando un flujo aproximado de 160 L/s del total de aguas residuales municipales generadas en México, que de acuerdo a la Comisión Nacional del Agua (1999) es de 196 m<sup>3</sup>/s de los que sólo son tratados 47 m<sup>3</sup>/s (Monroy *et al.*, 2000). Por otra parte, los reactores SBR que tratan agua residual industrial son 12 y tratan un flujo de 80 L/s aproximadamente del total de agua residual industrial tratada en el país que es de 22 m<sup>3</sup>/s. El volumen total de agua residual que tratan los reactores SBR instalados en México es de 240 L/s.

Los reactores operan con eficiencias de remoción de DQO o DBO de 90 a 95 % y efectúan de 1 a 12 ciclos/d con duración de 2 a 24 h/d. El 12 % de los reactores en uso reciben un pre-tratamiento y el 26 % un post-tratamiento que por lo regular es de desinfección con cloro, que en algunos casos es acompañado por filtración con carbón activado. El agua tratada se utiliza para riego en jardines en un 96 %, para su reuso en el proceso en un 3 % y el 1 % es descargado al drenaje municipal.

Los estados en que se encuentran localizadas las plantas de tratamiento que utilizan reactores SBR se muestran en la tabla 1.5.

Tabla 1.5. Localización de plantas de tratamiento de aguas residuales con reactores SBR

Estado	SBR Instalados	Tipo de agua residual tratada	
		municipal	industrial
Nuevo León	31	29	2
Estado de México	13	9	4
D.F.	5	3	2
Quintana Roo	4	4	-
San Luis Potosí	3	3	-
Coahuila	3	3	-
Sonora	2	2	-
Tamaulipas	4	3	1
Aguascalientes	2	-	2
Jalisco	1	-	1
Guerrero	1	1	-
Tlaxcala	1	1	-
Puebla	1	1	-
Querétaro	1	1	-
Baja California Sur	1	1	-

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## Capítulo 2

### OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### 2.1. Objetivo General

Investigar a nivel piloto de laboratorio la biodegradación de compuestos nitroaromáticos y un colorante azo por medio de un biofiltro discontinuo anaerobio/aerobio.

#### 2.2. Objetivos específicos

1. Determinar las condiciones óptimas para la aclimatación de microorganismos al p-nitrofenol y a los cambios de ambiente anaerobio/aerobio, manteniendo eficiencias de remoción fijas con tiempos de reacción variables
2. Estimar la máxima carga de contaminante tratada en el biofiltro y el tiempo de retención hidráulico óptimo, experimentando la biodegradación de p-nitrofenol a diferentes concentraciones y tiempos de reacción en las fases anaerobias y aerobias
3. Investigar la influencia de diferentes tipos de co-sustrato sobre la velocidad de reducción en la fase anaerobia, a través de la biotransformación de p-nitrofenol a p-aminofenol en el biofiltro
4. Determinar la cinética de reacción en la eliminación del p-nitrofenol y la biotransformación a p-aminofenol en la fase anaerobia y la mineralización del p-aminofenol en la fase aerobia del proceso
5. Investigar el comportamiento del proceso anaerobio/aerobio tratando un efluente real de la industria químico-farmacéutica en un biofiltro operado en discontinuo
6. Investigar el comportamiento del proceso anaerobio/aerobio tratando un efluente sintético del colorante azo azul disperso 79 en un reactor operado en discontinuo
7. Evaluar la toxicidad del influente y efluente en cada fase del proceso mediante el método de Microtox

### **2.3. Hipótesis**

La biodegradación de compuestos nitroaromáticos y colorantes azo puede ser llevada a cabo en un solo biofiltro discontinuo anaerobio/aerobio, en la fase anaerobia se lleva a cabo la reducción de los compuestos nitro o azo aromáticos formando los derivados aminoaromáticos correspondientes y en la fase aerobia estos compuestos son mineralizados.

## Capítulo 3

### METODOLOGÍA

El presente trabajo fue desarrollado en los laboratorios de la Coordinación de Bioprocesos Ambientales, del Instituto de Ingeniería de la U.N.A.M. En la primera parte se determinaron las características físicas del material de soporte, las pérdidas abióticas debidas a la naturaleza del PNF y la posibilidad del tratamiento anaerobio/aerobio integrado en un reactor, mediante pruebas de biodegradabilidad para evaluar de manera sencilla y rápida el potencial de biotransformación y degradación de los contaminantes del agua residual sintética en estudio. En la segunda parte se realizó el arranque y operación del biofiltro operado en SBR, para la evaluación del proceso integrado anaerobio/aerobio para la mineralización del PNF. En la tercera parte se aplicó el sistema a un efluente real de la industria químico-farmacéutica y en la cuarta parte en el tratamiento del colorante azo azul disperso 79. En la figura 3.1 se muestra el diagrama de las etapas de experimentación del estudio.

#### 3.1. Caracterización del material de soporte y pérdidas abióticas

Como la principal característica que se busca en los materiales de soporte es la facilidad para una rápida colonización por las bacterias, al tezontle se le determinaron las siguientes características: granulometría, peso específico, porosidad del reactor empacado y de las piedras, densidad de área superficial.

Las pérdidas abióticas debidas a la naturaleza del PNF que se determinaron fueron: la volatilidad, la sorción en el reactor, en el empaque y en las membranas de nitrato de celulosa. Las técnicas de análisis para la caracterización del tezontle y pérdidas abióticas, se encuentran detalladas en el anexo 2.

También se determinó si la composición del medio mineral favoreció la descomposición abiótica del PNF. El medio acuoso mineral que se utilizó tanto en la etapa anaerobia como aerobia fue el recomendado por AFNOR, 1984. Las sales fueron grado reactivo o Q.P. (químicamente puro). La composición del medio se muestra en la tabla 3.1.

##### 3.1.1. Pruebas de biodegradabilidad anaerobia/aerobia del PNF en matraces

Estas pruebas tuvieron como objetivo determinar el mejor inóculo para el reactor piloto en su arranque, a partir de lodos activados de forma individual o bien una mezcla de lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales industriales ECCACIV, localizada en Jiutepec, Morelos y de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales Cerro de la Estrella, localizada en México, D.F.

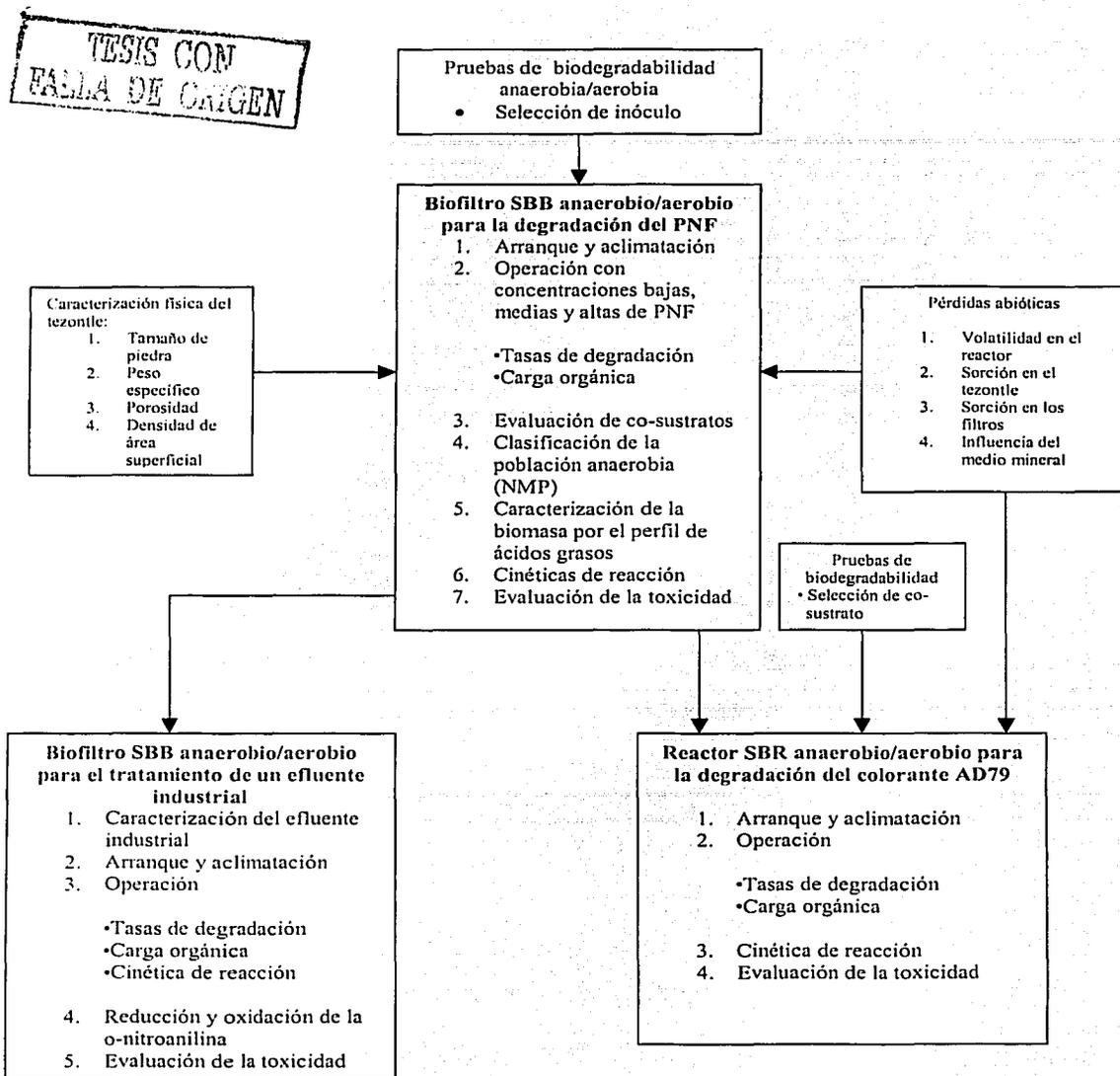


Figura 3.1. Diagrama de flujo del estudio de la biodegradación de compuestos nitroaromáticos y un colorante azo por medio de un biofiltro discontinuo anaerobio/aerobio

Tabla 3.1. Composición del medio mineral dentro del reactor, pH 7.2 unidades

Compuesto	(mg/L)
$K_2HPO_4$	65.25
$Na_2 HPO_4 \cdot 2H_2O$	100.2
$KH_2PO_4$	25.5
$NH_4Cl$	7.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	22.5
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	27.5
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.25
$H_3BO_3$	0.06
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.04
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.04
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0.03
EDTA	0.1

Se manejaron 5 reactores con la siguiente composición:

R-1: Mezcla 70/30 de lodos activados de la planta Cerro de la Estrella y de la planta ECCACIV, respectivamente.

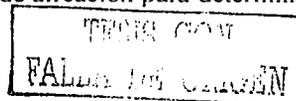
R-2: Mezcla 50/50 de los lodos mencionados antes.

R-3: Lodos activados de la planta Cerro de la Estrella.

R-4: Lodos activados de la planta ECCACIV.

R-5: Control abiótico.

El volumen de los reactores fue de 350 mL de medio mineral nutriente, PNF 10 mg/L y se agregó la cantidad de biomasa necesaria como SSV para una concentración de 2 500 mg/L en reactor. A todos los matraces se adicionó solución de acetato de sodio de 50 mg/L como co-sustrato como fuente de carbono y de electrones para complementar las reacciones de reducción en la fase anaerobia. Los matraces se colocaron en una parrilla agitadora, la primera fase de reacción fue la anaerobia, la segunda fue la aerobia. Se tomó una muestra cuando desapareció el color amarillo característico del PNF y se determinó la concentración de aminas totales, PNF y pH durante 5 ciclos. Se determinó que inóculo presentó una mejor reducción del PNF, que fue medida como la eficiencia de remoción del PNF y la biotransformación del PNF a PAF que fue medida como la eficiencia de biotransformación con base en la producción de PAF durante la fase de reacción anaerobia. Enseguida se inició la fase de aireación para determinar la remoción



aerobia de PAF, cuantificada como la eficiencia de mineralización de PAF formado. Las mediciones se hicieron por espectroscopia a 400 nm para el PNF y a 440 nm para el PAF (método del p-dimetilaminobenzaldeído).

### 3.2. Métodos de análisis

#### 3.2.1. Métodos APHA

Son los métodos recomendados por Standard Methods For Examination of Water and Wastewater (1992), para la medición de pH, potencial redox, alcalinidad total como  $\text{CaCO}_3$ , DQO, nitrógenos como nitrógeno total, nitrógeno orgánico, nitrógeno amoniacal, nitratos, nitritos, oxígeno disuelto, color (Esc.Pt-Co), SSV, SV y SST. En la tabla 3.2 se enlistan los parámetros, método y equipo usado en las determinaciones.

Tabla 3.2. Métodos de análisis APHA (1992) durante la operación del biofiltro SBB.

Parámetro	Método de análisis	Equipo
p-nitrofenol	Espectrofotométrico	UV Beckman, serie 600 ( $\lambda=400$ nm)
p-aminofenol	Espectrofotométrico p-dimetilaminobenzaldeído	UV Beckman, serie 600 ( $\lambda=440$ nm)
Potencial de oxido reducción (O.R.P.)	Potenciométrico	Potenciómetro Orión modelo 707, electrodos de pH y potencial redox
pH		
Oxígeno disuelto	Electrodo	Oxímetro YSI modelo 53B Oxímetro YSI modelo 5300 (Biological Oxygen Monitor)
Temperatura	Termómetro	Termómetro de bulbo
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	Gravimétrico	Estufa
Sólidos suspendidos totales (SST)	"	"
Sólidos volátiles (SV)	"	"
Carbono orgánico total disuelto ( $\text{COT}_d$ )	Combustión por infrarrojo	Analizador de COT Shimadzu modelo TOC-5050
Nitrógeno orgánico (N-org)	Espectrofotométrico	Espectrofotómetro
Nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4$ )	"	HACH, DR 2000
Nitrógeno de nitritos ( $\text{N-NO}_2$ )	"	"
Nitrógeno de nitratos ( $\text{N-NO}_3$ )	"	"
Sulfuros ( $\text{S}^2-$ )	"	"
Color (Esc. Pt-Co)	"	"
Fenoles	"	"
Demanda química de oxígeno (DQO)	"	"
Alcalinidad total como $\text{CaCO}_3$	Titulométrico (potenciométrico)	Bureta, Potenciómetro Orión modelo 707

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.2.2. Técnicas específicas

Se utilizaron técnicas específicas para la determinación de PAF, colorante AD79, pruebas de sorción del PNF y AD79 y pruebas de respirometría.

#### 3.2.2.1. Determinación del PAF

El PAF fue analizado colorimétricamente por la reacción con p-dimetilaminobenzaldehído (Oren *et al.*, 1991). Se tomaron 0.2 mL de muestra previamente filtrada, se agregaron 0.8 mL de agua destilada, 0.05 mL de HCl 1M, 3 mL de etanol, 0.5 mL de p-dimetilaminobenzaldehído al 5 % en etanol y 0.5 mL de ácido cítrico al 15.7 % en NaOH al 6 %. Después de 10 minutos se agregaron 2.5 mL de agua destilada y la absorbancia se midió a 440 nm. Se corrió un blanco reactivo con cada serie de muestras y se realizó una curva de calibración.

#### 3.2.2.2. Determinación del colorante AD79

El colorante AD79 fue determinado colorimétricamente en agua a 546 nm y en etanol a 566 nm (Weber y Adams, 1995). Se tomaron 5 mL de muestra, se mezclaron en un vortex por 1 minuto, se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 20 minutos. Después se hizo la separación de la fase líquida y a la fase sólida se agregaron 5 ml de etanol, se mezclaron en vortex por 1 minuto y después se centrifugo igual que antes. Se hizo la determinación de colorante en ambas fases, acuosa y orgánica a 546 nm y 566 nm respectivamente. Previamente se hicieron las curvas de calibración del colorante en agua y etanol. Por cada serie de muestras se hizo un blanco reactivo para eliminar interferencias.

#### 3.2.2.3. Determinación de la sorción del AD79

Se determinó la sorción del colorante AD79 en el tezontle como se indica en el anexo 2.

#### 3.2.2.4. Pruebas de respirometría de la biomasa suspendida y fija en el biofiltro

Se tomaron muestras de tezontle del nivel superior y medio del biofiltro. Con una solución de  $K_2HPO_4$  (65.2 mg/L),  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  (100.2 mg/L),  $KH_2PO_4$  (25.5 mg/L) y  $NH_4Cl$  (7.5 mg/L) se desprendió la biomasa del tezontle por raspado, conservándose en esta solución la biomasa fija y la biomasa suspendida. Se determinó la respiración endógena de ambas biomasas midiendo el consumo de oxígeno de las poblaciones bacterianas, utilizando acetato de sodio como sustrato fácilmente degradable. Las muestras se colocaron en un reactor herméticamente cerrado con 25 mL del sustrato y 5 mL de la biomasa previamente suspendida en la solución descrita antes, evitando la introducción de burbujas de aire, colocando un agitador magnético para mantener el sistema en agitación. El consumo de oxígeno se midió utilizando un medidor de oxígeno disuelto YSI 5300 Biological Oxygen Monitor registrando las mediciones del oxígeno disuelto en el líquido. Después se determinó la respiración de la biomasa con una solución de 25 mg/L de PAF como sustrato, en las mismas condiciones que la respiración endógena. La respiración de las

poblaciones bacterianas se obtuvo de la pendiente de las mediciones efectuadas y el resultado final se expresó restando el valor de la respiración endógena al valor de la respiración del PAF.

### **3.2.3. Técnicas especiales**

Las técnicas especiales que se utilizaron fueron: HPLC (Cromatografía de líquidos de alto rendimiento), CG (cromatografía de gases), grupos bacterianos en el biofiltro por la técnica del perfil de ácidos grasos, grupos fisiológicos en la población bacteriana anaerobia mediante la Técnica del NMP (Número más probable), prueba de auto-oxidación del PAF y toxicidad del influente y efluente por el método de Microtox. A continuación se describen brevemente estas técnicas analíticas.

#### **3.2.3.1. Cromatografía de líquidos de alto rendimiento**

Los análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) fueron realizados en un cromatógrafo de líquidos Hewlett Packard Serie 1100, equipado con un detector con arreglo de diodos UV-VIS, una columna de fase inversa C-18 Spherisorb ODS2 con diámetro de partícula de 5  $\mu\text{m}$ . La integración de los cromatogramas fue hecha usando el software Chem Station A.06. (Software HP, 1998). Los solventes y el agua utilizada fueron grado HPLC en todas las determinaciones. Se tomaron muestras de 10 mL del reactor en tubos de rosca conteniendo 60 mg/L de ácido ascórbico, que es un agente reductor suave que actúa como protector del grupo amino ( $\text{NH}_2$ ), ya que al contacto de éste con el oxígeno rápidamente sufre de auto-oxidación (Harris, 1991); enseguida se filtraron las muestras en membranas de nitrato de celulosa de 2.5  $\mu\text{m}$  de diámetro y diámetro de paso de 0.45  $\mu\text{m}$ , se conservaron en refrigeración hasta su análisis. Los compuestos analizados y su método de análisis se describen a continuación.

##### **3.2.3.1.1. Determinación del PNF y PAF**

Las condiciones de operación fueron las que se muestran en la tabla 3.3. La fase eluyente fue una mezcla isocrática de metanol, agua y buffer de fosfatos en relación 60:38:2. La preparación del buffer de fosfatos a pH 7 fue una mezcla de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.39 g/L) y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (1.43 g/L) más 30  $\mu\text{L/L}$  de trietilamina, con el fin de eliminar el coleo de los picos del PAF durante la separación, ya que reacciona con el silanol residual de la fase estacionaria de la columna, por lo que al agregar un agente bloqueador, éste ocupa los sitios del silanol residual, para que los picos del PAF tengan una mejor resolución y evitar el efecto de coleo (Software HP, 1998). Las curvas de calibración del método se hicieron con estándares grado HPLC de PNF y PAF preparados en la misma forma que las muestras.

Tabla 3.3. Condiciones de operación para la determinación de PNF y PAF.

Parámetro	p-nitrofenol				p-aminofenol			
	$\lambda$	Ancho de banda	$\lambda$ referencia	Ancho de banda	$\lambda$	Ancho de banda	$\lambda$ referencia	Ancho de banda
Longitud de onda (nm)	400	30	500	100	228	30	290	20
Fase eluyente	Metanol: agua: buffer Relación: 60:38:2				Metanol: agua: buffer Relación: 60:38:2			
Flujo (mL/min)	1				1			
Temperatura (°C)	40				40			
Volumen de inyección, ( $\mu$ L)	20				20			
Tiempo de retención, (min)	4.2				3.0			

### 3.2.3.1.2. Determinación del AD79 y de la BDNA

Las condiciones de operación fueron las que se muestran en la tabla 3.4. La fase eluyente fue una mezcla isocrática de acetonitrilo, agua y buffer de fosfatos pH 7 en relación 60:39:1. La preparación del buffer de fosfatos a pH 7 fue una mezcla de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.39 g/L) y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (1.43 g/L). Las curvas de calibración del método se hicieron con colorante AD79 purificado (Clarion) y estándar de BDNA (Aldrich) preparados en la misma forma que las muestras.

Tabla 3.4. Condiciones de operación para la determinación de AD79 y BDNA.

Parámetro	Colorante azo AD79				BDNA (2-bromo-4,6-dinitroanilina)			
	$\lambda$	Ancho de banda	$\lambda$ referencia	Ancho de banda	$\lambda$	Ancho de banda	$\lambda$ referencia	Ancho de banda
Longitud de onda (nm)	285	20	400	50	344	20	450	50
Fase eluyente	Acetonitrilo (A): agua: buffer fosfatos pH 7 (B) Relación: 60:39:1				Acetonitrilo (A): agua: buffer fosfatos pH 7 (B) Relación: 60:39:1			
Gradiente	A/B (60/40) en 10 minutos a A/B (99/1)				A/B (60/40) en 10 minutos a A/B (99/1)			
Flujo, (mL/min)	1				1			
Temperatura (°C)	40				40			
Volumen de inyección, ( $\mu$ L)	30				30			
Tiempo de retención, (min)	7.2				3.4			

### 3.2.3.1.3. Determinación de la o-nitroanilina

La fase eluyente fue una mezcla isocrática de metanol:agua y buffer de fosfatos pH 7 en relación 60:39:1. La preparación del buffer de fosfatos a pH 7 fue una mezcla de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.39 g/L) y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (1.43 g/L). Las curvas de calibración del método se hicieron con estándar de ONA (Aldrich) preparados en la misma forma que las muestras. Las condiciones de operación fueron las que se muestran en la tabla 3.5.

Tabla 3.5. Condiciones de operación para la determinación de ONA

Parámetro	o-nitroanilina (ONA)			
	$\lambda$	Ancho de banda	$\lambda$ referencia	Ancho de banda
Longitud de onda (nm)	409	30	560	100
Fase eluyente	Metanol: agua: buffer Relación: 60:39:1			
Flujo (mL/min)	0.6			
Temperatura (°C)	40			
Volumen de inyección ( $\mu\text{L}$ )	30			
Tiempo de retención (min)	6.1			

### 3.2.3.2. Cromatografía de gases

Se utilizó un cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner modelo 1200, con detector de conductividad térmica con doble columna: una Poropak Q y la otra malla molecular 5A, acopladas en serie. El gas acarreador fue helio (He). Las condiciones de operación se describen en la tabla 3.6. Los gases que se determinaron en todas las fases del trabajo fueron metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) durante la etapa anaerobia del proceso en el tratamiento del PNF, AD79 y del efluente industrial.

Tabla 3.6. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner 1200.

Parámetro	Condición
Temperatura del inyector	120-130°C
Temperatura de la columna	50°C
Corriente del puente	150 mA
Atenuador	4
Flujo del gas acarreador (He)	25 mL/min
Volumen de muestra a inyectar	0.5 mL

### 3.2.3.3. Caracterización de la biomasa mediante la técnica del perfil de ácidos grasos

La caracterización de la biomasa del biofiltro se llevó a cabo mediante la técnica del perfil de ácidos grasos de la pared celular (Rodríguez-Arteaga, 2000). El análisis de ácidos grasos es usado para indicar la presencia y abundancia relativa de microorganismos de un ambiente dado (Parkes y Calder, 1985).

Los ácidos grasos se analizaron en forma de derivados metilados en un cromatógrafo VARIAN STAR 3600 CXGC, equipado con una columna capilar de sílice fundida DB-1, de 30 m de longitud, 0.32 mm de diámetro y 1µm de grosor, con detector de ionización de flama. Las condiciones de operación se muestran en la tabla 3.7.

La identificación de los ácidos grasos se realizó mediante comparación con un estándar comercial para identificación de bacterias (Supelco/Sigma Aldrich Co. USA) conteniendo una mezcla de ésteres metílicos de ácidos bacteriales. La calibración del método se hizo con poblaciones típicas de bacterias aerobias, anaerobias y facultativas. Se realizó un análisis estadístico mediante el programa Statgraphics 5.0 (1991), para la interpretación del perfil de los ácidos grasos.

#### 3.2.3.3.1. Preparación de muestras

Se tomaron muestras de la biopelícula adherida al tezontle en los niveles superior, medio e inferior del biofiltro a 15, 30 y 45 cm respectivamente. Las piedras fueron partidas por la mitad y mediante raspado con una espátula se obtuvieron muestras de la parte interna y externa de las piedras de cada nivel. Las muestras se colectaron en tubos de vidrio y se llevaron al proceso de extracción de los ácidos grasos totales mediante saponificación de una mezcla metanol/benceno 8:2 v/v con KOH al 5 % por 16 h. Después se llevó a cabo la extracción de los lípidos con éter etílico y finalmente la esterificación de los ácidos con diazometano, para proceder a la inyección al cromatógrafo (Rodríguez-Arteaga, 2000).

Tabla 3.7. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases VARIAN STAR 3600 CXGC

Parámetro	Condición
Temperatura inicial de la columna	150°C
Temperatura máxima de la columna	250°C
Temperatura del inyector	260°C
Temperatura del detector	280°C
Gradiente de temperatura	Inicio a 150°C, después de 4 minutos incrementos de 4°C/min hasta 250 °C y en esta temperatura 15 minutos
Volumen de inyección	3 µL
Gas acarreador	Nitrógeno
Flujo del gas acarreador	1 mL/min

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 3.2.3.4. Clasificación por grupos fisiológicos de la población anaerobia en el biofiltro

Se realizó la identificación de grupos de las bacterias anaerobias del biofiltro. La técnica empleada fue la de tubos de fermentación del NMP (Número más probable). La dilución fue hecha por la técnica de Hungate en el orden de 0 a  $10^6$ . El medio de cultivo que se utilizó fue el medio general de Balch (Moreno, 1994). Los tipos de bacterias que se identificaron fueron: fermentativas (F), sulfatorreductoras (S), hidrogenofilicas (H), acetoclásticas (A), productoras obligadas de hidrógeno de propionato ( $O_P$ ), productoras obligadas de hidrógeno de butirato ( $O_B$ ). El procedimiento detallado se encuentra en el anexo 2.

##### 3.2.3.4.1. Preparación de muestras

Se tomaron muestras como se indicó en el apartado 3.2.3.3.1. hasta el paso previo a la saponificación. Las muestras se mezclaron y se procedió a la preparación de las diluciones y a su inoculación.

##### 3.2.3.5. Prueba de auto-oxidación del PAF

Esta prueba se llevó a cabo con el fin de evaluar el fenómeno de auto-oxidación del PAF al contacto con el oxígeno del aire, ya que en otros trabajos (Boots, 1995; Tan *et al.*, 1999 a; Razo-Flores, 1997) se ha reportado la formación de compuestos coloridos oscuros que absorben a diferentes longitudes de onda.

La prueba se realizó en matraces Erlenmeyer y solución de PAF de 50 mg/L, el volumen de trabajo fue de 200 mL. Se hicieron dos pruebas abióticas, una con ácido ascórbico para verificar el efecto del grupo bloqueador y una sin ácido ascórbico para evaluar los efectos de la auto-oxidación; también se hizo una prueba biótica con biomasa del biofiltro. Las muestras se airearon durante 3 h y se analizaron cada 30 minutos por cromatografía HPLC (Hewlett Packard Serie 1100) y por medición de absorbancia en el espectrofotómetro UV BECKMAN Serie 600.

Los productos de la auto-oxidación se analizaron por cromatografía de placa fina para verificar que fueran diferentes a los productos originales, en este caso PNF y PAF. El sistema eluyente fue clorometano:metanol:acetona en relación 90:10:0.05 y como revelador sulfato de cerio en ácido sulfúrico y dragendorf.

##### 3.2.3.6. Prueba de toxicidad por Microtox

En cada fase de experimentación (tratamiento del PNF, AD79 y del efluente industrial) se determinó la toxicidad del influente, el efluente al final de la fase anaerobia y efluente al final de la fase aerobia del reactor mediante el método de *Photobacterium phosphoreum* (NMX-AA-112-1995-SCF1) (Microtox). La prueba consistió en poner en contacto a los microorganismos de prueba (bacterias *Photobacterium phosphoreum*, que emiten luz como parte de su metabolismo) con la muestra a analizar en diferentes concentraciones.

El grado de toxicidad de la muestra se obtuvo a través del valor de la concentración efectiva que reduce la luz en un 50 % de los organismos de prueba ( $EC_{50}$ ), que se obtiene de la ecuación 3.1.

$$UT = \frac{100}{EC_{50}} \quad (3.1)$$

La respuesta que se obtiene es que a mayor toxicidad de la muestra, la luz emitida por las bacterias disminuye, la proporción de esta disminución permite clasificar la muestra analizada en unidades de toxicidad (UT), desde ligeramente tóxica hasta altamente tóxica. Con esta prueba se detecta la presencia de sustancias tóxicas presentes en las muestras simples o mezclas complejas que afectan el metabolismo de la población bacteriana.

El equipo que se utilizó fue un Microtox Serie 5000922, marca Microbics. La muestra se colocó en tubos de vidrio a la dilución conveniente, se agregó 1 mL de solución reconstituyente a las bacterias liofilizadas y solución salina para estabilizar. Se dejaron reaccionar durante 5 minutos y se hicieron las lecturas correspondientes.

### 3.3. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para la degradación del p-nitrofenol

#### 3.3.1. Sistema experimental

El sistema consistió de un reactor de acrílico con doble pared y tapa desmontable con un volumen total de 9 L y un volumen útil de 5.8 L (figura 3.2), con las siguientes características: reactor cilíndrico de acrílico de 14 cm de diámetro interno y 60 cm de altura; soporte de acrílico perforado en la base con perforaciones de 0.5 cm de diámetro, separados cada 0.5 cm. El soporte se apoyó sobre 5 cuñas de 8 cm de altura, 4 en las paredes del reactor a 90 ° y otra en el centro del reactor; línea de alimentación de aire de ¼ pulgada de diámetro interno, el flujo de aireación se controló mediante un rotámetro; las líneas de alimentación, recirculación y descarga fueron de ½ pulgada de diámetro interno.

El reactor se empacó con tezontle (piedra volcánica) de 2.0 cm de diámetro en promedio, el lecho de soporte fue de 40 cm. En la tapa del reactor se hicieron 5 orificios de ½ pulgada de diámetro para colocar los electrodos y mangueras de carga, recirculación y descarga del sistema.

Se instalaron medidores de oxígeno, pH y de potencial redox conectados al reactor. Se conectaron tres bombas peristálticas (Master Flex, Cole – Parmer) de velocidad variable y una válvula solenoide a un reloj programable con 4 canales de entrada (Timer Chronrol), con el fin de controlar la carga, recirculación, aireación y descarga de forma automática. La temperatura fue controlada a 27 °C ± 1 mediante un sistema calentador-recirculador de flujo (Poly Science Model 210) que reciclaba el agua a través de la doble pared del reactor.

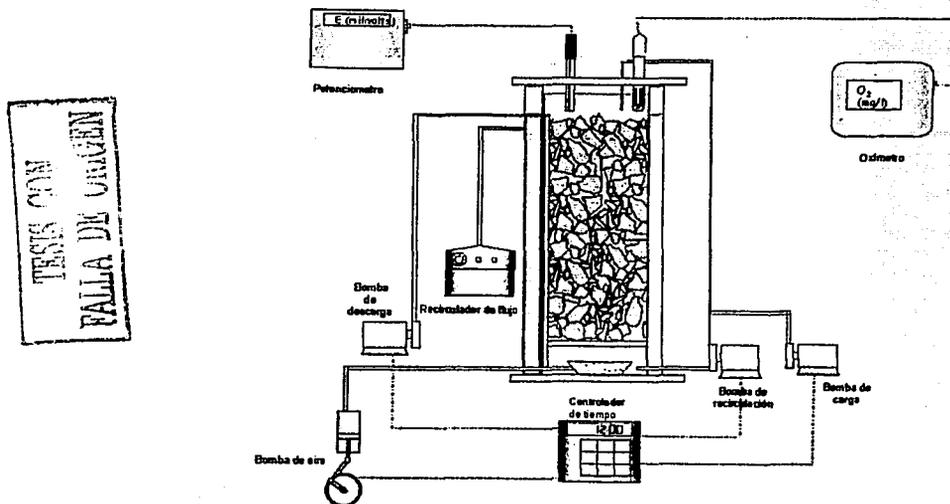


Figura 3.2. Biofiltro discontinuo secuenciado (SBB) anaerobio/aerobio utilizado para la degradación del PNF.

### 3.3.2. Inóculo

El inóculo que se utilizó fue una mezcla de lodos activados provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales Cerro de la Estrella localizada en el D.F. y de la planta de tratamiento de aguas residuales industriales ECCACIV localizada en Jiutepec, Morelos, en relación 70/30 respectivamente.

#### 3.3.2.1. Caracterización de lodos activados

Para la caracterización de los lodos activados que se emplearon como inóculo se determinaron los siguientes parámetros: Sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, índice volumétrico de lodos (APHA, 1992).

### 3.3.3. Agua residual sintética

El agua residual sintética se preparó con medio mineral de acuerdo con la formulación mostrada en la tabla 3.1, adicionada de PNF, compuesto tóxico usado como modelo, en concentración de 25 mg/L y acetato de sodio como co-sustrato en relación molar 1:4 (PNF:Ac.Na) en el arranque del reactor.

### 3.3.4. Arranque y operación del biofiltro

Para el arranque se realizaron las siguientes actividades:

1. Una vez instalado el reactor se verificó que no existieran fugas.
2. Se empacó con tezontle de tamaño uniforme de aproximadamente 2.0 cm de diámetro, colocando una capa de tezontle y llenando el reactor lentamente con agua residual sintética e inóculo, para lograr el llenado uniforme del empaque capa a capa.
3. Se cerró la tapa herméticamente; se verificaron los medidores instalados y las líneas de recirculación. Se efectuó el cambio de atmósfera con nitrógeno, ya que inició la operación en condiciones anaerobias.
4. Se dejó que la biomasa se adaptara al agua residual sintética, el tiempo necesario para eliminar el 80 % de la concentración inicial de PNF transformándose a PAF en condiciones anaerobias y después se inició la fase de aireación hasta la mineralización total del PAF.

El biofiltro operó en modo discontinuo secuencial (SBB) a temperatura controlada de  $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ , con velocidad de recirculación de 80 a 100 mL/min. Es importante señalar que en un sistema operado en SBR la concentración inicial de sustrato ( $S_i$ ) es la concentración que se tiene en el tanque de alimentación y la concentración de sustrato en el reactor ( $S_o$ ) es la que corresponde a la concentración inicial ( $S_i$ ) por el volumen de intercambio del sistema, que corresponde al volumen alimentado/volumen total.

En cada ciclo de operación se utilizó la estrategia de eficiencias fijas que consistió en permitir la aclimatación de la biomasa al tóxico y a los cambios de ambientes anaerobios/aerobios, el tiempo necesario para alcanzar eficiencias de remoción de PNF y PAF al 80 % en las etapas anaerobia y aerobia respectivamente, debido a que la aclimatación de la población bacteriana a los ambientes anaerobios y aerobios induce la selección de bacterias facultativas que pueden desarrollar sus actividades metabólicas en presencia o ausencia de oxígeno. En la etapa aerobia la concentración de oxígeno disuelto fue mantenida arriba de 2 mg/L. Las estrategias de arranque y operación se muestran en la tabla 3.8.

Una vez aclimatada la biomasa al PNF se procedió a operar el biofiltro incrementando la concentración de PNF en el influente cada vez que el sistema se estabilizaba y se obtenían al menos 5 ciclos de operación con eficiencias de remoción constante, mejorándose el TRH al menor tiempo posible. Las concentraciones de PNF que se estudiaron fueron bajas de 25 a 61 mg/L, intermedias de 70 a 90 mg/L y altas de 100 a 300 mg/L, eligiéndose estas concentraciones en función de trabajos realizados en estudios previos en reactores anaerobios (Johnson y Young, 1983; Boyd *et al.*, 1983; O'Connor y Young, 1989 y 1996; Gorontzy *et al.*, 1993; Razo-Flores *et al.*, 1996). En cada cambio de concentración la biomasa se adaptó a los cambios de ambientes anaerobios/aerobios lo que fue indicado por los valores de potencial redox en cada fase de reacción: en la fase anaerobia como mínimo de  $-250\text{ mV}$  para asegurar condiciones reductoras de anaerobiosis y en la fase aerobia valores positivos que indicaron condiciones aerobias. Se realizaron cinéticas de degradación del PNF y PAF,  $\text{COT}_d$  y balances de nitrógeno en cada cambio de condición de operación, cuando el biofiltro alcanzaba condiciones estables. Es importante señalar que después de controlar el sistema en las concentraciones de 25 a 50 mg PNF/L, se realizaron experimentos con diferentes co-sustratos para mejorar la velocidad de reducción del PNF y determinar cual sería el más adecuado para usarse en la operación con

concentraciones intermedias y altas para mejorar la reacción y obtener mayor biotransformación de PNF a PAF y mejor remoción de PAF.

Tabla 3.8. Estrategias de arranque y operación en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Parámetro	Estrategia de arranque	Estrategia de operación
Tiempo de llenado, min.	19	25
Tiempo de reacción (anaerobio/aerobio), h.	Anaerobio: 168 - 30 Aerobio: 24 - 10	Anaerobio: 36 - 8 Aerobio: 12 - 3.5
Tiempo de sedimentación, min.	8	--
Tiempo de descarga, min.	3	5
Flujo de aireación, L/min.	1.90	5.7
Volumen de intercambio, %.	85	88
Temperatura, °C.	27 ± 1	27 ± 1

Una vez determinado el co-sustrato que se utilizó en la siguiente fase de operación con concentraciones intermedias y altas, los resultados se presentaron consecutivamente a los resultados del arranque y aclimatación. Los parámetros de control determinados y la frecuencia de análisis se indican en la tabla 3.9.

Tabla 3.9. Parámetros de control y frecuencia de análisis en la operación del biofiltro.

Parámetro	Frecuencia
p-nitrofenol	Diariamente, inicio y final de fases anaerobia y aerobia
p-aminofenol	"
Potencial redox (O.R.P), pH y temperatura	"
Oxígeno disuelto	"
Temperatura	"
Carbono orgánico total disuelto (COT <sub>d</sub> )	Cada 2 semanas, inicio y final de fases anaerobia y aerobia
Nitrógeno orgánico (N-org)	"
Nitrógeno amoniacal (N -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> );	"
Nitrógeno de nitritos (N-NO <sub>2</sub> );	"
Nitrógeno de nitratos (N-NO <sub>3</sub> );	"
Fenoles	"
Sulfuros (S <sup>2-</sup> )	"
Color (Esc. Pt-Co)	Diariamente, inicio y final de fases anaerobia y aerobia
Alcalinidad total como CaCO <sub>3</sub>	Semanalmente, inicio y final de fases anaerobia y aerobia
SV en el soporte	Mensualmente
SSV en el efluente	Cada 2 semanas, al final de la fase aerobia

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.3.5. Evaluación de co-sustratos para optimizar la velocidad de reducción del p-nitrofenol

Se utilizó el mismo biofiltro que se encontraba aclimatado a la degradación del PNF y a los cambios de ambientes anaerobios/aerobios que se mostró en la figura 3.1. La estrategia de operación del biofiltro fue la de eficiencias fijas, dando al sistema el tiempo necesario para alcanzar eficiencias de remoción del PNF de 80 % y la máxima recuperación como PAF debido a la reducción del grupo  $\text{NO}_2$ , para enseguida iniciar la fase de aireación del reactor hasta la mineralización de 90 % del PAF formado.

El inicio de la evaluación de co-sustratos fue un experimento control sin co-sustrato para determinar la velocidad de reducción biológica con sustrato endógeno; después se siguieron evaluando los otros co-sustratos cambiando de uno a otro cada vez que se estabilizaba el reactor y se obtenía la velocidad de reducción mediante cinéticas de reacción tanto de la fase anaerobia como de la aerobia. En esta parte de la investigación se consideró como la velocidad de reducción ( $V_r$ ) la tasa de degradación volumétrica del PNF; como la velocidad de formación del PAF ( $V_f$ ), la tasa de producción de PAF y como la velocidad de mineralización del PAF ( $V_m$ ), la tasa de degradación volumétrica del PAF. El criterio que se utilizó para evaluar la velocidad de reducción fue elegir el co-sustrato que presentó el menor tiempo de remoción del grupo nitró (transformado a grupo amino) y la más alta producción de PAF.

La actividad reductora de la biomasa del biofiltro y el efecto de los donadores de electrones en la velocidad de biotransformación del PNF, se determinaron por la adición 1:6 molar de los co-sustratos a evaluar (excepto con el agua residual que se utilizó una relación 1:5 con base en la DQO del agua residual), nutrientes y PNF en concentración de  $50 \text{ mg/L} \pm 3$  en todos los experimentos para la evaluación de co-sustratos. Los compuestos que se evaluaron como co-sustratos fueron los siguientes: ácido acético, ácido propiónico, agua residual municipal y una mezcla de ácido acético-ácido propiónico 1:1. La adición 1:6 molar fue debida, a que de acuerdo a la estequiometría de la reacción de reducción del PNF a PAF, se requieren 6 electrones y utilizando como patrón el ácido propiónico para determinar la cantidad de co-sustrato requerida en cada condición de experimentación, cada mol de ácido propiónico origina 3 moles de  $\text{H}_2$  disponibles para la reducción, siendo este el compuesto (entre los seleccionados para realizar las pruebas), el que aportó más electrones. Desde el arranque del reactor se estableció utilizar un exceso de co-sustrato en relación 1:4 PNF:co-sustrato, pero como en los ciclos de arranque se tuvo una biotransformación del 60 %, se decidió aumentar la relación molar a 1:6 PNF: co-sustrato para obtener una mayor producción de PAF.

### 3.3.6. Desempeño del biofiltro anaerobio/aerobio a concentraciones intermedias y altas de p-nitrofenol

Después de seleccionar el co-sustrato que presentó mejor velocidad de reducción del PNF, éste se usó para la evaluación del reactor a concentraciones arriba de  $50 \text{ mg/L}$  del compuesto y se determinó la máxima carga orgánica que puede soportar este tipo de biofiltro en cada fase de reacción. La biomasa se adaptó a cada concentración de operación desde 60 hasta  $300 \text{ mg/L}$  con incrementos de  $10 \text{ mg/L}$  hasta la concentración de  $100 \text{ mg/L}$  y después incrementos de  $25$  y  $50 \text{ mg/L}$  dependiendo de la respuesta del biofiltro. En cada cambio de concentración se aseguró que

prevalecieron condiciones reductoras y oxidativas en el biofiltro indicado por los valores de potencial redox: en la fase anaerobia como mínimo de  $-250$  mV y en la fase aerobia valores positivos desde  $+5$  a  $+40$  mV. Se realizaron monitoreos de gases y control de la alcalinidad del sistema para evitar cualquier problema ocasionado por acidez del biofiltro que pudiera provocar inhibición de la actividad del biofiltro. Las cinéticas de degradación del PNF y PAF,  $COT_d$  y balance de nitrógeno se efectuaron en cada cambio de condición de operación, cuando el biofiltro alcanzaba condiciones estables. Los parámetros de control determinados y la frecuencia de análisis se indicaron en la tabla 3.9.

### **3.3.7. Evaluación de la toxicidad**

Se realizaron análisis de toxicidad por el método de Microtox al inicio de ciclo, y al final de las fases anaerobia y aerobia para evaluar la reducción de toxicidad del efluente.

## **3.4. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para el tratamiento de un efluente industrial**

### **3.4.1. Sistema experimental**

Se utilizó un reactor piloto de acrílico con capacidad de 10 L y volumen útil de 6 L. Las características del reactor son las mismas que las descritas en el numeral 3.3. El reactor fue empacado con tezontle como soporte. El sistema utilizó 3 bombas peristálticas (Master Flex, Cole-Parmer) para la alimentación, recirculación y descarga del biofiltro, que fueron controladas a través de un reloj programable (Timer Chronrol) al que también se conectó una válvula solenoide para el control de la aireación. En la fase aerobia el aire fue difundido desde el fondo del reactor permitiendo el paso de las burbujas de aire a través del tezontle. La temperatura fue controlada a  $28$  °C  $\pm$  1 con un calentador recirculador de flujo (Poly Science Model 210). El biofiltro operó como un biofiltro discontinuo secuenciado SBB (por sus siglas en inglés), con un volumen de intercambio del 88 al 14 %. El sistema experimental se muestra en la fotografía 3.1.

### **3.4.2. Inóculo**

El reactor se inoculó con lodos activados provenientes del tanque de aireación de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales, localizada en el Cerro de la Estrella, México, D.F. Los lodos activados fueron caracterizados en los parámetros de sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles e índice volumétrico de lodos (APHA, 1992).

### **3.4.3. Agua residual**

Se seleccionó un efluente real de una industria químico-farmacéutica localizada en Jiutepec, Morelos. El efluente fue caracterizado previamente, la biomasa se aclimató a este efluente y se determinó la carga máxima que podía tratar el biofiltro.

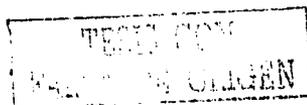


Fotografía 3.1. Biofiltro discontinuo secuenciado (SBB) anaerobio/aerobio utilizado para el tratamiento de un efluente de la industria químico-farmacéutica.

El efluente de la industria químico-farmacéutica contenía compuestos nitroaromáticos que presentan el problema de ser tóxicos e inhibitorios a los procesos de lodos activados, específicamente la o-nitroanilina y otros compuestos aromáticos que daban al agua una alta concentración de  $DQO_t$  que varió desde 28 400 a 72 200 mg/L. La alimentación se realizó con agua residual adicionada de nutrientes (tabla 3.1) y ácido propiónico como co-sustrato en relación 1:1 con base en la DQO durante los primeros ciclos de operación y después cuando la biomasa se aclimató, la concentración del co-sustrato se disminuyó hasta eliminarlo de la alimentación.

#### 3.4.4. Estrategia de arranque y operación

La estrategia que se siguió para el arranque del biofiltro fue la de eficiencias fijas, permitiendo que la biomasa degradará el 80 % la DQO alimentada y la reducción de la o-nitroanilina a otros metabolitos se siguió por cromatografía de líquidos, para enseguida realizar el cambio de condiciones aireando el reactor el tiempo suficiente para lograr la remoción de la DQO al mínimo valor y tratar de optimizar los tiempos de reacción de las fases anaerobia y aerobia. Se realizaron mediciones de potencial redox para verificar que prevalecieran condiciones anaerobias



y aerobias en cada fase de reacción del reactor. En la tabla 3.10 se muestran las condiciones de operación que se usaron en el arranque y operación del reactor.

Tabla 3.10. Estrategia de arranque y operación en el SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento del efluente industrial.

Parámetro	Valor
Tiempo de llenado, min.	25
Tiempo de reacción, h.	Anaerobio: 8 - 36 Acrobio: 3.5 - 12
Tiempo de descarga, min.	5
Flujo de aireación, L/min.	5.70
Volumen de intercambio, %.	88 - 14
Temperatura, °C.	28 ± 1

TESIS CON  
PALLA DE ORIGEN

Cuando la biomasa se aclimató a la degradación del efluente industrial y a los cambios de ambiente anaerobio/acrobio, se continuó con la operación del biofiltro aumentando la concentración de la DQO<sub>i</sub> del influente al doble de la concentración de operación y el aporte del co-sustrato se fue disminuyendo de 50 al 30 %, hasta la eliminación total en la alimentación del biofiltro. El criterio que se utilizó para cada cambio de concentración fue cuando la degradación global de la DQO<sub>i</sub> fuera como mínimo el 85 %. Cuando el biofiltro se estabilizó en la condición de operación en estudio, se trató de optimizar el TRH al valor mínimo posible realizando cinéticas de degradación de las reacciones de reducción y oxidación del sistema. Se tuvo atención especial a los valores de potencial redox en cada fase de reacción para asegurar condiciones reductoras mínimas de -250 mV en la reducción y valores de potencial redox de +10 a + 60 mV en la fase oxidativa. Se llevó un control de la evolución de la biomasa en el soporte del biofiltro realizando mediciones de sólidos volátiles mensualmente. Los parámetros de control y frecuencia de análisis se muestran en la tabla 3.11.

Tabla 3.11. Parámetros de control en el tratamiento del efluente industrial

Parámetro	Frecuencia de análisis
DQO total	Inicio y final de fases anaerobia y aerobia
o-nitroanilina	"
Potencial redox	"
pH	"
Color (Esc. Pt-Co)	"
Temperatura	"
Gases (metano y CO <sub>2</sub> )	Semanalmente, inicio y final de fases anaerobia y aerobia
Nitrógeno orgánico (N-org)	"
Nitrógeno amoniacal (N-NH <sub>4</sub> )	"
Nitrógeno de nitritos (N-NO <sub>2</sub> )	"
Nitrógeno de nitratos (N-NO <sub>3</sub> )	"
Sulfuros (S <sup>-</sup> )	"
SV en el soporte	Mensualmente
Alcalinidad Total como CaCO <sub>3</sub>	Inicio y final de fases anaerobia y aerobia

### 3.4.5. Evaluación de la toxicidad

Se realizaron análisis de toxicidad por el método de Microtox al inicio de ciclo, y al final de las fases anaerobia y aerobia para evaluar la reducción de toxicidad del efluente.

## 3.5. Degradación del colorante azo azul disperso 79 en ambientes anaerobios/aerobios integrados en un reactor

### 3.5.1. Pruebas de biodegradabilidad

Se realizaron pruebas de biodegradabilidad del colorante AD79 en matraces empacados con tezontle con el fin de seleccionar un co-sustrato que actuara adecuadamente como fuente de electrones y de carbono, para alcanzar la máxima biotransformación del colorante al derivado amino en condiciones anaerobias; una vez terminada la reducción, comenzó la fase oxidativa para la mineralización de las aminas producidas. Los experimentos que se realizaron son los siguientes:

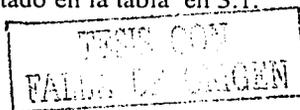
Se prepararon 6 matraces Erlenmeyer de 500 mL conteniendo el co-sustrato en relación molar 1:5, medio mineral y colorante AD79 de acuerdo a la tabla 3.12 y se colocaron en una parrilla agitadora a 100 r.p.m. manteniendo temperatura controlada a  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ . Cada 24 h se tomó una muestra para evaluar el proceso. La prueba se realizó bajo 2 condiciones: en la primera cada co-sustrato se probó de forma individual y en la segunda se hicieron mezclas, ya que la primera no aportó suficiente información para la selección del co-sustrato.

