



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
INGENIERÍA**

**T  
EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD NITRIFICANTE EN UN  
REACTOR EXPERIMENTAL EMPACADO**

**T  
TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN INGENIERÍA**

**PRESENTA**

**HUGO SÁNCHEZ GARCÍA**

**DR. VICTOR MANUEL LUNA PABELLO**  
FACULTAD DE QUÍMICA



**México, D.F. FEBRERO 2013**



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.

Presidente: DR. GARZÓN ZÚÑIGA MARCO ANTONIO

Secretario: DRA. FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ GEORGINA

Vocal: DR. LUNA PABELLO MANUEL

1 er. Suplente: DR. DE VICTORICA ALMEIDA JORGE LUIS

2 do. Suplente: DR. GONZÁLEZ BARCELÓ OSCAR

Lugar donde se realizó la tesis:

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**TUTOR DE TESIS:**

DR. VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO

---

**FIRMA**

---

## **RECONOCIMIENTOS**

El trabajo de investigación de la presente tesis, fue realizado en las instalaciones del laboratorio de microbiología experimental de la facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se reconoce el apoyo recibido por DGAPA PAPIIT IT103312 "Diseño, construcción y evaluación de un sistema de tratamiento móvil para depuración y reúso de aguas residuales de tipo municipal" Facultad de Química PAIP 4194-14 (VMLP 2011-2012).

Asimismo, también se reconoce el apoyo brindado por CONACyT. Por la ayuda económica que brindo durante el tiempo que curse el posgrado en la Facultad de Ingeniería de la UNAM.

---

---

## ***Agradecimientos***

Agradezco su apoyo al Dr. Víctor Manuel Luna Pabello, por brindarme los recursos necesarios para la realización de este trabajo.

A la profesora Lupita y al profesor Luciano por los aportes brindados a este trabajo.

A los integrantes de mi jurado, Dr. Garzón Zúñiga Marco Antonio, la Dra. Fernández Villagómez Georgina, el Dr. De Victorica Almeida Jorge Luis y al Dr. González Barceló Oscar, agradezco a ellos por sus valiosos comentarios para la culminación de este trabajo.

Al Posgrado de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México por haber permitido formarme en sus instalaciones y ser parte de sus alumnos.

---

---

***Pude ver más allá que todos ustedes,  
porque estoy en hombros de gigantes.***

***Isaac Newton (1642-1727) Matemático y físico británico.***

***(A mi Familia)***

Una vez más ha concluido un ciclo, esto nuevamente con el apoyo de mi familia que seguramente el proceso no hubiese sido el mismo sin su apoyo incondicional. A mi mamá: la Sra. Angelina García Rosalino, con quien he contado durante toda la vida y sé que lo seguiré haciendo, te quiero mamá y nuevamente te dedico este trabajo, este esfuerzo y te doy las gracias. También y sin olvidarÉ dedico este trabajo a mis hermanos: Hilda, Sergio, Ma. Öel Rosario, Ma. De Jesús, Arturo, Daniel y Ma. Luisa, con quienes he contado siempre y de quienes he recibido múltiples formas de apoyo y diversos ritmos de convivencia.

A mis sobrinos, que cada vez son más y con los que disfruto cada momento a su lado de forma distinta pero no por ello intrascendente: Gustavo A, Adriana A, Laura A, Arturo B, Gina G, Dánae S, Frida G y a su hijo Mauricio, Igor S, Bruno S, Camila S, René S, Gabrielle S y Mateo A. Ellos, a los que quiero a mi manera y de los que he recibido apoyo y condescendencia.

A mis cuñad@s Jorge Adrián Álvarez R., Janet Alba N. y Laura Barrientos L. de los que de igual manera, he recibido formas extrañas de cariño y apoyo.

A todos mis grandes amigos de la Facultad de Química de la UNAM, a Karina Ramírez, a Luis Delgado, Alejandro Rosas, Patricia Fuentes y a todos los que en algún momento pasamos grandes días, esperando sigan muy bien y adelante.

A mis buenos amigos y colegas del Laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química de la UNAM: Edgar O, Rafael M, Benjamín S, Héctor R, Patricia C, Manuel S, Jorge E y por supuesto, a Sergio Castañeda de quien recibí grandes conocimientos y apoyos extra para la culminación de este trabajo y del cual espero obtener una larga amistad como con todos. A ellos, con quienes las horas pasaban volando y el trabajo lo convertíamos en diversión y fiesta prolongada.

---

---

A todos y cada uno de mis compañeros del Posgrado de Ingeniería Ambiental, con los que pase buenos, muy buenos momentos de fiesta, de estudio, de tensión y de tranquilidad.

A todos mis amigos de la universidad, a cada una de las personas con las que he convivido durante mi estancia en la grandísima Universidad Nacional Autónoma de México. Gracias.

A todos y cada uno de mis amigos y amigas del equipo “**Coyotes Rugby Club**”, con quienes he jugado los últimos dos años y con quienes de igual forma he pasado grandes grandes momentos de fiesta, de desveladas, de esfuerzo, de dolor, de victoria, de derrotas, de peleas y extraños sentimientos que seguiremos disfrutando por un largo tiempo. También a mi equipo de la “Selección Universitaria de los Pumas” con los que ganamos el torneo universitario 2012 representando orgullosamente a la UNAM, con los que conviví, y de quienes de igual forma aprendí múltiples cosas.

---

---

# Índice

<b>1. Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Introducción .....</b>	<b>2</b>
2.1 Justificación.....	4
<b>3. Objetivos e Hipótesis .....</b>	<b>5</b>
3.1 Objetivo General .....	5
3.2 Objetivos particulares.....	5
3.3 Hipótesis .....	5
3.4 Alcances.....	5
<b>4. Marco teórico .....</b>	<b>6</b>
4.1 Problemática de las aguas residuales en México con presencia de nitrógeno y fuentes promotoras de contaminación por nitrógeno.....	6
4.2 Toxicidad de las sustancias nitrogenadas .....	8
4.3 Legislación nacional e internacional para especies del nitrógeno .....	10
4.3 Alternativas de tratamiento de agua .....	12
4.5 Proceso de la nitrificación en humedales artificiales (HA) .....	14
4.6 Principales organismos que intervienen en la nitrificación.....	15
4.7 Ciclo del nitrógeno en HA .....	18
<b>5. Estrategia de trabajo .....</b>	<b>23</b>
5.1 Etapa de diseño (primera etapa).....	24
5.1.1 Determinación del diseño y materiales de construcción del REE .....	24
5.1.2 Especificación y dimensión de zonas para la toma de muestra, entradas y salidas del agua sintética .....	25
5.1.3 Selección y granulometría del material de empaque, así como del componente vegetal .....	26
5.1.4 Determinación de las condiciones de operación .....	27
5.1.5. Pruebas comparativas experimentales .....	28
5.2 Construcción del reactor experimental empacado (segunda etapa).....	29
5.3 Montaje, arranque, inoculación, operación y muestreo del REE .....	30
5.3.1 Montaje.....	30
5.3.2 Inoculación del componente microbiano en el REE .....	31
5.3.3 Operación y muestreo .....	31
5.3.4 Muestreo.....	32



---

5.3 Determinación de la capacidad nitrificante en el REE .....	32
5.4 Determinación de la capacidad nitrificante en el REE en presencia del componente vegetal (tercera etapa) .....	33
5.5 Análisis e interpretación de resultados (cuarta etapa) .....	33
<b>6. Resultados y discusión.....</b>	<b>34</b>
6.1 Resultados de pruebas preliminares.....	34
6.1.1 Resultados de la caracterización del material de empaque .....	34
6.1.2 Resultados del montaje del sistema.....	34
6.1.3 Resultados de la disminución de oxígeno en el REE .....	34
6.2 Resultados de pruebas en el REE .....	37
6.2.1 Resultados en el REE .....	37
6.3 Resultados del arranque del REE .....	37
6.4 Estabilización del REE .....	43
6.4.1 Resultados de la velocidad de degradación de amonio por cada número de recirculación en la etapa de estabilización sin plantas.....	46
6.5 Resultados en el REE con plantas.....	47
6.6 Resultados de las constantes cinéticas de degradación del amonio, nitritos y nitratos en el sistema en estabilización con plantas .....	53
6.7 Balance de materia en el REE para 4, 6 y 8 recirculaciones por día sin y con plantas.....	56
<b>7. Resultados de análisis estadístico .....</b>	<b>61</b>
7.1 Resultados del análisis estadístico del REE sin plantas y con plantas.....	64
7.2 Prueba <i>t</i> de <i>Student</i> .....	65
<b>8. Conclusiones .....</b>	<b>68</b>
8.1 Recomendaciones .....	69
<b>9. REFERENCIAS .....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>74</b>
<b>I. Composición del agua sintética.....</b>	<b>74</b>
<b>II. Selección y propagación del componente vegetal .....</b>	<b>74</b>
<b>III. Obtención de bacterias nitrificantes a partir de una muestra ambiental ...</b>	<b>75</b>
<b>IV. Pruebas de densidad real aparente y relativa.....</b>	<b>76</b>
<b>V. Pruebas de conductividad hidráulica.....</b>	<b>76</b>

---

---

VI.	Pruebas de evaporación y evapotranspiración .....	77
VII.	Prueba para la obtención del coeficiente de variación .....	79
VIII.	Absorción de amonio en el material de empaque (isoterma de Langmuir)	79
IX.	Pruebas de contenido de nitrógeno y carbono .....	80
X.	Fórmulas para el cálculo de las cinéticas a partir de los datos generados en el experimento del cual se habla en el presente trabajo. ....	81
XI.	Determinación de pruebas fisicoquímicas .....	81
X	Resultados del componente microbiano .....	86
XI	Determinación de la cantidad de bacterias .....	87

---

## Índice de tablas

Tabla 4:1. Fuentes de sustancias nitrogenadas contaminantes en cuerpos de agua superficiales y subterráneos .....	9
Tabla 4:2. Comparación de sustancias de nitrógeno con 3 normas de protección de vida acuática (valores promedio, con mínimos y máximos medidos).....	12
Tabla 5:1. Número de dosificaciones por día .....	28
Tabla 5:2. Arreglo en el reactor experimental empacado.....	31
Tabla 5:3. Parámetros a evaluar en el REE .....	29
Tabla 6:1. Pruebas realizadas al material de empaque .....	34
Tabla 6:2. Pruebas realizadas al REE.....	34
Tabla 6:3. Concentraciones de N-NH <sub>4</sub> y de N-NO <sub>3</sub> a diferentes alturas y a distintos tiempos después de la alimentación del influente en el REE. ....	36
Tabla 6:4. Concentraciones de OD y de potencial rédox a diferentes alturas y a distintos tiempos después de la alimentación del influente en el REE.....	36
Tabla 6:5. Resultados de pruebas sin plantas en el REE .....	45
Tabla 6:6. Constantes de degradación de amonio en el REE.....	46
Tabla 6:7. Resultados operando el REE con cuatro recirculaciones con plantas .....	50
Tabla 6:8. Resultados operando el REE con seis recirculaciones con plantas.....	51
Tabla 6:9. Resultados operando el REE con ocho recirculaciones con plantas .....	52
Tabla 6:10. Constantes de formación para la transformación del amonio con plantas operando con 4 recirculaciones en el REE.....	54
Tabla 6:11. Constantes de formación para la transformación del amonio con plantas operando con 6 recirculaciones en el REE.....	55
Tabla 6:12. Constantes de formación para la transformación del amonio con plantas operando con 8 recirculaciones en el REE.....	55
Tabla 6:13. Datos obtenidos en el sistema por etapas (sin y con plantas) .....	61
Tabla 7:1. Coeficiente de variación para los puntos 1, 2 y 3 con 4 recirculaciones con plantas (amonio).....	62
Tabla 7:2. Coeficiente de variación para los puntos 1, 2 y 3 con 6 recirculaciones con plantas (amonio).....	62
Tabla 7:3. Coeficiente de variación para los puntos 1, 2 y 3 con 8 recirculaciones con plantas (amonio).....	63
Tabla 7:4. Concentraciones de amonio para cada recirculación con plantas .....	64
Tabla 7:5. Comparación estadística del REE s/c plantas operando con cuatro recirculaciones.....	64
Tabla 7:6. Comparación estadística del REE s/c plantas operando con seis recirculaciones.....	65
Tabla 7:7. Comparación estadística del REE s/c plantas operando con ocho recirculaciones.....	65
Tabla 7:8. Resultados para t de Student para cuatro recirculaciones s/c plantas.....	66
Tabla 7:9. Resultados para t de Student para seis recirculaciones s/c plantas .....	66
Tabla 7:10. Resultados para t de Student para ocho recirculaciones s/c plantas .....	67

---

## Índice de figuras

Figura 4:1. Reacción de transformación de amonio a nitritos .....	17
Figura 4:2. Reacción de transformación de nitritos a nitratos .....	17
Figura 4:3. Proceso de nitrificación en un humedal artificial de flujo vertical. ....	18
Figura 4:4. Ciclo del nitrógeno.....	20
Figura 5:1. Diagrama de la metodología experimental empleada .....	23
Figura 5:2. Entradas y salidas del REE .....	26
Figura 5:3. Dimensiones y geometría del reactor experimental empacado	30
Figura 6:1. Pruebas de llenado y vaciado del reactor experimental empacado .....	35
Figura 6:2. Disminución de oxígeno disuelto en el REE inundado.....	36
Figura 6:3. Dinámica de $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ $\text{NO}_3^-$ en el REE, periodo de arranque de 21 días	38
Figura 6:4. Dinámicas del $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ y D.Q.O. en el REE, periodo de arranque .....	39
Figura 6:5. Dinámicas del $\text{NH}_4^+$ , pH, Tem. y O.D en el REE, periodo de arranque.....	40
Figura 6:6. Dinámicas del $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ y $\text{NO}_3^-$ en el REE, periodo del día 21 al 56.....	41
Figura 6:7. Dinámicas del $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ y D.Q.O. en el REE periodo del día 21 al 56....	42
Figura 6:8. Dinámicas del $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ y $\text{NO}_3^-$ en el REE periodo del día 56 al 84.....	43
Figura 6:9. Dinámicas del $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ en el REE, periodo del día 86 al 128.....	44
Figura 6:10. Dinámica del $\text{NH}_4^+$ en el REE, cuatro, seis y ocho recirculaciones.....	45
Figura 6:11. Velocidad de degradación del amonio en el REE en la etapa de estabilización sin plantas .....	46
Figura 6:12. Constantes de degradación del amonio en el REE .....	47
Figura 6:13. Incorporación de especies vegetales al sistema.....	47
Figura 6:14. Dinámica del $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ y $\text{NO}_3^-$ en el REE c/ plantas (etapa de adaptación)	49
Figura 6:15. Comportamiento del amonio para cuatro recirculaciones con plantas.....	50
Figura 6:16. Comportamiento del amonio para seis recirculaciones con plantas .....	52
Figura 6:17. Comportamiento del amonio para ocho recirculaciones con plantas .....	53
Figura 6:18. Balance de materia para el REE operando con cuatro recirculaciones con microorganismos sin plantas .....	58
Figura 6:19. Balance de materia para el REE operando con seis recirculaciones con microorganismos sin plantas .....	58
Figura 6:20. Balance de materia para el REE operando con ocho recirculaciones con microorganismos sin plantas .....	58
Figura 6:21. Balance de materia para el REE operando con cuatro recirculaciones con microorganismos y con plantas .....	58
Figura 6:22. Balance de materia para el REE operando con seis recirculaciones con microorganismos y con plantas .....	59
Figura 6:23. Balance de materia para el REE operando con ocho recirculaciones con microorganismos y con plantas .....	60
Figura 7:1. Isotherma de Langmuir	80
Figura 7:2. Curva patrón para la determinación de nitratos .....	82
Figura 7:3. Curva patrón para la determinación de nitritos.....	84
Figura 7:4. Curva patrón para la determinación de nitrógeno amoniacal.....	86
Figura 7:5. Resultado del alineamiento de secuencias (BLAST: Basic Local Alignment Search Tool) obtenida del DNA proveniente de la bacteria nitrificante aislada. ....	86

---

### Índice de tablas (ANEXO A)

Tabla A:1. Composición del agua sintética.....	74
Tabla A:2. Solución de micronutrientes .....	74
Tabla A:3. Resultados para la curva de absorción .....	79
Tabla A:4. Contenido de nitrógeno y carbono .....	80
Tabla A:5. Equipo para la determinación de nitratos .....	82
Tabla A:6. Equipo para la determinación de nitratos.....	83
Tabla A:7. Lista de soluciones para determinar nitritos.....	83
Tabla A:8. Equipo para la determinación de nitrógeno amoniacal .....	85
Tabla A:9. Preparación de soluciones para determinar nitrógeno amoniacal .....	85

---

## 1. Resumen

El presente trabajo, contiene los resultados de la investigación realizada sobre el proceso de nitrificación en un reactor experimental empacado (REE) a escala laboratorio, el cual simula un sistema de pulimento en un humedal artificial. Entre los aspectos relevantes destaca la determinación de los criterios de diseño del sistema a nivel laboratorio, el material de empaque para el proceso, las condiciones de operación y el componente vegetal empleado, los cuales pueden ser considerados para un diseño a escala prototipo. Los parámetros fisicoquímicos que se consideraron para la evaluación del reactor experimental empacado fueron:  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ . Asimismo, se estudiaron las condiciones de operación como son: el número de recirculaciones del agua sintética dentro del REE, y los tiempos de residencia hidráulica y la presencia o no del componente vegetal. La información generada, se analizó mediante modelos generales linealizados los cuales permitieron establecer que en términos de operatividad, la altura de toma de muestra no es estadísticamente significativa, que la transformación del amonio y sus diferentes especies está en función del número de recirculaciones, y que la presencia de plantas no es significativa en el proceso de transformación de las diversas especies del amonio dentro del REE. Estos resultados fueron tratados mediante coeficientes de variación y una prueba *t de Student* a un intervalo de confianza del 95%, el cual permitió establecer que no existe significancia estadística entre el sistema operando sin plantas y con plantas, presentando porcentajes de remoción de 74.74 % en promedio en el sistema sin plantas y 72.97% en promedio con plantas. De tal forma que estos datos permiten establecer condiciones de operatividad favorables para la disminución en las concentraciones de las diferentes especies de amonio.

