



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EFFECTO DE LA VARIACIÓN DE OXÍGENO
DISUELTO EN LA VELOCIDAD ESPECÍFICA DE
NITRIFICACIÓN DE AGUA Y AGUA RESIDUAL
ENRIQUECIDA CON AMONIO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
I N G E N I E R O Q U Í M I C O
P R E S E N T A :
JUAN BENJAMÍN SEGURA MIRANDA



MÉXICO, D. F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente Prof. *LETICIA MA. DE LOS A GONZÁLEZ ARREDONDO*

Vocal Prof. *RODOLFO TORRES BARRERA*

Secretario Prof. *VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO*

1er. Suplente Prof. *ALFONSO DURÁN MORENO*

2do. Suplente Prof. *FULVIO MENDOZA ROSAS*

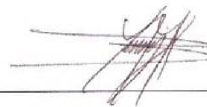
Esta tesis de licenciatura se realizó en el Laboratorio de Microbiología Experimental, en el Departamento de Biología de la Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor del Tema:



Dr. Víctor Manuel Luna Pabello

Sustentante:



Juan Benjamín Segura Miranda

RECONOCIMIENTOS

Al laboratorio de Microbiología Experimental, del Departamento de Biología de la Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México, dónde se realizó el trabajo experimental de la presente tesis.

Al Dr. Víctor Manuel Luna Pabello por la dirección de esta tesis.

La realización de la presente tesis contó con el apoyo económico del PAIP 6190-14 (2004-2005) de la Facultad de Química, UNAM y del Proyecto Bimbo, ambos a cargo del Dr. Víctor Manuel Luna-Pabello.

Se reconoce el apoyo otorgado por el proyecto DGAPA/PAPIME 2005-2006. Clave: EN-213104 “Desarrollo, montaje y validación de prácticas de laboratorio para la enseñanza de la microbiología ambiental”.

Se agradece el apoyo brindado por la Facultad de Química de la UNAM, a través del Subprograma 127 “Formación básica en investigación, 2005-2006”.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la enorme ayuda, confianza, paciencia, conocimiento y amistad, que el doctor Víctor Manuel Luna Pabello me brindó, así como por darme su apoyo incondicional y la oportunidad de trabajar con usted.

Asimismo, deseo expresar mi agradecimiento a mis compañeros del laboratorio de Microbiología Experimental: Adriana, Alicia, Ana, Claudia, Cuauhtemoc, mi doble (Carlos) Christopher, Ernesto, Eva, Erika, Héctor, Israel, Iván, Javier, Luis, Mónica, Miguel, el Mozo, Otoniel, Patricia, René, Rosario, Tania, Lilia, Xochitl, Yesenia y a mi guía espiritual Laura.

A los miembros del jurado, gracias por todas sus opiniones y contribuciones para la presentación de esta tesis.

A la UNAM por haber sido mi casa de estudio y por brindarme la oportunidad de prepararme mental, espiritual y profesionalmente, así como por fortalecer mis principios de carácter social.

A mis abuelos, padres y tíos, por brindarme su apoyo, amor y paciencia incondicional, así como por estar a mi lado en todo momento y ser un gran ejemplo en mi vida, gracias por sus preocupaciones y por todo lo que me han dado y que no tengo con que pagar, les doy las gracias y espero que se sientan orgullosos de mi.

DEDICATORIAS

A mi madre: Por el inmenso amor que te tengo.

A mi padre: Por quererme a tu manera y por el apoyo que me haz brindado.

A mis abuelos: Por ser un gran pilar en mi vida, además del gran amor y cariño que les tengo.

A mis hermanos por que eso son todos para mi: Jorge, Mony, Yeya, Nano, Marquitos, Tamy y Taby, cuyo apoyo fue indispensable para la consolidación de este trabajo y que también son y serán partícipes de mis logros y sueños.

A mis muy queridos Tíos: Lucha, Jorge, Enrique, Gina, Raymundo, Celia, Raúl, Ana Laura, Mario, Alma, Imelda, Pita, por sus valiosos consejos, apoyo, comprensión y cariño.

A mis amigos de la escuelita “Estudios Básicos y Chuperiores”: Martín Venegas, Quiroz, Alfredo (El Chino), César y Rosa.

A mis amigos de la Facultad de Química y anexos: Liliana, Yenny, Salvador, Mauricio, la Ethna, Itzel, Luis Mario, César, Jonathan, Kitón, Paola, Mayra, Mónica, Belmar, el David Frausto y demás miembros de aquellos años mozos.

A mis amigos de Arice: Ely, Kity, Armand y Christian.

A mi gran y fiel amigo “CHULETAS”.

A todos ustedes y a sus familias, así como a todas aquellas viejas y nuevas amistades que también son importantes para mi, les agradezco su paciencia, comprensión y los buenos momentos que pasamos juntos. Los quiero mucho y les dedico este trabajo. Espero que nuestra bella amistad siga para siempre.

Juan Benjamín Segura Miranda

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 3 |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN | 5 |
| CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO | 6 |
| 2.1. Hipótesis | 6 |
| 2.2. Objetivo general | 6 |
| 2.3. Objetivos particulares | 6 |
| 2.4. Estrategia de trabajo | 7 |
| CAPÍTULO 3. MARCO DE REFERENCIA TEÓRICO | 8 |
| 3.1. Aspectos relevantes de la contaminación del agua | 8 |
| 3.2. Procesos biológicos en el tratamiento de las aguas residuales | 10 |
| 3.2.1. Los procesos de oxidación biológica | 11 |
| 3.2.2. Reacciones de síntesis o asimilación | 12 |
| 3.2.3. Reacciones de oxidación y respiración endógena | 12 |
| 3.2.4. Factores que intervienen en la oxidación biológica | 13 |
| 3.3. Compuestos nitrogenados como contaminantes del agua | 14 |
| 3.4. Ciclo biogeoquímico del nitrógeno | 17 |
| 3.5. El fenómeno de nitrificación | 22 |
| 3.5.1. Transformación del nitrógeno de su forma orgánica a la mineral (Nitrificación biológica) | 22 |
| 3.5.2. Factores que afectan a la nitrificación biológica | 24 |
| 3.5.3. Factores que inhiben el crecimiento de las bacterias nitrificantes | 26 |
| 3.5.4. Inhibiciones físicas del crecimiento de las bacterias nitrificantes | 28 |
| 3.5.5. Sustancias tóxicas | 28 |
| 3.5.6. Legislación relacionada con las descargas de amoníaco, nitritos y nitratos | 28 |
| 3.6. Reactores | 30 |
| 3.6.1. Clasificación de los reactores | 31 |
| 3.7. Cinética química | 35 |
| 3.7.1. Definición de cinética química | 35 |
| 3.7.2. Mediciones de velocidad | 35 |
| 3.8. Leyes de velocidad | 37 |
| 3.8.1. Ecuación concentración-tiempo para una sola reacción irreversible | 39 |
| 3.8.2. Evaluación de ecuaciones de velocidad a partir de datos de laboratorio | 40 |
| CAPÍTULO 4. MATERIALES Y MÉTODOS | 41 |
| 4.1. Agua y agua residual enriquecida con amonio | 41 |
| 4.2. Diseño de columnas nitrificantes | 41 |
| 4.2.1. Condiciones de operación para las columnas nitrificantes | 42 |
| 4.3. Columnas nitrificantes (CN) | 43 |
| 4.4. Obtención de organismos nitrificantes | 44 |
| 4.5. Condiciones de operación | 46 |
| 4.6. Técnicas y equipos usados para la determinación de los parámetros | 46 |
| CAPÍTULO 5. EXPERIMENTACIÓN | 47 |
| 5.1. Primera etapa experimental | 48 |
| 5.2. Segunda etapa experimental | 49 |
| 5.3. Tercera etapa experimental | 50 |
| CAPÍTULO 6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 51 |
| 6.1. Resultados experimentales obtenidos | 51 |
| 6.2. Efectos del oxígeno disuelto en el proceso de nitrificación dentro de columnas nitrificantes | 53 |
| 6.3. Análisis de costos por el concepto de energía eléctrica | 58 |
| CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES | 60 |
| CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA | 61 |
| CAPÍTULO 9. ANEXOS | 68 |
| 9.1. Tablas de resultados obtenidos en las diferentes etapas experimentales | 68 |
| 9.2. Técnicas analíticas empleadas | 69 |
| 9.2.1. Determinación de N-NH ₃ | 69 |
| 9.2.2. Determinación de NO ₂ (Nitritos). Método Colorimétrico | 79 |
| 9.2.3. Determinación de NO ₃ (Nitratos). Método Espectrofotométrico Ultravioleta Selectivo | 87 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 2-1.- Diagrama de flujo de la metodología seguida. | 7 |
| Figura 3-1.- Incrementos en la concentración de nitrógeno en el ambiente (Howarth, 2004). | 15 |
| Figura 3-2.- Ejemplo de un cuerpo de agua eutroficado (Canal de Xochimilco). | 16 |
| Figura 3-3.- Ciclo biogeoquímico del nitrógeno (Harrison, 2006). | 18 |
| Figura 3-4.- Ciclo biogeoquímico del nitrógeno (enfoque microbiológico). | 19 |
| Figura 3-5.- Esquema de los factores que influyen en el proceso de nitrificación. | 25 |
| Figura 3-6.- Diagrama de Anthonisen. | 27 |
| Figura 3-7.- Representación gráfica del progreso de una reacción biológica (Segel, 1975). | 36 |
| Figura 4-1.- Diagrama de una columna nitrificante. | 42 |
| Figura 4-2.- Columnas nitrificantes en operación. | 43 |
| Figura 4-3.- Sistema de aireación en operación y toma de muestra de la CN. | 43 |
| Figura 4-4.- Difusor de aire utilizado en las columnas nitrificantes. | 44 |
| Figura 4-5.- Arreglo de aireación para el inóculo. | 45 |
| Figura 6-1.- Gráfica con valores promedio de la primera etapa experimental. | 54 |
| Figura 6-2.- Gráfica con valores promedio de la segunda etapa experimental. | 54 |
| Figura 6-3.- Gráfica con valores promedio de la tercera etapa experimental. | 55 |
| Figura 6-4.- Análisis cinético de los resultados experimentales observados en la tercera etapa experimental. | 56 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 3-1.- Límites permisibles de descarga de amoníaco, nitratos y nitritos para diferentes tipos de agua. | 29 |
| Tabla 4-1.- Condiciones de operación para las tres diferentes etapas experimentales. | 42 |
| Tabla 4-2.- Condiciones favorables para el desarrollo de las bacterias nitrificantes. | 45 |
| Tabla 4-3.- Condiciones de operación para las tres diferentes etapas experimentales. | 46 |
| Tabla 6-1.- Valores promedio de la primera etapa experimental. | 51 |
| Tabla 6-2.- Valores promedio de la segunda etapa experimental. | 52 |
| Tabla 6-3.- Valores promedio de la tercera etapa experimental. | 52 |
| Tabla 6-4.- Parámetros cinéticos encontrados en el análisis cinético de los resultados experimentales ajustados a una cinética de orden cero. | 57 |
| Tabla 6-5.- Evaluación de los costos generados en el consumo de energía eléctrica por las columnas nitrificantes. | 59 |
| Tabla 9-1.- Valores obtenidos durante la primera etapa experimental. | 68 |
| Tabla 9-2.- Valores obtenidos durante la segunda etapa experimental. | 68 |
| Tabla 9-3.- Valores obtenidos en la tercera etapa experimental. | 69 |
| Tabla 9-4.- Preparación de estándares de color permanente para determinación visual de nitrógeno amoniacal. | 77 |
| Tabla 9-5.- Selección del volumen de muestra. | 85 |
| Tabla 9-6.- Recorridos de luz para las concentraciones indicadas. | 86 |

RESUMEN

La contaminación de aguas superficiales y subterráneas, esta estrechamente asociada a las descargas de compuestos nitrogenados, provenientes de las actividades agrícolas, ganaderas y de vertidos urbanos e industriales entre otros. La presencia excesiva de dichos compuestos nitrogenados limita su uso como fuente potencial para el abastecimiento de agua para consumo humano como para uso industrial, recreativo o protección de la vida acuática silvestre.

En México, más del 80% de las aguas residuales, son vertidas en cuerpos superficiales naturales (lagunas, arroyos, ríos, embalses, esteros, suelos, etc.) sin haber recibido algún tratamiento. De manera particular, los cuerpos de aguas naturales y artificiales presentan graves problemas asociados a su grado y tipo de contaminación (Enkerlin y Cano, 1998; CNA, 2006).

Existen métodos físicos, químicos y biológicos capaces de remover los contaminantes presentes en las aguas residuales. Los tratamientos de tipo biológico, representan una opción técnica y económicamente interesante.

Su aplicación en la remoción de nutrientes, tales como compuestos nitrogenados, resulta relevante debido a la poca generación de subproductos no deseados. Asimismo, permiten el reúso del recurso afectado, sin necesidad de tratamientos avanzados posteriores, que generen a su vez subproductos que deban ser tratados, lo cual repercute en el encarecimiento de la depuración de un determinado volumen de agua.

La eliminación biológica del nitrógeno amoniacal del agua, es el resultado de la acción interdependiente del proceso de nitrificación con el proceso de desnitrificación. En el primer proceso transforma el nitrógeno amoniacal a nitratos y en el segundo, se transforman los nitratos en nitrógeno molecular que se desprende hacia la atmósfera.

El objetivo del presente trabajo se enfocó a determinar los efectos causados en la velocidad de nitrificación debido a la variación de oxígeno disuelto, cuando se aplica en columnas experimentales utilizando agua y agua residual enriquecida con relativamente altas concentraciones de nitrógeno amoniacal.

La experimentación se llevo acabo bajo condiciones de operación controladas (luz, temperatura, pH, OD). Se determinaron periódicamente nitratos, nitritos y amonio, empleando un espectrofotómetro ULTROSPEC 3000. El valor de pH se midió con ayuda de un potenciómetro OAKTON y la determinación del oxígeno disuelto (OD) se efectuó con un multimedidor CORNING, modelo Checkmate M-90. En todos los casos, las determinaciones se hicieron con apego a lo indicado en los procedimientos aceptados internacionalmente (APHA, 1998).

Los resultados indican que la velocidad específica de biodegradación de amonio dentro de las columnas alcanzó un valor de 17.57 mg/Ld, mientras que la biogeneración de nitratos adquirió un valor de 4.72 mg/Ld. El fenómeno de nitrificación presentó una cinética de orden cero en ambos casos.

Las concentraciones iniciales de amonio, en el agua residual, a tratar fueron de 280 mg/L. Al finalizar el periodo experimental de 17 días, las concentraciones de amonio fueron sensiblemente reducidas obteniendo así valores menores a 3 mg/L. Al cabo de 15 días de tiempo de residencia hidráulico (TRH) se contó con una concentración remanente de 9.24 mg/L de NH_4^+ , esto equivale al 96% de remoción alcanzado en ese tiempo. Bajo las condiciones de operación en que se realizaron los experimentos, puede afirmarse que es posible dar cumplimiento a lo establecido por la normatividad ambiental nacional vigente aplicable, la cual establece el valor de 15mg/L como límite máximo permisible de nitrógeno total para cuerpos de agua cuya función sea la protección de vida acuática y silvestre.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La degradación y remoción de los residuos industriales, es hoy en día, un campo de estudio prioritario a nivel mundial. Para la solución de estos retos, se han desarrollado diversas tecnologías (físicas, químicas, biológicas y fisicoquímicas), encaminadas a la remoción de contaminantes. De entre ellas, las de tipo biológico, han demostrado ser las que generan menores cantidades de subproductos no deseados y permiten la reutilización del recurso afectado como lo son las aguas y suelos contaminados orgánicamente (Ambriz, 2001). Si bien dichas tecnologías permiten la remoción aceptable de compuestos carbonosos, no han logrado un éxito aceptable en la remoción de nitrógeno amoniacal. En los últimos años la contaminación ambiental se ha convertido en un tema de preocupación generalizada, en cuanto a sus causas, impacto social y consecuencias a mediano y largo plazo. La presencia de amoníaco, nitritos y nitratos en aguas residuales en altas concentraciones son considerados como contaminantes. Estos compuestos en determinadas concentraciones resultan tóxicos para la vida acuática existente en un cuerpo ó corriente de agua natural (Jiménez y Balcázar, 2003; Rodríguez, 2004). Siendo más específico, la presencia de estos compuestos en aguas residuales, en su forma de iones amonio, amoníaco, nitratos y nitritos son altamente tóxicos para los peces. La oxidación del amonio a nitrato, requiere de consumo de oxígeno disuelto, lo que trae como consecuencia el abatimiento en la concentración de este elemento en un determinado volumen de agua. Adicionalmente, estos compuestos de nitrógeno, pueden constituir un factor determinante para acelerar el fenómeno de eutroficación en lagos, lagunas y embalses (naturales y artificiales), llevando al deterioro fisicoquímico y biológico de los mismos. De aquí la importancia de eliminar dichos compuestos de las aguas residuales, antes de que sean descargados en cuerpos acuáticos receptores (Sedlack, 1991; Çelick et al., 2001).

Por lo antes mencionado, es de suma importancia contar con datos cinéticos útiles. El propósito de este trabajo es determinar bajo condiciones experimentales controladas el porcentaje de transformación de nitrógeno amoniacal a nitratos cuando se emplean columnas experimentales y microorganismos nitrificantes suspendidos, para o cual se planteo lo indicado en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO

2.1. Hipótesis

Con el uso de bacterias nitrificantes es posible desarrollar una tecnología biológica capaz de nitrificar de forma permanente mediante el suministro intermitente de aire, de este modo, el sistema será capaz de obtener un ahorro energético considerable y de esta manera, la industria nacional podrá ser beneficiada. Asimismo, se plantea demostrar la relación que existe entre la nitrificación y el consumo de oxígeno disuelto.

2.2. Objetivo general

Determinar bajo condiciones experimentales controladas el porcentaje de transformación de nitrógeno amoniacal a nitratos utilizando agua sintética y agua residual, ambas enriquecidas con una alta concentración de nitrógeno amoniacal (>200mg/L), cuando se emplean columnas experimentales y microorganismos nitrificantes suspendidos.

2.3. Objetivos particulares

- i. Establecer la metodología para el manejo adecuado de las columnas nitrificantes, bajo condiciones de operación por lote, que permitan actividad nitrificante permanente dentro de ellas.
- ii. Realizar experimentos preliminares para conocer el consumo de oxígeno por microorganismos nitrificantes y establecer periodos de aireación que favorezcan a la nitrificación en forma continua y permanente.
- iii. Determinar la velocidad específica de transformación de amonio dentro de las columnas experimentales utilizando agua y agua residual enriquecida con altas concentraciones de amonio (>200 mg/L).
- iv. Determinar el tiempo de retención hidráulica (TRH) requerido para cumplir con la mayor transformación de amonio a nitrato.
- v. Estimar los costos asociados al ahorro de energía obtenidos gracias a los periodos de no aireación establecidos para la operación de las columnas experimentales.

2.4. Estrategia de trabajo

Para el desarrollo experimental de este trabajo, se estableció una estrategia basada en el manejo adecuado de las columnas nitrificantes, bajo condiciones de operación por lotes, además de proponer el orden a seguir para encontrar los efectos causados en la velocidad de nitrificación debido a la variación de oxígeno disuelto dentro de las mismas columnas. Se siguió el siguiente diagrama de flujo:

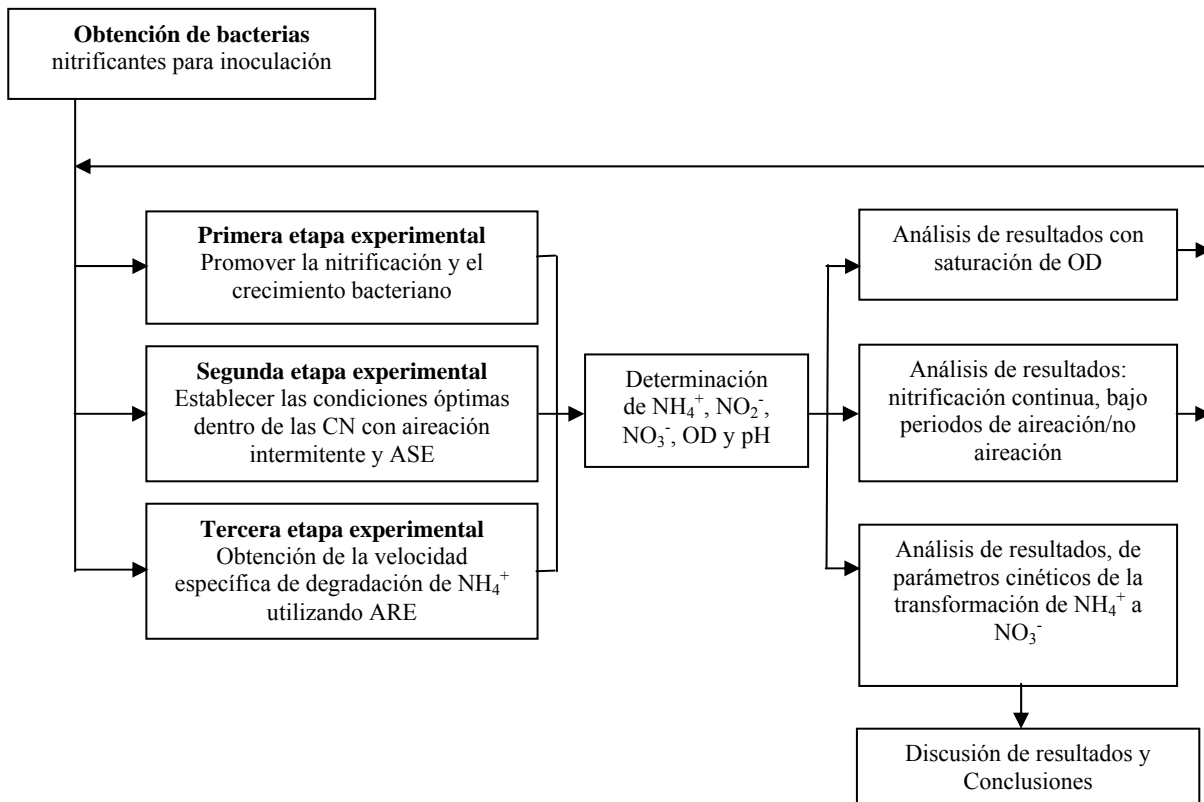


Figura 2-1.- Diagrama de flujo de la metodología seguida.

CAPÍTULO 3. MARCO DE REFERENCIA TEÓRICO

En este capítulo se presentarán los aspectos teóricos más relevantes para el entendimiento de la problemática seleccionada. En primer lugar se abordará el aspecto relacionado con la contaminación del agua y los parámetros de mayor interés para su tratamiento biológico. Posteriormente, se describirá la problemática asociada a los contaminantes nitrogenados, sus ciclos biogeoquímico y principales factores que influyen en su biodegradación. En un subsiguiente inciso se describirán los fenómenos de nitrificación y desnitrificación requeridos para la completa eliminación de los compuestos nitrogenados presentes en solución acuosa y sobre la normatividad ambiental nacional asociada a la presencia de dichos compuestos en aguas y aguas residuales. En segundo lugar se proporcionará de manera breve los aspectos más sobresalientes relacionados con reactores y cinéticas de reacción.

3.1. Aspectos relevantes de la contaminación del agua

Durante muchos años el ambiente ha sido constantemente sometido a la acción contaminante de las actividades antropogénicas, acción que se ha incrementado constantemente con el crecimiento de las poblaciones. Dicho crecimiento ha llevado a explotar en demasía los recursos naturales, produciendo un desequilibrio en el ambiente y evitando que se tenga un proceso de recuperación o regeneración del equilibrio ecológico (Boopathy, 2000; Reuschenbach *et al.*, 2003; Reyes, 2006).

Uno de tantos problemas es el uso del agua como vehículo para la eliminación de desechos y la disposición de los efluentes hacia los cuerpos de agua superficiales y suelos, generando una creciente contaminación, no solo en México sino en todo el mundo. Lo que ha tenido como consecuencia una disminución de la disponibilidad de este recurso, además de problemas como el agotamiento progresivo de los mantos freáticos, el deterioro de suelos, desequilibrios en la flora y fauna silvestre y el incremento en enfermedades de tipo gastrointestinal. Dichos problemas son el resultado de una incorrecta disposición de las aguas residuales, incluyendo las de origen doméstico, industrial y de la actividad agrícola.