Tabla 3.12. Condiciones de operación para las pruebas de selección de co-sustrato

Matraz	Co-sustrato (condición 1)	Co-sustrato (condición 2)	Medio mineral	Colorante AD79
1	Abiótico (Biomasa esterilizada)	Abiótico (Biomasa esterilizada)	400 mL	10 mg/L
2	Glucosa	Glucosa / ác.acético	400 mL	10 mg/L
3	Ác. Propiónico	Ác. Propiónico/ ác. Acético	400 mL	10 mg/L
4	Ác. Acético	Glucosa / propiónico	400 mL	10 mg/L
5	Agua residual municipal (DQO:150 mg/L)	Sin co-sustrato	400 mL	10 mg/L
6	Abiótico (sin biomasa, sólo piedras)	Abiótico (sin biomasa, sólo piedras)	400 mL	10 mg/L

#### 3.5.1.2. Inóculo y medio mineral

Se utilizó una mezcla de dos inóculos: biomasa de las piedras de un reactor anaerobio que trató el colorante AD79 y lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales Cerro de la Estrella localizada en México, D.F. Se determinaron SV de las piedras y SSV de los lodos activados. Se utilizó el medio mineral presentado en la tabla en 3.1.



### 3.5.2. Determinación de la sorción del colorante en el tezontle e influencia del medio mineral

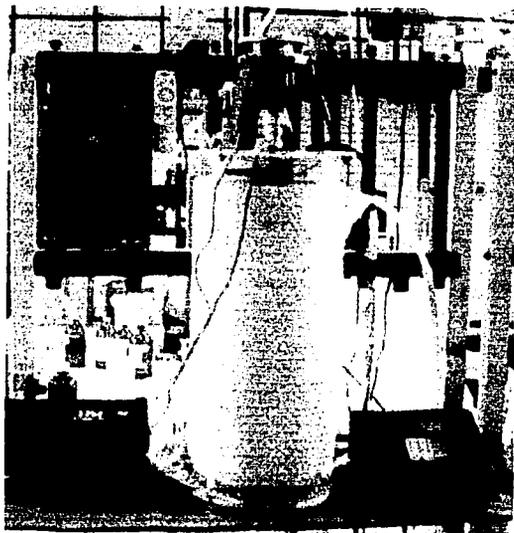
Las técnicas analíticas para la determinación de la sorción del colorante en el tezontle y la influencia del medio mineral en la sorción del colorante se encuentran en el anexo 2.

### 3.5.3. Biodegradación del colorante azul disperso 79 en un reactor SBR anaerobio/aerobio con biomasa suspendida

#### 3.5.3.1. Sistema experimental

Se utilizó un reactor piloto de acrílico con capacidad de 9 L y volumen útil de 7 L. Se instalaron electrodos de oxígeno, pH y del potencial redox conectados al reactor. El control del reactor fue a través de un reloj programable (Timer Chronrol) al que se conectaron 3 bombas peristálticas (Master Flex, Cole-Parmer) para control de recirculación, carga, descarga y una válvula solenoide para el control de la aireación. En la fase aerobia el aire fue difundido desde el fondo del reactor a través de un difusor poroso. El reactor fue provisto de un sistema de calentamiento con recirculación (Poly Science Model 210) para mantener la temperatura del reactor en un intervalo de 25 a 28 °C y un sistema de agitación intermitente a 180 r.p.m. con el fin de favorecer la transferencia de masa en el reactor. El reactor operó como un reactor discontinuo secuenciado SBR (por sus siglas en inglés), con volumen de intercambio del 75 %. El sistema experimental se muestra en la fotografía 3.2.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Fotografía 3.2. SBR anaerobio/aerobio secuenciado con biomasa suspendida

### 3.5.3.2. Inóculo

El reactor se inoculó con lodos activados provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales Cerro de la Estrella localizada en México, D.F. Los lodos activados fueron caracterizados en los parámetros de sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles e índice volumétrico de lodos (APHA, 1992).

### 3.5.3.3. Agua residual sintética

El agua residual sintética consistió de AD79 en concentración de sustrato inicial ( $S_i$ ) de 14 mg/L, un co-sustrato (ácido propiónico, en relación 1 mol AD79:50 moles ácido propiónico) y una mezcla de nutrientes y oligoelementos necesarios para el crecimiento de los microorganismos de acuerdo a la tabla 3.1.

El colorante fue usado como se comercializa en el mercado, como un polvo sólido que contiene 50 % de colorante y 50% de agente dispersante. El colorante se agregó de forma hidrolizada debido a su baja solubilidad en agua. La hidrólisis se realizó mediante disolución del colorante en agua a un pH de 10 con agitación y calentamiento a 70 °C por 20 minutos.

### 3.5.3.4. Arranque y operación del reactor

La estrategia que se utilizó para el arranque del reactor fue la estrategia de eficiencias fijas en la cual la biomasa se aclimata al tóxico el tiempo necesario para alcanzar una eficiencia previamente establecida en las etapas anaerobia y aerobia (Melgoza, *et al.*, 2000). En el caso del colorante AD79 el criterio para determinar el término de la etapa anaerobia fue la remoción del colorante al 60 % y la formación de aminas en la mayor cantidad posible y en el caso de la etapa aerobia, la mineralización de las aminas totales como mínimo al 80 %. El reactor operó en discontinuo con ciclos de reacción variables hasta alcanzar la aclimatación de la biomasa a los cambios de ambientes anaerobios/aerobios y a la degradación del colorante. Se llevó un control estricto de la adsorción del colorante en la biomasa para asegurar que la degradación se debiera únicamente a los microorganismos, realizando extracciones del colorante con metanol en la biomasa, también se tuvo especial atención en la disolución del colorante. La estrategia de arranque y operación se muestra en la tabla 3.13.

Tabla 3.13. Estrategia de arranque y operación en el reactor SBR anaerobio/aerobio

Parámetro	Valor
Tiempo de llenado, min.	10
Tiempo de reacción, d.	(9 – 3 d anaerobio/ 48 – 20 h aerobio)
Tiempo de descarga, min.	10
Flujo de aireación, L/min.	5.70
Volumen de intercambio, %.	75
Temperatura, °C.	25-28

FALTA DE CUIDADO

Una vez que la biomasa se aclimató a la reducción del colorante y a la mineralización de las aminas aromáticas formadas, se continuó con la operación del reactor tratando de optimizar el TRH en cada fase de reacción con la más alta eficiencia de remoción global del colorante. Las concentraciones de colorante fueron aumentándose cada vez que se obtenían eficiencias de remoción constantes durante 3 ciclos consecutivos. Se realizaron análisis de toxicidad por el método de Microtox al inicio de ciclo, y al final de las fases anaerobia y aerobia para evaluar la reducción de toxicidad del efluente. Los parámetros de control del proceso y la frecuencia de análisis se muestran en la tabla 3.14.

Tabla 3.14. Parámetros de control en el tratamiento del colorante AD79

Parámetro	Frecuencia de análisis
Colorante AD79	Inicio y final de fases anaerobia y aerobia
Aminas totales, BDNA	"
Potencial redox	"
pH	"
Color (Esc. Pt-Co)	"
Temperatura	"
Gases (metano y CO <sub>2</sub> )	Semanalmente, inicio y final de fases anaerobia y aerobia
Nitrógeno orgánico (N-org)	"
Nitrógeno amoniacal (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	"
Nitrógeno de nitritos (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	"
Nitrógeno de nitratos (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	"
Sulfuros (S <sup>-</sup> )	"
DQO <sub>total</sub>	"
SSV en el licor mezclado y en el efluente	Semanalmente, al final de la fase aerobia
Alcalinidad Total como CaCO <sub>3</sub>	Inicio y final de fases anaerobia y aerobia

### 3.6. Cálculos de las variables del proceso

Para el cálculo de las tasas de degradación y carga orgánica aplicada y eliminada en todos los experimentos realizados en esta investigación se utilizaron las siguientes ecuaciones:

#### 3.6.1. Tasas específica y volumétrica de degradación

La tasa específica de degradación que evalúa la actividad de la biomasa para consumir el sustrato se calculó mediante la ecuación 3.2.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

$$q_x = \left( \frac{S_{inf} - S_{ef}}{T_d X} \right) \frac{V_{int}}{V} \quad (3.2)$$

La tasa volumétrica se calculó por medio de la ecuación 3.3. Este parámetro indica la eliminación del sustrato en el reactor.

$$q_v = \left( \frac{S_{inf} - S_{ef}}{T_d} \right) \frac{V_{int}}{V} \quad (3.3)$$

Donde:

- $q_x$  : Tasa específica de degradación, mg/g SSV-h
- $q_v$  : Tasa volumétrica de degradación, mg/L-h
- $S_{inf}$ : Concentración de sustrato en el influente, mg/L
- $S_{ef}$ : Concentración de sustrato en el efluente, mg/L
- $X$  : Biomasa, g/L de SSV
- $T_d$  : Tiempo de degradación, h
- $V_{int}$ : Volumen de intercambio, L
- $V$  : Volumen de operación del reactor, L

### 3.6.2. Eficiencia de degradación

La eficiencia de degradación se determinó a partir de la ecuación 3.4:

$$E = \left( \frac{S_{inf} - S_{ef}}{S_{inf}} \right) 100 \quad (3.4)$$

Donde:

- $E$  : Eficiencia de degradación, %
- $S_{inf}$ : Concentración de sustrato en el influente, mg/L
- $S_{ef}$ : Concentración de sustrato en el efluente, mg/L

### 3.6.3. Carga orgánica aplicada y eliminada

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales, la carga orgánica se define como la cantidad de materia orgánica oxidable por metro cúbico de alimentación y tiempo de ciclo. En el caso del PNF y del colorante AD79 se calculó teóricamente a partir de la estequiometría de la reacción, incluyendo el aporte del co-sustrato utilizado en la reacción.

Las carga orgánica aplicada y la eliminada se calcularon con las ecuaciones 3.5 y 3.6.

$$B_{va} = \left( \frac{S_{inf} V_{int}}{T_d V} f \right) \quad (3.5)$$

$$B_{ve} = B_{va} \cdot E \quad (3.6)$$

Donde:

- $B_{va}$  : Carga orgánica aplicada, kg DQO/m<sup>3</sup>-d
- $B_{ve}$  : Carga orgánica eliminada, kg DQO/m<sup>3</sup>-d
- $S_{inf}$  : Concentración de sustrato en el influente, mg/L
- $E$  : Eficiencia de degradación
- $f$  : Factor de conversión a kg DQO/m<sup>3</sup>-d
- $T_d$  : Tiempo de degradación, d
- $V_{int}$  : Volumen de intercambio, L
- $V$  : Volumen de operación del reactor, L

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Características físicas del material de soporte

Los resultados completos de la caracterización del medio soporte se encuentran en el anexo 3.1. En este trabajo se utilizó tezontle (puzolana, piedra volcánica) como material de soporte ya que se ha reportado su eficacia en el tratamiento de compuestos tóxicos (Buitrón y Ortiz, 1997; Buitrón y Flores, 1997). Se realizó la caracterización física del tezontle y presentó características adecuadas con relación al área superficial, porosidad, bajo costo, disponibilidad en el mercado y pequeña diferencia en peso específico, aunque presentó granulometría no uniforme. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 4.1.

Tabla 4.1. Características del tezontle

Característica	Resultado
Granulometría	2-2.5 cm
Peso específico	2.52 kg/L
Porosidad del reactor empacado	80.4 %
Porosidad de las piedras	78.5 %
Densidad de área superficial	494 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>

#### 4.2. Pérdidas abióticas del PNF

Los resultados completos de las pérdidas abióticas del PNF se encuentran en el anexo 3.2. Se determinaron las pérdidas abióticas del PNF debidas a efectos de volatilización en el reactor sin empacar y empacado, sorción en el reactor, en el empaque del biofiltro y en las membranas de nitrocelulosa empleadas para la filtración de muestras y a las posibles reacciones químicas del medio nutriente con el compuesto. Los resultados mostraron que no se observaron pérdidas abióticas debidas a volatilidad y sorción del PNF en el sistema, por lo que la remoción del PNF fue atribuida solo a la biodegradación.

##### 4.2.1. Pruebas de biodegradabilidad anaerobia/aerobia del PNF en matraces

Los resultados de la prueba de biodegradabilidad mostraron que de los inóculos estudiados, el mejor fue la mezcla 70/30 de lodos de la planta de aguas residuales municipales Cerro de la Estrella y de la planta de aguas residuales industriales ECCACIV ya que presentó mejor biotransformación del PNF a PAF en la fase de reducción y posteriormente en la fase de oxidación la mineralización del PAF. El potencial redox se mantuvo entre -280 mV y +50 mV durante las fases de reducción y oxidación respectivamente, prevaleciendo condiciones anaerobias y aerobias en el reactor.

### 4.3. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para la degradación del p-nitrofenol

#### 4.3.1. Arranque y aclimatación del biofiltro

En los procesos de biodegradación de compuestos tóxicos la estrategia de arranque del sistema es un factor muy importante, ya que de ésta dependerá el nivel de inducción de los microorganismos al tóxico (Buitrón y Ortiz, 1997). El arranque del biofiltro se efectuó con los parámetros de operación mostrados en la tabla 4.2.

Tabla 4.2. Parámetros de operación en el arranque del biofiltro SBB anaerobio/aerobio.

Parámetro	Resultado
Peso del empaque de tezontle	3.8 kg
Volumen total del reactor	9.0 L
Volumen útil del reactor	5.8 L
Volumen de lodos de la planta de ECCACIV (SSV=11 141 mg/L)	0.6 L
Volumen de la planta del Cerro de la Estrella (SSV= 6 770 mg/L)	2.2 L
Volumen de medio nutriente mineral	3.0 L
Volumen de intercambio	85-88 %
Concentración de acetato de sodio como co-sustrato	70 mg/L
Concentración de la solución de PNF en el reactor	25 mg/L
Concentración de biomasa en el reactor	4 000 mg
Flujo de aireación	1.9 L/min
Velocidad de recirculación	12 L/h
Temperatura dentro del reactor	27 °C ± 1

En experimentos preliminares Chew (2001), evaluó la estrategia de arranque por tiempos fijos de reacción independientemente de las eficiencias alcanzadas. En esta estrategia se mantuvieron tiempos de reacción fijos en las fases anaerobia y aerobia de 4 h y 2 h respectivamente, tratando de que la adaptación de la biomasa se realizara en el menor tiempo posible, pero bajo estas condiciones, no se logró la etapa reductiva anaerobia en el reactor sino que el sistema operó en condiciones anóxicas/aerobias, debido que no se dio el tiempo necesario para la adaptación de la biomasa a las condiciones anaerobias. Aunque se encontraron valores de 0 mg/L de oxígeno disuelto, no significó que existieran condiciones reductoras en el sistema ya que otras especies como  $\text{NO}_3^-$  aportaron oxígeno. Esta estrategia de arranque no fue la adecuada ya que no se favorecieron las condiciones que permitieran el desarrollo de los microorganismos anaerobios responsables de la etapa reductiva para la producción de aminas. En la presente investigación, la estrategia de operación que se siguió fue la de eficiencias fijas, en la que se fijó como mínimo una remoción del PNF de 80 % en la fase anaerobia para iniciar la fase oxidativa mediante la

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

aireación del biofiltro hasta alcanzar un 90 % de remoción del PAF formado. Contrario a la estrategia de tiempos fijos, la biomasa se aclimató a las condiciones anaerobias esperando el tiempo necesario para su adaptación, lográndose condiciones reductoras con valores de potencial redox de  $-250$  a  $-380$  mV. Una vez que las bacterias se aclimataron, fueron capaces de biotransformar en un 60 % el PNF al derivado amino PAF. Esta estrategia de arranque resultó mejor para favorecer la selección de bacterias facultativas que generaran la producción de PAF en la etapa anaerobia y su mineralización en la aerobia.

Con el fin de inducir la selección de la biomasa para una más rápida adaptación se utilizó una concentración de PNF para el arranque del biofiltro de  $25$  mg/L, 2.9 veces más que la concentración de inhibición metanogénica  $IC_{50}$  ( $8.5$  mg/L) reportada por Donlon *et al.*, (1995). Como se partió de un lodo inóculo no adaptado al PNF el sistema pasó por un período de aclimatación, incluyendo una fase de selección microbiana, utilizando acetato de sodio como sustrato primario para proveer electrones para la reducción del compuesto, carbono y energía para el crecimiento y mantenimiento, incrementando el tamaño y masa de la población bacteriana. El PNF actuó como sustrato secundario dando lugar al proceso de co-metabolismo, esto es, la transformación de un sustrato de no crecimiento en la presencia obligada de un sustrato de crecimiento. Este metabolismo es llamado utilización de sustrato secundario (Bouwer, 1989). Durante la aclimatación de la biomasa a los cambios de ambientes anaerobios y aerobios se logró inducir principalmente la selección de bacterias facultativas, género que puede desarrollar funciones metabólicas en ausencia o presencia de oxígeno, seguida de bacterias aerobias y anaerobias como se evidenció en el análisis de grupos fisiológicos en base al perfil de ácidos grasos cuyos resultados se describen más adelante en el numeral 4.3.9. Los resultados de la adaptación de los microorganismos al PNF y a los ambientes anaerobios y aerobios, se muestran en la figura 4.1, observándose la disminución del tiempo de reacción a medida que se alcanzaba la aclimatación.

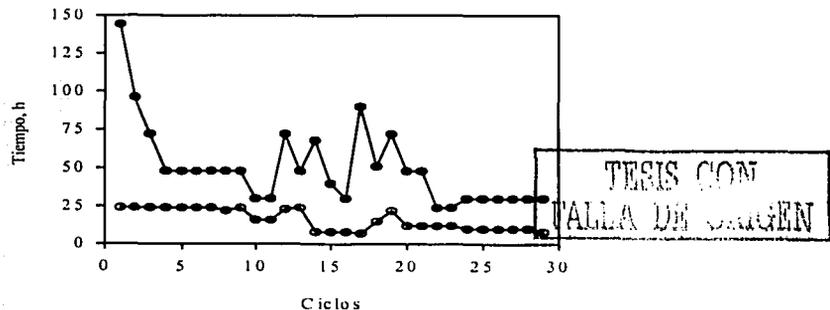


Figura 4.1. Evolución de los tiempos de reacción en el arranque del biofiltro SBB anaerobio/aerobio. (•) Fase anaerobia, (o) Fase aerobia.

En la figura 4.2 se muestran las eficiencias de remoción para el arranque del biofiltro durante 29 ciclos (84 días de operación). Cuando la biomasa se aclimató a la concentración de  $25$  mg/L (ciclo 6), los tiempos de fase anaerobia fueron reducidos y las eficiencias de biotransformación a

PAF se incrementaron. La concentración de PNF se incrementó de 25 a 35 mg/L después de 6 ciclos de operación estables. La remoción del PNF fue de 90 a 98 %. En el ciclo 10 el tiempo de reacción de fase anaerobia se redujo, lo que ocasionó una disminución en la biotransformación a PAF, debido a un aumento de PNF ocasionado por la reducción del tiempo de retención hidráulica (TRH), siendo necesario incrementar la duración de la fase anaerobia a 72 h (ciclo 12) con el fin de obtener mayor cantidad de PAF. En el ciclo 24 (día 75), el tiempo de ciclo se redujo a 40 h (30 h anaerobio y 10 h de aerobio) alcanzándose la estabilización del biofiltro. Después de este ciclo la concentración fue incrementada a 58 - 62 mg/L de PNF y la duración del ciclo fue reducida a 30 h (24 h anaerobio y 6 h de aerobio).

TESIS CON  
FALLA DEL ORGÁNICO

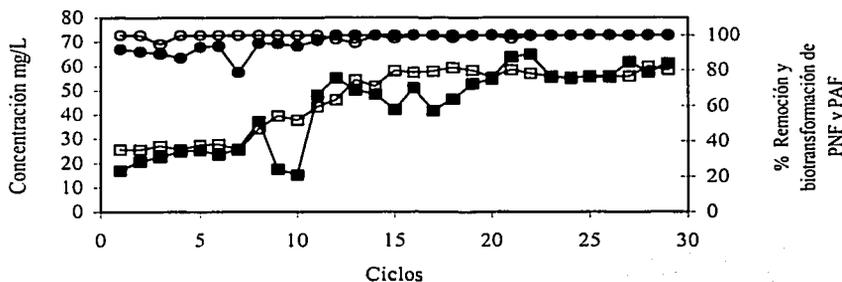


Figura 4.2. Remoción y biotransformación del PNF y PAF en el arranque del biofiltro SBB anaerobio/aerobio. (□) Concentración de PNF en el reactor; (o) % Degradación aerobia de PAF; (■) % Biotransformación de PNF a PAF; (●) % Remoción global de PNF.

Se observó un incremento progresivo de la biotransformación de PNF a PAF, alcanzándose un máximo de 60 %. Durante la fase aerobia el PAF producido por biotransformación del PNF fue degradado eficientemente por la biomasa desde los primeros ciclos, obteniéndose una remoción de 100 %. Las reacciones de oxidación que se efectuaron fueron eficientes para oxidar el grupo amino de la molécula hasta nitratos y para degradar el carbono orgánico a  $\text{CO}_2$  y agua. La fase aerobia fue reducida gradualmente de 24 a 10 h sin tener variaciones importantes en la remoción del PAF. Es claro que la reducción del PNF a PAF en la fase anaerobia es la etapa limitante para la mineralización de PNF, debido al efecto destoxicificante a PAF, lo que origina la disponibilidad de esta molécula a ser degradada por vía aerobia.

En la fase anaerobia la composición del biogás sólo mostró la presencia de  $\text{CO}_2$ , indicando que las reacciones bioquímicas que ocurrieron en el biofiltro fueron de hidrólisis y de fermentación.

El potencial redox fue de  $-380$  mV en la etapa de reducción anaerobia y de  $+71.4$  mV en la etapa de oxidación. El pH del reactor fue de 7.13 a 7.38 unidades en la fase anaerobia y de 7.53 a 8.40 en la fase aerobia. En los periodos aerobios el oxígeno fue mantenido en concentraciones de 5.23 y 6.43 mg/L y la temperatura se mantuvo en condiciones mesófilicas de  $27\text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ .

### 4.3.2. Análisis espectral

Para asegurar la biotransformación del PNF a PAF, se realizaron análisis espectrales UV-VIS durante los ciclos operacionales, comparándose los espectros de los compuestos iniciales y finales de las fases de reacción anaerobia y aerobia con los espectros de los compuestos originales grado estándar HPLC. Estos compuestos mostraron bandas características a 400 nm para el PNF y a 300 nm para el PAF a pH 7. En la figura 4.3 se muestran los espectros de los estándares de PNF y PAF y en la figura 4.4 los espectros UV-VIS de un ciclo de operación completo, en el que el influente presentó una absorbancia máxima a 400 nm correspondiente al PNF, después de iniciada la reacción se observó la aparición de un compuesto a 300 nm que correspondió al PAF, producto de biotransformación del PNF durante la fase anaerobia. Al final del ciclo en la etapa aerobia, el efluente no presentó ninguno de los picos característicos de los compuestos aromáticos iniciales o de la biotransformación, lo que indicó que la biodegradación del tóxico se llevó a cabo en las respectivas etapas anaerobia y aerobia.

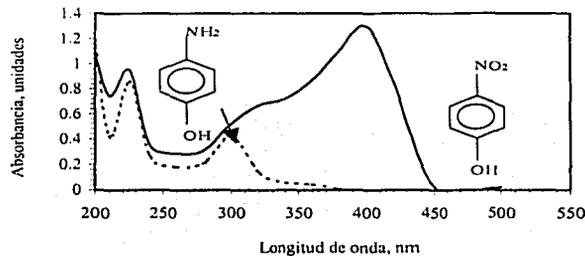


Figura 4.3. Espectros UV-VIS de estándares de PNF y PAF.  
(—) Estándar de PNF  $\lambda = 400$  nm; (---) Estándar de PAF  $\lambda = 300$  nm

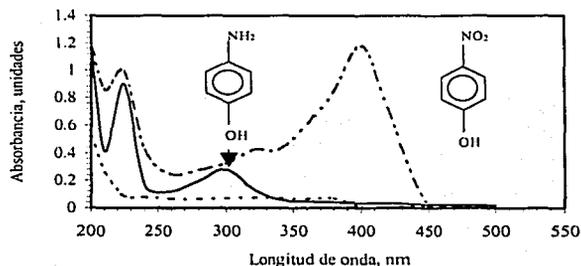


Figura 4.4. Análisis espectral del ciclo de operación 28 en el que se muestra el PNF y su producto de biotransformación PAF y la mineralización de éste. (.. ..) Influyente, inicio de fase anaerobia; (—) Biotransformación, final de fase anaerobia; (---) Efluente, final de fase aerobia.

TESIS CON  
FALLA DE CALIDAD

### 4.3.3. Perfiles de potencial redox

Los perfiles típicos de las mediciones del potencial de oxido-reducción durante los ciclos experimentales se muestran en la figura 4.5. En la fase sin aireación se puede observar que hubo una reducción de +16 a -380 mV que indicó que en el reactor prevalecieron las condiciones reductoras de anaerobiosis. Por otra parte, en la fase de aireación, se observó un aumento de -380 a +70 mV alcanzándose condiciones aerobias en el biofiltro. Los perfiles de O.R.P. sugieren que la biomasa estaba aclimatada a los ambientes anaerobio y aerobio necesarios para la mineralización del PNF. Durante el experimento la concentración de oxígeno disuelto fue de 0 mg/L en la fase anaerobia y de 5 a 6 mg/L en la fase aerobia.

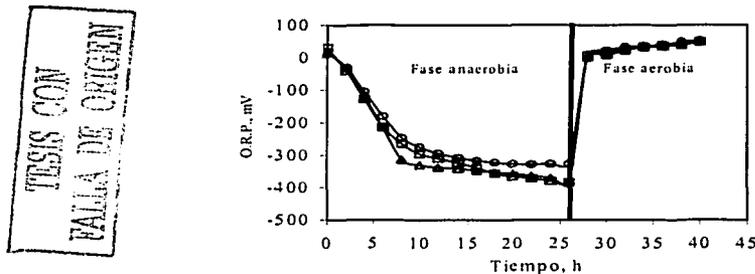


Figura 4.5. Perfil de mediciones del potencial de oxido-reducción en los ciclos de arranque del biofiltro. (o) Ciclo 8; (□) Ciclo 27; (Δ) Ciclo 29

### 4.3.4. Operación del biofiltro

La evolución de las concentraciones de PNF y PAF en el efluente y en el influente después del periodo de aclimatación se muestra en la figura 4.6. El biofiltro funcionó durante 108 días (ciclos 76-182) con concentración de 0.39 – 0.44 mM. La remoción de PNF fue de 99 %, con formación de PAF de 84 %. La remoción de PAF fue de 100%. En el ciclo 56 (día 156) un mal funcionamiento en el termostato del calentador del reactor, ocasionó un incremento en la temperatura de 27 a 52 °C, durante 72 h. Este problema generó una desestabilización en el desempeño del reactor, por lo que fue necesario re-inocular nuevamente con lodos activados frescos de la planta de tratamiento de aguas municipales Cerro de la estrella. Después de la re-inoculación en el día de operación 182 se recuperó la actividad del biofiltro, la biotransformación a PAF fue de  $84 \pm 2$  %, la mineralización del PAF en la fase aerobia de 98 % y la remoción del PNF fue cercana a 100 %. Es importante señalar que las concentraciones de PNF en el efluente fueron de menos de 1 mg/L, indicando una buena adaptación de la biomasa para la degradación del PNF y PAF en la concentración estudiada. La evolución de las eficiencias de remoción y de biotransformación se muestran en la figura 4.7.

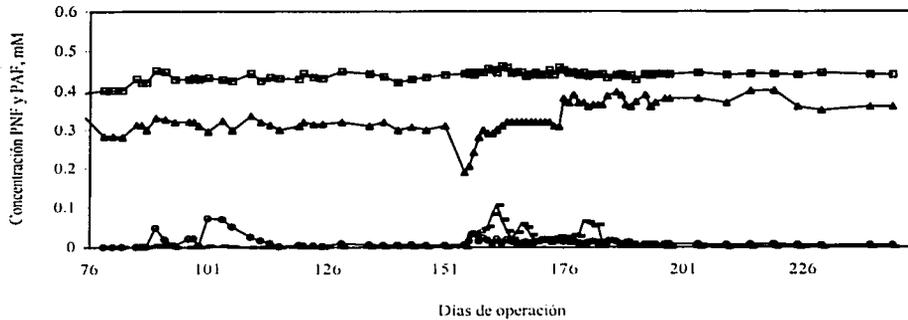


Figura 4.6. Evolución de las concentraciones de PNF y PAF en el influente y efluente del biofiltro: (□) PNF, alimentación; (o) PNF efluente; (Δ) PAF producido al final de la fase anaerobia; (—) PAF efluente (Fase aerobia).

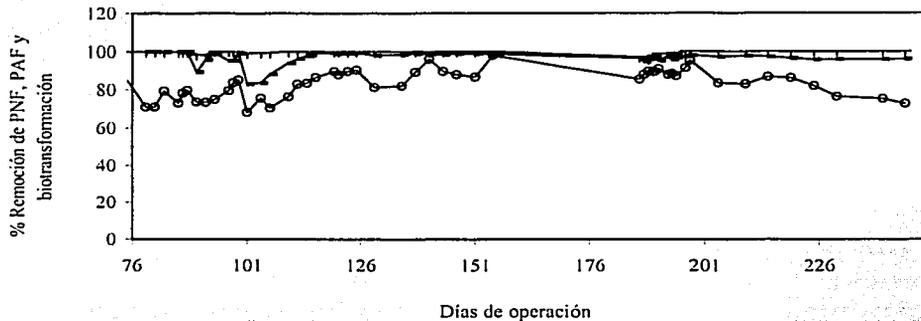


Figura 4.7. Remoción y biotransformación del PNF en el SBB: (o) Biotransformación de PNF a PAF (fase anaerobia); (—) Remoción global del PNF (fase anaerobia + fase aerobia); (Δ) Remoción de PAF (fase aerobia).

Como resultado de la aclimatación de la población bacteriana al PNF y al PAF, el tiempo de degradación fue reducido gradualmente de 7 días a 11.5 h (8 h fase anaerobia y 3.5 h de fase aerobia) en 69 ciclos, 169 días de operación. Las tasas volumétricas y específicas de degradación en la fase anaerobia mostraron la misma tendencia incrementándose de 0.29 a 9 mg/L-h (figura 4.8 a), y de 0.21 a 11 mg/g-SSV-d respectivamente, a medida que se reducía el tiempo de reacción, mostrando la adaptación de la biomasa a la reducción de PNF. En la fase aerobia la tasa volumétrica fue de 0.26 a 12.5 mg/L-h (figura 4.8 b) y la tasa específica aumentó de 0.33 a 16 mg/g SSV-d indicando una buena adaptación de la biomasa facultativa aerobia a la degradación de PAF.

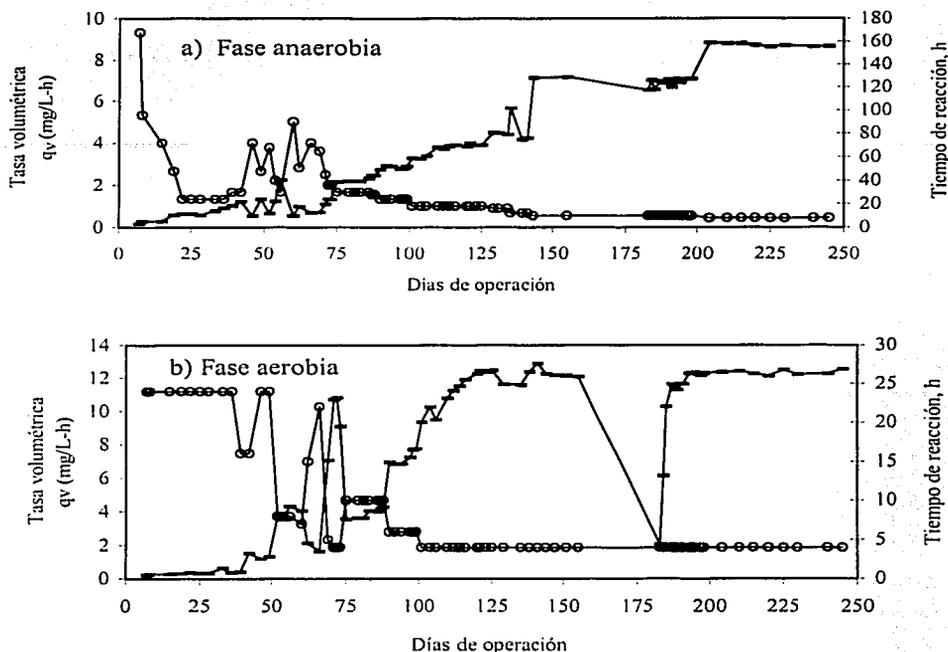


Figura 4.8. Evolución de la tasa volumétrica de degradación y del tiempo de reacción  
 a) Fase anaerobia, b) Fase aerobia.  
 (—) Tasa volumétrica de degradación  $q_v$ ; (o) (Tiempo de reacción)

En el día de operación 156 se observó una disminución de la degradación debido a la desestabilización del biofiltro como se mencionó antes, recuperándose la actividad en el día 182.

A partir del día de operación 160 (ciclo 60) se eliminó el tiempo de sedimentación en la estrategia de operación, realizando la descarga del reactor inmediatamente después del final de la fase aerobia, con el fin de evitar la acumulación de la biopelícula desprendida (biomasa muerta), evitándose la colmatación del biofiltro y eliminando la necesidad de efectuar retrolavados; es importante mencionar que a lo largo de la operación del reactor, no fue necesario efectuar ningún retrolavado del filtro, siendo esta una ventaja importante con respecto a los filtros aerobios que generalmente requieren de retrolavado.

La remoción de color durante la fase anaerobia fue en promedio de 530 a 90 unidades para una remoción de 83 %. Durante la fase aerobia fue de 90 a 15 unidades con remoción de 83 %. La remoción global del color en el sistema fue de 97 % (de 530 a 15 unidades de color Pt-Co).

Durante la fase anaerobia, el pH del influente se mantuvo entre 6.7 y 7.9 unidades y el potencial redox entre 7 y 57 mV, mientras que al final de la fase entre 7.6 y 8.9 unidades y -387 mV respectivamente. Los valores del efluente del biofiltro, al final de la fase aerobia, fueron pH entre 7.93 y 8.95 unidades y potencial redox de +0.8 a +65.1 mV. El oxígeno disuelto en la fase aerobia fue en promedio fue de 4 a 6 mg/L.

Después del día de operación 222 la eficiencia de biotransformación empezó a disminuir y en la fase de reducción no se alcanzaban valores de O.R.P. a menos de -200 mV, lo que indicó que no se tenían condiciones reductoras al 100 %, probablemente debido a falta de protones, por ello se decidió utilizar otras fuentes de protones que mejoraran la fase reductiva y por consecuencia la velocidad de reducción y la biotransformación del PNF durante la fase anaerobia.

#### **4.3.5. Evaluación de co-sustratos para mejorar la velocidad de reducción del PNF**

El objetivo de esta parte de la investigación, fue estudiar si la naturaleza del co-sustrato estimulaba la velocidad de reducción del PNF a PAF, mejorando la biotransformación, ya que en la primera etapa de la experimentación se utilizó acetato de sodio como co-sustrato

A partir del día de operación 245 se inició la etapa de evaluación de co-sustratos, con una duración de 120 ciclos (70 días de operación). Los resultados de esta etapa de experimentación aportaron información para la continuidad de la operación del biofiltro. Los resultados de la evaluación de co-sustratos inician en el ciclo 1, (día de operación 1) en cada co-sustrato estudiado. Al finalizar esta etapa, continuó la operación con las concentraciones intermedias de PNF, a partir del día 246 (ciclo 104).

En general se realizaron 30 ciclos de operación con cada co-sustrato con tiempos de reacción de 8 h de fase anaerobia y 3.5 h de fase aerobia. El criterio que se utilizó para evaluar la velocidad de reducción fue elegir el co-sustrato que presentara el menor tiempo de remoción del grupo nitro (transformado a grupo amino) y la más alta producción de PAF, interpretada esta como la velocidad de formación de PAF. Se realizó un experimento control sin co-sustrato en el biofiltro para determinar la velocidad de reducción biológica con sustrato endógeno, pero se encontró que sin la adición de acetato como co-sustrato no se efectuaba la biotransformación, lo que indicó que el acetato fue usado como fuente de energía y/o donador de electrones para la biotransformación anaerobia del PNF, pero que debería mejorarse para obtener mejor rendimiento de PAF y para optimizar la velocidad de reducción del sistema.

##### **4.3.5.1. Ácido acético**

En este experimento la alimentación fue acidificada a pH 6- 6.5 ya que el pH del efluente de cada ciclo fue de 8.6-8.8 por lo que con el efluente residual en el biofiltro se efectuó una dilución de aproximadamente el 30 %  $\pm$  2 suficiente para neutralizar la alimentación a 7.0-7.2 unidades, con una alcalinidad de 250-300 mg CaCO<sub>3</sub>/L suficiente para amortiguar la acumulación de ácidos grasos que pudiera inhibir el consorcio bacteriano en sus poblaciones anaerobia, aerobia y facultativas.

La biotransformación promedio fue de 62.9 % durante 30 ciclos de operación con tiempos de reacción de 7.5 h de fase anaerobia y 4 h de fase aerobia. En la figura 4.9 se presenta la cinética de reacción durante el ciclo 19, observándose una velocidad de reducción ( $V_r$ ) de PNF de 0.04 mM/L-h, velocidad de formación ( $V_f$ ) del PNF a PAF de 0.03 mM/L-h y una velocidad de mineralización ( $V_m$ ) de 0.06 mM/L-h. Los potenciales redox estuvieron entre + 2.1 y + 63 mV en la fase aerobia y - 219 a - 322 mV en la fase anaerobia.

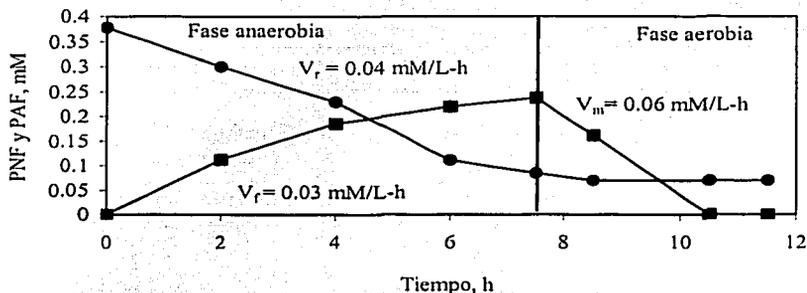
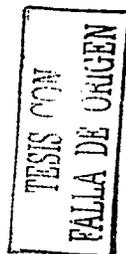


Figura 4.9. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF con ác. acético como co-sustrato en el ciclo 19. (●) PNF; (■) PAF

#### 4.3.5.2. Agua residual municipal

Se utilizó agua residual municipal en relación 1:5 con base en la DQO que presentó. La DQO del agua residual municipal fue de 330 mg/L; como el PNF aportó 1.32 g DQO/g PNF, se requirieron 50 mg/L de PNF para una relación 1:5 con base en la DQO del agua residual (50 mg PNF = 66 mg  $O_2$ /L: 330 mg  $O_2$  agua residual/L) como co-sustrato obteniéndose una muy baja recuperación de PAF (15.2 %), después de 30 ciclos de operación. En general las recuperaciones anaerobia y global del PNF fueron bajas del 57 % y 60 % respectivamente, no así la remoción del PAF formado, que fue removido en un 97.9 %. Esto nos indicó que la materia orgánica del agua residual aportó carbono y no funcionó adecuadamente como donador de electrones ya que no aportó los equivalentes de  $H^+$  necesarios para la reducción completa del PNF. La velocidad de reducción ( $V_r$ ) del PNF fue de 0.02 mM PNF/L-h, la velocidad de formación de ( $V_f$ ) PAF fue de 0.01 PAF/L-h y la velocidad de mineralización ( $V_m$ ) de 0.02 mM PAF/L-h. Los tiempos de reacción fueron de 7.5 h de fase anaerobia y 4 h de fase aerobia.

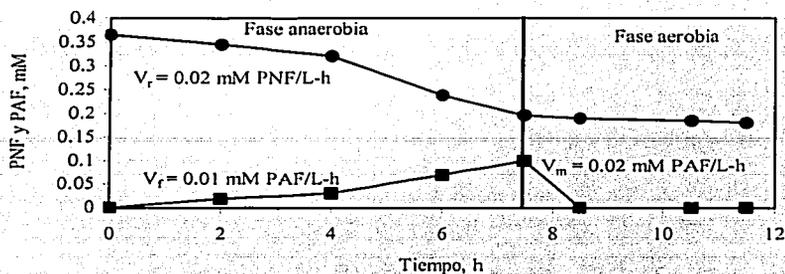


Figura 4.10. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF utilizando agua residual municipal como co-sustrato durante el ciclo 19. (●) PNF; (■) PAF

#### 4.3.5.3. Mezcla de ácido acético/ácido propiónico (1:1)

En los experimentos con este co-sustrato, en la fase anaerobia se obtuvo reducción del PNF de 100 %, medido por HPLC y análisis espectrales de UV, donde se confirmó la desaparición del PNF, la velocidad de reducción ( $V_r$ ) fue de 0.05 mM/L-h. La formación del PAF fue de 75.8 % en base al rendimiento molar, con una velocidad de formación ( $V_f$ ) de 0.04 mM/L-h. El pH se mantuvo en el intervalo de 6.9 y 7.2 unidades, con potencial redox en promedio de +39 mV en el influente. En la fase aerobia la velocidad de mineralización ( $V_m$ ) de aminas fue de 0.08 mM/L-h. El pH se mantuvo entre 7.2 y 7.9 unidades con potencial redox en el influente -272 mV y en el efluente de +25 mV. La remoción del PAF fue de 100 %. En la figura 4.11 se muestra la cinética un ciclo típico del desempeño del biofiltro en la evaluación de co-sustratos.

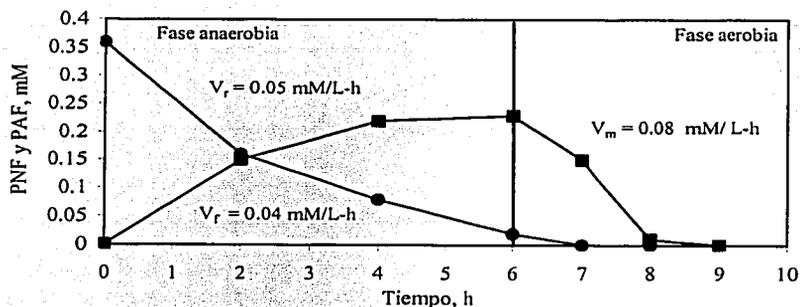


Figura 4.11. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF con mezcla de ácidos como co-sustrato durante el ciclo 13. (●) PNF; (■) PAF

#### 4.3.5.4. Ácido propiónico

En los experimentos con este co-sustrato, en la fase anaerobia se obtuvo una reducción del PNF de 100 % medido por HPLC y análisis espectrales de UV, donde se confirmó la desaparición del PNF, con velocidad de reducción ( $V_r$ ) de 0.07 mM/L-h. La formación del PAF fue a una velocidad ( $V_f$ ) de 0.06 mM/L-h con un rendimiento de biotransformación a PAF de 82 % en base al rendimiento molar. En la fase anaerobia, el pH se mantuvo en el intervalo de 6.9 y 7.3 unidades, con valores de potencial redox en promedio de +70 mV en el influente y -300 mV en el efluente. En la fase aerobia la velocidad de mineralización ( $V_m$ ) del PAF fue de 0.10 mM/L-h. El pH se mantuvo entre 7.3 y 7.8 unidades, y el potencial redox en el influente -324 mV y en el efluente de +15 mV. La remoción del PAF fue de 100 %. En la figura 4.12 se muestra la cinética de un ciclo representativo del desempeño del biofiltro en la evaluación del co-sustrato.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

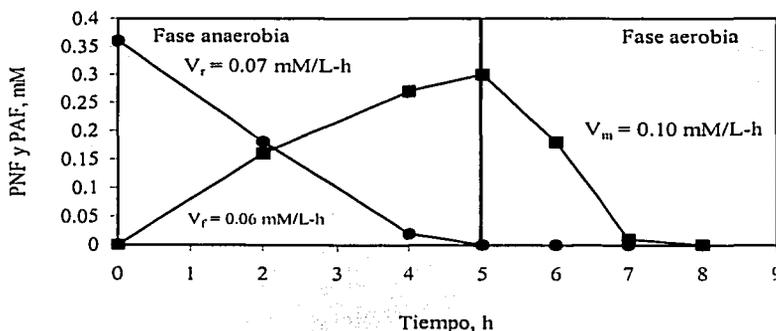


Figura 4.12. Cinética de reducción del PNF y formación y remoción del PAF utilizando ácido propiónico como co-sustrato durante el ciclo 13. (●) PNF; (■) PAF

#### 4.3.5.5. Evaluación de la velocidad de reducción

Los resultados mostraron que la velocidad de reducción del grupo nitro y el porcentaje de recuperación del PAF mejoró con la adición de co-sustratos. Los experimentos indicaron que la adición de compuestos que proveen inter-especies de hidrógeno, mejoran la producción de metabolitos de reducción y permiten una más rápida conversión del compuesto nitroaromático. La disponibilidad de los hidrógenos derivados de la degradación del co-sustrato, mejoraron la velocidad de reducción del PNF permitiendo la conversión del PNF a PAF en un menor TRH. Estos resultados están de acuerdo a estudios previos que investigaron la función de varios donadores de electrones sobre la reducción de aromáticos clorados, aldehídos aromáticos y nitrofenoles por consorcios anaerobios en los que reportaron una mejor velocidad de reducción al adicionar co-sustratos (Gibson y Sewell, 1992; Todini y Pol, 1992).

Donlon *et al.*, (1996) realizaron pruebas para determinar el efecto de diferentes co-sustratos en la velocidad de reducción de nitrofenoles y reportaron una velocidad específica de reducción de

10.5 mg/g SSV-d para el acetato y de 26.0 mg/g SSV-d para una mezcla de ácidos acético/propiónico/butírico utilizando reactores UASB y lodo granular metanogénico.

En este trabajo, se determinaron velocidades específicas de reducción de 13.7 y 16.3 mg/g VSS-d para la mezcla de ácidos acético/propiónico y propiónico respectivamente. La velocidad de reducción utilizando el ác. propiónico como co-sustrato fue de 9.7 mg/L-h y para la mezcla de ác.acético/ác. propiónico de 7.6 mg/L-h, siendo mejor la del propiónico ya que redujo el tiempo de reacción en una hora. En la tabla 4.3 se muestran los resultados obtenidos.

El uso del co-sustrato mejoró la biotransformación del PNF a PAF aumentando la velocidad de reducción, lo que permitió la reducción de los tiempos de reacción. El efecto de diferentes donadores de electrones sobre la velocidad de reducción afectó la transformación del PNF. La secuencia en el aumento de la velocidad de reducción fue la siguiente: ác. propiónico > mezcla de ácidos > ác. acético > agua residual municipal.

Tabla 4.3. Velocidades de reducción del PNF y formación de PAF en la evaluación de co-sustratos. (Valores promedio de 10 mediciones)

Co-sustrato	Velocidad reducción PNF (mg/L-h)	Velocidad formación PAF (mg/L-h)	Producción PAF (%)	TRH (anaerobio/acrobio) (h)
Ác. acético	6.7	4.9	62.9	7.5/4
Agua residual municipal	3.9	0.6	15.2	7.5/4
Ác. acético/propiónico	7.6	4.2	75.8	6/3
Ác. propiónico	9.7	6.5	82.0	5/3

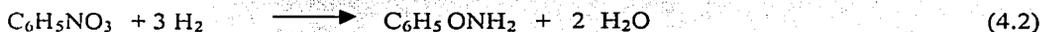
Con relación a la velocidad específica de reducción del PNF, velocidad de formación específica del PAF y velocidad específica de mineralización del PAF (medidas como las tasas específicas y volumétricas de degradación) para los dos mejores co-sustratos probados, en la tabla 4.4 se muestran los resultados.

Tabla 4.4. Velocidades específicas de reducción del PNF y formación de PAF en la evaluación de co-sustratos. (Valores promedio de 10 mediciones)

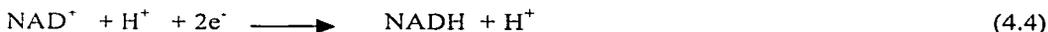
Co-sustrato	PNF <sub>r</sub> qx (mg/g ssv-d)	PAF <sub>r</sub> qx (mg/g ssv-d)	PAF <sub>m</sub> qx (mg/g ssv-d)
Ác. propiónico	16.3	11.0	18.5
Mezcla de Acético/propiónico	13.7	7.0	14.1

#### 4.3.5.6. Balance de hidrógeno

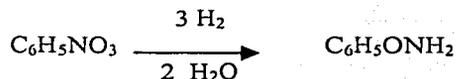
Los resultados experimentales mostraron que el PNF fue biotransformado a PAF. Como sustrato primario o sustrato de crecimiento, el propionato es primero convertido a acetato e hidrógeno por bacterias acidogénicas (ec. 4.1). El hidrógeno actúa como un donador de electrones para la biotransformación reductiva del PNF (ec. 4.2). Una fracción de la concentración de hidrógeno y acetato junto con CO<sub>2</sub> son convertidos por bacterias formadoras de propionato, para formar propionato y volver a originar acetato e hidrógeno (Cheng *et al.*, 1997) (ec. 4.3). Las principales reacciones involucradas en el cometabolismo del PNF con propionato como sustrato primario son las siguientes:



La biotransformación de PNF dependió de la disponibilidad de hidrógenos en el sistema ya que el hidrógeno actuó como el donador de electrones para la biotransformación reductiva. La velocidad de biotransformación del PNF fue más alta con la adición de ácido propiónico como co-sustrato que con la adición de ácido acético o agua residual municipal, debido a que hubo más hidrógenos disponibles para la reducción, siendo la principal diferencia la producción de hidrógeno, que tiene una función muy importante en la transformación reductiva de PNF a PAF, como también fue observado por Cheng *et al.*, (1998). Este comportamiento fue corroborado por los valores de potencial redox que se presentaron en el biosistema que fueron del orden de -250 a -380 mV. Los hidrógenos son transferidos a las moléculas de NAD (dinucleótido de nicotinamida adenina) mediante la reacción (4.4) que se lleva a cabo a un potencial redox de -320 mV, siendo en este orden los potenciales redox que prevalecieron en el sistema durante la fase reductiva.



En trabajos realizados por Cord-Ruwisch *et al.*, (1988), estudiaron el efecto de diferentes aceptores de electrones en la degradación anaerobia de sustrato y demostraron que la concentración de hidrógeno es predominantemente dependiente del potencial redox del aceptor terminal de electrones. Estequiométricamente se requieren 3 moles de hidrógeno para que un mol de PNF sea transformado a PAF, según la reacción (4.2):



Un mol de ác. propiónico origina 3 moles de H<sub>2</sub> requiriéndose un mol de ác. propiónico por cada mol de PNF para la reducción a PAF teóricamente. En los experimentos realizados se observó que debería utilizarse un exceso de co-sustrato ya que una parte fue utilizada por la biomasa para los requerimientos de crecimiento y energía de las bacterias, por lo que desde el diseño del experimento se estimó una concentración 1: 4 molar, PNF:co-sustrato pero como en

los ciclos de arranque se obtuvo una biotransformación del 60 % se aumentó la concentración de co-sustrato a 1:6 molar con lo que se logró un aumento en la biotransformación hasta el intervalo de 80 a 85 %.