---

## 2. Introducción

En el país existen diversos tipos de tratamiento de aguas residuales, estos pueden ser lodos activados, lagunas de estabilización, discos biológicos, fosas sépticas etc. (SEMARNAT, 2008), en ellos, la remoción o mitigación de contaminantes nutrimentales como nitrógeno y fósforo (N, P) suele ser deficiente debido a la escases en las características de su diseño, por lo que las descargas de estos sistemas son depositados en algunas ocasiones en cuerpos de agua promoviendo diversos daños en sus inmediaciones, esto aunado a las descargas sin tratamiento. La remoción de nitrógeno total ( $N_T$ ) no supera el 50% en este tipo de sistemas, lo cual indica que la descarga de estas aguas residuales parcialmente tratadas contienen concentraciones de N (cuyos valores promedio, en los sistemas de tratamiento biológico aerobios convencionales, para nitrógeno total y nitratos son de 22 mg/L y 17 mg/L, respectivamente) que aún impactan en forma negativa el equilibrio ecológico de los cuerpos acuáticos receptores (Aburto, 2009). Esto es debido a que normalmente, los sistemas de tratamientos biológicos aerobios convencionales (STBAC) están concebidos para que remuevan principalmente materia orgánica y sólidos suspendidos. Particularmente, la nitrificación es un fenómeno que, por lo general ocurre posterior a la remoción de materia carbonosa, y se ve favorecido cuando existen concentraciones suficientes de oxígeno disuelto en el agua.

Debido a que el nitrógeno es esencial para el crecimiento biológico, recibe el nombre de nutriente o bioestimulante. Otros elementos como el hierro también son necesarios para el crecimiento biológico, pero el nitrógeno es uno de los nutrientes más importantes, ya que este último es esencial para la síntesis de proteínas, por lo que es necesario conocer la información sobre la concentración de este a la hora de evaluar la tratabilidad del agua residual mediante procesos adecuados.

El nitrógeno (N), es uno de los principales contaminantes de las aguas residuales domésticas crudas o tratadas por los métodos convencionales antes mencionados. Los compuestos asociados al N al llegar a los cuerpos de agua, en concentraciones superiores a 5 mg/L de nitrógeno total ( $N_T$ ) (Kantawanichkul *et al.*, 2001), crean problemas de toxicidad para algunos organismos acuáticos, así como cambios no deseables en ese tipo de ecosistemas. Un claro ejemplo de esto es la eutrofización de los lagos y de los embalses naturales y artificiales (Drizo *et al.*, 2000). La eutrofización es el proceso de cambio de un estado trófico a otro de nivel superior por adición de nutrientes.

---

El nitrógeno amoniacal existe en solución acuosa tanto en forma de ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) como en forma de amoniaco ( $\text{NH}_3$ ), dependiendo del pH de la solución. Si el valor de pH supera a 9.3, predomina el amoniaco, mientras que para valores por debajo de 9,3 existe un predominio de la concentración del ion amonio (Burrell *et al*, 1998; Hanaki *et al*, 1990).

El nitrógeno en forma de nitrito es un indicador de contaminación, rara vez su concentración excede 1 mg/L en agua residual y 0.1 mg/L en agua superficial o subterránea. A pesar de sus concentraciones tan bajas, los nitritos son de suma importancia en el estudio de aguas residuales ya que son altamente tóxicos para muchos peces y otras especies acuáticas en concentraciones por encima de los 2 mg/L (Holt, 1999). El nitrógeno en forma de nitrato, es la especie química del nitrógeno más oxidada que se encuentra en las aguas residuales. Cuando un efluente es recuperado para su inyección en mantos acuíferos la concentración de nitratos es importante. Debido a las normas que ha fijado la USEPA, la concentración de nitratos para consumo no debe rebasar su valor límite de 45 mg/L como  $\text{NO}_3^-$  (nitrato) dadas sus graves consecuencias sobre la población infantil, ya que promueve una enfermedad llamada metahemoglobinemia (Holt, 1999). La concentración de nitratos en aguas residuales tratadas puede variar desde 2 a 30 mg/L, dependiendo del grado de nitrificación y desnitrificación del tratamiento.

Dado estos antecedentes, la propuesta del presente trabajo es la del diseño y operación de un reactor experimental empacado (REE) que simulará un humedal artificial el cual se empleará como un pos-tratamiento donde las concentraciones excedan las concentraciones antes mencionadas para amonio, nitratos y nitritos y se permita evaluar la capacidad nitrificante, con lo cual se obtendrá información que permitan mejorar la calidad de los efluentes secundarios y disponer de ellos para diferentes actividades, tal como la descarga para protección de vida silvestre (NOM-001-SEMARNAT-1996), o en su defecto, reincorporarlo al subsuelo con el fin de recargar los mantos acuíferos (Crites y Tchobanoglous, 2005).



---

## 2.1 Justificación

Dentro de los principales problemas ambientales asociados a la contaminación por nitrógeno en los ecosistemas acuáticos son la acidificación de ríos y lagos con baja o mínima alcalinidad, la eutrofización de las aguas dulces y marinas y una toxicidad directa de los compuestos nitrogenados como el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), el ácido nitroso ( $\text{HNO}_2^+$ ), los nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ), y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) para las especies acuáticas (Byström *et al.*, 2000). Además, los efectos sobre la salud humana por nitrógeno inorgánico podrían inducir efectos perjudiciales. En la calidad del agua, se considera que niveles máximos de nitrógeno total disuelto dentro del rango 0,5-1,0 mg/L podrían ser convenientes para evitar la presencia de procesos de acidificación y eutrofización en los ecosistemas acuáticos por acción del nitrógeno y, al mismo tiempo, proteger a las especies acuáticas de los efectos tóxicos de los compuestos nitrogenados (Drizo *et al.*, 2000).

En el mismo sentido, la Norma Oficial Mexicana 001 que emitió la SEMARNAT, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, en ella se señala al nitrógeno total ( $\text{N}_T$ ) como un contaminante básico (SEMARNAT, 1996), por tal razón, es importante removerlo mediante diversos tratamientos. En los efluentes procedentes de los sistemas de tratamiento biológicos secundarios, la remoción es baja e insuficiente. Por lo anterior, es necesario mejorar la calidad de los efluentes en dichos sistemas, y evaluar la capacidad nitrificante en un reactor experimental empacado (REE) proponiendo, en éste, un diseño que permita manejar las condiciones de operación.

Dicho diseño, podrán permitir optimizar los efluentes de sistemas biológicos (lodos activados, lagunas de estabilización, discos biológicos, fosas sépticas y humedales artificiales), para lograr una mejora en la calidad de agua teniendo un mayor control en la operación de los sistemas mediante la investigación en factores tanto hidráulicos como físicos, químicos y biológicos que intervienen en el proceso de remoción de este contaminante.

---

## **3. Objetivos e Hipótesis**

### **3.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto del tiempo de contacto sobre la capacidad nitrificante en un reactor experimental empacado con grava sílica y que opera como un pos-tratamiento de un humedal artificial empleando una calidad de agua que simula las condiciones de un efluente de tratamiento biológico secundario.

### **3.2 Objetivos particulares**

Diseñar y construir un REE con capacidad para la nitrificación de agua con una calidad similar a la de un efluente de tratamiento biológico secundario, enriquecida con amonio.

Evaluar la capacidad de nitrificación de un REE alimentado de manera intermitente, modificando los tiempos de contacto y el número de recirculaciones por día.

Comparar los porcentajes de nitrificación en presencia y ausencia del componente vegetal (*Arundo donax*) en el REE.

### **3.3 Hipótesis**

Es posible inducir y favorecer el proceso de la nitrificación en un reactor experimental empacado modificando sus características de diseño y el manejo apropiado de sus condiciones operativas.

### **3.4 Alcances**

El reactor estará empacado con grava sílica y se operará como un pos-tratamiento de un humedal artificial. El agua simulará las condiciones de un efluente de tratamiento biológico secundario y se usarán plantas que permitan observar si es que existe un aporte en el sistema.

---

## 4. Marco teórico

### 4.1 Problemática de las aguas residuales en México con presencia de nitrógeno y fuentes promotoras de contaminación por nitrógeno

Las fuentes de contaminación por nitrógeno en suelos y aguas (superficiales y subterráneas), aunque pueden ser muy diversas, se asocian mayoritariamente a actividades agrícolas y ganaderas; aunque en determinadas áreas, también pueden aparecer asociadas a ciertas actividades industriales, especialmente las relacionadas con el sector agrícola. Las descargas que se derivan de actividades agrícolas y ganaderas, conocidas como fuentes no puntuales o difusas, se caracterizan por una gran cantidad de puntos de entrada de la contaminación en el cuerpo de agua y por la dificultad que supone hacer una localización precisa de las zonas donde se produce la entrada de los contaminantes. No obstante, también existe una contaminación por nitrógeno de tipo puntual. En este caso la fuente de contaminación es más fácil de identificar ya que se suelen localizar en zonas de extensión restringida y frecuentemente se asocian con vertidos urbanos o industriales (Crites y Tchobanoglous, 2005).

La consecuencia de los compuestos nitrogenados y de otros contaminantes presentes en las descargas, tales como materia orgánica, ortofosfatos, microorganismos indeseables, entre otros, provocan que en el país casi el 40% de las aguas superficiales estén, de contaminadas a fuertemente contaminadas. Dicha categoría sólo contempla, de acuerdo con las Estadísticas del Agua en México (CONAGUA, 2007), la contaminación por materia carbonosa, medida como DQO, la cual señala que concentraciones mayores a 40 mg DQO/L es tipificada como contaminada y a valores de más de 200 mg DQO/L está definida como fuertemente contaminada. Desafortunadamente, en el país no se cuenta con bases de datos más completas en dichos embalses para otro tipo de contaminantes. Esta situación hace difícil establecer un análisis confiable sobre los efectos y consecuencias que trae consigo la presencia de otros contaminantes, como es el caso de los compuestos nitrogenados.

Asimismo, en los ambientes acuáticos, un factor adicional de contaminación es la descarga de aguas residuales, ya que el exceso de sustancias nitrogenadas contenidas aumenta el crecimiento de organismos acuáticos, al punto que deterioran la calidad del agua y disminuyen los niveles de oxígeno. Además, dificultan la incidencia de la radiación solar por debajo de la superficie, con lo que producen una disminución de la capacidad autodepuradora del medio y una merma en la actividad

---

fotosintética de los organismos (Ramírez, 2010). Estos factores afectan el metabolismo y crecimiento de otras especies que requieren oxígeno, causando una condición conocida como hipoxia (menos de 2 mg O<sub>2</sub>/L en el medio) (Crites y Tchobanoglous, 2005). En la Tabla 4:1 se muestran las principales fuentes de nitrógeno en cuerpos de aguas superficiales y subterráneas.

En este sentido, en México, el principal uso del recurso hídrico es el agrícola, con el 72% de la extracción total para los principales usos, es decir, agricultura, industria y abastecimiento público (CONAGUA, 2008). En los últimos años la agricultura ha utilizado una mayor cantidad de fertilizantes, por lo que las descargas por riego han contaminado los suelos y mantos freáticos. La contribución exacta de la agricultura a la eutrofización del agua superficial y a la contaminación de las aguas subterráneas es difícil de cuantificar. México, ocupa el sexto lugar a nivel mundial en superficie con infraestructura de riego (SEMARNAT, 2008), debido a esta situación, los cuerpos de agua cercanos a las zonas de riego han sufrido mayores descargas con dichos nutrimentos. Adicionalmente, los fertilizantes, están asociados directamente al fenómeno de eutrofización de los cuerpos receptores naturales de agua y tiene como consecuencia un incremento prolífico de algas provocando el incremento en la turbidez del agua como se había mencionado con anterioridad (Scholten *et. al*, 2005).

Los síntomas y efectos de la eutrofización son los siguientes:

- Aumento de la producción y biomasa de fitoplancton, algas asociadas y macrofitas.
- Modificación de las características del hábitat debida a la transformación del conjunto de plantas acuáticas.
- Producción de toxinas por determinadas algas.
- Aumento de los costos de operación de los sistemas públicos de abastecimiento de agua, además de problemas de sabor y olor, especialmente durante los períodos de proliferación de algas.
- Desoxigenación del agua, principalmente al finalizar las situaciones de proliferación de algas, lo que normalmente da lugar a una mortandad de peces.
- Colmatación y obstrucción de los canales de riego por las malas hierbas acuáticas (el jacinto acuático o lirio puede presentar problemas de azolvamiento).
- Reducción de la posibilidad de utilización del agua para fines recreativos, debido al lodo, infestación de malas hierbas y olores molestos producidos por la descomposición de las algas.

- 
- Impedimentos a la navegación debido al crecimiento de densas masas de malas hierbas.
  - Pérdidas económicas debidas a la modificación de las especies ícticas, mortandad de peces, etc.

La comprensión de las diferentes rutas de remoción de nitrógeno de las aguas contaminadas es necesaria para modificar la operación de sistemas convencionales con el fin de favorecer aquellos mecanismos que permitan incrementar las tasas de remoción y mejorar la calidad de los efluentes.

#### 4.2 Toxicidad de las sustancias nitrogenadas

Dentro de los principales problemas ambientales que se encuentran asociados al nitrógeno en ecosistemas acuáticos se tienen: (1) acidificación de ríos y lagos con baja o mínima alcalinidad; (2) eutrofización de aguas dulces y marinas (con el problema adicional de las algas tóxicas) y (3) toxicidad directa de los compuestos nitrogenados ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{HNO}_2^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) para los animales acuáticos (Byström *et al.*, 2000). Como se había mencionado con anterioridad, con base a diferentes criterios en la calidad del agua, es considerado que niveles máximos de nitrógeno total disuelto dentro de un intervalo de 0.5-1.0 mg/L son adecuados para evitar la existencia de procesos de acidificación y eutrofización en ecosistemas acuáticos por acción del nitrógeno y, al mismo tiempo, proteger especies acuáticas de los efectos tóxicos de sustancias nitrogenadas. Los animales acuáticos están mejor adaptados a niveles relativamente bajos de nitrógeno inorgánico. Por tal motivo, concentraciones anormalmente elevadas de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  pueden reducir la habilidad de esos animales para sobrevivir, crecer y reproducirse, resultando una toxicidad directa la presencia de tales compuestos nitrogenados (Drizo *et al.*, 2000).