La creciente problemática sobre el suministro de agua para las diferentes actividades humanas, han originado que se preste mayor atención a las fuentes de abastecimiento como ríos, lagos y presas. Como se sabe, la mayoría de los cuerpos acuáticos de nuestro país, tanto natural como artificial, sufren la problemática de la contaminación por ejemplo, el río Panuco, el lago de Xochimilco, el lago artificial Nabor Carrillo, etc. Dicha contaminación proviene de manera significativa de las diferentes actividades humanas (domésticas, industriales, agrícolas, entre otras). En función de su concentración, es posible afirmar que los principales compuestos presentes en las aguas residuales son aquellos formados por carbono, nitrógeno y fósforo (Argaman *et al.*, 1991; De Barbadillo *et al.*, 1995). Entre las alternativas existentes para el control y/o prevención de la contaminación, por compuestos orgánicos disueltos biodegradables, se encuentran los sistemas de tratamiento biológico tanto de tipo aerobio como anaerobio (Randall *et al.*, 1992; Knight *et al.*, 1995). En el país, no obstante los esfuerzos realizados al respecto, únicamente se le da tratamiento a aproximadamente el 15% de las aguas residuales generadas (INEGI, 1994). En términos generales, las plantas depuradoras construidas para tal efecto usualmente funcionan al 60% de su capacidad logrando entre el 40 y 60% de remoción de los contaminantes de tipo carbonoso presentes en solución, pero dejando de manera remanente altas concentraciones de compuestos nitrogenados parcialmente oxidados. Estos compuestos al ser descargados en ríos y lagos artificiales o naturales ocasionan problemas de enriquecimiento de nutrientes y con ello, se tiene como consecuencia el abatimiento de la calidad del agua.

De los compuestos nitrogenados contenidos en las aguas residuales de tipo doméstico, comúnmente el 39.5% se encuentra en forma orgánica; 59.5% en forma amoniacal y el restante 1% como nitratos y nitritos. La presencia de compuestos nitrogenados en aguas tratadas ocasiona problemas ambientales, tanto a nivel de eutrofización como al reaccionar con algunas sustancias pudiendo originar compuestos altamente tóxicos como las nitrosaminas, muchas de las cuales son reconocidos agentes carcinogénicos. Durante la oxidación microbiana realizada en sistemas biológicos de tratamiento, los compuestos de nitrógeno orgánico y amoniacal son transformados en nitritos y nitratos (Rols *et al.*, 1994), quedando estos en concentraciones superiores a las recomendadas tanto nacional como internacionalmente para ser descargadas en cuerpos acuáticos receptores.

En la actualidad se ha planteado la realización de estudios enfocados a la utilización de periodos alternos de aireación como mecanismo para la reducción, a niveles aceptables, del contenido de los compuestos nitrogenados disueltos en las aguas residuales tanto parcialmente tratadas como sin tratamiento previo (Bartone *et al.*, 1994; Isaacs y Henze, 1995), sin embargo dicha problemática solo ha sido abordada en los países altamente industrializados de manera escasa y con enfoques de tipo ingenieril (Argaman *et al.*, 1991; Suwa *et al.*, 1992; Wanner, 1994), dejando de lado el aspecto microbiológico del proceso depurativo.

Es evidente que tratándose de sistemas de tratamiento biológico, para la transformación de dichos compuestos nitrogenados el papel de los microorganismos es de crucial importancia, no solo para comprender el fenómeno, sino también para diseñar y optimizar el funcionamiento de sistemas de tratamiento encaminados a la obtención de aguas tratadas aptas para ser descargadas en cuerpos acuáticos receptores (Edeline, 1993; Luna Pabello *et al.*, 1996) sin ocasionar, problemas posteriores de eutroficación o toxicidad.

3.2. Procesos biológicos en el tratamiento de las aguas residuales

Cuando las aguas residuales entran a una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR), sufren un pre-tratamiento en el que se retiran los sólidos y gruesos de gran tamaño, así como las arenas y grasas. A continuación, el agua pasa al denominado tratamiento primario, donde se eliminan sólidos en suspensión fácilmente sedimentables y parte de materia orgánica.

La materia orgánica que queda disuelta y en suspensión así como el resto de las partículas sólidas que no se han eliminado en los tratamientos anteriores, son eliminadas mediante los denominados “Procesos Biológicos”, estos pueden ser aerobios o anaerobios y comúnmente son denominados como tratamientos secundarios.

Se puede definir a los “Procesos Biológicos Aerobios”, como aquellos realizados por determinado grupo de microorganismos (principalmente bacterias y protozoos) que en presencia de oxígeno, actúan sobre la materia orgánica e inorgánica disuelta, suspendida y coloidal existente en el agua residual, transformándola en gases y materia celular, que puede

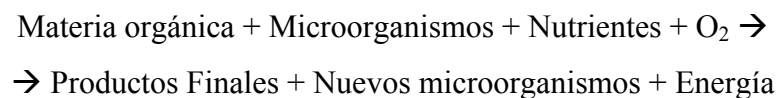
separarse fácilmente mediante sedimentación. La unión de materia orgánica, bacterias y sustancias minerales forma los flóculos y el conjunto de flóculos es lo que se conoce como lodo biológico.

Los objetivos que persigue este tipo de tratamiento son la transformación de la materia orgánica y la coagulación y eliminación de los sólidos coloidales no sedimentables. En el caso de algunas aguas residuales urbanas, también se persigue la eliminación de nitrógeno y de fósforo. Por último, se consigue también la disminución de los microorganismos patógenos y fecales presentes en el agua residual.

Básicamente, existen dos tipos de tratamientos biológicos aerobios: Procesos de Biomasa en Suspensión (Lodos Activados) y Procesos de Biomasa Fija (Biopelícula).

3.2.1. Los procesos de oxidación biológica

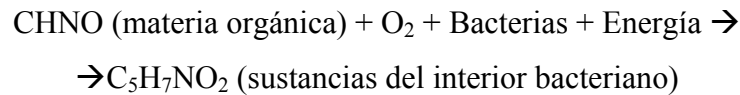
La oxidación biológica es el mecanismo mediante el cual los microorganismos degradan la materia orgánica contaminante del agua residual. De esta forma, estos microorganismos se alimentan de dicha materia orgánica en presencia de oxígeno y nutrientes, de acuerdo con la siguiente reacción:



Para que lo anteriormente expuesto se produzca, son necesarias dos tipos de reacciones fundamentales totalmente acopladas: de síntesis o asimilación y de respiración endógena u oxidación.

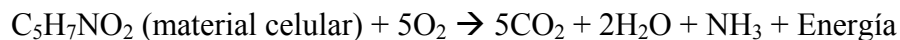
3.2.2. Reacciones de síntesis o asimilación

Consisten en la incorporación del alimento (materia orgánica y nutrientes) al interior de los microorganismos. Estos microorganismos al obtener suficiente alimento no engordan, sino que forman nuevos microorganismos reproduciéndose rápidamente. Parte de este alimento es utilizado como fuente de energía. La reacción que ocurre es la siguiente:



3.2.3. Reacciones de oxidación y respiración endógena

Los microorganismos al igual que nosotros, necesitan de energía para poder realizar sus funciones vitales (moverse, comer etc.), dicha energía la obtienen transformando la materia orgánica asimilada y aquella acumulada en forma de sustancias de reserva en gases, agua y nuevos productos de acuerdo con la siguiente reacción:



Como se puede observar, después de un tiempo de contacto suficiente entre la materia orgánica del agua residual y los microorganismos (bacterias), la materia orgánica del medio disminuye considerablemente transformándose en nuevas células, gases y otros productos. Este nuevo cultivo microbiano seguirá actuando sobre el agua residual.

A todo este conjunto de reacciones se les denomina oxidación biológica, porque los microorganismos necesitan de oxígeno para realizarlas.

3.2.4. Factores que intervienen en la oxidación biológica

Los factores principales que hay que tener en cuenta para que se produzcan las reacciones biológicas y por tanto, la depuración del agua residual son:

Las características del sustrato: Las características fisico-químicas del agua residual, determinan el mejor o peor desarrollo de los microorganismos en este sistema, existiendo compuestos contaminantes que son degradables biológicamente y otros que no lo son.

Los nutrientes: El interior celular, aparte de C, H y O, elementos característicos de la materia orgánica, contiene otros elementos como son el N, P, S, Ca, Mg etc., denominados nutrientes y que a pesar de que muchos de ellos se encuentran en el organismo sólo en pequeñas cantidades, son fundamentales para el desarrollo de la síntesis biológica. Se ha determinado a nivel medio que los microorganismos para sobrevivir necesitan por cada 1000 gr. de C, 43 de N y 6 de P, y que en las aguas residuales urbanas existen por cada 1000 gr. de C, 200 g. de N y 16 g. de P.

Si se compara lo que necesitan los microorganismos para sobrevivir, con las cantidades existentes de dichos elementos en el agua residual, se puede concluir que a título general dichos microorganismos pueden desarrollarse en el agua residual perfectamente. Es interesante comentar que en el caso de determinadas aguas con vertidos industriales, las proporciones de dichos elementos no están equilibradas, siendo necesario a veces dosificar N y P en el agua, para que pueda darse el desarrollo bacteriano y exista depuración biológica.

Aportación de Oxígeno: Como se ha visto, para el desarrollo de las reacciones biológicas es necesario un medio aerobio, es decir, con oxígeno suficiente que permita el desarrollo y la respiración de los microorganismos aerobios.

Temperatura: A medida que aumenta la Temperatura, aumenta la velocidad con que los microorganismos degradan la materia orgánica, pero a partir de los 37°C, dichos organismos

mueren. Nuestras temperaturas son ideales para el desarrollo óptimo de los procesos de depuración biológica.

Salinidad: El contenido en sales disueltas no suele ser problemático para el desarrollo bacteriano en el proceso de lodos activados hasta concentraciones de 3 a 4 g/L. En los procesos de biomasa fija (biopelícula), la influencia es aún menor, no afectando valores que no superen los 15 g/L. Sin embargo, existen diversos grupos bacterianos capaces de vivir en aguas saladas, de forma que si a tu sistema de depuración le das tiempo de adaptación, pueden desarrollarse bastante bien dichos grupos microbianos a concentraciones salinas superiores.

Tóxicos o inhibidores: Existen una serie de sustancias orgánicas e inorgánicas que, a ciertas concentraciones, inhiben o impiden los procesos biológicos. Este tipo de sustancias, entre las que se encuentran los metales pesados, ejercen un efecto perjudicial sobre los microorganismos encargados de depurar el agua y por tanto, no deben de entrar en las plantas depuradoras con el agua residual, o si entran deben de hacerlo en concentraciones muy bajas.

Todos estos factores mencionados son de gran importancia, y deben de ser controlados si desea obtener un rendimiento eficaz de depuración por parte de los microorganismos encargados de degradar la materia orgánica y otros contaminantes del agua residual.

3.3. Compuestos nitrogenados como contaminantes del agua

El nitrógeno es un nutriente esencial para el hombre, así como para todas las formas de vida en el ambiente; la entrada del nitrógeno al ambiente, ha tenido un incremento considerable a partir de los años 40's como se muestra en la Figura 3-1 (Choi *et al.*, 2004). La principal razón del incremento de nitrógeno en el ambiente, es por el uso masivo y excesivo de fertilizantes, debido al interés de incrementar la producción de las cosechas dicha situación, trajo consigo un impacto negativo en la salud humana, así como en el ambiente, esto causado por el exceso de nitrógeno. Asimismo, provoca la acidificación del suelo y agua, la eutrofización de cuerpos de agua valiosos tales como ríos, lagos y aguas costeras; trayendo como consecuencia la pérdida de la biodiversidad de los diferentes tipos de ecosistemas (tanto terrestres como acuáticos).

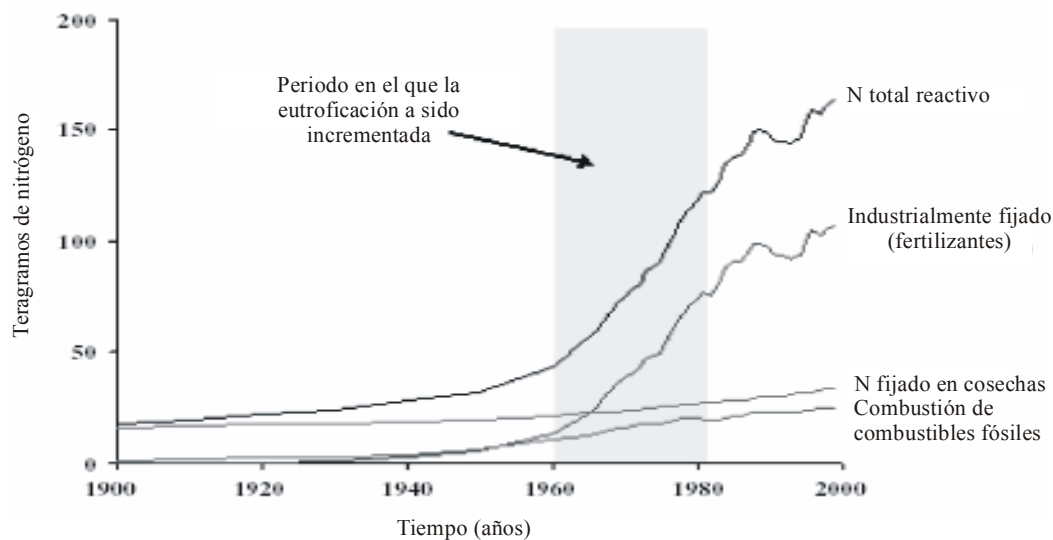


Figura 3-1.- Incrementos en la concentración de nitrógeno en el ambiente (Howarth, 2004).

Nota: 1 teragramo es igual a 1 millón de toneladas.

Los compuestos nitrogenados son de suma importancia para tener un buen desarrollo de la vida en cuerpos de agua natural, pero si se encuentran en exceso tendrían como consecuencia un desequilibrio del ecosistema, manifestándose en forma de contaminación del cuerpo receptor. En el caso de los ambientes acuáticos, el nitrato es también un nutriente esencial para el desarrollo de la vegetación acuática por este motivo, un aumento en su concentración lo convierte en un factor promotor de la productividad primaria, lo cual puede ocasionar la eutroficación de este ambiente (Çelik *et al.*, 2001).

Uno de los principales problemas de los estanques así como cuerpos de agua naturales y artificiales, es que el agua toma un color verde intenso, especialmente durante primavera y verano, fenómeno conocido como eutroficación (ver Figura 3-2). La causa del color verde es el crecimiento exponencial de poblaciones de algas microscópicas Clorofitas, Dinoflagelados, Diatomeas, Euglenas y cianobacterias (algas verde-azules, que son verdaderas bacterias). Estos organismos requieren luz solar directa, altas temperaturas, fosfatos y (en menor grado) compuestos de nitrógeno.

No obstante, las cianobacterias así como otras bacterias heterotróficas son capaces de fijar nitrógeno elemental disuelto en el agua, y por tanto no están limitadas por la disponibilidad de nitrato. La estratificación térmica del agua (más caliente en la superficie) les favorece, siendo el fósforo el elemento menos abundante y que limita su actividad. Las cianobacterias y los dinoflagelados son los causantes de producir y liberar exo-toxinas que en concentraciones elevadas ocasionan la muerte de la fauna acuática.



Figura 3-2.- Ejemplo de un cuerpo de agua eutroficado (Canal de Xochimilco).

La acumulación de compuestos nitrogenados se presenta en el suelo como consecuencia de la descarga de aguas residuales y la adición inadecuada de fertilizantes. De no ocurrir la transformación de amonio a nitrato, las plantas no se desarrollan óptimamente debido a que el primero, como sal de amonio, es tóxico a altas concentraciones y de difícil asimilación, mientras que el segundo (el nitrato), es un nutrimento esencial para las plantas, por lo que es deseable que este presente en el medio (Rodríguez, 2004).

Desde el punto de vista de contaminación ambiental los compuestos nitrogenados se encuentran clasificados entre los principales contaminantes del agua, presentándose preferentemente en aguas residuales de la industria alimentaria, agrícola y doméstica. Dentro de los compuestos considerados como contaminantes principales se encuentran: amonio, nitrito y nitrato. La presencia de compuestos nitrogenados en agua para beber, puede conducir al incremento de casos de cáncer, aborto y otros problemas a la salud (Montuelle *et al.*, 1996; Choin *et al.*, 2004).

Para su eliminación de las aguas residuales puede recurrirse a los procesos biológicos de nitrificación y des-nitrificación. La eliminación de dichos compuestos, es un método económico el cual no genera residuos que requieran un manejo especial, lo que ocurre cuando se emplean métodos fisicoquímicos.

Por lo anterior, se hace necesario profundizar en el entendimiento del fenómeno de nitrificación en el contexto de los ciclos biogeoquímicos, a efecto de evitar generar subproductos no deseados, como consecuencia del tratamiento que se proponga para su eliminación.

3.4. Ciclo biogeoquímico del nitrógeno

El Nitrógeno (N), es un componente esencial para la vida, ya que los organismos lo emplean en la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos (ADN y ARN) y otras moléculas fundamentales del metabolismo. Todos los organismos requieren nitrógeno para vivir y crecer. El aire de la atmósfera contiene el 78% de nitrógeno, por lo que la reserva fundamental de este elemento es la atmósfera, en donde se encuentra en forma de N_2 .

A pesar de su abundancia, dicha molécula no puede ser utilizada directamente por la mayoría de los seres vivos (exceptuando algunas bacterias), pocos son los organismos capaces de absorberlo directamente para utilizarlo en sus procesos vitales. La razón reside en que debido al fuerte enlace triple entre los átomos N en las moléculas de N_2 , el nitrógeno es relativamente inerte.

En realidad, para que las plantas y los animales puedan usar nitrógeno, el gas N_2 tiene primero que ser convertido a una forma química disponible como el amonio (NH_4^+), el nitrato (NO_3^-), o el nitrógeno orgánico (urea - $(NH_3)_2CO$). La naturaleza inerte del N_2 significa que el nitrógeno biológico disponible es, a menudo, escaso en los ecosistemas naturales. Esto limita el crecimiento de las plantas y la acumulación de biomasa (Harrison, 2006).

El Nitrógeno es un elemento muy versátil que existe en forma inorgánica y orgánica, también se puede encontrar con diferentes estados de oxidación. El movimiento del nitrógeno entre la atmósfera, la biosfera y la geosfera en sus diferentes formas está descrito en el ciclo del nitrógeno (**Figura 3-3**). El ciclo del nitrógeno consiste en varios bancos o bolsas de almacenamiento de nitrógeno y de procesos por los cuales las bolsas intercambian nitrógeno (flechas).

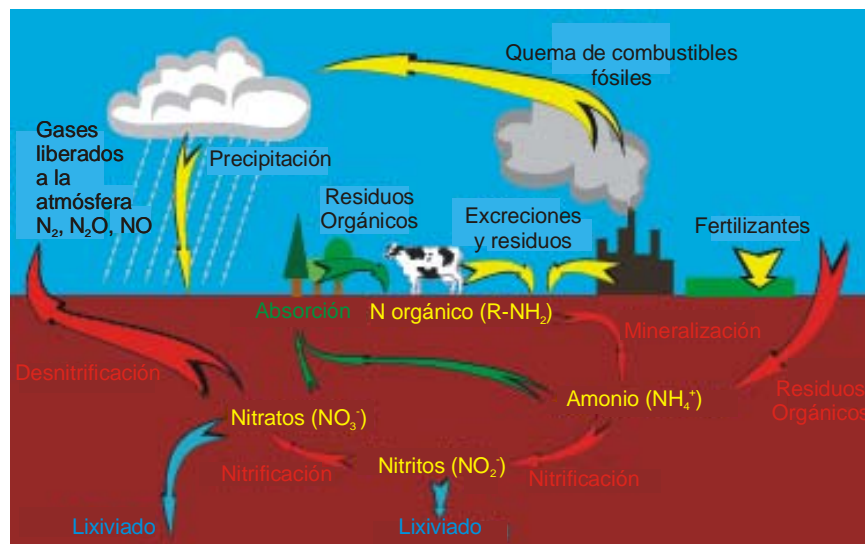


Figura 3-3.- Ciclo biogeoquímico del nitrógeno (Harrison, 2006).

Nota. Las flechas amarillas indican las fuentes humanas de nitrógeno para el ambiente. Las flechas rojas indican las transformaciones microbianas del nitrógeno. Las flechas azules indican las fuerzas físicas que actúan sobre el nitrógeno. Y las flechas verdes indican los procesos naturales y no microbianos que afectan la forma y el destino del nitrógeno.

Los procesos principales que componen el ciclo del nitrógeno que pasa por la biosfera, la atmósfera y la geosfera son cinco: la fijación del nitrógeno, la toma de nitrógeno (crecimiento de organismos), la mineralización del nitrógeno (desintegración), la nitrificación y la desnitrificación. Los microorganismos, particularmente las bacterias, juegan un papel muy importante en las principales transformaciones del nitrógeno. Como procesos de mediación microbianas. En el caso de estos procesos la velocidad se ve afectada por factores ambientales como la temperatura, la humedad y la disponibilidad de recursos que influyen la actividad microbiana.

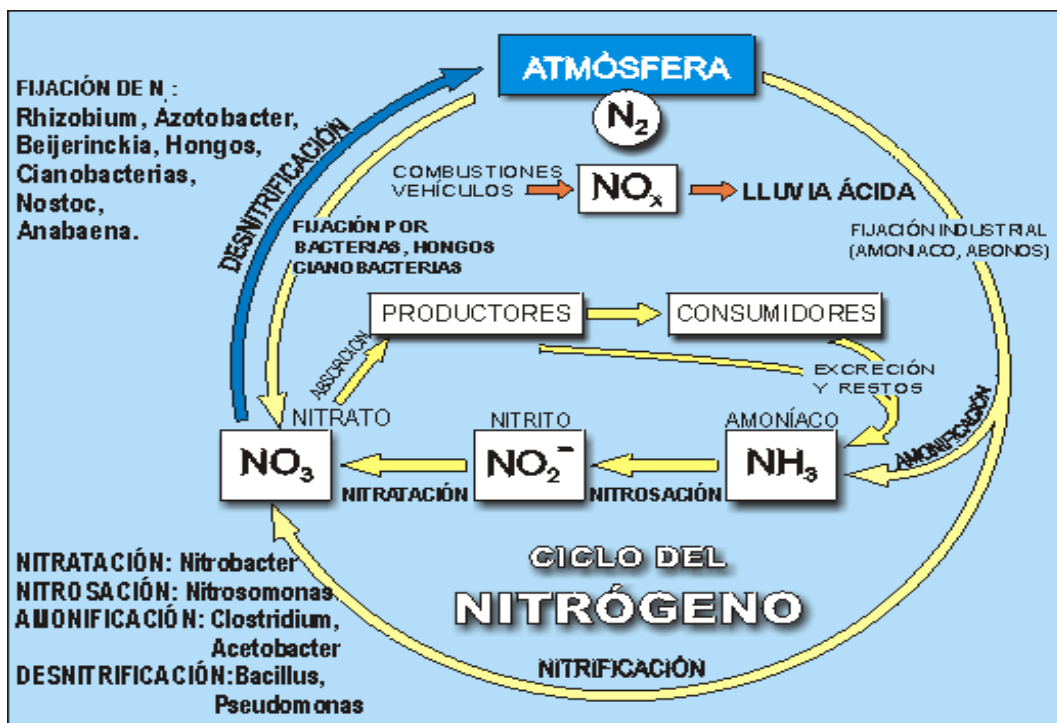


Figura 3-4.- Ciclo biogeoquímico del nitrógeno (enfoque microbiológico).

La Fijación del Nitrógeno ($N_2 \rightarrow NH_4^+$).

La fijación del nitrógeno es un proceso en el cual el N_2 se convierte en amonio (NH_4^+). Éste es esencial ya que es la única manera en la que los organismos pueden obtener nitrógeno directamente de la atmósfera. Algunas bacterias, por ejemplo las del género *Rhizobium*, son los únicos organismos que fijan el nitrógeno a través de procesos metabólicos. Esta simbiosis ocurre de manera bien conocida, en la familia de las legumbres (por ejemplo frijoles, arbejas y tréboles).

En esta relación, la bacteria que fija el nitrógeno habita los nódulos de las raíces de las legumbres y reciben carbohidratos así como un ambiente favorable de la planta anfitriona a cambio de parte del nitrógeno que ellas fijan. También hay bacterias que fijan el nitrógeno existente, sin plantas anfitrionas. Éstas son conocidas como fijadoras de nitrógeno libre sin límites. En ambientes acuáticos, las algas azules verdosas (en realidad una bacteria llamada cianobacteria) es una importante fijadora de nitrógeno libre sin límites.