#### 4.3.6. Operación del biofiltro con concentraciones intermedias y altas

Una vez que se determinó el co-sustrato que aportó la mayor cantidad de equivalentes reductores, se utilizó el sistema para evaluar las concentraciones de PNF superiores a 70 mg/L. El biofiltro se operó en concentraciones intermedias ( $S_0$ ) de 70, 80 y 90 mg/L y altas de 100, 125, 175, 225 y 300 mg/L de PNF durante los días 246 – 526 (ciclos 104 – 262), con el fin de determinar la máxima carga de PNF que pudiera soportar este tipo de reactor ya que tiene la característica de tener un cultivo facultativo anaerobio y aerobio en un 80 %, además de bacterias anaerobias y aerobias en un 20 % aproximadamente.

A partir del día de operación 246 (ciclo 104) se utilizó como co-sustrato ác. propiónico en relación molar 1:6 PNF: ác. propiónico. La alimentación se ajustó a pH  $7 \pm 0.2$  unidades y la alcalinidad se mantuvo entre 300 y 700 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ . Se fijó como criterio para asegurar condiciones reductoras que el potencial redox estuviera a  $-250$  mV durante la fase anaerobia y en la fase aerobia que el potencial aumentara hasta valores positivos. Las mediciones de las concentraciones de PNF y PAF se realizaron por HPLC y se hicieron análisis espectrales por espectroscopía UV - VIS del influente y efluente en cada fase de reacción. Los tiempos de retención hidráulica se redujeron en lo posible y el cambio a la siguiente concentración se hizo después de que los valores de la remoción PNF fueron mínimo de 80 % y para el PAF de 90 %. La evolución de las concentraciones de PNF y PAF en el influente y efluente se muestra en la figura 4.13.

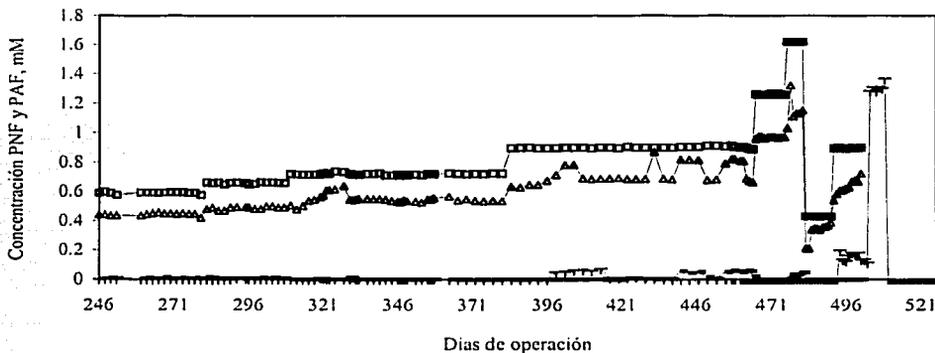


Figura 4.13. Evolución de las concentraciones intermedias y altas de PNF. (□) PNF, influente; (Δ) PAF, producido en la fase anaerobia; (+) PAF, efluente fase aerobia; (-) PNF, efluente.

Cuando el biofiltro operó con concentraciones intermedias de PNF de 70 a 90 mg/L (días de operación 246-357, ciclos 104-160) la remoción de PNF para la concentración de 70 mg/L fue de

98 % en promedio y la biotransformación de 89 %, mejorando considerablemente en un 21 % con respecto a las eficiencias que tenía el sistema antes del cambio de co-sustrato. En los cambios de concentraciones a 80 mg/L y 90 mg/L de PNF, al inicio la biotransformación disminuyó de 95 a 80-85 % siendo necesario aumentar el tiempo de fase anaerobia de 4 a 8 h para que la biomasa se adaptara a esta concentración. Una vez que la biomasa se adaptó a estas concentraciones, la remoción de PNF en la fase anaerobia fue de 98 % y la biotransformación fue de 90 a 95 %. En las tres concentraciones la mineralización del PAF fue de 99 % (figura 4.14)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

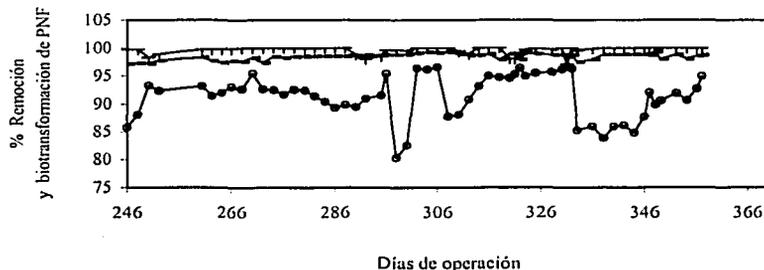


Figura 4.14. Biotransformación de PNF y remoción de PNF y PAF en las concentraciones intermedias. (o) Biotransformación de PNF a PAF; (-) Remoción global de PNF; (+) Remoción de PAF.

En los días de operación del 268 al 295, se redujo el tiempo de reacción de fase anaerobia de 8 a 4 h debido a que la biomasa estaba bien aclimatada, lo que originó un aumento de la tasa de degradación de 9.7 a 21.8 mg/g SSV-d, al doble del valor con el que venía operando el biofiltro. Después se incrementó la concentración de PNF a 80 mg/L y requirió de un tiempo de reacción anaerobia de 8 h, por lo que la tasa de degradación específica disminuyó a 15.1 mg/g SSV-d como se observa en la figura 4.15 a.

En la fase aerobia las tasas de degradación específica se mantuvieron entre 17 y 21 mg/g SSV-d y las tasas volumétricas de 14 a 17 mg/L-h como se observa en la figura 4.15 b. Las tasas de degradación volumétrica fueron ligeramente más bajas que las tasas específicas tanto en la fase anaerobia como en la aerobia.

En los días de operación 358-509 (ciclos 161-244), el biofiltro funcionó con concentraciones altas de 100 a 225 mg/L (0.72 a 1.6 mM).

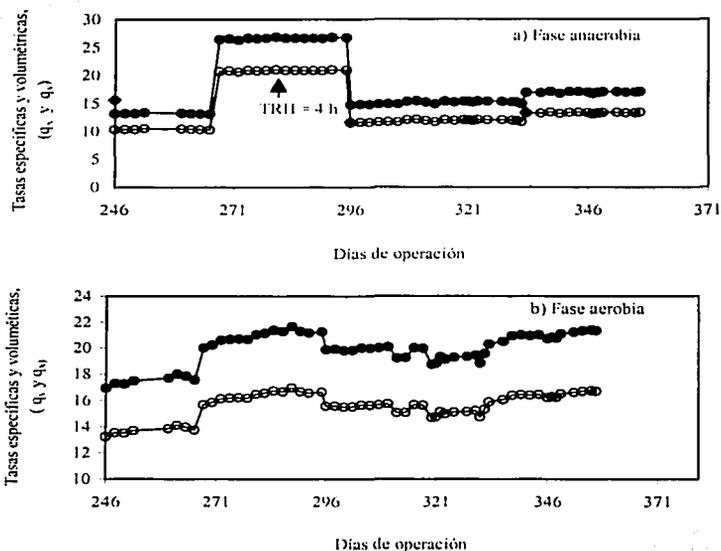


Figura 4.15. Evolución de las tasas de degradación durante la etapa de concentraciones intermedias de PNF. a) Fase anaerobia. b) Fase aerobia (●) Tasa específica de degradación,  $q_x$  (mg/g SSV-d); (○) Tasa volumétrica de degradación,  $q_v$  (mg/L-h).

En la concentración de 100 mg/L, al inicio el biofiltro operó con tiempo de reacción de fase anaerobia de 4h pero del día 387 al 423 se requirieron mayores tiempos de fase anaerobia y aerobia de 7 y 4.5 h respectivamente, para que la biomasa se adaptara a esta concentración ya que en el efluente después de la fase aerobia quedaba un residual de PAF de 6.6 mg/L en promedio, con coloración violeta característica de la polimerización del PAF, indicando que en la fase aerobia no se estaba degradando el PAF en su totalidad, sugiriendo que el tiempo de reacción aerobio no era el adecuado para la degradación de la concentración de PAF biotransformado, por lo que se aumentó la fase aerobia favoreciendo la remoción de PAF. Una vez controlado este problema, a partir del día 426 el tiempo de reacción se redujo a 7.5 h (4h de fase anaerobia y 3.5 de fase aerobia), la remoción de PNF en la fase anaerobia fue de 100 % y la biotransformación a PAF fue de 82 %; la eliminación del PAF en la fase aerobia fue de 97.9 % (figura 4.16).

En la fase anaerobia las tasas específica y volumétrica máximas de degradación fueron de 43.6 mg/g SSV-d (figura 4.17 a) y de 29.6 mg/L-h respectivamente. En la fase aerobia las tasas específica y volumétrica máximas de degradación fueron de 36.1 mg/g SSV-d (figura 4.17 b) y de 24.5 mg/L-h respectivamente. La carga volumétrica que trató el reactor fue de 400 mg/L-d.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

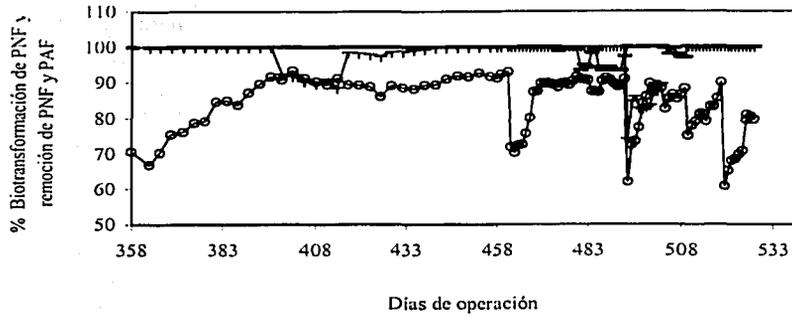


Figura 4.16. Remoción y biotransformación de PNF en la etapa de concentraciones altas. (+) Remoción global de PNF; (o) Biotransformación de PNF a PAF; (-) Remoción de PAF

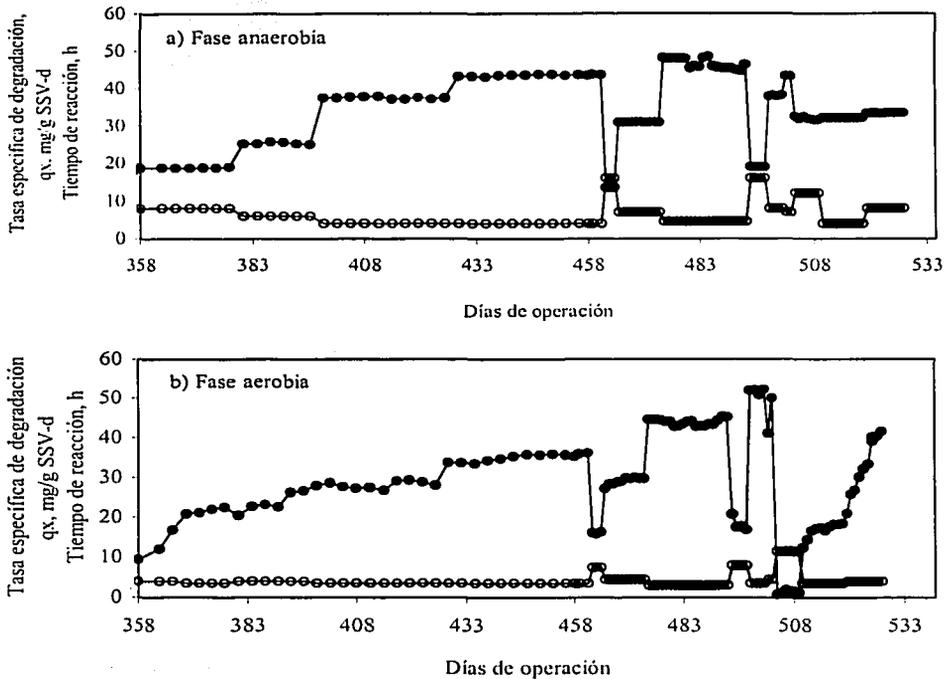


Figura 4.17. Evolución de la tasa específica de degradación ( $q_x$ ) y del tiempo de reacción durante la etapa de concentraciones altas de PNF. a) Fase anaerobia b) Fase aerobia  
(●) Tasa específica de degradación,  $q_x$ ; (○) Tiempo de reacción.

Para la concentración de 125 mg/L (días de operación 462-493, ciclos 197-228), la remoción de PNF fue de 98.7 % y la biotransformación de 85.5 %; la remoción del PAF formado fue de 98.8 % (figura 4.16). En esta concentración el biofiltro se encontraba bien aclimatado a concentraciones altas, el TRH fue de 7.5 h alcanzando velocidades de reducción de 45.1 mg/L-h y tasas específicas de degradación de 48.5 mg/g SSV-d (figura 4.17 a) para cargas volumétricas de PNF de 647 mg/L-d. En la fase aerobia, la tasa volumétrica máxima de mineralización fue 30.6 mg/L-h y la tasa específica máxima fue de 45.1 mg/g SSV-d (figura 4.17 b). La carga volumétrica de PAF que soportó el biofiltro fue de 602 mg/L-d. La remoción global de color fue de 95 %. En esta concentración no se observó coloración en el efluente que indicara polimerización del PAF, ni concentraciones residuales del compuesto.

En la concentración de 175 mg/L (días de operación 494-503, ciclos 229-238), la remoción de PNF fue de 100 % con TRH de 4h en la fase anaerobia y biotransformación de 81 %. La remoción del PAF fue de 84.2 % pero se observó que la fase aerobia no estaba degradando bien, debido a que se tuvieron concentraciones residuales de 10 % PAF en el efluente y coloración violeta característico de la oxidación del PAF al estar en contacto con aire, además de que hubo precipitación de compuestos color café rojizo, característicos de compuestos húmicos, que son polímeros de gran peso molecular formados a partir de la oxidación del PAF no degradado por la población aerobia. Lo anterior se corroboró con pruebas abióticas del PAF y espectros UV- VIS donde se observó la aparición de picos a 500-520 nm. El TRH para la fase aerobia se aumentó de 3 a 7.5 h con el fin de favorecer a las bacterias aerobias. La carga volumétrica de PNF aumentó de 602 a 1 055 mg/L-d y las tasas de degradación disminuyeron, con respecto a la concentración anterior. Las máximas tasas volumétrica y específica de reducción del PNF fueron de 24.0 mg/L-h y 37.0 mg/g SSV-d respectivamente. Las máximas tasas volumétrica y específica de mineralización del PAF fueron de 21.1 mg/L-h y 31.4 mg/g SSV-d para una carga orgánica de PAF de 342 mg/L-d.

El funcionamiento del biofiltro continuó con la concentración de 225 mg/L de PNF (días de operación 504-509, ciclos 239-244); la remoción de PNF fue de 98.4 %, la producción de PAF fue de 85.8 % pero la remoción fue sólo de 3.7 %. Se intentó recuperar la actividad de la biomasa facultativa aerobia con periodos de aireación de 11.5 h y agregando nutrientes al inicio de la fase de aireación. Se intentó operar el biofiltro con la concentración de 300 mg/L de PNF; en la fase anaerobia se alcanzó la reducción del PNF en un 98 % con biotransformación a PAF del 86 % pero nuevamente en la fase aerobia se presentó inactividad de la biomasa facultativa aerobia, por lo que se llegó a la conclusión de que las bacterias aerobias se habían inhibido por efecto de la alta concentración del PAF por lo que ocurrió la auto-oxidación de las aminas al no haber suficiente población aerobia para su degradación.

Se procedió a realizar pruebas de respirometría para verificar la actividad de la biomasa aerobia. Las pruebas realizadas indicaron que la actividad de la biomasa había sido inhibida, por lo que se procedió a enriquecer el biofiltro con lodos activados de la planta de tratamiento municipal Cerro de la estrella y nutrientes al inicio de la fase aerobia para fortalecer la población aerobia.

Para verificar la capacidad de recuperación del biofiltro ante condiciones de operación extremas como es el caso de la inhibición de la población aerobia, el reactor se re-inoculó con lodos activados municipales y volvió a operar con concentración de sustrato de 60 mg/L de PNF y ác. propiónico 1:6 molar como co-sustrato (días de operación 510-519, ciclos 245-254), dejando

períodos de aireación de 12 h y sin aire de 4 h durante 5 días, y se observó una rápida recuperación de la actividad de la biomasa en la fase de aireación con eficiencias de remoción de PNF y PAF de 100 % respectivamente y biotransformación del 82 % con tiempos de reacción de 7.5 h (4 h de fase anaerobia y 3.5 h de fase aerobia) como se observa en la figura 4.16. En la fase anaerobia las tasas de degradación volumétrica y específica fueron de 17.6 mg/L-h y 32.0 mg/g SSV-d y en la fase aerobia de 10 mg/L-h y 18.4 mg/g SSV-d respectivamente, iniciándose la recuperación de la actividad de la población facultativa aerobia.

Después se aumentó drásticamente la concentración de PNF a 125 mg/L (días de operación 520-526, ciclos 255-264). Las remociones de PNF y PAF fueron de 100 % respectivamente y la eficiencia de biotransformación de 72 % con tiempos de reacción de 8 h de fase anaerobia y 3.5 h de fase aerobia) como se observa en la figura 4.16. En la fase anaerobia las tasas de degradación volumétrica y específica fueron de 18.4 mg/L-h y 33.0 mg/g SSV-d y en la fase aerobia de 22.8 mg/L-h y 41.5 mg/g SSV-d respectivamente, observándose la recuperación de la actividad de la población facultativa aerobia adaptándose rápidamente al cambio de concentración.

El desempeño del biofiltro fue bueno, pues las remociones que se venían dando antes de la inhibición de la población aerobia se recuperaron, incluso con la concentración de 125 mg/L aunque con un tiempo de retención de 12 h, mayor que el que se tenía antes de la inhibición que fue de 7.5 h. En la concentración de 175 mg/L nuevamente se presentó el mismo comportamiento inhibitorio del PAF sobre la población aerobia, por lo que se realizó una prueba aerobia para verificar el comportamiento del PAF sobre una población puramente aerobia. Los resultados de esta prueba se encuentran en el anexo 3.

Con relación al color, en la fase aerobia del día de operación 494 al 509 se presentó pérdida de actividad de la biomasa para la mineralización del PAF, presentándose acumulación de productos de polimerización del PAF. Después el biofiltro se re-inoculó con lodos activados y se recuperó la actividad de la población aerobia. En la figura 4.18 a y b se observa que los valores promedio de color (esc. Pt-Co), fueron de 556 unidades al inicio de ciclo y de 82 unidades al final de la fase anaerobia para una remoción de 85 % y en la fase aerobia los valores fueron de 82 a 6 unidades para una remoción de 93 %. La remoción global de color fue de 97 % .

El pH durante la etapa de operación de concentraciones intermedias y altas se mantuvo con valores de 7.2 y 7.92 unidades al inicio y fin de la fase anaerobia con valores de potencial redox de -5 a -390 mV. En la fase aerobia el pH fue de 7.92 a 8.5 unidades con valores de potencial redox de +5 a +56 mV. El oxígeno disuelto en promedio fue de 4.2 a 5.6 mg/L.

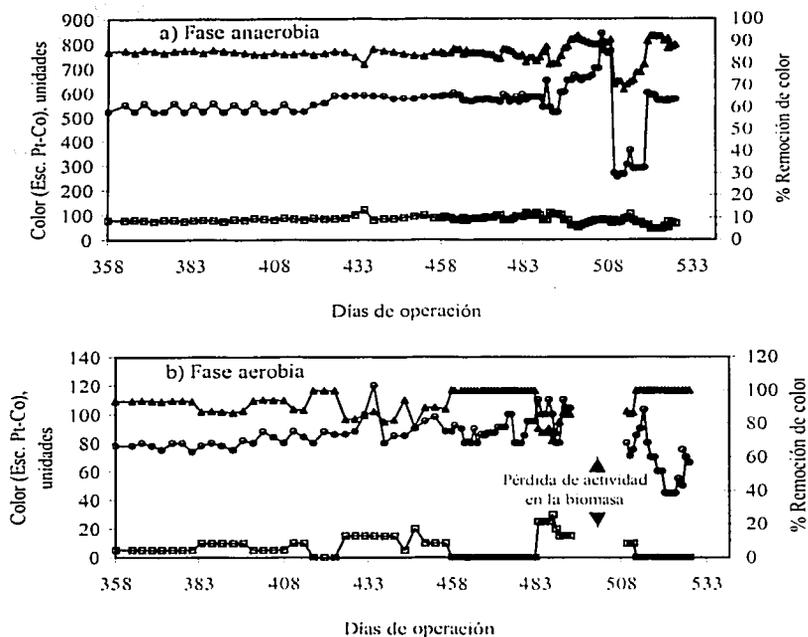


Figura 4.18. Comportamiento del color durante la etapa de concentraciones intermedias y altas de PNF. a) Fase anaerobia, b) Fase aerobia  
 (▲) % de remoción de color; (o) Color en el influente; (□) Color en el efluente.

#### 4.3.6.1. Pruebas en cromatografía de placa fina

Para verificar la producción de otros compuestos diferentes al PNF y al PAF se realizaron análisis de cromatografía de placa usando un sistema diclorometano/metanol /acetona 90:10: 0.05 y como reveladores sulfato cérico y Dragendorff. Los valores de  $R_f$  fueron: PNF, 0.28; PAF, 0.6; precipitado 0.37. Los resultados mostraron que los compuestos del precipitado color violeta fueron diferentes al PNF y PAF, con una polaridad menor que el PAF pero mayor que el PNF y se desdoblaron en 3 productos diferentes a los originales.

Polaridad : PAF > Muestras coloreadas > PNF

Por otra parte los compuestos precipitados color café rojizo presentaron un mayor grado de polimerización aumentando la intensidad del color, el peso molecular, el contenido de carbono y disminuyendo el grado de solubilidad, como lo señala Stevenson (1982), quien indicó que las sustancias húmicas están formadas por ácidos fúlvicos (solubles en agua a cualquier pH), ácidos húmicos (solubles en valores de pH básico, insolubles en pH ácido), compuestos húmicos (insolubles en cualquier valor de pH), dependiendo del grado de polimerización es el tipo de

fracción húmica. Los ácidos húmicos son macromoléculas aromáticas complejas conteniendo grupos OH fenólicos libres y enlazados, estructuras quinonas, nitrógeno y oxígeno como puentes y grupos COOH colocados en los anillos aromáticos.

Las muestras analizadas no presentaron solubilidad en solventes polares como la acetona, agua, etc., sólo en solventes no polares como metanol, en el momento de la elusión no cluyeron, permaneciendo en la línea base como es característico en los compuestos húmicos, por lo que se sugiere que la formación de compuestos coloreados producto de la oxidación del PAF son compuestos húmicos, diferentes al PNF y PAF.

#### 4.3.6.2. Pruebas de respirometría de la biomasa suspendida y fija en el tezontle

Con el fin de evaluar las condiciones en las que se encontraba la biomasa después de que el biofiltro operó con altas concentraciones de PAF acumuladas durante la fase aerobia, se tomaron muestras de tezontle del nivel superior y medio del biofiltro con solución de medio mineral, se desprendió la biomasa del tezontle y se conservaron en la misma solución por separado. Se determinó la respiración endógena de la biomasa y después la respiración de la biomasa con una solución de 25 mg/L de PAF como sustrato, utilizando el medidor de oxígeno disuelto YSI 5300 Biological Oxygen Monitor. Los resultados para la tasa de consumo de oxígeno (TCO) fueron 2.5 y 2.4 mg O<sub>2</sub>/h para la biomasa suspendida y para la biomasa adherida, respectivamente.

Estos resultados mostraron que efectivamente el PAF es un sustrato difícil de degradar por la población aerobia del biofiltro ya que inhibe la actividad de la biomasa. Los valores determinados indicaron que la actividad de la biomasa aerobia disminuyó en promedio de 5.8 a 2.4 mg O<sub>2</sub>/h antes y después de aplicar altas concentraciones de PAF (175 mg/L).

#### 4.3.7. Cuantificación de la biomasa

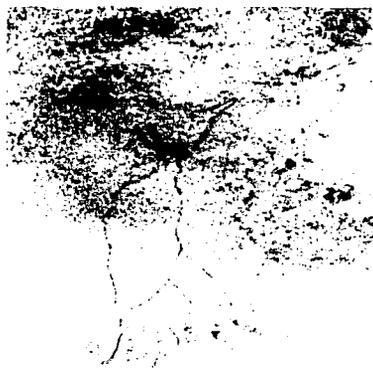
Durante la operación del biofiltro se realizó la determinación de la cantidad de biopelícula en el soporte, se realizaron análisis para estimar la cantidad de biomasa como sólidos volátiles adheridos al tezontle. Los resultados mostraron que la biomasa como g SV/kg piedra se mantuvo constante sugiriendo un equilibrio entre la generación de nuevas células y la eliminación de células por desprendimiento de la biopelícula, pero al hacer el cálculo como g/L de biomasa en el reactor fue disminuyendo un 30 % del primer al último muestreo; es importante señalar que después de este muestreo se re-inoculó el biofiltro ya que se había inhibido la actividad de la biomasa. Se tomaron muestras de 3 niveles del biofiltro: 60 cm (inferior), 40 cm (medio) y 20 cm (superior), determinándose mayor cantidad de biomasa en la parte superior y menor cantidad en la parte inferior. La cantidad de biomasa dentro del biofiltro no fue uniforme, pero el tipo de bacterias sí lo fue como se determinó mediante el perfil de ácidos grasos celulares. Los resultados promedio estuvieron dentro de los valores típicos para reactores anaerobios, sin embargo se observó disminución de la biomasa sobre todo en la parte superior del biofiltro (tabla 4.5).

Tabla 4.5. Biomasa como SV en el soporte del biofiltro

Nivel del biofiltro	Biomasa (g SV /kg piedra)		
	(245 días de operación)	(428 días de operación)	(509 días de operación)
Inferior (60 cm)	7.8	7.6	7.5
Medio (40 cm)	29.4	25.6	21.3
Superior (20cm)	49.7	41.9	31.9
Promedio	28.9	25.0	20.2
(g/L) en el reactor	18.8	16.3	13.2

Los sistemas anaerobios se caracterizan por tener un bajo rendimiento de crecimiento indicando que sólo una pequeña porción de producto orgánico es sintetizado a nuevas células. En trabajos realizados por Cho *et al.*, (2000), durante la degradación de PNF por *Nocardioides* sp NSP41 determinaron un bajo rendimiento de biomasa  $Y_{x/PNF} = 0.28 \text{ g g}^{-1}$  debido a la toxicidad del PNF. Por otra parte Bakke *et al.*, (1984) trabajaron con *Pseudomonas aeruginosa* en una biopelícula con una producción celular  $Y_{x/s}$  de  $0.30 \text{ g g}^{-1}$ . En este trabajo el rendimiento celular  $Y_{x/s}$  fue de  $0.27 \text{ mg mg}^{-1}$  encontrándose el valor en el mismo orden que los reportados por los otros autores.

En la fotografía 4.1 se muestra el tipo de población que se encontró presente en el biofiltro, donde se aprecia la presencia de protozoarios que contribuyen a la remoción de materia orgánica consumiendo bacterias libres que no contribuyen a la biopelícula y sí pueden contribuir al deterioro del efluente final en términos de SST, por lo que la acción de los protozoarios sobre estas bacterias mejora la calidad del efluente final (Von Sperling, 1996).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Fotografía 4.1. Biomasa en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio.

La evolución de los SSV en el efluente durante la operación del biofiltro se mantuvo constante con valores entre 5 y 9 mg/L como se observa en la figura 4.19 mostrando la estabilidad de la biopelícula formada sobre el soporte. A partir del día de operación 494 los SSV empezaron a aumentar debido a que en la fase aerobia se presentaron problemas con la mineralización del PAF como ya se ha descrito antes. Cuando el biofiltro recuperó la actividad en la fase aerobia, los SSV en el efluente empezaron a estabilizarse nuevamente.

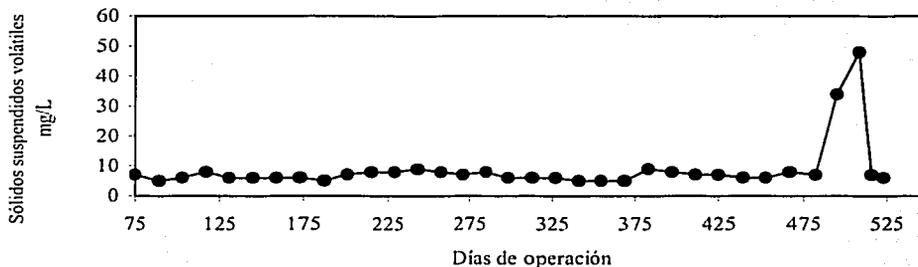


Figura 4.19. Evolución de los SSV en el efluente durante la operación del biofiltro SBB.

#### 4.3.8. Clasificación por grupos fisiológicos de la población anaerobia del biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Se llevó a cabo la cuantificación de la biomasa anaerobia a través del recuento de distintos grupos tróficos. La determinación se realizó en dos muestras del empaque del biofiltro, la primera a los 245 días de operación y la segunda a los 412 días de operación. Los resultados se muestran en la tabla 4.6.

Tabla 4.6. Resultados de la cuantificación de bacterias anaerobias por grupos tróficos del biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Grupo de bacterias	Resultado NMP de bacterias/g SV	
	Muestra 245 días de operación	Muestra 412 días de operación
Fermentativas (F)	$2.42 \times 10^{11}$	$3.66 \times 10^{11}$
Sulfato-reductoras (S)	69 204	104 712
Hidrogenofilicas (H) estrictamente relacionadas de HOPS (consumidoras de propionato y butirato)	$6.9 \times 10^7$	$6.9 \times 10^7$
Acetoclásticas (A)	No detectadas	No detectadas
Productoras obligadas de hidrógeno de propionato ( $O_p$ )	69 204	104 712
Productoras obligadas de hidrógeno de butirato ( $O_B$ )	69 204	104 712

El número total de bacterias no metanogénicas en el biofiltro estuvo en el orden de  $10^{11}$  bacterias/g SV en las dos muestras, de igual forma en ambas muestras el orden de bacterias/g SV en cada grupo trófico, se encontraron en el mismo orden de magnitud.

La población anaerobia del biofiltro estuvo formada por bacterias fermentativas, que transforman por hidrólisis los polímeros en monómeros y éstos en acetato, hidrógeno,  $\text{CO}_2$ , ácidos orgánicos de cadena corta, aminoácidos y otros productos, siendo esta la primera fase del proceso anaerobio. La hidrólisis, llevada a cabo por la acción de exoenzimas excretadas por bacterias fermentativas hidrolíticas, siendo esta etapa generalmente lenta. Como los ácidos grasos volátiles son el principal producto de los organismos fermentativos, estas bacterias usualmente son llamadas bacterias acidogénicas fermentativas, que consisten de bacterias anaerobias facultativas y estrictas por ejemplo del tipo de *Clostridium spp*, *Bacteroides*, *Desulfovibrio spp*, y *Escheriquia coli* (Metcalf y Eddy, 1991).

Las bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno son las responsables de la oxidación de los productos generados en la fase acidogénica convirtiéndolos en acetato, hidrógeno y  $\text{CO}_2$ . Estas bacterias forman parte de un grupo metabólico intermediario que producen sustratos para las bacterias metanogénicas (Chernicharo, 1997). En un trabajo realizado por Gorontzy *et al.*, (1993), los metanogénos fueron más sensibles a la presencia de nitroaromáticos que las bacterias sulfuro-reductoras y *Clostridium*, debido probablemente a la destrucción de la doble función de las membranas celulares de la mayoría de los metanogénos como un acarreador fisiológico y como esqueleto de la célula. En las bacterias sulfato-reductoras y *Clostridium* el efecto destructor de los nitroaromáticos fue prevenido por la presencia de murexida contenida en la pared celular y a la diferente composición de la pared celular. En contraste con los metanogénos, *Clostridium spp* y las bacterias sulfato-reductoras redujeron los sustituyentes nitro sin lisis celular.

Los resultados mostrados se complementan con la clasificación de la población bacteriana realizada por medio de la técnica del perfil de ácidos grasos fosfolípidicos, donde el tipo de ácidos grasos determinados para las bacterias anaerobias, corresponde al tipo de bacterias referidas antes.

#### 4.3.9. Caracterización de la biomasa del biofiltro mediante la técnica del perfil de ácidos grasos celulares

La caracterización de la biomasa del biofiltro se realizó mediante la técnica del perfil de ácidos grasos celulares (AGC) después de 245 días de operación. Rodríguez-Arteaga (2000), desarrolló el método del análisis de los derivados metilados de los extractos de AGC por cromatografía de gases para asociar los ácidos grasos celulares como biomarcadores de comunidades bacterianas anaerobias, aerobias y facultativas, estudiando la distribución espacial de la comunidad bacteriana presente en reactores SBR empacados con tezontle, bajo condiciones alternadas anaerobias y aerobias, para el tratamiento del PNF y del 2,4-dinitrofenol. El autor reportó AGC como biomarcadores de las comunidades bacterianas presentes en los reactores, señalando que los AGC saturados C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0 y C19:0 son propios de comunidades anaerobias; los AGC C12:0, C14:0, C16:0, C16:1<sup>9</sup>, C18:1<sup>9</sup>cis, para comunidades anaerobias facultativas Gram negativas; los AGC C2-OH10:0, C2-OH12:0, C3-OH12:0, C3-OH14:0, C18:1<sup>9</sup>trans, C17:0., C17:0., para comunidades aerobias Gram negativas; los AGC C i-15:0, C a-15:0, C i-14:0, C i-16:0, C i-17:0, C i-18:0, para comunidades aerobias Gram positivas.

Los resultados para el biofiltro que trató PNF indicaron que no se determinaron diferencias entre las comunidades de la biopelícula encontradas en los niveles superior, medio e inferior. En los tres niveles, tanto en su parte externa como en la interna, se encontraron los mismos ácidos grasos, siendo homogénea la distribución espacial de la biomasa a lo largo del biofiltro.

La composición de la comunidad sobre el soporte no fue homogénea, la parte interna presentó ácidos grasos característicos de una comunidad bacteriana anaerobia y en la parte externa comunidades mixtas de tipo facultativo y aerobias. En la tabla 4.7 se muestran los resultados del análisis del perfil de ácidos grasos fosfolípidicos para las comunidades bacterianas del biofiltro.

En la parte interna del soporte, se determinó solo la presencia de ácidos grasos saturados del tipo 12:0, 14:0, 16:0, 17:0 y 18:0, que son comunes y abundantes en comunidades anaerobias, lo que indicó que la parte interna del soporte fue colonizada por comunidades bacterianas anaerobias.

El ácido graso 3-OH12:0, se encontró solo en la parte externa del soporte, siendo característico en bacterias gram negativas como *Pseudomonas* y en *Enterobacteriaceae*. Los ácidos grasos ramificados, i-15:0, a-15:0, i-16:0 se han reportado como predominantes en sedimentos de tipo aerobio y en bacterias gram negativas y positivas; el ácido i-16:0 se presenta también en las vibriónáceas.

De los ácidos grasos insaturados obtenidos, el 16:1<sup>9</sup> se ha encontrado que es muy abundante en *Enterobacteriaceae* y en algunas bacterias aerobias; el ácido 18:1<sup>9</sup>cis se ha reportado como asociado a sedimentos de tipo facultativo y aerobio y el ácido 18:1<sup>9</sup>trans, se ha encontrado asociado a ambientes aerobios caracterizados por estar en estrés, como en la inanición, por lo que se ha considerado como un indicador de estrés.

Después del análisis de los ácidos grasos fosfolípidicos, se determinó la presencia de distintas comunidades bacterianas a diferente profundidad del reactor: en el nivel superior en la parte externa del soporte predominaron los AGC ramificados característicos de comunidades aerobias Gram positivas. En los niveles medio e inferior de la parte externa del tezontle predominaron los AGC insaturados característicos de las comunidades anaerobias facultativas gram negativas como las *Enterobacteriaceae*. En parte la interna del tezontle en los tres niveles del biofiltro, predominaron los AGC saturados que caracterizan a comunidades anaerobias del género *Clostridium*, *Desulfovibrio* y *Desulfobacter*.

Tabla 4.7. Distribución de los ácidos grasos celulares en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Comunidad bacteriana	NIVEL DEL BIOFILTRO					
	<i>Superior</i>		<i>Medio</i>		<i>Inferior</i>	
	Externo	Interno	Externo	Interno	Externo	Interno
Anaerobia		♦		♦		♦
Facultativa	♦		♦		♦	
Aerobia	♦		♦		♦	

(♦) Presencia del tipo de comunidad bacteriana en el biofiltro

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.3.10. Discusión de los resultados

##### 4.3.10.1. Evaluación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio

El biofiltro funcionó durante 596 días, 526 días correspondientes al estudio del proceso anaerobio/aerobio para la degradación del PNF y 70 días para la evaluación de co-sustratos.

Durante la fase anaerobia el biofiltro funcionó con valores de potencial redox entre  $-280$  y  $-420$  mV. La producción del biogás fue escasa de aproximadamente  $5$  mL/h y la composición sólo mostró la presencia de  $\text{CO}_2$  en porcentajes de  $65\%$ . Estos resultados están de acuerdo con los trabajos de Battersby y Wilson (1989), Johnson y Young (1983), y Boyd *et al.*, (1983), quienes reportaron inhibición de la producción de metano en pruebas de biodegradabilidad anaerobia. La reducción del PNF a PAF en la fase anaerobia es la etapa limitante para la mineralización de PNF ya que se efectúa una destoxificación a PAF y dispone al compuesto para ser susceptible de ser oxidado en la fase aerobia.

El biofiltro se comportó como un reactor acidogénico, por lo que las reacciones bioquímicas que ocurrieron fueron de hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis. También se determinaron sulfuros ( $\text{S}^{2-}$ ) en concentraciones de  $0.02$  a  $0.56$  mg/L en el efluente, sugiriendo la presencia de bacterias sulfato-reductoras lo que confirmó los resultados encontrados en la identificación de grupos tróficos (4.3.8) donde el crecimiento de bacterias acetoclásticas fue nulo y se determinó la presencia de bacterias fermentativas y sulfato-reductoras.

La alcalinidad total en general se mantuvo en el intervalo de concentración de  $300$  a  $600$  mg  $\text{CaCO}_3$ /L, que fue suficiente capacidad amortiguadora para neutralizar la producción de ácidos grasos volátiles durante el proceso, previniendo su acumulación, para evitar la acidificación del biofiltro que pudiera ser causa de inhibición. Los sistemas anaerobios son más eficientes cuando operan en ausencia de inhibición y en el caso de acumulación por ácidos grasos es un indicador común de estrés en el sistema, ya que no se realiza la conversión a acetato e hidrógeno efectuada por organismos que crecen cuando el hidrógeno es usado por hidrogenotrófos en el proceso llamado transferencia inter especies de hidrógeno (Pohland, 1992).

El biofiltro en general no presentó acumulación de ácidos grasos, sólo en el inicio de las pruebas con ácido propiónico como co-sustrato, donde se observó disminución de pH del ciclo 161 al 164, por acumulación de ácidos grasos medidos como ácido acético de aproximadamente  $320$  mg/L con un descenso de pH a  $5.0 \pm 0.4$  unidades, disminuyendo ligeramente la eficiencia de biotransformación a PAF e inactivándose la población aerobia en la fase de oxidación. Se recuperó la actividad del reactor en el ciclo 166 dando periodos de aireación de  $8$  a  $12$  h y adicionando alcalinidad de  $600$  mg  $\text{CaCO}_3$ /L en la fase anaerobia además de solución de vitaminas a la alimentación y al inicio de la aireación; los tiempos de reacción aumentaron a  $24$ h durante 3 ciclos y la población aerobia nuevamente empezó a degradar el PAF generado en la fase reductiva.

El pH se mantuvo en promedio en  $7.38$  unidades al inicio y  $7.97$  al final de la fase anaerobia, que son intervalos adecuados para sistemas anaerobios, particularmente las bacterias acidogénicas son bastante activas tanto en valores de pH ácido o básico con un intervalo óptimo entre  $6$  y  $8$  unidades (Chernicharo, 1997). El sistema se mantuvo en una adecuada relación de pH-

alcalinidad-ácidos grasos y esta relación fue el factor más importante en la estabilidad del proceso. La alcalinidad del influente y la alcalinidad generada en el proceso fueron suficientes para mantener niveles de operación seguros para evitar inhibición por estos factores.

#### 4.3.10.2. Balance de la reacción de reducción

En el curso del proceso de reducción, la biomasa utilizó nitrógeno del PNF para sus requerimientos de crecimiento y energía en un 12 – 15 % y un 85 % fue biotransformado a PAF con base en el rendimiento estequiométrico. Las reacciones que se llevaron a cabo se muestran en la figura 4.20.

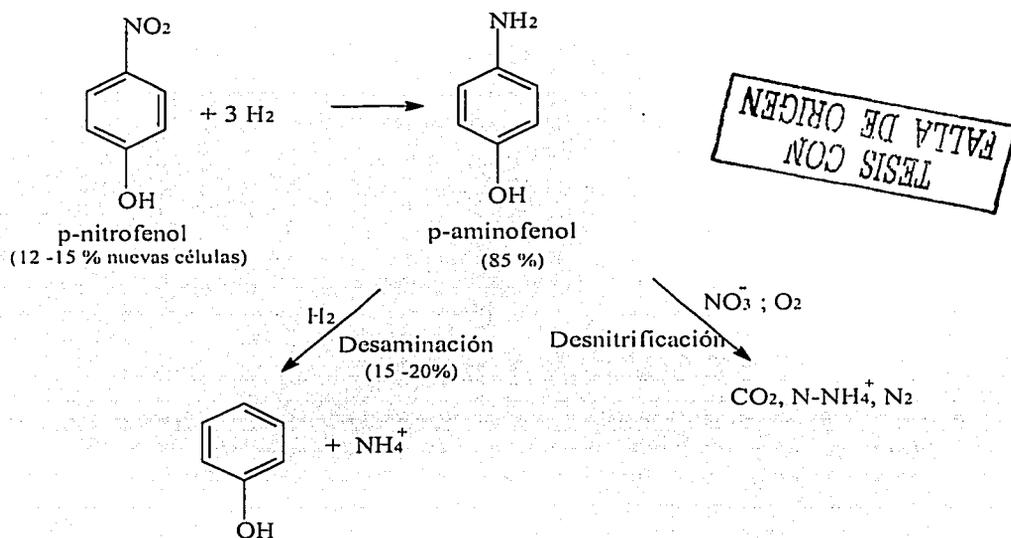


Figura 4.20. Reacciones efectuadas durante la reducción del PNF.

Se llevó a cabo un proceso de desnitrificación en las primeras dos horas de la reacción. En este período el reactor se mantuvo en condiciones anóxicas con concentraciones de oxígeno disuelto de 0.1 a 1 mg/L y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> residuales que quedaban en el reactor del ciclo precedente, hasta alcanzar las condiciones de anaerobiosis con potencial redox de -250 mV, que por lo general ocurrió después de las dos primeras horas de reacción originando producción de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. La desnitrificación produjo alcalinidad e incremento del pH dentro del reactor. El promedio de generación de alcalinidad fue del doble de la alcalinidad inicial. La elevación de la alcalinidad se atribuyó a la conversión de CO<sub>2</sub> en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> con incremento de pH en el reactor, dadas por la conversión de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a N<sub>2(g)</sub> como también fue reportado por Karim y Gupta (2001). En esta etapa las bacterias anaerobias adquieren energía para el crecimiento y requieren de una fuente de carbono para la síntesis celular que en este proceso está dada por el ion carboxilato (COO<sup>-</sup>), producido durante las reacciones bioquímicas del propionato que genera H<sub>2</sub> y COO<sup>-</sup> (Metcalf y

Eddy, 1991). También se efectúa una reacción de desaminación (Sawyer *et al.*, 1994), de aproximadamente 15-20 % después de iniciada la fase anaerobia cuando se ha formado la mayor producción de PAF, generándose un incremento en la concentración de nitrógeno amoniacal de aproximadamente 15 al 20 % y una elevación del pH de 7 a  $7.9 \pm 0.2$  unidades y la producción de fenoles en concentraciones de 0.1 a 0.8 mg/L en promedio.

El reactor trabajó con eficiencias de remoción del PNF influente de 98 % mediante la reducción a PAF. La reducción también causó la destoxificación del influente a PAF en todas las concentraciones de operación del biofiltro, debido a que la toxicidad del PAF es 500 veces menos que la del PNF (Donlon *et al.*, 1995), La biotransformación del PNF a PAF fue muy cercana a la estequiometría con aproximadamente 85 % de recuperación, lo cual fue confirmado por análisis de HPLC.

Durante la fase aerobia el PAF fue biodegradado eficientemente por la biomasa desde los primeros ciclos de operación. Las reacciones de oxidación que se efectuaron fueron eficientes para oxidar el grupo amino de la molécula hasta nitratos y eliminar el carbono orgánico a CO<sub>2</sub> y agua. La fase aerobia fue reducida gradualmente de 24 a 4 h en 101 días de operación, a lo largo de la operación del biofiltro, obteniéndose una remoción de 95 a 100 %, excepto cuando se perdió la actividad de la biomasa aerobia por la acumulación de PAF, cuando se manejaron concentraciones superiores a 100 mg/L.

#### 4.3.10.3. Tasas de degradación

En la figura 4.21 a y b se muestra la evolución de las tasas específicas de degradación en función de la concentración de PNF y PAF, observando un aumento en la tasa de degradación a medida que aumentaba la concentración, indicando una buena adaptación de la biomasa a las concentraciones de estudio. En la fase anaerobia la máxima carga volumétrica que soportó el biofiltro fue de 647 mg PNF/L-d con una tasa volumétrica de degradación de 45.1 mg PNF/L-h. La máxima carga de formación de PAF fue de 602 mg PAF/L-d con una tasa volumétrica de biotransformación de 25.5 mg PAF/L-h.

En la fase aerobia la tasa máxima de mineralización de PAF fue 30.6 mg PAF/L-h, para una carga de 602 mg PAF/L-d con un TRH de 3.5 h. Las tasas volumétricas también fueron aumentando a medida que se incrementaba la concentración.

En la fase anaerobia la máxima velocidad de degradación específica para el PNF fue de 1.4 mg PNF/g-h y la máxima velocidad de biotransformación específica para el PAF fue de 1.1 mg PAF/g-h. En trabajos realizados por Uberoi y Bhattacharya (1997), y Gorontzy *et al.*, (1993), reportaron velocidades de degradación específica de 0.33 mg PNF/g-h y 0.016 mg PNF/g-h respectivamente en sistemas anaerobios, observándose que la velocidad de degradación en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio es más alta. Respecto a la fase aerobia, la máxima velocidad de degradación específica de PAF fue de 1.5 mg PAF/g-h. En sistemas aerobios Pitter y Chudoba (1990), reportaron velocidades de remoción expresadas como DQO para el PAF de 24 mg DQO/L-h y para el PNF de 32 mg DQO/L-h, mientras que en este trabajo las velocidades de remoción obtenidas como DQO fueron en la fase anaerobia 35.4 mg DQO/L-h y en la fase aerobia 61.9 mg DQO/L-h. Como puede observarse los resultados en el proceso

anaerobio/acrobio discontinuo son similares para la remoción de PNF en sistemas aerobios pero tiene ventajas debido a que las aguas residuales industriales generalmente contienen grandes cantidades de materia orgánica y el proceso anaerobio/acrobio puede soportar hasta  $4.8 \text{ kg/m}^3\text{-d}$  de remoción principalmente durante la fase anaerobia, mientras que los sistemas aerobios soportan cargas de  $1 \text{ kg/m}^3\text{-d}$ .

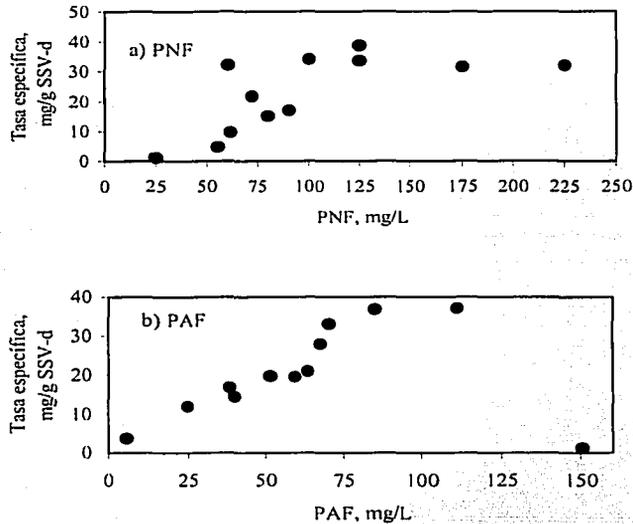


Figura 4.21. Tasas específicas de degradación en función de las concentraciones de PNF y PAF  
a) PNF; b) PAF

Las aplicaciones del tratamiento anaerobio/aerobio principalmente para la degradación de compuestos tóxicos son escasas. Macarie y Guiot (1996), reportaron el tratamiento de una carga volumétrica de  $137 \text{ mg PCF/L-d}$  en la degradación de pentaclorofenol; O'Neill *et al.*, (2000 b), reportaron la remoción de una carga orgánica de  $3.34 \text{ kg DQO m}^3\text{-d}$  en la degradación de colorantes azo con un tratamiento anaerobio/aerobio.

#### 4.3.10.4. Carga orgánica

Con relación a la carga orgánica aplicada al biofiltro como DQO, la máxima carga orgánica aplicada fue de  $2.6 \text{ kg DQO/m}^3\text{-d}$  para un TRH de 4 h, este valor se encuentra dentro de los datos típicos de desempeño de los procesos anaerobios de lecho fijo para el tratamiento de aguas residuales industriales, que van de  $0.96$  a  $4.80 \text{ kg DQO/m}^3\text{-d}$ ; los valores típicos de remoción de DQO en procesos anaerobios de lecho fijo van de  $75$  a  $85 \%$  (Metcalf y Eddy, 1991). En la figura 4.22 se muestra la evolución de las cargas orgánicas indicando que las eficiencias de eliminación

de PNF como DQO fueron de 95 a 100 % sugiriendo un buen desempeño del biofiltro para la remoción de carga orgánica.