En particular, el amoníaco ionizado o ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y el amoníaco no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) se encuentran estrechamente relacionados a través del equilibrio químico del  $\text{NH}_4^+$ . Las concentraciones relativas de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NH}_3$  dependen básicamente del pH y de la temperatura del agua (Hommes *et al.*, 1998). A medida que los valores de pH y temperatura aumentan, la concentración de  $\text{NH}_3$  también aumenta, pero la concentración de  $\text{NH}_4^+$  disminuye. El amoníaco no ionizado es muy tóxico para las especies acuáticas, en especial para los peces, mientras que el ión amonio es apreciablemente mucho menos tóxico. La acción tóxica de  $\text{NH}_3$  puede ser atribuida a una o más de las siguientes causas: (1) destrucción del epitelio branquial; (2) estimulación de la glucólisis y supresión del ciclo de Krebs (también conocido como el

ciclo del ácido cítrico); (3) inhibición de la producción de ATP y reducción de sus niveles; (4) alteración de la actividad osmorreguladora y (5) disrupción del sistema inmunológico (Hommes *et al.*, 1998).

Las concentraciones relativas de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{HNO}_2$  dependen básicamente del pH del agua (Kadlec, 2003). A medida que el valor de pH aumenta, la concentración de  $\text{NO}_2^-$  también puede incrementar, pero la concentración de  $\text{HNO}_2$  disminuye. Tanto el ión nitrito como el ácido nitroso son bastante tóxicos. Sin embargo, debido a que en los ecosistemas acuáticos la concentración de  $\text{NO}_2^-$  suele ser mucho mayor que la concentración de  $\text{HNO}_2$ , los iones nitrito son considerados los principales responsables de la toxicidad para los animales, Tabla 4:1.

**Tabla 4:1. Fuentes de sustancias nitrogenadas contaminantes en cuerpos de agua superficiales y subterráneos**

Origen	Sustancias	Procedencia		
Antropogénico	$\text{NO}_3^-$ $\text{NH}_4^+$ $\text{NO}_x$	Contaminación atmosférica (lluvia ácida)		
		Fertilizantes nitrogenados	Origen natural	
			Origen artificial	
		Residuos orgánicos de concentraciones ganaderas estabuladas		
		Lodos provenientes de plantas de tratamiento		
		Compostaje		
		Vertidos de aguas residuales		
		Vertidos de efluentes de actividades industriales	Producción de fertilizantes	
			Elaboración de cerámicas	
		Vertederos no controlados (lixiviados)		
No antropogénico	$\text{NH}_4^+$	Origen natural y presente en el agua de lluvia		
		Procesos de escorrentía e infiltración en praderas y bosques quemados		
	$\text{NH}_3^+$	Emisiones a la atmósfera provenientes del uso de combustibles fósiles y fertilizantes		
	$\text{NO}_3^-$	Productos de la nitrificación		
	$\text{NO}_2^-$			

Fuente: Ramírez, 2010

Respecto a la toxicidad en seres humanos, las sustancias asociadas al N, el amonio en especial, en presencia de cloro en el agua de consumo, puede contribuir a la formación de cloraminas ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ), que son potencialmente cancerígenas. Por su parte, la ingesta de agua con contenidos de nitritos o nitratos puede disminuir el transporte

---

de oxígeno por la hemoglobina de la sangre, contraer la producción de las hormonas tiroideas y aumentar la producción de nitrosaminas ( $R_1N[-R_2]NO$ ), las cuales son sustancias relacionadas con el cáncer y que pueden provocar daños cerebrales y posibles riesgos de muerte (Bojórquez y Amaro, 2003). Esta enfermedad, conocida como metahemoglobinemia, implica mayores riesgos para los recién nacidos ya que el sistema de actividad enzimática que reduce la metahemoglobina es más bajo y el pH en el estómago e intestino es mayor que el de los adultos. Un pH mayor promueve la actividad bacteriana que conlleva a una reducción de nitrato a nitrito. En el caso de los infantes, es conocida como cianosis infantil o síndrome del bebé azul (Holt, 1999).

El problema de los nitratos radica en que pueden ser reducidos a nitritos en el interior del organismo humano, especialmente en los niños de menos de tres meses de edad y en adultos con ciertos problemas. Los nitritos producen la transformación de la hemoglobina a metahemoglobina. La hemoglobina se encarga del transporte del oxígeno a través de los vasos sanguíneos y capilares, pero la metahemoglobina no es capaz de captar y ceder oxígeno de forma funcional. La cantidad normal de metahemoglobina no excede el 2%. Entre el 5 y el 10% se manifiestan los primeros signos de cianosis. Entre el 10 y el 20% se aprecia una insuficiencia de oxigenación muscular y por encima del 50% puede llegar a ser mortal (Organización Mundial de la Salud). Una vez formados los nitritos, pueden reaccionar con las aminos, sustancias ampliamente presentes en nuestro organismo, originando las nitrosaminas, un tipo de compuestos que desencadena condiciones cancerígenas. En las experiencias de laboratorio se ha comprobado que alrededor del 75 % de ellas pueden originar cánceres hepáticos y, aunque con menor frecuencia, también de pulmón, estómago, riñones, esófago y páncreas. También se ha podido constatar que existe una correlación directa entre el consumo de alimentos o aguas con exceso de nitratos y los cánceres gástricos y entre el trabajo en las fábricas de abonos químicos y dichos cánceres (Prescott *et al.*, 2004).

#### **4.3 Legislación nacional e internacional para especies del nitrógeno**

En la República Mexicana, la concentración de nitrógeno total en sus aguas superficiales (embalses y cuerpos naturales y artificiales) supera en bastantes casos el límite máximo de 40 mg/L establecido por la normatividad vigente (Diario Oficial de la Federación, 2007). Esta situación es debida, principalmente, a las elevadas dosis de fertilizantes nitrogenados empleados, muy superiores a las necesidades de los cultivos. Es conocido que las plantas aprovechan únicamente un 50% del nitrógeno

---

aportado en el abonado, esto supone que el exceso de nitrógeno se pierde, generalmente lavado del suelo, hacia el agua que se filtra al subsuelo. Éste, a su vez, es arrastrado hacia los acuíferos, ríos y embalses, contaminando, por tanto, las aguas destinadas a la preservación de la vida silvestre y para el consumo humano (Drizo *et al.*, 2000).

Como consecuencia de los compuestos nitrogenados y de otros contaminantes presentes en las descargas, tales como materia orgánica, ortofosfatos, microorganismos indeseables, entre otros, provocan que en México casi el 40% de las aguas superficiales esté de contaminada a fuertemente contaminada. Dicha categoría sólo considera, de acuerdo con las Estadísticas del Agua en México (CONAGUA, 2010), la contaminación por materia carbonosa, medida como DQO, la cual señala que concentraciones mayores a 40 mg DQO/L es tipificada como contaminada y a valores de más de 200 mg DQO/L está definida como fuertemente contaminada. Desafortunadamente, en el país no se cuenta con bases de datos más completas en dichos embalses para otro tipo de contaminantes. Esta situación hace difícil establecer un análisis confiable sobre los efectos y consecuencias que trae consigo la presencia de otros contaminantes, como es el caso de las sustancias nitrogenadas.

Ante esta problemática, es necesaria la implementación de diversas acciones con el fin de detener el proceso de deterioro que sufren los distintos cuerpos de agua en México por presencia de los diferentes contaminantes. Una de las más importantes, además de la elaboración de un censo que cuantifique el grado de contaminación de los embalses, es la definición y establecimiento de las leyes relativas para todos aquellos contaminantes que no están considerados en las normas mexicanas. Cabe resaltar que el único parámetro asociado al N, es el nitrógeno total ( $N_T$ ), el cual, según la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, estipula como límite máximo permisible una concentración promedio mensual de 15 mg/L para descargas en ríos y embalses destinados a la protección de vida acuática (Diario Oficial de la Federación, 1997). Asimismo, la Ley Federal de Derechos en Materia de Agua (CONAGUA, 2002), estipula que el límite máximo permisible para el  $N-NH_4^+$  es de 0.06 mg/L, en aguas susceptibles de ser descargadas en cuerpos receptores destinados para la protección de la vida acuática en agua dulce. En comparación las normas internacionales establecen para el N, como  $N-NH_4^+$ , valores comprendidos entre 0.5 y 1 mg/L (Tabla 4:2).



**Tabla 4:2 Comparación de sustancias de nitrógeno con 3 normas de protección de vida acuática (valores promedio, con mínimos y máximos medidos)**

Parámetro (mg/L)	NOM-001-ECOL-SEMARNAT-1996. Protección de vida acuática. Promedio mensual. (México)	Directiva 2006/44/CE, relativa a la calidad de las aguas continentales que requieren protección para ser aptas para la vida de los peces (Comunidad Económica Europea)	Recomendación Nacional Actual sobre Criterios de Calidad del Agua. Descarga en lagos para la protección de vida acuática. Región XIII (Estados Unidos de América)
N-NH <sub>4</sub>	No es aplicable*	<1	<0.5
N-NO <sub>3</sub>	No es aplicable	<0.3	<0.5
N-NO <sub>2</sub>	No es aplicable	<0.09	<0.05

\*La norma mexicana especifica al nitrógeno como nitrógeno total (NT) y establece un valor límite máximo permisible de 15 mg/L.

### 4.3 Alternativas de tratamiento de agua

Debido al deterioro ambiental en ambientes acuáticos, es necesario recurrir a nuevas técnicas que permitan prevenir y controlar su degradación y con esto la mejora de la calidad de vida. Tal opción se presenta en el buen manejo de los cuerpos de agua. Actualmente los sistemas de tratamiento de agua están solo diseñados para la remoción de materia orgánica del tipo carbonoso y la minimización de microorganismos de origen entérico, logrando depositar cantidades altas de nitrógeno y fósforo. La existencia de este tipo de compuestos origina el fenómeno de eutrofización dándose a notar por el enverdecimiento del agua debido a la presencia de microalgas, esto, aunado a otros factores, provocan limitaciones para el uso del agua en diversas actividades. Existen diversos tipos de tratamientos de aguas, tanto para potabilizarlas, como para tratar las residuales. Dado que las exigencias en la calidad del agua se basan en la aplicación para el consumo humano y animal estas dos comparten diferentes y variadas opciones.

Los sistemas de tratamiento más comunes incluyen: los biológicos (aerobios o anaerobios, lodos activados entre otros). Pero todos estos procesos conllevan grandes consecuencias como altos costos en arranque y operación, subproductos que requieren otro tipo de tratamiento, constante mantenimiento, supervisión continua y operadores capacitados para su buen rendimiento (Luna y Ramírez, 2009)

Una de las opciones para la depuración de cuerpos de agua contaminados lo representan los humedales artificiales (HA) ésta es una ecotecnología basada en humedales naturales que permite tratar aguas residuales de manera sustentable, los HA poseen ventajas que los hace técnica y económicamente atractivos, estos sistemas brindan ciertos beneficios tales como la obtención de agua tratada con calidad acorde con normatividad nacional e internacional, los costos de diseño, operación y mantenimiento resultan menores que otros sistemas de tratamiento, así

---

como una fácil disposición en sus subproductos tales como plantas del tipo forrajero y ornato. Los HA se describen típicamente por la posición de la superficie de agua y/o el tipo de vegetación presente. De acuerdo con la USEPA (2003), la mayoría de los humedales naturales son sistemas de flujo libre superficial en los cuales el agua está expuesta a la atmósfera; estos incluyen a los fangales (principalmente con vegetación de musgos), las zonas pantanosas (principalmente de vegetación arbórea), y las praderas inundadas (principalmente con vegetación herbácea y plantas macrofitas emergentes).

Un humedal artificial de flujo subsuperficial está diseñado específicamente para el tratamiento de algún tipo de agua residual, o su fase final de tratamiento, y está construido típicamente en forma de un lecho o canal que contiene un medio de soporte apropiado como es la grava que es el medio más utilizado en algunos países, aunque también se ha utilizado roca triturada, arena y otro tipo de materiales del suelo. El medio se planta normalmente con los mismos tipos de vegetación emergentes presentes en las praderas inundadas y, por diseño, el nivel del agua se mantiene por debajo de la superficie del medio. Las principales ventajas de mantener un nivel subsuperficial del agua son la prevención de mosquitos, malos olores y la eliminación del riesgo de que el público entre en contacto directo con el agua residual parcialmente tratada, en contraste con los pantanales naturales y en los humedales artificiales de flujo libre superficial. Así también, los humedales son áreas que se encuentran saturadas por aguas superficiales o subterráneas con una frecuencia y duración tales, que sean suficientes para mantener condiciones saturadas. Suelen tener aguas con profundidades inferiores a los 60 cm con plantas emergentes como carrizos y juncos. La vegetación proporciona superficies para la formación de películas bacterianas (biopelículas) que facilita la adsorción y filtración de los constituyentes de agua residual, permite la transferencia de oxígeno a la columna de agua y controla el crecimiento de algas al limitar la penetración de luz solar (Ramírez, 1998).

Los humedales tienen tres funciones básicas que los hacen tener un atractivo potencial para el tratamiento de aguas residuales, y son las siguientes:

- Fijar físicamente los contaminantes en la superficie del suelo y la materia orgánica.
- Utilizar y transformar los elementos por intermedio de los microorganismos y
- Lograr niveles de tratamiento que permitan un bajo consumo de energía y bajo costo en el mantenimiento.

---

Sin embargo, y a pesar de las bondades y ventajas de los HA, su construcción en México aún ha sido insuficiente, ya que actualmente sólo se cuenta con un porcentaje menor al 7% de sistemas instalados de este tipo del total de plantas de tratamiento de aguas residuales que operan en el país debido a su baja difusión (Luna y Ramírez, 2009).

Esencialmente los diversos diseños de los HA están enfocados al tratamiento de aguas residuales de pequeñas poblaciones. Sin embargo, actualmente se están llevando a cabo estudios con el fin de encontrar tratamientos que permitan regenerar aguas con otros tipos de contaminantes como hidrocarburos, metales pesados o plaguicidas (Luna y Ramírez, 2009).

#### **4.5 Proceso de la nitrificación en humedales artificiales (HA)**

La remoción de compuestos nitrogenados constituye un problema que no ha sido suficientemente abordado en los HA. Los porcentajes de remoción obtenidos en los sistemas actualmente construidos no superan el 50% (Bayley *et al.*, 2003; Hibiya *et al.*, 2003; Kuschik *et al.*, 2003; Pauwels y Talbo, 2004; Ramírez, 1998). Los principales mecanismos de transformación de compuestos nitrogenados en los HA, en orden de importancia, son la nitrificación, seguida de la desnitrificación microbiológica, la adsorción-fijación por parte de las plantas y la volatilización del nitrógeno amoniacal hacia la atmósfera (Gerke *et al.*, 2001; Mayo y Bigambo, 2005). Algunos autores como Braskerud (2002) y Stein *et al.* (2003) mencionan que el efecto por parte de las plantas para la captación del  $N_T$ , ocurre preferentemente en la zona radicular (constituida por las raíces y rizomas) y, en menor medida, en el tallo. En este sentido, hay reportes que indican que las plantas del tipo *Phragmites australis* y *Typha latifolia*, dos de las especies más comúnmente utilizadas en este tipo de sistemas, son capaces de retener hasta un 30% del total de  $N_T$  que se remueve en un HA (Ramírez, 2010).