Además del nitrógeno que fija la bacteria, eventos de alta energía natural, tales como los relámpagos, fuegos forestales, y hasta flujos de lava, pueden causar la fijación de pequeñas, pero significativas cantidades de nitrógeno. La alta energía de estos fenómenos naturales puede romper los enlaces triples de las moléculas de N_2 , haciendo alcanzables átomos individuales de N para la transformación química.

La toma del Nitrógeno ($NH_4^+ \rightarrow N_{Orgánico}$).

El amonio producido por el nitrógeno que fija la bacteria es usualmente incorporado rápidamente en las proteínas y otros compuestos de nitrógeno orgánico, ya sea por la planta anfitriona, por la misma bacteria, o por otro organismo del suelo. Cuando los organismos más cercanos a lo alto de la cadena alimenticia (como el hombre) comen y usan el nitrógeno que ha sido inicialmente fijado por la bacteria.

La Mineralización del Nitrógeno ($N_{Orgánico} \rightarrow NH_4^+$).

Después de que el nitrógeno se incorpora en la materia orgánica, frecuentemente se vuelve a convertir en nitrógeno inorgánico a través de un proceso llamado mineralización. Cuando los organismos mueren, la materia orgánica en descomposición es consumida por bacterias y hongos. Durante este proceso, una cantidad significativa del nitrógeno contenido dentro del organismo muerto se convierte en amonio. Una vez que el nitrógeno está en forma de amonio, está también disponible para ser usado por las plantas o para transformaciones posteriores en nitrato (NO_3^-) a través del proceso llamado nitrificación.

Nitrificación ($NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$).

La nitrificación es el proceso en el que el nitrógeno orgánico y amoniacal se oxida, transformándose primero en nitrito y, posteriormente en nitrato. Estas reacciones las llevan a cabo bacterias muy especializadas, diferentes de aquellas que se encargan de degradar la materia orgánica del medio. Este tipo de bacterias, se reproducen lentamente y son muy sensibles a los cambios de su medio habitual.

Al ser este fenómeno dependiente de la presencia de oxígeno, en la naturaleza ocurre solamente en ambientes ricos en este elemento, como es el caso de las aguas que circulan o que fluyen y las capas de la superficie de los suelos y sedimentos. El proceso de nitrificación tiene consecuencias importantes. Por ejemplo, los iones de amonio tienen carga positiva y por consiguiente se pegan a partículas y la materia orgánica del suelo las cuales tienen carga negativa. La carga positiva previene que el nitrógeno amoniacal sea barrido (o lixiviado) del suelo por las lluvias. Por otro lado, el ión de nitrato con carga negativa no se mantiene en las partículas del suelo y puede ser barrido del perfil de suelo. Esto lleva a una disminución de la fertilidad del suelo y a un enriquecimiento de nitrato de las aguas corrientes de la superficie y del subsuelo.

Al ser procesos llevados a cabo por determinados grupos de microorganismos bacterianos es necesario proporcionar en las plantas de tratamiento de aguas residuales, las condiciones adecuadas para que el fenómeno se lleve a cabo, un prerequisite es la eliminación de la materia orgánica a bajos niveles de concentración a efecto de evitar competir, con las bacterias heterótrofas, por el oxígeno disuelto. En este contexto, los tratamientos de aguas residuales realizados mediante el sistema de lodos activados requieren de un nivel de oxígeno de al menos 2 mg/L y tiempo de residencia hidráulico relativamente alto (entre 7 y 12 días aproximadamente) para que el fenómeno de nitrificación ocurra.

Desnitrificación ($NO_3^- \rightarrow N_2 + N_2O$)

La desnitrificación consiste en el paso de los nitratos a nitrógeno atmosférico, por la acción de un grupo de bacterias llamadas desnitrificantes. Dicha forma de nitrógeno tenderá a salir a la atmósfera, consiguiéndose así, la eliminación de nitrógeno en el agua.

A través de la desnitrificación, las formas oxidadas de nitrógeno como el nitrato (NO_3^-) y el nitrito (NO_2^-) se convierten en dinitrógeno (N_2) y, en menor medida, en gas óxido nitroso. La desnitrificación es un proceso anaeróbico llevado a cabo por la bacteria que desnitrifica, convirtiendo el nitrato en dinitrógeno en la siguiente secuencia:



Una vez que el nitrato se convierte en dinitrógeno, tiene pocas posibilidades de reconvertirse en una forma biológica disponible, ya que es un gas perdiéndose rápidamente en la atmósfera. La desnitrificación es la única transformación del nitrógeno que remueve el nitrógeno del ecosistema (que es esencialmente irreversible), y aproximadamente balancea la cantidad de nitrógeno fijado por bacterias descritas con anterioridad.

En medios acuosos, para que las bacterias desnitrificantes actúen, es necesario que el agua tenga suficiente contenido de materia orgánica, una fuente de nitratos elevada, muy poco oxígeno libre y un pH situado entre 7 y 8. El oxígeno asociado a los nitratos es la única fuente de oxígeno necesaria para llevar a cabo sus funciones vitales. De esta forma, los niveles de oxígeno libre en el medio donde actúan deben de ser inferiores a los 0.2 mg/L. Es interesante comentar que el tiempo mínimo de contacto entre el agua y las bacterias desnitrificantes debe de ser suficiente para que se produzcan las reacciones deseadas, estimándose un tiempo mínimo de 1.5 horas.

Dado el interés del que para la presente tesis representa el fenómeno de nitrificación se profundizara al respecto.

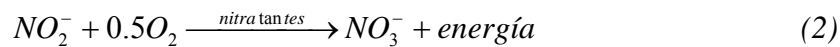
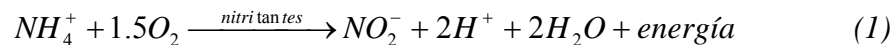
3.5. El fenómeno de nitrificación

3.5.1. Transformación del nitrógeno de su forma orgánica a la mineral (Nitrificación biológica).

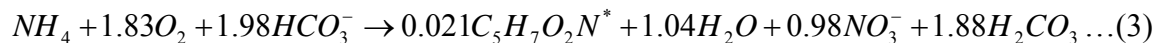
La importancia de la nitrificación biológica fue reconocida hace más de un siglo. En el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (N_2), la nitrificación es una de las fases en la transformación del nitrógeno de su forma orgánica a la mineral. Nitrificación es el término empleado para la oxidación biológica del amonio en dos pasos, primero a la forma de nitrito y segundo, de nitrito a nitrato. Los microorganismos involucrados en estas reacciones son conocidos como oxidadores de amonio o nitritantes y oxidadores de nitrito o nitratantes.

Entre los microorganismos que se encuentran involucrados en la transformación, están presentes bacterias heterótrofas y autótrofas, hongos y algunas algas (Montuelle et al., 1996, Oremland y Capone, 1998; De-A-Cybys y Horan, 1997; Hommes et al., 1998; Hurts et al., 1997; Schramm et al., 1999).

La forma más común para representar el proceso de nitrificación es mediante las reacciones de oxidación de amonio a nitrito, y de este a nitrato (Eckenfelder y Argaman, 1991; Cardot, 1999; Klotar et al., 1996; Vayenas et al., 1997; Seyfried et al., 2001):



A menudo se incluye en las reacciones la expresión empírica de la biomasa formada, así se obtiene una representación más completa de este proceso. Debido a que la velocidad de crecimiento de estos microorganismos es muy lenta, la producción de biomasa es costosa y por esta razón resulta difícil realizar análisis de su composición. En la mayoría de los estudios se suele tomar como composición de la biomasa correspondiente a una media calculada para bacterias aerobias (Roels, 1983). Las estequiometrías propuestas por varios autores están basadas en la determinación experimental de la relación media entre el CO₂ consumido y el N oxidado. Un ejemplo de ello sería la estequiometría presentada por Kowalski y Lewandowski (1983):



* La fórmula empírica de la biomasa para un átomo de carbono sería: CH_{1.4}O_{0.4}N_{0.2}

Los microorganismos responsables de la nitrificación biológica se pueden dividir en dos grupos: nitrificantes autótrofos y heterótrofos. Esta clasificación se basa en el modo de obtener energía para el crecimiento. Así las bacterias nitrificantes autótrofas consiguen su energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos de nitrógeno, mientras que las heterótrofas oxidan materia orgánica como fuente de energía.

En los sistemas depuradores de aguas residuales, las bacterias autótrofas de la familia *Nitrobacteraceae* son las principales responsables de la nitrificación (Bock et al., 1991). Dicha familia bacteriana comprende dos grupos: las bacterias que oxidan amonio y las que oxidan nitrito, todas ellas Gram negativas. Los distintos géneros de bacterias que oxidan amonio son *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* y *Nitrosovibrio*; mientras que las que oxidan nitrito son *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* y *Nitrospira* (Campos, 2000). Los géneros detectados comúnmente en la depuración biológica son *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*.

3.5.2. Factores que afectan a la nitrificación biológica

En este apartado se intenta enumerar y comentar los principales factores que influyen en el proceso de nitrificación biológica. Para ilustrar de una forma más directa y sencilla, se presenta en la Figura 3-5, un esquema en el que se sintetizan estos factores.

Limitación por sustrato

CO₂- El crecimiento autótrofo, esta limitación se produce por fuente de carbono.

O₂- Debido a que las bacterias nitrificantes requieren una cantidad importante de oxígeno, el efecto de limitación del crecimiento debido a una falta de O₂ ha sido ampliamente estudiado. Cuando no existe limitación por sustrato nitrogenado, el efecto del oxígeno disuelto se ajusta a una cinética tipo Monod:

$$\mu_N = \mu_{\max,N} \frac{S_{O_2}}{K_{O_2} + S_{O_2}}$$

Donde, S_{O₂} es la concentración del oxígeno disuelto y K_{O₂} es la constante de saturación para el oxígeno. Las constantes de saturación para cultivos puros de bacterias nitrificantes están en un rango aproximado de 0.25 – 2.5 mg/L de oxígeno disuelto (Painter, 1986). También resulta un hecho constatado que las bacterias que oxidan amonio tienen una constante de saturación mayor que la de las bacterias que oxidan nitrito.

NH_4^+ , NO_2^- .- Son las fuentes de energía (dadores de electrones) de las bacterias que oxidan amonio y de las que oxidan nitrito (respectivamente). Es por esta razón que se consideran los factores limitantes del crecimiento más importantes, junto con el oxígeno. Generalmente, la constante de saturación de las bacterias que oxidan amonio es mayor que la de las que oxidan nitrito; sin embargo, la bibliografía presenta una variable notable (recopilación bibliográfica realizada por Prosser, 1989, y por otra parte, Hunik, 1994, Tokutomi, 2004).

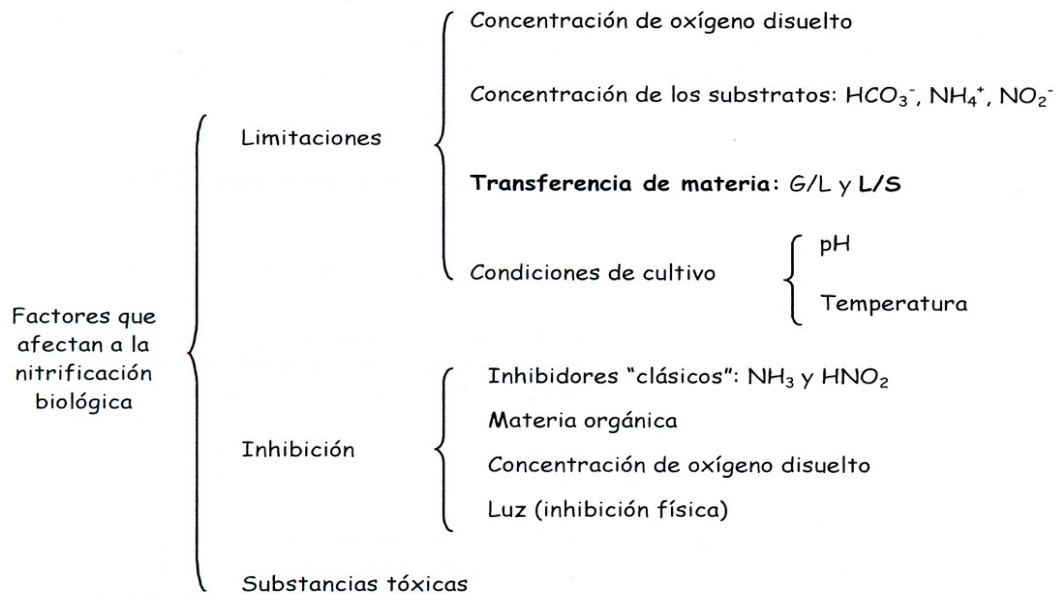


Figura 3-5.- Esquema de los factores que influyen en el proceso de nitrificación.

Limitaciones físicas

pH.- El pH óptimo de las bacterias nitrificantes está entre 7.5-8.5 (Watson *et al.*, 1989; Montuelle *et al.*, 1996; Rodríguez, 2004), aunque la nitrificación biológica se puede llevar a cabo en un rango más amplio (entre 6-10, según Prosser, 1989). La limitación del crecimiento de las bacterias nitrificantes debido al pH se puede diferenciar por dos causas:

La primera es que el pH afecta la actividad enzimática, lo que provoca la consiguiente pérdida de actividad en las células.

La segunda es que la concentración de los protones afecta a los equilibrios ácido-base de los substratos: $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$ lo cual, como se expone a continuación puede provocar inhibición afectando también la concentración disponible de HCO_3^- (fuente de carbono).

Temperatura.- Al igual que para todas las bacterias, el crecimiento de las bacterias nitrificantes varía con la temperatura (Montuelle, 1996; Rodríguez, 2004); el valor óptimo se sitúa en el intervalo de 26-30°C. La temperatura afecta los valores de las constantes de equilibrio ácido/base, gas/líquido, la solubilidad de las sustancias, los coeficientes de difusión y la actividad enzimática. La influencia de la temperatura en las diferentes constantes biológicas o físicas se expresa habitualmente mediante la ecuación de Arrhenius.

Limitaciones de transferencia y difusión.- En el caso de cultivos en suspensión, la transferencia de materia entre fases puede limitar el crecimiento: por ejemplo, el oxígeno se suministra en fase gas, teniendo que llegar a la fase líquida para ser consumido. En el caso de células inmovilizadas, no sólo hay que tener en cuenta la transferencia entre la fase gaseosa y líquida, sino que adquiere también importancia la transferencia entre la fase líquida - sólida y la posterior difusión en el sólido (Garrido *et al.*, 1997).

3.5.3. Factores que inhiben el crecimiento de las bacterias nitrificantes

Inhibición por sustrato o producto

NH_4^+ , NO_2^- . Como resultado del estudio de la inhibición de la nitrificación por NH_3 y HNO_2 se propuso un diagrama (Figura 3-6) el cual combinaba el pH con el efecto inhibitorio de los compuestos NH_3 y HNO_2 en los cocultivos de *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* (Anthonisen *et al.*, 1976).

En el diagrama de Anthonisen (Figura 3-6) se pueden observar diferentes zonas, en las que existe inhibición o no de alguna o de ambas especies debido a la concentración de las especies NH_3 y HNO_2 (verdaderos inhibidores), a ese valor de pH.

O₂.- A elevadas concentraciones el oxígeno es inhibitor e induce a un aumento de la acumulación de polifosfatos (Prosser, 1989). No obstante, la inhibición por oxígeno parece ser más importante en procesos en los cuales se añade oxígeno puro o una elevada presión parcial, que en los que se aporta aire.

Materia orgánica.- Ya se ha comentado la posibilidad de crecimiento en medio mixotrófico por parte de las bacterias que oxidan nitrito. Además, lejos de ser inhibitora para estas bacterias, la presencia de materia orgánica acelera la velocidad de crecimiento de *Nitrobacter winogradskyi* (Watson *et al.*, 1989). La inhibición por la materia orgánica podría estar ligada al hecho de que en poblaciones nitrificantes no axénicas la aparición de una fuente de carbono orgánico altera los porcentajes de poblaciones relativas de microorganismos, permitiendo el desarrollo de células que, dependiendo de la disponibilidad de oxígeno estarán asociadas a uno u otro género, estableciéndose competencias importantes. No obstante, se realizaron experimentos para intentar separar este efecto del posible efecto inhibitorio sobre las bacterias que oxidan amonio (Hanaki *et al.*, 1990 a,b). Las conclusiones de este estudio fueron, que la oxidación de amonio por parte de las bacterias amonio-oxidantes, presentaron un claro efecto inhibitorio debido a la presencia de materia orgánica, mientras que no se observó efecto en la oxidación de nitrito por parte de las bacterias nitrito-oxidantes.

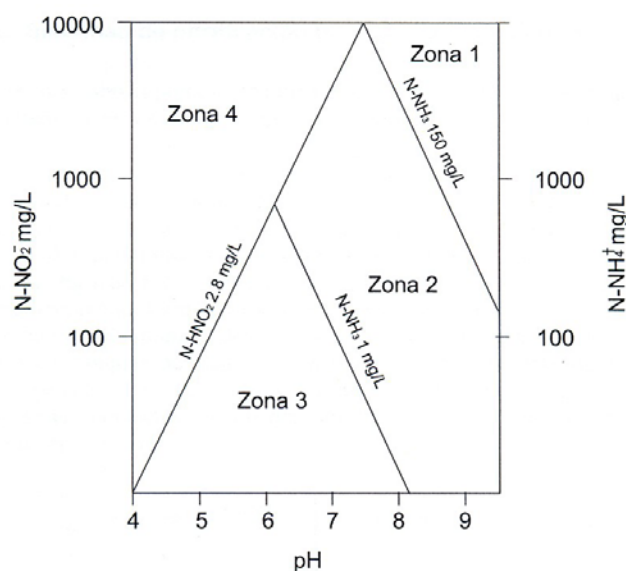


Figura 3-6.- Diagrama de Anthonisen.

Zona 1: inhibición de *Nitrosomonas sp.* y *Nitrobacter sp.* Zona 2: inhibición de *Nitrobacter sp.* por NH₃. Zona 3: nitrificación. Zona 4: inhibición de *Nitrobacter sp.* por HNO₂.

3.5.4. *Inhibiciones físicas del crecimiento de las bacterias nitrificantes*

Inhibición por efectos de la luz.- La inhibición por la luz es significativa en la superficie del agua, donde se observa una reducción del 50% de la actividad de las bacterias nitrificantes a intensidades de luz de un orden de magnitud tres veces menor que la intensidad a plena luz del día. *Nitrobacter* parece ser más sensible a la fotoinhibición que *Nitrosomonas* (Prosser, 1989; Rodríguez, 2004). En el crecimiento de las bacterias que oxidan amonio se puede reducir la sensibilidad a la luz mediante ausencia de oxígeno o altas concentraciones de amonio (Prosser, 1989).

3.5.5. *Substancias tóxicas*

Al igual que en el caso del pH o la temperatura, el efecto de las sustancias tóxicas sobre las bacterias nitrificantes depende de la concentración de la sustancia tóxica y del tiempo de exposición a ésta (Tokutomi, 2004). Las sustancias tóxicas más frecuentes en el campo de las aguas residuales son: tiourea, cianuro, fenoles, anilina (con efecto más notorio sobre *Nitrosomonas*), clorato y cianato (que producen una mayor toxicidad sobre *Nitrobacter*).

3.5.6. *Legislación relacionada con las descargas de amoniaco, nitritos y nitratos*

La legislación mexicana vigente, hace referencia a las descargas de amoniaco, nitritos y nitratos, en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales (DOF, 1997), estableciendo que estos contaminantes deberán ser medidos en forma de nitrógeno total. Por otra parte, en la Ley Federal de Derechos en Materia de Agua, publicada por la Comisión Nacional del Agua (CNA, 2006), y dentro de su título segundo correspondiente a los derechos en materia de agua y de manera particular en su artículo 224 sección V, indica que “no se pagará el derecho por aguas que regresen a su fuente original o sean vertidas en cualquier otro sitio previamente autorizado por la Comisión Nacional del Agua.

Lo antes mencionado será posible siempre y cuando se cuente con el certificado correspondiente”. En la Tabla 3-1 se resaltan los compuestos nitrogenados importantes para el desarrollo del presente trabajo.

Tabla 3-1.- Límites permisibles de descarga de amoníaco, nitratos y nitritos para diferentes tipos de agua.

| PARÁMETROS | USOS | | | |
|-------------------|------|---|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| <i>mg/L</i> | | | | |
| <i>Amoniaco-N</i> | - | - | 0.06 | 0.01 |
| <i>Nitritos-N</i> | 0.05 | - | - | 0.01 |
| <i>Nitratos-N</i> | 5.0 | - | - | 0.04 |

(Tomada de la Ley Federal de Derechos en Materia de agua, 2006)

Uso 1.- Fuente de abastecimiento para uso público urbano.

Uso 2.- Riego agrícola.

Uso 3.- Protección a la vida acuática: agua dulce, incluye humedales.

Uso 4.- Protección a la vida acuática: aguas costeras y estuarios.

Asimismo, la Ley Federal de Derechos en materia de Agua, establece en su capítulo XIV, Artículo 278-B que los límites máximos permisibles de nitrógeno total susceptibles de ser descargados en cuerpos receptores tipo A y B como ríos con uso en riego agrícola, público o urbano, embalses naturales y artificiales con uso de riego agrícola, la concentración es de 40 mg/L. Mientras que para el caso de cuerpos receptores tipo C, como son los ríos para la protección de vida acuática; embalses artificiales o naturales con uso público urbano y acuíferos, es de 15 mg/L.

En este contexto, es importante resaltar que esas concentraciones podrían ocasionar problemas en los ecosistemas receptores como sería el caso de eutroficación de embalses destinados a la protección de la vida silvestre y de abastecimiento para uso potable, eventualmente la autoridad deberá solicitar una menor concentración de nitrógeno en las descargas a cuerpos acuáticos receptores (Rodríguez, 2004).

En las normas internacionales sobre agua para consumo humano la Asociación Europea de Agua para Consumo Humano establece que el límite máximo permisible de compuestos nitrogenados en aguas de abastecimiento para consumo humano es de 0.05 mg/L, lo cual también está estipulado en la normatividad mexicana (CNA, 2006).

Es importante destacar que es necesaria la eliminación de compuestos nitrogenados como el amoníaco y nitrato, en los diferentes tipos de cuerpos acuáticos susceptibles de ser empleados como fuentes de abastecimiento de agua para consumo humano. El no cumplir con la legislación vigente, en cuanto a la descarga de estos contaminantes es motivo de sanciones tales como el cierre parcial de las instalaciones y multas económicas, que se encontrarán en función de la concentración y volumen descargado (CNA, 2006; Rodríguez, 2004).

Para realizar el control de las descargas de amonio, nitritos y nitratos en aguas residuales, se debe conocer el fenómeno de nitrificación y los factores que la afectan, así como los métodos de detección rápida, ya que son elementos útiles en la protección del ambiente (Purkhold *et al.*, 2000).

3.6. Reactores

Un reactor es una unidad procesadora diseñada para que en su interior se lleve a cabo una o varias reacciones químicas o biológicas. Dicha unidad, está constituida por un recipiente cerrado o abierto según se requiera, el cual cuenta con líneas de entrada de reactivos (alimentación) y salida de productos, y está gobernado por un algoritmo de control.

Los reactores químicos tienen como funciones principales:

- a) Asegurar el tipo de contacto o modo de fluir de los reactivos en el interior del recipiente, que garantice un buen mezclado y facilite el desarrollo de las reacciones deseadas.
- b) Proporcionar el tiempo suficiente de contacto entre las sustancias y el catalizador (si existiese), para conseguir el nivel de reacción deseado.

-
-
- c) Permitir condiciones de presión, temperatura y composición de modo que la reacción tenga lugar en el grado y a la velocidad deseada, atendiendo a los aspectos termodinámicos y cinéticos de la reacción.

El diseño de un reactor implica la contestación de las siguientes preguntas: ¿Qué tipo y tamaño de equipo se necesita para lograr el grado deseado de la reacción? ¿Qué condiciones de operación (temperatura, presión, velocidades de flujo, concentraciones de los reactivos) se requieren? ¿Qué dispositivos son necesarios para intercambiar la energía (generalmente en forma de calor) con los alrededores? Las respuestas a estas preguntas constituyen el diseño de proceso del reactor (Smith, 1999).