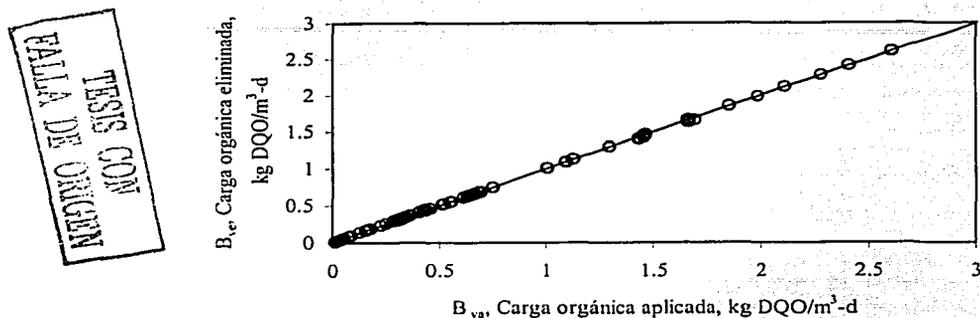


Figura 4.22. Carga orgánica aplicada y eliminada como DQO en el biofiltro

#### 4.3.10.5. Destino del PNF

En la fase reductiva se observó la biotransformación de PNF a PAF, esta reducción representa un mecanismo de destoxificación anaerobia del PNF (Battersby y Wilson, 1989) sin producción de metano, como previamente fue reportado por O'Connor y Young (1996), contrariamente a otros autores que reportaron inhibición y después recuperación de la producción del metano en sistemas anaerobios (Uberoi y Bhattacharya, 1997). La inhibición puede ser explicada debido a que los compuestos nitroaromáticos desacoplan la actividad de la cadena de transporte de electrones inhibiendo la síntesis de ATP, seguida por la lisis celular. Reportes previos sugieren que el PNF es algunas veces mineralizado (O'Connor y Young, 1996) y otras veces es dejado sin metabolizar (Battersby y Wilson, 1989). En este experimento el PNF no mostró ninguna transformación bajo condiciones abióticas; el PAF fue metabolizado bajo condiciones anaerobias en un 15 %. La mineralización de PAF requiere de condiciones aerobias, debido a que es catalizado por oxigenasas, enzimas que requieren oxígeno molecular. Las aminas aromáticas pueden ser mineralizadas por enzimas no-específicas a través de hidroxilación y rompimiento del anillo aromático (Peres *et al.*, 1998). La conversión biológica de aminas involucra primero, la remoción de nitrógeno por bacterias heterotróficas liberando nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) como producto final. Las aminas aromáticas con uno o más grupos hidroxilo tienden a oxidarse en presencia de oxígeno, los productos formados son los oligómeros y polímeros de sustancias húmicas que no son muy susceptibles de biodegradar. Tan *et al.*, (1999 b), llevaron a cabo experimentos para la degradación aerobia del PAF e indicaron que el mecanismo de degradación fue principalmente debido a oxidación. En este trabajo las poblaciones aerobias y facultativas empezaron a degradar PAF con liberación de nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) con un aumento del pH de 7.8 a 8.2 unidades, seguido de la conversión de amoníaco a nitrógeno amoniacal, nitritos y nitatos, consumiendo oxígeno disuelto. Se llevaron a cabo pruebas abióticas del efluente anaerobio y se observó la rápida oxidación de PAF con formación de polímeros de

sustancias húmicas, lo que fue confirmado por cromatografía de capa fija. En el efluente anaerobio tratado aerobiamente no se observó oxidación. Esto muestra que la nitrificación se llevó a cabo efectivamente en la fase aerobia. La mineralización de PAF fue confirmada por HPLC junto con el balance de nitrógeno (Tabla 4.8. ). Puede observarse la oxidación de N-PAF a  $N-NO_2^-$  y  $N-NO_3^-$  y disminución de  $COT_d$ . En la figura 4.23 se muestra la remoción de  $COT_d$ . El C total corresponde al C del co-sustrato ( $CH_3COO^-$ ) (68 %) más el carbono aromático del PNF (32 %). Durante la fase anaerobia la remoción de carbono aromático fue de 18 % y 82 % en la fase aerobia debido al rompimiento del anillo del PNF. La diferencia de 15 % entre el nitrógeno total al inicio y al final del ciclo se atribuye al nitrógeno utilizado por la biomasa para la síntesis de constituyentes celulares (Hobson y Wheatley, 1993).

Tabla.4.8. Balance de nitrógeno durante la biodegradación anaerobia/aerobia del PNF (Resultados promedio de 20 mediciones)

Tipo de nitrógeno	Inicio de fase anaerobia (mg/L)	Fin de fase anaerobia (mg/L)	Fin de fase aerobia (mg/L)
N-PNF	6.24 ± 0.10	0	0
N-PAF	0	5.21 ± 0.52	0
$N-NH_4^+$	2.38 ± 0.74	2.02 ± 0.15	0.51 ± 0.08
$N-NO_2^-$	0	0	4.35 ± 1.01
$N-NO_3^-$	0	0	2.48 ± 0.27
Nitrógeno total como N	8.62	7.23	7.34

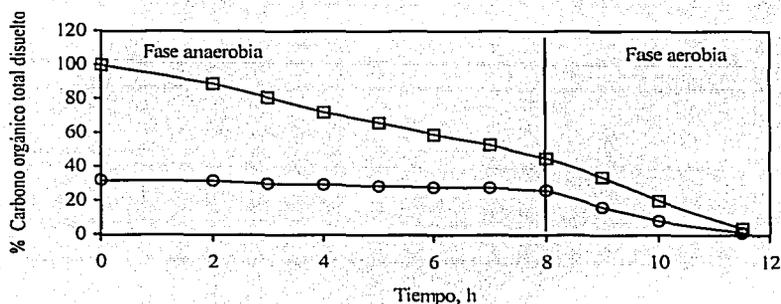


Figura 4.23. Remoción de  $COT_d$  durante el proceso anaerobio/aerobio para la degradación de PNF. (□) C total = Aromático + Co-sustrato; (○) C de compuestos aromáticos

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los resultados obtenidos en este trabajo indicaron que los valores de cargas orgánicas volumétricas de PNF tratadas en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio se encuentran en el intervalo de eficiencia que otros tipos de reactores totalmente anaerobios. Razo-Flores *et al.*, (1997), reportaron que en un reactor UASB anaerobio trataron cargas volumétricas altas de 790 mg/L-d de PNF con remoción de 94 %, con una tasa específica de reducción de 26 mg/g SSV-d y el 22 % de remoción del PAF formado, comparándolo con el estudio hecho por Haghghi *et al.*, (1995), en un digestor anaerobio tratando cargas volumétricas de PNF de 0.36 mg/L-d con remoción de 82 %. En este estudio las cargas volumétricas tratadas por el biofiltro en ambas etapas fueron de 647 mg PNF/L-d y de 614 mg PAF/L-d con una tasa específica de reducción promedio de 38.6 mg/g SSV-d y una tasa específica de mineralización promedio de PAF de 36.7 mg/g SSV-d.

En las tablas 4.9 y 4.10 se resume una comparación de las tasas de remoción y carga orgánica volumétrica obtenidas en este trabajo, con otros procesos de tratamiento biológico. Es importante señalar la ventaja que tiene el proceso anaerobio/aerobio sobre los procesos anaerobios comparados, ya que se mineraliza completamente el PNF, no solo se detoxifica. Con relación a los procesos aerobios tiene la ventaja de tratar mayores cargas de materia orgánica como ya se mencionó antes.

Tabla 4.9. Tasas de degradación y cargas orgánicas volumétricas de PNF tratadas en diferentes reactores

Tipo de reactor	Tasa específica de reducción mg/g SSV-d	Carga orgánica volumétrica tratada (mg/L-d)	Eficiencia de remoción PNF (%)	Eficiencia de remoción PAF formado (%)	Referencia
UASB	26	790	94	22	Razo-Flores (1997)
Digestor aerobio (esc-lab)	--	0.36	82	--	Haghghi <i>et al.</i> , (1995)
Reactor de lecho fluidizado	--	900	90	--	Tseng y Lin, (1994)
Biofiltro SBB anaerobio/aerobio	38.6	647	98	98	Este estudio*

\* Ciclos 197-228. días de operación 462-493

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.10. Tasas de degradación como DQO y velocidades de degradación específica en diferentes sistemas

Tipo de sistema	Tasa de degradación específica de PNF (mg/g ssv -h)	Tasa de degradación volumétrica de PNF como DQO (mg/L-h)	Tasa de degradación volumétrica de PAF como DQO (mg/L-h)	Referencia
Anaerobio	0.33	--	--	Uberoi y Bhattacharya (1997)
Anaerobio	0.016	--	--	Gorontzy (1993)
Anaerobio	--	7.11	--	Karim y Gupta (2001)
Aerobio	---	32	24	Pitter y Chudoba (1990)
Anaerobio/aerobio	1.4	35.4	61.9	Este estudio

De manera global se tuvieron 13 periodos de operación del biofiltro que se resumen en las tablas 4.11 y 4.12, donde se presentan los valores promedios por parámetro en cada condición de operación.

Tabla 4.11. Resumen de operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio (valores promedio)

Días de operación (d)	Concentración PNF (mg/L)	Remoción de PNF (%)	Formación de PAF (%)	Remoción de PAF (%)
1-75	25	96	53	100
Arranque				
76-155	55	99	84	100
156-182	Desestabilización del biofiltro			
183-245	61	93	68	70
246-295	72	98	89	99
296-332	80	99	96	99
333-357	90	98	90	100
358-461	100	100	87	98
462-493	125	99	86	99
494-503	175	100	81	84
504-509	225	98	86	4
510-519	60	100	82	100
520-526	125	100	72	100

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.12. Resumen de operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio (valores promedio)

Días de operación (d)	Ciclos	Tiempo de reacción h (an / ae)	Carga orgánica Aplicada (kgDQO/m <sup>3</sup> -d)*	qx Fase anaerobia (mg/g ssv-h)	qv Fase anaerobia (mg/L-h)	qx Fase aerobia (mg/g ssv-h)	qv Fase aerobia (mg/L-h)
1-75	1-24	Variable	0.1	1.2	1.16	3.6	1.2
Arranque	Arranque						
76-155	25-55	10/4	0.5	4.7	4.67	11.9	6.3
156-182	56-82	Desestabilización del biofiltro					
183-245	83-103	8/4	0.4	9.7	6.5	14.3	6.3
246-294	104-125	4/3.5	0.6	21.8	15.6	19.7	14.1
295-332	126-146	8/4	0.7	15.1	11.6	19.5	14.8
333-357	147-160	8/4	0.7	17.0	13.3	20.9	16.8
358-461	161-196	4/3.5	1.0	34.0	22.1	27.9	12.4
462-493	197-228	4/3.5	1.5	38.6	20.3	36.7	15.0
494-503	229-238	8/3.5	2.1	31.4	21.1	37.0	17.4
504-509	239-244	12/11.5	2.6	31.9	21.7	1.2	0.4
510-519	245-254	4/3.5	2.2	32.1	17.6	16.7	6.1
520-526	255-264	8/4	1.4	33.4	18.3	33.0	11.9

\* Co-sustrato + PNF Valores promedio

#### 4.3.10.6. Mecanismo de reacción

El mecanismo de reacción que se lleva a cabo para la mineralización del PNF es el que se muestra en la figura 4.24. El proceso global consta de una reacción de reducción y de una reacción de oxidación. El mecanismo de reducción procede vía dos electrones, requiriéndose en total de 6 electrones. El grupo nitró es reducido primero a grupos hidroxilamino mediante nitrorreductasas, los que después mediante adición de pares de electrones son convertidos en grupos amino.

En la reacción de oxidación, el grupo amino primero es hidroxilado por enzimas oxidasas, liberando el nitrógeno como nitrógeno amoniacal. Enseguida ocurre el rompimiento del anillo aromático. El nitrógeno amoniacal continúa oxidándose a  $N-NO_2^-$  y  $N-NO_3^-$ . Los compuestos derivados del rompimiento del anillo aromático se mineralizan a  $CO_2$  y  $H_2O$ .

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

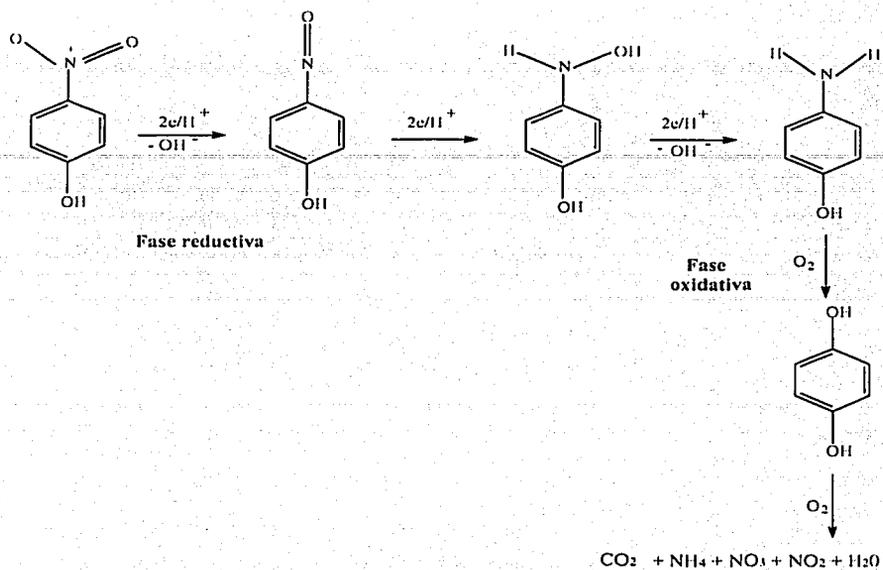


Figura 4.24. Mecanismo de reacción para la mineralización de PNF. Fase reductiva reducción a PAF; fase oxidativa mineralización del PAF a nitrógeno inorgánico,  $CO_2$  y  $H_2O$ .

TESIS CON  
FALLA DE ...EN

#### 4.3.10.7. Cinética de degradación

Se utilizaron los modelos de orden cero, de primer orden y el modelo de inhibición de Haldane para determinar el orden de reacción y la constante de la velocidad de eliminación  $q_{\max}$  del PNF. En este estudio se utilizó la siguiente nomenclatura:  $q_r$ , constante de velocidad de reducción del PNF;  $q_f$ , constante de velocidad de formación del PAF;  $q_m$ , constante de velocidad de mineralización del PAF. Los datos experimentales se obtuvieron cuando el biofiltro se estabilizó en cada fase de operación y el sistema se encontraba bien aclimatado a la degradación del PNF y del PAF por lo que no se presentó inhibición del proceso. La determinación de las constantes de velocidad se realizaron en el ciclo 102, considerado representativo del proceso, correspondiente al día de operación 240.

Para aplicar el modelo de orden cero se graficaron los datos experimentales de  $S$  vs  $t$  y para el modelo de primer orden los datos de  $\ln S$  vs  $t$ . Los resultados que se ajustaron mejor a una línea recta son los que determinaron el orden de reacción. La pendiente de cada reacción fue igual a: la velocidad de reducción del PNF ( $q_r, \text{PNF}$ ), la velocidad de formación del PAF ( $q_f, \text{PAF}$ ) y la velocidad de mineralización del PAF ( $q_m, \text{PAF}$ ). En las figuras 4.25 a la 4.28 se muestran los resultados obtenidos de los modelos aplicados para determinar el tipo de reacciones efectuadas en cada ciclo del proceso anaerobio/aerobio.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

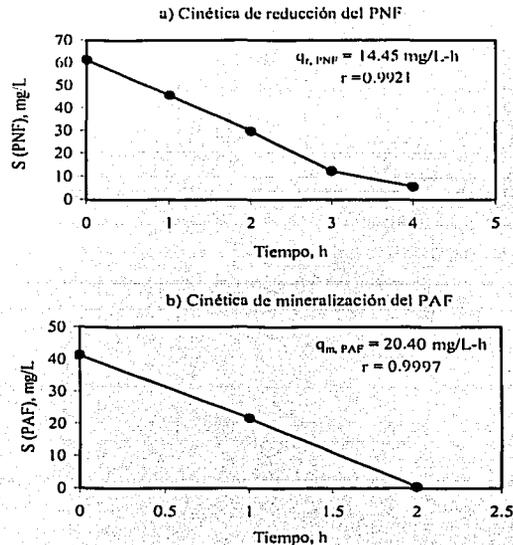


Figura 4.25. Cinéticas de reacción en el ciclo 102 (día de operación 240), utilizando el modelo de orden cero. a) Cinética de reducción del PNF; b) Cinética de mineralización del PAF

Los resultados mostraron que las cinéticas de reducción del PNF y de mineralización de PAF se ajustaron al modelo de orden cero, indicando que la velocidad de reacción fue independiente de la concentración del sustrato. Las velocidades de reducción del PNF y de mineralización del PAF fueron de 14.45 y 20.40 mg/L-h respectivamente, indicando una más rápida eliminación del PAF en la fase aerobia del proceso.

Con relación al modelo de primer orden, los datos experimentales no se ajustaron a este modelo, como se puede observar en las siguientes figuras:

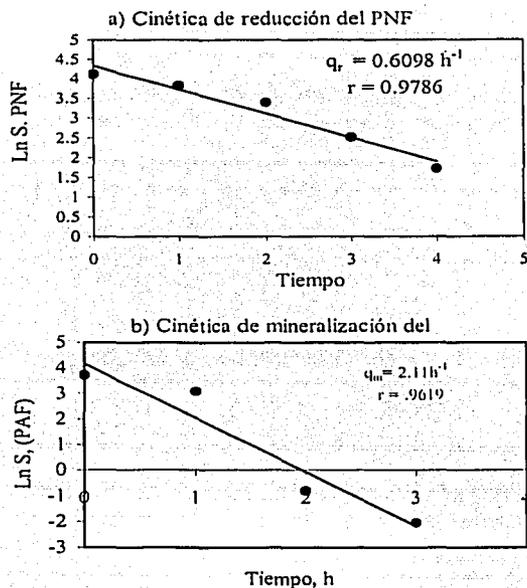


Figura 4.26. Cinéticas de reacción en el ciclo 102 (día de operación 240), utilizando el modelo de primer orden. a) Cinética de reducción del PNF; b) Cinética de mineralización del PAF

Con relación a la formación de PAF, la reacción no se ajustó a los modelos de orden cero (figura 4.27 a) y de primer orden (figura 4.27 b), por lo que los datos se ajustaron al modelo de las reacciones de saturación o modelo de Monod, que tienen una forma hiperbólica en la que la tasa de formación o de eliminación tienden a un valor de saturación y representa la transición entre una reacción de orden cero y una reacción de primer orden cuya ecuación está dada por:

$$q = q_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (4.5)$$

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

donde:

$q$  = Velocidad específica de remoción de sustrato, mg/L-h

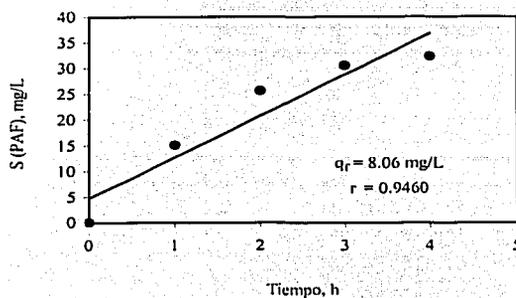
$q_{\max}$  = Velocidad específica máxima de remoción de sustrato, mg/L-h

$S$  = Concentración de sustrato, mg/L

$K_s$  = Constante de saturación, mg/L

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

a) Modelo de orden cero



b) Modelo de primer orden

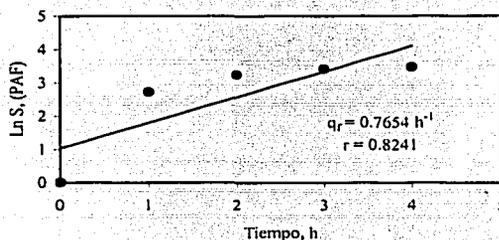


Figura 4.27. Cinéticas de la formación del PAF en el ciclo 102 (día de operación 240).  
a) Utilizando el modelo de orden cero; b) Utilizando el modelo de primer orden

La linearización de la ec. 4.5 se hizo mediante la gráfica de Lineweaver-Burk (Segel, 1975), ec. 4.6:

$$\frac{1}{q} = \frac{K_s}{q_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{q_{\max}} \quad (4.6)$$

El cálculo de  $q$  se realizó en cada tiempo de reacción, con la ecuación  $q = \frac{S - S_0}{t}$ . Los valores de  $q$  se muestran en la tabla 4.13 y la gráfica de linearización de Lineweaver-Burk se muestra en la figura 4.28.

Tabla 4.13. Valores de  $q$  para la linearización de la ec. 4.6 por el método de Lineweaver-Burk.

T	S, PAF (mg/L)	q (mg/L-h)	1/q (L-h/mg)	1/S (L/mg)
1	15.13	15.13	0.066	0.066
2	25.66	5.265	0.189	0.039
3	30.55	4.297	0.232	0.030
4	32.32	3.73	0.268	0.024

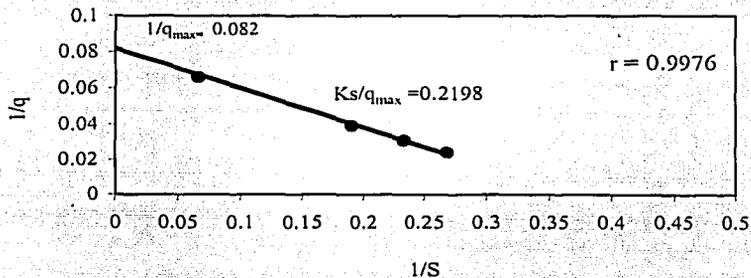


Figura 4.28. Linearización del modelo de Monod por el método gráfico de Lineweaver-Burk.

Los resultados mostraron que la  $q_{\max}$  fue de 12.19 mg/L-h y la  $K_s$  de 2.68 mg/L, indicando que el sistema presentó baja afinidad por el sustrato.

Los resultados globales indicaron que las cinéticas de reducción del PNF y de mineralización del PAF fueron de orden cero. La velocidad de formación del PAF fue una reacción de tipo Monod. El resumen de resultados se muestra en la tabla 4.14.

TESIS CON  
TALLA DE ORIGEN

Tabla 4.14 Velocidades de reacción en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Tipo de reacción	$q_{max}$ (mg/L-h)	$K_s$ (mg/L)
Reducción del PNF	14.45	NA
Formación del PAF	12.19	2.68
Mineralización de PAF	20.40	NA

NA: No aplica

Los resultados experimentales no se ajustaron al modelo de Haldane debido a que la biomasa se encontraba bien adaptada a la degradación del PNF, no presentándose inhibición en el biofiltro en las concentraciones utilizadas en el estudio de las cinéticas de reacción.

#### 4.3.10.8. Evaluación de la toxicidad en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Con el fin de evaluar la toxicidad del efluente del biofiltro SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento de PNF, se utilizó el sistema Microtox para analizar muestras del influente, final de la fase anaerobia y efluente (final de fase aerobia) y en caso de presentarse toxicidad determinar la eficacia del tratamiento para la reducción de la toxicidad en cada fase de operación. Las muestras se tomaron en los últimos días de operación del biofiltro, en el día 519.

Los resultados de la tabla 4.15 mostraron que el influente, con una concentración de 50 mg/L de PNF mostró una toxicidad de 14.30 unidades de toxicidad (UT,  $EC_{50}$ ); durante la fase anaerobia el PNF se biotransformó a 30.2 mg/L de PAF con una toxicidad de 9.91 unidades de toxicidad; en la fase aerobia el PAF se mineralizó a 100 % y la toxicidad disminuyó a niveles no detectados para la bacteria *Photobacterium phosphoreum*.

Como se observa, el tratamiento del PNF en el biofiltro tuvo una remoción del PNF de 100 % y una remoción del PAF de 100%, con una reducción de toxicidad de 14.30 UT consideradas altamente tóxicas de acuerdo a la clasificación basada en unidades de toxicidad (tabla 4.16), a niveles no detectados de toxicidad, lo que demuestra la eficiencia del biofiltro, no sólo para remover el PNF sino también para reducir y en este estudio eliminar la toxicidad del efluente. El PAF presentó un grado de toxicidad considerado como altamente tóxico de 9.91 unidades con una remoción de toxicidad de 30.7 % respecto a la toxicidad del PNF, en la fase aerobia, se alcanzó la mineralización del PAF y la eliminación de la toxicidad del efluente, con lo que se establecen condiciones ambientales favorables para la protección de la salud humana y la vida acuática del impacto causado por la liberación de contaminantes en aguas superficiales.

Tabla 4.15. Remoción de la toxicidad aguda en el biofiltro SBB anaerobio/aerobio

Muestra	Concentración efectiva, $CE_{50}$	Unidades de toxicidad, (UT)	Concentración del compuesto contaminante
Influyente	6.99	14.30	PNF, 50 mg/L
Final fase anaerobia	10.08	9.91	PAF, 30.2 mg/L
Efluente (final de fase aerobia)	No detectada	No detectada	No detectado

Tabla 4.16. Clasificación de toxicidad basada en unidades de toxicidad.  
(Fuente: Norma Oficial Mexicana NMX-AA-112-1995-SCFI.)

Toxicidad (UT)	Clasificación
>4	Altamente tóxico
2-4	Tóxico
1.33 – 1.99	Moderadamente tóxico
<1.33	Ligeramente tóxico

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.3.11. Conclusiones parciales

De acuerdo a la bibliografía consultada esta es la primera vez que se lleva a cabo la reducción de PNF a PAF seguida de la mineralización de éste en un tiempo de retención corto de 8 h en un reactor único.

Se llevó a cabo la mineralización de PNF en un biofiltro SBB anaerobio/aerobio alternando fases reductivas y oxidativas. En la fase reductiva se alcanzó la biotransformación del PNF a PAF y después en la fase aerobia se logró la mineralización del PAF a CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y nitrógeno inorgánico.

La estrategia de operación fue uno de los factores más importantes a tomar en cuenta para el arranque del biofiltro, siendo la estrategia de eficiencias fijas con tiempos de reacción variables, un buen procedimiento para la aclimatación de la biomasa a los cambios de ambientes anaerobios/aerobios.

En el biofiltro se favoreció la selección de bacterias facultativas en un 70 % y en menor proporción las bacterias anaerobias y aerobias. Las bacterias fermentativas son las que principalmente realizaron la reducción del PNF a PAF.

El biofiltro se comportó como un reactor acidogénico. En la composición del biogás solo se detectó bióxido de carbono.

La eficiencia de remoción global de PNF en promedio fue de 98 % y la eficiencia de biotransformación a PAF fue de 85 %. En la fase aerobia la eficiencia de remoción del PAF fue de 98 %.

Se lograron degradar concentraciones de hasta 225 mg PNF/L en la fase anaerobia en un tiempo de reacción de 4 h. En la fase aerobia se lograron degradar concentraciones de PAF hasta de 120 mg/L en un tiempo de reacción de 3.5 h.

La mineralización del PAF en la fase reductiva fue del 15 % ± 2 y sólo bajas concentraciones de PNF (0.8 mg/l) fueron oxidadas en la fase aerobia

El ácido propiónico fue el sustrato primario que aportó más equivalentes reductores para mejorar la velocidad de reducción y además actuó como una adecuada fuente de carbono y energía para cubrir los requerimientos de crecimiento de la biomasa. La máxima velocidad de reducción fue de 9.7 mg/L-h, disminuyendo la fase de reacción anaerobia de 8 a 5 h.

El biofiltro SBB fue eficiente para tratar cargas volumétricas de 642 mg/L-d de PNF en la fase anaerobia y de 602 mg/L-d de PAF en la fase aerobia. La concentración de 145 mg/L de PAF fue inhibitoria para el biofiltro.

La remoción de color global fue de 95 a 97 %. La remoción de nitrógeno orgánico a nitrógeno inorgánico mediante nitrificación en la fase aerobia y desnitrificación en la fase anaerobia fue de 85 %.

La remoción de carbono se llevo a cabo principalmente en la fase aerobia contribuyendo en un 82 % y la fase anaerobia sólo en un 18 %.

Las cinéticas de reacción fueron de orden cero para la reducción del PNF y para la mineralización del PAF, con una  $q_{\max}$  de 14.45 y 20.40 mg/L-h, respectivamente. Con relación a la cinética para la formación del PAF, fue una reacción de tipo Monod con una  $q_{\max}$  de 12.19 mg/L-h y  $K_s$  de 2.68 mg/L.

La distribución de la biomasa a lo largo del biofiltro fue homogénea: en la parte interna del empaque se determinaron bacterias anaerobias y en la parte externa bacterias facultativas principalmente y bacterias aerobias y anaerobias en menor proporción

En la población anaerobia el grupo trófico que predominó fue el de las bacterias fermentativas, seguidas por las hidrogenofílicas y después en igual magnitud las sulfatorreductoras y productoras obligadas de hidrógeno.

En el biofiltro se efectuó una real destoxificación del efluente con una reducción de toxicidad de 14.3 UT (unidades de toxicidad) en el influente de la fase anaerobia a 9.91 UT al final de la fase anaerobia y finalmente durante la fase aerobia no se detectó toxicidad en el efluente

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

#### 4.4. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para el tratamiento de un efluente industrial de la industria químico-farmacéutica

La industria químico-farmacéutica de síntesis orgánica es un sector industrial que presenta la problemática de generar aguas residuales de composición variable y alta carga orgánica, debido a que en general, emplea gran variedad de materias primas para la fabricación de productos que generan sustancias tóxicas presentes en las descargas de aguas residuales obtenidas de los procesos, que ocasionan que debido a la calidad que presentan, requieran cada vez de un mayor acondicionamiento para ser reutilizada. Estas aguas residuales contienen un gran número y variedad de sustancias orgánicas complejas, muchas de las cuales tienen propiedades tóxicas y pueden causar efectos adversos para el hombre y el ambiente en situaciones de exposición no controladas, por lo que son difíciles de tratar ya que contienen sustancias que no pueden ser degradadas por los microorganismos en sistemas convencionales de lodos activados (Kabdash *et al.*, 1999). Esta industria ha tenido un gran desarrollo y actualmente la mayoría de medicamentos se fabrican a partir de síntesis química utilizando como materia prima y como solventes de reacción y purificación, compuestos clasificados como prioritarios de acuerdo a la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (U.S. E.P.A.). Entre los principales compuestos tóxicos que aparecen en las descargas se encuentran los solventes que se utilizan en todos los procesos de producción, colorantes y una gran variedad de compuestos orgánicos que se usan como ingredientes activos en la fabricación de medicamentos. Los efluentes de las operaciones de síntesis orgánica son complejos para tratarse, debido a que en el proceso se efectúan varios tipos de operaciones y reacciones químicas (Gulmez *et al.*, 1998).

En este estudio se realizó la aplicación del proceso anaerobio/aerobio integrado en un biofiltro discontinuo secuencial (SBB, por sus siglas en inglés), para el tratamiento de un efluente industrial de la industria químico-farmacéutica que en su composición presentó compuestos nitroaromáticos del tipo de o-nitroanilina (ONA), compuesto que fue susceptible de ser transformado en la etapa reductiva al derivado diamino y después en condiciones oxidativas se logró la mineralización del compuesto. El control de la eficiencia del tratamiento se efectuó por medio de la DQO, y el seguimiento de la o-nitroanilina y sus productos de biotransformación fue efectuado por HPLC. También se efectuaron análisis de toxicidad para la evaluación del proceso en la reducción de toxicidad ya que el efluente industrial presentó características de ser muy tóxico.

##### 4.4.1. Agua residual industrial

El agua residual procedió de una industria farmacéutica de síntesis orgánica, cuya actividad principal es la producción de antihelmínticos. La planta industrial está ubicada en la Ciudad Industrial del Valle de Cuernavaca (CIVAC) en Jiutepec, Morelos. Se seleccionó este tipo de agua residual ya que presenta características de tener un alto contenido de materia orgánica difícil de degradar y con compuestos tóxicos, incluyendo compuestos nitroaromáticos del tipo de la o-nitroanilina, que con un proceso convencional anaerobio o aerobio difícilmente se alcanzará la degradación total de los contaminantes presentes, por lo que integrando ambos procesos en un solo biofiltro se puede llegar a una mayor destoxificación del efluente, debido al intercambio

permanente de metabolitos que da a la biomasa características especiales para la degradación de compuestos tóxicos.

En la planta industrial, las aguas residuales del proceso son controladas en 2 cisternas de neutralización con capacidad de 50 mil litros cada una, donde se reciben los efluentes generados de los diferentes productos que se elaboran en la planta. El pH de las aguas residuales se ajusta entre 6 y 10 unidades, siendo éste el único tratamiento antes de ser descargadas al colector principal de CIVAC que las conduce hasta la planta de tratamiento ECCACIV (Empresa para el control de la contaminación del agua de CIVAC), donde son tratadas las aguas residuales de la zona industrial.

#### 4.4.1.1. Caracterización del efluente industrial

La caracterización del agua residual se realizó en dos muestras simples de los muestreos realizados en abril y agosto del 2001. Los parámetros físico-químicos y de metales determinados se presentan en la tabla 4.17. La variabilidad de las aguas residuales de un muestreo a otro es muy alta, debido a los distintos procesos de fabricación y las reacciones que se efectúan en cada proceso como es característico de las aguas residuales de la industria químico-farmacéutica.

Tabla 4.17. Caracterización del agua residual industrial

Parámetro	1 <sup>er</sup> lote (abril 01) (mg/L)	2 <sup>o</sup> lote (agosto 01) (mg/L)
DQO <sub>Total</sub>	72 200	28 400
DQO <sub>soluble</sub>	43 500	22 000
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	605	280
N-orgánico	485	131
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1.8	0.6
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	20	28
Fenoles	No detectado	10.7
SSV	200	570
SST	430	650
pH	8.5	4.5
Color (Esc. Pt-Co)	1 400	940
o-nitroanilina	125	105
Pb	< 0.05	*
Cd	< 0.05	*
Ni	0.1	*
Mn	0.9	*
Fe	< 0.05	*
Cr	< 0.05	*
Cu	< 0.05	*
Zn	0.1	*
Mg	4.94	*
Ca	273.7	*
Na	133.5	*
Al	< 0.05	*
As	< 0.05	*
Se	< 0.05	*
Hg	< 0.05	*

(\*) No analizado

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

#### 4.4.2. Arranque y aclimatación del biofiltro

El arranque del biofiltro se efectuó con los parámetros de operación mostrados en la tabla 4.18. La concentración inicial en el influente ( $S_i$ ) fue de  $446 \pm 44$  mg DQO/L, considerando un volumen de intercambio de 88 %. La concentración inicial en el biofiltro ( $S_0$ ) fue de  $393 \pm 39$  mg/L DQO, utilizando agua residual en una dilución de 1:250, con el fin de ir aclimatando poco a poco a la biomasa a las características tóxicas del efluente y de esta forma evitar una elevada carga orgánica que pudiera inhibir el sistema.

Tabla 4.18. Parámetros de operación en el arranque del SBB para el tratamiento de un efluente industrial

Parámetro	Valor
Peso del empaque de tezontle	4.0 kg
Volumen total del reactor empacado	7.0 L
Volumen útil del reactor	4.9 L
Volumen de lodos activados	3.73 L
SSV de lodos activados (Cerro de la Estrella)	4 185 mg/L
DQO del co-sustrato (ác. propiónico) 0.5 mL/L	256 mg/L
Concentración de DQO <sub>total</sub> en reactor	400 mg/L
Volumen de intercambio	88 %
Velocidad de recirculación	12 L/h
Flujo de aireación	5.7 L/min
Temperatura dentro del reactor	27 – 30 °C

En la figura 4.29 se observa la evolución de las remociones de DQO<sub>i</sub> durante el periodo de aclimatación de la biomasa. Al inicio la remoción anaerobia de DQO<sub>i</sub> fue de 27 %, pero después de 20 ciclos se alcanzó una remoción de 85 %. En la fase aerobia se logró una remoción de 70 a 90 % de la concentración de DQO<sub>i</sub> residual de la fase anaerobia. Una vez que se estableció un consorcio anaerobio y facultativo, la remoción en la fase anaerobia fue de 80 % y en la fase aerobia sólo de 10 % contribuyendo esta fase como pulimento del efluente. La concentración de DQO<sub>i</sub> se aumentó al doble a 800 mg/L (dilución 1:145), manteniéndose la remoción global en un 92.7 %. Paralelamente se efectuó la determinación de la o-nitroanilina como compuesto de seguimiento y la formación de metabolitos secundarios durante la fase anaerobia y la mineralización de éstos durante la fase aerobia. El biofiltro se aclimató al agua residual después de 43 días (58 ciclos).

Con relación al pH, durante el inicio de la fase anaerobia tuvo un valor promedio de 7.28 unidades, al final de la fase anaerobia el valor promedio fue de 7.68 unidades y al final de la fase aerobia de 8.35 unidades. La alcalinidad promedio fue de 450 mg CaCO<sub>3</sub>/L y fue suficiente para amortiguar los cambios de pH debidos a la generación de ácidos grasos volátiles.

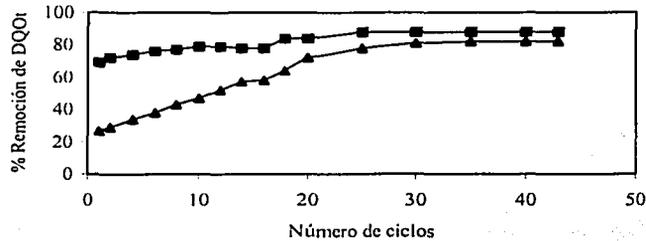
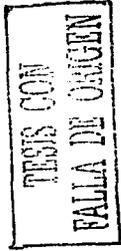


Figura 4.29. Evolución de la remoción de DQO en la aclimatación del biofiltro SBB.  
 (▲) Remoción en la fase anaerobia (■) Remoción en la fase aerobia

#### 4.4.3. Operación del SBB anaerobio/aerobio

El biofiltro operó durante 114 días (157 ciclos) después de la aclimatación. La evolución de las concentraciones de DQO<sub>t</sub> tratadas después de las fases anaerobia y aerobia se muestra en la figura 4.30.

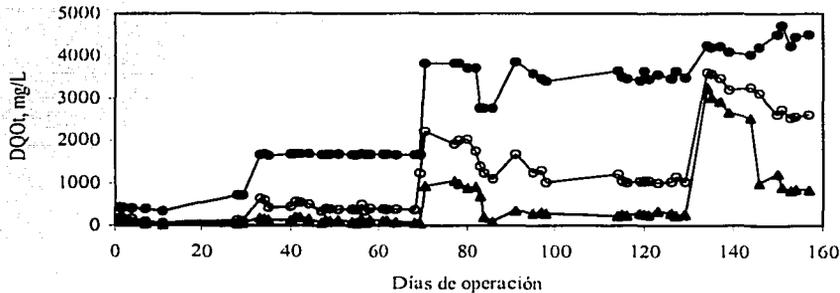


Figura 4.30. Desempeño del SBB en el tratamiento del efluente industrial.  
 (●) DQO<sub>t</sub> influente (fase anaerobia); (○) DQO<sub>t</sub> efluente al final de la fase anaerobia;  
 (▲) DQO<sub>t</sub> efluente al final de la fase aerobia.

En la tabla 4.19 se presenta un resumen de la operación del biofiltro observándose 7 periodos de operación en base a la concentración de DQO<sub>t</sub> que se trató en el biofiltro.

Tabla 4.19. Resumen de operación del SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento de un efluente industrial

Días de operación	Ciclos	Tiempo de retención (h) anaerobio/aerobio	<sup>1</sup> S <sub>i</sub>	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	Carga Orgánica, kg DQO/m <sup>3</sup> -d	<sup>3</sup> Remoción Fase anaerobia (%)	<sup>4</sup> Remoción Fase aerobia (%)	<sup>5</sup> Remoción global (%)
			DQO <sub>i</sub> (mg/L)	DQO <sub>0</sub> (mg/L)				
1 - 43	1 - 20	8/4	446	393	0.8	72	50	86
arranque	21 - 58	8/4	816	718	1.6	84	56	93
44 - 69	59 - 110	8/4	1 897	1 670	4	77	74	94
70 - 81	111 - 130	8/4	4 284	3 770	7.7	51	53	77
82- 90	131 - 137	12/4	3 139	2 763	4.5	59	73	89
91 - 133	138 - 179	18/6	3 912	3 443	5	71	71	92
134 - 149	180 -195	18/6	4 737	4 169	5	19	23	38
150 - 157	196 - 200	24/12	<sup>6</sup> 28 350	4 536	3	42	67	81

(1) S<sub>i</sub> = Concentración inicial en el influente

(2) S<sub>0</sub> = Concentración inicial en el biofiltro (considerando el volumen de intercambio)

(3) % Remoción en la etapa anaerobia = (S<sub>0</sub>-S<sub>an</sub>)/S<sub>0</sub> = Concentración de DQO después de la etapa anaerobia

(4) % Remoción en la etapa aerobia = (S<sub>an</sub>-S<sub>ae</sub>)/S<sub>an</sub> = Concentración de DQO después de la etapa aerobia

(5) % Remoción global = (S<sub>0</sub>-S<sub>ae</sub>)/S<sub>0</sub>

(6) Para este periodo el volumen de intercambio disminuyó de 88 a 16 %

El primer periodo corresponde a la aclimatación del biofiltro. De los días de operación 44-69, la concentración aumentó a 2 000 mgDQO/L con una dilución del agua residual 1:58, manteniéndose la remoción global en 94 % con una DQO<sub>i</sub> en el efluente de 60 mg/L. La carga orgánica que trató el biofiltro durante este periodo de operación fue de 4 kg DQO/m<sup>3</sup>-d.

Para el tercer periodo de operación a partir del día 70 (ciclo 111), la concentración de DQO<sub>i</sub> fue aumentada a 4 000 mg/L (dilución de 1:29), pero con este incremento el sistema no respondió con las eficiencias que estaba operando ya que disminuyó en ambas fases anaerobia y aerobia a 51 y 54 % respectivamente y la DQO<sub>i</sub> en el efluente fue de 861 ± 155 mg/L. Este comportamiento del biofiltro fue debido a que se aplicó una carga orgánica de 8 kg DQO/m<sup>3</sup>-d que resultó ser muy elevada debido a las características tóxicas del agua residual, que ejerció un efecto de inhibición por sustrato, a pesar de que la biomasa ya estaba aclimatada, esto sugirió que el incremento de concentración de 2 000 mg DQO/L fue tan elevado que hizo que la biomasa perdiera actividad. Fue necesario re-aclimatar el biofiltro aumentando el tiempo de reacción de fase anaerobia de 8 a 12 h, manteniendo la fase aerobia en 4 h y disminuyendo la carga de DQO<sub>i</sub> en 1 000 mg/L, para que la biomasa se adaptara a esta concentración. Después de 9 días, la biomasa se adaptó a la concentración de 3 000 mg/L y las remociones se incrementaron a 59 % en la fase anaerobia y 76 % en la fase aerobia y la remoción global de DQO<sub>i</sub> fue de 89 %. La concentración en el efluente fue de 180 ± 27 mg DQO<sub>i</sub>/L, por lo que se decidió aumentar la concentración del influente en 1 000 mg DQO/L.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A partir del día de operación 91 (ciclo 138), la concentración de  $DQO_i$  aumentó a 4 000 mg/L (dilución del agua residual 1:5) y el tiempo de reacción a 24 h (18 h anaerobio/6 h aerobio) con el fin de mantener las eficiencias de degradación. Las remociones mejoraron considerablemente a 71 % en ambas fases para una remoción global de 92 %, la  $DQO_i$  del efluente final fue de 66 mg/L en promedio; la carga orgánica aplicada fue de 5 kg  $DQO/m^3$ -d. En el ciclo 169 (día de operación 123) se eliminó el co-sustrato de la alimentación y la biomasa únicamente utilizó el agua residual como fuente de carbono y energía.

En el día de operación 134 (ciclo 180) se realizó un cambio en la composición del influente debido un nuevo lote de agua residual (2° lote en la tabla 4.17), lo que ocasionó una pérdida de actividad en la biomasa en ambas fases de reacción con disminución de la remoción de  $DQO_i$  a 38 %, por lo que la biomasa debió de re-aclimatarse por una semana a las características del agua residual, mientras esto sucedió hubo acumulación de metabolitos secundarios en el reactor y fue necesario bio-regenerar el biofiltro mediante alimentación de medio mineral y co-sustrato por 24 h tras las que el biofiltro recuperó la actividad, obteniéndose más de 70 % de remoción de materia orgánica.

A partir del ciclo 196 (día 151) se empezaron a manejar volúmenes de intercambio de 88 a 16 % con el fin de aplicar el agua residual sin dilución. Las concentraciones de  $DQO_i$  ( $S_i$ ) en el tanque de alimentación fueron de 28 350 mg/L y dentro del reactor ( $S_o$ ) de 4 536 mg/L. El biofiltro tuvo una muy buena respuesta a los volúmenes de intercambio, obteniéndose una remoción global de 81 %. La fase anaerobia fue la que presentó un mayor impacto, ya que las remociones fueron de 42 % en lugar de 69 % que se tenía en la condición precedente, excepto del día 134 al 149 cuando ocurrió la aclimatación. En la fase aerobia fue donde ocurrió la mayor remoción de materia orgánica, en promedio de 67 % para una remoción global de 81 %, ligeramente menor que las remociones globales en la condición precedente que fueron de 88.5 %. En la figura 4.31 se observa la evolución de las eficiencias de remoción de  $DQO_i$  durante la operación del biofiltro.

Las condiciones que prevalecieron en el biofiltro durante la fase de reducción fueron anaerobias, con potenciales redox de -250 a -396 mV, lo que indicó que en el biofiltro prevalecieron condiciones anaerobias para efectuar la reducción de los compuestos presentes en el agua residual, como la o-nitroanilina que fue el compuesto de seguimiento en el proceso anaerobio/aerobio. Al inicio de la fase anaerobia se identificó la o-nitroanilina por HPLC a una longitud de onda de 409 nm y un tiempo de retención de 5.2 minutos; al final de la fase anaerobia se identificaron varios picos desplazados a diferentes tiempos de retención lo que sugiere que la o-nitroanilina fue biotransformada a la o-fenilendiamina también llamada o-diaminobenceno.

En la fase aerobia los potenciales redox fueron +20 a +60 mV, con valores de oxígeno disuelto de 4.2 a 5.5 mg/L.

El pH del influente fue en promedio de 7.02 unidades y después de la fase anaerobia de 7.64; en el efluente después de la fase aerobia el pH fue de 8.65 unidades.

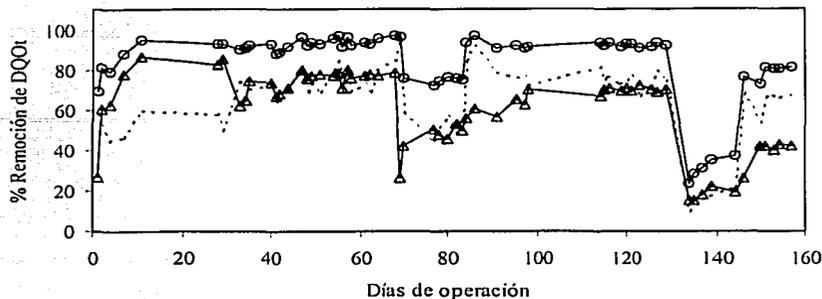


Figura 4.31. Eficiencias de remoción de  $DQO_1$  en la degradación del efluente industrial.  
 ( $\Delta$ ) Remoción fase anaerobia; (-) Remoción fase aerobia; (o) Remoción global.

Durante el tratamiento anaerobio/aerobio se observó una remoción de color de 70 % (figura 4.32). La remoción fue más importante a medida que se incrementaba la concentración, obteniéndose un máximo de 70 % cuando la concentración inicial fue en promedio de 4000 mg  $DQO_1/L$ . Bajo esta condición el agua tratada presentó  $105 \pm 16$  unidades de color en la escala Pt-Co.

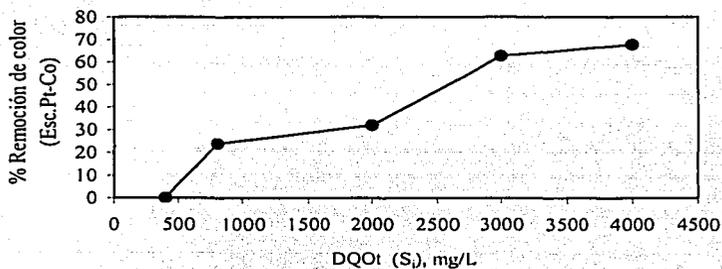


Figura 4.32. Remoción del color en el tratamiento del efluente industrial.  
 ( $\bullet$ )  $S_i$ , Concentración de  $DQO_t$  en el reactor.

En la fase aerobia se efectuó la remoción de la  $DQO_1$  residual de la fase anaerobia, así como la degradación de la diaminobenceno a nitrógeno inorgánico,  $CO_2$  y agua, lo que se comprobó por HPLC y balances de nitrógeno durante 10 ciclos completos de operación. Los picos observados por HPLC durante la fase anaerobia, fueron eliminados al final de la fase aerobia, indicando que se efectuó la remoción de los compuestos reducidos durante la fase anaerobia.

#### 4.4.4. Discusión de los resultados

##### 4.4.4.1. Evaluación del SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento del efluente industrial

El biofiltro operó durante 157 días comportándose como un reactor metanogénico en la fase anaerobia con producción de biogás formado por metano principalmente en un 70 - 80 %, generado como consecuencia de la degradación de la materia orgánica presente en el agua residual. La producción de biogás fue de 140 mL/h en promedio. No se presentó inhibición de bacterias metanogénicas. También se determinó la presencia de sulfuros en concentración de 0.17 mg/L en promedio, debido a la reducción de sulfatos por bacterias sulfato reductoras.

La alcalinidad se mantuvo entre 450 y 780 mg CaCO<sub>3</sub>/L, que fue suficiente para neutralizar la producción de ácidos grasos y amortiguar los cambios de pH que pudieran acidificar el biofiltro.

En términos generales, la degradación de la DQO<sub>t</sub> se llevó a cabo en un 70 % en la etapa anaerobia y en un 20 % en la etapa aerobia. Durante el tratamiento anaerobio/aerobio se efectuó la reducción de la o-nitroanilina a o-fenilendiamina y posteriormente la mineralización de ésta, lo que fue comprobado por cromatografía de líquidos (HPLC). En la fase aerobia el biofiltro operó de manera eficiente cuando la concentración de DQO<sub>t</sub> en el inicio de la fase aerobia fue menor de 1 200 mg/l, cuando la concentración fue arriba de este valor la población aerobia se inhibió parcialmente, siendo necesario aumentar el tiempo de reacción de 3 a 6 h y adicionar un co-sustrato fácilmente degradable como el etanol, para estimular el crecimiento de la biomasa y degradar la materia orgánica presente como DQO<sub>t</sub>.

Se realizó un balance de nitrógeno como nitrógeno orgánico, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> resultando que el 33 % de nitrógeno inicial fue removido, efectuándose la nitrificación y desnitrificación en las fases aerobia y anaerobia respectivamente.

##### 4.4.4.2. Tasas de degradación

Se realizaron las cinéticas de consumo de sustrato para determinar las tasas específicas y volumétricas de degradación en cada fase de reacción, los resultados se resumen en la tabla 4.20.

En términos generales en las concentraciones de 400 a 2 000 mg DQO<sub>t</sub>/L las tasas de degradación volumétrica y específica fueron mayores en la fase anaerobia, incrementándose a medida que aumentaba la concentración. Los valores de la tasa específica de degradación para la fase anaerobia fueron de 97.9 a 422.1 mg/g SSV-d y en la fase aerobia de 17.1 a 266.8 mg/g SSV-d, lo que muestra la buena adaptación de la biomasa a la degradación de la materia orgánica del agua residual farmacéutica en ambas fases de reacción, siendo más activa la biomasa durante la fase anaerobia, efectuándose una mayor remoción de DQO<sub>t</sub>. El TRH fue de 12 h (8 fase anaerobia/4 h fase aerobia).

En la concentración de 4 000 mg DQO<sub>i</sub>/L, las tasas volumétricas y específicas de degradación en la fase anaerobia disminuyeron de 162 a 152 mg/L-h y de 422 a 396 mg/g SSV-d respectivamente, debido a un aumento en el TRH de 8 a 18 h, ocasionado por un incremento de 2000 mg DQO<sub>i</sub>/L. En la figura 4.33 se observa la cinética de remoción de materia orgánica para esta concentración.