Es importante destacar que el principal factor para que se lleve a cabo la nitrificación es que exista la suficiente disponibilidad de oxígeno en el medio para que los microorganismos lleven a cabo la metabolización. Tanner y Kadlec (2003) y Stein *et al.* (2003) señalan que el ambiente que mayoritariamente prevalece en los HA de flujo horizontal es el de tipo anaerobio, como consecuencia de que los sistemas, por lo general, se encuentran inundados y a que el influente, por su grado de contaminación, contiene bajas disponibilidades de oxígeno. De estos sistemas, se considera que los HA de flujo vertical facilitan una mayor oxigenación del medio; como resultado de que, al momento de la irrigación al lecho, el influente se encuentra más expuesto al

---

contacto con el aire atmosférico y a que no siempre presentan una inundación permanente dentro de su medio de soporte (Gervin y Brix, 2001; Mander *et al.*, 2003). Beavers y Tully (2005) y Arheimer y Wittgren (2002) mencionan que los tres principales fenómenos que permiten el transporte de oxígeno al medio de soporte son la convección, la difusión y el aporte por medio de las raíces y rizomas de las plantas (frecuentemente también considerada como otra forma combinada de convección-difusión).

Específicamente, la convección es producida cuando el sistema se alimenta de manera intermitente. Si el agua que originalmente permanecía dentro del HA abandona rápidamente el sistema por la parte inferior, se provoca un gradiente de presión entre la zona interna y la atmósfera circundante superficial del sistema. Este hecho genera una succión de aire fresco hacia el interior del medio de soporte. Varios autores señalan que la relación de carga hidráulica (RCH) es la variable de mayor relevancia en el fenómeno de convección, y que existe entre aquella y el volumen de oxígeno que se puede transferir al medio una relación directamente proporcional (Rousseau *et al.*, 2004; Tanner y Kadlec, 2003). Lo anterior supone que mientras mayor sea la RCH, mayor será la tasa de oxigenación al sistema y que, por lo tanto, el volumen de aire que ingrese será igual al volumen de efluente líquido que se desaloje. Esto será cierto siempre y cuando la columna de agua se encuentre libre de barreras físicas. No obstante, dentro del HA, el medio de soporte y la densidad de la zona radicular imponen una barrera para que el aire se transporte desde la superficie hasta la base del lecho. Asimismo, dicho volumen o espacio poroso del HA no será constante, ya que sufrirá una reducción gradual a lo largo del tiempo, por efecto del azolvamiento de los contaminantes no transformables que ingresen a él.

#### **4.6 Principales organismos que intervienen en la nitrificación**

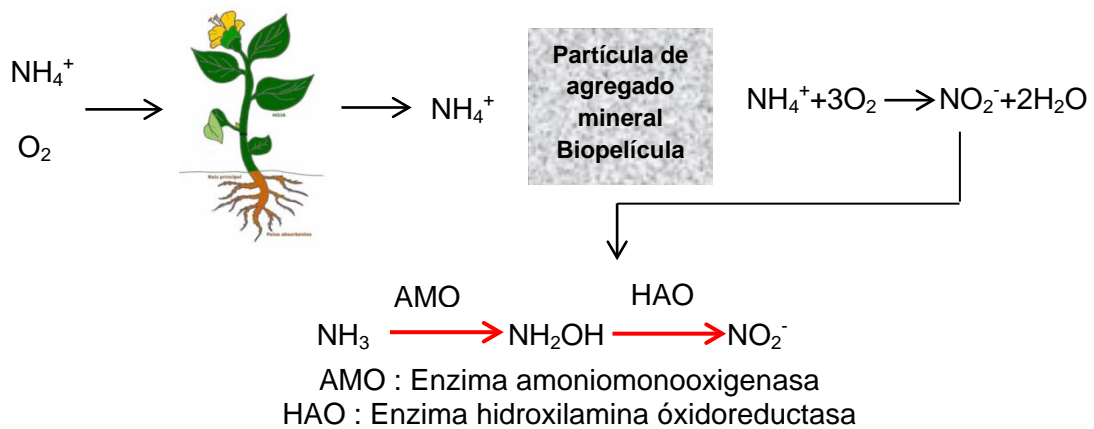
En los HA, los microorganismos presentan una función fundamental para la transformación de los contaminantes. En sistemas como los HA se pueden encontrar bacterias, levaduras, hongos, protozoos y algas. La actividad de todos, es el principal responsable en la transformación de una gran cantidad de C y N orgánico, así como de sustancias inorgánicas (Truu, 2009). La comunidad microbiana en los HA está constituida principalmente por poblaciones de microorganismos, autóctonos o propios del sistema y los alóctonos (organismos ajenos a un sistema o lugar de origen) provenientes del influente al sistema (Faulter *et al.*, 2009). Particularmente, los microorganismos autóctonos se adaptan metabólicamente a las condiciones que

---

dominan en él HA, regulando y facilitando su actividad de tal forma, que hace posible la supervivencia y desarrollo de estos organismos para dar como resultado los procesos de depuración. En contraste, los microorganismos alóctonos, los cuales incluyen organismos patógenos contenidos en aguas residuales, por lo general, no logran sobrevivir debido a las condiciones que prevalecen en el sistema (Vymazal, 2009). En los HA se denotan las distintas zonas de actividad microbiana, ya que se pueden encontrar desde condiciones aerobias en zonas cercanas a la superficie y próximas a las raíces de las plantas, mientras que en el fondo se mantienen condiciones netamente anaerobias (Krasnits *et al*, 2009).

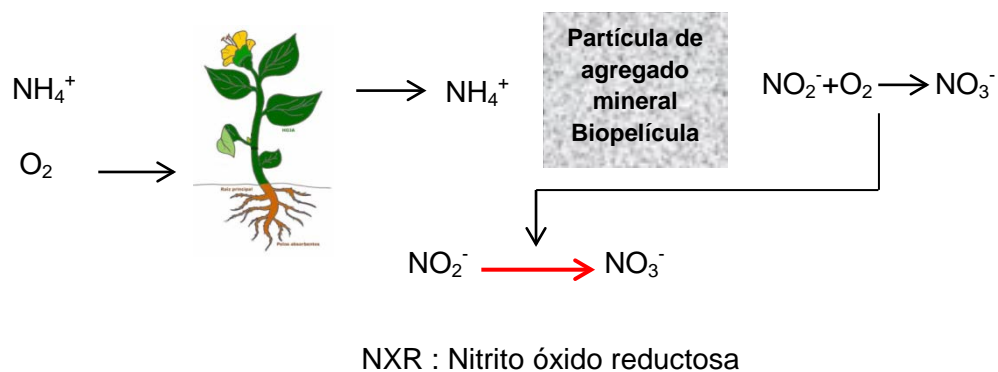
No obstante, es factible encontrar bacterias facultativas, las cuales son capaces de actuar bajo ambas condiciones en respuesta a posibles cambios operativos y ambientales en el sistema. En este sentido, las poblaciones microbianas se adecuan relativamente rápido a los cambios dentro del agua con la cual se alimenta al sistema. Generalmente, las poblaciones de microorganismos pueden adaptarse rápidamente al sistema siempre y cuando estén presentes los sustratos y energía necesaria para su desarrollo. Cuando las condiciones ambientales no son favorables, gran parte de los microorganismos se inactivan y continúan así por largo tiempo. Por ello, la biomasa microbiana en su fracción heterótrofa o autótrofa, es una buena indicadora para evaluar el proceso de degradación en los HA, ya que puede ser limitada o estimulada por la disponibilidad de sustrato. Si las fuentes son ricas en sustancias orgánicas biodegradables, se favorecerá la presencia de microorganismos heterótrofos; por el contrario, si existen fuentes de material inorgánico (C, N y P) se alentará la presencia de organismos autótrofos en él HA. Ciertos procesos microbianos son extremadamente sensibles al pH de las aguas residuales. Un pH óptimo para la nitrificación se ubica entre 7 y 8 (Paredes *et al.*, 2007). La temperatura desempeña también un papel regulador en la activación y desactivación de diversos procesos microbianos en los HA tal como sucede con la nitrificación que se inhibe generalmente a los 5°C. Cabe resaltar que los organismos encargados de oxidar el amonio, crecen con mayor rapidez a una temperatura de 15°C; mientras que a temperaturas de 25°C se favorecen los organismos oxidadores de nitritos (Sirivedhin, 2006). En este sentido, los factores ambientales determinan en gran medida la dinámica de las poblaciones bacterianas, otro ejemplo de esto es la diversidad microbiana a lo largo del lecho filtrante, la cual decrece en forma proporcional a la profundidad del lecho filtrante (Truu, 2009).

Existen diversos organismos que son capaces de utilizar amoníaco como fuente de energía, y para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron bacterias oxidadoras de amonio provenientes de la planta de tratamientos de aguas residuales de Ciudad Universitaria como se indica en el trabajo de Aburto (2011). En este sentido las bacterias que se aislaron, bioestimularon y bioaumentaron fue la especie de ***nitrosomonas europea*** para la oxidación del amonio, mientras que para la oxidación de los nitritos fue la especie ***nitrobacter*** obtenida del mismo lugar de muestreo. En las siguientes figuras (4.1 y 4.2), se puede observar la transformación en la cual están presentes organismos transformadores de amonio.



**Figura 4:1. Reacción de transformación de amonio a nitritos**

Es sumamente importante mencionar que la oxidación del amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) a hidroxilamina como producto intermedio ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ), es catalizada por la enzima amoniomonooxigenasa (AMO). Y la hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) a Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) es llevada a cabo por la enzima Hidroxilamina óxidoreductasa (HAO), la cual es sintetizada por el gen hao (Bellucci, 2011), esto puede observarse en la Figura 4:1.

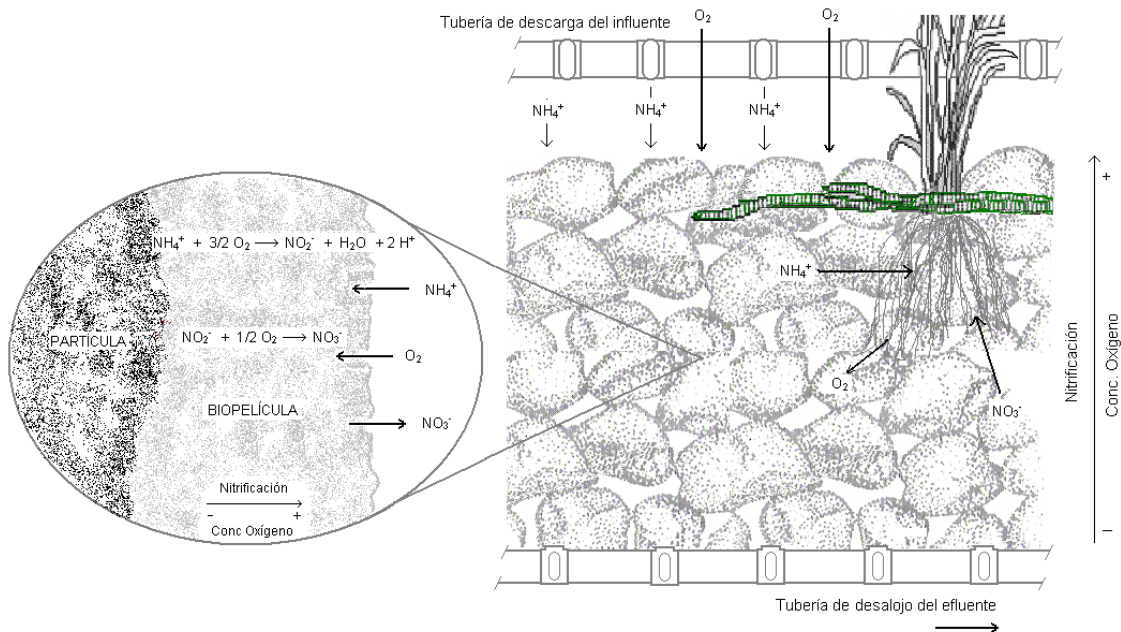


**Figura 4:2. Reacción de transformación de nitritos a nitratos**

Mientras que la fase de la reacción de oxidación de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) es catalizada por la nitrito óxido reductasa (NXR), la cual es codificada por los genes *nxrA* y *nxrB* como se muestra en la Figura 4:2 (Starkenbug *et al.*, 2006).

#### 4.7 Ciclo del nitrógeno en HA

La nitrificación (Figura 4:3) es el proceso biológico en el cual se lleva a cabo la oxidación de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) o amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) (la presencia de uno u otro depende del pH que tenga el agua) a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), pasando por nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), como un producto secundario. Lo anterior significa que la nitrificación es un proceso que ocurre en dos etapas (Burell *et al.*, 1998).

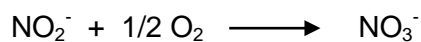


**Figura 4:3. Proceso de nitrificación en un humedal artificial de flujo vertical.**

En la primera, llamada nitrosificación, el  $\text{NH}_4^+$  es convertido a  $\text{NO}_2^-$  por medio de la siguiente reacción:



La segunda etapa, la nitrificación verdadera implica, de acuerdo con la siguiente reacción, la conversión de  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$ :



Estas dos reacciones demuestran dos puntos importantes. En primer lugar la



---

nitrificación es un proceso que requiere una alta aplicación de oxígeno, alrededor de 4g de oxígeno por cada gramo de  $\text{NH}_4^+$  convertido. En segundo lugar, la primera etapa de nitrificación produce ácido, de manera que el pH de la reacción tiende a bajar, limitando con ello la conversión del  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$ .

Con respecto a la desnitrificación, en la que el  $\text{NO}_3^-$  es convertido a óxido y gas nitrógeno, ésta siempre se realiza bajo condiciones anóxicas en presencia de bacterias heterótrofas (Achromobacter, Aereobacter, Alcaligenes y Pseudomonas, entre otras).

Este proceso se efectúa en varias etapas, en un intervalo de pH de 7-8 unidades y a temperatura superior a los  $5^\circ\text{C}$ , según la siguiente secuencia de reacciones:



Esto significa que, para mantener una población de nitrificadores en el medio de soporte del HA, y en cualquier otro sistema de tratamiento, en proceso de crecimiento, el tiempo medio de residencia debe ser lo suficientemente largo para poner en contacto el agua residual con la biopelícula, mayor aún que para la remoción de nutrientes carbonados. Por lo tanto, la nitrificación por lo general se efectúa en sistemas denominados como de baja tasa, tal como los HA (Hanaki *et al.*, 1990).

Las bacterias nitrificantes son susceptibles a un cierto número de factores ambientales, de manera que ésta se inhibe a bajas temperaturas, a bajas concentraciones de oxígeno disuelto, a un amplio rango de sustancias orgánicas e inorgánicas, por un inadecuado pH (Brock y Schlegel, 1989).

Visto de otra forma, el ciclo del nitrógeno cuenta con cinco etapas, de las cuales sólo la asimilación no es realizada por bacterias (Figura 4:4):

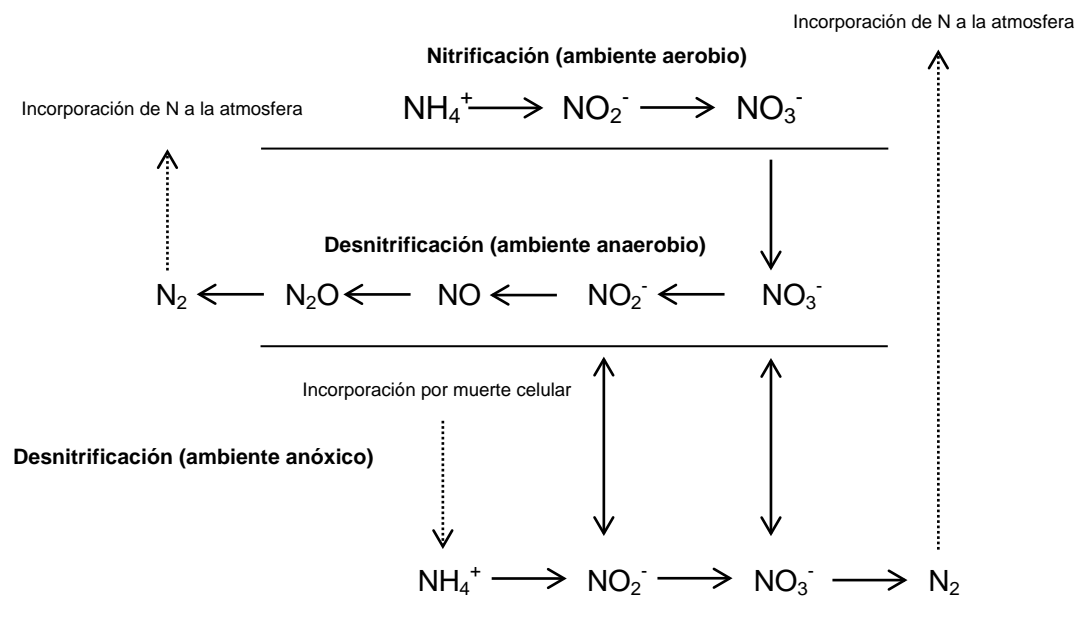


Figura 4:4. Ciclo del nitrógeno

1. Fijación. Esta etapa en el ciclo del nitrógeno consiste en la incorporación del nitrógeno atmosférico, a las plantas, gracias a algunos microorganismos, principalmente bacterias y cianobacterias que se encuentran presentes en el suelo y en ambientes acuáticos. Esta fijación se da por medio de la conversión de nitrógeno gaseoso ( $\text{N}_2$ ) en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) o nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ). Estos organismos utilizan la enzima nitrogenasa para la ruptura del nitrógeno molecular y combinarlo con hidrógeno para dar forma al amoníaco.