3.6.1. Clasificación de los reactores

Los reactores químicos pueden tener una gran variedad de tamaños, formas y condiciones de operación (Smith, 1999). Los reactores pueden ser clasificados según su sistema de alimentación y operación (por lotes o continua), por su forma física (de tanque o tubular) o si se prefiere, por el número de fases presentes en el sistema reaccionante (sistema homogéneo o heterogéneo), estas son las clasificaciones más comunes empleadas para dichos equipos.

Existen infinidad de tipos de reactores, y cada uno responde a las necesidades de una situación en particular, entre los tipos más importantes, más conocidos, y mayormente utilizados en la industria se pueden mencionar los siguientes:

- a) **Reactor discontinuo.** Es aquel en donde no entra ni sale material durante la reacción, sino más bien, al inicio del proceso se introducen los materiales, se lleva a las condiciones de presión y temperatura requeridas, y se deja reaccionar por un tiempo preestablecido, luego se descargan los productos de la reacción y los reactantes no convertidos. También es conocido como reactor tipo Batch.
- b) **Reactor continuo.** Mientras tiene lugar la reacción química al interior del reactor, éste se alimenta constantemente de material reactante, y también se retira ininterrumpidamente los productos de la reacción.

-
- c) **Reactor semicontinuo:** Es aquel en el cual inicialmente se carga de material todo el reactor, y a medida que tiene lugar la reacción, se va retirando productos y también incorporando más material de manera casi continua.
- d) **Reactor tubular.** En general es cualquier reactor de operación continua, con movimiento constante de uno o todos los reactivos en una dirección espacial seleccionada, y en el cual no se hace ningún intento por inducir al mezclado. Tienen forma de tubos, los reactivos entran por un extremo y salen por el otro.
- e) **Tanque con agitación continua.** Este reactor consiste en un tanque donde hay un flujo continuo de material reaccionante y desde el cual sale continuamente el material que ha reaccionado. La agitación del contenido es esencial, debido a que el flujo interior debe estar en constante circulación y así producir una mezcla uniforme.
- f) **Reactor de lecho fluidizado.** Se utiliza para reacciones donde intervengan un sólido y un fluido (generalmente un gas). En estos reactores la corriente de gas se hace pasar a través de las partículas sólidas, a una velocidad suficiente para suspenderlas, con el movimiento rápido de partículas se obtiene un alto grado de uniformidad en la temperatura evitando la formación de zonas calientes.
- g) **Reactor de lecho fijo.** Los reactores de lecho fijo consisten en uno o más tubos empacados con partículas de catalizador, que operan en posición vertical. Las partículas catalíticas pueden variar de tamaño y forma: granulares, cilíndricas, esféricas, etc. En algunos casos, especialmente con catalizadores metálicos como el platino, no se emplean partículas de metal, sino que éste se presenta en forma de mallas de alambre. El lecho está constituido por un conjunto de capas de este material. Estas mallas catalíticas se emplean en procesos comerciales como por ejemplo para la oxidación de amoníaco y para la oxidación del acetaldehídico a ácido acético.

-
- h) **Reactor de lecho con escurrimiento.** En estos reactores el catalizador sólido está presente como en el lecho fijo. Los reactivos se hacen pasar en corrientes paralelas o a contracorriente a través del lecho.
- i) **Reactor de lecho de carga móvil.** Una fase fluida pasa hacia arriba a través de un lecho formado por sólidos. El sólido se alimenta por la parte superior del lecho, se mueve hacia debajo de la columna y se saca por la parte inferior.
- j) **Reactor de burbujas.** Permiten hacer burbujear un reactivo gaseoso a través de un líquido con el que puede reaccionar, porque el líquido contiene un catalizador disuelto, no volátil u otro reactivo. El producto se puede sacar del reactor en la corriente gaseosa.
- k) **Reactor con combustible en suspensión.** Son similares a los reactores de burbujeo, pero la fase “líquida” esta formada por una suspensión de líquidos y partículas finas del catalizador sólido.
- l) **Reactor de mezcla perfecta.** En este reactor las propiedades no se modifican ni con el tiempo ni con la posición, ya que se parte de la suposición de que se está trabajando en estado de flujo estacionario y la mezcla de reacción es completamente uniforme. El tiempo de mezcla tiene que ser muy pequeño en comparación con el tiempo de permanencia en el reactor. En la práctica se puede llevar a cabo siempre que la mezcla fluida sea poco viscosa y esté bien agitada
- m) **Reactores de recirculación.** Pueden ser con dispositivo separador, cuando se toma parte de la corriente de salida y se llevan directamente a la entrada del reactor. Sin dispositivo separador, cuando en la salida del reactor se coloca un dispositivo separador que hace que se separen reactivos y productos, luego los reactivos se recirculan de nuevo al reactor.

-
- n) **Reactores de membrana.** Son aquellos que combinan la reacción y la separación en una sola unidad; la membrana selectivamente remueve una (o más) de las especies reactantes o productos. Estos reactores han sido comúnmente usados para aplicaciones en las cuales los rendimientos de la reacción están limitados por el equilibrio. También han sido propuestos y usados para otras aplicaciones; para incrementar el rendimiento y la selectividad de reacciones enzimáticas y catalíticas influyendo a través de la membrana sobre la concentración de una (o más) especies intermedias, removiéndolas selectivamente (o ayudando a mantenerlas en una concentración baja), evitando la posibilidad de que dichos compuestos envenenen o desactiven el catalizador y para proveer una interfase controlada entre dos o más reactantes.
- o) **Fermentadores.** Este tipo de reactores utilizan hongos, los cuales forman un cultivo, el cual a su vez se transforma en una “sopa” espesa que contiene crecimientos filamentosos. Un ejemplo se encuentra en la fabricación de antibióticos como la penicilina.
- p) **Reactor trickle bed.** Este tipo de reactor supone la existencia de un flujo continuo de gas y otro de líquido hacia abajo sobre un lecho fijo de partículas sólidas catalíticas, las características de las partículas sólidas y de su empaquetamiento, junto con los caudales y propiedades de las dos corrientes de fluidos determinarán el régimen de flujo del reactor y también sus propiedades fluido-dinámicas.

También se pueden mencionar los reactores ISOTÉRMICOS, que son aquellos que trabajan u operan a una misma temperatura constante; y también los reactores ISOBÁRICOS, que son aquellos que trabajan u operan a una misma presión constante.

3.7. Cinética química

3.7.1. Definición de cinética química

La cinética química es el estudio de la velocidad y del mecanismo por medio de los cuales una especie química se transforma en otra. La velocidad es la masa en moles, de un producto formado o de un reactivo consumido por unidad de tiempo. El mecanismo es la secuencia de eventos químicos individuales cuyo resultado global produce la reacción observada. Por experimentación se encuentra que la velocidad de una reacción depende de la temperatura, la presión y las concentraciones de las especies implicadas. La presencia de un catalizador o inhibidor puede cambiar la velocidad en varias potencias de diez. A partir del estudio de la velocidad de una reacción y de su dependencia de todos estos factores, se puede aprender mucho acerca de las etapas detalladas por medio de las que los reactivos se convierten en productos (Castellan, 1987; Smith, 1999).

Una forma de estudiar los procesos de biotransformación de un contaminante en las condiciones que es desechado, es mediante el análisis de las cinéticas con las que se realiza dicho proceso. De esta forma se puede evaluar la concentración remanente de cierto contaminante en un tiempo o etapa de tratamiento determinado; así como su posible acumulación en el ambiente y la posibilidad de exponer este compuesto a un cultivo microbiano para su biotransformación (Alam et al., 2003; Blok, 1994b; Mao y Smith, 1995; Nyholm, 1996; Reyes, 2006).

3.7.2. Mediciones de velocidad

En el curso de una reacción química, las concentraciones de todas las especies presentes varían con respecto al tiempo, cambiando también las propiedades del sistema. La velocidad de la reacción se calcula midiendo cualquier propiedad adecuada que pueda relacionarse con la composición del sistema como función del tiempo.

La propiedad escogida debe ser de fácil medición; variar lo suficiente en el curso de la reacción como para permitir hacer una distinción precisa entre las diversas composiciones del sistema a medida que transcurre el tiempo. La propiedad elegida depende de cada reacción.

Existen muchos métodos para seguir una reacción con el tiempo. Algunos son: cambios en la presión, cambios en el pH, cambios en el índice de refracción, cambios en la conductividad térmica, cambios de volumen, cambios en la resistencia eléctrica. Se pueden aplicar métodos físicos como estos, suelen ser más apropiados que los métodos químicos.

Como la velocidad de la mayoría de las reacciones químicas es muy sensible a la temperatura el recipiente de reacción debe mantenerse en un termostato, de manera que la temperatura permanezca constante. En algunos casos también es necesario controlar la presión.

No importa que propiedad se escoja para la medición, los datos deberán ser traducidos en variaciones de concentración de los reactivos o productos en función del tiempo. La

Figura 3-7, muestra esquemáticamente esta variación para un reactivo y un producto. La concentración de cualquier reactivo disminuye desde su valor inicial hasta el de equilibrio y la concentración de cualquier producto aumenta desde su valor inicial (generalmente cero) hasta el del equilibrio.

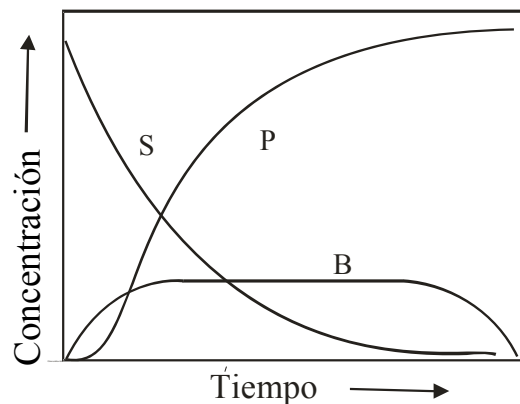


Figura 3-7.- Representación gráfica del progreso de una reacción biológica (Segel, 1975).

Nota: biomasa (B), substrato (S), producto (P).

Figura 3-7, es posible describir las diversas leyes de la velocidad encontradas por experimentación.

3.8. Leyes de velocidad

La velocidad de reacción será función de la temperatura, la presión y las concentraciones de las distintas especies de la reacción, c_i , y puede depender de las concentraciones, c_x , de especies como catalizadores o inhibidores que no aparecen en la reacción global. Además si la reacción se produce homogéneamente (esto es: en una sola fase), la velocidad es proporcional al volumen de la fase V. Si la reacción se produce sobre una superficie activa, la velocidad es proporcional al área de la superficie activa A. Por lo tanto, en una forma muy general se puede expresar la velocidad de reacción como la suma de las velocidades de las reacciones homogéneas y de superficie:

$$\frac{d\xi}{dt} = Vf(T, p, c_i, c_x) + AF(T, p, c_i, c_x), \quad \text{Ecuación 3-1}$$

Donde $f(T, p, c_i, c_x)$ y $F(T, p, c_i, c_x)$ son funciones a determinar a partir de datos experimentales. La Ecuación 3-1 es la ley de velocidad para la reacción.

Las reacciones se clasifican cinéticamente como homogéneas y heterogéneas. Una reacción homogénea tiene lugar en una sola fase; una heterogénea se produce al menos en parte en más de una fase. Un tipo común de reacción heterogénea tiene una velocidad que depende del área de una superficie que está expuesta a la mezcla de reacción. Esta superficie puede encontrarse en la pared interior del recipiente de reacción o puede ser la superficie de un catalizador sólido. En alguna etapa de cualquier estudio cinético es necesario averiguar si la reacción está influida por las paredes del recipiente. Si el recipiente está hecho de vidrio, suele rellenarse de fibra de vidrio, bolas o muchos tubitos de vidrio para aumentar el área expuesta. Cualquier efecto en la velocidad de reacción se nota. Si la reacción es estrictamente homogénea, la velocidad no se verá afectada por el hecho de rellenar el recipiente de esta forma.

Para reacciones homogéneas, el segundo termino de la Ecuación 3-2, es despreciable y tenemos

$$\frac{d\xi}{dt} = Vf(T, p, c_i, c_x), \quad \text{Ecuación 3-2}$$

En esta situación es conveniente tratar con la velocidad de reacción por unidad de volumen, $(1/V)(d\xi/dt)$. Según la Ecuación 3-2, la velocidad por unidad de volumen se convierte en

$$\frac{d\left(\frac{\xi}{V}\right)}{dt} = f(T, p, c_i, c_x), \quad \text{Ecuación 3-3}$$

Que es la ecuación de velocidad para una reacción homogénea.

Dividiendo la Ecuación 3-3 entre el volumen, obtenemos

$$\frac{1}{V} \frac{d\xi}{dt} = \frac{1}{v_i V} \frac{dn_i}{dt}, \quad \text{Ecuación 3-4}$$

Si el volumen no cambia con el tiempo, la Ecuación 3-4, toma la forma

$$\frac{d\left(\frac{\xi}{V}\right)}{dt} = \frac{1}{v_i} \frac{dc_i}{dt}, \quad \text{Ecuación 3-5}$$

En la cual c_i es la concentración de la i -ésima especie; $c_i = n_i/V$. En muchos casos, la ley de velocidad tiene la forma sencilla

$$\frac{d\left(\frac{\xi}{V}\right)}{dt} = kc_A^\alpha c_B^\beta c_C^\gamma \dots, \quad \text{Ecuación 3-6}$$

En la que c_A, c_B, c_C, \dots , denotan las concentraciones de las especies participantes y k, α, β y γ son constantes. La constante k es la constante de velocidad específica de la reacción, ya que k es la velocidad si todas las concentraciones son unitarias. En general, la constante de velocidad depende de la temperatura y la presión. La constante α es el orden de reacción respecto a A, β es el orden de reacción respecto a B y γ respecto a C. El orden global de la reacción es la suma: $\alpha+\beta+\gamma$.

El orden de la reacción gobierna la forma matemática de la ley de velocidad y, por tanto, la variación de la concentración de todas las especies con el tiempo. El orden de la reacción respecto a las varias especies debe de obtenerse por experimentación. La determinación experimental del orden de la reacción respecto a las varias sustancias que toman parte es uno de los primeros objetivos de una investigación cinética. No puede afirmarse con demasiada rotundidad que el orden de la reacción respecto a una sustancia dada no tiene relación alguna con el coeficiente estequiométrico de esa sustancia en la ecuación química.

3.8.1. Ecuación concentración-tiempo para una sola reacción irreversible

Orden cero. El orden cero en una reacción química significa que la velocidad es independiente de la concentración, puede presentarse en dos situaciones: cuando la velocidad es intrínsecamente independiente de la concentración o cuando la especie es sumamente abundante, que su concentración puede considerarse prácticamente constante durante la reacción. En este último caso, es imposible detectar la dependencia de la velocidad con respecto a la concentración, y prevalece un orden cero aparente. De esta forma en la oxidación del NO a NO₂ en presencia de un gran exceso de O₂, la velocidad es de orden cero con respecto al O₂.

Para una ecuación de orden cero a densidad constante la ecuación es:

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_0 \quad \text{Ecuación 3-7}$$

Integrando desde una condición inicial $C_A = C_{A0}$ se obtiene

$$C_A - C_{A0} = -k_0 t \quad \text{Ecuación 3-8}$$

Este resultado muestra que una característica distintiva de una reacción de orden cero consiste en que la concentración del reactivo disminuye linealmente con el tiempo. Es difícil citar una reacción homogénea que sea intrínsecamente de orden cero, aun que muchas reacciones son aparentemente de orden cero cuando la concentración de la especie es alta.

3.8.2. Evaluación de ecuaciones de velocidad a partir de datos de laboratorio

Para el diseño de un reactor a escala comercial, es necesario contar con una ecuación numérica de la velocidad intrínseca de transformación. En este contexto, la ecuación 3-19, implica conocer la forma de la función de concentración, incluyendo los valores numéricos para las constantes de dicha función, y un valor para la energía de activación.

Por lo general, la información con la que se cuenta son los datos a escala de laboratorio de concentraciones en función del tiempo. A partir de esta información es necesario determinar la expresión de la ecuación 3-11 que mejor concuerde con los datos disponibles.

Esto, casi siempre requiere un procedimiento de prueba y error, comparando las diversas ecuaciones de velocidad propuestas con los datos obtenidos. Puesto que es probable que la reacción sea una combinación de varios procesos elementales, los datos adicionales auxiliares pueden ser muy útiles para la primera tarea de postular expresiones de velocidad. Este tipo de información incluye la identificación de los compuestos intermediarios y el conocimiento de las ecuaciones de velocidad que se sabe que concuerdan con los datos para otros ejemplos del mismo tipo de reacción.

Por lo anterior, es fundamental contar con una ecuación de velocidad que sea exacta en el intervalo de condiciones que se espera prevalecerá en el reactor a escala comercial. Aunque resulta útil conocer el mecanismo, ello no es un requisito para el diseño de reactores. Por otra parte, una ecuación de velocidad satisfactoria no siempre proporciona suficiente información para establecer el mecanismo de reacción. Existen varios procedimientos de laboratorio para detectar el curso de una reacción.

La comparación de la cinética experimental con las ecuaciones de velocidad propuestas puede llevarse a cabo de dos maneras:

1. El método de integración, que consiste en comparar las concentraciones observadas y estimadas en función del tiempo. Al usar este método es necesario integrar la ecuación de velocidad para predecir la relación de C_i en función de t .

-
2. El método diferencial, requiere una diferenciación de los datos experimentales de C_i en función de t , para obtener una velocidad experimental. La velocidad se compara entonces con la obtenida en base a la ecuación de velocidad propuesta.

CAPÍTULO 4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Agua y agua residual enriquecida con amonio

El agua o agua sintética enriquecida (ASE) se elaboró con agua destilada (3L por columna), se enriqueció con sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) hasta obtener la concentración deseada. Para ayudar al desarrollo de los microorganismos nitrificantes, se agregaron micronutrientes en solución. La solución se preparó de acuerdo a lo indicado por Hanaki, (1990a). El agua residual enriquecida (ARE), se elaboró agregando sulfato de amonio a un determinado volumen de agua residual parcialmente tratada, procedente de los filtros de arena ubicados de manera posterior al sedimentador secundario del sistema de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria (PTARCU) capaz de depurar aguas residuales municipales.

4.2. Diseño de columnas nitrificantes

La tecnología propuesta en el desarrollo y fabricación de las columnas nitrificantes (CN) estuvo sujeta al análisis de los mecanismos biológicos que condujeran a la transformación del contaminante (NH_4^+). En el interior de las CN el proceso de nitrificación será constante y operará bajo condiciones controladas de luz, temperatura, pH y OD; las CN son reactores discontinuos ya que operan por lotes.

Las CN se conceptuaron como un tratamiento capas de transformar nitrógeno amoniacal (NH_4^+) a nitratos (NO_3^-) mediante un proceso de nitrificación. Para poder lograr esto, el sistema desarrollado cumple con las condiciones necesarias requeridas por los microorganismos involucrados en el proceso, debido a esto las CN son capaces de alcanzar altos niveles de transformación del contaminante (NH_4^+) a nitratos (NO_3^-).

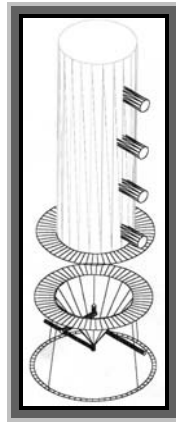


Figura 4-1.- Diagrama de una columna nitrificante

Existen diversos factores que pueden afectar una buena nitrificación biológica, dentro de estos es posible encontrar limitaciones por sustrato (CO_2 , O_2 , NH_4^+ y NO_2^-), limitaciones físicas (pH, T y limitaciones de transferencia y difusión), inhibición por sustrato o producto (NH_4^+ , NO_2^- , O_2 y materia orgánica) e inhibiciones físicas (luz, sustancias tóxicas, entre otras).

Las dimensiones presentes en las CN están consideradas en la contención de un volumen de 3 L, dicho esto, las CN cuentan con un diámetro de 10cm y una altura de 60cm; la Figura 4-1 esquematiza una CN en una manera conceptual y sin mayor detalle.

4.2.1. Condiciones de operación para las columnas nitrificantes

Las condiciones de operación que se establecieron para las CN se muestran en la Tabla 4-1.

Tabla 4-1.- Condiciones de operación para las tres diferentes etapas experimentales.

| Parámetros | PEE* | SEE* | TEE** |
|---|-------------|-------------|--------------|
| Temperatura (°C) | 28 ± 2 | 28 ± 2 | 28 ± 2 |
| pH (unidades de pH) | 7.5 – 8.6 | 7.5 – 8.6 | 7.5 – 8.6 |
| Luz (lux) | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Inóculo (mL) | 50 | 50 | 50 |
| Concentración inicial de NH_4^+ (mg/L) | 234 | 273 | 280 |
| Oxígeno disuelto (mg/L) | 5 -6 | 6 - 1 | 6 - 1 |

Nota: *= Agua destilada, **= agua residual parcialmente tratada

4.3. Columnas nitrificantes (CN)

Se utilizaron 3 columnas experimentales con las siguientes características: material de construcción: acrílico, diámetro 10cm, altura 60cm (Figura 4-2). Para la distribución de aire dentro de las columnas, se utilizó un difusor colocado en el fondo de cada columna; el cual tiene forma de embudo y tiene acopladas unas llaves de paso para la toma de muestra (Figura 4-3 y Figura 4-4).

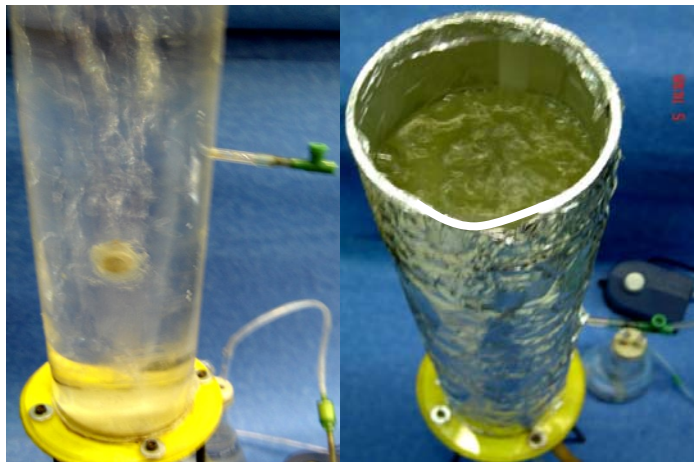


Figura 4-2.- Columnas nitrificantes en operación.

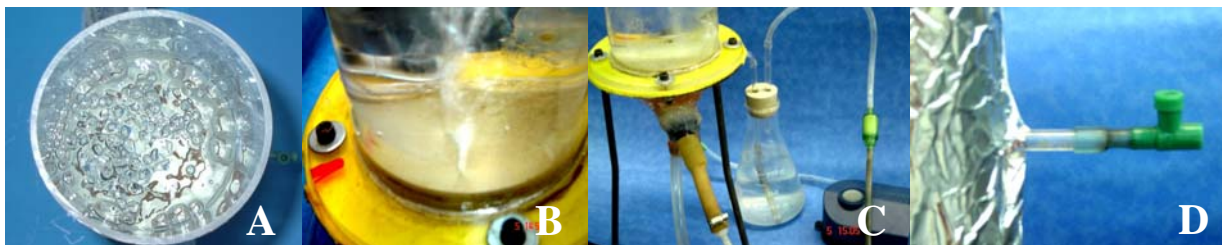


Figura 4-3.- Sistema de aireación en operación y toma de muestra de la CN.

- A) CN en operación, vista en planta; B) difusor de aire en operación;
C) sistema humidificador del aire para la CN; D) llave para toma de muestra.



Figura 4-4.- Difusor de aire utilizado en las columnas nitrificantes

A) Vista superior; B) vista lateral; C) difusor de aire colocado en una columna nitrificante.

Las columnas fueron inoculadas con bacterias nitrificantes, las cuales fueron previamente cultivadas durante un periodo de 2 a 3 semanas, bajo condiciones controladas (ver Tabla 4-2), empleando una suspensión de lodos activados enriquecida progresivamente con sulfato de amonio, a continuación se detalla como se hizo.