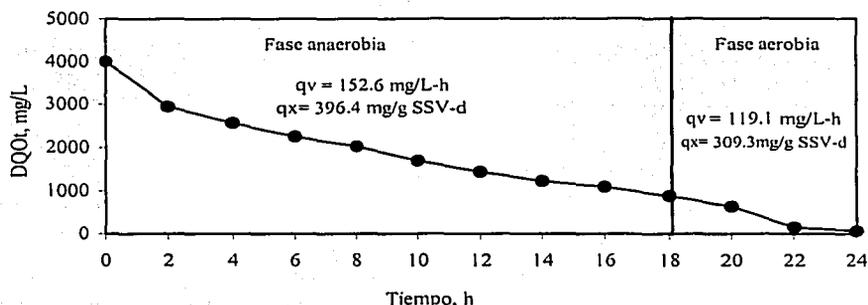


Figura 4.33. Cinética de degradación del agua residual industrial como DQO<sub>i</sub> en el ciclo 146, día de operación 85.

En la concentración de 5 000 mg DQO<sub>i</sub>/L se alcanzaron tasas de degradación específica máximas de 510.6 y 347.5 mg/g SSV-d en las fases anaerobia y aerobia respectivamente, recuperándose la actividad de la biomasa después de un incremento de 2 000 mg DQO<sub>i</sub>/L que no fue adecuado para la actividad degradativa del biofiltro, por lo que para este tipo de agua residual farmacéutica se recomiendan incrementos de 1000 mg DQO<sub>i</sub>/L. La evolución de la tasa de degradación específica se muestra en la figura 4.34.

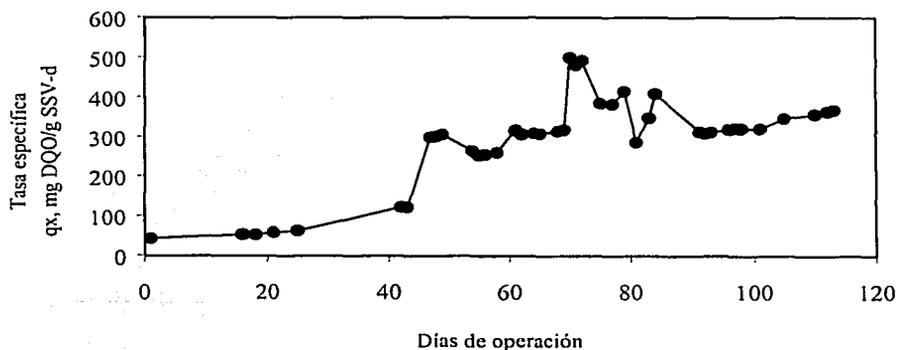


Figura 4.34. Tasa de degradación específica  $q_x$  (mg DQO/g SSV-d) en el SBB anaerobio/aerobio.

TESIS CON  
FALLA DE CARGEN

En la tabla 4.20 se muestra un resumen de las tasas de degradación obtenidas durante la operación del SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento del efluente industrial.

Tabla 4.20. Tasas de degradación en el tratamiento del efluente industrial

Concentración de DQO <sub>i</sub> (mg/l)	Tasa volumétrica de degradación, mg/L-h (Fase anaerobia)	Tasa específica de degradación, mg/g SSV-d (Fase anaerobia)	Tasa volumétrica de degradación, mg/L-h (Fase aerobia)	Tasa específica de degradación, mg/g SSV-d (Fase aerobia)	Tiempo de reacción (h anaerobio/h aerobio)
400	37.7	97.9	6.6	17.1	8/4
800	74	192.2	10.8	28.1	8/4
2 000	162.5	422.1	102.7	266.8	8/4
4 000	152.6	396.4	119.1	309.3	18/6
5 000	196.6	510.6	133.8	347.5	18/6

#### 4.4.4.3. Carga orgánica

Las cargas orgánicas aplicadas y removidas por el biofiltro se muestran en la figura 4.35 observándose que las máximas cargas removidas, asociadas a las altas remociones de DQO<sub>i</sub> de 95 a 97 %, variaron de 4.6 a 5.7 kg DQO/m<sup>3</sup>-d, indicando que para obtener resultados satisfactorios deben evitarse cargas orgánicas mayores a 6 kg DQO/m<sup>3</sup>-d ya que disminuye la remoción de materia orgánica.

Las cargas orgánicas aplicada y removidas en el SBB anaerobio/aerobio fueron muy buenas y están de acuerdo con trabajos reportados por otros autores, con relación a otros tipos de reactores que tratan aguas residuales de la industria de síntesis química. Sachs *et al.*, (1978), trabajaron con un filtro anaerobio con capacidad de 18.7 L para tratar un efluente de síntesis química con concentración de DQO de 2 000 mg/L y una carga orgánica de 0.56 kg DQO/m<sup>3</sup>-d reportando remociones de DQO de 70 - 80 %; Jennet y Dennis (1975), reportaron que un biofiltro anaerobio tratando agua residual de la industria farmacéutica trató una carga de 0.2 a 3.5 kg DQO/m<sup>3</sup>-d, con eficiencias de remoción de DQO de 94 - 98 %; Hamdy *et al.*, (1992), estudiaron un filtro anaerobio de volumen de 10 L para tratar agua residual de la industria farmacéutica con carga orgánica de 0.53 a 1.49 de kg DQO/m<sup>3</sup>-d alcanzando remoción de DQO de 82 - 88 %.

En trabajos realizados con este tipo de agua residual industrial, Díaz-Valdez (1996), utilizó un reactor biológico rotatorio reportando una baja remoción de DQO del 10 al 20 % y un alto grado de inhibición del sistema causado por el alto porcentaje de materia orgánica no biodegradable (35 %) que contiene el agua residual. La máxima carga orgánica que soportó el biodisco fue de 0.19 kg DQO/d-m<sup>2</sup>. También esta agua residual industrial fue estudiada por Cruz-Adame (1998) en un sistema de lodos activados alcanzando eficiencias de remoción de DQO de 82 % con TRH de

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

un día para una concentración inicial máxima de 1 220 mg DQO/L y una carga orgánica de 1.2 kg DQO/m<sup>3</sup>-d.

En esta investigación el biofiltro trató cargas orgánicas de 0.66 – 7.7 kg DQO/m<sup>3</sup>-d con eficiencias de remoción de DQO de 86 al 97 %, con la ventaja de tratar cargas orgánicas más elevadas y de integrar en un solo tanque un tratamiento aerobio como pulimento del efluente anaerobio que en la mayoría de los casos no elimina los compuestos presentes, sino que sólo los transforma en metabolitos aun más tóxicos que los iniciales, por lo que el proceso anaerobio/aerobio es una alternativa para disminuir la toxicidad de los efluentes industriales.

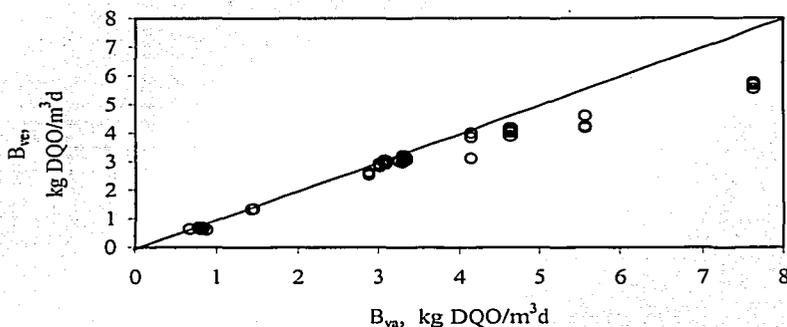


Figura 4.35. Carga orgánica aplicada y eliminada en el SBB anaerobio/aerobio.

#### 4.4.5. Reducción y oxidación de la o-nitroanilina

Con relación a la degradación de la o-nitroanilina, las reacciones que se llevaron a cabo en cada fase del proceso se muestran en la figura 4.36. En la fase reductiva se realizó la reducción del grupo nitro. En la fase oxidativa se llevó a cabo la oxidación del compuesto biotransformado, la o-fenilendiamina, liberando nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y mediante la acción de las enzimas oxidazas se efectuó la apertura del anillo aromático con oxidación de la materia carbonácea hasta CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O.

Se trató de identificar la ONA mediante análisis UV-VIS en el influente del SBB pero debido a la complejidad del agua residual industrial no fue posible, ya que no se pudieron separar los picos que presentaban absorción en la región de compuestos aromáticos, por lo que posteriormente se identificó este compuesto en las muestras del influente del agua residual industrial por HPLC, a un tiempo de retención de 5.2 minutos a una longitud de onda de 409 nm. Fue importante demostrar que los metabolitos de la fase de reducción, incluyendo la o-nitroanilina, fueron degradados en la fase aerobia, sin embargo esta detección y más aún la cuantificación de metabolitos fue muy compleja, por lo que se usó un método basado en HPLC complementado con las mediciones de nitrógeno orgánico total propuesto por O'Neill *et al.*, (2000 a) para

demostrar la formación de compuestos reducidos y su degradación en la fase aerobia del proceso.

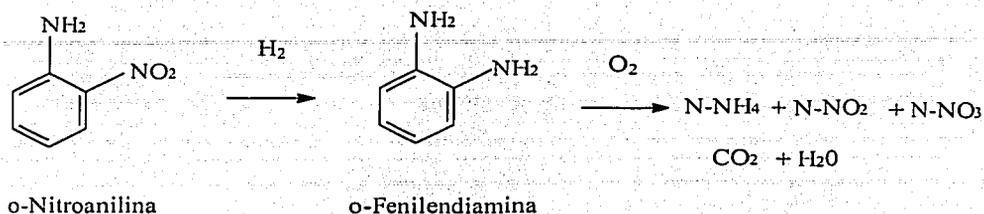


Figura 4.36. Reacciones de reducción y oxidación de la o-nitroanilina en el SBB

Debido a la complejidad del agua residual industrial tratada, los análisis por HPLC se enfocaron hacia la identificación de o-nitroanilina en el efluente industrial, determinando primero la longitud de onda a la que absorbía la ONA a partir de un estándar grado HPLC, cuyo espectro se muestra en la figura 4.37. La longitud de onda determinada fue de 409 nm.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

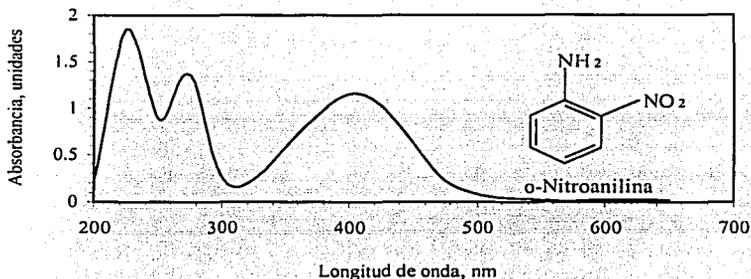


Figura 4.37. Espectro UV-VIS de la o-nitroanilina, grado HPLC en solución acuosa a pH 7.

Los cromatogramas HPLC-UV se muestran en las figuras 4.38 (a, b, c). En la figura (a) el influente del SBB presenta compuestos que absorben entre 2 y 5.5 minutos. El único compuesto identificado fue el correspondiente a la o-nitroanilina con concentración de 6.08 mg/L a un tiempo de 5.2 minutos. En la figura (b) se muestra que la o-nitroanilina se transformó a otro metabolito formado en la fase anaerobia ya que el área de los compuestos entre 3 y 3.5 minutos aumentó, confirmando la formación de metabolitos aromáticos adicionales y además se desplazó a menores tiempos de retención, lo que significó que los metabolitos formados durante la fase anaerobia fueron más polares que los compuestos iniciales. El producto de biotransformación de la o-nitroanilina fue la o-fenilendiamina. En la figura (c) se muestra que los

metabolitos de biotransformación fueron degradados aeróbicamente a compuestos menos aromáticos pero más polares por que el área disminuyó y fue desviada hacia tiempos de retención menores. Debido a que el agua residual industrial estuvo formada por varios compuestos además de la ONA, la degradación aerobia pudo originar la formación de compuestos oxidados más polares del tipo de aldehídos, ácidos carboxílicos y cetonas de cadena abierta por lo que disminuyó la aromaticidad de los compuestos mostrados en el cromatograma (c), lo que se confirmó por la disminución de la DQO del efluente desde 4 000 mg/L al inicio del tratamiento, 1305 mg/L después de la fase anaerobia y 343 mg/L después de la fase aerobia.

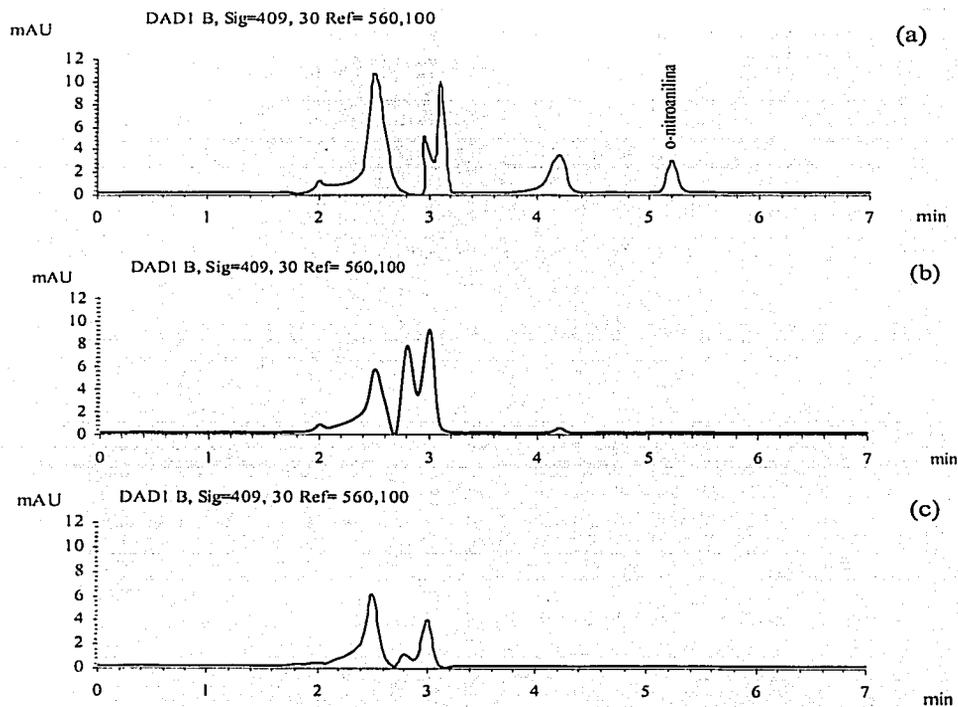


Figura 4.38. Cromatogramas HPLC- UV-VIS del ciclo de operación 158 del SBB anaerobio/aerobio, (a) Influyente al SBB; (b) Efluente de la fase anaerobia; (c) Efluente fase aerobia.

TESIS  
FALLA DE CALIDAD

La degradación de compuestos que contenían nitrógeno orgánico fue confirmada por disminución de nitrógeno orgánico y la disminución de  $DQO_t$ , lo que indicó que también se efectuó disminución de materia carbonácea al final de la fase aerobia. El balance de nitrógeno se muestra en la tabla 4.21 donde se observa la eliminación de nitrógeno total en un 33 %. La diferencia entre el nitrógeno total del influente y efluente es atribuida al consumo de la biomasa facultativa aerobia principalmente para sus requerimientos de crecimiento. Es importante señalar que durante la fase anaerobia se efectuó un proceso de desnitrificación originando un aumento de  $N-NH_4^+$  y aumento del pH en el efluente y en la fase aerobia sucedió un proceso de nitrificación del efluente.

Tabla 4.21. Balance de nitrógeno durante el ciclo 80 en la operación del SBB anaerobio/aerobio (Resultados promedio de 10 mediciones)

Tipo de nitrógeno	Inicio (mg/L)	Fin de fase anaerobia (mg/L)	Fin de fase aerobia (mg/L)
N-orgánico	32.2	18.1	8.6
N- $NH_4^+$	16.2	24.7	17.2
N- $NO_2^-$	0.009	0.005	0.005
N- $NO_3^-$	8.2	9.2	12.3
N-total	56.609	52.105	38.005

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

#### 4.4.6. Evaluación de la toxicidad del efluente industrial

La evaluación de la toxicidad es un parámetro importante en el monitoreo de la calidad del agua, ya que provee una respuesta completa de los organismos de prueba a los compuestos presentes en el agua residual, a través de pruebas de toxicidad aguda y crónica para la protección de los organismos acuáticos.

En la Legislación Ambiental Mexicana vigente para las descargas de aguas residuales de acuerdo a las Normas Oficiales Mexicanas NOM-001 ECOL-1996 y NOM-002 ECOL-1997, hasta el momento la prueba de toxicidad aguda no es parte de los parámetros de monitoreo.

Las pruebas realizadas fueron de toxicidad aguda con la bacteria luminiscente *Photobacterium phosphoreum*, a través del sistema Microtox con el fin de evaluar la toxicidad del efluente del SBB anaerobio/aerobio. Las muestras se tomaron en los últimos días de operación del biofiltro, en el ciclo 200; los resultados mostrados en la tabla 4.22 indicaron que el influente con una concentración de 2 200 mg/L de  $DQO_t$  mostró una toxicidad de 12.13 unidades de toxicidad (UT,  $EC_{50}$ ), durante la fase anaerobia la  $DQO_t$  disminuyó a 800 mg/L, pero la toxicidad del agua residual aumentó a 46.08 UT debido a los productos de biotransformación de los compuestos presentes en el agua residual. En la fase aerobia los compuestos biotransformados fueron mineralizados y hubo una disminución de  $DQO_t$  hasta 210 mg/L y una disminución de toxicidad

a 8.39 UT, lo que demuestra la eficiencia del biofiltro no sólo para remover la DQO<sub>t</sub> sino también para reducir la toxicidad del efluente en un 81.8 %. A pesar de la considerable reducción de toxicidad, el efluente aun mostró características de toxicidad no adecuadas para la vida acuática, sin embargo es importante señalar lo difícil que resulta disminuir en un orden de magnitud los niveles de toxicidad de los efluentes industriales, ya que contienen compuestos sumamente tóxicos, como se reportó en un estudio de toxicidad de efluentes mediante la determinación de la toxicidad aguda realizado en el Río Paraíba Do Sul, Brasil (CEPIS, 1988); los efluentes que presentaron una toxicidad más elevada fueron los de las industrias químicas Resende, Dupont y Químisa con valores de 312.5, 357 y 909 unidades de toxicidad EC<sub>50</sub> respectivamente. Estas industrias a pesar de tener tratamientos químicos secundarios instalados presentaron una muy pobre reducción de la toxicidad de sus efluentes, lo que demuestra lo difícil que resulta disminuir la toxicidad de un efluente industrial con tratamientos químicos. En esta investigación se muestra la ventaja de tratar efluentes industriales mediante tratamientos biológicos combinados ofreciendo la ventaja de no sólo degradar la materia orgánica, sino también de reducir la toxicidad de los efluentes industriales ya que es deseable que el tratamiento de aguas residuales deba incluir la remoción de compuestos orgánicos tóxicos de los efluentes residuales, sobre todo de los industriales y evitar la propagación de la contaminación al ambiente o el transporte costoso de estas sustancias a los rellenos sanitarios o a los confinamientos.

Tabla 4.22. Remoción de la toxicidad aguda en el SBB anaerobio/aerobio

Muestra	Concentración efectiva CE <sub>50</sub>	Unidades de toxicidad, (UT)	Concentración DQO <sub>t</sub> (mg/L)
Influyente	8.24	12.13	2 202
Final fase anaerobia	2.17	46.08	800
Efluente (final de fase aerobia)	11.92	8.39	210

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.4.7. Conclusiones parciales

En el biofiltro SBB combinando ambientes anaerobios y aerobios se removió materia orgánica y toxicidad de un agua residual farmacéutica conteniendo compuestos nitroaromáticos.

Las eficiencias de remoción global de  $DQO_t$  fueron de 92 - 97 % para valores de  $DQO_t$  de 4 000 mg/L, en un tiempo de retención de 24 h (18 h de fase anaerobia y 6 h de fase aerobia).

En promedio en la fase anaerobia se removió 78.5 % de la materia orgánica y en la fase aerobia el 20.3 %.

Se logró tratar eficientemente el agua residual farmacéutica altamente concentrada (28 350 mg  $DQO_t/L$ ) sin dilución.

El biofiltro requirió de co-sustrato hasta la concentración de 1 300 mg/L, hasta el día de operación 122, después fue capaz de operar sin co-sustrato utilizando la materia orgánica del agua residual como fuente de carbono y energía. Las diluciones del agua residual al inicio fueron de 1:250 y al final del periodo de operación el agua residual fue utilizada directamente sin dilución, lo sugiere la buena aclimatación de la biomasa al agua residual.

La fase anaerobia llegó hasta la fase de metanogénesis en la degradación de materia orgánica fácilmente biodegradable (65 %).

La o-nitroanilina presente en el agua residual fue removida en la fase anaerobia.

Las máximas cargas removidas, asociadas a altas eficiencias de remoción fueron de 4 a 6 kg  $DQO/m^3-d$ . La carga óptima a la que trabajó el biofiltro fue de 4.5 kg  $DQO/m^3-d$  con un TRH de 24 h con eficiencias de remoción global de  $DQO_t$  de 97 %.

Los incrementos de concentración de agua residual preferentemente deben ser de 1 000 mg  $DQO_t/L$  para evitar sobrecargas de sustrato que puedan causar inhibición de la biomasa.

La remoción de color y nitrógeno fueron del 80 y 33 % respectivamente.

La toxicidad del efluente se incrementó después de la fase anaerobia de 12 a 46 unidades de toxicidad indicando que los metabolitos de biotransformación fueron más tóxicos que los compuestos de origen, pero después de la fase aerobia se alcanzó una significativa reducción de toxicidad de 82 %, esto es de 46 a 8 unidades de toxicidad. La fase aerobia contribuyó a la principal destoxificación del agua residual.

El tratamiento del efluente industrial por el proceso anaerobio/aerobio en un biofiltro ofrece una real destoxificación del agua residual ya que la fase aerobia funciona como un tratamiento de pulimento del efluente de la fase anaerobia.

#### 4.5. Degradación del colorante azul disperso 79 en un reactor SBR en ambientes anaerobios/aerobios

En la primera fase del estudio se realizaron pruebas de biodegradabilidad del AD79 con biomasa fija para la selección del co-sustrato que aportara más protones para la reducción del colorante, los resultados se encuentran en el anexo 3. El compuesto que se seleccionó para ser usado como co-sustrato para el arranque del biofiltro fue el ácido propiónico, ya que presentó características de ser una adecuada fuente de protones y de carbono para alcanzar una reducción del colorante de 80 % aunado a una buena recuperación de aminas aromáticas de 80 % durante la fase de reacción anaerobia. Sin embargo, debido a que se presentaron dificultades para controlar la sorción del AD79 en el empaque, se procedió a utilizar un sistema con biomasa suspendida logrando controlar la sorción del colorante en la biomasa.

##### 4.5.1. Arranque y aclimatación del reactor

El arranque del reactor se realizó con los parámetros operacionales mostrados en la tabla 4.23, bajo la estrategia de eficiencias fijas. La aclimatación del reactor se inició con ciclos de reacción largos, permitiendo que la biomasa se adaptará a la reducción del colorante AD79 durante la fase de reacción anaerobia, teniendo cuidado especial en las mediciones de potencial redox para asegurar que en el reactor prevalecieran condiciones anaerobias para efectuar la reducción del AD79, originando la formación de metabolitos secundarios que indicaron que la biotransformación a aminas aromáticas se había efectuado.

Tabla 4.23. Parámetros operacionales del reactor SBR anaerobio/aerobio

Parámetro	Valor
Volumen total del reactor	9.0 L
Volumen útil	7.0 L
Volumen de lodos de la planta	2.5 L
Cerro de la Estrella (SSV = 3 100 mg/L)	
Volumen de medio mineral	2.5 L
Volumen de intercambio	75 %
Concentración de ácido propiónico	0.14 mg/L
Concentración de colorante en reactor	25 mg/L
Concentración de biomasa en reactor	1 100 mg/L
Flujo de aireación	18.9 L/min
Velocidad de agitación	180 r.p.m.
Temperatura	25-28 °C

Cuando el colorante se decoloró mínimo en un 60 %, se inició la fase aerobia para efectuar la oxidación de las aminas aromáticas formadas y alcanzar una remoción arriba de 80 % y también lograr la mayor remoción global del colorante, ya que en la fase aerobia continuó la reducción del colorante residual de la fase anaerobia.

Los primeros 7 ciclos de operación fueron de 11 a 4 días, con fases de reacción anaerobia de 9 a 3 días y fases de reacción aerobia de 48 a 20 h. La alimentación de AD79 dentro del reactor se controló a  $40 \pm 5$  mg/L hidrolizando el colorante, ya que en los primeros 6 ciclos la concentración de AD79 fue variable de 25 a 57 mg/L debido a que se sedimentaba en el tanque de alimentación. La aclimatación del reactor se alcanzó en el ciclo 10 después de 45 días de operación, cuando la remoción global de AD79 se estabilizó en un 72 %. La biomasa en el reactor fue de 1 400 mg/L en promedio. La solubilidad del colorante y su acumulación en el tanque de alimentación se controlaron satisfactoriamente.

Durante la fase anaerobia no se detectó metano en el biogás, sólo presencia de  $\text{CO}_2$ . La biotransformación del colorante a aminas aromáticas en la fase reductiva fue de 60 % en promedio, pero la recuperación de aminas fue del orden de 25 %. Durante la fase aerobia la mineralización de aminas fue de 90 %. Con relación al potencial redox, en la fase anaerobia el valor fue  $-321$  mV y en la fase aerobia de  $+23.3$  mV.

#### 4.5.2. Análisis espectral

Se realizaron análisis espectrales UV-VIS del colorante azo AD79 y de la amina BDNA (2-bromo-4,6-dinitroanilina), esta última a partir de un estándar grado HPLC y se compararon con los espectros UV-VIS del influente y efluente del reactor para verificar que se llevó a cabo la biotransformación del AD79 a las aminas aromáticas BDNA (2-bromo-4,6-dinitroanilina) y NNDB (1,4 diaminobenceno NN-disustituido). En la figura 4.39 se muestran los espectros de los compuestos observándose bandas características a 600 nm y a 344 nm que corresponden al AD79 y a la BDNA respectivamente.

En la figura 4.40 se presenta el espectro de absorción del colorante AD79 en fase orgánica durante la operación del reactor en el ciclo 13, donde se aprecian las máximas longitudes de onda de los compuestos presentes en el influente y efluente así como los productos de biotransformación, que corresponden a los compuestos originales que se mostraron en la figura 4.39.

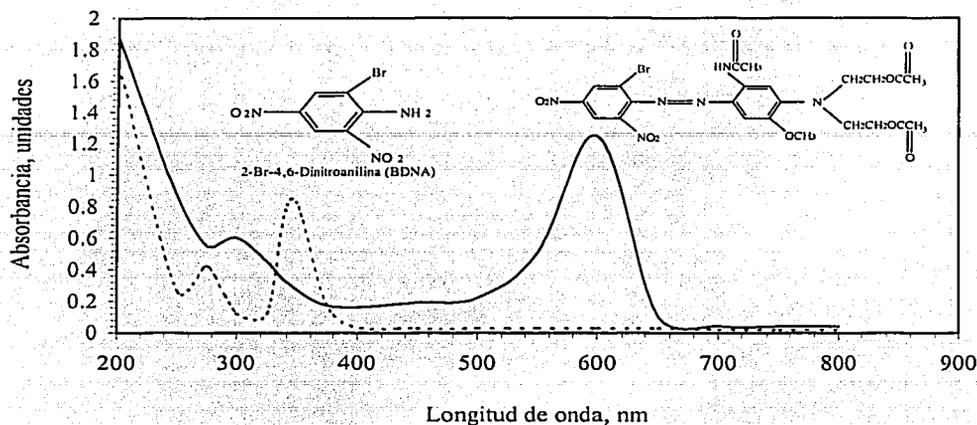


Figura 4.39. Espectros UV-VIS de los estándares de la 2-br-4,6-dinitro anilina (BDNA) y el colorante mono azo azul disperso 79 (AD79).

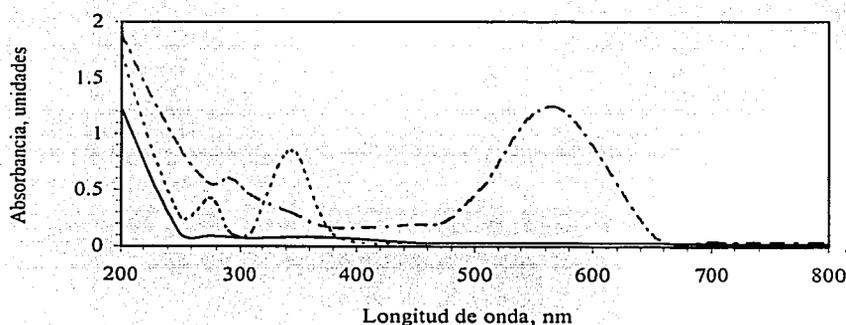


Figura 4.40. Espectro UV-VIS del influente y efluente del reactor SBR anaerobio/aerobio durante el ciclo 13. (.-.) Influyente; (-) Efluente; (---) Productos de biotransformación

Con relación a la amina NNDB, en los cromatogramas HPLC-UV se determinó a una longitud de onda de 285 nm a tiempo de retención de 2.1 minutos, un pico cuya identidad se determinó en base a análisis I.R. que indicaron la presencia de los grupos funcionales éster, amino aromático, metoxi aromático y amido característicos de la amina NNDB. En esta misma longitud de onda se determinaron la amina BDNA a un tiempo de retención de 3.2 minutos y finalmente el colorante se determinó a 5.1 minutos. Es importante señalar la desaparición de los picos de estos compuestos al final de la fase aerobia, confirmando la mineralización del colorante AD79. Los cromatogramas se muestran en la figura 4.41.

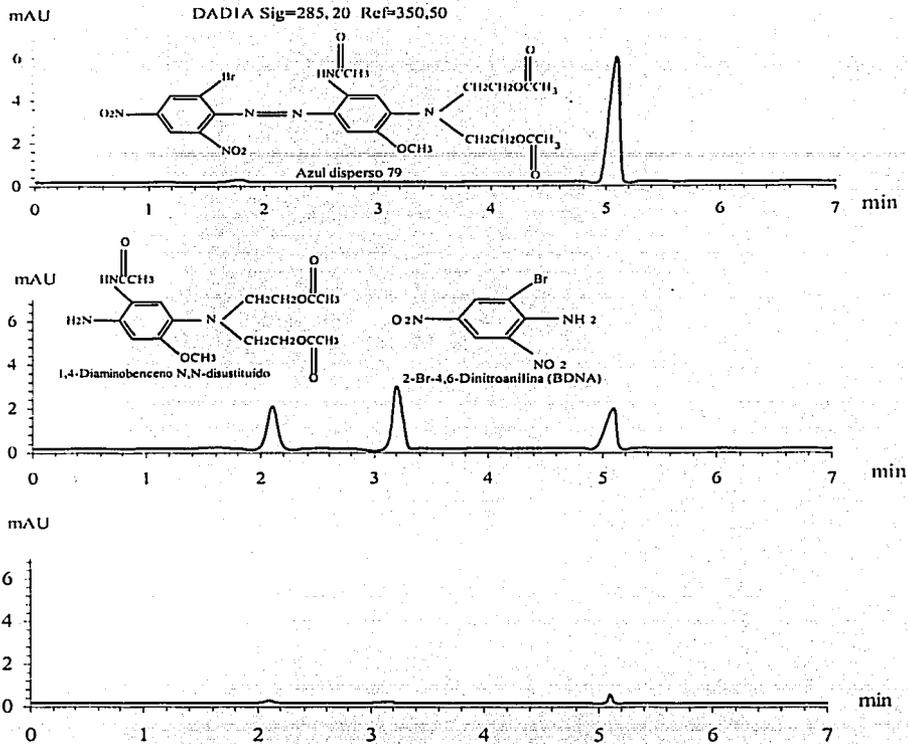


Figura 4.41. Cromatogramas HPLC-UV del influente y efluente de la fase anaerobia y aerobia del proceso en el ciclo 13

#### 4.5.3. Operación del reactor SBR anaerobio/aerobio

El reactor SBR anaerobio/aerobio operó durante 65 días (21 ciclos), después de la aclimatación. En la figura 4.42 se muestra la evolución de la biomasa en el reactor, que se mantuvo entre 1 180 y 3 300 mg SSV/L. Después de 65 días de operación (ciclo 20), la biomasa facultativa aerobia presentó pérdida de actividad hacia la degradación debido a inhibición por acumulación de colorante residual y de metabolitos de biotransformación de la fase anaerobia. El reactor se alimentó con agua corriente, nutrientes y etanol como co-sustrato con el fin de aportar una fuente de carbono fácilmente degradable que permitiera el crecimiento de la biomasa y de esta forma efectuar la degradación de los compuestos acumulados en el reactor.

Cuando la biomasa alcanzó el valor de 3 300 mg/L de SSV se fijó un tiempo de retención celular (TRC) de 30 días y la biomasa se mantuvo a 3 000 mg/L de SSV. Este valor del tiempo de retención celular está de acuerdo con los trabajos realizados por Lourenço *et al.*, (2000), quienes estudiaron la decoloración del colorante azo reactivo remazol violeta brillante 5 en un reactor SBR con fases anaerobias/aerobias secuenciadas y determinaron que el TRC fue un parámetro operacional muy importante para la decoloración del colorante, sugiriendo que el TRC no debe ser menor de 10 días.

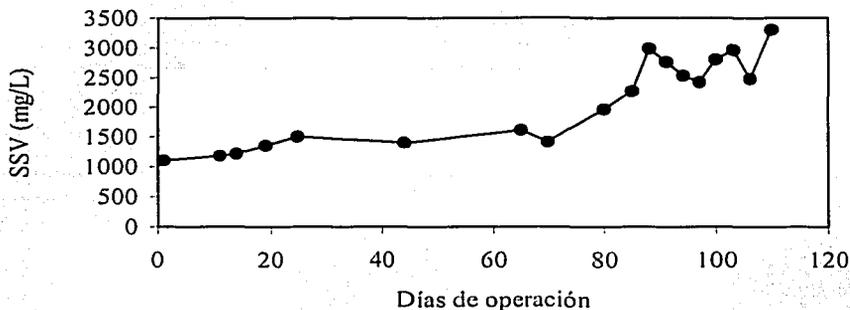


Figura 4.42. Evolución de la biomasa en el reactor SBR anaerobio/acrobio

En la figura 4.43 se observa la evolución de las concentraciones del colorante AD79 en el influente del reactor, al inicio de la fase anaerobia y en el efluente al final de la fase aerobia. La operación del reactor fue en dos etapas: en la primera de los días 44 al 70 (ciclos 10-19), se utilizó como co-sustrato ácido propiónico y en la segunda de los días 73 al 110 (ciclos 20-32) el co-sustrato fue el etanol.

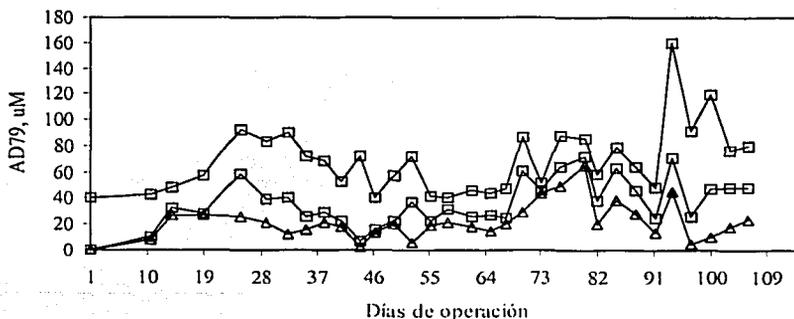


Figura 4.43. Evolución de las concentraciones de AD79 en el reactor SBR anaerobio/acrobio. (□) Inicio de ciclo; (○) Final de fase anaerobia; (Δ) Fin de ciclo

En la primera etapa las concentraciones fueron de 25 a 50 mg AD79/L con eficiencias de remoción global de 72 a 86 % (figura 4.44), con una tasa máxima de remoción de colorante de 8.83 mg AD79/g SSV-d. La biotransformación del colorante a aminas aromáticas fue de 61 % y la mineralización de aminas totales promedio fue de 96 % con una tasa máxima de remoción de 2.13 mg aminas/g SSV-h. El TRH de los ciclos fue de 72 h, 48 h de fase anaerobia y 24 h de fase aerobia.

En la segunda etapa de operación se utilizó como co-sustrato etanol (16.33 mg/L) y las concentraciones tratadas de colorante fueron de 30 a 100 mg/L. La biotransformación del colorante en la fase reductiva fue en promedio de 60 % con un valor máximo de 95 % y con una tasa de degradación de 9.5 mg AD79/g SSV-d. La mineralización de aminas fue de 95 %, con una tasa máxima de 0.22 mg aminas totales/L-h. La remoción global del colorante fue de 72 a 95 %. El TRH fue como en la primera etapa de operación.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

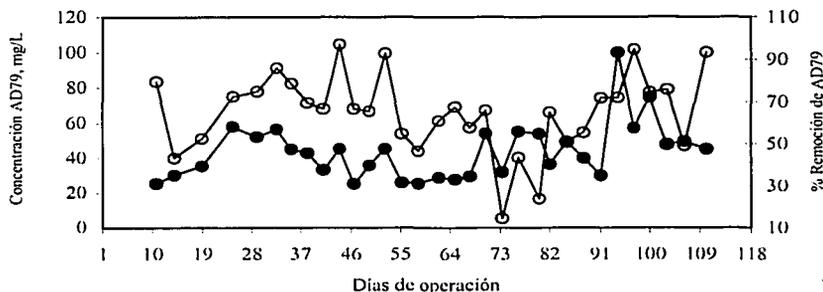


Figura 4.44. Remoción del AD79 con relación a su concentración inicial en el reactor SBR anaerobio/aerobio. (o) % de remoción de AD79; (●) Concentración de AD79

El pH del reactor durante las 2 etapas de operación se mantuvo entre 6.0 y 7.4 unidades en la fase anaerobia y entre 8 y 9 unidades en la fase aerobia. Los valores de alcalinidad total estuvieron entre 200 y 500 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$  siendo suficiente para amortiguar los cambios de pH durante la producción de ácidos grasos en la etapa de acidogénesis del reactor para la biotransformación del colorante.

Los valores promedio del potencial de oxidación-reducción fueron de +77 y -350 mV al inicio y al final de la fase anaerobia, indicando que en el reactor prevalecieron condiciones anaerobias para efectuar la biotransformación del colorante a aminas aromáticas mediante reacciones de reducción. Cuando el reactor se empezó a airear los valores de potencial redox cambiaron rápidamente desde -350 a +30 mV al final de la fase aerobia, indicando que en esta fase de operación prevalecieron condiciones oxidativas. En la fase aerobia el valor promedio del oxígeno disuelto fue de 4.8 a 5.6 mg/L.

#### 4.5.4. Discusión de los resultados

##### 4.5.4.1. Evaluación del reactor SBR anaerobio/aerobio en la degradación del AD79

El reactor SBR operó satisfactoriamente para la mineralización del colorante AD79. En la fase anaerobia los valores del potencial de oxido-reducción estuvieron entre -350 y -405 mV, que de acuerdo a trabajos realizados por Krull *et al.*, (1998), los valores de O.R.P. de -350 mV y más bajos son una condición óptima para la biodecoloración de colorantes azo, por lo que en el reactor SBR se establecieron condiciones anaerobias adecuadas para efectuar la reducción del AD79 y por consiguiente su decoloración. Sin embargo se observó una escasa producción de biogás cuyo componente principal fue CO<sub>2</sub> y no se detectó la presencia de metano, indicando que sólo se llevó a cabo la biotransformación reductiva del colorante. El rompimiento del enlace azo se realizó mediante cometabolismo, donde las bacterias utilizaron el co-sustrato, ácido propiónico o etanol, como fuente de carbono y energía. El reactor se comportó como un reactor acidogénico, efectuándose reacciones de hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis. Estos resultados están de acuerdo con los trabajos realizados por Cruz y Buitrón (2000), quienes estudiaron la degradación anaerobia del AD79 en un biofiltro operado en SBR utilizando glucosa o acetato de sodio como co-sustrato, observando sólo la biotransformación del colorante a las aminas aromáticas BDNA, la cual fue identificada y la NNDB de la que sólo identificaron los grupos funcionales de la estructura mediante análisis de I.R.

La recuperación de las aminas aromáticas formadas como metabolitos del rompimiento del enlace azo no fue estequiométrica. Los metabolitos producidos de la reducción del AD79 son las aminas BDNA y la NNDB. Se recuperó un 22 % de la amina BDNA determinada por HPLC; ésta amina es el producto de biotransformación de más preocupación debido a sus características tóxicas y no fue posible cuantificar la amina NNDB, únicamente se identificaron los grupos funcionales de la estructura por análisis IR como fue descrito en el numeral 4.5.2.

Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Weber y Adams (1995), en trabajos realizados sobre la reducción química y anóxica del AD79 en sedimentos, reportando que en sedimentos no se efectuó la reducción sin fuentes de carbono adicionales y que en los experimentos donde detectaron BDNA, la recuperación fue muy baja del orden de 7 % y debido a la rápida reducción del AD79 fue muy difícil detectar los otros metabolitos de biotransformación originados por la reducción de la BDNA: 1,2-diaminobenceno, triaminobenceno y el bencimidazol, producto de la reacción de ciclización de la NNDB.

Por otra parte, durante la fase aerobia no se presentaron problemas para la mineralización de las aminas formadas lo que sugiere que en el reactor había una población de bacterias facultativas aerobias capaces de mineralizar las aminas aromáticas como se puede observar en la figura 4.41 presentada previamente, donde se muestran los cromatogramas del ciclo de operación 13 y se observa al final del ciclo la desaparición de las aminas.

Es interesante señalar que en la fase aerobia continuó la decoloración del colorante, a pesar de que se ha considerado que la remoción de colorantes por vía aerobia no es factible (Shaul *et al.*, 1991; Haug *et al.*, 1991), pero debido a las características del proceso anaerobio/aerobio que induce la formación de bacterias facultativas, en la parte interna de los flóculos se formaron micronichos anaerobios que continuaban realizando la reducción del colorante en la fase

aerobia, mientras fueron protegidos por bacterias facultativas localizadas en la periferia del floculo, que consumieron el oxígeno del medio, obteniéndose de esta forma una mayor remoción global del colorante. La remoción global del AD79 fue de 92 % y la eficiencia de biotransformación en fase anaerobia fue de 65 %. La recuperación de aminas como BDNA fue de 22 %.

#### 4.5.4.2. Tasas de degradación y carga orgánica

En la figura 4.45 se observa la tasa de degradación específica del AD79 en función de la concentración inicial, a medida que la concentración de colorante fue incrementándose, también lo hizo la tasa de degradación. A partir de la concentración de 45 mg/L de AD79, la tasa de degradación específica fue constante con un valor de 11.5 mg AD79/g SSV-d, indicando que en este intervalo de concentración no se presentó inhibición. La máxima tasa de degradación específica que presentó el reactor fue de 15 mg AD79/g SSV-d.

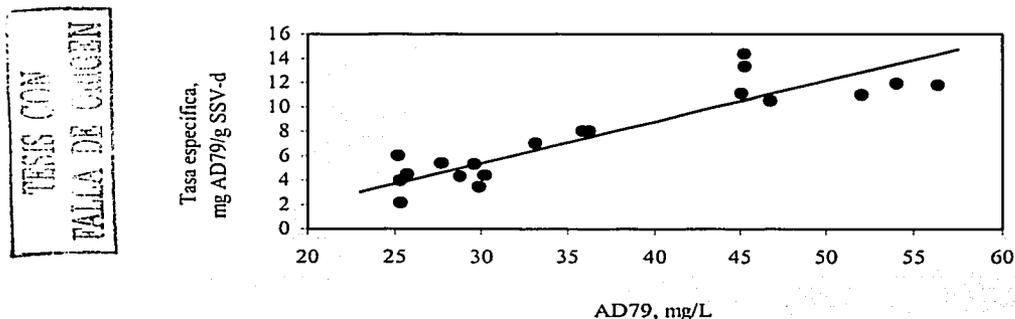


Figura 4.45. Tasa específica de degradación del AD79 en función de la concentración inicial.

La máxima tasa de decoloración (reducción) en el reactor fue de 17 mg AD79/L-d para la concentración de 75 mg AD79/L, encontrándose en el mismo orden de magnitud de los valores determinados por Cruz y Buitrón (2000), para el colorante AD79 tratado en un biofiltro anaerobio a una concentración inicial de 114 mg/L de colorante y utilizando como co-sustrato glucosa, quienes determinaron una máxima velocidad de decoloración de 33 mg AD79/L-d. Por otra parte, Rajaguru *et al.*, (2000), determinaron similares velocidades de eliminación para colorantes azo sulfonados, pero es importante señalar que las características de baja solubilidad y complejidad de sustituyentes en el colorante azo AD79, originan menores velocidades de degradación que los colorantes sulfonados haciendo más difícil su biotransformación. Las velocidades de decoloración determinadas por los autores fueron de 61 mg/L-d para el colorante naranja ácido 10 a concentración inicial de 100 mg/L y de 51 mg/L-d para el colorante negro amido 10B, para una concentración inicial de 110 mg/L.

La degradación de aminas durante la fase aerobia se muestra en la figura 4.46. La máxima tasa específica de degradación de aminas en función de la concentración inicial fue de 2.13 mg aminas/g SSV-d. La mineralización fue de 96 %.

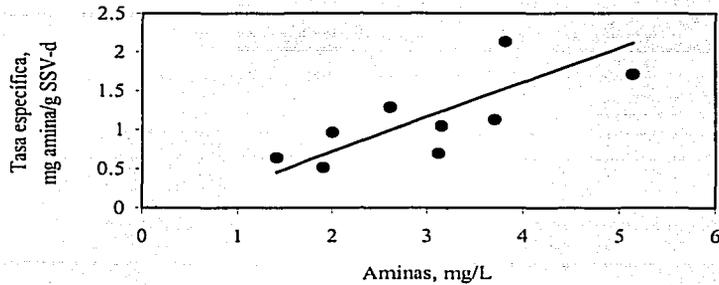


Figura 4.46. Tasa específica de degradación de aminas en función de la concentración inicial.

Con relación a la carga orgánica aplicada como DQO, la remoción fue en promedio de 86 %. En la figura 4.47 se observa que la remoción de DQO se mantuvo en valores de 80 y 97 %. La máxima carga orgánica que trató el reactor fue de 16.5 mg DQO/g SSV-d.

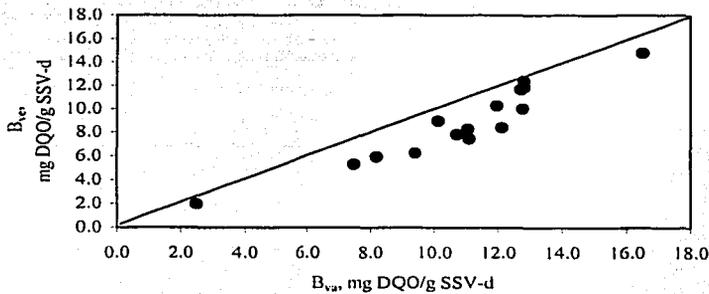


Figura 4.47. Carga orgánica aplicada y eliminada en el reactor SBR anaerobio/aerobio

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.5.4.3. Cinética de degradación

La tasa de reducción del AD79 en la fase anaerobia fue de 16.8 mg/L-d y en la fase aerobia de 17.52 mg/L-d con TRH de 48 y 24 h respectivamente. Con relación a la tasa de formación y de mineralización de la BDNA los valores fueron de 2.64 y 5.28 mg/L-d respectivamente, como puede observarse en la figura 4.48. La formación de la BDNA es un proceso lento, corroborando los reportes de Weber y Adams (1995), quienes reportaron una reacción bifásica en la degradación del AD79 con una fase rápida de eliminación de colorante y una fase lenta de biotransformación, con una constante de velocidad de reducción  $q_r$  de  $2.6 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ .

En este trabajo, la cinética de reacción fue de primer orden y presentó una rápida pérdida inicial de colorante en las primeras horas seguida por una lenta velocidad de transformación. La velocidad de reducción fue obtenida de la pendiente que resultó al graficar los datos de  $\ln S$  vs tiempo. El valor determinado para la  $q_r$  fue de  $5 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ , aproximadamente 2 veces mayor que la determinada por Weber y Adams.

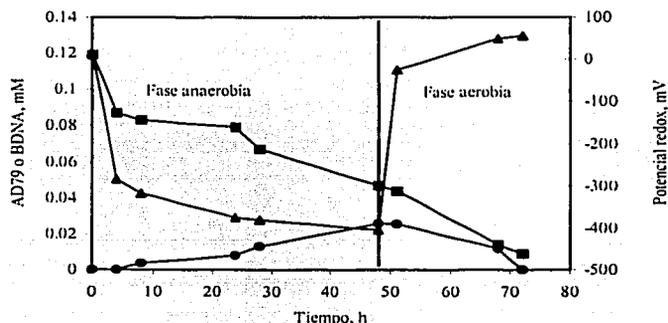
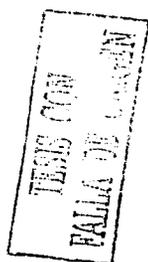


Figura 4.48. Cinéticas de reducción del colorante AD79 y formación y mineralización de BDNA. Perfil redox en el reactor SBR anaerobio/aerobio durante el ciclo de operación 29. (■) AD79; (●) BDNA; (▲) Potencial de óxido-reducción.

#### 4.5.4.4. Destino del colorante AD79

Para la reducción del colorante azo AD79, Weber y Adams (1995), propusieron la vía metabólica reductiva en la que el colorante AD79 fue reducido mediante el rompimiento del enlace azo, dando lugar a la formación de BDNA (2-bromo-4,6-dinitroanilina) y NNDB (1,4-diaminobenceno, NN-disustituido). Inmediatamente el grupo 2-nitro de la BDNA fue reducido originando el 1,2-diaminobenceno que continuó reduciéndose lentamente a triaminobenceno. El NNDB dió lugar al bencimidazol ocurriendo una reacción de ciclización a través del ataque nucleofílico del grupo amino no sustituido al grupo amido adyacente.

Durante la fase aerobia ocurre la degradación de aminas mediante enzimas oxigenasas no específicas a través de hidroxilación y rompimiento del anillo aromático. La conversión de

aminas involucra primero la remoción de nitrógeno liberando nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) como producto final, seguido de la oxidación de éste a nitritos y nitratos. La mineralización de aminas fue confirmada por HPLC junto con un balance nitrógeno que se muestra en la tabla 4.24 donde se observa una remoción de nitrógeno total de 44 %, efectuándose una nitrificación y desnitrificación en las fases aerobia y anaerobia respectivamente. El mecanismo de reacción se muestra en la figura 4.49, en donde se observa la reducción del azul disperso 79 produciendo aminas aromáticas según el modelo propuesto por Weber y Adams, (1995) y la oxidación de las aminas aromáticas en la fase aerobia del proceso de acuerdo a la propuesta de la presente investigación.