---

La relación entre *Rhizobium* y sus plantas huéspedes es mutualista: las bacterias reciben carbohidratos elaborados por la planta, y la planta recibe nitrógeno en una forma asimilable. En el medio acuático la fijación de nitrógeno es realizada por cianobacterias. Algunas especies de helechos de agua, como la *Azorella*, tienen cavidades en las cuales viven cianobacterias en una manera comparable a la asociación de *Rhizobium* con las leguminosas. La cantidad de nitrógeno fijado por estas bacterias es de aproximadamente 200 millones de toneladas anuales (CICEANA, 2011).

2. Nitrificación o mineralización. Solamente existen dos formas de nitrógeno que son asimilables por las plantas, el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Las raíces pueden absorber ambas formas, aunque pocas especies prefieren absorber nitratos que amonio. El amonio es convertido a nitrato gracias a los microorganismos por medio de la nitrificación. La modificación de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  depende de la temperatura del suelo. La transformación, es decir, la conversión se da más rápida cuando la temperatura está arriba de los  $10^\circ \text{C}$  y el pH está entre los 5.5-6.5; asimismo, este proceso se ve completado entre dos a cuatro semanas en teoría.

Esta fase es realizada en dos pasos por diferentes bacterias: primero, las bacterias del suelo *Nitrosomonas* y *Nitrococcus* convierten el amonio en nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), luego otra bacteria del suelo, *Nitrobacter*, oxida el nitrito en nitrato. La nitrificación les entrega energía a las bacterias.

3. Asimilación. La asimilación ocurre cuando las plantas absorben a través de sus raíces, nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) o amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), elementos formados por la fijación de nitrógeno o por la nitrificación. Luego, estas moléculas son incorporadas tanto a las proteínas, como a los ácidos nucleicos de las plantas. Cuando los animales consumen los tejidos de las plantas, también asimilan nitrógeno y lo convierten en compuestos animales.

4. Amonificación. Los compuestos protéicos y otros similares, que son los principales constituyentes de la materia nitrogenada aportada al suelo, son de poco valor para las plantas cuando se añaden de manera directa. Así, cuando los organismos producen desechos que contienen nitrógeno como la orina (urea), los desechos de las aves (ácido úrico), así como de los organismos muertos, éstos son descompuestos por bacterias presentes en el suelo y en el agua, liberando el nitrógeno al medio, bajo la forma de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). En este nuevo proceso de integración de nitrógeno al ciclo, las bacterias fijadoras llevan a cabo la digestión enzimática, por lo que el amonio se

---

degrada a compuestos aminados, como proteosas, peptonas y al final, en aminoácidos. Es por esta razón que el proceso se llama aminificación o aminización.

5. Inmovilización. Es el proceso contrario a la mineralización, por medio del cual las formas inorgánicas ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) son convertidas a nitrógeno orgánico y, por tanto, no asimilables.

6. Desnitrificación. La reducción de los nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) a nitrógeno gaseoso ( $\text{N}_2$ ), se llama desnitrificación, y es llevado a cabo por las bacterias desnitrificadoras que revierten la acción de las fijadoras de nitrógeno, regresando el nitrógeno a la atmósfera en forma gaseosa. Esto ocasiona pérdida de  $\text{N}_2$  en el ecosistema; ocurre donde existe un exceso de materia orgánica y las condiciones son anoxicas, además de que hay poca disponibilidad de agua y un alto pH, aunado a los escurrimientos de los fertilizantes al suelo (CICEANA, 2011).

---

## 5. Estrategia de trabajo

Este trabajo de investigación está dividido en cuatro etapas (Fig. 5:1). Cada etapa proporcionó resultados, los cuales enriquecieron progresivamente la investigación para posteriormente derivar en una serie de conclusiones y recomendaciones.

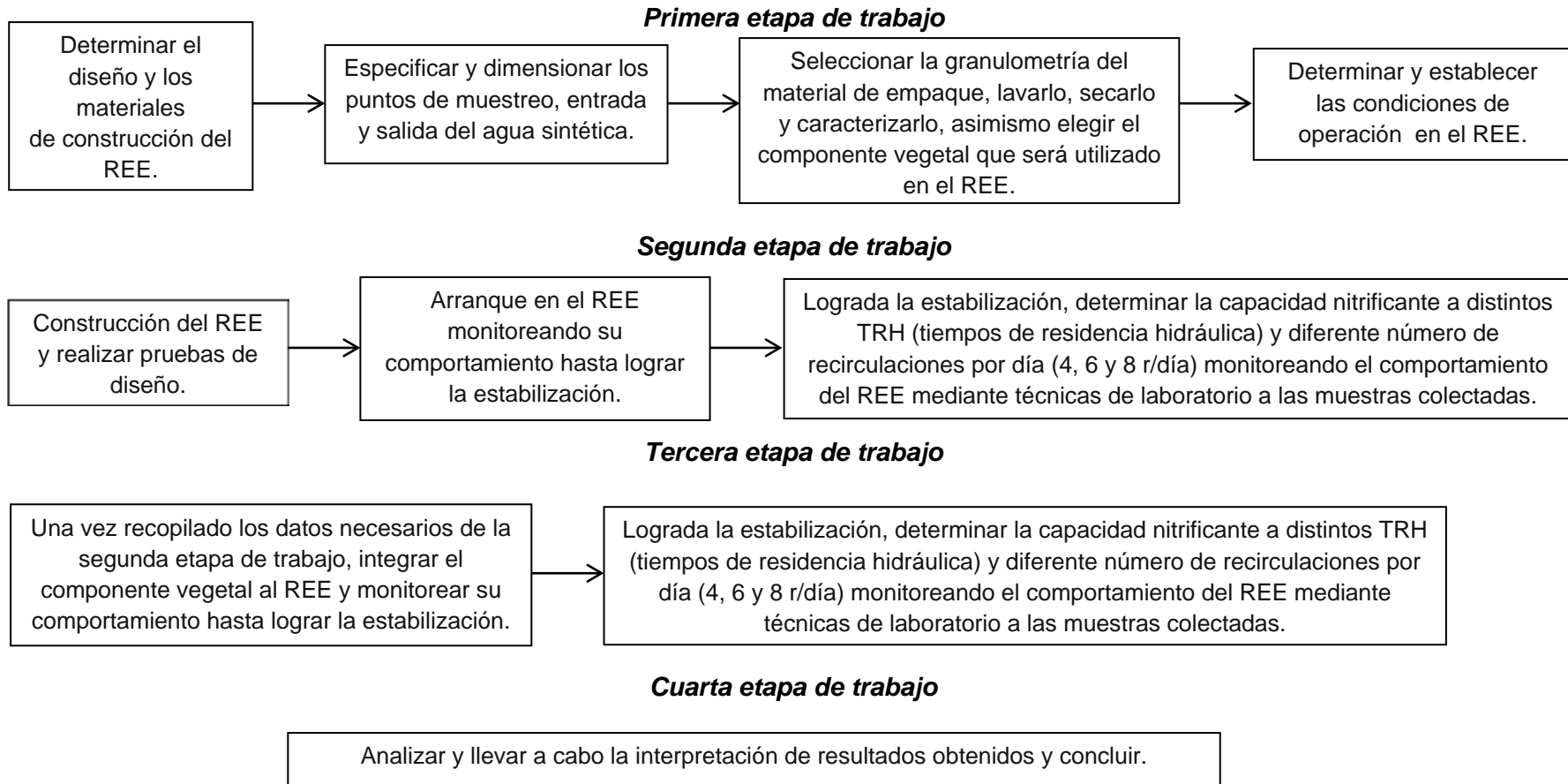


Figura 5:1. Diagrama de la metodología experimental empleada

---

## 5.1 Etapa de diseño (primera etapa)

### 5.1.1 Determinación del diseño y materiales de construcción del REE

Esta actividad se desarrolló mediante la revisión bibliográfica, la cual permitió seleccionar en su mayoría las características en cuanto a los componentes que conforman el REE, geometría, capacidad, etc.

El reactor tiene forma de una columna circular de 70 cm de altura por 50 cm de diámetro. El material de construcción es acrílico transparente de 6 mm de espesor con accesorios en PVC en los diferentes puntos de muestreo, entradas y salidas del agua en el sistema.

La geometría del reactor se basa en los filtros percoladores, filtros de lecho empacado y filtros biológicos de película bacterial adherida entre otros (Crites y Tchobanoglous, 2005). Estos filtros son alimentados por la parte superior garantizando la uniformidad del líquido en toda su estructura.

La altura en el reactor permitirá un régimen hidráulico laminar con lo que se tratará de impedir rutas favorables al fluir el agua dentro del lecho del reactor mediante una distribución uniforme, por el contrario, al manejar las recirculaciones se promoverá un mayor oxigenación al fluido lo que permitirá aumentar la eficiencia de remoción por acción de los organismos aunado a una bomba de aireación.

La selección de la geometría circular brinda una mejor distribución del agua en el reactor, el diámetro es una medida estándar en el mercado de materiales, la forma circular se debe a que con esta geometría pueden reducirse las zonas muertas que normalmente existen en las estructuras convencionales.

Adicionalmente, la selección de los materiales que conformarán el reactor fueron elegidos bajo los siguientes criterios:

- *Fácil disponibilidad de materiales y de la especie vegetal*
- *Bajos costos y durabilidad en los materiales*
- *Nula interacción entre los componentes de los sistemas*
- *Las características físicas en sus componentes, supera a la de los diseños convencionales como tratamientos de lecho fijo o filtros percoladores, esto favorece las condiciones de operación en este tipo de sistemas.*
- *Las propiedades fisicoquímicas en los materiales de construcción evitan la interacción con el fluido a tratar, lo cual permite obtener mejores resultados en los análisis.*

- 
- *La durabilidad y resistencia en su diseño brindan un mayor confiabilidad en el proceso*

### **5.1.2 Especificación y dimensión de zonas para la toma de muestra, entradas y salidas del agua sintética**

Con el propósito de monitorear una mayor área en los reactores y así obtener información acerca de la evolución del proceso de nitrificación, fue necesario determinar los sitios de muestreo que reflejan el comportamiento de dicho proceso de transformación, evitando adoptar características ajenas en la muestra que interfieran directamente en los resultados.

La selección en la ubicación de las tomas de muestras, se decidió bajo los siguientes criterios (NMX-AA-003-SCFI-2006):

- *Primera toma de muestra: la ubicación de este punto, se seleccionó dado que el rizoma del componente vegetal (una vez ingresado al sistema) rara vez rebasa los 30 cm de profundidad, por lo tanto se pudo evaluar el desarrollo de la planta. De igual forma se pudo evaluar los niveles de oxígeno disuelto en las muestras colectadas así como los parámetros necesarios en cada sección del reactor.*
- *Segundo y tercer puntos de muestreo: estos puntos tienen la misma función en cuanto al seguimiento en las concentraciones de oxígeno disuelto y parámetros necesarios aunado a la posible recolección del material de soporte para evaluar la evolución de la formación de la película vegetal en éste.*

La dirección del influente será de forma descendente, para posteriormente ser distribuida por bombeo en la parte superior del REE, este influente es dirigido a un tanque de captación en el cual permanece por un determinado tiempo para que posteriormente sea nuevamente ingresado al REE mediante bombeo. La salida del efluente está ubicada en la parte inferior al centro del reactor regulada mediante una válvula de globo lo que permitirá retener la columna de agua dentro del reactor.

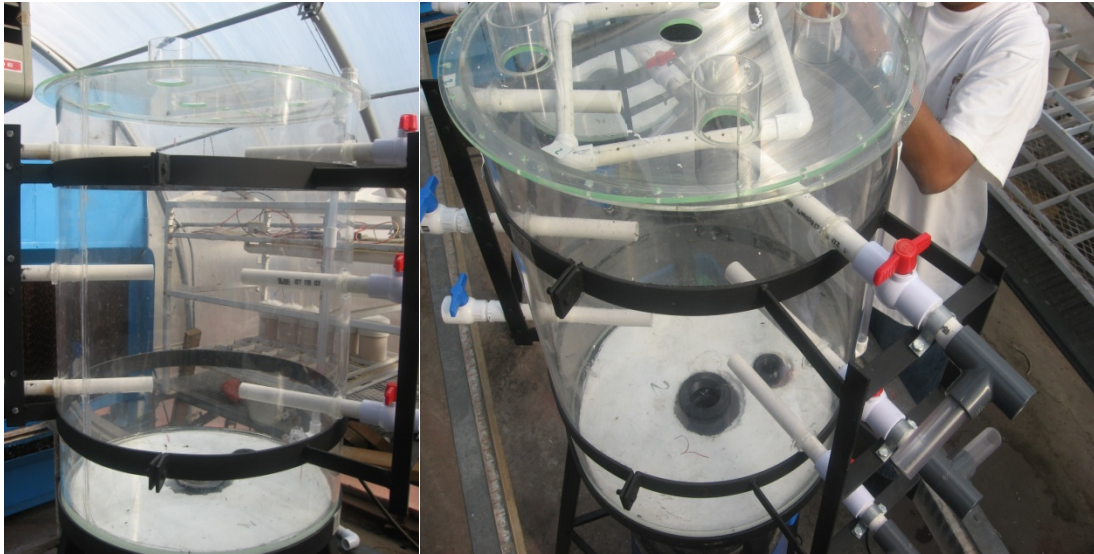


Figura 5:2. Entradas y salidas del REE

### ***5.1.3 Selección y granulometría del material de empaque, así como del componente vegetal***

Para determinar el empaque o material de soporte que se utilizó en el reactor, se pensó en las necesidades que permitan tener ventajas sobre los empaques empleados en sistemas existentes (dureza, área específica, conductividad hidráulica, precio etc), el material utilizado es oxido de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) con una granulometría de 2 mm de diámetro (malla de 2.0 mm), los siguientes puntos indican los criterios de selección del material (Crites y Tchobanoglous, 2005).

- *Fácil obtención y distribución en el mercado*
- *El tipo de material es inerte a las características de agua a tratar*
- *Las características granulométricas permiten tener una mayor área de contacto superficial y buena conductividad hidráulica*
- *La dureza en el material, impide la fragmentación con lo cual se puede evitar un azolvamiento temprano en el reactor*
- *Las características químicas permiten una disponibilidad favorable a la formación de la película vegetal*

La selección del componente vegetal (*Arundo donax*) se fundamenta de igual forma en sistemas existentes (Humedal artificial del lago de Xochimilco, Humedal artificial del Lago del Bosque de San Juan de Aragón, etc.), los cuales lo utilizan obteniendo resultados que favorecen a la depuración de aguas residuales (Aburto, 2009).