4.4. Obtención de organismos nitrificantes

Los organismos nitrificantes fueron obtenidos por medio de un cultivo enriquecido con amonio en agua residual proveniente de la PTARCU. Posteriormente se procedió a preparar el inóculo, esto se hizo poniendo 100mL de lodos en un matraz Erlenmeyer y se adiciono agua residual enriquecida con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ hasta obtener un volumen de 1L. Después de transcurridos unos días este cultivo fue centrifugado y colocado en un matraz de 1L; enseguida se le agrego una solución de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, esto se llevo acabo con el objeto de simular un agua residual que tuviera esta problemática en particular. El siguiente paso consistió en cambiar la solución de nitrógeno amoniacal cada tercer día, aumentando la concentración de nitrógeno amoniacal de 20 en 20 ppm hasta llegar a 200 ppm; esto se realizo para acostumbrar a las bacterias a altas concentraciones de amonio. Para controlar el pH se utilizo una solución K_2CO_3 al 10% con la cual se mantuvo en un intervalo de 8 a 8.5. Para suministrar el oxígeno disuelto necesario para el buen desarrollo de las bacterias fue indispensable el montaje de un dispositivo que proporcionara aire húmedo a los matraces como se muestra en la Figura 4-5.

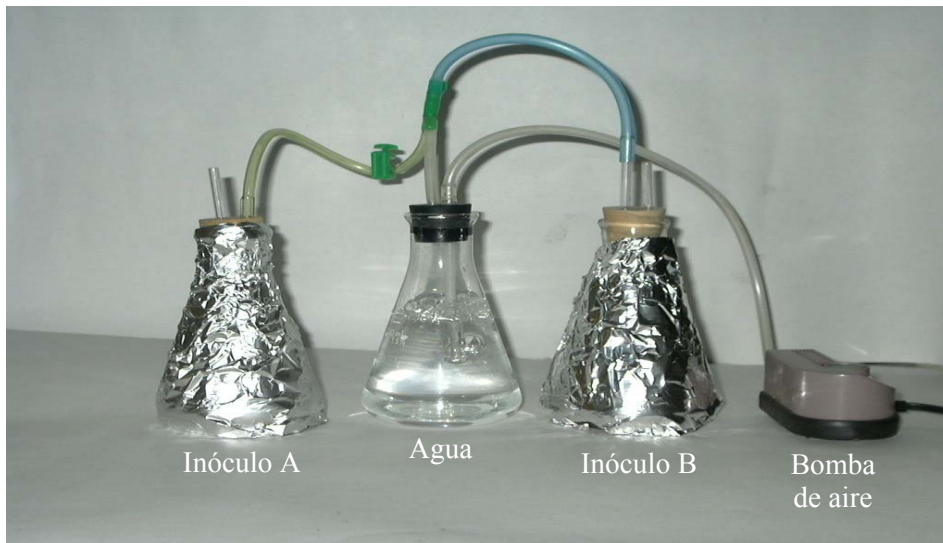


Figura 4-5.- Arreglo de aireación para el inóculo

Al realizar la investigación bibliográfica se encontraron condiciones favorables para el desarrollo de las bacterias nitrificantes (Tabla 4-2).

Tabla 4-2.- Condiciones favorables para el desarrollo de las bacterias nitrificantes.

| PARÁMETRO | INTERVALO |
|---|---|
| Oxígeno disuelto (mg/L) | 4.3 – 4.6 |
| Temperatura (°C) | 25 – 30 |
| Alcalinidad (mgHCO ₃) | 7.14 |
| pH unidades | 7.5 – 8.6 |
| Ácido nitroso | Inhibe a 1.68 mg/L a pH entre 5.8 - 7.2 |
| Concentración de amonio (mg NH ₄ /L) | 10 – 100 |
| Luz (lux) | Preferente ausencia de luz (inhibición a 250 – 350) |
| Compuestos promotores | Hidrocarburos y halógenos son sustratos alternativos para las <i>Nitrosomonas</i> . Sodio 10 ⁻² M favorece el crecimiento de <i>Nitrosomonas</i> , mientras que Mo 10 ⁻⁹ M a <i>Nitrobacter</i> |
| Compuestos inhibidores | Presencia de excesivo contenido de material carbonoso de fácil biodegradación. Presencia, aún en bajas concentraciones de: anilinas, antibióticos, metales pesados, vitaminas, compuestos clorados, metilamina, tiourea |

Tomados de: Prosser, 1992; Le-Bihan, 1995; Metcalf y Eddy, 1990; Bartone et al., 1994.

4.5. Condiciones de operación

Las condiciones de operación que se establecieron para operar las CN se muestran en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3.- Condiciones de operación para las tres diferentes etapas experimentales.

| Parámetros | PEE* | SEE* | TEE** |
|--|-------------|-------------|--------------|
| Temperatura (°C) | 28 ± 2 | 28 ± 2 | 28 ± 2 |
| pH (unidades de pH) | 7.5 – 8.6 | 7.5 – 8.6 | 7.5 – 8.6 |
| Luz (lux) | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Inóculo (mL) | 50 | 50 | 50 |
| Concentración inicial de NH ₄ ⁺ (mg/L) | 234 | 273 | 280 |
| Oxígeno disuelto (mg/L) | 5 -6 | 6 - 1 | 6 - 1 |

Nota: *= Agua destilada, **= agua residual parcialmente tratada

El aire fue suministrado por bombas para acuario, que son capaces de proporcionar un flujo de aire aproximado de 0.057m³/h (2 ft³/h), regulado con un rotámetro, finalmente las bombas están conectadas al “timer”. Este dispositivo constituye el mecanismo de control de arranque y paro de las bombas, controlándose así los periodos de aireación.

4.6. Técnicas y equipos usados para la determinación de los parámetros

Los parámetros que se monitorearon de manera continua durante toda la etapa experimental fueron: N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃, OD Y pH; a continuación se mencionaran los equipos y técnicas ocupadas para las determinaciones de cada parámetro.

Para la determinación de N-NH₄, se empleo la técnica de Nesslerización Directa la cual es una técnica colorimétrica en la que se utilizó un espectrofotómetro modelo ULTROSPEC 3000 en el rango de luz visible (425 nm).

En el caso de nitratos se empleo una técnica de espectrofotometría ultra violeta en usando también el espectrofotómetro ULTROSPEC 3000, tomando lecturas a los 220 y 275 nm. En cuanto a nitritos, también se utilizo una técnica colorimétrica y el espectrofotómetro ULTROSPEC 3000 tomando la lectura a los 543 nm. Todas éstas técnicas se realizaron de acuerdo a los métodos estandarizados para el tratamiento de aguas residuales (APHA 1998).

Para medir el pH se utilizó un potenciómetro OAKTON y finalmente, para medir el oxígeno disuelto (OD) se utilizó un multimedidor marca CORNING, modelo Checkmate M-90.

Los periodos de aireación se controlaron gracias a la utilización de un swich de tiempo (timer) marca TORK; modelo 8001.

CAPÍTULO 5. EXPERIMENTACIÓN

Para llevar acabo la experimentación fue indispensable dividirla en 3 partes, ya que se hizo necesario fijar las bases operativas de las columnas nitrificantes. Las dos primeras etapas experimentales fueron consideradas como etapas previas ya que darían la pauta para alcanzar las condiciones operativas necesarias dentro de las columnas experimentales. A continuación se explica en que consistió cada etapa.

La primera etapa experimental tuvo como objetivo lograr la nitrificación permanente así como el crecimiento bacteriano dentro de las columnas y una correcta operación de las mismas sin variar las concentraciones de oxígeno.

En la segunda etapa experimental se establecieron las condiciones óptimas en las columnas, para maximizar el ahorro de energía logrando la transformación del nitrógeno amoniacal adicionalmente, se conoció el consumo de oxígeno debido a los microorganismos nitrificantes estableciéndose periodos de aireación/no aireación que favorezcan a la nitrificación en forma continua.

En la última etapa experimental fue posible conocer la velocidad específica de degradación de amonio dentro de las columnas experimentales utilizando agua y agua residual enriquecida con altas concentraciones de amonio, así mismo se determinó el tiempo requerido para cumplir con la normatividad nacional vigente evaluándose además los costos asociados al ahorro de energía obtenido gracias a los periodos de no aireación establecidos.

5.1. Primera etapa experimental

En esta etapa se hizo un análisis de todas las técnicas que se utilizaron con el propósito de aprenderlas, además fue necesario acondicionar las bacterias para su buen desempeño tanto en esta etapa como en las siguientes.

Las columnas fueron lavadas, armadas y sometidas a pruebas de hermeticidad para evitar fugas durante las diversas etapas experimentales antes de ser puestas en operación.

El arreglo experimental utilizado estuvo compuesto por tres columnas dos de las cuales mantuvieron en su interior agua enriquecida con altas concentraciones de amonio (234 mg/L aproximadamente) y 50 mL de inóculo; la última columna fue el testigo conteniendo solo agua enriquecida a la misma concentración de amonio.

Las columnas fueron puestas en operación bajo condiciones de saturación de oxígeno disuelto (5-6 mg/L de O₂), con un pH de 8 a 8.5, a una temperatura constante de 28 ± 2 °C durante un periodo de 10 días, este periodo de tiempo fue establecido en función del porcentaje de remoción obtenido; además se realizó el muestreo y las determinaciones de nitratos, nitritos y amonio diariamente a lo largo de la prueba.

Las condiciones de operación permitieron que, a lo largo de todo el experimento, el proceso de nitrificación fuera permanente, lo cual se reflejó a su vez en el crecimiento bacteriano dentro de las columnas que contenían inóculo.

5.2. Segunda etapa experimental

En esta etapa segunda experimental se establecieron las condiciones óptimas de operación de las columnas nitrificantes para obtener el máximo ahorro de energía posible, esto sin afectar el proceso de nitrificación permanente obtenido en la primera etapa. Para esto, se partió del mismo arreglo utilizado en la etapa anterior, requiriendo de modificaciones mínimas en puntos específicos de dicho arreglo.

El primer cambio requerido fue conectar las bombas a un timer, esto para poder establecer periodos de aireación/no aireación, que permitieran un ahorro energético. Estos periodos se establecieron cuidadosamente para no afectar la nitrificación por falta de oxígeno disuelto dentro de las columnas, ya que si por algún motivo la concentración de oxígeno disuelto es igual o menor a 1 mg/L el proceso de nitrificación podría verse disminuido al grado de ser inhibido (Montuelle *et al.*, 1996).

Los periodos de aireación se fijaron estableciendo lapsos de tiempo predeterminados, estos constaban de una relación de aireación no aireación, que estaban en función de la concentración de oxígeno disuelto dentro de las columnas nitrificantes. Las relaciones de aireación/no aireación evaluadas fueron las siguientes:

- 1 hora de aireación por 23 horas de no aireación: esta relación no funcionó ya que después del periodo de no aireación la concentración de oxígeno disuelto fue de 0 mg/L.
- 1 hora de aireación por 11 horas de no aireación: esta relación al igual que la anterior arrojó el mismo valor de oxígeno disuelto después de concluir el periodo de no aireación, por lo que también fue descartada.
- 1 hora de aireación por 1 hora de no aireación: en esta relación, se obtuvieron valores que oscilaron desde 4-3 mg/L de oxígeno disuelto, por lo que fue necesario buscar una relación que nos arroje valores más cercanos a la concentración límite de OD para que se de una correcta nitrificación.
- 30 minutos de aireación por 1 hora con 45 minutos de no aireación: con esta relación, se obtuvieron valores entre 1.6 y 2 mg/L de oxígeno disuelto dentro de las columnas

después del periodo de no aireación; estos valores se encuentran muy próximos al valor de 1.5 mg/L de oxígeno disuelto reportado en la bibliografía como concentración límite para obtener una buena nitrificación (Montuelle *et al.*, 1996; Tokutomi) motivo por el cual se decidió utilizar dicha relación.

En esta segunda etapa experimental la concentración existente de amonio dentro de las columnas fue incrementada hasta alcanzar valores aproximados de 270mg/L.

El fenómeno de nitrificación se corroboró a lo largo de toda la experimentación. Los parámetros de interés (NH₄, NO₃, NO₂, pH y OD) fueron monitoreados de manera constante. Para evitar que por efecto de la presión hidrostática el agua ocupara la manguera dispuesta para el flujo de aire evitando una correcta aireación, fue necesario colocar una válvula check que evitara dicha invasión (esto se hizo para cada columna).

5.3. Tercera etapa experimental

En esta última etapa experimental fueron retomados los arreglos de las columnas, el factor de aireación/no aireación previamente encontrado así como las concentraciones de amonio que debían ser removidas (270mg/L aproximadamente).

Las diferencias de esta parte experimental con las elaboradas anteriormente radica en la utilización no solo agua sintética sino también en el uso de agua residual previamente tratada, sin haber sido sometida a un proceso de desinfección; los diferentes tipos de aguas empleadas para esta corrida experimental debieron tener concentraciones de amonio muy elevadas, por lo que fue necesaria la adición de sulfato de amonio para conseguir concentraciones de alrededor de 270 mg/L de amonio. En esta etapa al igual que en las anteriores, se midieron los parámetros de interés diariamente. La duración de dicha etapa estuvo sujeta a la rapidez con que se alcanzaron los porcentajes de remoción de amonio deseados, dichos valores son los establecidos en la Ley Federal de Derechos en Materia de Agua (CNA, 2006) para la protección de la vida acuática y silvestre.

Con los valores obtenidos se dio pie al cálculo de la velocidad específica de degradación de amonio dentro de las columnas nitrificantes. Al monitorear el cambio de concentración de amonio a nitrato fue posible vislumbrar el tiempo que tarda en alcanzar los valores establecidos en la legislación vigente nacional (Ley Federal de Derechos en Materia de agua, CNA, 2006).

CAPÍTULO 6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Resultados experimentales obtenidos

Los resultado obtenidos en las diferentes etapas experimentales, se presentan en las tablas Tabla 6-1, Tabla 6-2 y Tabla 6-3. En dichas tablas se muestra el decrecimiento en la concentración de amonio y por el contrario se puede apreciar como los nitratos tienden a ser incrementados, esto ocurrió en las tres diferentes etapas experimentales.

Tabla 6-1.- Valores promedio de la primera etapa experimental.

| Tiempo (días) | NH ₄ ⁺ (mg/L) | NO ₂ ⁻ (mg/L) | NO ₃ ⁻ (mg/L) |
|---------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 | 233.69 | 0.01 | 0.19 |
| 1 | 210.57 | 0.16 | 1.51 |
| 2 | 208.96 | 0.31 | 5.42 |
| 3 | 188.51 | 0.38 | 9.69 |
| 4 | 166.96 | 0.74 | 14.84 |
| 5 | 152.7 | 1.10 | 21.52 |
| 6 | 128.92 | 1.27 | 27.61 |
| 7 | 107.47 | 1.53 | 34.22 |
| 8 | 84.97 | 1.86 | 41.58 |
| 9 | 56.95 | 2.07 | 50.47 |
| 10 | 37.18 | 1.91 | 63.49 |
| 11 | 13.72 | 1.70 | 78.93 |
| 12 | 0.035 | 1.61 | 95 |
| 13 | 0.035 | 1.60 | 95 |
| 14 | 0.035 | 1.60 | 95 |
| 15 | 0.035 | 1.60 | 95 |
| 16 | 0.035 | 1.60 | 95 |
| 17 | 0.035 | 1.60 | 95 |
| 18 | 0.035 | 1.60 | 95 |
| 19 | 0.035 | 1.60 | 95 |

Tabla 6-2.- Valores promedio de la segunda etapa experimental.

| Tiempo (días) | NH ₄ ⁺ (mg/L) | NO ₂ ⁻ (mg/L) | NO ₃ ⁻ (mg/L) |
|---------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 | 272.99 | 0 | 0 |
| 1 | 233.33 | 0.29 | 7.82 |
| 2 | 205.13 | 0.28 | 14.21 |
| 3 | 178.74 | 2.29 | 22.38 |
| 4 | 146.98 | 2.68 | 27.82 |
| 5 | 139.17 | 2.74 | 35.76 |
| 6 | 130.83 | 2.82 | 38.17 |
| 7 | 111.48 | 3.62 | 38.35 |
| 8 | 92.47 | 4.14 | 40.17 |
| 9 | 74.42 | 4.36 | 50.33 |
| 10 | 62.19 | 4.52 | 54.56 |
| 11 | 52.2 | 4.81 | 60.27 |
| 12 | 28.77 | 5.19 | 61.98 |
| 13 | 22.87 | 5.22 | 66 |
| 14 | 15.75 | 4.86 | 69.88 |
| 15 | 9.68 | 3.87 | 76.58 |
| 16 | 2.58 | 2.84 | 84.18 |
| 17 | 2.52 | 2.66 | 90 |
| 18 | 2.50 | 2.60 | 90 |
| 19 | 2.50 | 2.60 | 90 |

Tabla 6-3.- Valores promedio de la tercera etapa experimental.

| Tiempo (días) | NH ₄ ⁺ (mg/L) | NO ₂ ⁻ (mg/L) | NO ₃ ⁻ (mg/L) |
|---------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 | 280 | 0.19 | 0.85 |
| 1 | 266.22 | 0.29 | 5.30 |
| 2 | 244.61 | 0.53 | 5.57 |
| 3 | 232.75 | 1.18 | 8.60 |
| 4 | 221.5 | 1.56 | 13.94 |
| 5 | 211.46 | 2.15 | 20.85 |
| 6 | 182.47 | 2.55 | 29.88 |
| 7 | 165.37 | 2.74 | 38.27 |
| 8 | 141.59 | 2.77 | 52.67 |
| 9 | 106.36 | 2.76 | 58.23 |
| 10 | 87.62 | 2.87 | 59.35 |
| 11 | 60.53 | 5.82 | 64.08 |
| 12 | 44.83 | 5.35 | 69.54 |
| 13 | 33.23 | 5.73 | 72.06 |
| 14 | 17.69 | 5.69 | 71.07 |
| 15 | 9.24 | 0.92 | 69.79 |
| 16 | 8.89 | 0.82 | 72.66 |
| 17 | 2.13 | 0.82 | 71.28 |
| 18 | 2.12 | 0.72 | 74.07 |
| 19 | 2.10 | 0.70 | 74 |

6.2. Efectos del oxígeno disuelto en el proceso de nitrificación dentro de columnas nitrificantes

Con los resultados obtenidos fue posible corroborar que los procesos de biodegradación y biogeneración son mejor comprendidos si se analiza la cinética de dicho proceso, de esta forma es posible evaluar la concentración remanente de cierto contaminante en determinado tratamiento; así como su acumulación en el ambiente. Los modelos más usados para describir los procesos de biodegradación y biogeneración son las cinéticas de orden cero, primer orden, segundo orden y de pseudo primer orden (Reyes, 2006).

En las primeras 2 etapas experimentales se obtuvieron datos importantes para la toma y visualización de decisiones de mejora en la operación de las CN. De esta forma, fue posible retomar los criterios establecidos en dichas etapas para ser aplicados en la tercera etapa experimental (TEE). Como se puede observar en la Tabla 4-3, en las dos primeras etapas experimentales, se utilizó ASE con altas concentraciones de NH_4^+ (234 mg/L y 273 mg/L respectivamente), mientras que en la última etapa experimental se utilizó ARE (280 mg/L).

En la primera etapa experimental (PEE), se promovió la nitrificación permanente y el crecimiento de las bacterias nitrificantes dentro de las columnas en condiciones de saturación de oxígeno disuelto (OD) (en un intervalo de 5 a 6 mg/L de OD), mientras que en la segunda etapa experimental (SEE), se establecieron las condiciones de operación que permitiesen la nitrificación permanente y el crecimiento de los microorganismos nitrificantes operando bajo intervalos de aireación (30 minutos de aireación por 1 h con 45 minutos de no aireación) reduciéndose así el consumo de energía eléctrica. Al encenderse las bombas de aire, la concentración de OD dentro de las columnas alcanzaban valores entre los 4 y 6 mg/L OD, mientras que cuando el suministro de aire era suspendido, la concentración de OD descendía hasta intervalos de 1 a 2 mg/L. Cabe señalar que si la concentración de OD hubiera sido ≤ 1 mg/L el proceso de nitrificación podría haberse visto disminuido o en su defecto inhibido (Montuelle et al., 1996).

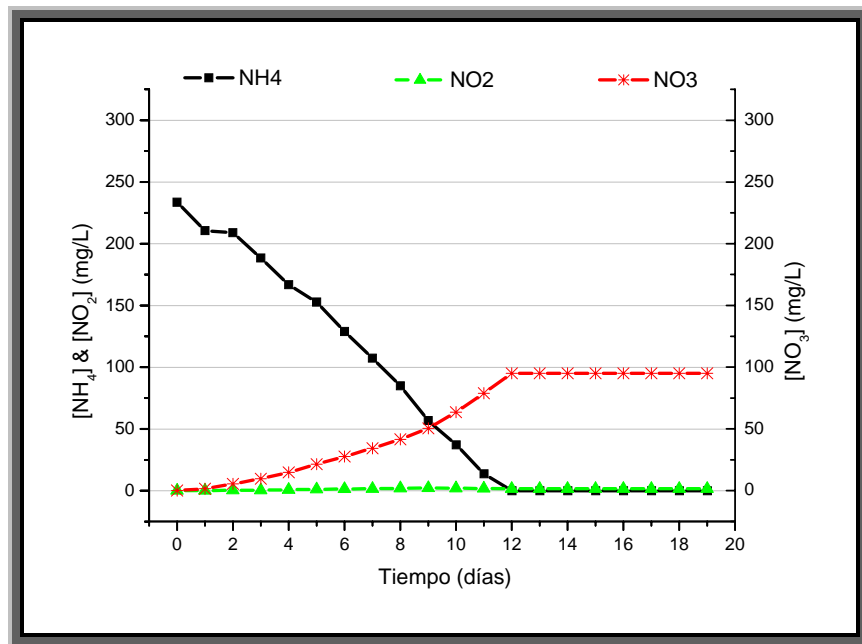


Figura 6-1.- Gráfica con valores promedio de la primera etapa experimental

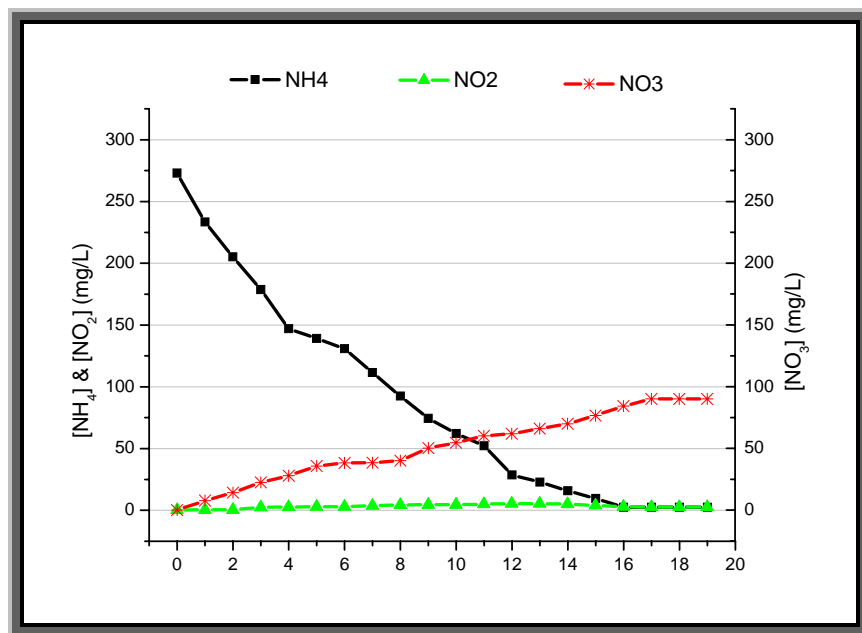


Figura 6-2.- Gráfica con valores promedio de la segunda etapa experimental

En la Figura 6-1, se puede observar el perfil de nitrificación a lo largo de los 12 días de experimentación de la PEE. La Figura 6-2, se puede apreciar el proceso de nitrificación ocurrido durante la SEE. Al cabo de 17 días de experimentación, se determinó dentro de las CN, la presencia de 2.49 mg/L NH_4^+ y 90 mg/L de NO_3^- .

La velocidad específica de biodegradación de NH_4^+ y de biogeneración de NO_3^- se observan en la Tabla 6-4. Haciendo una comparación entre la PEE y la SEE, se observó que el tiempo requerido para lograr el mismo grado de biodegradación de NH_4^+ es menor en la PEE, posiblemente al constante suministro de oxígeno. Se ha determinado que para oxidar 1 mg/L de NH_4^+ , en aguas urbanas empleando cultivos mixtos, se requiere aproximadamente de 4.6 mg/L de oxígeno, en tanto que para 1 mg/L de nitrito las nitrobacterias necesitan 1.14 mg/L. En consecuencia, de manera global se requiere para la oxidación de 1 mg de amonio a nitrato de aproximadamente 5.74 mg/L de oxígeno (Klotar et al., 1996; Vayenas et al., 1997; Cardot, 1999; Seyfried et al., 2001).