Tabla.4.24. Balance de nitrógeno durante la biodegradación anaerobia/aerobia del colorante AD79 durante el ciclo 29 (Resultados promedio de 10 mediciones)

Tipo de nitrógeno	Inicio de fase anaerobia (mg/L)	Fin de fase anaerobia (mg/L)	Fin de fase aerobia (mg/L)
N- AD79	10.00	3.95	0.81
N- BDNA	0.00	6.97	0.00
N- $\text{NH}_4^+$	5.80	0.00	2.20
N- $\text{NO}_2$	0.08	0.06	0.04
N- $\text{NO}_3$	5.00	4.00	9.50
N - total	20.88	14.98	11.74

Una característica importante en la fase aerobia del proceso anaerobio/aerobio es la auto-oxidación de aminas cuando no existe una adecuada población facultativa aerobia para la degradación de aminas. En estudios realizados por Tan *et al.*, (1998) y Lourenço *et al.*, (2000) reportaron problemas para la mineralización de aminas bajo condiciones aerobias con los productos de la reducción de los colorantes azo naranja mordante y colorante azo violeta brillante remazol 5R respectivamente, debido a la ausencia de una población adecuada de bacterias facultativas aerobias capaces de metabolizar aminas aromáticas.

En este estudio se logró una buena aclimatación de bacterias facultativas aerobias que fueron capaces de mineralizar las aminas aromáticas a  $\text{CO}_2$ , agua y nitrógeno inorgánico, confirmándose por HPLC y análisis de nitrógeno.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

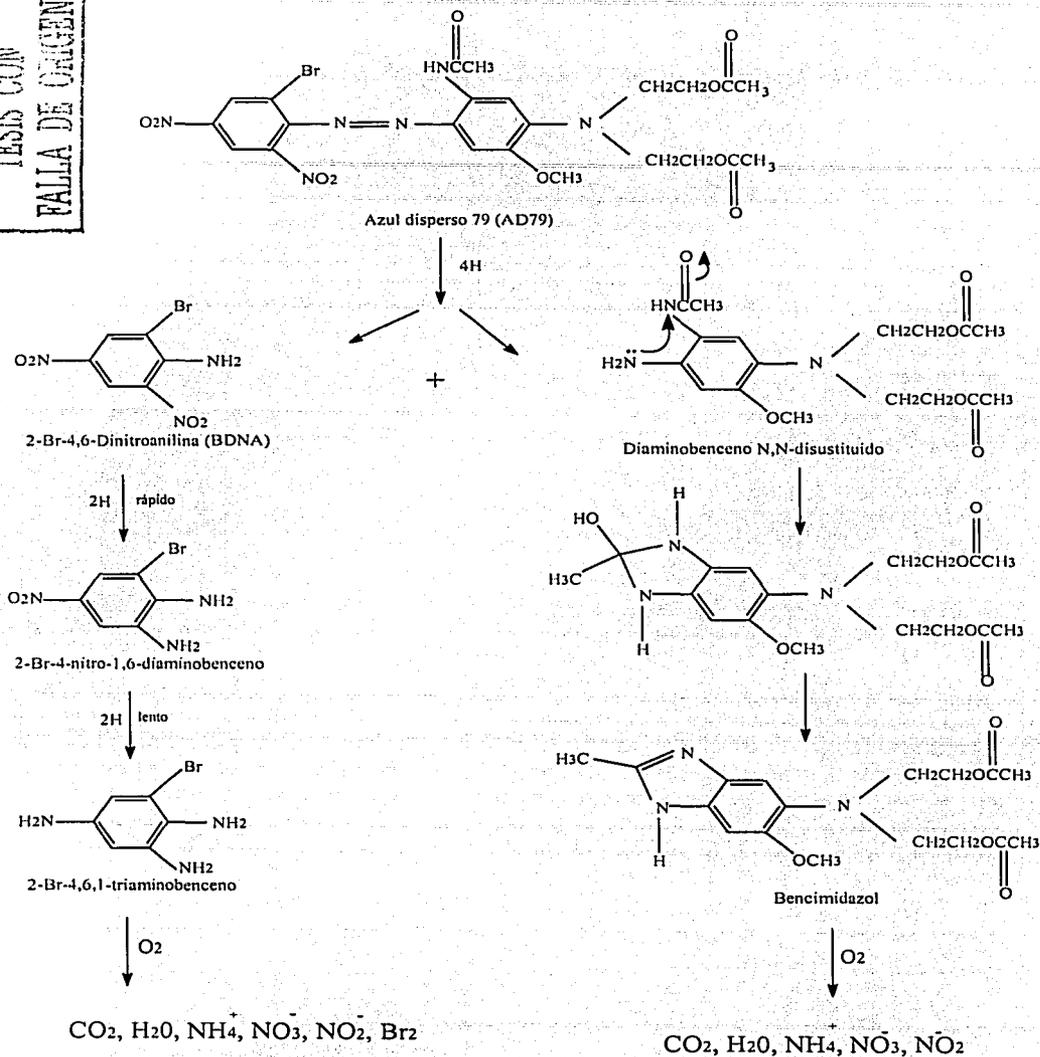


Figura 4.49. Mecanismo de reacción para la mineralización del colorante azo AD79.  
(Fuente: Modificado de Weber y Adams, 1995.)

#### 4.5.5. Análisis de toxicidad

Se realizaron pruebas de toxicidad aguda con la bacteria luminiscente *Photobacterium phosphoreum*, a través del sistema Microtox con el fin de evaluar la toxicidad del efluente del reactor anaerobio/aerobio. Las muestras se tomaron en los últimos días de operación del reactor, en el ciclo 29. Los resultados se muestran en la tabla 4.25. El influente con una concentración de 74.5 mg/L de colorante, no mostró toxicidad bajo las condiciones del método de análisis, pero durante la fase anaerobia la toxicidad del agua residual fue de 14.4 UT, que de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-112-1995-SCF1 es considerada como altamente tóxica, debido a los productos de biotransformación del colorante AD79, las aminas BDNA y NNDB que son sumamente tóxicas. En la fase aerobia los compuestos biotransformados fueron mineralizados y hubo una eliminación de la toxicidad, lo que demostró la eficiencia del reactor SBR anaerobio/aerobio para eliminar la toxicidad del efluente, con lo que se establecen condiciones ambientales favorables para la protección de la salud humana y la vida acuática, del impacto causado por la liberación de contaminantes en aguas superficiales.

Tabla 4.25. Remoción de la toxicidad aguda en el reactor SBR anaerobio/aerobio.

Muestra	Concentración efectiva CE <sub>50</sub>	Unidades de toxicidad (UT)	AD79 (mg/L)	BDNA (mg/L)
Influente	No detectada	No detectada	74.5	0.0
Final fase anaerobia	6.99	14.40	29.4	6.97
Efluente (final de fase aerobia)	No detectada	No detectada	6.0	0.0

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### **4.5.6. Conclusiones parciales**

El reactor SBR anaerobio/aerobio fue un sistema apropiado para la biodegradación de colorantes azo en aguas residuales, debido a que puede ser manipulado para proveer una fase anaerobia, donde los colorantes azo se reducen a las aminas aromáticas correspondientes, y una fase aerobia donde las aminas son mineralizadas.

El proceso anaerobio/aerobio discontinuo secuenciado fue muy eficiente en la remoción del colorante AD79. La biomasa se aclimató a la degradación de colorante a los 45 días de operación.

La eficiencia de remoción global del colorante en el reactor SBR anaerobio/aerobio secuenciado fue de 92 %. En la etapa anaerobia las eficiencias de biotransformación fueron de 65 %. La mineralización de las aminas producidas por la ruptura del enlace azo fue de 96 %.

La máxima concentración de colorante AD79 que se trató fue de 100 mg/L y el tiempo de reacción necesario para lograr eficiencias de remoción arriba de 90 % fue de tres días (dos días de fase anaerobia y un día de fase aerobia).

Las máximas tasas de degradación específicas del colorante y de aminas fueron de 15 y 2.13 mg/g SSV-d respectivamente. La remoción global de DQO fue de 86 % y la máxima carga orgánica que se aplicó al reactor fue de 16.5 mg DQO/g SSV-d.

La cinética de reacción para la reducción del AD79 fue de primer orden. La  $q_r$  del colorante fue de  $5 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ .

El colorante AD79 es un compuesto no tóxico, que da origen a aminas aromáticas tóxicas (14 unidades de toxicidad). Sin embargo después del tratamiento anaerobio/aerobio secuenciado, la toxicidad fue eliminada a niveles no detectados en el efluente, lo que demostró la eficiencia del proceso anaerobio/aerobio para eliminar la toxicidad del agua residual.

## CONCLUSIONES GENERALES

En relación con los objetivos planteados al inicio de la investigación, fue factible implementar a nivel piloto de laboratorio un biofiltro discontinuo anaerobio/aerobio para biodegradar compuestos nitroaromáticos y un colorante azo. La hipótesis de trabajo fue comprobada, el reactor operado en discontinuo fue un sistema apropiado para la biodegradación del PNF, del colorante AD79 y del efluente industrial, debido a que fue manipulado para proveer una fase anaerobia, donde los compuestos fueron reducidos a las aminas aromáticas correspondientes, y una fase aerobia donde las aminas fueron mineralizadas. Las principales conclusiones generales a las que se llegó son las siguientes:

1. La estrategia de operación utilizada en el reactor discontinuo fue muy eficiente para manipular la población bacteriana e inducir la selección de bacterias capaces de adaptarse a los cambios de ambiente del sistema. En este caso fue indispensable permitir la aclimatación de los microorganismos el tiempo necesario para alcanzar remociones de 80 % tanto en la fase reductiva como en la oxidativa.
2. El reactor se comportó como un reactor acidogénico en la fase de reducción, efectuándose sólo la biotransformación de los compuestos tratados a metabolitos susceptibles de ser degradados en la fase aerobia. El p-nitrofenol fue biotransformado a p-aminofenol, la o-nitroanilina a o-fenilendiamina y el azul disperso 79 a 2-br-4,6-dinitroanilina y a 1,4-diaminobenceno N,N-disustituido.
3. Para incrementar la velocidad de reducción del PNF y del AD79, durante la fase anaerobia el reactor requirió de ácido propiónico como co-sustrato para el aporte de protones y fuente de energía. En el caso del efluente industrial, éste contenía materia orgánica que sirvió de co-sustrato.
4. Las eficiencias de remoción respecto a la eliminación del tóxico, fueron de 98 % para el PNF y 92 % para el AD79. Para el efluente industrial, con base en la remoción de DQO, fueron de 95 %. En este último caso se logró degradar una concentración de influente de 28 g DQO/L, en un tiempo de retención de 24 h (18 h de fase anaerobia y 6 h de fase aerobia). En promedio en la fase anaerobia se removió 78.5 % de la materia orgánica y en la fase aerobia el 20.3 %.

Se lograron degradar concentraciones de hasta 225 mg PNF/L en la fase anaerobia en un tiempo de reacción de 4 h. En la fase aerobia se lograron degradar concentraciones de PAF hasta de 120 mg/L en un tiempo de reacción de 3.5 h. La concentración de 145 mg/L de PAF fue inhibitoria para el biofiltro.

En el caso del colorante se trataron concentraciones de 100 mg AD79/L en un tiempo de reacción de 48 h para la fase anaerobia y 24 h para la fase aerobia. En la etapa anaerobia las eficiencias de biotransformación fueron de 65 %. La mineralización de las aminas producidas por la ruptura del enlace azo fue de 96 %.

5. Las tasas de degradación específica del PNF en el biofiltro anaerobio/aerobio fueron de 1.5 a 4 veces más altas que lo reportado en la literatura. El biofiltro SBB fue eficiente para tratar cargas volumétricas de 642 mg/L-d de PNF en la fase anaerobia y de 602 mg/L-d de PAF en la fase aerobia.

En el SBB para tratar el efluente industrial las máximas cargas removidas, asociadas a altas eficiencias de remoción fueron de 4 a 6 kg DQO/m<sup>3</sup>-d. La carga óptima a la que trabajó el SBB fue de 4.5 kg DQO/m<sup>3</sup>-d con un TRH de 24 h .

Las máximas tasas de degradación específicas del AD79 y de la BDNA fueron de 15 y 2.13 mg/g SSV-d respectivamente. La remoción global de DQO fue de 86 % y la máxima carga orgánica que se aplicó al reactor fue de 16.5 mg DQO/g SSV-d.

6. Se obtuvo una operación estable del sistema debido a que el uso de un soporte para los microorganismos permitió el desarrollo de una comunidad microbiana con alta actividad. En el sistema SBR se obtuvieron bajas tasa de generación de biomasa. En el caso de la degradación del PNF, no fue necesario retrolavar el biofiltro después de 596 días. Para el caso del efluente industrial, más cargado en materia orgánica, requirió retrolavado solo después de 3 meses de operación.
7. El proceso anaerobio/aerobio fue muy eficiente para eliminar la toxicidad del PNF y AD79 de 10 y 14 unidades de toxicidad respectivamente, a niveles no detectados en el efluente; en el caso del efluente industrial la toxicidad fue reducida de 46 a 8 unidades de toxicidad, efectuándose la reducción de la toxicidad principalmente durante la etapa aerobia.
8. El proceso discontinuo anaerobio/aerobio en un reactor presenta amplias ventajas con respecto a los sistemas acoplados, entre las que destacan el ahorro de espacio por el uso de un solo tanque, así como menores problemas de inhibición debido a que la biomasa se encuentra en contacto permanente con los metabolitos producidos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFNOR. (1984). Norme Expérimentale T 90-306. Juillet 1984. "Evaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie "ultime" des produits organiques solubles" – Méthode par analyse du dioxyde de carbone dégagé.
- APHA. (1992). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 18<sup>th</sup> ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington D.C. U.S.A.
- Asher B. Chozick R e Irvine R. L. (1992). Treatment of high strength mixed phenolic waste in an SBR. *Water Environmental Research*, **64**, 128-133.
- Baird R., Camona L. and Jenkins R.L. (1977). Behavior of benzidine and other aromatic amines in aerobic wastewater treatment. *Journal WPCF*, **July**, 1609-1615.
- Bakke R., Trulear G. M., Robinson A. J. and Characklis G. W. (1984). Biofilm detachment. *Biotechnology and Bioengineering*, **26**, 1418-1424.
- Battersby N. S. and Wilson V. (1989). Survey of the anaerobic biodegradation potential of organic chemicals in digesting sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, **55**(2), 433-439.
- Beunink J. and Rehm H. J. (1990). Coupled reductive and oxidative degradation of 4-chloro-2-nitrophenol by a co-immobilized mixed culture system. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **34**, 108-115.
- Bhattacharya S. K., Sluder Jr J. L. and Uberoi V. (1995). Effects of 4-nitrophenol on H<sub>2</sub> and CO levels in anaerobic propionate systems. *Water Research*, **29**(5), 1249-1258.
- Blasco R. and Castillo F. (1992). Light-dependent degradation of nitrophenols by the phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus* E1F1. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**(2), 690-695.
- Blasco R. and Castillo F. (1993). Characterization of a nitrophenol reductasa from phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus* E1F1. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**(6), 1774-1778.
- Boopathy R., Kulpa C. F. and Wilson M. (1993). Metabolism of 2,4,6- trinitrotoluene (TNT) by *Desulfovibrio* sp (B strain). *Applied Microbiology and Biotechnology*, **39**, 270-275.
- Boopathy R. (1994). Transformation of nitroaromatic compounds by a methanogenic bacterium, *Methanococcus* sp. (strain B). *Archives Microbiology*, **162**, 167-172.
- Boots E. J. (1995). *Toxicity and biodegradability of aromatic amines under anaerobic and aerobic conditions*. Doktorat Verslagen, Landbouwniversiteit Wageningen.
- Bouwer E. J. (1989). Transformation of xenobiotics in biofilms. In: *Structure and Function of Biofilms*. W.G. Characklis and P.A. Wilderer (Eds). John Wiley & Sons Ltd. pp. 251-267
- Boyd S. A., Shelton D. R., Berry D. and Tiedje J. M. (1983). Anaerobic biodegradation of phenolic compounds in digest sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, **46**(1), 50-54.
- Bryant C. and De Luca M. (1991). Purification and characterization of an oxygen-insensitive NAD(P)H nitroreductase from *Enterobacter cloacae*. *Journal Biological Chemical*, **266**, 4119-4125.
- Brown D. (1981). Reduction of polymeric azo and nitro dyes by intestinal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **41**, 1283-1286.
- Brown D. and Laboureur P. (1983). The aerobic biodegradability of primary aromatic amines. *Chemosphere*, **12**(3), 405-414.
- Brown D. and Hamburger B. (1987). The degradation of dyestuffs: Part III – Investigations of their ultimate degradability. *Chemosphere*, **16**(7), 1539-1553.

- Bruhn C., Lenke H. and Knackmuss H. J. (1987). Nitrosubstituted aromatic compounds as nitrogen source for bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**(1), 208-210.
- Buitrón G. y Ortiz J. (1997). Biodegradación de compuestos fenólicos por medio de un biofiltro discontinuo secuencial. *Memorias XI Congreso Nacional de la Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales*, Zacatecas, México. 1: 194-201.
- Buitrón G. and Flores R. (1997). Phenolic compounds degradation using an SBR system packed with a porous volcanic support. *Proceeding First IAWQ Specialized Conference on Sequencing Batch Reactor Technology*. Munich, Germany. p.p. 381-384.
- CEPIS.OPS-OMS. (1988) . Manual de evaluación y manejo de sustancias tóxicas en aguas superficiales. Anexo 1. Estudio de caso Rio Paraiba Do Sul, Brasil.
- Characklis G. W. and Marshall C. K. (1990). *Biofilms*. Ed. John Wiley & Sons Ltd . United States of America. 797 pp.
- Cheng J., Suidan M.T. and Venosa A. D. (1997). Kinetic of anaerobic cometabolism of 2,4-dinitrotoluene with ethanol as the primary substrate. *Water Science and Technology*, **36**(6-7), 271 – 278.
- Cheng J., Kanjo Y., Suidan M.T. and Venosa A.D. (1998). Anaerobic biotransformation of 2,4- dinitrotoluene with ethanol, methanol, acetic acid and hydrogen as primary substrate. *Water Research*, **32**(10), 2921 – 2930.
- Chemicharo C.A. L. (1997). Reactores anaeróbios. En: *Principios do Tratamento Biológico de Águas Residuais*. Vol. 5. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. Brasil.
- Chew H. M. L. (2001). *Arranque de un reactor por lotes en fase anaerobia-aerobia para la mineralización del para-nitrofenol*. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Cho Y.G., Rhee S.K. and Lee S.T. (2000). Influence of phenol on biodegradation of p-nitrophenol by freely suspended and immobilized *Nocardioides* sp. NSP41. *Biodegradation*, **11**, 21-28.
- Chudgar R.J. (1985). Azo dyes. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Kroschwitz L.I. (Ed) 4<sup>th</sup>. Vol.3. Wiley, New York. p.p. 821-875.
- CNA. Comisión Nacional del Agua. (1999). *Inventario Nacional de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Industriales*. Subdirección General Técnica. Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua.
- Cochet N., Lebeault J.M. and Vijayalakshmi M. A.(1990). Physicochemical aspects of cell adsorption. In: *Wastewater treatment by immobilized cells*. Tyagi R.D., y Vembu K (eds). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 281 pp.
- Cord-Ruwisch R., Seitz H. J. and Conrad R. (1988). The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. *Archives of Microbiology*, **149**, 350-357.
- Costerton J. W., Lewandowsky Z., De Beer D., Caldwell D., Korber D. and James G. (1994). Biofilms, the customized microniche. *Journal of bacteriology*, **176**(8), 2137-2142.
- Coughlin M. F., Kinkler, B. K., Tepper A. and Bishop P. L. (1997). Characterization of azo dye degrading bacteria and their activity in biofilms. *Water Science and Technology*, **36**(1), 215-222.
- Cruz-Adame S. (1998). *Comparación de procesos para la remoción de sustancias orgánicas comúnmente presentes en aguas residuales farmacéuticas*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

- Cruz A. and Buitrón G. (2000). Biotransformation of disperse blue 79 by an anaerobic sequencing batch biofilter. *Water Science and Technology*, **42**(5-6), 312-320.
- Cruz A. and Buitrón G. (2001). Biodegradation of disperse blue 79 using sequenced anaerobic/aerobic biofilters. *Water Science and Technology*, **44**(4), 159-166.
- Cussler E.L. (1992). Diffusion, mass transfer in fluid systems. Cambridge University Press. New York.
- De Beer D., Stoodley P., Roe F. and Lewandowski Z. (1993). Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnology and Bioengineering*, **43**: 1131-1138.
- Delgado A., Wubbolts M.G. Abril M. A. and Ramos J. L.(1992). Nitroaromatics are substrates for the TOL plasmid Upper-pathway enzymes. *Applied and environmental Microbiology*, **58**(1), 415-416.
- Diaz-Valdez M. (1996). *Estudio del tratamiento de agua residual farmacéutica con un reactor biológico rotatorio (RBR)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).
- Dickel O., Haug W. and Knackmuss H. J. (1993). Biodegradation of nitrobenzene by a sequential anaerobic-aerobic process. *Biodegradation*, **4**, 187-194.
- Donlon B. A., Razo-Flores E., Field J. A. and Lettinga G. (1995). Toxicity of n-substituted aromatics to acetoclastic methanogenic activity in granular sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**(11), 3889-3893.
- Donlon B.A., Razo-Flores E., Lettinga G. and Field J.A. (1996). Continuous detoxification, transformation and degradation of nitrophenols in up flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, **51**, 439-449.
- Donlon B., Razo-Flores E., Luijten M., Swarts M., Lettinga G. and Field J. (1997). Detoxification and partial mineralization of the azo dye Mordant Orange 1 in a continuous up flow anaerobic sludge-blanket reactor. *Applied Microbiology Biotechnology*, **47**, 83-90.
- Fernández-Polanco F. y García P.A. (1994). Comportamiento de un reactor integrado ana/aerobio para la eliminación simultánea de C y N. *Proceedings 2º International Specialized Conference on Biofilms Reactors*. Paris. pp 209-216
- Field J. A., Stams A. J. M., Kato M. and Schraa G. (1995). Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antoine Van Leeuwenhoek*, **34**, 47-77.
- Fitzgerald S.W. and Bishop P.L. (1995). Two stage anaerobic/aerobic treatment of sulfonated azo dyes. *Journal of Environmental Science and Health*, **A30**(6), 1251-1276.
- Funk S. B., Roberts D. J., Crawford D. L, and Crawford R. L. (1993). Initial-phase optimisation for bioremediation of munitions compound-contaminated soils. *Applied Environmental Microbiology*, **59**, 2171-2177.
- Gerritse J., Schut F. and Gottschal J. C. (1990). Mixed chemostat cultures of obligate aerobic and fermentative or methagenic bacteria grown under oxygen limiting conditions. *FEMS Microbiology Letters*, **66**, 87-94.
- Gerritse J. and Gottschal J. C. (1992). Mineralization of the herbicide 2,3,6-tricholobenzoic acid by a co-culture of anaerobic and aerobic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, **101**, 89-98.
- Gerritse J. and Gottschal J. C. (1993). Two membered mixed cultures of methanogenic and aerobic bacteria in O<sub>2</sub> limited chemostats. *Journal of General Microbiology*, **139**, 1853-1860.
- Gibson S. A. and Sewell G. W. (1992). Stimulation of reductive dechlorination of tetrachloroethene in anaerobic aquifer microcosm by addition of short-chain organic acids or alcohols. *Applied and Environmental Microbiology*, **58** (4), 1392-1393.

- Gheewala S. H. and Annachhatre P. (1997). Biodegradation of aniline. *Water Science and Technology*, **36** (10), 53-63.
- Glaesser A., Liebelt U. and Hempel D. C. (1992). Design of a two-stage process for total degradation of azo dyes. *DECHEMA Biotechnology. Conf.*, **5B**, 1085-1088.
- González M. S. and Wilderer P. A. (1991). Phosphate removal in a biofilm reactor. *Water Science and Technology*, **23**, 1405-1415.
- Gorontzy T., Küver J. and Blotevogel K. H. (1993). Microbial transformation of nitroaromatic compounds under anaerobic conditions. *Journal of General Microbiology*, **139**, 1331-1336.
- Gosczyński S., Paszczyński A., Pasti-Grigsby M.B., Crawford R.L., and Crawford D.L. (1994). New pathway for degradation of sulfonated azo dye by microbial peroxidases of *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. *Journal Bacteriological*, **176**(5), 1339-1347.
- Groenewegen P. E. J., Breeuwer P., van Helvoort J. M. L. M., Lagenhoff A. A. M., de Vries F. P. and de Bont J. A. M. (1992). Novel degradative pathway of 4-nitrobenzoate in *Comamonas acidovorans* NBA-10. *Journal of General Microbiology*, **138**, 1599-1605.
- Gulmez B., Ozturk I., Alp K. and Arikan O. A (1998). Common anaerobic treatability of pharmaceutical and yeast industry wastewater. *Water Science and Technology*, **38**(4-5), 37-44.
- Haghighi P.M.R., Bhattacharya S.K. and Qu M. (1995). Effects of nitrophenols on acetate utilizing methanogenic systems. *Water Research*, **29**(2), 391-399.
- Hallas L. E. and Alexander M. (1983). Microbial transformation of nitroaromatic compounds in sewage effluent. *Applied and Environmental Microbiology*, **45**(8), 1234-1241.
- Haller H.D. (1978). Degradation of mono-substituted benzoates and phenols by wastewater. *Journal W.P.C.F.* 2771-2777.
- Hamdy A. A., Joshi S. G. and Gupta S. K. (1992). Effect of organic load and reactor height on the performance of anaerobic mesophilic and thermophilic fixed film reactors in the treatment of pharmaceutical wastewater. *Environmental Science and Technology*, **13**, 1161-1168.
- Harmer C. and Bishop P. (1992). Transformation of azo dye AO-7 by wastewater biofilms. *Water Science and Technology*, **26**(3-4), 627-636.
- Harris D. C. (1991). *Análisis Químico Cuantitativo*. 3ª. Ed. Grupo Editorial Iberoamérica. pp. 397-399.
- Haug W., Schmidt A., Nortemann B., Hempel D. C., Stolz A. and Knackmuss H. J. (1991). Mineralization of the sulfonated azo dye mordant yellow 3 by a 6-aminonaphthalene-2-sulfonate degrading bacterial consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, **57** (11), 3144-3149.
- Heitkamp M. A., Camel V., Reuter T. J. and Adams W. J. (1990). Biodegradation of p-nitrophenol in an aqueous waste stream by immobilized bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**(10), 2967-2973.
- Hess T. F., Schmidt S. K., Silverstein J. and Howe B. (1990). Supplemental substrate enhancement of 2,4-dinitrophenol mineralization by a bacterial consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**(6), 1551-1558.
- Hobson P. and Wheatley A. D. (1992). *Anaerobic Digestion: Modern Theory and Practice*. Elsevier Science Publishers LTD. England. 213 pp.
- Howard P.H. (1990). *Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemical*. Vol.1. 3<sup>th</sup> ed. Lewis Publishers
- Huser B.A., Wuhrmann K. and Zehnder A. J. B. (1982) *Methanotrix sohngenii* gen. nov sp. a new acetotrophic non hydrogen oxidizing methane bacterium. *Archives of Microbiology*, **132**, 1-9.

- INE. Instituto Nacional de Ecología (1999). Crecimiento Industrial. *Sistema Nacional de Información Ambiental*. pp. 1-14.
- INE. Instituto Nacional de Ecología (1997). Situación de las sustancias tóxicas de atención prioritaria en México. En: *Programa de Gestión Ambiental de Sustancias Tóxicas de Atención Prioritaria*. SEMARNAP. México. pp.39-59.
- Irvine R. L. and Ketchum Jr. L. H. (1989). Sequencing batch reactors for biological wastewater treatment. *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, **18** (4), 225-294.
- Irvine R. L., Wilderer P. A. and Flemming H. C. (1997). Controlled unsteady state processes and technologies-an overview. *Water Science and Technology*, **35**(1), 1-10.
- Jain R.K., Dreisbach J.H. and Spain J. (1994). Biodegradation of p-nitrophenol via 1,2,4-benzenetriol by an *Arthobacter* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**(10), 2967-2973.
- Jennett J. C., and Dennis Jr N. D. (1975). Anaerobic filter treatment of pharmaceutical waste. *Journal WPCF*, **47**(1), 104-121.
- Jiang H. and Bishop P. L. (1994). Aerobic biodegradation of azo dyes in biofilms. *Water Science and Technology*, **29**(10-11), 525-530.
- Johnson L. D. and Young J. C. (1983). Inhibition of anaerobic digestion by organic priority pollutants. *Journal WPCF*, **55**(12), 1441-1449.
- Juárez B.E. y Rico R.A. (1999). *Mecánica de suelos*. Tomo 1. Fundamentos de la Mecánica de Suelos. 3ª ed. Editorial Limusa. México. pp.77-79.
- Kabdash I., Gürel M. and Tünny O. (1999). Pollution prevention and waste treatment in chemical synthesis processes for pharmaceutical industry. *Water Science and Technology*, **39**(10-11), 265-271.
- Kaballo H. P., Zhao Y. and Wilderer P. A. (1995). Elimination of p-chlorophenol in biofilms reactors. A comparative study of continuous flow and sequenced batch operation. *Water Science and Technology*, **31**(1), 51-60.
- Kadiyala V. and Spain J. C. (1998). A two-component monooxygenase catalyses both the hydroxylation of p-nitrophenol and the oxidative release of nitrite from 4-nitrocatechol in *Bacillus sphaericus* JS905. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**(7), 2479-2484.
- Kato M. Field J.A. and Lettinga G. (1993 a). Methanogenesis sludge exposed to oxygen. *Fems Microbiology Letters*, **114**, 317-324.
- Kato M. T., Field J. and Lettinga G. (1993 b). High tolerance of methanogens in granular sludge to oxygen. *Biotechnology and Bioengineering*, **42**, 1360-1366.
- Kahr G. and Madsen F.T. (1995). Physical chemistry of surfaces. *Journal Applied Clay Science*, **9**(5), 327-350.
- Karim K. and Gupta S.K. (2001). Biotransformation of nitrophenols in up-flow anaerobic sludge blanket reactors. *Bioresource Technology*, **80**, 179-186.
- Keck A., Klein J., Kudlich M., Stolz A., Knackmuss H. J. and Mattes R. (1997). Reduction of azo dyes by redox, mediators originating in the naphthalenesulfonic acid degradation pathway of *Sphingomonas* sp. Strain BN6. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**, 3684-3690.
- Ketchum Jr., L. H. (1997). Design and physical features of sequencing batch reactors. *Water Science and Technology*, **35**(1), 11-18.
- Krull R., Hemmi M., Otto P and Hempel D.C. (1998) Combined biological and chemical treatment a highly concentrate residual dye house liquors. *Water Science and Technology*, **38**(4-5), 339-346.

- Kudlich M., Bishop P. L., Knackmuss H. J. and Stolz A. (1996). Simultaneous anaerobic and aerobic degradation of the sulfonated azo dye mordant yellow 3 by immobilized cells from a naphthalenesulfonate degrading mixed culture. *Applied Microbiology Biotechnology*, **46**, 597-603.
- Kudlich M., Keck A., Klein J. and Stolz A. (1997). Localization of the enzyme system involved in the anaerobic reduction of azo dyes by *Sphingomonas* sp. Strain BN6 and effect of artificial redox mediators on the rate of azo dye reduction. *Applied Environmental Microbiology*, **63**, 3691-3694.
- Kudlich M., Hetheridge M., Knackmuss H. J. and Stolz A. (1999). Autoxidation reactions of different aromatic, o-aminohydroxynaphthalenes that are formed during the anaerobic reduction of sulfonated azo dyes. *Environmental Science and Technology*, **33**, 896-901.
- Kulla H.G. (1981). Aerobic bacterial degradation of azo dye. In: *Microbial Degradation of Xenobiotic and Recalcitrant Compounds*. Leisinger T., Hutter R., Cook A.M., Nuesch J. (Eds) Academic Press. London. pp. 387-399.
- Leninger A.L. (1978). *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*. Ed. Omega. 2ª ed. Barcelona, España. pp. 184-207
- Lenke, H. and Knackmuss, H. J. (1992). Initial hydrogenation during catabolism of picric acid by *Rhodococcus erythropolis* HL 24-2. *J. Applied and Environmental Microbiology*, **58**(9), 2933-2937.
- Liu D., Thomson K. and Anderson A. C. (1984). Identification of nitroso compounds from biotransformation of 2,4-dinitrotoluene. *Applied and Environmental Microbiology*, **47**, 1295-1298.
- Loidl M., Hinteregger C., Ditzelmuller G., Ferschl A. and Streichsbier F. (1990). Degradation of aniline and monochlorinated anilines by soil-born *Pseudomonas acidovorans* strains. *Archives of Microbiology*, **155**(1), 56-61.
- Lourenço N. D., Novais J. M. and Pinheiro H. M. (2000). Reactive textile dye colour removal in a sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*, **42**(5-6), 321-328.
- Macarie H. y Guiot S. (1996). Degradación de pentaclorofenol mediante un proceso aerobio/anaerobio simultáneo: una nueva tecnología para el tratamiento de aguas residuales. En: *Fronteras en Biotecnología y Bioingeniería*. E. Galindo (Ed). Sociedad mexicana de Biotecnología y Bioingeniería. pp. 317 - 324.
- MacLeod F. A., Guiot S. R. and Costerton W. (1990). Layered structure of bacterial aggregates produced in an up flow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, **54**, 1619-1621.
- Martin J.H. and Savage D. C. (1988). Degradation of DNA in cells and extracts of the obligate anaerobic bacterium *Roseburia ceticola* upon exposure to air. *Applied and Environmental Microbiology*, **54**, 1619-1621.
- Marvin-Sikkema F. D. and de Bont J. A. M. (1994). Degradation of nitroaromatic compounds by microorganisms. *Applied Microbiology Biotechnology*, **42**, 499-507.
- Matsushita H, Kawai A., Goto S. and Endo O. (1986). Mutagenicity of nitro-aromatic compounds. *Proceedings of the Regional Workshop Environmental Toxicity and Carcinogenesis*, Bangkok, Thailand. Mahdol University. pp. 119-130.
- McCormick N. G., Feeherry F. E. and Levinson H. L. (1976). Microbial transformation of 2,4,6- trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, **31**(6), 949-958.
- McMullan G., Meehan C., Conneely A., Kirby N., Robinson T., Nigam P., Banat I. M., Marchant R. and Smyth W.F. (2001). Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **56**, 81-87.

- Merck (1996). Reactivos Productos Químicos Diagnostica. Merck K. GaA. D-64271, Darmstadt, Alemania.
- Melgoza R.M., Juárez-Bonifaz L. y Buitrón G. (2000). Estrategias de arranque de un biofiltro SBR anaerobio/aerobio para la mineralización de nitrofenoles. *Memorias XII Congreso Nacional FEMISCA*, Morelia, Michoacán, México. pp. 540-547.
- Metcalf & Eddy. (1991). *Wastewater Engineering. Treatment, Disposal, Reuse*. 3<sup>rd</sup> Ed. McGraw-Hill International Editions. Singapore.
- Meyer U. (1981). Biodegradation of synthetic organic colorants. In: *Microbial Degradation of Xenobiotic and Recalcitrant Compounds*. Leisinger T., Hutter R., Cook A.M., Nuesch J. (Eds) Academic Press. London. pp. 371-385.
- Monroy O., Famá G., Meraz M., Montoya L and Macarie H. (2000). Anaerobic digestion for wastewater treatment in Mexico: state of the technology. *Water Resources*, 34(6), 1803-1816.
- Moreno G. (1994). *Obtención de lodos granulares en un reactor UASB a partir de lodos de purga*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM)
- Nishino S. F. and Spain J. C. (1993 a). Cell density-dependent adaptation of *Pseudomonas putida* to biodegradation of p-nitrophenol. *Environmental Science Technology*, 27(3), 489-494.
- Nishino S. F. and Spain J. C. (1993 b). Degradation of nitrobenzene by a *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Applied Environmental Microbiology*, 59, 2520-2525.
- Norma Oficial Mexicana NMX-AA-112-1995-SCFI. – Análisis de agua y sedimentos- Evaluación de toxicidad aguda con *Photobacterium phosphoreum*- Método de prueba.
- Norma Oficial Mexicana NOM-001 ECOL-1996- Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en Agua y Bienes Nacionales
- Norma Oficial Mexicana NOM-002 ECOL-1997-Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.
- Noyola A., and Moreno G. (1994). Granulated production from raw waste activated sludge. *Proceedings of the Seventh International Symposium on Anaerobic Digestion*. Cape town, South Africa. pp.765-774.
- O'Connor O. A. and Young L. Y. (1989). Toxicity and anaerobic biodegradability of substituted phenols under methanogenic conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8, 853-862.
- O'Connor O. A. and Young L. Y. (1996). Effects of six different functional groups and their position on the bacterial metabolism of monosubstituted phenols under anaerobic conditions. *Environmental Science & Technology*, 30(5), 1419-1427.
- Okey R. W. and Stensel D. (1998). Uncouplers and activated sludge- the impact on synthesis and respiration. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 40, 235-254.
- O'Neill C., Lopez A., Esteves S. and Hawkes F. R. (2000 a). Azo-dye degradation in an anaerobic- aerobic treatment system operating on simulated textile effluent. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 249-254.
- O'Neill C., Hawkes F. R., Hawkes D. L., Esteves S. and Wilcox S. J. (2000 b). Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dye. *Water Research*, 34, 2355-2361.
- Oren A., Gurevich P. and Henis Y. (1991). Reduction of nitrosubstituted aromatic compounds by the halophilic anaerobic eubacteria *Haloanaerobium praevalens* and *Sporohalobacter marismortui*. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 3367-3370.

- Pagga U. and Brown D. (1986). The degradation of dyestuffs: Part II, Behaviour of dyestuffs in aerobic biodegradation test. *Chemosphere*, **15**(4), 479-491.
- Parkes R. and Calder A. (1985). The cellular fatty acid of three strains of *Desulfobulbus*, a propionate utilizing sulphate-reducing bacterium. *FEMS Microbiology Ecology*, **31**, 361-363.
- Paszczynski A., Pasti-Grigsby M. B., Goszczynski S. and Crawford R. L. Crawford D. L. (1992). Mineralization of sulfonated azodyes and sulfanilic acid by Phanerochaete chysosporium and Streptomyces chromofuscus. *Applied Environmental Microbiology*, **58**, 3598-3604.
- Peres C. M., Naveau H. and Agathos S. N. (1998). Biodegradation of nitrobenzene by its simultaneous reduction into aniline and mineralization of the aniline formed. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **49**, 343-349.
- Peters A. C., Wimpenny J. W. T. and Coombs J.P. (1987). Oxygen profiles in, and in the agar beneath, colonies of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus albus* and *Escherichia coli*. *Journal General Microbiology*, **133**, 1257-1263.
- Pinzon-Bello J. A. (1997). Superficie específica de una bentonita mediante la adsorción del azul de metileno. *Revista Colombiana de Química*. **26**(1), 1-16.
- Pitter P. and Chudoba J. (1990). *Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment*. CRC Press Inc. USA. 306 pp.
- Pohland F.G. (1992). Anaerobic Treatment: Fundamental Concepts, Applications and New Horizons. In: *Design of Anaerobic Processes for the Treatment of Industrial and Municipal Wastes*. Malian Jar. J.F. and Poland F.G. (Eds). Vol.7. Technomic Publishing, Inc. pp.1-33
- Quezada M., Linares I. and Buitrón G. (2000). Use of a sequencing batch biofilter for degradation of azo dyes (acids and basics). *Water Science and Technology*, **25**(1), 147-152.
- Rajaguru P., Kalaiselvi K., Palanivel M. and Subburam V. (2000). Biodegradation of azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **54**, 268-273.
- Razo-Flores E., Donlon B., Field J. and Lettinga G. (1996). Biodegradability of N-substituted aromatics and alkylphenols under methanogenic conditions using granular sludge. *Water Science Technology*, **33**(3), 47-57.
- Razo-Flores, Elias. (1997). *Biotransformation and biodegradation of N-substituted aromatics in methanogenic granular sludge*. Ph.D. thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, the Netherlands.
- Rodríguez-Arteaga W. (2000). *Variación poblacional de microorganismos que degradan compuestos tóxicos por un proceso anaerobio/aerobio con biofilm integrado*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Roldan M. D., Blasco R, Caballero F. J. and Castillo F. (1998). Degradation of p- nitrophenol by the phototropic bacterium *Rhodobacter capsulatus*. *Archives Microbiology*, **169**, 36-42.
- Rolfe R. D., Hentges D. J., Campbell J. B. and Barret J. T. (1978). Factors related to the oxygen tolerance of anaerobic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **36**(2), 306-311.
- Russ R., Mueller C., Knackmuss H. J. and Stolz A. (1994). Aerobic degradation of 3-aminobenzoate by Gram-negative bacteria involves intermediate formation of 5-aminosalicylate as ring-cleavage substrate. *FEMS Microbiology Letter*, **122**(1-2), 137-143

- Russ R., Rau J. and Stolz A. (2000). The function of cytoplasmatic flavin reductases in the bacterial reduction of azo dyes. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**, 1429-1434.
- Sarnaik S. and Kanekar P. (1999). Biodegradation of methyl violet by *Pseudomonas mendocina* MCM B-402. *Applied Microbiology Biotechnology*, **52**, 251-254.
- Sachs E. F., Jennett J. C. and Rand M. C. (1978). Anaerobic treatment of synthesized organic chemical pharmaceutical wastes. *Proc. of 33<sup>rd</sup> Industrial Waste Conference*, Purdue University, West Lafayette, 507-514.
- Sawyer C.N., McCarty P.L. and Parkin G.F. (1994) *Chemistry for Environmental Engineering*. 4<sup>th</sup> edition. Mc Graw-Hill Book Co. Singapore. 658 pp.
- Schenzle A., Lenke H., Fischer P., Williams P.A. and Knackmuss H.J. (1997). Catabolism of 3-nitrophenol by *Ralstonia eutropha* JMP 134. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**(4), 1421-1427.
- Schmidt S. K., Scow K. M. and Alexander M. (1987). Kinetics of p-nitrophenol mineralization by a *Pseudomonas* sp: Effects of second substrates. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**(11), 2617-2623.
- Schwarzenbach R. P., Stierli R, Folsom B. R. and Zeyer J. (1988). Compounds properties relevant for assessing the environmental partitioning of nitrophenols. *Environmental Science and Technology*, **22**(1), 83-92.
- Segel I.H. (1975). Enzyme Kinetics. Behaviour and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady- State Enzyme Systems. John Wiley & Sons, Inc. pp.35-64.
- Seshadri S. and Bishop P. L. (1994). Anaerobic/aerobic treatment of selected azo dyes in wastewater. *Waste Management*, **14**(2), 127-137.
- Shaul G.M., Holdsworth T. J., Dempsey C.R. and Dostal K. A. (1991). Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process. *Chemosphere*, **22**, 107-119.
- Shen C. F., Summer R. D. and Guiot S. R. (1995). Feasibility of synchronous aerobic/anaerobic processes with a single up flow sludge bed system. *Proceedings 50<sup>th</sup> Industrial Waste Conference*, Purdue University.
- Shelton D. R. and Tiedje J. M. (1984). General method for determining anaerobic biodegradation potential. *Applied and Environmental Microbiology*, **47**(4), 850-857.
- Software HP (1998). Cromatografía de Líquidos. Chem Station A.06. HEWLETT PACKARD.
- Spain J. C., Van Veld P. A., Monti C. A., Pritchard P. H. and Cripe C. R. (1984). Comparison of p-nitrophenol biodegradation in field and laboratory test systems. *Applied and Environmental Microbiology*, **48**(5), 944-950.
- Spain J. C. and Gibson D. T. (1991). Pathway for biodegradation of p-nitrophenol in *Moraxella* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**, 812-819.
- Spain J. C. (1995). Biodegradation of nitroaromatic compounds. *Annual Review Microbiology*, **49**, 523-555.
- Statgraphics 5.0 (1991). Statistics Graphic Corporation.
- Stevenson F.J. (1982). Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. Wiley-Interscience, New York. 443 pp.
- Stolz A., Nortemann B. and Knackmuss H. J. (1992). Bacterial metabolism of 5-aminosalicylic acid: Initial ring cleavage. *Biochemical Journal*, **282**(3), 675-680.
- Stolz A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology Biotechnology*, **56**, 69-80.
- Tai S.K. and Shieh W.K. (1999). Anoxic/oxic biodegradation of aminobenzene. *Journal of Environmental Engineering*, **125**(7), 602-607.

- Tan N. C. G., Prenafeta-Boldú F. X., Opsteeg J. L., Lettinga G., and Field J. A. (1999 a). Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures. *Applied Microbiology Biotechnology*, **51**, 865-871.
- Tan N. C. G., Lettinga G. and Field J. A. (1999 b). Reduction of the azo dye Mordant Orange 1 by methanogenic granular sludge exposed to oxygen. *Bioresource Technology*, **67**, 35-42.
- Tan N.C.G. (2001). *Integrated and sequential anaerobic/aerobic biodegradation of azo dyes*. Ph D thesis. Wageningen University. Wageningen, The Netherlands.
- Tartakovsky B., Guiot S. R. and Sheintuch M. (1998). Modelling and analysis of co-immobilized aerobic/anaerobic mixed cultures. *Biotechnology Progress*, **14**, 672-679.
- Taylor J. and Parkes R. (1983). The cellular fatty acids of the sulphate-reducing bacteria *Desulfobacter* sp., *Desulfobulbus* sp. and *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal General Microbiology*, **129**, 3303-3309.
- Tseng, S.K. and Lin M.R. (1994). Treatment of organic wastewater by anaerobic biological fluidised bed reactor. *Water Science and Technology*, **29**, 157-166.
- Tiedje J. M., Sextone A. J., Parkin T.B., Revsbech N.P. and Shelton D.R. (1984). Anaerobe process in soil. *Plant soil*, **76**, 197-212.
- Todini O. and Pol. L. H. (1992). Anaerobic degradation of benzaldehyde in methanogenic granular sludge: the influence of additional substrates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **38**, 417 - 420.
- Uberoi V., and Bhattacharya S. K. (1997). Toxicity and degradability of nitrophenols in anaerobic systems. *Water Environmental Resource*, **69**, 146-156.
- U.S. E.P.A. (1980). Ambient water quality for nitrophenols. *U.S. Environmental Protection Agency*. Report (EPA) 4405-80-063.
- Von Sperling M. (1996). Principios básicos do tratamento de esgotos. En: *Principios do tratamento biológico de águas residuárias*. Vol. 2. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. 211 pp.
- Weber E. J. and Adams R. L. (1995). Chemical - and sediment-mediated reduction of the azo dye disperse blue 79. *Environmental Science and Technology*, **29**, 1163-1170.
- Weber, E. (1996). Iron-mediated reductive transformations: Investigation of reduction mechanism. *Environmental Science and Technology*, **30**(2), 716-719.
- Weisburger E.K. (1978). Mechanism of chemical carcinogenesis. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, **18**, 395-415.
- Wennemer D. (1996). Ban on clothing containing hazardous azo dyes. *Rheinland World News*.
- Wiggins B. A., Jones S. H. and Alexander M. (1987). Explanations for the acclimation period preceding the mineralization of organic chemical in aquatic environments. *Applied and Environmental Microbiology*. **53** (4): 791-796
- Wilderer P. A. (1995). Technology of membrane biofilm reactors operated under periodically changing process conditions. *Water Science and Technology*, **31**(1), 173-183.
- Woolard C. R. (1997). The advantages of periodically operated biofilm reactors for the treatment of highly variable wastewater. *Water Science and Technology*, **35** (1), 199-206.
- Wu W., Hu J., Gu X., Zhao Y., Zhang H. and Gu G. (1987). Cultivation of anaerobe granular sludge in UASB reactors with aerobic activated sludge as seed. *Water Resource*, **21**, 789-799.
- Wuhrmann K., Meshner K. and Kappeler T. (1980). Investigation on rate determining factors in the microbial reduction of azo dyes. *Applied Microbiology Biotechnology*, **9**, 325-338.