---

En general, las plantas podrán ofrecer diversos beneficios. Gracias al crecimiento de las raíces y de los tallos se facilita la existencia de microorganismos de tipo aerobio, que aumenta y acelera la depuración y remoción de materia orgánica en el agua, a su vez, favorece la capacidad de infiltración y conductividad hidráulica en el medio de soporte. Diversos autores indican que las macrofitas liberan oxígeno de sus raíces y rizomas, provocando así que los microorganismos aerobios aumenten la actividad de los ciclos biogeoquímicos, trayendo como consecuencia, la degradación de materia orgánica (Beavers y Tully, 2005 y Arheimer y Wittgren 2002).

#### **5.1.4 Determinación de las condiciones de operación**

La operación del REE en cada una de las pruebas se realiza por medio de dosificaciones intermitentes (por lotes) del agua influente. Cada dosificación comprende un ciclo, el cual consta de las siguientes etapas:

Llenado del REE: este es hasta una altura igual a la del medio de soporte, de manera que quede completamente inundado. Para verificar la completa inundación, el REE cuenta con un tubo mirilla de nivel en toda su altitud. El fluido es aireado previamente mediante una bomba la cual se encuentra fuera del tanque de almacenaje del sistema. Reposo inundado del REE: esto, con el fin de que el contaminante se difunda y se adhiera a la biopelícula para dar inicio a su transformación. Para establecer el periodo de reposo se hicieron ensayos a distintos tiempos de duración (20, 40, 60 minutos, etc.), los cuales estuvieron en función de la concentración de oxígeno disuelto disponible, el cual no deberá ser menor a 2 mg/L y de la capacidad de conversión de  $N-NH_4$  a  $N-NO_3^-$ .

Vaciado del REE: para ello, se cuenta con un sistema de control automatizado que al ser programado, efectúa el desalojo del agua en el reactor de acuerdo con el número de dosificaciones y sus tiempos asociados. Para este efecto se dispuso de una válvula eléctrica de cuerpo ancho, de tipo compuerta, para facilitar el rápido desalojo del fluido en el REE.

Reposo no inundado del REE: una vez concluido el tiempo de inundación del sistema, donde el amonio estuvo en contacto con la biopelícula y el cual permite que se efectúe el proceso de nitrificación dentro del reactor el agua sintética es vaciada al tanque recolector donde permanecerá en reposo para después reiniciar el ciclo en la próxima dosificación propuesta.



---

### 5.1.5. Pruebas comparativas experimentales

#### a) Reactor experimental empacado sin plantas

Para la etapa uno de diseño, se llevarán a cabo 4 dosificaciones por lote por día al reactor en forma intermitente (Beavers y Tully, 2005; Kowalchuck y Stephen, 2001). Esta modalidad de operación tiene como propósitos: a) contar con un tiempo adecuado para la asimilación microbiana del sustrato, b) permitir un mayor ingreso de oxígeno al REE, al momento en que no esté siendo alimentado y c) limitar el proceso de azolvamiento por efecto de material no metabolizado en el interior del medio de soporte.

#### b) Número de dosificaciones de manera intermitente

El número de dosificaciones por día es de 4, 6 y 8, (establecido mediante experimentación previa al presente trabajo, el cual indicaba concentraciones de oxígeno disuelto suficiente para culminar el proceso de transformación del amonio). de tal manera que se determine la máxima tasa de nitrificación alcanzada por número de dosificaciones/día. Lo anterior implicará llevar a cabo las experimentaciones a distintos tiempos de residencia hidráulica (tiempo de contacto). En la Tabla 5:1 se muestran los horarios programados para llevar a cabo el número de dosificaciones propuesto.

Tabla 5:1. Número de dosificaciones por día

Número de dosificaciones por día	Horario							
	1	2	3	4	5	6	7	8
4	8:00	14:00	20:00	2:00				
6	0:00	4:00	8:00	12:00	16:00	20:00		
8	0:00	3:00	6:00	9:00	12:00	15:00	18:00	21:00

#### c) Presencia y ausencia de plantas

En la última etapa de experimentación se estará empleando plantas en desarrollo, con una edad joven, de la especie *Arundo donax*. Para esta prueba, la selección en el número de dosificaciones será el mismo que muestra la Tabla 5:1, sin embargo, en esta etapa se observaran los datos en presencia y ausencia de plantas de los cuales se harán comparaciones donde se evaluarán los datos que más convengan y que presenten ventajas en cuanto a los resultados en la transformación del amonio en el sistema.

#### d) Características de agua residual sintética

Las pruebas se llevaron a cabo a una temperatura constante de 25°C. es importante

indicar que para la ejecución de los ensayos se utilizó agua residual sintética, enriquecida hasta una concentración de 45-60 mg/L de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub>), conteniendo además otros constituyentes a base de C y P (Anexo A). Cabe señalar que el valor propuesto de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> implica el promedio reportado en aguas residuales domésticas descargadas en cuerpos receptores de agua (CONAGUA, 2007). Asimismo, para facilitar la adaptación de los microorganismos de interés se agregaron a dicho lote micronutrientes en solución, de acuerdo con las concentraciones propuestas por Hanaki (Anexo A).

**e) Parámetros a determinar**

Los parámetros de relevancia a determinar, en los diferentes ensayos, serán: el oxígeno disuelto en cada punto de muestreo, N-NH<sub>4</sub>, N-NO<sub>2</sub>, N-NO<sub>3</sub>, en el influente y en el efluente así como temperatura, y pH (ver tabla 5:3).

Las pruebas culminarán al momento de que se obtengan resultados en el efluente con variaciones menores al 10% entre sí para el conjunto de 4 a 6 datos con valores por debajo de los 15 mg/L de amonio en las muestras colectadas.

**Tabla 5:3. Parámetros a evaluar en el REE**

<b>Parámetros</b>	<b>Frecuencia de muestreo</b>	<b>Técnica y Equipo</b>
<b>pH</b>	Cada 3 días	Electrodo de pH
<b>Nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)</b>	Cada 7 días	Nesslerización APHA, 1989
<b>Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b>	Cada 7 días	4500-NO3-NMX-AA-079-SCFI-2001
<b>Nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)</b>	Cada 7 días	Método por diazotización de p-nitroanilina (Sreekumar, 2009)
<b>Oxígeno disuelto (O.D.)</b>	Cada 7 días	Electrodo de membrana para O <sub>2</sub>
<b>Temperatura</b>	Cada 7 días	Electrodo para temperatura
<b>Demanda química de oxígeno (DQO)</b>	Cada 7 días	método 5220-C NMX-AA-030-SCFI-2001
<b>Potencial redox</b>	Cada 7 días	Electrodo de platino para potencial redox

**5.2 Construcción del reactor experimental empacado (segunda etapa)**

La construcción del reactor fue llevada a cabo por personal calificado en el manejo de acrílico reforzado para el ensamblado térmico mientras que los accesorios, adaptación de bombas, conexiones y arreglo de válvulas se integraron aparte.

---

## 5.3 Montaje, arranque, inoculación, operación y muestreo del REE

### 5.3.1 Montaje

El montaje del REE comenzó con el ensamblado del cuerpo del reactor como antes se mencionan. Una vez ensamblado el cuerpo, se colocaron los tubos de muestreo laterales. Posteriormente, se adaptó en una base metálica el cual fue reforzado con un cinturón metálico para evitar fracturas en la columna del REE. Una vez ensamblado se procedió a realizar las pruebas de sellado las cuales consistieron en:

- *Sellado y volumen del reactor sin material de empaque*
- *Montaje del sistema automatizado*
- *Pruebas hidráulicas de tiempo de llenado y vaciado*

Una vez concluidas las pruebas en el sistema, se empacó el REE con la gravilla de  $\text{SiO}_2$  previamente lavada y secada, se realizaron nuevamente las pruebas hidráulicas de tiempo de llenado y vaciado así como la capacidad de volumen real del REE.

Por último, el REE fue forrado con una capa de etileno acetato de vinilo para evitar el contacto directo de la luz con el material de empaque. Se puso en marcha el sistema de automatización que controla la electroválvula así como la bomba de aire y agua que operan en el REE.

El REE fue alimentado en inicio con  $50 \pm 5$  L de agua enriquecida con amonio en una concentración promedio de 45-60 mg/L, una DQO promedio de 70 mg/L, más la adición de una solución de micronutrientes (Anexo A).

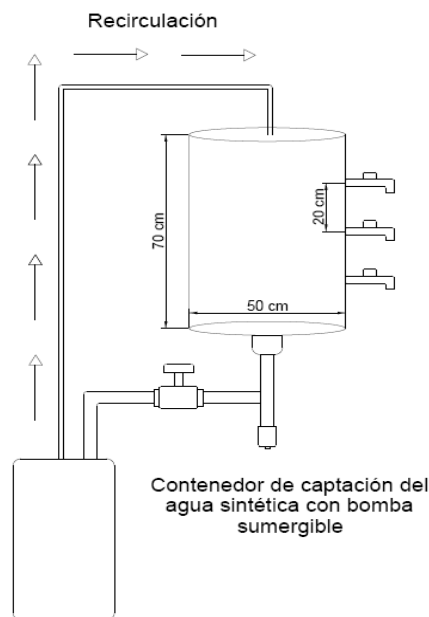


Figura 5:3. Dimensiones y geometría del reactor experimental empacado

---

### 5.3.2 Inoculación del componente microbiano en el REE

El componente microbiano en el REE fue inoculado según el arreglo de la Tabla 5:2 con un volumen de 6 L de medio enriquecido con amonio (Anexo A), el cual contenía bacterias nitrificantes oxidadoras de amonio, en una concentración de  $3.64 \times 10^3$  células/ml.

Tabla 5:2. Arreglo en el reactor experimental empacado

Etapa del reactor	Material de soporte (a)	Agua sintética	Microorganismos	Plantas (b)
1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

a: Óxido de Sílice de 2 mm de diámetro previamente lavado y libre de polvo

b: *Arundo donax*

En este sentido, la obtención de bacterias nitrificantes se obtuvo de una muestra procedente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria a partir de la cual se aisló y caracterizó el componente microbiano empleado en el REE. El procedimiento de obtención, aislamiento, bioestimulación y bioacumulación está descrito por Aburto (2011).

### 5.3.3 Operación y muestreo

La operación del REE fue implementada en términos de las necesidades de generar información para el esclarecimiento del proceso de nitrificación, así como a los resultados obtenidos durante la experimentación previa (Aburto, 2009) como: tipo de material de empaque, tiempos de contacto, tiempos de vaciado y de llenado del reactor, tiempo de residencia hidráulico (TRH), consumo del oxígeno y oxidación del  $\text{NH}_4^+$  etc. La operación del REE fue dividida en 2 fases: (1) la fase de arranque y (2) la fase de estabilización. Realizando dentro de esta última, modificaciones al TRH que permitieron esclarecer el consumo de oxígeno asociado a la degradación de  $\text{NH}_4^+$  en función del tiempo dentro del REE. Durante la fase (1), el agua del sistema fue aireada en el tanque contenedor durante 10 minutos antes de ingresar al REE. Posteriormente se realiza un bombeo, el cual tuvo una duración de 2 minutos hasta alcanzar la capacidad máxima del REE, al mismo tiempo se activó la válvula de cierre. El sistema permaneció inundado durante 50 min y posteriormente el agua se vació del sistema. El sistema permaneció en reposo (sin inundar) durante 2.5 h, para posteriormente reiniciar el ciclo con un total de 48 ciclos por semana. Durante este periodo, se controló el valor del pH adicionando una solución de KOH 2 M en un volumen variable

---

dependiendo de la concentración dentro del agua del reactor, con el fin de mantener un pH promedio de 8.5. Asimismo la concentración de  $\text{NH}_4^+$  fue mantenida por medio de la adición de una solución rica en amonio (Anexo A), tomando en cuenta la diferencia de concentración entre el valor inicial y el final en periodos de 7 días, esto con el fin de mantener un promedio de 60 mg/L de  $\text{NH}_4^+$ , en un volumen que se encontraba en función por evaporación.

Fase (2), una vez alcanzados los promedios de degradación que sugirieron una tendencia constante, se cambiaron las condiciones de operación, donde el periodo de aireación aumentó a 30 minutos en el tanque contenedor antes de ingresar al REE. Posteriormente, se realizó el bombeo, el cual tuvo una duración de 2 minutos hasta alcanzar la capacidad máxima del REE, al mismo tiempo que es cerrada la válvula en el sistema. El sistema permaneció inundado durante un determinado tiempo y posteriormente el agua fue vaciada del sistema el cual permaneció en reposo (sin inundar) durante 30 minutos para después reiniciar el ciclo, con un total de 21 ciclos por semana.

Durante el procedimiento de operación antes descrito, hubo modificaciones según el TRH experimental correspondiente para las tres distintas dosificaciones de agua en el REE como se menciona en la 5:1.

#### **5.3.4 Muestreo**

En un principio, el muestreo se realizó cada 7 días en los diferentes arreglos experimentales. La toma de muestra se realizó extrayendo 20 ml de cada punto de muestreo. Para las muestras de material de empaque se extrajeron 5 g de los diferentes puntos de muestreo para la determinación de carbono y nitrógeno total en el material de empaque solo al inicio del trabajo experimental (Anexo A).

Se realizó la toma de muestras en el influente y efluente, así como en los diferentes puntos de muestreo, los cuales están distribuidos en tres puntos de la siguiente manera: 10 cm, 20 cm, 40 cm.

#### **5.3 Determinación de la capacidad nitrificante en el REE**

Esta prueba, consistió en evaluar la capacidad nitrificante (mediante técnicas de laboratorio con periodicidad de 7 días en un inicio como lo indica la Tabla 5:3) en el REE llevando a cabo modificación en los tiempos de residencia hidráulica y el número

---

de recirculaciones al ser alimentado el sistema. De esta prueba se obtuvo información la cual permitió reducir la concentración de amonio, así como determinar condiciones operativas que favorezcan la transformación de las especies de amonio.

#### **5.4 Determinación de la capacidad nitrificante en el REE en presencia del componente vegetal (tercera etapa)**

De igual forma, en esta prueba, evaluó la capacidad nitrificante en el REE llevando a cabo modificación en los tiempos de residencia hidráulica y el número de recirculaciones integrando al sistema plantas de tipo bascular (*Arundo donax*). De esta prueba se espera contar con información que permita reducir la concentración de amonio, evaluar el comportamiento del sistema en presencia de las plantas y determinar las condiciones operativas que favorezcan la transformación de las especies de amonio.

#### **5.5 Análisis e interpretación de resultados (cuarta etapa)**

En esta etapa se desarrolló un análisis con base en los resultados obtenidos en las etapas previas de experimentación. Asimismo, se llevará a cabo una interpretación estadística y se comentarán las conclusiones al respecto.

El análisis estadístico empleado fue:

Determinación del coeficiente de variación: siendo éste valor la cantidad más adecuada para comparar la variabilidad de dos conjuntos de datos.

Determinación de t de Student: Su función es comparar dos grupos de puntuaciones (grupos de datos) y determinar que la diferencia no se deba al azar (que la diferencia sea estadísticamente significativa).

---

## 6. Resultados y discusión

### 6.1 Resultados de pruebas preliminares

#### 6.1.1 Resultados de la caracterización del material de empaque

En la Tabla 6:1 se muestran los resultados de la determinación de algunas propiedades físicas del material de empaque seleccionado (así como las pruebas de contenido de nitrógeno y carbono, ver Anexo A).

**Tabla 6:1. Pruebas realizadas al material de empaque**

Parámetro	Valor
Densidad real [g/cm <sup>3</sup> ]	2.40 ± 0.21
Densidad aparente [g/cm <sup>3</sup> ]	1.53 ± 0.04
Porosidad [%]	43.05 ± 4.48
Conductividad hidráulica [m/s]	2 E -3 ± 1 E -4
Dureza (escala Mohs)	7
Solubilidad	0.012 g en 100g de agua

#### 6.1.2 Resultados del montaje del sistema

Durante el montaje del REE se evaluaron los tiempos de llenado y vaciado, así como la carga hidráulica, los cuales sirvieron para el ajuste de la programación del sistema de automatización y puesta en marcha de los experimentos dando como resultados los datos que se muestran en la Tabla 6:2.