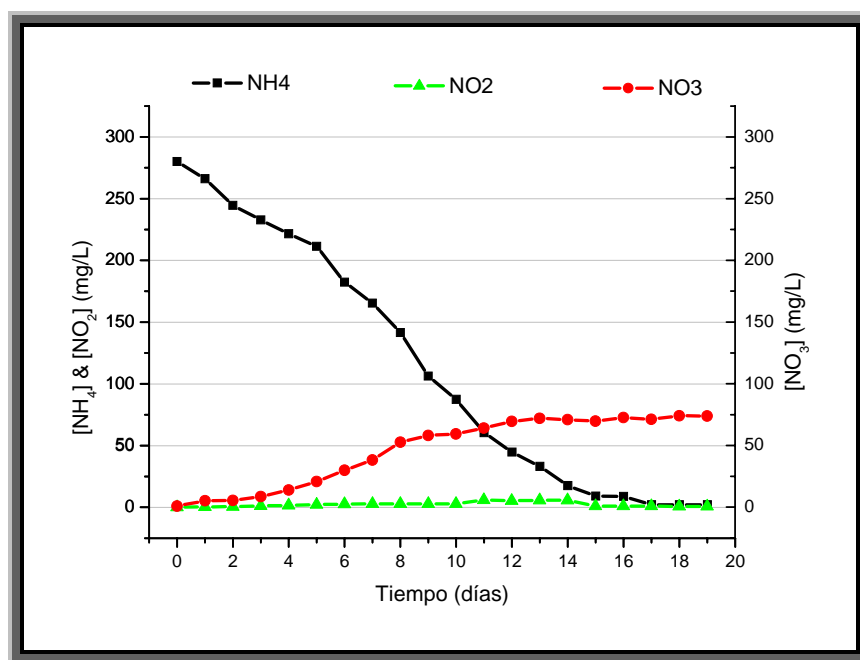


Figura 6-3.- Gráfica con valores promedio de la tercera etapa experimental

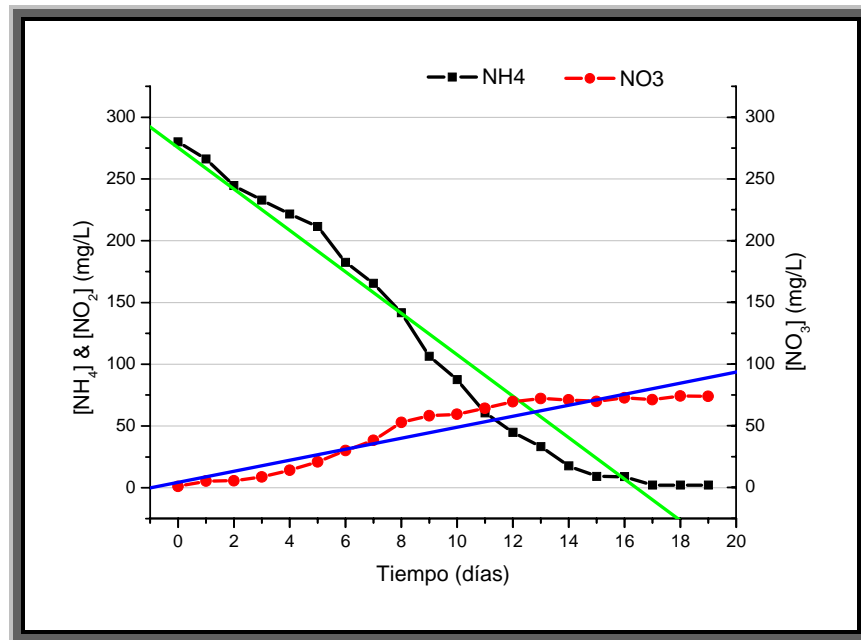


Figura 6-4.- Análisis cinético de los resultados experimentales observados en la tercera etapa experimental.

En la Figura 6-3, se observa el desempeño logrado en la TEE, donde la concentración de NH_4^+ decrece en función del tiempo y a su vez, la concentración de NO_3^- aumenta, esto sucede en presencia de un inóculo de bacterias nitrificantes siguiendo una cinética de orden cero en ambos casos ($y = k$). Las constantes de transformación, generación y el orden de las reacciones se obtuvieron al realizar el análisis cinético de los resultados experimentales presentes en la Figura 6-4 y la ecuación cinética de orden cero.

Debido al orden de las reacciones se infiere que la velocidad de biodegradación del NH_4^+ y la biogeneración de NO_3^- , no dependen de su concentración inicial si no de la constante de velocidad (k) que es la velocidad específica de las reacciones. Las constantes de velocidad encontradas para la biodegradación de NH_4^+ y para la biogeneración de NO_3^- se muestran en la Tabla 6-4, donde se puede apreciar que la velocidad de biodegradación de NH_4^+ es 3.7 veces más rápida que la biogeneración de NO_3^- .

Tabla 6-4.- Parámetros cinéticos encontrados en el análisis cinético de los resultados experimentales ajustados a una cinética de orden cero.

| Parámetro | PEE | | SEE | | TEE | |
|----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | NH ₄ ⁺ | NO ₃ ⁻ | NH ₄ ⁺ | NO ₃ ⁻ | NH ₄ ⁺ | NO ₃ ⁻ |
| k (mg/Ld) | 20 | 7.56 | 15.31 | 4.87 | 17.57 | 4.72 |
| R ² | 0.99 | 0.93 | 0.95 | 0.98 | 0.97 | 0.91 |

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede afirmar que después de 17 días de operación, el porcentaje de remoción de amonio logrado en las columnas nitrificantes, es del 99%, pasando de 280 mg/L a 2.1 mg/L de NH₄⁺, mientras que la concentración promedio de nitratos fue superior a los 70 mg/L. Desde la perspectiva de un balance general del proceso de transformación de nitrógeno ($\text{NH}_4^+ + 1.83 \text{O}_2 + 1.98 \text{HCO}_3^- \rightarrow 0.021 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 1.04 \text{H}_2\text{O} + 0.98 \text{NO}_3^- + 1.88 \text{H}_2\text{CO}_3$), es necesario tener en cuenta, además de las concentraciones finales de NH₄⁺, NO₃⁻ y NO₂⁻ (la transformación de NO₃⁻ a NO₂⁻ es muy rápida, por lo que puede ser despreciada en análisis cinéticos), el nitrógeno acumulado en la biomasa de “nuevas” células de bacterias nitrificantes (C₅H₇O₂N) lo que representa aproximadamente un 12 % del total de su peso.

Las tecnologías existentes no han logrado propiciar una remoción eficiente, por este motivo, es necesario continuar en la búsqueda de soluciones técnicas, económicas y ambientalmente aceptables. La disminución del nitrógeno presente en cuerpos de aguas (naturales y artificiales), logra que estos, presenten una mejor calidad y a su vez puedan ser utilizados como fuentes de abastecimiento para agua potable, uso recreativo, industrial, protección de vida silvestre y de interés comercial.

Es importante crear conciencia, de la importancia de poner en práctica acciones correctivas que involucren el saneamiento de las aguas residuales antes de ser descargadas en cuerpos acuáticos naturales y artificiales.

6.3. Análisis de costos por el concepto de energía eléctrica

Para efecto del análisis de costos, se tomo como referencia el consumo de energía, considerando el precio del Kwh en 1.338 pesos (SIE, 2006), así como el uso de periodos de aireación/no aireación.

En el caso de la primera etapa experimental, en la cual existió saturación de OD a lo largo de todo el experimento, los costos estimados en el consumo de energía eléctrica son los siguientes:

Duración de la corrida experimental: 12 días (remoción máxima). Cada día equivale a 24 h. El precio del Kwh es de \$1.338 pesos. Por lo tanto el costo energético de esta primera etapa experimental fue de \$385.344 pesos.

$$(24h)(1.338 \$Kw/h) = \$32.112 \quad (\$32.112)(12d) = \$385.344$$

Por otra parte, para efecto de comparación, se tomaron los valores obtenidos en la tercera etapa experimental la cual también se efectuó con agua residual enriquecida pero aireada de manera intermitente. Duración: 18 días, Cada día equivale a 24 h. El precio del Kwh es de \$1.338 pesos. Por lo tanto el costo energético de la tercera etapa experimental fue de \$144.504 pesos. En esta etapa se empleo 50% más tiempo en lograr el mismo porcentaje de remoción, pero el costo representa menos de la mitad del monto que el requerido si se aireara de manera continua.

$$(6h)(1.338 \$Kw/h) = \$8.028 \quad (\$8.028)(18d) = \$144.504$$

Teniendo los costos de la primera y tercera etapa experimental, se puede inferir que el ahorro existente por el uso de intervalos de aireación es del 62.5%, los costos generados por el consumo de energía eléctrica se muestran en la Tabla 6-5.

Tabla 6-5.- Evaluación de los costos generados en el consumo de energía eléctrica por las columnas nitrificantes

| Etapa Experimental | Condiciones de aireación | Tiempo experimental de máxima remoción (días) | Costo de operación (pesos) | % |
|---------------------------|---------------------------------|--|-----------------------------------|----------|
| Primera | Continua | 12 | 385.3 | 100 |
| Tercera | Intermitente | 18 | 144.5 | 37.5 |

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

- Los efectos causados en la velocidad de nitrificación debidos a la variación en la concentración de oxígeno disuelto dentro de las columnas experimentales, utilizando agua destilada (ASE) y agua residual municipal parcialmente tratada (ARE) enriquecida con altas concentraciones de amonio, fueron encontrados después del primer periodo de experimentación donde fue posible establecer una metodología para el manejo adecuado de las columnas experimentales, bajo condiciones controladas y operación por lote, lo que permitió una actividad nitrificante permanente dentro de ellas.
- Los experimentos preliminares contribuyeron al conocimiento del consumo de oxígeno debido a la actividad biológica, dicha actividad fue llevada a cabo por los microorganismos nitrificantes, siendo posible establecer periodos de aireación que favorecieran una nitrificación continua y permanente a lo largo de toda la experimentación.
- La velocidad específica de transformación del NH_4^+ contenido en ASE y ARE (273 y 280 mg NH_4^+) fue de 15.31 y 17.57 mg/Ld, quedando concentraciones remanentes de NH_4^+ de 2.5 mg/L y de 2.1 mg/L, respectivamente, lo que equivale a aproximadamente un 99% de transformación.
- Empleando columnas nitrificantes con aireación/no aireación, es posible ahorrar el 62.5% del costo económico. Lo anterior debido al menor uso de energía eléctrica. No obstante, el tiempo empleado para lograr igual porcentaje de depuración, respecto de sistemas aireados de manera continua, se incrementa en un 50%.

Finalmente, debe resaltarse que un factor fundamental es la creación de conciencia ambiental en el área industrial, de forma tal que la toma de decisiones correctivas involucren el saneamiento integral de los recursos contaminados y dejar muy claro que lo mejor para evitar este tipo de problemas es la aplicación de acciones preventivas con lo cual se deje de impactar de manera negativa el ambiente.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Alam MZ, Fakhru'I-Razi A y Molla AH. (2003). Biosolids Accumulation and Biodegradation of Domestic Wastewater Treatment Plant Sludge by Developed Liquid State Bioconversion Process Using a Batch Fermenter. *Water Res.*, 37, 3569-3587.
2. Aleem MIH y Sewell DL. (1984). Oxidoreductase system in *Nitrobacter agilis*. Microbial chemoautotrophy. Strhol WR y Tuovinen OH. Editors. Ohio State University Press. Columbus, USA. 185-210.
3. Aleem MIH, Hoch GE y Varner JE. (1965). Water as the sources of oxidizing and reducing power in bacterial chemosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 54, 869-873.
4. Ambriz RKT. (2001). Estudio físicoquímico y microbiológico de la degradación aerobia rápida de inhibidores de hidratación de arcillas (IHA) empleado en la formulación de fluidos de perforación. Tesis. Maestría en Ciencias Bioquímicas. Facultad de Química, UNAM. 205 p.
5. Anderson KK y Hooper AB. (1983). O₂ and H₂O are each the source of one O in NO₂⁻. N-NMR evidence. *Febs. Lett.* 164, 236-239.
6. Anthonisen A, Loher RC, Prakasam TBS y Srinath EC. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Wat. Poll. Control Fed.* 48, 835-852.
7. APHA, AWWA y WEF. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 th edition. Clesceri LS, Greenber AE, Eaton AD. Editors. American Public Health Association. 1033 p.
8. Argaman Y, Barnard JL, Daigger GI, Eckenfelder WW, Hermanowicz SW, Jenkins D, Polson SR, Sigmund TW y Stensel HD. (1991). Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater. Principles and practice. 2a. Ed. Sedlack R. I. Editor. Lewish Publisher N. Y., EUA.
9. Bartone G, Cech JS, Germmirtl F, Biachi R y Tilche J. (1994). Experimental approaches for the characterization of a nitrification/denitrification process on industrial wastewater. *Water Sci. Technol.* 29(7):129-136.
10. Blackmer AM, Bremmert JM y Schmidt EL. (1980). Production of nitrous oxide by ammonia-oxidizing, chemoautotrophic microorganisms in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 40: 1060-1066.

-
11. Blok J. (1994b). Extrapolation of Biodegradability Test Data by Use of Growth Kinetic Parameters. *Ecotox. Environ. Safe.*, 27, 306-315.
 12. Bock E, Koop HP, Harms H y Halers B. (1991). The biochemistry of nitrifying organics. En: *Variations in Autrophic Life*, Shively JM y Burton LL. Editors. Harcourt Brace Jovanivich Publ. New York, USA.
 13. Bock E, Wilderer PA y Freitag A. (1988). Growth of Nitrobacter in the absence of dissolved oxygen. *Water. Res.* 22: 245-250.
 14. Boopathy R. (2000) Factors Limiting Bioremediation Technologies. *Bioresource Technol.* 74: 63-67.
 15. Campos JL. (2000). Eliminación Biológica de nitrógeno en unidades de alta carga. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela (España).
 16. Boopathy R. (2000). Factors Limiting Bioremediation Technologies. *Bioresource Technol.* 74: 63-67.
 17. Cardot C. (1999). Génie de l'environnement les traitements de l'eau. Procédés physico-chimiques et biologiques. Cours et problèmes résolues. Ellipses. Ed. Marketing S. A. Paris, Francia. 248 pp.
 18. Castellan GW. (1987). Fisicoquímica. 2da Ed. Addison-Wesley Iberoamericana. Editor. USA.
 19. Çelik SM, Özdemir B, Truan M, Koyuncu I, Atesok G y Sarikaya ZH. (2001). Removal of ammonia by natural clay minerals using fixed and fluids bed columns reactor. *Water Sci. Technol: Water Supply.* 1(1): 81-88.
 20. Chen S, Ling J y Blancheton JP. (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural engineering.* 34: 179-197.
 21. Choin E, Yun Z y Cheng TH. (2004). Strong nitrogenous and agro-wastewater: current technological overview and future direction. *Water. Sci. Technol.* 49(5-6): 1-5.
 22. Comisión Nacional del Agua (CNA). (2006). Ley Federal de Derechos en Materia de Agua. Ed. Comisión Nacional del Agua. México D.F. 113 p.
 23. Comisión Nacional del Agua (CNA). (2004). México. Estadísticas. <http://www.cna.gob.mx>. Consultada el 4 de Agosto del 2006.
 24. De-A-Cybys LF y Horan NJ. (1997). Protozoan and metazoan populations in sequence batch reactors operated for nitrification and/or denitrification. *Water Sci. Technol.* 3(1):81-86.

-
25. De Barbadillo C, Karkar SM y Jaworski LP. (1995). Optimal nutrient removal. *Water Environ. Tech.* 41-44.
 26. Norma Oficial Mexicana (1997). NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. *Diario Oficial de la Federación*, 06 de Enero de 1997.
 27. Eckenfelder WW y Argaman Y. (1991). Principles and physical/chemical nitrogen removal. En: *Phosphorous and nitrogen from wastewaters: principles and practice*. Richard I Sedlack. Eds. Lewis Publishers. EEUUA. 3-42.
 28. Edeline F. (1993). *L'épuration biologique des eaux. Théorie y technologie des réacteurs*. Ed. CEBEDOC. Bélgica.
 29. Garrido JM, Van Benthum WAJ, Van Loosdrecht MCM y Heijnen JJ. (1997). Influence of dissolved oxygen concentration on nitrite acumulation in a biofilm airlift suspension reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 53, 168-178.
 30. Garrido JM. (1996). Nitrificación e desnitrificación de aguas residuais con concentracions elevadas de formaldehído e urea. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela (España).
 31. Gray NF. (1989). *Biology of wastewater treatment*. Oxford Science Publication, Great Britain. 725 p.
 32. Hanaki K, Wantawin C y Ohgaki S. (1990a.) Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in a suspended-growth reactor. *Wat. Res.* 24, 289-296.
 33. Hanaki K, Wantawin C y Ohgaki S. (1990b.) Nitrification a low level of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Wat. Res.* 24: 297-302.
 34. Harrison JA. (2006). El ciclo del nitrógeno de microbios y de hombres. http://www.visionlearning.com/library/module_viewer.php?mid=98&l=s&c3=. Consultada el 9 de Enero del 2006.
 35. Hommes NG, Russell SA, Bottomley PJ y Arp DJ. (1998). Effects of soil on ammonia, ethylene, chloroethane oxidation and 1, 1, 1, trichloroethane by *Nitrosomonas europaea*. *Appl. Microbiol.* 64 (4):1372-1378.
 36. Howarth RW. (2004). Human acceleration of the nitrogen cycle: Drivers, consequences, and steps toward solution. *Wat. Sci. Tech.*, 49(5-6):7-13.

-
37. Hunik JH, Meijer GH y Tramper J. (1992). Kinetics of *Nitrosomonas europaea* at extreme substrate, product and salt concentration. Appl. Microbiol. Biotech. 37: 802-807.
 38. Hunik JH, Meijer GH y Tramper J. (1993). Kinetics of *Nitrobacter agilis* at extreme substrate, product and salt concentration. Appl. Microbiol. Biotech. 40: 442-448.
 39. Hunik JH, Bos CG, Den Hoogen MP, De Gooijer CD y Tramper J. (1994). Co-immobilized *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter agilis* cell: validation of a dynamic model for simultaneous substrate conversion and growth in K-carrageenan gel beds. Biotechnol. Bioeng. 43: 1153-1163.
 40. Hurts Ch, Knudsen J, Guy R, Michael J, Malonery Y, Stetzenbach L y Walter M. (1997). Manual of environmental microbiology. American Society for Microbiology. EEUUA. 334-339 p.
 41. INEGI. (1994). Estadísticas del Medio Ambiente, México 1994. Instituto Nacional de Estadística e Informática.
 42. Instituto Mexicano del Petróleo. (2004). Acerca del petróleo. En Internet <http://www.imp.mx/petroleo/apuntes/>.
 43. Issacs SH y Henze M. (1995). Controlled carbon source addition to an alternating nitrification-desnitrification wastewater treatment process including biological P removal. Water Res. 29 (1): 77-89.
 44. Jiménez MG y Balcázar JL. (2003). Uso de filtros biológicos en la larvicultura del *Litopenaeus vannamei*: Principios generales. AquaTIC. 18: 11-14.
 45. Joo S-H, Kim D-J, Yoo IK, Park K y Cha GC. (2000). Partial nitrification in an upflow biological aerated filter by O₂ limitation. Biotechnol. Lett. 22: 937-940.
 46. Klotar E, Tartakovsky B, Artaman Y y Sheintouch M. (1996). The nature of interaction between immobilized nitrification bacteria. Journal of Bacteriology. 55:485-529.
 47. Knigth GC, Seviour E- M, Seviour RJ, Soddell JA, Lindrea KC, Strachan W, Degrey B y Bayly RC. (1995). Development of microbial community of a full scale biological nutrient removal activated sludge plants during start-up. Wat. Res. 29 (9): 2085-2093.
 48. Kowalski E y Lewandowski Z. (1983). Nitrification in a packed reactor with chemically active bed. Water Res. 1: 157-160.
 49. Le-Bihan Y. (1995). Establishment de la nitrification. INSA. Toulouse, Francia. 30-20.

-
50. Luna-Pabello VM, Aladro-Lubel MA y Durán de Bazúa C. (1996). Biomonitoring of wastewater in treatment plants using ciliates. *Journal of Industrial Microbiology*. *Journal of Industrial Microbiology*. 17: 62-68.
 51. Mao H y Smith DW. (1995). A Mechanistic Model for Assessing Biodegradability of Complex Wastewaters. *Water Res.*, 29(8), 1957-1975.
 52. McKetta JJ. (1998). *Encyclopedia of Chemical Processing and Design*. Ed. Marcel Dekker Inc, V.11 y V.65.
 53. Metcalf y Eddy. (1990). *Wastewater engineering (Treatment and dispose)*. 3a Ed. McGraw-Hill. Internacional Edition Singapore.
 54. Montuelle B, Volat B, Torio-Fernandez MM y Navarro E. (1996). Changes in nitrobacter serotypes biodiversity in a river: Impact of a wastewater treatment plant discharge. *Water Res.* 30(5): 1057-1064.
 55. Nyholm N. (1996). Biodegradability Characterization of Mixtures of Chemical Contaminants in Wastewater - The Utility of Biotests. *Water Sci. Technol.*, 33(6), 221-229.
 56. Olson TC y Hooper AB. (1983). Energy consumption in the bacterial oxidation of small molecules: an extracytoplasmatic dehydrogenase in *Nitrosomonas*. *FEMS Microbiol. Lett.* 19: 47-50.
 57. Oremland RS y Capone DG. (1998). Use of "specific" inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology. En: *Advances in Microbial Ecology*. Marshall KC. Eds. Plenum Press, New York. 285-383.
 58. Painter HA. (1986). Nitrification in the treatment of sewage and waste waters. *Nitrification*. Ed. IRL Press. 185-211
 59. Petróleos Mexicanos (2002). Informe de seguridad, salud y medio ambiente. En Internet <http://www.pemex.com>.
 60. Prosser JL. (1989). Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 30:125-177.
 61. Prosser JJ. (1992). Mathematical modeling of nitrification process. *Advances in Microbial Ecology*. 11:263-301.
 62. Purkhold U, Pommerening-Röser A, Jurestchko S, Smmid MC, Koops HP y Wagner M. (2000). Phylogenetic of all recognized species of ammonia oxide based on

-
- comparative 16s-RNA and amo-A sequence analysis: implications for molecular diversity surves. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(12):5368-5368.
63. Randall CW, Barnard JL y Stensel DH. (1992). Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. Technomic Publishing Co. Inc. Eckenfelder WW, Malina JF Jr y Patterson JW. Editores. Vol. 5. Lancaster, Pennsylvania, EUA.
64. Reuschenbach P, Pagga U y Strotmann U. (2003). A Critical Comparison of Respirometric Biodegradation Test Based on OECD 301 and Related Test Methods. *Water Res.* 37: 1571-1582.
65. Reyes EC. (2006). Estudio de la cinética de degradación y la actividad enzimática en el proceso de biodegradación aerobia de vinazas. Tesis. Maestría en Ciencias. Facultad de Química. UNAM.
66. Rodríguez R. (2004). Estudio de la actividad bacteriana nitrificante en solución acuosa y su reconocimiento “in situ”. Tesis. Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM.
67. Roels JI. (1983). Energetics and kinetics in biotechnology. Elsevier Biomedical Press. Ámsterdam, Holanda.
68. Rols JL, Mauret M, Rahamani H, Nguyen KM, Capdeville B, Cornier JC y Deguin A. (1994). Population dynamics sludge and biofilm process for nitrogen removal. *Water Sci. Tech.* 29(7): 43-51.
69. Schramm A, De-Beer D, Van-Den Heuvel JC, Ottengraf S y Ammann R. (1999). Microscale gradient in a nitrifying bioreactor: quantification by In Situ hybridization and the use of microsensors. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(8):3690-3696.
70. Sedlack RI. (1991). Introduction. En: Phosphorous and nitrogen from wastewater: principles and practice. Richard I Sedlack (Eds). Lewis Publishers. EEUUA. 1-2.
71. Seyfried FC, Hippen A, Helmer C, Kunst S y Rosenwinkel K-H. (2001). *Water Sci. Technol. Water Supply.* 1(1):71-80.
72. SIE. (2006). Sistema de información energética.
<http://sie.energia.gob.mx/sie/bdicontroller?action=logging>.
Consultada el 2 de Diciembre del 2006.
73. Smith JM. (1999). Ingeniería de la cinética química. 12 Ed. CECSA Editor., México.