- Zaidi B.R., Murakami Y. and Alexander M. (1988). Factors limiting success of inoculation to enhance biodegradation of low concentrations of organic chemicals. *Environmental Science Technology*, **22**(12), 1419-1425.
- Zaoyan Y., Ke S., Guangliang S., Fan Y., Jinshan D. and Huanian M. (1992). Anaerobic-aerobic treatment of a dye wastewater by combination of RBC with activated sludge. *Water Science and Technology*, **26**(9-11), 2093-2096.
- Zeyer J. and Kearney P. C. (1984). Degradation of o-nitrophenol and m-nitrophenol by a *Pseudomonas putida*. *Journal Agricola Food Chemical*, **32**(2), 238-242.
- Zeyer J., Kocher H. P. and Timmis K.N. (1986). Influence of para-substituents on the oxidative metabolism of o-nitrophenols by *Pseudomonas putida* B2. *Applied and Environment Microbiology*, **52**(2), 334-339.
- Zhang T. C., Fu Y. C., Bishop P. L., Kupferle M., FitzGerald S., Jiang H. H. and Harmer C. (1995). Transport and biodegradation of toxic organics in biofilms. *Journal of Hazardous Materials*, **41**, 267-285.
- Zimmermann T., Gasser F., Kulla H.G. and Leisinger T. (1984). Comparison of 2 bacterial azoreductases acquired during adaptation to growth on azo dyes. *Archives Microbiology*, **138**, 37-43.
- Zitomer D. H. and Speece R. E. (1993). Sequential environments for enhanced biotransformation of aqueous contaminants. *Environmental Science and Technology*, **27**(2), 227-244.
- Zitomer D. H. and Shrout J. D. (1998). Feasibility and benefits of methanogenesis under oxygen-limited conditions. *Waste Management*, **18**(2), 107-116.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# ANEXOS

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

# **ANEXO 1**

## **Resultados Analíticos**

- Anexo 1.1 Resultados analíticos de la operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio en la degradación del PNF
- Anexo 1.2. Resultados analíticos de la operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio en la evaluación de co-sustratos
- Anexo 1.3. Resultados analíticos de la operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio en el tratamiento de un efluente de la industria químico-farmacéutica
- Anexo 1.4. Resultados analíticos de la operación del reactor SBR anaerobio/aerobio con biomasa suspendida par el tratamiento del colorante azul disperso 79

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## ANEXO 1.1. Resultados analíticos de la operación del biofiltro SBB anaerobio/aerobio en la degradación del PNF

Ciclo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	Fase anaerobia						Fase aerobia						
								pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L
1	7	168	24	25.53	2.06	4.32	0	7.38	7.52	69	-340	-	-	7.52	7.58	-340	12	-	-	-
2	8	96	96	26.53	2.06	4.32	0	7.20	7.48	30	-352	-	-	7.48	7.52	-352	10	-	-	-
3	15	72	24	27.13	2.56	6.09	0.32	7.13	7.52	39	-360	-	-	7.52	7.56	-360	15	-	-	-
4	19	48	24	25.45	1.62	6.29	0	7.31	7.56	45	-380	-	-	7.56	7.58	-380	15	-	-	-
5	22	24	24	27.47	1.75	6.98	0	7.25	7.60	40	-365	-	-	7.60	7.68	-365	12	-	-	-
6	25	24	24	27.7	1.73	6.52	0	7.22	7.58	49	-360	-	-	7.58	7.70	-360	14	-	-	-
7	28	24	24	25.55	1.65	6.57	0	7.32	7.52	35	-302	-	-	7.52	7.75	-302	16	-	-	-
8	33	24	24	34.26	1.93	12.73	0	7.28	7.56	40	-324	-	-	7.56	7.70	-324	20	-	-	-
9	36	24	24	39.53	2.36	6.89	0	7.36	7.58	39	-356	-	-	7.58	7.59	-356	25	-	-	-
10	39	30	16	37.78	1.62	5.78	0	7.38	7.57	33	-322	-	-	7.57	7.65	-322	21	-	-	-
11	42	30	16	43.24	0	21.75	0	7.60	7.49	36	-348	-	-	7.49	7.52	-348	15	-	-	-
12	46	72	24	46.09	0.24	25.32	0.61	7.3	7.53	48	-345	-	-	7.53	7.68	-345	14	-	-	-
13	49	48	24	54.22	0	27.15	0.2	7.24	7.60	50	-380	-	-	7.60	7.62	-380	12	-	-	-
14	52	68	8	51.69	0	27.56	0	7.26	7.68	32	-395	-	-	7.68	7.73	-395	10	-	-	-
15	54	40	8	58.05	0	29.47	0.43	7.62	8.01	26	-358	-	-	8.01	8.12	-358	13	-	-	-
16	56	30	8	57.29	0	29.29	0	7.58	8.1	28	-310	-	-	8.1	8.24	-310	10	-	-	-
17	60	90	7	57.77	0	30.1	0	7.17	7.58	32	-350	-	-	7.58	8.17	-350	18	-	-	-
18	62	51	15	59.4	0	31.6	0.38	7.14	7.51	34	-340	-	-	7.51	8.24	-340	20	-	-	-
19	66	72	22	58.28	0	30.79	0	7.46	8.26	29	-336	389	256	8.26	8.58	-336	28	256	42	-
20	69	65	5	55.14	0	30.06	0.1	7.62	7.49	29	-307	395	264	7.49	7.97	-307	10	264	40	-
21	71	45	4	58.49	0	37.28	0.84	7.39	7.29	20	305	382	272	7.29	7.96	305	24	272	40	-
22	72	36	4	56.84	0	36.87	0.15	7.41	7.33	29	-309	369	225	7.33	7.93	-309	12	225	42	-
23	73	36	4	55.77	0	35.92	0	7.49	7.68	25	-329	356	237	7.68	8.57	-329	12	237	38	-
24	75	30	10	54.81	0	36.23	0	7.53	7.76	20	-305	321	229	7.76	8.24	-305	10	229	38	7
25	79	30	10	55.77	0	30.87	0	7.52	7.56	29	-339	329	206	7.56	8.43	-339	10	206	30	-
26	81	30	10	55.77	0	30.89	0	7.5	7.62	25	-328	384	256	7.62	8.23	-328	21	256	36	-
27	83	30	10	55.77	0	34.5	0	7.52	7.76	29	-307	401	270	7.76	8.18	-307	18	270	38	-
28	86	30	10	59.72	0	34.16	0	7.53	7.65	20	305	423	105	7.65	8.16	305	12	105	31	-
29	87	28	10	58.46	0	35.68	0	7.55	7.68	29	-309	375	200	7.68	8.17	-309	14	200	42	-
30	88	28	10	58.46	0	36.45	0	7.09	7.6	25	-328	380	215	7.6	8.16	-328	14	215	28	-

Cielo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	Fase anaerobia				Fase aerobia													
				PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L	
31	90	24	6	62.66	6.66	35.98	0.56	7.29	7.6	36	-266	395	223	7.6	8.39	-266	29	223	36	5	
32	92	24	6	62.13	2.64	35.61	0.62	7.52	7.61	25	-264	387	241	7.61	8.41	-264	20	241	27		
33	94	24	6	59.6	0.43	34.89	0	7.12	8.38	36	-259	385	131	8.38	8.78	-259	29	131	19		
34	97	24	6	59.6	2.86	36.95	0	7.12	8.05	34	-278	412	168	8.05	8.38	-278	25	168	16		
35	98	24	6	60.1	2.91	39.25	0	7.21	8.08	42	-280	406	156	8.08	8.41	-280	20	156	26		
36	99	24	6	59.6	0.5	39.59	0	7.42	8.46	48	-269	395	35	8.46	8.72	-269	28	35	12		
37	101	18	4	60.16	10.04	32.1	0.29	7.65	7.76	49	-276	416	53	7.76	8.34	-276	24	53	14		
38	104	18	4	59.52	9.6	35.1	0.22	7.42	7.87	51	-284	434	36	7.87	8.31	-284	20	36	16	6	
39	106	18	4	59.03	7.03	32.45	0.17	7.45	7.64	45	-299	386	48	7.64	8.05	-299	28	48	29		
40	110	18	4	61.64	3.6	36.7	0	7.75	7.86	40	-292	415	82	7.86	8.11	-292	26	82	32		
41	112	18	4	59.06	2.21	38.2	0	7.89	7.93	35	-286	383	73	7.93	8.16	-286	6	73	46		
42	114	18	4	60.23	1.32	39.2	0	7.78	7.9	26	-289	391	77	7.9	8.19	-289	8	77	37		
43	116	18	4	59.97	0.23	40.45	0	7.69	7.81	28	-298	396	70	7.81	8.2	-298	10	70	32	8	
44	120	18	4	59.59	0.63	41.67	0	7.86	7.96	32	-302	401	79	7.96	8.21	-302	12	79	32		
45	121	18	4	61.75	0.56	42.34	0	7.91	7.99	34	-317	486	82	7.99	8.24	-317	6	82	30		
46	123	18	4	60.23	0.43	42.1	0	7.95	7.96	18	-325	484	86	7.96	8.24	-325	8	86	28		
47	125	18	4	59.96	0.32	42.3	0	7.39	8.1	52	-306	544	80	8.1	8.33	-306	8	80	23		
48	129	16	4	62.32	1.29	39.47	0	7.87	8.05	50	-294	593	89	8.05	8.47	-294	9	89	28	6	
49	135	16	4	61.56	0.88	39.4	0	7.62	8.31	48	-302	526	83	8.31	8.51	-302	6	83	33		
50	138	16	4	60.55	0.66	42.1	0	7.54	8.17	47	-285	519	83	8.17	8.52	-285	9	83	30		
51	141	12	4	58.54	0.75	43.89	0.09	7.75	8.14	44	-289	576	71	8.14	8.25	-289	8	71	25		
52	144	12	4	59.68	0.89	41.69	0	7.80	8.1	40	-298	559	75	8.1	8.23	-298	8	75	27	6	
53	147	12	4	60.25	0.61	41.36	0	7.83	8.16	28	-304	553	76	8.16	8.23	-304	11	76	27		
54	151	10	4	61.04	0.59	41.3	0.03	7.53	8.01	26	-310	550	68	8.01	8.32	-310	10	68	31		
55	155	10	4	61.59	0.76	47.04	0	7.46	7.61	32	-305	523	51	7.61	8.15	-305	11	51	31		
56	156	10	4	61.95	20.15	13.6	3.72	7.95	7.96	35	-306	383	73	7.96	8.24	-306	10	73	30		
57	157	10	4	61.23	30.1	14.2	3.58	7.39	8.1	31	-302	391	77	8.1	8.24	-302	9	77	28		
58	158	10	4	62.03	30	18.35	4.25	7.87	8.05	35	-302	396	70	8.05	8.33	-302	8	70	23		
59	159	10	4	62.1	28.53	18.31	4.98	7.62	8.31	30	-298	401	79	8.31	8.47	-298	6	79	28	6	
60	160	10	4	63.27	26.81	15.69	5.64	7.75	8.17	31	-297	486	82	8.17	8.51	-297	5	82	33		
61	161	10	4	62.89	24.46	10.22	9.02	7.81	8.2	28	-289	484	86	8.2	8.52	-289	7	86	30		
62	162	10	4	61.91	28.69	15.89	11.65	7.82	8.15	24	-298	490	82	8.15	8.43	-298	7	82	25		

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

Ciclo	Dias de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	Fase anaerobia						Fase aerobia										
								pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L				
63	163	10	4	64.3	24.06	9.26	7.6																	
64	164	10	4	63.56	22.68	11.86	4.4																	
65	165	10	4	61.77	22.48	14.67	2.3																	
66	166	10	4	62.01	22.67	13.96	3.98																	
67	167	10	4	62.02	22.64	12.02	6.3																	
68	168	10	4	60.59	24.21	8.99	5.37																	
69	169	8	3.5	61.23	24.01	7.63	3.26																	
70	170	8	3.5	61.84	25.12	2.3	1.34																	
71	171	8	3.5	61.26	20.6	2.39	2.34																	
72	172	8	3.5	61.19	20.17	2.21	1.98																	
73	173	8	3.5	62.8	20.21	1.17	1.1																	
74	174	8	3.5	61.18	21.7	2.85	2.56																	
75	175	8	3.5	63.8	23.58	3.1	2.98																	
76	176	8	3.5	62.83	23.96	3.5	2.79																	
77	177	8	3.5	61.83	22.83	3.54	2.52																	
78	178	8	3.5	62.06	22.39	3.65	3.4																	
79	179	8	3.5	61.16	22.43	3.37	2.98																	
80	180	8	3.5	61.86	22.85	7.36	7																	
81	181	8	3.5	60.8	21.57	6.92	6.75																	
82	182	8	3.5	61.21	12.92	5.97	5.9																	
83	183	8	3.5	61.25	5.92	10.23	6.2	7.85	8.12	7	-297	570	134	8.12	8.59	-296	29	134	30					
84	184	8	3.5	61.46	2.13	22.38	1.5	7.36	8.26	11	-298	584	138	8.26	8.92	-297	20	138	30					
85	185	4	3.5	60.11	4.64	37.06	2.1	7.74	7.78	11	-275	471	67	7.78	8.19	-301	29	67	28					
86	187	4	3.5	61.07	2.12	40.75	1.23	7.35	7.8	11	-295	584	83	7.8	8.26	-306	25	83	30			5		
87	188	4	3.3	61.32	3.16	42.04	1.23	7.67	7.78	10	-289	499	48	7.78	8.25	-297	20	48	31					
88	189	4	3.5	60.52	2.34	42.3	1.81	7.72	7.78	10	-293	426	91	7.78	8.49	-298	28	91	30					
89	190	4	3.5	61.07	1.35	42.56	0.98	7.89	8.21	28	-293	589	103	8.21	8.63	-275	24	103	25					
90	191	4	3.5	59.38	2.8	42.12	0.56	7.13	7.95	38	-302	359	111	7.95	8.04	-95	20	111	30					
91	193	4	3.5	61.41	1.52	42.16	0.5	7.21	8.11	38	-305	550	92	8.11	8.63	-289	28	92	30					
92	194	4	3.5	61.02	2.62	42.13	0.3	7.76	8.1	41	-305	550	92	8.1	8.61	-293	26	92	20					
93	195	4	3.5	61.6	1.96	41.86	0.65	7.71	8.2	39	-302	540	85	8.2	8.59	-293	6	85	15					
94	197	4	3.5	61.5	1.56	43.8	0	7.65	8.23	38	-304	549	76	8.23	8.61	-302	8	76	15					

FALLA DE OPERACIÓN

TITULO  
 PLAN DE  
 MANTENIMIENTO

Ciclo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo De reacción aerobio h	Fase anaerobia				Fase aerobia													
				PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L	
95	198	4	3.5	61.32	1.25	45.6	0	7.59	8.21	37	-258	555	85	85	8.21	8.62	-258	29	85	15	7
96	204	4	3.5	61.8	1.69	40.25	0	7.61	8.36	51	-252	548	74	74	8.36	8.69	-252	20	74	20	
97	210	4	3.5	61.23	1.45	39.68	0	7.69	8.45	50	-243	550	84	84	8.45	8.52	-243	29	84	10	
98	215	4	3.5	61.58	1.73	41.67	0	7.61	8.56	50	-218	550	89	89	8.56	8.73	-218	25	89	10	8
99	220	8	4	61.32	2.1	31.23	0	7.62	8.23	52	-202	550	91	91	8.23	8.66	-202	20	91	15	8
100	225	8	4	61.3	2.62	32.49	0	7.62	8.13	44	-203	550	79	79	8.13	8.51	-203	28	79	10	
101	230	8	4	61.8	2.56	31.56	0	7.66	8.27	48	-201	550	68	68	8.27	8.79	-201	24	68	20	
102	240	8	4	61.23	2.53	31.69	0	7.66	8.12	48	-202	550	53	53	8.12	8.51	-202	20	53	20	
103	245	8	4	61.2	2.39	32.3	0	7.66	8.36	51	-196	556	65	65	8.36	8.52	-196	28	65	20	9
104	246	8	4	72.1	2	48.23	0.08	7.68	8.2	54	-297	520	58	58	8.2	8.54	-297	26	58	20	
105	248	8	4	72.14	1.89	49.53	0.1	7.7	8.2	44	-301	520	56	56	8.2	8.5	-301	6	56	20	
106	250	8	4	72.15	1.98	52.5	0.86	7.75	8.21	50	-306	550	62	62	8.21	8.81	-306	8	62	25	
107	252	8	4	72.75	1.56	52.4	0.56	7.71	8.21	54	-340	540	68	68	8.21	8.75	-340	10	59	25	
108	260	8	4	71.98	1.17	52.3	0.12	7.68	8.23	35	-352	550	59	59	8.23	8.63	-352	12	54	15	8
109	262	8	4	71.97	1.63	51.3	0.14	7.59	8.21	34	-360	531	54	54	8.21	8.42	-360	26	58	15	
110	264	8	4	71.89	1.85	51.56	0.09	7.68	8.24	27	-380	525	58	58	8.24	8.46	-380	28	57	15	
111	266	8	4	71.2	1.58	51.68	0.05	7.69	8.23	33	-365	556	57	57	8.23	8.42	-365	38	49	15	
112	268	8	4	71.98	1.64	52	0	7.7	8.21	25	-360	558	49	49	8.21	8.35	-360	29	46	17	
113	270	8	4	71.98	1.23	53.6	0	7.7	8.19	21	-302	525	46	46	8.19	8.88	-302	26	48	9	
114	272	8	4	71.97	1.87	52	0	7.71	8.19	19	-324	514	48	48	8.19	8.82	-324	39	46	8	7
115	274	8	4	72.1	1.06	52	0	7.71	8.23	14	-356	536	46	46	8.23	8.79	-356	38	47	9	
116	276	8	4	72.1	1.23	51.56	0	7.68	8.22	25	-322	528	47	47	8.22	8.81	-322	28	44	10	
117	278	8	4	72.14	1.09	52.09	0	7.65	8.12	34	-348	528	44	44	8.12	8.27	-348	41	45	10	
118	280	8	4	72.56	1.03	52.31	0.02	7.7	8.24	25	-345	532	45	45	8.24	8.71	-345	40	51	15	
119	282	8	4	72.1	1.03	51.4	0	7.68	8.2	23	-380	551	51	51	8.2	8.72	-380	21	51	15	
120	284	8	4	72.08	1.02	50.8	0	7.7	8.2	41	-395	556	51	51	8.2	8.61	-395	10	53	15	8
121	286	8	4	71.98	1.01	50.12	0	7.69	8.2	36	-358	548	53	53	8.2	8.56	-358	19	50	10	
122	288	8	4	71.98	1.04	50.44	0	7.71	8.2	23	-310	547	50	50	8.2	8.45	-310	28	58	15	
123	290	8	4	71.87	1.08	50.12	0.56	7.72	8.2	26	-350	544	58	58	8.2	8.56	-350	26	66	15	
124	292	8	4	72.21	0.89	51.23	0.98	7.75	8.21	31	-340	564	66	66	8.21	8.75	-340	25	58	15	
125	295	8	4	72.19	0.91	51.56	0.75	7.71	8.21	21	-336	569	58	58	8.21	8.65	-336	27	59	15	
126	296	8	4	79.42	0.93	59.12	0.23	7.68	8.23	27	-307	565	59	59	8.23	8.56	-307	27	62	20	

TESIS CON  
 FALLA DE OMBON

Ciclo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	PNF				PAF				Fase anaerobia				Fase aerobia				SSV Efluente mg/L
				Influyente mg/L	Efluente mg/L	Formado mg/L	Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	
127	298	8	4	79.89	0.94	50.03	0.15	7.59	8.21	17	-256	567	62	8.21	8.65	-256	6	62	20	6
128	300	8	4	79.58	0.87	51.2	0.23	7.68	8.24	11	-263	502	62	8.24	8.64	-263	4	65	15	
129	302	8	4	79.64	0.71	59.87	0	7.69	8.23	10	-298	502	65	8.23	8.6	-298	15	64	15	
130	304	8	4	79.69	0.58	59.78	0	7.69	8.01	10	-298	512	64	8.01	8.62	-298	19	68	15	
131	306	8	4	79.86	0.63	60.17	0	7.67	7.81	12	-302	543	68	7.81	8.41	-302	17	68	15	
132	308	8	4	82.13	0.54	56.2	0	7.71	8	14	-303	521	68	8	8.45	-303	8	70	15	
133	310	8	4	83.12	0.89	57.1	0.32	7.68	8.01	28	-310	563	70	8.01	8.32	-310	5	75	15	
134	312	8	4	81.91	1.07	58.02	0.58	7.71	8.1	18	-322	572		8.1	8.54	-322	11	70	10	6
135	314	8	4	80.23	1.01	58.3	0	7.69	8.15	15	-298	568	75	8.15	8.56	-298	19	72	10	
136	316	8	4	82.64	0.92	61.23	0	7.7	8.21	14	-297	565	70	8.21	8.47	-297	17	60	10	
137	318	8	3.5	82.53	1.68	60.98	0	7.25	8.1	14	-331	535	72	8.1	8.4	-331	15	56	10	
138	320	8	3.5	82.69	0.89	61.04	1.12	7.23	8.12	10	-324	520	60	8.12	8.41	-324	6	60	10	
139	321	8	3.5	82.36	0.89	61.23	1.16	7.2	8.15	24	-329	525	56	8.15	8.4	-329	14	62	5	
140	322	8	3.5	82.43	1.66	62	0.55	7.3	8.1	15	-312	511	60	8.1	8.4	-312	16	65	5	
141	323	6	4	82.57	0.72	61.14	0.22	7.25	7.61	14	-308	540	62	7.61	8.37	-308	11	68	5	
142	325	6	4	82.49	0.82	61.43	0.09	7.09	7.89	17	-322	524	65	7.89	8.38	-322	20	84	5	6
143	328	6	4	82.58	1	61.65	0.18	7.06	7.75	23	-301	520	68	7.75	8.36	-301	22	78	5	
144	330	6	4	82.03	0.98	61.56	0	7.22	7.86	25	-298	520	84	7.86	8.41	-298	15	93	5	
145	331	6	4	82.12	1.23	61.97	1.83	7.2	7.93	21	-302	520	78	7.93	8.45	-302	8	91	5	
146	332	6	4	80.18	0.96	60.23	0.03	7.2	7.86	19	-294	520	93	7.86	8.47	-294	23	149	5	
147	333	4	3.5	92.16	2.25	61.23	0.26	7.2	7.85	14	-258	530	91	7.85	8.47	-258	18	120	5	
148	336	4	3.5	91.59	1.84	61.4	0.09	7.3	7.79	25	-245	511	149	7.79	8.56	-245	14	99	10	
149	338	4	3.5	92.12	1.05	60.23	0	7.24	7.87	34	-248	520	120	7.87	8.54	-248	10	80	10	
150	340	4	3.5	90.41	1.02	60.6	0	7.26	7.9	25	-265	515	99	7.9	8.6	-265	10	70	10	5
151	342	4	3.5	92.01	1.08	61.82	0	7.3	7.78	23	-280	530	80	7.78	8.56	-280	12	78	10	
152	344	4	3.5	92.05	1.03	60.86	0	7.2	7.85	41	-295	526	70	7.85	8.61	-295	8	74	10	
153	346	4	3.5	91.53	1.08	62.6	0	7.3	7.91	36	-258	568	78	7.91	8.64	-258	9	60	10	
154	347	4	3.5	90.2	1.13	64.8	0	7.4	7.94	23	-261	556	74	7.94	8.56	-261	10	52	10	
155	348	4	3.5	90.68	0.57	63.56	0	7.4	7.78	26	-250	544	60	7.78	8.5	-250	14	65	10	
156	349	4	3.5	92.45	1.82	65.3	0	7.3	7.98	31	-340	565	52	7.98	8.49	-340	16	68	5	
157	352	4	3.5	91.87	1.04	65.89	0	7.2	7.98	21	-336	556	65	7.98	8.52	-336	22	70	5	
158	354	4	3.5	92.08	1.74	65.1	0	7.16	8.1	27	-307	552	68	8.1	8.61	-307	24	85	5	

IMPRESO CON  
 PASTA DE CANGREN

Ciclo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobia h	Tiempo de reacción aerobia h	Fase anaerobia				Fase aerobia												
				PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L
159	356	4	3.5	91.87	1.23	66.47	0	7.36	8.02	23	-256	516	70	8.02	8.56	-256	12	80	5	5
160	357	4	3.5	92.08	1.11	68.23	0	7.36	8.01	34	-263	550	85	8.01	8.45	-263	8	78	5	
161	358	4	3.5	100	0	55.09	0	7.35	8.05	25	-298	522	80	8.05	8.57	-298	12	80	5	
162	363	4	3.5	100	0	52.05	0	7.2	8.68	26	-298	549	78	8.68	8.92	-298	14	78	5	
163	366	4	3.5	99.68	0	54.62	0	7.2	8.82	30	-302	522	78	8.82	8.94	-302	19	75	5	5
164	369	4	3.5	99.7	0	58.69	0	7.25	8.72	32	-303	555	80	8.72	8.92	-303	21	80	5	
165	372	4	3.5	99.86	0	59.32	0	7.52	8.89	34	-310	520	78	8.89	8.95	-310	14	80	5	
166	375	4	3.5	100.1	0	61.39	0	7.21	8.76	22	-322	522	75	8.76	8.86	-322	18	74	5	
167	378	4	3.5	101.2	0	62.45	0	7.32	8.82	18	-298	555	80	8.82	8.91	-298	12	78	10	
168	381	4	3.5	100.3	0	66.23	0	7.34	8.67	14	-297	520	80	8.67	8.93	-297	8	80	10	
169	384	4	3.5	100.4	0	66.55	0	7.36	8.62	19	-331	549	74	8.62	8.95	-331	8	78	10	9
170	387	16	7.5	102.36	0	66.91	0	7.34	8.86	25	-324	522	78	8.86	8.97	-324	6	75	10	
171	390	16	7.5	102	0	69.36	0	7.12	8.62	27	-329	555	80	8.62	8.86	-329	10	82	10	
172	393	16	7.5	100.3	0	70.12	0	7.24	8.63	35	-312	520	78	8.63	8.78	-312	17	80	5	
173	396	7	4.5	99.54	0	71.15	0	7.38	8.09	32	-308	549	75	8.09	8.47	-308	18	88	5	8
174	399	7	4.5	99.78	0	70.65	5.4	7.12	8.18	18	-322	522	82	8.18	8.56	-322	9	84	5	
175	402	7	4.5	99.63	0	72.5	5.8	7.18	7.98	16	-301	555	80	7.98	8.54	-301	10	80	5	
176	405	7	4.5	100.35	0	71.35	6.8	7.19	7.98	26	-298	520	88	7.98	8.6	-298	12	88	10	
177	408	7	4.5	100.45	0	70.69	7.2	7.2	7.98	24	-302	522	84	7.98	8.56	-302	18	84	10	
178	411	7	4.5	100.8	0	70.32	6.3	7.21	7.94	32	-294	550	80	7.94	8.61	-294	25	80	0	7
179	414	7	4.5	99.01	0	70.45	8.1	7.24	7.94	32	-258	520	88	7.94	8.64	-258	23	88	0	
180	417	7	4.5	98.97	0	69	1.12	7.18	7.98	26	-245	522	84	7.98	8.56	-245	12	86	0	
181	420	7	4.5	99.87	0	69.56	1.16	7.18	7.99	28	-248	550	80	7.99	8.5	-248	19	86	15	
182	423	7	4.5	98.89	0	68.54	1.36	7.23	7.78	19	-265	557	88	7.78	8.49	-265	27	88	15	7
183	426	4.5	3	99.75	0	67	1.69	7.23	7.89	28	-280	586	86	7.89	8.52	-280	22	100	15	
184	429	4.5	3	99.54	0	69.25	0.98	7.12	7.92	32	-295	585	86	7.92	8.61	-295	18	120	15	
185	432	4.5	3	99.78	0	68.95	0.87	7.24	7.94	36	-258	586	88	7.94	8.56	-258	7	80	15	
186	435	4.5	3	99.17	0	68.23	0.56	7.23	7.83	34	-261	587	100	7.83	8.6	-261	10	85	15	
187	438	4.5	3	100.2	0	69.78	0.45	7.24	7.86	37	-250	585	120	7.86	8.62	-250	12	85	5	6
188	441	4.5	3	100.53	0	70.12	0.1	7.24	7.86	31	-340	585	80	7.86	8.41	-340	14	90	20	
189	444	4.5	3	100.35	0	71.25	0.12	7.26	7.95	32	-336	574	80	7.95	8.45	-336	10	95	10	
190	447	4.5	3	100.96	0	72.32	0.1	7.32	7.91	28	-307	575	85	7.91	8.32	-307	8	98	10	

Ciclo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	Fase anaerobia						Fase aerobia						SSV Efluente mg/L
								pH Inicial	pH Final	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial	pH Final	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	
191	450	4.5	3	100.78	0	72	0.1	7.21	7.9	32	-266	574	85	7.9	8.54	-266	15	88	10	
192	453	4.5	3	100.23	0	72.45	0	7.24	7.86	36	-253	580	90	7.86	8.56	-253	14	88	0	6
193	456	4.5	3	100.54	0	71.98	0	7.28	7.97	40	-278	581	95	7.97	8.47	-278	10	92	0	
194	458	4.5	3	100.25	0	71.28	0	7.23	7.95	40	-293	582	98	7.95	8.4	-293	12	90	0	
195	459	4.5	3	100.85	0	72.65	0	7.26	7.95	45	-308	586	88	7.95	8.41	-308	8	80	0	
196	461	4.5	3	100.65	0	73.02	0	7.32	7.96	51	-313	586	88	7.96	8.4	-313	6	81	0	
197	462	4.5	3	124.56	0	69.85	0	7.24	7.85	36	-323	598	92	7.85	8.4	-323	9	80	0	
198	463	4.5	3	124.96	0	68.5	0	7.12	7.85	39	-324	588	90	7.85	8.37	-324	14	90	0	
199	464	4.5	3	125.1	0	70.63	0	7.05	7.74	45	-298	589	80	7.74	8.38	-298	17	80	0	
200	465	4.5	3	124.69	0	70.6	0	7.19	7.85	51	-292	568	81	7.85	8.36	-292	15	86	0	
201	466	4.5	3	124.56	0	73.56	0	7.27	7.87	52	-328	568	80	7.87	8.41	-328	18	85	0	
202	467	16	8	124.89	0	78	0	7.21	7.85	46	-323	565	90	7.85	8.57	-323	21	87	0	8
203	468	16	8	125	0	85.21	0	7.24	7.84	32	-329	565	80	7.84	8.24	-329	20	87	0	
204	469	16	8	125.1	0	85.45	0	7.28	7.96	25	-312	570	86	7.96	8.43	-312	13	87	0	
205	470	16	8	125.1	0	87.69	0	7.28	7.89	26	-339	572	85	7.89	8.23	-339	7	91	0	
206	471	8	3.5	124.68	0	87.23	0	7.16	7.91	24	-322	570	87	7.91	8.18	-322	4	91	0	
207	472	8	3.5	125.3	0	87.85	0	7.15	7.96	14	-321	574	87	7.96	8.16	-321	15	91	0	
208	473	8	3.5	125.1	0	87.49	0	7.16	7.98	18	-298	572	87	7.98	8.17	-298	14	100	0	
209	474	8	3.5	124.96	0	87.26	0	6.8	7.91	25	-302	568	91	7.91	8.16	-302	12	100	0	
210	475	7	4.5	126.2	1.36	87.25	0	6.82	7.43	29	-314	568	91	7.43	8.39	-314	8	80	0	
211	476	7	4.5	125	0.56	87.56	0	6.9	7.4	24	-318	560	91	7.4	8.41	-318	14	80	0	
212	477	12	11.5	125	0.38	87.65	0	6.9	7.4	27	-315	590	100	7.4	8.78	-315	10	80	0	
213	478	12	11.5	125	0.21	87.01	0	7.1	7.5	29	-258	580	100	7.5	8.38	-258	12	85	0	
214	479	12	11.5	125	0.42	88.23	0	7.1	7.5	38	-265	560	80	7.5	8.41	-265	8	95	0	
215	480	12	11.5	125	0.56	89.3	0	7	7.4	30	-280	570	80	7.4	8.72	-280	8	95	0	
216	481	12	11.5	126	8.15	89.56	0	7.2	7.5	26	-295	580	80	7.5	8.34	-295	6	110	25	
217	482	12	11.5	126	6.42	89.3	0	7.1	7.5	27	-258	560	85	7.5	8.31	-258	10	100	25	7
218	483	4	3.5	126	7.25	89.1	0	7.2	7.4	30	-261	590	95	7.4	8.05	-261	14	100	25	
219	484	4	3.5	127	2.15	86.78	0	7.3	7.5	35	-250	570	95	7.5	8.11	-250	13	110	25	
220	485	4	3.5	126.8	0.69	86.49	0	7.4	7.5	45	-340	580	95	7.5	8.16	-340	16	100	30	
221	486	4	3.5	126.5	7.26	86.23	0	7.2	7.5	47	-336	580	110	7.5	8.19	-336	20	80	20	

TESIS COM  
 PARA TITULAR

Ciclo	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	Fase aerobia				Fase anaerobia												
				PNF influente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L
222	487	4	3.5	127	8.34	89.64	0	6.8	7.5	-42	-323	580	100	7.5	8.2	-323	20	80	15	
223	488	4	3.5	126	8	89.78	0	6.96	7.56	-46	-289	580	100	7.56	8.21	-289	12	110	15	
224	489	4	3.5	125	7.1	88.56	0	7.2	7.5	38	-293	540	110	7.5	8.24	-293	15	104	15	
225	490	4	3.5	126	8.15	88.23	0	7.27	7.39	40	-298	650	100	7.39	8.24	-298	18	104	15	
226	491	4	3.5	125	8.2	86.7	0	7.1	7.4	45	-328	540	80	7.4	8.33	-328	13	-	-	
227	492	4	3.5	124	8.1	86.12	0	7.1	7.4	51	-302	520	80	7.4	8.47	-302	9	-	-	
228	493	8	3.5	123.72	3.32	87.8	0	7.1	7.8	36	-313	520	110	7.8	8.51	-313	10	-	-	
229	494	8	3.5	175.2	0	84.75	21.89	6.6	7.4	39	-320	600	104	7.4	8.52	-320	12	-	-	
230	495	8	3.5	175	0	98.95	15	6.7	7.8	45	-322	602	104	7.8	8.25	-322	14	-	-	34
231	496	8	3.5	175	0	100.45	14	6.7	7.7	51	-318	650	100	7.7	8.23	-318	12	-	-	
232	497	8	3.5	175	0	105.6	18	6.7	7.8	52	-297	650	80	7.8	8.23	-297	10	-	-	
233	498	8	3.5	175	0	114.9	20	7.1	7.95	46	-311	670	80	7.95	8.32	-311	8	-	-	
234	499	8	3.5	176	0	118.25	20	7.1	7.8	32	-324	660	60	7.8	8.15	-324	8	-	-	
235	500	8	3.5	175	0	122.6	20	7.1	7.63	25	-329	650	60	7.63	8.59	-329	4	-	-	
236	501	8	3.5	176	0	120	15	7	7.8	26	-302	660	50	7.8	8.92	-302	6	-	-	
237	502	8	3.5	175	0	121.67	15.08	7.1	7.91	22	-308	660	60	7.91	8.19	-308	8	-	-	
238	503	8	3.5	175	0	120.58	12.62	6.76	7.61	24	-322	670	65	7.61	8.26	-322	12	-	-	
239	504	12	11.5	225	0.63	145	140	7	7.54	28	-301	700	70	7.54	8.25	-301	14	-	-	
240	505	12	11.5	225	4.5	150	142.93	7	7.5	35	-298	700	75	7.5	8.49	-298	20	-	-	
241	506	12	11.5	225	0.63	152	140	7.22	7.9	29	-302	840	80	7.9	8.63	-302	12	-	-	
242	507	12	11.5	225	4.5	150	142.93	7.18	7.9	24	-294	770	80	7.9	8.04	-294	8	80	10	
243	508	12	11.5	225	6.3	152	142	7.68	8.24	37	-258	760	82	8.24	8.63	-258	8	71	10	
244	509	12	11.5	225	6.5	155	149	7.69	8.23	39	-245	770	78	8.23	8.61	-245	10	75	10	48
245	510	4	3.5	60	0	35.12	0	7.69	8.01	38	-248	270	80	8.01	8.59	-248	10	85	0	
246	511	4	3.5	60	0	36.4	0	7.67	7.81	50	-265	254	82	7.81	8.61	-265	12	90	0	
247	512	4	3.5	60	0	37	0	7.71	8	56	-280	265	71	8	8.52	-280	5	103	0	
248	513	4	3.5	60	0	38	0	7.68	8.01	57	-295	265	80	8.01	8.69	-295	9	80	0	
249	514	4	3.5	60	0	38	0	7.71	8.1	43	-258	304	71	8.1	8.52	-258	5	70	0	
250	515	4	3.5	60	0	37	0	7.69	8.15	45	-261	362	75	8.15	8.73	-261	10	70	0	
251	516	4	3.5	60	0	39	0	7.7	8.21	45	-250	290	85	8.21	8.66	-250	12	60	0	7
252	517	4	3.5	60	0	39	0	7.25	8.1	47	-340	290	90	8.1	8.51	-340	10	60	0	

Ciclo	Dias de operación	Tiempo de reacción anaerobio h	Tiempo de reacción aerobio h	Fase anaerobia				Fase aerobia												
				PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	PAF Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	SSV Efluente mg/L
255	520	8	3.5	124.56	0	59.03	0	7.3	8.1	32	-256	598	70	8.1	8.52	-256	23	70	0	6
256	521	8	3.5	124.96	0	63.5	0	7.25	7.61	26	-253	588	70	7.61	8.54	-253	25	70	0	
257	522	8	3.5	125.1	0	66.35	0	7.09	7.89	27	-268	589	60	7.89	8.5	-268	36	60	0	
258	523	8	3.5	124.69	0	66.58	0	7.06	7.75	21	-274	568	60	7.75	8.03	-274	34	60	0	
259	524	8	3.5	124.56	0	67.8	0	7.22	7.86	30	-295	568	45	7.86	8.63	-295	22	45	0	
260	525	8	3.5	124.89	0	68.95	0	7.2	7.93	19	-303	565	45	7.93	8.56	-303	29	45	0	
261	526	8	3.5	125	0	77.58	0	7.25	7.96	22	-311	565	45	7.96	8.47	-311	39	45	0	
262	527	8	3.5	125.1	0	78.56	0	7.21	7.97	28	-316	572	45	7.89	8.82	-316	29	45	0	
263	528	8	3.5	125.1	0	77.69	0	7.33	7.98	29	-302	570	55	7.97	8.89	-302	22	55	0	
264	526	8	3.5	125	0	78.96	0	7.31	7.98	33	-297	570	50	7.98	8.82	-297	27	50	0	

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

ANEXO 1.2. Resultados analíticos de la evaluación de co-sustratos

CO-SUSTRATO: AC. PROPIONICO

Ciclo	Fase anaerobia									Fase aerobia									
	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente Unidades	pH Efluente Unidades	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Influyente mg/L	PAF Efluente mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV
1	48.13	11.67	11.04	6.28	7.2	151	50	112.1	-288	11.67	2.46	11.04	0.29	7.2	7.22	50	28	-288	29.3
2	48.56	2.74	14.21	6.66	7.24	217	76	71.4	-324	2.74	0	14.21	0	7.24	7.3	76	13	-324	12
3	48	0	26.4	6.71	7.1	145	50	322.2	-298	0	0	26.4	0	7.1	7.32	50	4	-298	14
4	48	0	26.4	6.66	7.32	193	65	48.5	-307	0	0	26.4	0	7.32	7.6	65	12	-307	16
5	50.02	0	26.1	6.65	7.24	168	50	35	-298	0	0	26.1	0	7.24	7.6	50	8	-298	14
6	48	0	26.4	6.66	7.23	156	55	40.2	-289	0	0	26.4	0	7.23	7.7	55	15	-289	21
7	48	0	24.52	6.6	7.4	165	57	58.9	-324.8	0	0	24.52	0	7.4	7.65	57	19	-324	8
8	48	0	26.4	6.4	7.32	176	50	22.8	-310	0	0	26.4	0	7.32	7.8	50	22	-310	11
9	48	0	21.58	6.6	7.1	200	65	33	-303	0	0	21.58	0	7.1	7.2	65	16	-303	19
10	48	0	26.4	6.66	7.32	193	65	48.5	-307	0	0	26.4	0	7.32	7.6	65	18	-307	21
11	48.13	0	21.04	6.28	7.2	151	50	112.1	-301	0	0	21.04	0	7.2	7.5	50	21	-301	18
12	48.56	0	24.21	6.66	7.24	217	76	71.4	-324	0	0	24.21	0	7.24	7.5	76	36	-324	12
13	50.02	0	26.1	6.65	7.24	168	50	35	-308	0	0	26.1	0	7.24	7.35	50	21	-308	8
14	48	0	26.4	6.66	7.39	156	55	27	-301	0	0	26.4	0	7.39	7.42	55	20	-301	10
15	48	0	24.52	6.6	7.4	165	57	58.9	-303	0	0	24.52	0	7.4	7.52	57	20	-303	11
16	48	0	26.4	6.62	7.32	176	50	28	-320	0	0	26.4	0	7.32	7.46	50	20	-320	15
17	48	0	21.58	6.6	7.1	184	65	33	-324.9	0	0	21.58	0	7.1	7.32	65	16	-325	16
18	49.98	0	23.56	5.6	7.08	158	61	9.5	-314	0	0	23.56	0	7.08	7.21	61	15	-314	17
19	48	0	26.4	5.9	7.06	175	65	15.6	-308	0	0	26.4	0	7.06	7.21	65	19	-308	11
20	49.48	0	23.61	5.6	7.15	160	62	26	-295	0	0	23.61	0	7.15	7.3	62	23	-295	10
21	50.02	0	26.1	6.65	7.24	168	50	35	-298	0	0	26.1	0	7.24	7.39	50	6	-298	18
22	48	0	26.4	6.66	7.13	156	55	16.6	-306	0	0	26.4	0	7.13	7.31	55	8	-306	5
23	48	0	24.52	6.6	7.4	165	57	58.9	-303	0	0	24.52	0	7.4	7.5	57	10	-303	8
24	48	0	26.4	6.56	7.26	176	50	20.8	-314	0	0	26.4	0	7.26	7.32	50	10	-314	9
25	48	0	21.58	6.6	7.1	172	65	33	-324.9	0	0	21.58	0	7.1	7.23	65	10	-324	9
26	48	0	26.4	6.62	7.35	170	70	32	-318	0	0	26.4	0	7.35	7.45	70	23	-318	8
27	50.02	0	26.1	6.65	7.24	168	50	35	-298	0	0	26.1	0	7.24	7.36	50	12	-298	10
28	48	0	26.4	6.66	7.35	156	55	335	-315	0	0	26.4	0	7.35	7.45	55	8	-315	10
29	48	0	24.52	6.6	7.4	165	57	58.9	-303	0	0	24.52	0	7.4	7.56	57	9	-303	10

TESIS N°  
 TALLA DE COLOM

## CO-SUSTRATO: AC. ACÉTICO

Ciclo	Fase anaerobia										Fase aerobia									
	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Influyente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV	
1	49.75	9.2	5.13	7.96	7.64	368	63	16.6	-75.3	9.2	0.31	5.13	0.29	7.64	8.19	63	10	-275.3	63.5	
2	51.15	7.13	9.68	7.87	7.7	312	82	12	-285	7.13	0.32	9.68	0.27	7.7	8.16	82	15	-285	31	
3	51.14	6.34	11.74	7.87	7.69	312	75	12	-301	6.34	0	11.74	0.06	7.69	8.2	75	10	-301	28	
4	53.74	2.16	15.8	7.7	7.55	362	69	28	-311	2.16	0	15.8	0	7.55	8.2	69	12	-311.1	32	
5	53.21	3.56	15.3	7.65	7.71	394	73	35	-320	3.56	0	15.3	0	7.71	8.21	73	15	-320	10	
6	53.74	2.16	15.8	7.7	7.55	370	69	30	-311	2.16	0.43	15.8	0	7.55	8.16	69	10	-311.1	22	
7	53.65	2.21	23.27	7.7	7.29	333	77	33.1	-322	2.21	0	23.27	0	7.29	8.23	77	12	-322.7	32	
8	53.74	2.16	22.91	7.7	7.55	380	69	29	-311	2.16	0	22.91	0	7.55	8.21	69	12	-311.1	36	
9	53.74	2.16	23.12	7.7	7.55	375	69	26	-311	2.16	0	23.12	0	7.55	8.22	69	12	-311.1	18	
10	52.92	8.56	21.57	7.83	7.6	369	61	26.2	-254	8.56	0.2	21.57	0.2	7.6	8.23	61	14	-254.3	12	
11	53.64	7.26	20	7.47	7.64	352	50	39.7	-294.5	7.26	0	20	0.14	7.64	8.19	50	10	-294.5	24	
12	50.93	2.29	23.3	8.21	7.22	542	76	7.5	-318.8	2.29	0	23.3	0.08	7.22	8.2	76	12	-318.8	30	
13	51.94	8.56	15.17	7.83	7.6	369	61	26.2	-254.3	8.56	0.22	15.17	0	7.6	8.26	61	10	-254.3	25	
14	50.34	8.92	18.03	7.27	7.79	458	150	64.4	-260.3	8.92	0.19	18.03	0	7.79	8.21	150	20	-260.3	14	
15	52.63	8.56	15.17	7.83	7.6	369	61	26.2	-254.3	8.56	0.18	15.17	0	7.6	8.24	61	15	-254.3	21	
16	53.1	8.56	15.17	7.83	7.6	369	61	26.2	-254.3	8.56	0.18	15.17	0.13	7.6	8.19	61	15	-254.3	16	
17	50.75	9.2	18.13	7.96	7.64	268	63	16.6	-75.3	9.2	0.31	18.13	0.29	7.64	8.2	63	10	-75.3	25	
18	53.4	7.26	20	7.47	7.64	352	50	39.7	-294.5	7.26	0.1	20	0.09	7.64	8.23	50	10	-294.5	32	
19	50.75	9.2	21.56	7.96	7.64	268	63	16.6	-325	9.2	0.31	21.56	0.29	7.64	8.19	63	10	-325	35	
20	53.2	4.29	19.91	7.62	8.13	412	136	35.1	-219.4	4.29	0	19.91	0	8.13	8.16	136	25	-219.4	31	
21	52.9	8.56	15.17	7.83	7.6	369	61	26.2	-254.3	8.56	0.14	15.17	0	7.6	8.2	61	10	-254.3	21	
22	52.9	3.72	21.87	7.84	7.65	408	147	33.6	-259.8	3.72	0	21.87	0	7.65	8.21	147	10	-259.8	24	
23	50.26	5.2	15.13	7.96	7.64	356	63	16.6	-275	5.2	0.31	15.13	0	7.64	8.22	63	10	-275	12	
24	50.68	6.12	15.09	7.33	7.7	361	67	37	-267	6.12	0	15.09	0.17	7.7	8.25	67	10	-267	14	
25	50.92	8.56	15.17	7.83	7.6	369	61	26.2	-254.3	8.56	0.14	15.17	0	7.6	8.21	61	10	-254.3	18	
26	50.8	7.26	20	7.47	7.64	352	50	39.7	-294.5	7.26	0.02	20	0	7.64	8.23	50	12	-294.5	16	
27	51.04	5.16	22.5	7.86	7.65	356	56	13.6	-280.1	5.16	0	22.5	0.1	7.65	8.26	56	12	-280.1	18	
28	52.3	8.56	15.17	7.83	7.6	369	61	26.2	-254.3	8.56	0.13	15.17	0	7.6	8.2	61	12	-254.3	10	
29	51.87	9.2	15	7.96	7.64	380	63	28	-275	9.2	0.31	15	0.06	7.64	8.19	63	10	-275	15	

TESIS COM  
 PATRICIA GARCIA  
 GARCIA

## CO-SUSTRATO: AGUA RESIDUAL

Cielo	Fase anaerobia										Fase aerobia								
	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Influyente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV
1	43.86	30.14	8.81	6.66	6.86	288	109	61	-189.1	30.14	28.65	8.81	0.21	6.86	7.02	109	40	-189.1	12
2	52.68	18.25	5.96	6.6	7.33	242	58	44	-150.3	18.25	17.53	5.96	0.12	7.33	7.47	58	12	-150.3	25
3	51.69	22.32	5.67	6.54	6.73	234	84	30	-228	22.32	20.36	5.67	0	6.73	6.95	84	20	-228	12
4	52.3	19.56	4.29	6.68	7	198	110	56	-273	19.56	15.64	4.29	0	7	7.24	110	50	-273	10
5	51	21.21	6.23	6.71	6.89	159	69	22	-260	21.21	19.56	6.23	0.08	6.89	7.21	69	20	-260	8
6	4	19.58	8.12	6.58	6.89	165	81	42	-228	19.58	17.58	8.12	0.11	6.89	7.12	81	10	-228	6
7	52.13	20.78	9.54	6.69	6.98	196	89	65	-273	20.78	18.63	9.54	0.16	6.98	7.25	89	15	-273	12
8	54.21	21.56	6.71	6.78	7.02	185	81	56	-278	21.56	19.56	6.71	0.09	7.02	7.26	81	18	-278	11
9	52.11	22.34	7.12	6.71	7.15	176	58	58	-280	22.34	20.36	7.12	0.23	7.15	7.34	58	18	-280	12
10	52	19.74	8.12	6.68	7.06	211	74	45	-256	19.74	15.69	8.12	0.29	7.06	7.28	74	15	-256	20
11	50.36	19.63	6.53	6.63	7.45	206	79	25	-276	19.63	14.69	6.53	0.36	7.45	7.56	79	10	-276	25
12	50.89	18.25	5.96	6.645	7.23	213	62	65	-275	18.25	15.63	5.96	0.45	7.23	0.35	62	10	-275	30
13	50.65	15.14	2.77	6.78	7.18	197	69	56	-285	15.14	12.98	2.77	0.08	7.18	7.36	69	15	-285	25
14	49.56	16.37	3.56	6.89	7.02	186	70	45	-259	16.37	13.65	3.56	0.03	7.02	7.19	70	9	-259	25
15	50.65	21.69	2.13	6.45	7.21	171	68	44	-265	21.69	18.76	2.13	0	7.21	7.34	68	8	-265	12
16	53.65	19.68	4.56	6.64	7	222	55	62	-278	19.68	17.65	4.56	0	7	7.19	55	8	-278	17
17	52.3	20.56	8.56	6.67	7.12	221	69	64	-260	20.56	18.69	8.56	0.23	7.12	7.29	69	4	-260	19
18	51	21.78	6.25	6.69	7.23	223	65	62	-212	21.78	19.56	6.25	0.08	7.23	7.32	65	8	-212	8
19	54.3	24.36	5.47	6.58	7.1	224	63	64	-223	24.36	16.78	5.47	0	7.1	7.31	63	10	-223	6
20	52.13	28.63	6.54	6.49	7.3	215	68	72	-232	28.63	23.01	6.54	0.03	7.3	7.47	68	15	-232	12
21	54.21	21.13	6.21	6.78	7.12	219	75	70	-256	21.13	18.73	6.21	0.09	7.12	7.4	75	12	-256	10
22	52.11	19.65	5.89	6.54	7.36	220	79	72	-249	19.65	16.3	5.89	0.08	7.36	7.46	79	10	-249	5
23	52	19.78	5.37	6.71	7.16	221	85	68	-278	19.78	16.8	5.37	0	7.16	7.36	85	12	-278	12
24	53.26	18.75	6.51	6.72	7.05	213	91	66	-256	18.75	15.36	6.51	0.18	7.05	7.25	91	17	-256	14
25	52.1	19.63	7.23	6.78	7.19	235	23	64	-235	19.63	16.91	7.23	0.28	7.19	7.35	23	5	-235	14
26	53.2	19.59	6.57	6.13	7.2	246	54	46	-246	19.59	17.89	6.57	0.25	7.2	7.46	54	10	-246	10
27	54.2	19.63	6.01	6.58	7.06	251	58	49	-265	19.63	15.69	6.01	0.26	7.06	7.28	58	10	-265	10
28	55.31	21.06	5.98	6.81	7.07	262	132	60	-273	21.06	18.76	5.98	0.23	7.07	7.26	132	53	-273	12
29	55.02	21.78	6.54	6.56	7.22	254	85	64	-265	21.78	18.65	6.54	0.18	7.22	7.37	85	24	-265	8

1985  
 1986  
 1987  
 1988  
 1989  
 1990  
 1991  
 1992  
 1993  
 1994  
 1995  
 1996  
 1997  
 1998  
 1999  
 2000  
 2001  
 2002  
 2003  
 2004  
 2005  
 2006  
 2007  
 2008  
 2009  
 2010  
 2011  
 2012  
 2013  
 2014  
 2015  
 2016  
 2017  
 2018  
 2019  
 2020  
 2021  
 2022  
 2023  
 2024  
 2025  
 2026  
 2027  
 2028  
 2029  
 2030  
 2031  
 2032  
 2033  
 2034  
 2035  
 2036  
 2037  
 2038  
 2039  
 2040  
 2041  
 2042  
 2043  
 2044  
 2045  
 2046  
 2047  
 2048  
 2049  
 2050  
 2051  
 2052  
 2053  
 2054  
 2055  
 2056  
 2057  
 2058  
 2059  
 2060  
 2061  
 2062  
 2063  
 2064  
 2065  
 2066  
 2067  
 2068  
 2069  
 2070  
 2071  
 2072  
 2073  
 2074  
 2075  
 2076  
 2077  
 2078  
 2079  
 2080  
 2081  
 2082  
 2083  
 2084  
 2085  
 2086  
 2087  
 2088  
 2089  
 2090  
 2091  
 2092  
 2093  
 2094  
 2095  
 2096  
 2097  
 2098  
 2099  
 2100