**Tabla 6:2. Pruebas realizadas al REE**

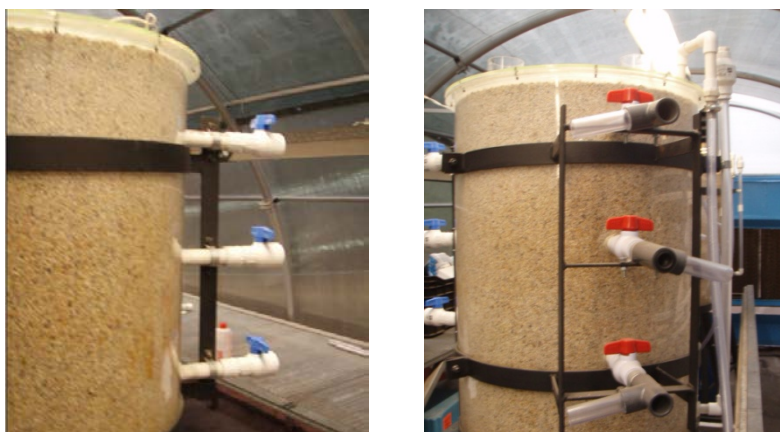
Parámetro	Unidad	Valor
Capacidad del REE sin empacar	Litros	137.45
Capacidad del REE empacado	Litros	59.17
Tiempo de llenado del REE sin empacar	minutos	1.34
Tiempo de llenado del REE empacado	minutos	2.12
Tiempo de vaciado del REE sin empacar	minutos	1.04
Tiempo de vaciado del REE empacado	minutos	2.17

#### 6.1.3 Resultados de la disminución de oxígeno en el REE

Como parte de las pruebas en el reactor empacado, se llevó a cabo un ensayo inundando el reactor con el agua-influyente, enriquecida con 60 mg/L de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el fin de medir el tiempo en el cual disminuye el OD, en las muestras de agua a la salida del reactor hasta un valor de 2 mg/L. es importante mencionar que diversos estudios señalan que esta concentración es un requisito para que se verifique de manera

---

eficiente el proceso de nitrificación (McBride y Tanner, 2000; Pauwels y Talbo, 2004; Stein *et al.*, 2003; Vayenas *et al.*, 1997). Asimismo cabe mencionar que previo a este ensayo, el influente fue aireado hasta una concentración de saturación de oxígeno disuelto (OD) de 6.3 mg/L. El tiempo en que disminuyó la concentración de OD fue aproximadamente a los 50 minutos como lo indica la Figura 6:2. Este valor es de relevancia para los ensayos posteriores que se llevaron a cabo, y se tomaron en cuenta para la operación del REE, respecto al máximo periodo que deben estar inundados con el agua enriquecida con el  $\text{NH}_4^+$ .



**Figura 6:1. Pruebas de llenado y vaciado del reactor experimental empacado**

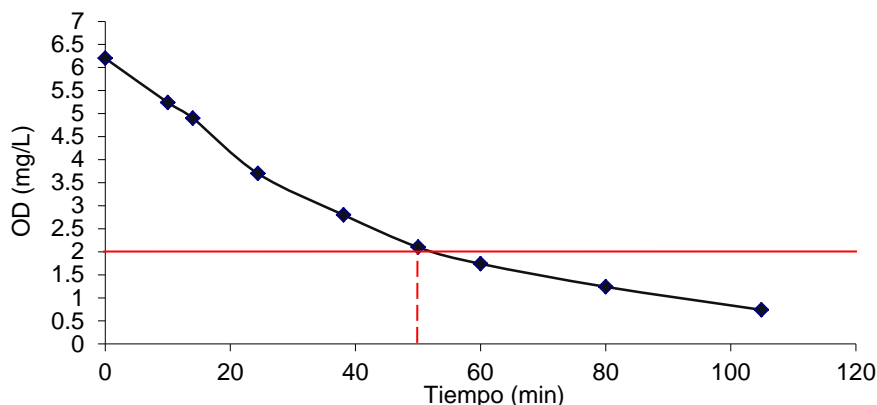
Por otro lado, se hicieron pruebas adicionales, con el fin de estudiar la dinámica del comportamiento de los parámetros  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , OD y potencial rédox a diferentes alturas (influyente, 10, 30, 50 cm y salida) y a distintos tiempos después de la alimentación del influente en el REE. Como se observa en la

Tabla 6:3, la principal disminución del  $\text{NH}_4^+$  ocurre en los primeros 10 cm y conforme aumenta el tiempo de residencia en el REE. Lo anterior, como consecuencia de que existe una mayor concentración de OD en el agua influente y a que la biopelícula formada en el empaque se encuentra más próxima al aire atmosférico que rodea al REE. Con relación al  $\text{NO}_3^-$ , éste va apareciendo, de manera constante a distintas alturas y a diferentes tiempos de residencia.

Asimismo, se observa que la concentración de oxígeno disuelto va disminuyendo conforme pasa el tiempo de contacto entre el agua y el medio de empaque y se tienen mayores alturas dentro del REE (Tabla 6:4). Este efecto ocurre como resultado del consumo del oxígeno para que se lleve a cabo el proceso de la nitrificación. Un



parámetro que confirma la biotransformación del  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  y la desaparición del OD, es la modificación del potencial rédox.



**Figura 6:2. Disminución de oxígeno disuelto en el REE inundado**

Como ya se había mencionado con anterioridad, un parámetro que confirma la biotransformación del  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  y la desaparición del OD, es la modificación del potencial rédox. Esta propiedad se ve sujeta a modificaciones en sus valores como resultado de la oxidación del  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$ ; en ese sentido, si la nitrificación aumenta, el valor del potencial también decrece; por ello el valor más alto en el REE se observa durante los primeros 20 minutos, a una altura de 10 cm.

**Tabla 6:3. Concentraciones de  $\text{N-NH}_4^+$  y de  $\text{N-NO}_3^-$  a diferentes alturas y a distintos tiempos después de la alimentación del influente en el REE.**

Altura (cm)	$\text{N-NH}_4^+$ (mg/L)			$\text{N-NO}_3^-$ (mg/L)		
	Tiempo después de la alimentación (minutos)					
	20	40	60	20	40	60
10	28	26	21	0	2	2
30	23	22	19	2	3	4
50	20	19	18	3	4	7
Efluente	19	19	17	4	5	7

Nota: las concentraciones en el influente para  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$ , al tiempo cero, fueron de 40 mg/L y 0 mg/L.

**Tabla 6:4. Concentraciones de OD y de potencial rédox a diferentes alturas y a distintos tiempos después de la alimentación del influente en el REE**

Altura (cm)	OD (mg/L)			Potencial rédox <sup>-</sup> (mV)		
	Tiempo después de la alimentación (minutos)					
	20	40	60	20	40	60
10	5.8	5.1	4.8	401	355	322
30	4.1	3.3	3.1	370	333	312
50	2.8	2.2	2	355	321	278
Efluente	2.4	1.9	1.9	301	290	266

Nota: las concentraciones en el influente para OD y potencial rédox, al tiempo cero, fueron de 6.3 mg/L y 420 mg/L.

---

## 6.2 Resultados de pruebas en el REE

### 6.2.1 Resultados en el REE

Una vez establecidos los tiempos de reposo del agua-influyente enriquecida con amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) a una concentración de 60 mg/L y de establecer el número de dosificaciones, se realizaron las pruebas de acuerdo a lo mencionado en la Tabla 5:1. El propósito de estas pruebas fue el observar el efecto de remoción de  $\text{NH}_4^+$  modificando el número de dosificaciones por día en el REE.

En la etapa de experimentación previa (ver Aburto, 2009) los resultados obtenidos suponen que las dinámicas de la nitrificación están en función de la comunidad microbiológica que se desarrolló en el medio del sistema, de manera que los microorganismos nitritantes permitieron la transformación desde  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  evitando así la acumulación de nitritos que pudiera inhibir la oxidación del amonio por las bacterias nitritantes o degradadoras de amonio, de esta forma ambos procesos permitieron la nitrificación. Por otra parte los organismos desnitrificantes como es el caso de *Alcaligenes denitrificans*, permitieron la transformación de los  $\text{NO}_3^-$  a otros estados de oxidación, evitando una acumulación que pudiera ser nociva para los organismos nitratantes, por consiguiente la composición de componente microbiano y las interacciones que existen entre el co-metabolismo de los organismos desempeñan un papel fundamental en las dinámicas de la nitrificación (Aburto, 2009).

### 6.3 Resultados del arranque del REE

Este período comprendió 21 días, en el cual se introdujeron 50 L de agua enriquecida con  $\text{NH}_4^+$  en una concentración de 57.45 mg/L y con materia orgánica disuelta medida como DQO de 70 mg/L (detalles ver Anexo A). El REE fue inoculado con 6 L de medio enriquecido con amonio y un cultivo de *Nitrosomonas europaea* (Aburto, 2009) en una concentración de  $3.63 \times 10^3$  microorganismos/mL, al término de este periodo se obtuvieron los siguientes resultados.

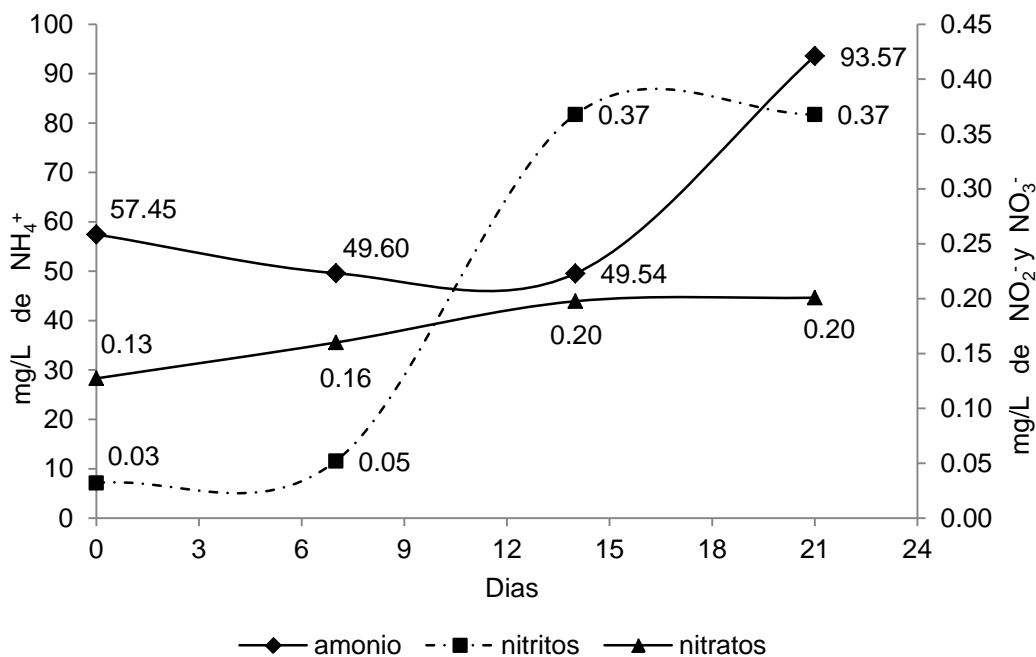


Figura 6:3. Dinámica de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$   $\text{NO}_3^-$  en el REE, periodo de arranque de 21 días

En la Figura 5:3 se puede apreciar que en las muestras puntuales durante los primeros 7 días hay un descenso de 7.85 mg/L lo que equivale al 13.66% en la concentración del  $\text{NH}_4^+$ , pasados 14 días se registra apenas un descenso de 0.06 mg/L en la concentración de  $\text{NH}_4^+$ , así como el incremento en 0.34 mg/L de  $\text{NO}_2^-$  y 0.07 mg/L de  $\text{NO}_3^-$ , evidenciando el proceso de degradación del amonio y la nitrificación, sin embargo la tendencia de degradación del  $\text{NH}_4^+$  no sigue, por el contrario la concentración del amonio se eleva 44 mg/L. Park, (2009) reporta que la inhibición de la nitratación es ocasionada por las concentraciones de nitritos. La acumulación de nitritos fue debida muy probablemente a que no existían organismos capaces de oxidar el  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  puesto que el inóculo empleado en el REE durante este periodo contenía sólo bacterias oxidadoras de  $\text{NH}_4^+$  (*Nitrosomonas europaea*), esto contribuyó a que la concentración de  $\text{NO}_2^-$  fuera tóxica para los organismos y provocara una muerte celular, esto se observa con los valores de materia orgánica disuelta medida como DQO Figura 6:4, los cuales permanecen estables hasta el día 7, sin embargo para el día 14 aumentan hasta en un 229 %, coincidiendo con el aumento de  $\text{NO}_2^-$ .

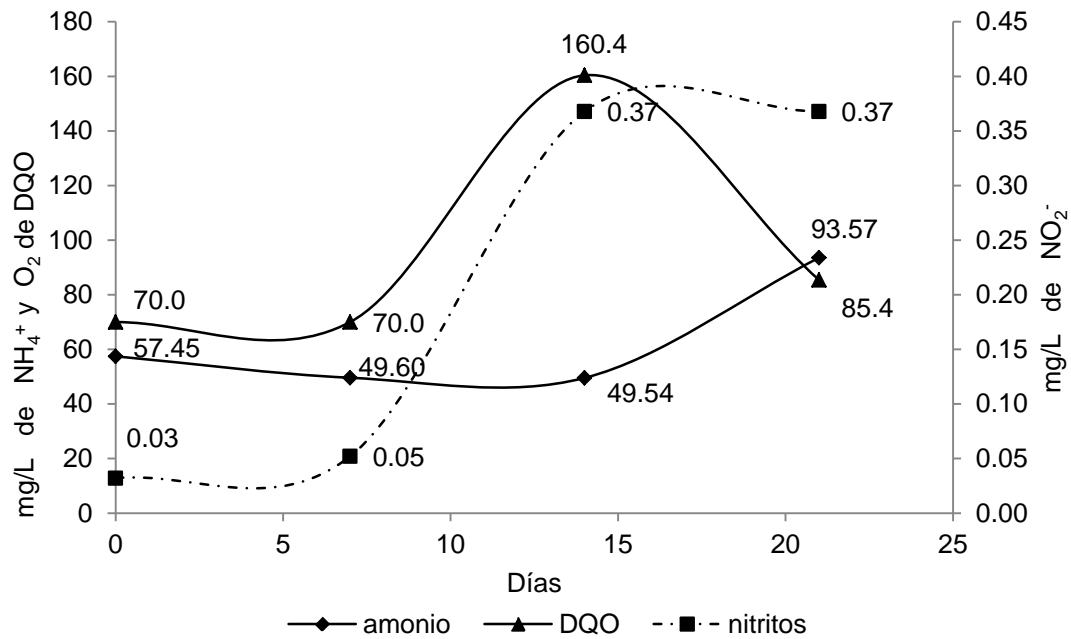


Figura 6:4. Dinámicas del  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y D.Q.O. en el REE, periodo de arranque

Los resultados obtenidos en la Figura 6:4 sugieren que existió un crecimiento celular durante los primeros 7 días, pasando este periodo hubo una inhibición y posteriormente una probable muerte celular masiva, que se hizo presente en el aumento de los valores de materia orgánica disuelta medida como DQO, así como en los de  $\text{NH}_4^+$ .

Con respecto al OD en el sistema, éste se mantuvo en un valor promedio de 6.57 mg/L (Figura 6:5). Mientras que la temperatura obtuvo un valor promedio de 24.72° C, manteniéndose constante. El valor de pH presentó una tendencia ácida durante los primero 14 días, descendiendo 3.54 unidades, esto debido a la actividad nitrificante y la formación de nitritos y la posible formación de óxido nitroso en el medio. Para el día 21, el sistema registró un aumento en el pH debido probablemente al decremento en la nitrificación y muerte celular y por consecuencia la mineralización del contenido celular de los microorganismos, sin embargo, para evitar estos cambios cada vez que se determinaba el pH se ajustaba si este variaba con solución de hidróxido de sodio 4M, Aburto (2011).