-
74. Suwa Y, Suzuki T, Toyohara H y Yamagishi T. (1992). Single-stage, single-sludge nitrogen removal by an activated sludge process with cross-flow filtration. *Water Res.* 26(9): 1149-1157.
 75. Suzuki I, Dular U y Kwok SC. (1974). Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J. Bacteriol.* 120: 556-558.
 76. Tokutomi T. (2004). Operation of a nitrite-type air lift reactor at low DO concentration. *Water. Sci. Technol.* 49(5-6): 81-88.
 77. Vayenas DV, Pavlov S y Lyberatos. (1997). Development of a dynamic model describing nitrification in trickling filters. *Water Res.* 31(5):1135-1147.
 78. Wanner J. (1994). Activated sludge bulking and foaming control. Techomic publishing. Co. Pennsylvania, EUA.
 79. Watson ST, Bock E, Harás H, Koops HP y Hooper AB. (1989). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Staley JT, Bryant MP, Pfenning N, Holt JG (editores). Williams & Wilkins. Baltimor. USA. 3(20): 1807-1835.
 80. Young-Ho A. (2006). Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry.* 41: 1709-1721.

CAPÍTULO 9. ANEXOS

9.1. Tablas de resultados obtenidos en las diferentes etapas experimentales

Tabla 9-1.- Valores obtenidos durante la primera etapa experimental

| Tiempo (días) | C1 NH ₄ (mg/L) | C2 NH ₄ (mg/L) | C1 NO ₂ (mg/L) | C2 NO ₂ (mg/L) | C1 NO ₃ (mg/L) | C2 NO ₃ (mg/L) |
|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 233.69 | 233.69 | 0.01 | 0.01 | 0.69 | -0.30 |
| 1 | 213.86 | 207.28 | 0.06 | 0.26 | -0.26 | 3.28 |
| 2 | 221.99 | 195.92 | 0.11 | 0.53 | 0.40 | 10.46 |
| 3 | 216.98 | 160.05 | 0.19 | 0.58 | 1.68 | 17.72 |
| 4 | 187.46 | 146.46 | 0.28 | 1.21 | 2.95 | 26.75 |
| 5 | 184.45 | 120.95 | 0.72 | 1.49 | 5.43 | 37.63 |
| 6 | 164.84 | 92.99 | 0.86 | 1.68 | 7.78 | 47.44 |
| 7 | 144.68 | 70.27 | 1.21 | 1.85 | 10.91 | 57.55 |
| 8 | 126.52 | 43.42 | 1.65 | 2.07 | 15.08 | 68.10 |
| 9 | 96.33 | 17.57 | 2.13 | 2.02 | 18.42 | 82.53 |
| 10 | 72.38 | 1.98 | 2.39 | 1.45 | 25.61 | 101.38 |

Nota: C1: columna 1; C2: columna 2

Tabla 9-2.- Valores obtenidos durante la segunda etapa experimental

| tiempo (días) | C1 NH ₄ (mg/L) | C2 NH ₄ (mg/L) | C1 NO ₂ (mg/L) | C2 NO ₂ (mg/L) | C1 NO ₃ (mg/L) | C2 NO ₃ (mg/L) |
|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 272.99 | 272.99 | 0.00 | 0.00 | -0.63 | -0.63 |
| 1 | 240.88 | 225.78 | 0.29 | 0.29 | 5.06 | 10.58 |
| 2 | 225.95 | 184.30 | 0.29 | 0.26 | 10.17 | 18.25 |
| 3 | 189.16 | 168.33 | 2.07 | 2.52 | 18.38 | 26.37 |
| 4 | 155.48 | 138.47 | 2.59 | 2.76 | 23.86 | 31.78 |
| 5 | 149.23 | 129.10 | 2.70 | 2.78 | 31.53 | 39.98 |
| 6 | 142.12 | 119.55 | 2.81 | 2.83 | 33.76 | 42.58 |
| 7 | 122.85 | 100.11 | 3.49 | 3.76 | 33.01 | 43.69 |
| 8 | 103.58 | 81.37 | 4.11 | 4.18 | 37.84 | 42.50 |
| 9 | 86.40 | 62.45 | 4.30 | 4.42 | 46.41 | 54.25 |
| 10 | 72.17 | 52.20 | 4.46 | 4.58 | 50.29 | 58.83 |
| 11 | 62.97 | 41.44 | 4.78 | 4.84 | 53.09 | 67.44 |
| 12 | 39.88 | 17.66 | 5.22 | 5.17 | 52.89 | 71.07 |
| 13 | 32.59 | 13.15 | 5.25 | 5.19 | 55.73 | 76.27 |
| 14 | 23.74 | 7.77 | 4.98 | 4.74 | 58.74 | 81.01 |
| 15 | 15.23 | 4.12 | 4.26 | 3.47 | 64.23 | 88.93 |

Nota: C1: columna 1; C2: columna 2

Tabla 9-3.- Valores obtenidos en la tercera etapa experimental.

| Tiempo (días) | C1 NH4 (mg/L) | C2 NH4 (mg/L) | C1 NO2 (mg/L) | C2 NO2 (mg/L) | C1 NO3 (mg/L) | C2 NO3 (mg/L) |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 0 | 280.00 | 280.00 | 0.19 | 0.19 | 0.85 | 0.85 |
| 1 | 248.35 | 284.10 | 0.29 | 0.29 | 5.35 | 5.26 |
| 2 | 248.17 | 241.06 | 0.53 | 0.53 | 5.63 | 5.51 |
| 3 | 234.00 | 231.50 | 1.15 | 1.21 | 9.22 | 7.98 |
| 4 | 221.00 | 222.00 | 1.51 | 1.62 | 14.54 | 13.34 |
| 5 | 209.12 | 213.80 | 2.03 | 2.27 | 20.44 | 21.26 |
| 6 | 192.11 | 172.84 | 2.57 | 2.53 | 26.91 | 32.85 |
| 7 | 178.22 | 152.53 | 2.76 | 2.72 | 30.95 | 45.59 |
| 8 | 170.06 | 113.13 | 2.82 | 2.72 | 43.12 | 62.23 |
| 9 | 121.98 | 90.74 | 2.76 | 2.76 | 52.56 | 63.90 |
| 10 | 104.28 | 70.96 | 2.86 | 2.88 | 54.21 | 64.50 |
| 11 | 73.55 | 47.52 | 5.82 | 5.83 | 58.29 | 69.88 |
| 12 | 85.36 | 4.30 | 5.06 | 5.64 | 65.09 | 74.00 |
| 13 | 63.10 | 3.37 | 5.84 | 5.62 | 67.15 | 76.97 |
| 14 | 33.00 | 2.39 | 5.81 | 5.57 | 66.25 | 75.90 |
| 15 | 16.27 | 2.21 | 0.89 | 0.96 | 68.31 | 71.28 |
| 16 | 16.10 | 1.69 | 0.94 | 0.71 | 67.73 | 77.59 |
| 17 | 2.39 | 1.87 | 0.76 | 0.89 | 67.36 | 75.20 |
| 18 | 2.56 | 1.69 | 0.71 | 0.73 | 72.10 | 76.05 |

Nota: C1: columna 1; C2: columna 2

9.2. Técnicas analíticas empleadas

9.2.1. Determinación de N-NH₃

Paso previo de destilación

Discusión general

La muestra se amortigua a un valor de pH de 9.5 con un buffer de boratos para reducir la hidrólisis de los cianatos y los compuestos orgánicos nitrogenados. Se destila a una solución de ácido bórico, cuando se va a utilizar nesslerización. Se puede determinar el amoníaco del destilado colorimétricamente o por nesslerización.

Equipo y materiales

- a) *Aparato de destilación:* Dispóngase un matraz de vidrio de borosilicato de 800 a 2000 mL de capacidad, unido a un condensador vertical de forma que el extremo de salida se pueda sumergir debajo de la superficie de la solución ácida receptora. Utilícese un

aparato totalmente fabricado en vidrio de borosilicato, o uno cuyas unidades de condensación sean tubos de estaño o aluminio.

- b) Potenciómetro de laboratorio con sus respectivos electrodos para medición de pH.
- c) Reactivos
- d) *Agua exenta de amoniaco*. Se puede preparar por intercambio iónico o destilación.
- e) *Intercambio iónico*: para preparar agua exenta de amoniaco pase agua destilada a través de una columna de intercambio iónico que contenga una resina de intercambio de cationes, muy ácida, mezclada con una de intercambio de aniones, muy básica. Seleccione las resinas que eliminen los compuestos orgánicos que interfieren en la determinación de amoniaco. Algunas resinas de intercambio de aniones tienden a liberar amoniaco. En ese caso, prepare el agua exenta de amoniaco con una resina de intercambio de cationes muy ácida. Regenera la columna según las instrucciones del fabricante. Compruebe que el agua esta exenta de amoniaco.
- f) *Destilación*: Eliminar las trazas de amoniaco en el agua destilada por adición de 0.1 mL de H_2SO_4 a 1 L de agua destilada y redestilando. Utilice el agua destilada exenta de amoniaco para preparar todos los reactivos, lavar y diluir las muestras.
- g) *Solución amortiguadora de borato*. Agregue 88 mL de solución de NaOH 0.1N a 500 mL aproximados de solución de tetraborato de sodio ($Na_2B_4O_7$) 0.025M (9.5 g de $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O/L$) y afore a 1 L.
- h) *Hidróxido de sodio (6N)*. Disolver 240 g de NaOH en agua y afore a 1 L.
- i) *Agua desclorante*. Utilice 1 mL de alguno de los reactivos siguientes para eliminar 1 mg de cloro residual/L en 500 mL de muestra.
- j) *Sulfito de sodio*. Disolver 0.9 g de Na_2SO_3 en agua y afore a 1 L. Esta solución debe prepararse diariamente para cada determinación.
- k) *Tiosulfato de sodio*. Disolver 3.5 g de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ en agua y aforar a 1 L. Esta solución debe prepararse semanalmente.
- l) *Oxido de fenilarsina*. Disolver 1.2 g de C_6H_5AsO en 200 mL de solución de NaOH 0.3N, filtrar si fuera necesario y aforar a 1 L con agua. (Precaución: Tóxico; procúrese evitar la ingestión).
- m) *Arsenito de sodio*. Disolver 0.93 g de $NaAsO_2$ en agua y diluir a 1 L. (Precaución: Tóxico; procúrese evitar la ingestión). Esta solución debe prepararse semanalmente.

-
- n) *Agente neutralizante*. Preparar con agua exenta de amoníaco. Hidróxido de sodio, NaOH 1N y Ácido sulfúrico, H₂SO₄ 1N.
 - o) *Solución absorbente, ácido bórico puro*. Disolver 20 g de H₃BO₃ en agua y aforar a 1 L.
 - p) *Solución indicadora de ácido bórico*. Disolver 20 g de H₃BO₃ en agua destilada exenta de amoníaco, agregue 10 mL de solución indicadora mixta y afore a 1 L. Esta solución se debe preparar mensualmente.
 - q) *Solución de indicador mixta*. Disolver 200 mg de indicador rojo de metilo en 100 mL de alcohol etílico o isopropílico del 95%. Disolver 100 mg de azul de metileno en 50 mL de alcohol etílico o isopropílico del 95%. Mezcle las dos soluciones. Esta solución se debe preparar mensualmente.
 - r) *Acido sulfúrico (0.04N)*. 1 mL de H₂SO₄ concentrado se afora a 1 L con agua destilada.

Procedimiento

- a) *Preparación del equipo*: Agregue 500 mL de agua y 20 mL de buffer de boratos a un matraz de destilación, el pH se debe ajustar a un valor aproximado a 9.5 con la solución de NaOH 6N. Adicione unas cuentas de vidrio o fragmentos pequeños para ayudar a la ebullición, esa mezcla se usa para producir vapor en el aparato de destilación, hasta que en el destilado no aparezcan trazas de amoníaco.
- b) *Preparación de la muestra*: Utilizar 500 mL de muestra desclorada o una porción diluida con agua a 500 mL. Cuando la concentración de N-NH₃ sea inferior a 100 µg/L, utilice un volumen de muestra de 1 L. Elimine el cloro residual, en el momento de la obtención. Si fuera necesario, neutralice a pH aproximado de 7, con ácido o base diluidos mediante un medidor de pH. Agregue 25 mL de solución tampón de borato y ajuste el valor del pH a 9.5 con NaOH 6N mediante un medidor de pH.
- c) *Destilación*: Para reducir al mínimo la contaminación, deje instalado el aparato de destilación después de agotar el vapor y hasta justo antes de empezar la destilación de la muestra. Desconectar el matraz productor de vapor y pasar inmediatamente el matraz de muestra al aparato de destilación. Destilar a una velocidad de 6 a 10 mL/min con el extremo del tubo de salida por debajo de la superficie de la solución ácida receptara. Colectar en un matraz Erlenmeyer de 500 mL que contenga 50 mL de solución de ácido bórico puro para el método de nesslerización. Colectar por lo menos

200 mL de destilado. Bajar el destilado obtenido para evitar su contacto con el tubo de salida y mantener la destilación durante 1 o 2 minutos, para limpiar el condensador y tubo de salida. Diluir a 500 mL con agua.

- d) *Determinación de amoníaco*: Determinar la concentración de amoníaco por el método de nesslerización.

Método de la nesslerización (directa y subsiguiente a destilación)

Discusión general

Los dos factores principales que influyen en la selección del método para determinar el amoníaco, son la concentración y la presencia de interferencias.

El método de Nessler es sensible a 20 μg de $\text{N-NH}_3/\text{L}$. La turbidez, el color y las sustancias precipitadas por el ión hidroxilo, como magnesio y calcio, interfieren y pueden ser eliminadas por destilación previa o, menos satisfactoriamente, por precipitación con sulfato de zinc y álcali. El ácido bórico es el absorbente tras la destilación, cuando el destilado vaya a ser nesslerizado.

La nesslerización directa únicamente se utiliza para aguas potables purificadas, agua natural y diluyentes residuales depurados, todos con poco color y concentraciones de N-NH_3 superiores a 20 $\mu\text{g}/\text{L}$. Aplique la nesslerización directa a las aguas residuales domésticas, solamente cuando sean aceptables los errores de 1 a 2 mg/L .

El tratamiento preliminar antes de la nesslerización directa con sulfato de zinc y álcali precipita calcio, hierro, magnesio y sulfuro, que producen turbidez cuando se tratan con el reactivo de Nessler. El floculado elimina también la materia en suspensión y a veces la coloreada. La adición de EDTA o solución de sal de Rochelle inhibe la precipitación de los iones residuales calcio y magnesio, en presencia del reactivo de Nessler alcalino. Sin embargo, el uso de EDTA requiere una cantidad adicional de reactivo Nessler para asegurar que existe un exceso suficiente del reactivo para que reaccione con el amoníaco.

La coloración gradual de amarillo a pardo, producida por la reacción amoniaco-Nessler, adquiere gran absorbancia en una amplia gama de longitudes de onda. El color amarillo característico de la concentración baja de nitrógeno amoniacal (0.4 a 5 mg/L) se puede medir con sensibilidad aceptable en la zona de longitud de onda de 400 a 425 nm, cuando se dispone de un recorrido de luz de 1 cm. De tener un recorrido de la luz de 5 cm, es posible ampliar la medida a concentraciones de nitrógeno de 5 a 6 $\mu\text{g/L}$.

El matiz pardo rojizo típico de los niveles de nitrógeno amoniacal próximo a 10 mg/L, se puede medir en la zona de 450 a 500 nm de longitud de onda. De ese modo, la selección cuidadosa del recorrido de luz y longitud de onda permiten la determinación fotométrica de una gama considerable de concentraciones de nitrógeno amoniacal.

Las desviaciones de la ley de Beer pueden ser evidentes cuando se utilicen fotómetros equipados con filtros de color de banda amplia. Por esta razón, la curva de calibración debe prepararse en condiciones idénticas a las adoptadas para las muestras.

Un reactivo Nessler preparado cuidadosamente puede responder, en condiciones óptimas a cantidades de hasta 1 $\mu\text{g/L}$ N-NH₃ /50 mL. En la nesslerización directa, esto representa 20 $\mu\text{g/L}$. Sin embargo, la reproducibilidad por debajo de 100 $\mu\text{g/L}$ puede ser errática.

Equipo y materiales

- 1) *Equipo colorimétrico*: Se puede emplear alguno de los siguientes equipos:
- 2) Espectrofotómetro, para uso de 400-500 nm con recorrido de luz de 1 cm o más.
- 3) Fotómetro de filtro, con un recorrido de luz de 1 cm o más, provisto de un filtro violeta de transmitancia máxima a 400 ó 425 nm. Para concentraciones más elevadas de NH₃-N se puede utilizar un filtro azul.
- 4) *Medidor de pH*, provisto de un electrodo de pH elevado.
- 5) *Materiales*. Tubos Nessler, de 50 mL.

Reactivos y patrones

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo, a menos que se indique otro grado. Utilizar agua exenta de amoníaco para preparar todos los reactivos, lavar y realizar las diluciones. Se requieren todos los reactivos enumerados en la destilación preliminar, excepto el buffer de boratos y la solución absorbente, y además los siguientes:

- a) *Solución de sulfato de zinc*: Disolver 100 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y aforar a 1 L con agua.
- b) *Agente estabilizador*: Utilizar EDTA o sal de Rochelle para evitar la precipitación de calcio o magnesio en muestras no destiladas tras la adición del reactivo de Nessler alcalino.
 - *Reactivo EDTA*: Disolver 50 g de tetraacetato de etilendiamina disódica dihidratada, en 60 mL de agua con 10 g de NaOH. De ser necesario aplicar calor suave para completar la disolución. Enfriar a temperatura ambiente y diluir a 100 mL.
 - *Solución de sal de Rochelle*: Disolver 50 g de tartrato sódico potásico tetrahidratado, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, en 100 mL de agua. Eliminar el amoníaco presente normalmente en la sal, por ebullición de 30 mL de solución. Después de enfriar, aforar a 100 mL.
- a) *Reactivo Nessler*: Disolver 100 g de HgI_2 y 70 g KI en una pequeña cantidad de agua y adicione esta mezcla lentamente, con agitación, a una solución fría de 160 g de NaOH en 500 mL de agua. Aforar a 1 L. La muestra se debe almacenar en material de vidrio de borosilicato con tapón de goma y protegido de la luz solar, para mantener la estabilidad del reactivo por 1 año, en condiciones normales de laboratorio. Se debe comprobar si el reactivo produce el color característico con 0.1 mg de $\text{NH}_3\text{-N/L}$ en los 10 minutos siguientes a la adición y no forma un precipitado con cantidades pequeñas de amoníaco en las 2 horas siguientes. (Precaución: Tóxico; procure evitar su ingestión).
- b) *Solución madre de amonio*: Disolver 3.819 g de NH_4CL anhidro, secado a 100 °C, en agua y aforar a 1 L; 1.00 mL = 1.00 mg N = 1.22 mg NH_3 .
- c) *Solución patrón de amonio*: Diluir 10 mL de solución madre de amonio a 1L con agua; 1.00 mL = 10.00 μg N = 12.2 μg NH_3 .

d) *Solución de color permanente:*

- *Solución de cloroplatinato de potasio:* Disolver 2 g de K_2PtCl_6 en 300 ó 400 mL de agua; adicionar 100 mL de HCl concentrado y aforar a 1 L.
- *Solución de cloruro cobaltoso:* Disolver 12 g de $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ en 200 mL de agua. Agregar 100 mL de HCl concentrado y aforar a 1 L.

Almacenamiento de las muestras

Se obtienen resultados más confiables con muestras recientes. De ser necesario elimine el cloro residual inmediatamente después de obtener las muestras para impedir su reacción con el amoníaco. Si es imposible un análisis rápido, las muestras se deben conservar con 0.8 mL de H_2SO_4 conc./L de muestra y almacenadas a 4°C. El pH de las muestras conservadas con ácido debe estar entre 1.5 y 2. Algunas aguas residuales pueden precisar más H_2SO_4 conc. para conseguir ese pH. Si se utiliza la conservación con ácido, las muestras deben ser neutralizadas con NaOH o KOH inmediatamente antes de la determinación.

Procedimiento

- a) *Tratamiento de las muestras no destiladas:* de ser necesario, el cloro residual debe ser eliminado de la muestra recién obtenida por adición de una cantidad equivalente de agente desclorante. (No conservar las muestras cloradas sin descloración previa). Agregue 1 mL de solución de $ZnSO_4$ a 100 mL de muestra, mezclar completamente. Adicione de 0.4 a 0.5 de solución de NaOH 6N para obtener un pH de 10.5, determinado con un medidor de pH, y mezcle suavemente. Es necesario dejar reposar durante unos minutos la muestra tratada, con lo que se formara un precipitado floculante y denso, que dejara un sobre nadante claro e incoloro. Las muestras se clarifican por centrifugado o filtrado. Se debe evaluar previamente el papel filtro que se va a utilizar para asegurarse de que no tiene amoníaco contaminante. Esto se hace pasando agua a través del papel filtro y analizando el filtrado por nesslerización. La muestra se filtra, desechando los primeros 25 mL de filtrado. (**Precaución:** las muestras con más de 10 mg de NH_3 -N/L pueden perder amoníaco durante este tratamiento de las muestras no destiladas debido al elevado pH. Diluir esas muestras hasta el rango sensible, para nesslerización, antes del tratamiento preliminar).

b) Desarrollo del color:

- *Muestras no destiladas:* Utilizar 50 mL de muestra o una porción diluida a 50 mL con agua. Si la porción no destilada contiene concentraciones suficientes de calcio, magnesio u otros iones que produzcan turbidez o precipitado con reactivo Nessler, agregue 1 gota (0.05 mL) de reactivo EDTA o 1 a 2 gotas (0.05 a 0.1 mL) de solución de sal de Rochelle. Mezclar bien. Adicionar 2 mL de reactivo Nessler si se ha utilizado EDTA, o 1 mL de reactivo Nessler si fue sal de Rochelle.
 - *Muestras destiladas:* Neutralizar el ácido bórico usado para absorber el destilado de amoníaco, por adición de 2 mL de reactivo Nessler, un exceso que sube el pH al nivel deseado, o alternativamente neutralizando el ácido bórico con NaOH antes de añadir 1 mL de reactivo Nessler.
 - Las muestras se mezclan tapando los tubos Nessler con tapones de goma (bien lavados con agua) e invirtiendo los tubos 6 veces por lo menos. Mantener las condiciones, tales como temperatura y tiempo de reacción, iguales para el blanco, las muestras y patrones. Dejar que la reacción prosiga por 10 minutos por lo menos, tras añadir el reactivo Nessler. Medir el color de la muestra y patrones. Si el $\text{NH}_3\text{-N}$ es muy bajo, utilizar un tiempo de contacto de 30 minutos para la muestra, blanco y patrones. Medir el color de manera fotométrica o visualmente como se indica más adelante.
- a) Determinación fotométrica:** Medir la absorbancia o transmitancia con un espectrofotómetro o fotómetro de filtro. Preparar la curva de calibración a la misma temperatura y tiempo de reacción utilizados para las muestras. Medir las transmitancias frente a un blanco de reactivo y hacer comprobaciones paralelas frecuentes frente a los patrones en el rango de nitrógeno de las muestras. Si es necesario vuelva a determinar una curva de calibración completa para cada nuevo lote de reactivo Nessler.
- b) Para muestras destiladas,** Prepara la curva de patrón en las mismas condiciones que las muestras. Destilar el blanco de reactivo o los patrones apropiados, diluidos todos a 500 mL, del mismo modo que las muestras. Diluir a 300 mL de destilado más 50 mL de ácido bórico absorbente a 500 mL con agua y tomar una porción de 50 mL para nesslerización.