### CO-SUSTRATO: ACIDO ACÉTICO/PROPIÓNICO

Ciclo	Fase anaerobia										Fase aerobia									
	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente (mV)	ORP Efluente (mV)	PNF Influyente mg/L	PNF Efluente mg/L	PAF Influyente mg/L	PAF Formado mg/L	pH Influyente mg/L	pH Efluente mg/L	Color Influyente Unidades	Color Efluente Unidades	ORP Influyente mV	ORP Efluente mV	
1	50	20.36	15.34	5.68	6.12	68	52	36.8	-342.9	20.36	5.17	15.34	1.669	6.12	6.54	52	24	-342.9	12.3	
2	50	18.97	16.5	5.86	6.08	64	52	67.1	-341.1	18.97	5.09	16.5	1.4	6.08	6.12	52	20	-341.1	14.6	
3	50.6	17.65	21.6	5.82	6.43	72	32	42.3	-316.3	17.65	3.28	21.6	1.03	6.43	6.89	32	28	-316.3	27.6	
4	51.3	19.98	20.76	5.46	5.67	78	28	23.5	-238.8	19.98	3.8	20.76	1.49	5.67	5.82	28	12	-238.8	28.3	
5	52.5	1.98	21.5	5.4	5.76	64	14	20.2	-216.6	1.98	0	21.5	0.98	5.76	5.97	14	8	-216.6	25.4	
6	51.96	2.5	22.04	5.72	5.86	62	25	26	-262.8	2.5	0	22.04	1.04	5.86	6.05	25	10	-262.8	26.8	
7	51.83	1.68	24.6	5.04	5.45	59	9	34	-284.2	1.68	0	24.6	0.31	5.45	5.68	9	5	-284.2	23.6	
8	50.67	0.06	22.56	5.42	6.23	36	13	48	-247.6	0.06	0	22.56	0.65	6.23	6.35	13	6	-247.6	32.4	
9	50.12	0.18	22.68	6.62	6.89	38	12	30	-243.1	0.18	0.2	22.68	0.88	6.89	6.94	12	7	-243.1	45.8	
10	52.5	1.98	21.5	5.4	5.76	64	14	20.2	-216.6	1.98	0	21.5	0.81	5.76	5.97	14	5	-216.6	12.3	
11	49.97	1.6	22.5	6.54	6.85	67	10	35	-259.8	1.6	0	22.5	0.84	6.85	7.27	10	4	-259.8	34.8	
12	49.92	0.78	23.6	5.1	5.68	36	9	45	-284.2	0.78	0	23.6	0.33	5.68	6.15	9	6	-284.2	12.5	
13	50.89	0.94	27.51	6.58	7.02	56	13	36	-264.3	0.94	0.83	27.51	0.23	7.02	7.22	13	8	-264.3	32.1	
14	50.21	0	21.19	6.49	6.85	65	10	65	-290.4	0	0	21.19	0.36	6.85	7.02	10	6	-290.4	32.1	
15	49.68	0	23.56	5.02	6.1	52	13	57	-276.3	0	0	23.56	0.21	6.1	7.11	13	6	-276.3	12.4	
16	50.67	0.06	22.56	5.42	6.23	36	13	48	-247.6	0.06	0	22.56	0.01	6.23	7.06	13	6	-247.6	16.6	
17	49.97	1.6	22.5	6.54	6.85	67	10	35	-259.8	1.6	0	22.5	0.05	6.85	7.19	10	6	-259.8	17.2	
18	49.92	0.78	23.6	5.1	5.68	36	9	45	-254.2	0.78	0	23.6	0.01	5.68	6.89	9	6	-254.2	12.3	
19	50.89	0.94	27.51	6.58	7.02	56	13	36	-264.3	0.94	0	27.51	0	7.02	7.38	13	65	-264.3	36.3	
20	50.12	0.18	22.68	6.62	6.89	38	12	30	-243.1	0.18	0	22.68	0	6.89	7.16	12	6	-243.1	34.8	
21	47.59	0	25.13	6.54	6.82	35	15	56	-232.5	0	0	25.13	0	6.82	7.15	15	8	-232.5	28.3	
22	50.67	0.06	22.56	5.42	6.23	36	13	48	-247.6	0.06	0	22.56	0	6.23	6.94	13	8	-247.6	30.5	
23	50.21	0	21.19	6.49	6.85	65	10	65	-290.4	0	0	21.19	0.1	6.85	7.15	10	8	-290.4	36.4	
24	49.68	0	23.56	5.02	6.1	52	13	57	-276.3	0	0	23.56	0	6.1	6.87	13	6	-276.3	28.7	
25	49.89	0	20.06	6.14	6.87	44	9	46	-287.2	0	0	20.06	0	6.87	7.27	18	6	-287.2	13.2	
26	50.67	0.06	22.56	5.42	6.23	36	13	48	-275	0.06	0	22.56	0	6.23	6.79	13	6	-275	34.6	
27	50.12	0.18	22.68	6.62	6.89	38	12	30	-243.1	0.18	0	22.68	0.09	6.89	7.21	12	6	-243.1	27.6	
28	47.59	0	25.13	6.54	6.82	35	15	56	-232.5	0	0	25.13	0	6.82	7.12	15	6	-232.5	30.5	
29	50.26	0	21.86	6.51	6.98	52	16	47	-242.3	0	0	21.86	0	6.31	6.98	16	6	-242.3	38.7	

TESIS CON  
 FALLA DE CALIDAD

ANEXO 1.3. Resultados Analíticos del reactor SBR anaerobio/aerobio en el tratamiento de un efluente industrial de la industria químico-farmacéutica

Ciclos	Días de operación	Tiempo de reacción anaerobio	Tiempo de reacción aerobio	Fase anaerobia								Fase aerobia							
				DQO, Influyente mg/L	DQO, Efluente mg/L	pH Inicial unidades	PH Final unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial unidades	Color Final unidades	DQO, Influyente mg/L	DQO, Efluente mg/L	pH Inicial unidades	PH Final unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial unidades	Color Final unidades
1	1	12	4	437	320	6.8	8	39	-289	11	10	320	135	8	7.6	-289	20	10	10
2	16	8	4	415	163	7.2	7.4	22	-290	22	35	163	78	7.4	8.3	-290	-33	35	17
6	18	8	4	398	150	7.3	7.5	19	-299	10	22	150	83	7.5	8.4	-299	-23	22	28
12	21	8	4	385	85	7.4	7.6	19	-309	15	18	85	46	7.6	8.4	-309	16	18	17
20	25	8	4	332	45	7.4	7.7	12	-328	19	21	45	18	7.7	8.4	-328	14	21	23
56	42	8	4	723	128	7.6	7.9	37	-340	11	46	128	54	7.9	9	-340	87	46	24
58	43	8	4	714	103	7.4	7.9	31	-367	21	22	103	52	7.9	8.9	-367	30	22	16
66	47	8	4	1656	633	7.5	8.4	40	-330	18	24	633	168	8.4	9	-330	40	24	28
68	48	8	4	1679	598	7.2	8.2	47	-356	15	12	598	153	8.2	9	-356	36	12	18
70	49	8	4	1636	420	7.4	7.5	43	-360	19	23	420	125	7.5	8.8	-360	34	23	24
80	54	8	4	1680	440	6.7	7.8	40	-376	18	18	440	118	7.8	8.9	-376	20	18	10
82	55	8	4	1688	560	6.5	7.6	45	-380	22	16	560	203	7.6	8.8	-380	58	16	19
84	56	8	4	1688	543	6.7	7.8	60	-359	19	23	543	189	7.8	8.4	-359	70	23	16
88	58	8	4	1688	495	6.5	7.6	29	-368	22	16	495	150	7.6	8.4	-368	76	16	18
94	61	8	4	1665	336	6.8	8.4	55	-348	18	19	336	60	8.4	9	-348	77	19	16
96	62	8	4	1665	402	6.7	8.6	40	-360	22	19	402	126	8.6	8.8	-360	21	19	14
100	64	8	4	1674	386	6.8	8.3	70	-368	27	19	386	105	8.3	8.8	-368	40	19	19
102	65	8	4	1674	372	6.5	8.8	32	-346	26	21	372	115	8.8	9	-346	35	21	17
108	68	8	4	1660	378	7	8.7	56	-376	21	18	378	76	8.7	9	-376	32	18	20
110	69	8	4	1660	364	6.5	7.3	86	-368	22	18	364	56	7.3	8.9	-368	36	18	15
111	70	8	4	3828	2220	6.9	7	76	-380	175	40	2220	944	7	8.6	-380	-116	40	36
113	71	8	4	3828	1918	7.1	7.2	-133	-391	162	56	1918	1056	7.2	8.3	-391	-42	56	38
115	72	8	4	3828	2004	7.1	6.8	-83	-390	153	64	2004	986	6.8	8.2	-390	-20	64	35
121	75	8	4	3713	2029	6.7	7.1	-79	-393	165	73	2029	913	7.1	9	-393	-103	73	43
123	77	8	4	3713	1744	6.8	7.4	-107	-398	172	96	1744	887	7.4	8.5	-398	-131	96	63
127	79	8	4	3713	1893	6.8	7.2	-96	-386	157	89	1893	641	7.2	9	-386	-115	89	60
131	81	12	4	2763	1393	6.9	7.3	60	-363	176	159	1393	685	7.3	8.6	-363	51	159	96
133	83	12	4	2763	1229	6.8	7.6	43	-360	164	76	1229	188	7.6	8.8	-360	20	76	66
135	84	12	4	2763	1098	6.8	7.5	86	-389	158	68	1098	93	7.5	9	-389	40	68	59
138	91	18	6	3104	1171	7	7.5	74	-368	243	211	1171	159	7.5	9	-368	-29	211	163

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Ciclos	Días de operación	Tiempo de Reacción anaerobio	Tiempo de Reacción Aerobio	Fase anaerobia								Fase aerobia							
				DQO, Influyente mg/L	DQO, Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP Inicial mV	ORP Final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades	DQO, Influyente mg/L	DQO, Efluente mg/L	pH Inicial Unidades	pH Final Unidades	ORP inicio mV	ORP final mV	Color Inicial Unidades	Color Final Unidades
139	92	18	6	3017	1116	7.5	7.5	-	-	258	142	1116	208	7.5	8.5	-	-	142	114
140	93	18	6	3019	1106	7	7.5	-	-	234	130	1106	183	7.5	8.5	-	-	130	95
143	96	18	6	3003	1070	7	7	-	-	196	163	1070	93	7	8.5	-	-	163	96
144	97	18	6	3105	976	7.5	8	-	-	190	99	976	60	8	8.5	-	-	99	63
145	98	18	6	3076	986	7	7	-	-	186	92	986	62	7	8.5	-	-	92	67
147	101	18	6	3058	978	7.5	7.5	-	-	198	80	978	66	7.5	8.5	-	-	80	64
151	105	18	6	3863	1679	7.5	7.5	-	-	215	163	1679	750	7.5	8.5	-	-	163	96
156	110	18	6	3587	1246	7	7.5	-	-	235	168	1246	630	7.5	8.5	-	-	168	100
158	112	18	6	3468	1305	7	7	-	-	205	146	1305	543	7	8.5	-	-	146	103
159	113	18	6	3402	1210	7	7.5	-	-	196	123	1210	486	7.5	8.5	-	-	123	85
163	117	18	6	3654	1413	7.5	7.5	-	-	258	156	1413	530	7.5	8.5	-	-	156	98
164	118	18	6	3501	1420	7	7.5	-	-	264	143	1420	465	7.5	8.5	-	-	143	87
166	120	18	6	3359	1316	7.5	7.5	-	-	249	138	1316	335	7.5	8.5	-	-	138	90
167	121	18	6	3215	1338	7	7.5	-	-	186	115	1338	281	7.5	8.5	-	-	115	99
170	124	18	6	4632	2015	6.5	7.5	-	-	243	180	2015	672	7.5	8.5	-	-	180	113
171	125	18	6	4200	1450	7	7.5	-	-	208	148	1450	450	7.5	8.5	-	-	148	117
172	126	18	6	3964	1123	7	7.5	-	-	210	132	1123	336	7.5	8.5	-	-	132	83
174	128	18	6	3795	1035	6.6	7.4	48	-363	196	112	1035	294	7.4	8.8	-363	40	112	79
177	131	18	6	3640	1150	7	7.4	63	-301	203	124	1150	240	7.4	8.6	-301	30	124	85
178	132	18	6	3200	1035	6.9	7.8	45	-364	186	120	1035	265	7.8	8.9	-364	12	120	75
180	134	18	6	4245	3605	7	6.8	42	-330	220	143	3605	3250	6.8	8.8	-330	41	143	119
182	136	18	6	4190	3585	7	6.7	67	-330	193	94	3585	3015	6.7	8.1	-330	38	94	69
186	138	18	6	4225	3472	7.3	6.8	53	-279	220	130	3472	2920	6.8	8	-279	57	130	105
187	139	18	6	4095	3200	7.1	6.8	57	-351	185	179	3200	2660	6.8	7.9	-351	15	179	120
189	141	18	6	4030	3265	7	7	51	371	193	153	3265	2530	7	7.9	371	36	153	115
193	145	18	6	4200	3297	7.2	7.2	92	-328	196	168	3297	985	7.2	8.1	-328	23	168	107
194	146	18	6	4200	3115	7.2	7.8	69	-396	198	110	3115	995	7.8	8.2	-396	26	110	106
196	151	24	12	4015	2622	7.8	7.7	63	-379	275	162	2622	1220	7.7	8.9	-379	40	162	99
197	152	24	12	5720	3300	7.5	7.8	56	-363	443	261	3300	2087	7.8	8.8	-363	31	261	224
198	153	24	12	6237	3650	7.6	7.6	61	-349	451	238	3650	2541	7.9	7.9	-349	32	238	208
199	155	24	12	2450	1265	7	8.5	83	-359	148	78	1265	344	8.5	8.8	-359	109	78	62
200	157	24	12	2202	800	7	7.6	115	-391	118	68	800	210	7.6	8.9	-391	32	68	68

TESIS CON  
FALLA DE CARGEN

## ANEXO 1.4. Resultados analíticos del reactor SBR anaerobio/aerobio para el tratamiento del colorante azo AD79

Ciclo	AD79 Influyente anaerobio mg/L	AD79 Efluente anaerobio mg/L	AD79 Efluente aerobio mg/L	Tiempo de reacción días	AD79 Remoción %	SSV mg/L	qv mg AD79/L-d	qx mg/g SSV-d
1	25.33	6.60	5.15	10.70	79.6	1180.00	1.42	1.20
2	30.20	20.25	17.10	3.27	43.3	1210.00	4.00	3.30
3	35.50	17.66	16.77	4.91	52.7	1350.00	3.81	2.82
4	57.87	36.69	15.91	5.81	72.5	1500.00	2.06	1.37
5	52.05	24.50	13.07	4.16	74.8		9.37	6.25
6	56.38	24.98	7.86	3.66	86.0		13.25	8.83
7	45.09	16.36	9.65	2.83	78.6		12.52	8.35
8	42.78	18.51	13.00	2.79	69.6		10.60	7.06
9	33.14	14.18	11.08	2.79	66.6		7.91	5.27
10	45.24	4.28	1.32	2.91	97.0	1400.00	15.09	10.78
11	25.20	10.10	8.40	2.66	66.6		6.31	4.51
12	35.90	14.12	12.34	2.79	65.6		8.44	6.03
13	45.27	23.44	3.26	3.00	92.8		14.00	10.00
14	25.70	14.06	11.60	3.00	54.8		4.70	3.36
15	25.30	19.90	13.52	2.83	46.6		4.16	2.97
16	28.76	16.11	11.22	3.87	61.0		4.53	3.24
17	27.71	17.04	9.00	2.87	67.5	1610.00	6.52	4.05
18	29.60	15.30	12.53	2.66	57.7		6.42	3.98
19	54.02	38.10	18.40	2.83	65.9	1410.00	12.60	8.93
20	32.00	28.70	27.40	3.00	14.4		1.53	1.09
21	55.00	40.00	31.00	3.00	43.6		8.00	5.67
22	53.70	45.20	41.00	3.75	23.6	1960.00	3.39	1.73
23	36.30	24.00	12.70	2.00	65.0		11.80	6.02
24	49.00	39.00	24.00	3.00	51.0	2270.00	8.33	3.67
25	40.00	28.92	17.87	3.00	55.3	2990.00	7.37	2.47
26	29.87	15.68	8.45	3.00	71.7	2760.00	7.14	2.59
27	100.00	44.40	28.00	3.00	72.0	2530.00	24.00	9.49
28	57.00	16.24	3.00	3.00	94.7	2420.00	18.00	7.43
29	74.50	29.34	6.00	3.00	74.4	2800.00	22.80	8.14
30	47.70	30.00	11.50	3.00	75.8	2960.00	12.06	4.07
31	49.50	30.00	15.08	3.00	49.2	2480.00	11.47	4.63
32	45.00	14.85	3.50	4.00	93.3	3300.00	10.37	3.14

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

# **ANEXO 2**

## **Técnicas de análisis**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## TÉCNICAS DE ANÁLISIS

### CARACTERIZACION FÍSICA DEL TEZONTLE

#### 1. Tamaño de grano

Se determinó el tamaño de grano midiendo al azar 100 piedras que fueran representativas del empaque.

#### 2. Peso específico

1. Lavar y secar una muestra de 200 mL de tezontle a 103°C por 24 h.
2. Pesar cierta cantidad de muestra (P.A.) y medir su volumen en una probeta (V.M.P).
3. Hervir en agua destilada durante 5 minutos con el fin de expulsar el aire.
4. Secar previamente una probeta y pesarla (P.P.)
5. Enfriar la muestra e introducir a la probeta y aforar con agua destilada y volver pesar (P.F.).

Cálculos:

$$\text{Volumen de agua} = P.F. - P.M. - P.A.$$

(Si los pesos son en gramos el volumen resultante es en ml)

$$\text{Volumen de muestra (V.M.)} = \text{Volumen aforado} - \text{Volumen de agua}$$

$$\text{Peso específico} = \frac{P.A.}{V.M.}$$

#### 3. Porosidad

##### 3.1. Porosidad del tezontle

Medir el volumen de la muestra de piedras a través del llenado de una probeta con pequeñas semillas o arena fina. Se agregan unas cuantas piedras, luego las semillas, más piedras y semillas hasta completar un volumen determinado (V. PRO).

Se sacan cuidadosamente las piedras de la probeta y se mide el volumen ocupado por las semillas (V.SEM).

Cálculos:

$$\text{Volumen de piedras (V.P.)} = V.PRO - V.SEM$$

$$\text{Volumen de vacíos (Vv2)} = V.P. - V_s$$

$$\text{Porosidad (P)} = Vv2 / V.P.$$

##### 3.2. Porosidad del reactor empacado

$$1) \text{ Volumen seco} \quad V_s = P.A. / \text{Peso específico}$$

$$2) \text{ Volumen de vacíos} \quad Vv1 = V.M.P. - V_s$$

$$3) \text{ Porosidad} \quad P = Vv1 / V.M.P.$$

#### 4. Área superficial.

Se determinó por el método del azul de metileno (Pinzon-Bello J. A., 1997).

## PÉRDIDAS ABIÓTICAS

### 1. Volatilidad del PNF

Con el fin de determinar la volatilidad del PNF en solución, se realizaron pruebas de aireación en el reactor herméticamente cerrado sin empacar, llenándolo con solución de PNF de 25 mg/L en medio mineral y se recibieron los compuestos volátiles generados, burbujeando los gases en un matraz que contenía NaOH 0.1 N. Se determinó la concentración de PNF en el reactor al inicio y cada 24 horas por espectroscopia a longitud de onda de 400 nm y el pH de la solución del reactor y del NaOH para verificar la captura de compuestos volatilizados.

### 2. Prueba de la sorción del PNF

Para determinar la sorción del PNF dentro del reactor y en el material de empaque, se realizaron pruebas de aireación en el reactor sin empacar y empacado.

#### 2.1. Prueba de sorción del reactor sin empacar

1. Realizar curva de calibración de PNF con agua destilada como disolvente en concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L de PNF y determinar la máxima longitud de onda.
2. Realizar curva de calibración de PNF con medio mineral como disolvente en concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L de PNF y determinar la máxima longitud de onda.
3. Llenar el reactor con solución de PNF en concentración de 25 mg/L preparada con medio mineral y mantener aireación continua de 5 mL/min. Medir la absorbancia de la solución de PNF en el reactor cada 24 h hasta la saturación, que será indicada cuándo la absorbancia sea constante.
4. Calcular el % de sorción de PNF por el tezontle.

#### 2.2. Prueba de sorción del reactor empacado con tezontle

1. Realizar curva de calibración de PNF con agua destilada como disolvente en concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L de PNF y determinar la máxima longitud de onda.
2. Realizar curva de calibración de PNF con medio mineral como disolvente en concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L de PNF y determinar la máxima longitud de onda.
3. Empacar el reactor con tezontle previamente lavado.
4. Llenar el reactor con solución de PNF en concentración de 25 mg/L preparada con medio mineral y mantener aireación continua de 5 mL/L
5. Medir la absorbancia de la solución de PNF en el reactor cada 24 h hasta la saturación, que será indicada cuándo la absorbancia sea constante
6. Calcular el % de sorción de PNF por el tezontle.

### 3. Pruebas de la sorción de los filtros de nitrocelulosa

Se determinó la interferencia que pudiera deberse al material de las membranas (Whatman nitrato de celulosa-HPLC  $\phi = 25$  mm y  $\phi$  de paso = 0.45  $\mu$ m), que se usaron para la filtración de muestras, obteniendo los porcentajes de recuperación de una solución de 25 mg/L de PNP después de pasarla a través de los filtros, realizando la medición por espectroscopia a 400 nm.

## SORCIÓN DEL PNF

### Capacidad de adsorción del tezontle por la técnica adaptada de la isoterma.

- 1) Colocar cerca de 200 g de tezontle en un vaso de precipitados de 600 mL y secar a 103 °C por 5 h.
- 2) Colocar en vasos de precipitados de 1000 mL. 1, 2, 3, 4, 5 y 6 piedras previamente pesadas.
- 3) Agregar 600 mL de solución del compuesto a evaluar en concentración de 25 mg/L a cada vaso y colocar en la prueba de jarras.
- 4) Agitar a 200 r.p.m. durante 2 h de contacto para alcanzar el estado estacionario (medir la temperatura del medio)
- 5) Medir la absorbancia de cada muestra a 400 nm, después de varios períodos de contacto hasta que se estabilice el sistema.

- 6) Determinar la concentración de la solución del compuesto por la diferencia de absorbancias del control (sin piedras) y las muestras.  
 7) Determinar la cantidad de compuesto adsorbido, X, como sigue:

$$X = C_0V - CV$$

Donde:

X = Cantidad de compuesto adsorbido, en mg/L

$C_0$  = Concentración de la solución del compuesto antes de adicionarlo a la piedra, en mg/l.

C = Concentración de la solución del compuesto después de un tiempo de contacto determinado con la piedra, en mg/l.

V = Volumen de la muestra, en L.

- 8) determinar la cantidad del compuesto adsorbido por unidad de peso de piedra, X/M, como sigue:

$$X / M = (C_0V - CV) / M$$

Donde:

M = Peso de la piedra, en gramos.

X / M = PNP adsorbido por unidad de peso de piedra, en mg/g.

## CLASIFICACIÓN POR GRUPOS FISIOLÓGICOS DE LA POBLACIÓN ANAEROBIA EN EL BIOFILTRO SBB ANAEROBIO/AEROBIO (Moreno, 1994).

### 1. Medio de cultivo

#### 1.1. Solución mineral 1

	( g/1000 mL)
$K_2HPO_4$	6.0

#### 1.2. Solución mineral 2 sin sulfatos

	( g/1000 mL)
$KH_2PO_4$	6.0
$NH_4Cl$	2.4
$NaCl$	12.0
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.1
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.16

#### 1.3. Solución mineral 2 con sulfatos

	( g/1000 mL)
$KH_2PO_4$	6.0
$NH_4SO_4$	2.4
$NaCl$	12.0
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.1
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.16

#### 1.4 Solución de oligoelementos

	( g/1000 mL)
Ác. nitrilotriacético	1.5

Ajustar el pH a 6.5 con KOH (1.0 N ó 0.1N) antes de agregar los siguientes minerales:

	( g/1000 mL)
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	3.0
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.5

NaCl	1.0
FeSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	0.1
CoSO <sub>4</sub>	0.1
CaCl <sub>2</sub> . 2 H <sub>2</sub> O	0.1
ZnSO <sub>4</sub>	0.1
CuSO <sub>4</sub> .5 H <sub>2</sub> O	0.01
AlK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0.01
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.01
Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.01

El agua destilada se neutraliza previamente con KOH.  
Disolver en forma separada cada uno de los reactivos.

### 1.5. Solución de vitaminas

	(mg/1000 mL)
Biotina	2.0
Ác. fólico	2.0
Piridoxina HCl	10.0
Tiamina HCl	5.0
Rivoflavina	5.0
Ác. nicotínico	5.0
D-L-Pantotenato de Ca	5.0
Vitamina B <sub>12</sub>	0.1
Ác. p-aminobenzoico	5.0
Ác. lipoico	5.0

### 2. Medio general para cultivos anaerobios

Se prepara a partir de las soluciones minerales descritas antes. Las cantidades para preparar 1000 mL son:

	(mL)
Solución mineral 1	50.0
Solución mineral 2*	50.0
Solución de oligoelementos	10.0
Solución de vitaminas	10.0
Resazurina (0.1%)	1.0
Extracto de levadura	1.0
Peptona de caseína	1.0
Bicarbonato de sodio	3.0
Sol. FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (2 %)	1.0
Sol. NiCl <sub>2</sub> (5 mg/100 ml)	10.0
Cisteína	0.5

\* Con sulfatos o con cloruros dependiendo del grupo bacteriano

### 2.1. Medio para bacterias acetoclásticas, fermentativas e hidrogenofílicas

Se utiliza medio general, empleándose la solución mineral 2 con sulfatos. En el caso de las bacterias acetoclásticas se adiciona 5.0 g de acetato de sodio, antes de la reducción del medio de cultivo.

### 2.2. Medio para bacterias sintróficas consumidoras de propionato y butirato (OHPA<sub>p</sub> y OHPA<sub>ii</sub>)

Se emplea el medio mineral 2 sin sulfatos.

Procedimiento:

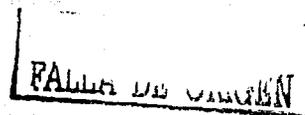
- Colocar los reactivos y soluciones excepto la cisteína en un matraz de 1000 mL. Aforar con agua destilada.
- Dividir el medio en dos matraces Erlenmeyer de 1000 mL, adicionar un excedente de 150-200 mL de agua destilada a cada matraz.
- Colocar dentro de cada matraz una jeringa sin aguja, conectada con manguera a un sistema distribuidor de gas (manifold) mantener la jeringa por encima del nivel del líquido y tapar con papel de aluminio, cubriendo un poco la manguera.
- El medio se pone a calentar en una parrilla y una vez que comienza la ebullición se introduce la jeringa a una altura aproximada de 1.5 cm por debajo del nivel del líquido con una corriente de nitrógeno constante hasta que el medio vire de azul a rosa claro (reducción completa).
- Se procura mantener en caso necesario, el volumen requerido con agua destilada hasta la completa reducción del medio.
- Una vez reducidos se enfría en un recipiente con agua manteniendo la corriente de nitrógeno.
- Una vez tibio el medio (aprox. 30°C) se agrega la cisteína rápidamente dejándola resbalar por las paredes del matraz. Evitar en lo posible la introducción de aire, tapar y burbujear con la corriente de nitrógeno durante 10 minutos adicionales.
- Quitar la corriente de nitrógeno y tapar con tapón de hule sellando el perímetro del matraz con tela adhesiva. Dejar un extremo libre de la cinta para quitarlo una vez dentro de la cámara anaerobia.
- Introducir a la cámara anaerobia los medios y el equipo necesario para su dosificación. Hacer tres cambios de vacío antes de introducir el material.
- Poner 5 mL de medio a cada tubo y 9 mL en los tubos de dilución.
- Fuera de la cámara anaerobia, cambiar atmósferas utilizando un sistema distribuidor de gases, con la mezcla N<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (80 % - 20%) durante 2 minutos. Una vez introducida la corriente de gas, se coloca otra aguja que servirá para la evacuación de la atmósfera interna. Las mezclas de acuerdo al grupo bacteriano son las siguientes:

Hidrogenofílicas: H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (20 - 80%)  
 Fermentativas, acetoclásticas, OHPA y SR: N<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (20 - 80 %)

- Esterilizar 15 minutos en autoclave a 15 lb/pulg<sup>2</sup>
- Medir el pH final ( 6.8 -7.5).
- Guardar en la cámara anaerobia hasta el momento de inocular.

### 2.3. Medio para bacterias sulfato-reductoras

	(mL)
Solución mineral 1	50.0
Solución mineral 2 con sulfatos	50.0
Resazurina (0.1%)	1.0
Extracto de levadura (g)	1.0
Peptona de caseína	1.0
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (g)	0.5
Sol. de ác. láctico neutralizado	8.5
Cisteína	0.25



**Procedimiento:**

- a) Colocar todos los componentes en un matraz.
- b) Adicionar aprox. 300 mL de agua destilada y medir el pH, que generalmente es ácido, ajustar con una solución de NaOH 0.01M a pH de 7.8
- c) Aforar a 1000 mL.
- d) Reducir el medio de la misma forma que el medio general, hasta obtener condiciones reductoras (vire de rosa a amarillo paja)
- e) Enfriar el medio en baño de agua manteniendo la corriente de nitrógeno. Una vez frío, medir el pH y ajustar a 7.8, tapar y meter a la cámara anaerobia para su dosificación en tubos.
- f) Esterilizar 15 min. En autoclave.
- g) Comprobar que el pH se encuentre en un intervalo de 6.8 a 7.5.

**Degradación del colorante azul disperso 79 (AD-79) en ambientes anaerobios/aerobios integrados en un reactor**
**1. Pruebas de biodegradabilidad**

Se realizaron pruebas de biotratabilidad del colorante AD-79 en matraces empacados con tezontle con el fin de determinar un co-sustrato que actuara adecuadamente como fuente de electrones y de carbono, para alcanzar la máxima biotransformación del colorante al derivado amino en condiciones anaerobias; una vez terminada la reducción, comenzó la fase oxidativa para la mineralización de las aminas producidas. Los experimentos que se realizaron son los siguientes:

Se prepararon 6 matraces Erlenmeyer de 500 ml conteniendo el co-sustrato en relación molar 1:5, medio mineral y colorante AD-79 de acuerdo a la tabla A2-1 y se colocaron en una parrilla agitadora a 100 r.p.m. manteniendo temperatura controlada a 35 °C. Cada 24 h se tomó muestra para evaluar el proceso. La prueba se hizo en 2 condiciones: en la primera cada co-sustrato se probó de forma individual y en la segunda se hicieron mezclas, ya que en la primera no se tuvo información suficiente para la selección del co-sustrato.

Tabla A2-1. Condiciones de operación para las pruebas de selección de co-sustrato

MATRAZ	COSUSTRATO (CONDICIÓN 1)	COSUSTRATO (CONDICIÓN 2)	MEDIO MINERAL	COLORANTE AD-79
1	Abiótico (Biomasa esterilizada)	Abiótico (Biomasa esterilizada)	400 ml	10 mg/l
2	Glucosa	Glucosa / ác.acético	400 ml	10 mg/l
3	Ac. propionico	Ac. Propiónico/ ác. acético	400 ml	10 mg/l
4	Ac. Acético	Glucosa / propiónico	400 ml	10 mg/l
5	Agua residual municipal (DQO:150 mg/l)	Sin co-sustrato	400 ml	10 mg/l
6	Abiótico (sin biomasa, solo piedras)	Abiótico (sin biomasa, solo piedras)	400 ml	10 mg/l

**1.1. Inóculo**

Se utilizó una mezcla de dos inóculos: piedra de un reactor anaerobio que trata el colorante AD-79 y lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales. Se determinaron SSV de las piedras y de los lodos activados.

**1.2. Medio mineral**

Se utilizará el medio mineral descrito en 3.1.2.4.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

## 2. Determinación de la adsorción del colorante en las piedras

Se determinó la adsorción del colorante en las piedras, preparando 6 matraces Erlenmeyer con diferentes condiciones como se muestra en la tabla A2-2. Se agregaron 280 mL de medio mineral y colorante AD-79 en concentración de 10 mg/L y ác. acético 1:5 como co-sustrato. Se colocaron los matraces en el agitador a 155 r.p.m. y cada 24 h se midió la concentración del colorante. Se calcularon las constantes de la ecuación de Freundlich para estimar los ciclos necesarios para saturar el empaque del reactor.

Tabla A2-2. Condiciones para las pruebas de adsorción del colorante en las piedras

MATRAZ	CONDICIÓN
1	Agua destilada y piedras 50 g.
2	Medio mineral y piedras sin co-sustrato
3	Medio mineral con co-sustrato
4	Medio mineral y 25 g. de piedras con co-sustrato
5	Medio mineral y 50 g. de piedras con co-sustrato
6	Medio mineral y 75 g. de piedras con co-sustrato

## 3. Determinación de la influencia del medio mineral en la adsorción del colorante

Se determinó la influencia de la composición del medio mineral y si el colorante se absorbe en éste realizando diferentes pruebas (tabla A2-3), principalmente las soluciones que contienen oligoelementos y cloruro ferrico ya que pueden tener reacciones redox con el colorante. Los matraces se protegieron de la luz cubriéndolos con papel aluminio

Tabla A2-3. Condiciones de reacción para determinar la influencia del medio mineral en la mineralización del colorante

MATRAZ	CONDICIÓN
1	Agua destilada
2	Nutrientes completo
3	Sin $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .
4	Sin oligoelementos
5	Sin $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y oligoelementos

PALMA DEL CARIBEN

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

# **ANEXO 3**

## **Resultados de técnicas especiales de análisis**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## 1. Biofiltro SBB anaerobio/aerobio para la degradación del p-nitrofenol

### 1.1. Características físicas del material de soporte

Se realizó la caracterización física del tezontle y presentó características adecuadas con relación al área superficial, porosidad, bajo costo, disponibilidad en el mercado y pequeña diferencia en peso específico, aunque presentó granulometría no uniforme. Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

#### 1.1.1. Peso específico

La densidad relativa del medio de soporte es una propiedad intensiva aplicada en el diseño de los procesos de tratamiento biológico. El peso específico que se obtuvo fue de 2.52 kg/L con tezontle de tamaño de diámetro promedio de 2.0 cm, que de acuerdo a los valores referidos por Juárez y Rico (1999), se encuentra dentro del rango de 2.2 – 2.9 kg/L reportados para materiales volcánicos y en general para la mayoría de partículas minerales.

#### 1.1.2. Porosidad

La porosidad afecta directamente el tiempo de retención y la cantidad de biomasa retenida en el reactor. La pérdida de carga a través del filtro disminuye con una mayor porosidad del medio. Una gran porosidad reduce la cantidad de material empleado en la construcción del filtro, resultando menores costos (Cochet *et al.*, 1990). En este trabajo se determinó la porosidad del reactor empacado y la porosidad del tezontle. La porosidad del reactor empacado con piedras de 2 cm de diámetro fue de 80.4 % y la porosidad del tezontle fue de 78.5 %.

#### 1.1.3. Área superficial

El área superficial específica determina la cantidad de película biológica y es una de las características directas más importantes en el funcionamiento del filtro. Si se tiene gran área superficial se tiene la ventaja de que las partículas en suspensión colisionen con mayor frecuencia con el lecho logrando una mayor eficiencia en la remoción de compuestos. En este trabajo el área superficial del tezontle se consideró como la superficie expuesta y se calculó mediante el método de adsorción del azul de metileno (AM), determinando previamente la cantidad del adsorbente (tezontle) y el rango de concentración del adsorbato (azul de metileno) mediante la isoterma de adsorción de Langmuir (Pinzón, 1997), que es usada para describir la adsorción en monocapas. La forma matemática de la isoterma es la siguiente:

$$\frac{C_{eq}}{C_s} = \frac{1}{X_m K} + \frac{C_{eq}}{X_m}$$

Donde

$C_{eq}$  = Concentración final de la solución o concentración de equilibrio (g AM/l)

$C_s$  = Cantidad de soluto adsorbido por g de adsorbente (g AM/g piedra)

$K$  = Constante relacionada con el calor de adsorción

$X_m$  = (mg de azul de metileno para formar una monocapa sobre g de tezontle)

El valor de  $X_m$ , según la isoterma de Langmuir corresponde al inverso de la pendiente de la función lineal al graficar  $C_{eq}/C_s$  vs  $C_{eq}$  como se muestra en la figura A3-1. El valor determinado experimentalmente para  $X_m$  fue de 8.022 E-5 mg AM/g tezontle. La superficie específica de un adsorbente se calcula por medio de la siguiente relación:

$$S_e = X_m N_o a \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

$S_e$  : Superficie específica, m<sup>2</sup>/g

$X_m$  : Cantidad de adsorbato necesaria para formar una monocapa por gramo de adsorbente, mg/g

$N_o$  : Número de Avogadro, moléculas/g mol

$a$  : Superficie cubierta por una molécula de azul de metileno, Å<sup>2</sup>

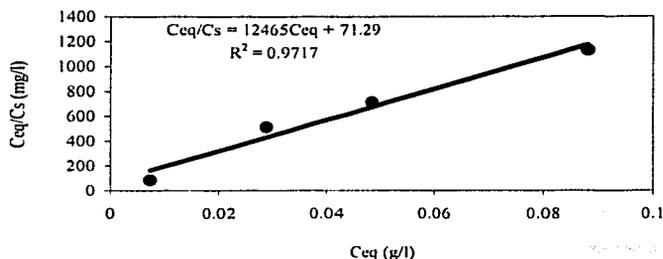
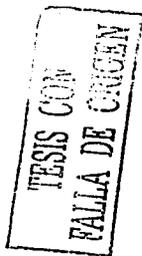


Figura A3-1. Isoterma de adsorción de Langmuir para el azul de metileno

Los siguientes valores fueron usados para determinar la superficie específica del tezontle:

Tabla A3-1. Parámetros para el cálculo de la superficie específica ( $S_e$ ) del tezontle.

Parámetro	Resultados	Referencia
$X_m$ (mg AM/g tezontle)	0.00008022	Isoterma de Langmuir (este trabajo)
No. de Avogadro	$6.02 \text{ E}+23$ moléculas/gmol	Kahr y Madsen (1995)
$\alpha$ (Superficie cubierta por una molécula de AM)	$130 \text{ \AA}^2$	
Peso molecular AM	319.9 g/mol	Merck, (1996)

Sustituyendo los valores de la tabla A3-1 en la ecuación 1 se obtiene una superficie específica de  $0.196 \text{ m}^2/\text{g}$  tezontle. La densidad de área superficial es la relación entre el área superficial expuesta del tezontle y el volumen que ocupa. Considerando el peso promedio de una piedra de 8.95 g, se tiene que el área de la piedra es:  $A = 1.75 \text{ m}^2$ , y el volumen (considerando un peso específico de  $2.52 \text{ kg/L}$ ) es  $V = 3.55 \text{ E-06 m}^3$ . La densidad de área superficial ( $A/V$ ) del tezontle utilizado como material de empaque fue de  $494.14 \text{ m}^2/\text{m}^3$ .

Los valores típicos del área superficial de otros tipos de soporte están en el orden de  $100 \text{ m}^2/\text{m}^3$ , como la escoria de alto horno (Chernicharo, 1997), material cerámico expandido y PVC (Hobson y Wheatley, 1992). La mayor área superficial del tezontle se debe a la gran porosidad que presenta, lo que lo hace un material adecuado como soporte para la colonización de microorganismos y para la formación de la biopelícula (Characklis y Marshall, 1990).

### 1.2. Pérdidas abióticas del PNF

Se determinaron las pérdidas abióticas del PNF debidas a efectos de volatilización en el reactor sin empacar y empacado, sorción en el reactor, en el empaque del biofiltro y en las membranas de nitrocelulosa empleadas para la filtración de muestras y a las posibles reacciones químicas del medio nutriente con el compuesto. Los resultados mostraron que no se observaron pérdidas abióticas debidas a volatilidad y sorción del PNF en el sistema, por lo que la remoción del PNF fue atribuida solo a la biodegradación.

### 1.3. Pruebas de biodegradabilidad anaerobia/aerobia del PNF en matraces

Los resultados de la prueba de biodegradabilidad mostraron que de los inóculos probados, el mejor fue el que se preparó con una mezcla 70/30 de lodos de la planta de aguas residuales municipales "Cerro de la Estrella" y de la planta de aguas residuales industriales "ECCACIV", ya que presentó mejor biotransformación del PNF a PAF en la fase de reducción y posteriormente en la fase de oxidación, la degradación del PAF. El potencial redox se mantuvo entre  $-280 \text{ mV}$  y  $+50 \text{ mV}$  durante las fases de reducción y oxidación respectivamente, prevaleciendo condiciones anaerobias y aerobias en el reactor. La caracterización de lodos activados en las pruebas de biodegradabilidad anaerobia/aerobia del PNF se muestra en la tabla A3-2

Tabla A3-2. Caracterización de lodos activados en las pruebas de biodegradabilidad anaerobia/aerobia del PNF

Parámetro	Planta ECCACIV	Planta Cerro de la Estrella
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	23 867	7 256
Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)	18 667	6 570
pH (unidades)	7.16	7.19
Índice volumétrico (mL/g)	38.6	118.5

Durante la fase aerobia el oxígeno disuelto se mantuvo entre 4 y 6 mg/L. Se realizaron 5 ciclos de operación con duración de 72 h de fase anaerobia y 24 h de fase aerobia. La eficiencia de remoción del PNF con el inóculo de mezcla de lodos fue de 98 % mientras que cada lodo individualmente removió alrededor de 60 %. Con relación a la producción de PAF el reactor con mezcla de lodos alcanzó eficiencias de biotransformación de 45 %. Estos resultados evidenciaron la posibilidad de efectuar la mineralización del PNF integrando condiciones anaerobias y aerobias en un solo reactor. En la siguiente etapa de experimentación se hizo el escalamiento del reactor a nivel piloto de laboratorio.

Tabla A3-3. Remoción y biotransformación en las pruebas de biodegradabilidad anaerobia/aerobia

Tipo de inóculo	Remoción PNF, (%)	Biotransformación PAF, (%)	Mineralización PAF, (%)
Industrial	50	1.38	25
Planta Municipal	69	7	86
Mezcla	98	45	98

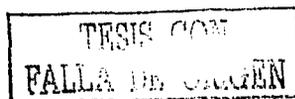
#### 1.4. Prueba de biodegradabilidad aerobia del PAF con biomasa suspendida

El objetivo de la prueba fue evaluar el desempeño de un cultivo mixto aerobio utilizando como sustrato PAF y comparándolo con el desempeño del biofiltro SBR anaerobio/aerobio. Se utilizó un reactor de 2 L. Los microorganismos utilizados como inóculo fueron de un sistema de lodos activados provenientes de una planta de tratamiento municipal. El PAF fue usado en concentración de 25 mg/L y ácido ascórbico en concentración de 60 mg/L como agente reductor (antioxidante) para evitar la oxidación del PAF. Se utilizó medio mineral con la composición indicada en la tabla 3.1. En la tabla A3-4 se muestran los parámetros de arranque del reactor.

Tabla A3-4 Parámetros de arranque del reactor aerobio

Parámetro	Valor
Concentración de biomasa en el reactor	2 580 mg/L
Volumen total del reactor	2 L
Volumen útil del reactor	1 L
Volumen de intercambio	70 -75 %
Concentración de la solución de PAF en el reactor	25 mg/L
Tiempo de reacción	Variable
Flujo de aireación	5 mL/L

El PAF se preparó adicionando 60 mg/L de ácido ascórbico al medio mineral antes de agregar el PAF, con el fin de evitar su auto-oxidación. Se preparó un control abiótico con medio estéril en las mismas condiciones que la prueba y el monitoreo del PAF, tanto del control como del reactor fue por HPLC. El reactor se aclimató a una concentración de 25 mg/L durante 5 ciclos de 24 h de reacción.



El control abiótico se oxidó a un compuesto café oscuro que se precipitó en el matraz correspondiente al 10 – 15 % de la concentración inicial del PAF, siendo ésta la fracción que se auto-oxidó a polímeros húmicos coloreados, cuando el PAF fue expuesto al aire en este experimento. El precipitado se analizó y las muestras tuvieron el mismo comportamiento que el precipitado formado en el biofiltro (4.3.6.1).

En el reactor las concentraciones de 25 y 50 mg/L de PAF fueron degradadas después de 24 h y el principal mecanismo de degradación fue la biodegradación. Se hizo un balance de nitrógeno en el efluente y se comprobó la mineralización del compuesto con la formación de compuestos nitrogenados en forma de  $N-NH_4^+$ ,  $N-NO_3^-$  y  $N-NO_2^-$  (Tabla A3-5). También se hizo un análisis espectral del influente y efluente del reactor observándose la desaparición del PAF sin formación de otros compuestos. En la concentración de 75 mg/L, la remoción fue de 71 % quedando un residual de 22 mg/L en el reactor. En la concentración de 125 mg/L se tuvo el mismo comportamiento que en el biofiltro, esto es inhibición de la biomasa, que disminuyó su actividad quedando una concentración residual de 65 mg/L, que al no haber suficiente población facultativa aerobia y aerobia para que lo degradaran, se oxidó con el oxígeno y se presentó el fenómeno de acoplamiento oxidativo (polimerización), con formación de compuestos coloridos y precipitados, que son referidos frecuentemente como compuestos húmicos no tóxicos pero no biodegradables, como fue observado por Field *et al.*, (1995) y Coughlin (1997). En la figura A3-1 se muestra el funcionamiento del reactor en la prueba de degradación aerobia del PAF.

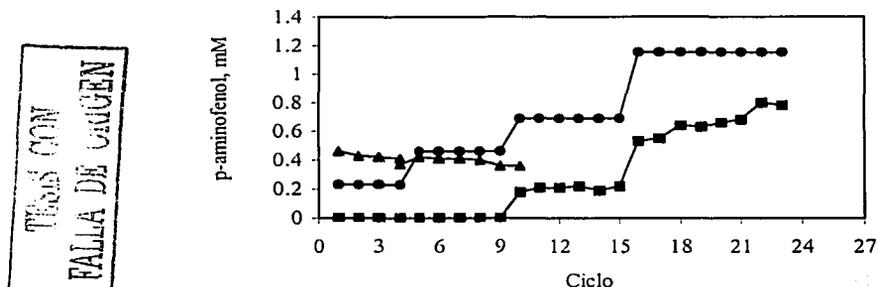


Figura A3-1. Evolución del PAF en el reactor aerobio. (●) PAF, influente; (■) PAF, efluente 24 h (▲) PAF, prueba abiótica).

El balance de nitrógeno para la concentración de 50 mg/L de PAF mostró la oxidación del grupo  $NH_2$  mediante desaminación oxidativa con liberación de  $N-NH_3$  y posterior oxidación de éste a  $N-NO_2^-$  y  $N-NO_3^-$ . La diferencia que existió entre el balance del influente y el efluente fue el nitrógeno utilizado por las células para su crecimiento; esta fracción correspondió al 11 %.

Tabla A3-5 Balance de nitrógeno durante la prueba de oxidación aerobia del PAF, ciclo 9. (Resultados promedio de 5 mediciones)

Especie de nitrógeno	Influente (mg/l)	Efluente (mg/l)
N- p-aminofenol (N-PAF)	6.4	0
N-nutrientes	1.95	0
N-nitratos	0	5.06
N-nitritos	0	0.15
N-amoniaco	0	3.25
N-agua de la llave	1.2	0
Total	9.55	8.46

## 2. Pruebas de biodegradabilidad del AD79

### 2.1. Determinación de la sorción del colorante en las piedras

Se determinó la sorción del colorante en las piedras, preparando 6 matraces Erlenmeyer con diferentes condiciones como se muestra en la tabla A3-6. Se agregaron 280 mL de medio mineral y colorante AD-79 en concentración de 10 mg/L y ác. acético 1:5 como co-sustrato. Se colocaron los matraces en el agitador a 155 r.p.m. y cada 24 h se midió la concentración del colorante. Se calcularon las constantes de la ecuación de Freundlich para estimar los ciclos necesarios para saturar el empaque del reactor.

Tabla A3-6. Condiciones para las pruebas de sorción del colorante en las piedras.

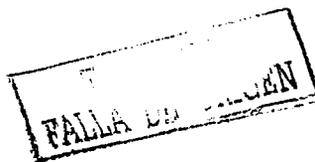
Matraz	Condición
1	Agua destilada y 50 g de piedras
2	Medio mineral y piedras sin co-sustrato
3	Medio mineral con co-sustrato
4	Medio mineral y 25 g de piedras con co-sustrato
5	Medio mineral y 50 g de piedras con co-sustrato
6	Medio mineral y 75 g de piedras con co-sustrato

### 2.2. Determinación de la influencia del medio mineral en la sorción del colorante

Se determinó la influencia de la composición del medio mineral y si el colorante se sorbía en éste, realizando diferentes pruebas (tabla A3-7), principalmente las soluciones que contienen oligoelementos y cloruro ferrico ya que podrían tener reacciones redox con el colorante. Los matraces se protegieron de la luz cubriéndolos con papel aluminio.

Tabla A3-7. Condiciones de reacción para determinar la influencia del medio mineral en la sorción del colorante.

Matraz	Condición
1	Agua destilada
2	Nutrientes completo
3	Sin $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .
4	Sin oligoelementos
5	Sin $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ni oligoelementos



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

# ANEXO 4

## Lista de publicaciones generadas de la investigación

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## LISTA DE PUBLICACIONES

### En Revistas Internacionales

- 1) Melgoza R. M., Chew M., and Buitrón G. (1999). Start-up of a sequential anaerobic/aerobic batch reactor for the mineralization of p-nitrophenol. *Water Science and Technology*, 42(5-6), 289-292.
- 2) Melgoza R.M. and Buitrón G. (2001). Degradation of p-nitrophenol in a batch biofilter under sequential anaerobic/aerobic environments. *Water Science and Technology*, 44(4), 151-157.
- 3) Buitrón G., Melgoza R.M. and Jiménez L. (2002). Pharmaceutical wastewater treatment using an anaerobic/aerobic sequencing batch biofilter. *Journal Environmental Science and Health Part A*. Aceptada.

### En memorias de Congresos Internacionales

- 1) Melgoza R. M., Chew M., and Buitrón G. (1999). Start-up a sequential anaerobic/aerobic batch reactor for the mineralization of p-nitrophenol. *Proceedings of the Waste Minimization and end of pipe treatment in Chemical and Petrochemical Industries. IAWQ (International Specialized Conference of the Chemical Industry Group)*. Mérida, Yucatán, México. pp. 593-596.
- 2) Melgoza R. M. and Buitrón G. (2000). Mineralization of p-nitrophenol using anaerobic/aerobic sequencing batch reactor. *Proceedings in CD of the 1<sup>st</sup> International Conference on Petroleum Biotechnology*. México, D.F.
- 3) Melgoza R. M. and Buitrón G. (2000). Anaerobic/aerobic sequencing batch biofilter for the mineralization of p-nitrophenol. *Proceedings in CD of the 1<sup>st</sup> World Congress of the International Water Association*. Paris, Francia.
- 4) Melgoza R. M. and Buitrón G. (2000). Degradation of p-nitrophenol in a batch biofilter under sequential anaerobic/aerobic environments. *Proceedings of the VI Latin-American Workshop and Seminar on Anaerobic Digestion*. Recife, Brasil. Vol. 1 pp. 247-254.
- 5) Buitrón G., Melgoza R.M. and Jiménez L. (2002). Pharmaceutical wastewater treatment using an anaerobic/aerobic sequencing batch biofilter. *5<sup>th</sup> Specialized Conference on Small Water and Wastewater Treatment Systems. Istanbul, Turkey*. 24-26 septiembre 2002.
- 6) Rosa Ma. Melgoza, Alejandro Fonseca, and Germán Buitrón. Anaerobic/aerobic treatment of disperse blue 79 present in textile effluents. *4th International Symposium on Wastewater Reclamation and Reuse*, November 12-14, 2003, Mexico City. ACEPTADO.

---

## En memorias de Congresos Nacionales

- 1) Melgoza R.M., Juárez L. y Buitrón G. (2000). Estrategias de arranque de un biofiltro SBR anaerobio/aerobio para la mineralización de nitrofenoles. *Memorias del XII Congreso Nacional de FEMISCA (Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. A.C.* Morelia, Michoacán, México. pp. 561-568.
- 2) Melgoza R.M. y Buitrón G. (2001). Influencia del tipo de co-sustrato en la fase reductiva del proceso anaerobio/aerobio para la degradación del p-nitrofenol. *Memorias en CD del IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.* Veracruz, Veracruz, México.
- 3) Jiménez L., Melgoza R.M. y Buitrón G. (2001). Tratamiento de un efluente industrial por medio de un biofiltro SBR anaerobio/aerobio. *Memorias en CD del IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.* Veracruz, Veracruz, México.