- c) *Comparación visual*: Comprobar los colores producidos en la muestra frente a los patrones de amoníaco. Preparar patrones provisionales o permanentes, como sigue:
- *Patrones provisionales*: preparar una serie de patrones visuales en tubos Nessler por adición de los volúmenes siguientes de solución patrón de NH_4Cl : 0, 0.2, 0.4, 0.7, 1, 1.4, 1.7, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 y 6 mL y aforar a 50 mL con agua. Nesslerizar los patrones y porciones del destilado, añadiendo 1 mL de reactivo Nessler a cada tubo y mezclar bien.
 - *Patrones permanentes*: medir en tubos Nessler de 50 mL los volúmenes de soluciones de K_2PtCl_6 y CoCl_2 indicados en la Tabla 9-4, diluir hasta la marca de aforo y mezclar completamente. Los valores que ofrece la tabla son aproximados; los equivalentes reales de los patrones de amonio pueden diferir con la calidad del reactivo Nessler, tipo de iluminación usada y sensibilidad al color del ojo del analista. Por ello se deben comparar los patrones de color con patrones provisionales nesslerizados de amoníaco y los tonos se modifican de ser preciso. Hacer esas comparaciones para cada reactivo Nessler nuevo y satisfaga las necesidades de cada analista relacionadas con la aptitud de la correspondencia del color. Proteger los patrones del polvo, para ampliar su duración a varios meses. Comparar cada 10 ó 30 minutos tras la nesslerización, en función del tiempo de reacción usado al preparar los patrones de amonio nesslerizados frente a los que se compararon.

Tabla 9-4.- Preparación de estándares de color permanente para determinación visual de nitrógeno amoniacal

| Valor de nitrógeno amoniacal (μg) | Volumen aproximado de solución de platino (mL) * | Volumen aproximado de solución de cobalto (mL) * |
|--|--|--|
| 0 | 1.2 | 0.0 |
| 2 | 2.8 | 0.0 |
| 4 | 4.7 | 0.1 |
| 7 | 5.9 | 0.2 |
| 10 | 7.7 | 0.5 |
| 14 | 9.9 | 1.1 |
| 17 | 11.4 | 1.7 |
| 20 | 12.7 | 2.2 |
| 25 | 15.0 | 3.3 |
| 30 | 17.3 | 4.5 |
| 35 | 19.0 | 5.7 |
| 40 | 19.7 | 7.1 |
| 45 | 19.9 | 8.7 |
| 50 | 20.0 | 10.4 |
| 60 | 20.0 | 15.0 |

* En tubos Nessler de 50 mL similares.

Cálculos

- a) La cantidad de $\text{NH}_3\text{-N}$ en el agua utilizada para diluir la muestra original, antes de calcular el valor final del nitrógeno.
- b) Deducir también el blanco de reactivo para el volumen de soluciones de tampón borato y NaOH 6N utilizadas con la muestra.
- c) Calcular el $\text{NH}_3\text{-N}$ total por la siguiente ecuación:
- d) $\text{mg NH}_3\text{-N/L (51 mL volumen final)} = \frac{A}{\text{mL muestra}} \times \frac{B}{C}$

Donde: A = $\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ (51 mL volumen final); B = volumen total de destilado obtenido, mL, incluyendo el absorbente ácido, y C = volumen de destilado tomado para nesslerización, mL.

La relación B/C sólo es aplicable a las muestras destiladas; ignorarla en la nesslerización directa.

Interferencias

La glicina, urea, ácido glutámico, cianatos y acetamida hidrolizan muy lentamente en solución, pero solo la urea y los cianatos producirán la hidrólisis en la destilación a pH 9.5. La hidrólisis supone alrededor del 7% a ese pH para la urea, y alrededor del 5% para los cianatos. Glicina, hidracina y algunas aminas reaccionan con el reactivo Nessler produciendo el color amarillo característico en el tiempo requerido para la prueba. Algunos compuestos orgánicos, como cetonas, aldehídos, alcoholes y algunas aminas pueden producir un color amarillento, verdoso o turbidez en la nesslerización que sigue a la destilación. Algunos de ellos, como el formaldehído, pueden ser eliminados hirviendo a pH bajo antes de nesslerizar. También se recomienda eliminar el cloro.

Discusión general

El nitrito considerado como una etapa intermedia en el ciclo del nitrógeno puede estar presente en el agua como resultado de la descomposición biológica de materiales proteicos. En aguas superficiales crudas, las huellas de nitritos indican contaminación. También se puede producir el nitrito en las plantas de tratamiento o en los sistemas de distribución de agua, como resultado de la acción de bacterias sobre el nitrógeno amoniacal.

El nitrito puede entrar en un sistema de abastecimiento a través de su uso como inhibidor de corrosión en agua de proceso industrial. El nitrito es un agente etiológico potencial de metahemoglobinemia. El ácido nitroso, que se forma de nitritos en solución ácida, puede reaccionar con aminas secundarias (RR'-NH) para formar nitrosaminas (RR'-N-N=O) muchas de las cuales son conocidas por ser potentes agentes carcinogénicos. El nitrógeno de nitritos rara vez aparece en concentraciones mayores a 1 mg/L aún en efluentes de plantas de tratamiento municipales. Su concentración en aguas superficiales y subterráneas es normalmente más baja de 0.1 mg/L. Debido a que el nitrógeno es un nutriente esencial para organismos fotosintéticos, es importante el monitoreo y control de descargas del mismo al ambiente.

Principio del método

El principio del método consiste en que los nitritos presentes reaccionan en medio ácido (pH = 1.9 a 2.5), para formar ácido nitroso que reacciona con la sulfanilamida por una reacción de diazoación para formar una sal de diazonio, la cual por acoplamiento con el diclorhidrato de N-(1-Naftil) etilendiamina forma un colorante azóico de color púrpura rojizo que se mide espectrofotométricamente a 543 nm. El rango de aplicación del método para medidas espectrofotométricas es de 10 a 1 000 µg de N-NO₂⁻/L, y se puede aplicar al de 5 a 50 µg de N/L si se usa un recorrido de luz de 5 cm y filtro de color verde. El sistema de color obedece a la ley de Beer hasta 180 µg N/L con 1 cm de recorrido de luz a 543 nm. Diluyendo las muestras se pueden determinar concentraciones más altas de NO₂⁻.

Interferencias

Por su propiedad de precipitación en las condiciones de la prueba interfieren los iones siguientes: férrico (Fe^{3+}), mercurioso (Hg^+), plata (Ag^+), bismuto (Bi^+), antimonioso (Sb^{3+}), plomo (Pb^{2+}), aúrico (Au^{3+}), hexacloroplatinato (PtCl_6^{2-}) y metavanadato (VO_3^{2+}). Interfieren el método ciertas sustancias frecuentemente encontradas en muestras de agua, principalmente: cloraminas, tiosulfatos, polifosfatos de sodio, entre otras.

NOTA. Se recomienda emplear matrices fortificadas para verificar las interferencias.

Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en éste método. Debe tenerse un archivo de referencia de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.

Los ácidos y bases concentrados empleados en este método pueden causar severas quemaduras e irritaciones en la piel, por lo que debe utilizarse ropa protectora tal como: batas, guantes y lentes de seguridad cuando se manejan estos compuestos químicos.

El hidróxido de sodio en contacto con los ojos o piel, puede causar severa irritación o quemaduras. La inhalación de vapores puede causar tos, dolor en el pecho, dificultad para respirar o estado de inconsciencia.

La preparación de todos los reactivos usados en este método debe realizarse bajo una campana de extracción. Consultar las hojas de seguridad sobre manipulación y disposición de éstos.

Cuando se trabaje con cualquiera de los compuestos químicos descritos en este método, debe usarse todo el tiempo equipo de seguridad tal como: guantes de látex, bata de laboratorio así como anteojos de seguridad.

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

Las muestras deben ser colectadas y conservadas en frascos de vidrio o polietileno, a una temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para evitar la conversión de nitritos a nitratos o amoníaco. No utilizar nunca la conservación ácida en las muestras destinadas al análisis de NO_2^- . Hágase la determinación inmediatamente sobre muestras recientes para evitar la conversión bacteriana del NO_2^- en NO_3^- o NH_3 .

El análisis debe realizarse durante las 24 h posteriores a su recolección, almacenar las muestras a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Las muestras congeladas a -10°C pueden conservarse máximo 48 h antes de ser analizadas.

Equipo y materiales

Equipo

- a) Espectrofotómetro o fotocolorimétrico con filtro para leer a 543 nm, con celdas de paso de luz de 1 cm a 10 cm.
- b) Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
- c) Balanza granataria con precisión de 0.1 g.
- d) Potenciómetro de laboratorio con sus respectivos electrodos para medición de pH.

Materiales

Todo el material volumétrico utilizado en este método debe ser clase A.

- a) Frasco de polietileno o vidrio con tapa de 2 L de capacidad.
- b) Membrana filtrante de $0,45\ \mu\text{m}$.
- c) Filtros de fibra de vidrio con diámetro de poro de $0,7\ \mu\text{m}$
- d) Papel filtro de poro medio.
- e) Electrodo combinado de vidrio.

Reactivos y patrones

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo, a menos que se indique otro grado.

a) Agua: Debe entenderse agua que cumpla con las siguientes características:

- Resistividad: megohm-cm a 25 °C: 0.2 Mín.
- Conductividad: $\mu\text{S/cm}$ a 25 °C: 5.0 Máx.
- pH: 5.0 a 8.0

Si no se sabe si el agua destilada o desmineralizada está exenta de NO_2^- , utilícese uno de los procedimientos siguientes para prepararla:

- Agregue a 1 L de agua destilada un cristal de KMnO_4 y otro de Ba(OH)_2 o Ca(OH)_2 . Destile usando un matraz de vidrio de borosilicato, descartándose los 50 mL iniciales del destilado. Colectar la fracción de destilado libre de permanganato; un color rojo con reactivo DFD, indica la presencia de permanganato.
- Agregue 1 mL de H_2SO_4 conc. a 1 L de agua destilada, y 0.2 mL de solución de MnSO_4 (36.4 g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /100 mL de agua destilada) a otro litro de agua destilada, y vírese a rosa con 1 a 3 mL de solución KMnO_4 (400 mg de KMnO_4 /L de agua destilada). Destilar como se describe en el párrafo anterior. Utilice agua exenta de nitritos para preparar los reactivos y diluciones.

a) *Hidróxido de amonio* (NH_4OH) concentrado.

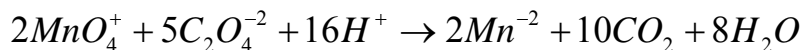
b) *Suspensión clarificadora de hidróxido de aluminio*. Disolver 125 g de sulfato de aluminio y potasio ($\text{AlK(SO}_4\text{)}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) o de sulfato de aluminio y amonio ($\text{AlNH}_4\text{(SO}_4\text{)}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) en 1 L de agua. Calentar a 60 °C y adicionar 5 mL de NH_4OH concentrado lentamente con agitación, dejar que la mezcla repose 3 h y decantar. Lavar el precipitado con adiciones sucesivas de agua destilada con mezclado manual y decantación hasta que se encuentre libre de olores amoniacales. Decantar la mayor cantidad posible de agua y almacenar la suspensión concentrada, en un frasco herméticamente cerrado.

- c) *Disolución de Ácido sulfúrico* (H_2SO_4) 1N. Diluir 30 mL de H_2SO_4 concentrado y llevar a volumen de 1 L con agua.
- d) *Disolución de hidróxido de sodio* (NaOH) 1N. Pesar 40 g de NaOH , disolverlos y llevar a volumen de 1 L con agua.
- e) *Ácido clorhídrico*. (HCl) concentrado.
- f) *Disolución de sulfanilamida* ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$); 4 aminobencensulfonamida Disolver 5.0 g de sulfanilamida en una mezcla de 50 mL de HCl y 300 mL de agua, y llevar a volumen de 500 mL con agua. La disolución es estable por varios meses debe de almacenarse en frasco ámbar y en refrigeración a $4 \pm 2^\circ\text{C}$.
- g) *Disolución de diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina* ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH-CH}_2\text{NH}_2\cdot 2\text{HCl}$), NEDA. Disolver 500 mg de NEDA y llevar a volumen de 500 mL con agua, almacenar en frasco ámbar y poner en refrigeración a $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Renovar la disolución mensualmente o si aparece un color café intenso. Precaución: este reactivo es tóxico. Debe evitarse su ingestión o contacto con la piel.
- h) *Ácido sulfúrico concentrado* (H_2SO_4)
- i) *Disolución de oxalato de sodio* ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) 0.05N (Patrón primario). Secar aproximadamente 6 g de ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) a 105°C por lo menos 1 h; pesar 3.35 g disolver y llevar al volumen de 1 000 mL con agua.
- j) *Disolución de permanganato de potasio* (KMnO_4) 0.05N. Disolver 1.60 g (de KMnO_4) y llevar al volumen de 1 L con agua, almacenarlo en frasco ámbar.
- Valoración de la disolución. Medir 25 mL de la disolución de oxalato de sodio agregar 10 mL de (H_2SO_4) concentrado calentar a 80°C , titular con la disolución de (KMnO_4) hasta la obtención de un color rosa tenue estable por 30 s. Calcular la concentración de (KMnO_4) (N1) con la siguiente ecuación:

$$N1 = \frac{V2 \times N2}{V1}$$

Donde: V1 es el volumen de la disolución de (KMnO_4) gastado en la titulación, en mL; V2 es el volumen de la disolución de ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) (0.05N) empleado para la titulación, en mL, y N2 es la concentración de la disolución ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) (0.05N).

NOTA.- Para simplicidad de los cálculos, la concentración de las disoluciones se expresa como normalidad (N); la equivalencia con la concentración molar (mol/L) empleada en el Sistema Internacional de Unidades debe involucrar la estequiometría de la reacción de óxido-reducción que se realiza.



a) *Disolución madre de nitritos* (250 mg/L). Secar aproximadamente 5 g de nitrito de sodio (NaNO_2) por lo menos 2 h a 105°C ; pesar 1.232 0 g de este reactivo, disolverlo y llevar a volumen de 1 L con agua. Preservar con 1 mL de cloroformo. 1.0 mL = 250 μg de N- NO_2 .

- Valoración de la disolución. Tomar 50 mL de la disolución de (KMnO_4); transferir a un matraz Erlenmeyer de 250 mL, agregar 5 mL de H_2SO_4 concentrado y 50 mL de la disolución madre de nitritos de tal forma que la pipeta descargue bajo la superficie de la disolución en el matraz, agitar y calentar hasta 80°C , titular con la disolución de oxalato de sodio hasta decoloración, retitular el exceso de oxalato con la disolución de KMnO_4 hasta la obtención de un color rosa tenue estable por 30 s. Calcular la concentración de la disolución madre de nitritos (C_0) en mg/L con la siguiente ecuación:

$$C_0 = \frac{[(V1 \times N1) - (V2 \times N2)](7)1000}{V3}$$

Donde: N1 es la concentración de la disolución de KMnO_4 (0.05N); N2 es la concentración de la disolución de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (0.05N); V1 es el volumen de la disolución de KMnO_4 adicionado para la valoración de 50 mL más el volumen empleado en la retitulación; V2 es el volumen de la disolución de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ gastado en la valoración en mL; V3 es el volumen de la disolución madre de nitritos que se valora (50 mL); 7 es el peso equivalente del nitrógeno, y 1 000 es el factor de conversión.

- a) *Disolución intermedia de nitritos* (50 mg/L). Calcular el volumen (V) de la disolución madre de nitritos de manera que la alícuota contenga 12.5 mg de nitrógeno de nitritos, Medir el volumen calculado (V) (aproximadamente 50 mL) de la disolución madre de nitritos, diluir y llevar a volumen de 250 mL con agua. 1 mL = 50 μg de N- NO_2 .
- b) *Disolución patrón de nitritos* (0.5 mg/L). Diluir 10 mL de la disolución intermedia de nitritos y llevar a volumen de 1 L con agua. 1 mL = 0.5 μg de N- NO_2 .

NOTA. Esta disolución debe ser preparada momentos antes de utilizarse.

Procedimiento

- a) La muestra debe estar libre de turbiedad y color, para lograr esto, filtrarla a través de membranas de 0.45 μm de poro, filtros de fibra de vidrio de 0.7 μm de poro o adicionar 2 mL o la cantidad necesaria de suspensión clarificadora según sea el caso, a aproximadamente 100 mL de muestra con agitación y filtrarla a través de papel de poro medio. Neutralizar el filtrado a un pH aproximado de 7.0 con H_2SO_4 1N o NaOH 1N.
- b) Porción de muestra. De la disolución obtenida en 10.1 tomar una porción de muestra, dependiendo del contenido esperado de nitritos según la **Tabla 9-5**.

Tabla 9-5.- Selección del volumen de muestra

| <i>Cantidad de nitrógeno de nitritos en la muestra (mg/L)</i> | <i>Volumen de muestra necesario (mL)</i> |
|---|--|
| 0.05 | 50 |
| 0.10 | 25 |
| 0.50 | 10 |
| 1.00 | 5 |

- a) Con una pipeta volumétrica tomar 50 mL de la muestra o lo que indica la tabla y transferirla a un matraz Erlenmeyer o tubo Nessler. En caso de realizar diluciones, tomar el volumen de muestra con pipeta volumétrica y depositarlo en un matraz volumétrico de 50 mL, llevar a la marca de aforo con agua y posteriormente verter el contenido en un matraz Erlenmeyer o tubo Nessler. En donde se llevará al cabo el desarrollo del color.
- b) Adicionar 1 mL de la disolución de sulfanilamida, y agitar varias veces. Permitir que la mezcla reaccione de 2 min. a 8 min.
- c) Adicionar 1 mL de NEDA, y agitar varias veces, revisar que el pH esté entre 1.9 y 2.5.
- d) Dejar reposar por lo menos 10 min. pero no más de 1 h, la presencia de nitritos desarrolla una coloración púrpura.
- Leer la absorbancia a 543 nm. Utilícense, como guía, los siguientes recorridos de luz para las concentraciones indicadas de NO_2^- -N mostrados en la **Tabla 9-6**.

Tabla 9-6.- Recorridos de luz para las concentraciones indicadas

| Recorrido de luz (cm) | NO ₂ ⁻ -N (µg/L) |
|-----------------------|--|
| 1 | 2-25 |
| 5 | 2-6 |
| 10 | <2 |

a) Corrección por color.

- Si el color de la muestra pretratada persiste, puede interferir con la medición de la absorbancia. En lugar de agregar las soluciones de sulfanilamida y NEDA, adicionar 1 mL de HCl al 10 % y leer la absorbancia.
- Corregir la absorbancia de la muestra por medio de la ecuación:

$$A = A_m - A_b - A_c$$

Donde: A es la absorbancia corregida; A_m es la absorbancia de la muestra determinada; A_b es la absorbancia del blanco, y A_c es la absorbancia de la muestra empleada para corrección, de color. En caso de muestras incoloras A_c=0.

- b) Curva de calibración:** En matraces volumétricos de 50 mL preparar una serie de al menos cinco patrones que contengan 1.0 µg de N-NO₂, 2.0 µg de N-NO₂, 3.0 µg de N-NO₂, 4.0 µg de N-NO₂, 5.0, µg de N-NO₂, a partir de la disolución patrón de nitritos llevar a la marca con agua y proseguir como ya se ha mencionado.
- c) Blanco:** Llevar un blanco durante todos los pasos del método ya sea cuando se prepare curva de calibración o cuando se analicen muestras.

Cálculos

Calcular la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtiene de las curvas de calibración. Para calcular la concentración de la muestra tomar en cuenta los factores de dilución que se realicen. Reportar los resultados como mg/L de N-NO₂.

9.2.3. Determinación de NO₃ (Nitratos). Método Espectrofotométrico Ultravioleta Selectivo

Resumen

La concentración de nitratos en una muestra de agua se determina midiendo la absorbancia en el ámbito de ultravioleta a 220 nm y comparándola con una curva de calibración. La relación entre absorbancia y concentración es lineal hasta una concentración de 11 µg/L y verifica la ley de Beer. El mínimo detectable es de 0.01 µg/L.

El método es rápido y adecuado para pruebas de control rutinario. Utilícese esta técnica solamente para seleccionar muestras con bajo contenido de materia orgánica. Dado que la materia orgánica disuelta puede absorber también a 220 nm y NO₃⁻ no lo hace a 275 nm, se puede utilizar una segunda medida a 275 nm para corregir el valor de NO₃⁻. Esta corrección empírica dependerá de la naturaleza y concentración de la materia orgánica y puede variar de unas aguas a otras.

En consecuencia este método no es recomendable cuando se precise una corrección importante para la absorbancia de la materia orgánica, aunque puede ser útil para controlar los niveles de NO₃⁻ en un sistema de aguas con un tipo constante de materia orgánica. Los factores de corrección para la absorbancia de materia orgánica se pueden establecer por el método de adiciones en combinación con el análisis del contenido original de NO₃⁻ por otro método.

La filtración de la muestra tiene por objeto posibles interferencias de las partículas suspendidas. La acidificación con HCl 1N sirve para impedir interferencias por concentraciones de hidróxido o carbonato de hasta 1000 mg de CaCO₃/L. El cloruro no afecta a la determinación.

Interferencias

Interfiere la materia orgánica disuelta, detergentes, nitritos y cromo hexavalente. Los nitratos absorben la luz a 220 nm, la materia orgánica absorbe la luz tanto a 220 como a 275 nm, por lo que una segunda medición a 275 nm se usa para corregir los valores de nitrógeno de nitratos.

Muestreo y almacenamiento

Las muestras deben ser representativas de las condiciones que existan en el punto y hora de muestreo y tener el volumen suficiente para efectuar las determinaciones correspondientes. Para el caso de pozos y tanques elevados se deja fluir el agua de 5 a 10 minutos con el fin de desalojar el agua estacionada en la tubería. Posteriormente se recoge la muestra en recipientes de vidrio o plástico, y debe ser analizada lo más pronto posible. En caso de requerir almacenamiento, mantener en refrigeración por un máximo de 48 horas entre 275 y 278 K (2 y 5°C).

Material y equipo

Material

- a) Material común de laboratorio.
- b) Papel filtro poro fino y filtro de membrana de 0.45 mm.

Equipo

- Espectrofotómetro para usarse a 220 nm y 275 nm con celda de cuarzo de 1 cm o más de paso de luz.

Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico a menos que se indique otra cosa.

- a) Solución madre de nitratos. Secar nitrato de potasio (KNO_3) en una estufa a 378 K (105°C) por 24 horas enfriar en un desecador. Pesar 0.7218 g de nitrato de potasio anhidro y diluir a 1 L con agua destilada. Preservar con 2 mL de cloroformo (CHCl_3); 1 mL = 100 μg N- NO_3 . Esta solución es estable por seis meses.
- b) Solución patrón de nitrato. Diluir 50 mL de solución madre de nitratos a 500 mL con agua destilada; 1 mL = μg NNO_3 .
- c) Solución de ácido clorhídrico (densidad 1.19 g/mL) 1N. Diluir 83 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) a 1 L con agua destilada.

Curva de calibración

- a) Diluir los siguientes volúmenes de la solución patrón y aforar a 50 mL, 0, 1, 3, 7, 10, 15, 20, 30 y 35 mL obteniéndose las siguientes concentraciones; 0, 0.2, 0.6, 1.4, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, y 7.0 μg de N-NO₃/mL (de 0 a 350 μg de N-NO₃).
- b) Añadir 1 mL de solución de HCl 1N a cada una de las soluciones de la curva y agitar vigorosamente.
- c) Trazar la curva de calibración graficando las absorbencias obtenidas contra las concentraciones correspondientes.

Procedimiento

- a) Tomar 50 mL de muestra clara, filtrar si es necesario, primero por el papel de poro fino y posteriormente a través del filtro de membrana.
- b) Añadir 1 mL de solución de HCl 1N y agitar vigorosamente.
- c) Hacer las lecturas de absorbancia en la misma forma que la curva de calibración.
- d) Leer las absorbencias de las muestras a 275 nm, para determinar interferencias debidas a materia orgánica.

Cálculos

- a) Corrección por materia orgánica disuelta. Restar dos veces la lectura de absorbancia a 275 nm (A_{275}) de la lectura de absorbancia a 220 nm (A_{220}). Si el valor de la lectura a 275 nm es mayor del 10% del valor de la lectura a 220 nm, este método no es aplicable. $AC = A_{220} - 2 A_{275}$
- b) Leer en la curva de calibración la concentración correspondiente a las observancias ya corregidas de las muestras y determinar el contenido de nitrógeno de nitratos en μg N-NO₃/mL.
- c) En caso de haber trazado la curva de calibración graficando las absorbencias obtenidas contra los μg correspondientes (de 0 a 350 μg), el contenido en μg N-NO₃/mL se determina mediante la siguiente formula:

$$\mu\text{g N} - \text{NO}_3 / \text{mL} = \frac{C}{V}$$

Donde: C = μg leídos de la curva; V = Volumen de muestra en mL para el análisis.