Por lo tanto, es posible que la acumulación de  $\text{NO}_2^-$  resultado de la oxidación del nitrógeno amoniacal, realizada por las *Nitrosomonas europea*, haya inducido una inhibición por acumulación de producto causando la muerte celular de este grupo de

microorganismos y el incremento de  $\text{NH}_4^+$  en el REE. Ya que aún no se incorporaban los microorganismos oxidadores de nitritos.

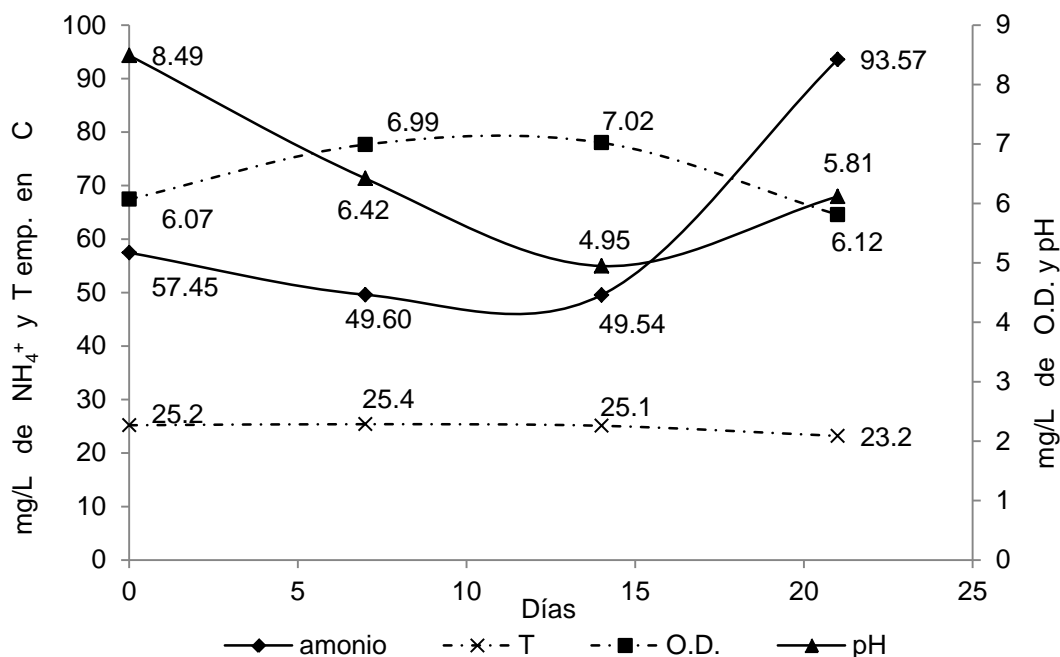


Figura 6:5. Dinámicas del  $\text{NH}_4^+$ , pH, Tem. y O.D en el REE, periodo de arranque

Las concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  llevaron a tomar la decisión de introducir al REE organismos capaces de degradar esta molécula, de tal forma que se llevó a cabo el siguiente paso de la nitrificación, la nitratación. Para dicho fin se inoculó en el REE 3.5 L de medio con un consorcio bacteriano, el cual contenía bacterias nitratantes capaces de utilizar al  $\text{NO}_2^-$  para ser degradado y transformado a  $\text{NO}_3^-$ , mientras que con las bacterias heterótrofas que se encontraban en el consorcio, se esperó la degradación de nitritos a otras formas de oxidación del nitrógeno aprovechables para ellas mismas o bien, para la comunidad microbiológica residente del material de empaque del REE.

Para los días entre el 21 y el 27, el sistema mostró un descenso del 99 % en la concentración de nitritos, esto, como resultado de la transformación a nitratos por los microorganismos nitratantes, por lo tanto, como se observa en la Figura 6:6, el descenso en la concentración del  $\text{NH}_4^+$ , el cual decae 43.99 mg/L de su concentración del día 27 de 94.96 mg/L. Sin embargo para el día 56, partiendo del día 28 se presentó un aumento en la concentración de nitritos (Figura 6:6), dicho incremento se debió a la oxidación del amonio a nitritos alcanzando su valor máximo para ese periodo en 0.35 mg/L. la acumulación observada a pesar de que ya se habían introducido los microorganismos nitratantes, podría deberse a que estos aún se encontraban en la etapa de adaptación ya que tan solo tenían siete días en el sistema.

La transformación de  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  permitió el descenso en la concentración de nitritos, lo cual dio lugar a la degradación del amonio por medio de las bacterias oxidadoras de amonio, esto, poniendo en evidencia que las concentraciones elevadas de nitritos inhiben la actividad oxidadora del amonio por medio de las bacterias nitrificantes.

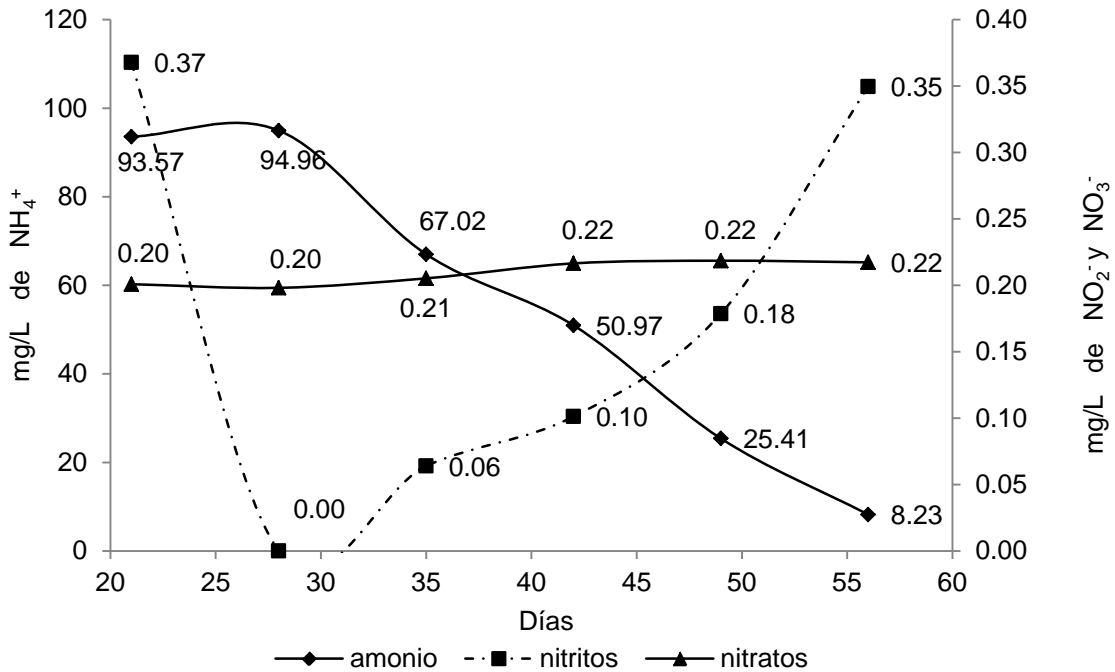


Figura 6:6. Dinámicas del  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  en el REE, periodo del día 21 al 56

En cuanto a las concentraciones de nitratos se mantuvieron constantes en promedio de 0.21 mg/L, sugiriendo que existió una transformación de  $\text{NO}_3^-$  a otros compuestos nitrogenados no detectables por las técnicas empleadas como los  $\text{NO}_x$  y  $\text{N}_2\text{O}$ , producidos por la actividad de bacterias heterótrofas desnitrificantes, entrando el  $\text{NO}_3^-$  muy probablemente a la ruta biogeoquímica de la desnitrificación aerobia (Kadlec, 2009).

En cuanto a las concentraciones de materia orgánica (DQO), muestran un descenso de 73.50 mg/L en el periodo de los días del 21 al 56 (Figura 6:7), sugiriendo que las fuentes de carbono fueron utilizadas por las bacterias heterótrofas para su crecimiento y como parte de su respiración aerobia generando  $\text{CO}_2$ , el cual fue empleado en la transformación de los nitritos a nitratos por bacterias nitrificantes, por tal motivo, el descenso de las concentraciones de materia orgánica disuelta denotan en primera instancia un crecimiento celular en la comunidad microbológica, asimilando la fuente de carbono en materia celular y por consiguiente el uso y las concentraciones de carbono como menciona Crites y Tchobanoglous (2005), juegan un papel importante para el proceso de degradación del amonio.

Una vez alcanzada una concentración de amonio promedio de 8.23 mg/L al día 56, el REE fue alimentado con una fuente de amonio alcanzando una concentración de 54.84 mg/L de  $\text{NH}_4^+$  (Figura 6:8), en este punto la concentración de nitritos fue de 0.35 mg/L, mientras que los nitratos permanecieron en 0.22 mg/L.

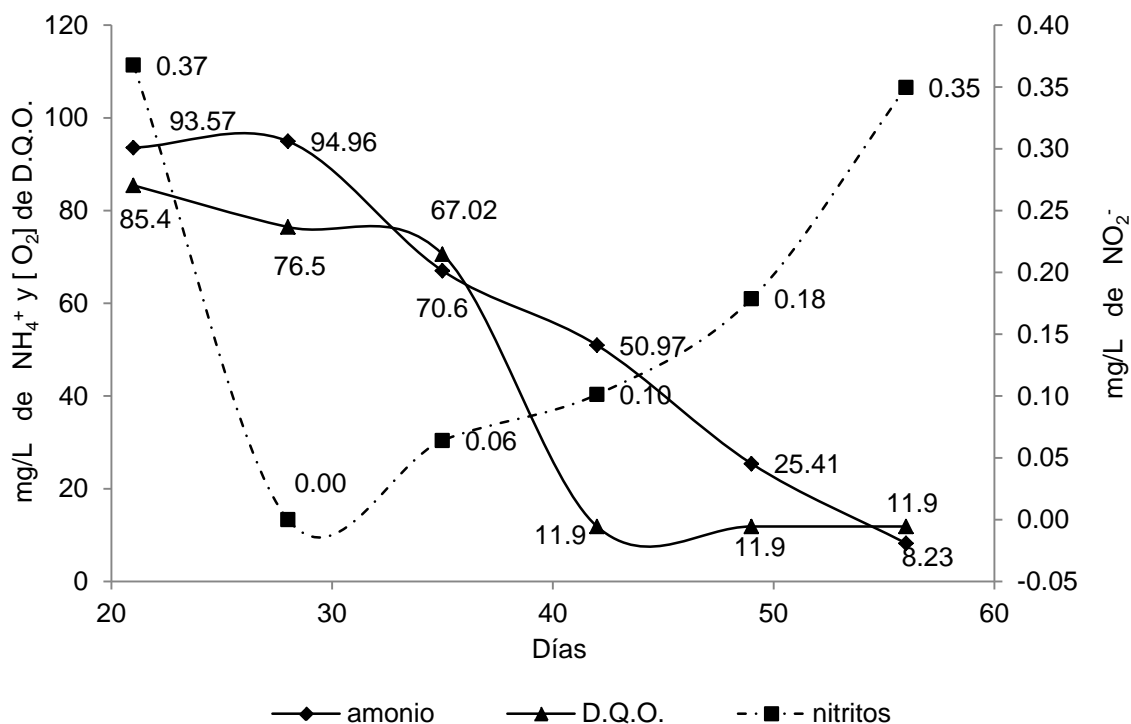


Figura 1:7 Dinámicas del  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y D.Q.O. en el REE periodo del día 21 al 56

Para el día 63 la concentración de amonio se incrementó hasta 88.49 mg/L, esto probablemente debido a muerte celular, como consecuencia de las altas concentraciones de nitritos, sin embargo la concentración de nitritos descendió, a tal punto que no fueron detectables por las técnicas empleadas, mismas que se mantuvieron con esa tendencia hacia el final del período de 84 días, lo cual permitió observar un aumento en la capacidad de transformación de nitritos a nitratos por parte de la comunidad de bacterias nitratantes. Sin embargo no es posible afirmar si se trata de un aumento en el tamaño de la población o bien en la afinidad por el sustrato.

En este sentido, las bajas concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  permitieron la actividad de las bacterias nitritantes y por consecuencia la degradación del amonio. En catorce días se registró una degradación de 37.63 mg/L, alcanzando para el día 84 una degradación de 80.26 mg/L, evidenciando una recuperación en la capacidad oxidadora de amonio por la comunidad de bacterias nitritantes. En cuanto a la concentración de  $\text{NO}_3^-$  la tendencia se mantuvo constante con un promedio de 0.21 mg/L.

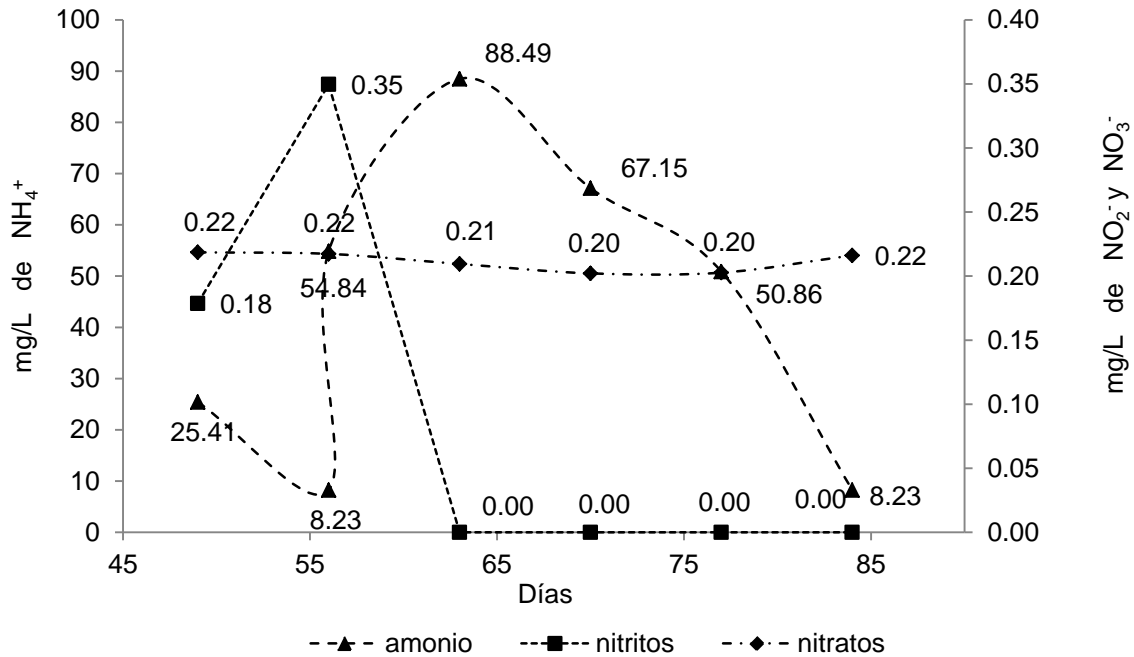


Figura 6:8. Dinámicas del  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  en el REE periodo del día 56 al 84

#### 6.4 Estabilización del REE

El periodo de estabilización en el REE fue determinado a los 86 días, periodo a partir del cual se observó una tendencia constante y periódica en los valores de degradación del  $\text{NH}_4^+$ . Durante este periodo se adicionó una solución enriquecida con amonio cada 7 días para compensar la pérdida debida a la degradación del amonio. Es importante mencionar que a partir de esta etapa de estabilización la concentración de amonio suministrada al reactor fue de 45 mg/L para obtener resultados con un periodo de respuesta más continua.

Asimismo, el comportamiento de la dinámica de degradación del amonio fue constante, mientras que la degradación y transformación de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  alcanzaron concentraciones muy bajas o no detectables por las técnicas empleadas. Las dinámicas de degradación del  $\text{NH}_4^+$  durante el periodo del día 84 al 100, estuvieron en promedio del 84.87 %, mientras que para el periodo entre los días 100 al 128 el promedio de degradación fue de 62.29 %.

En cuanto a las concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  los valores mantuvieron la tendencia de ser indetectables por las técnicas empleadas, esto, permite suponer que la población bacteriana encargada de la transformación de esta molécula a  $\text{NO}_3^-$  alcanzó una dinámica tal, que no permitió la acumulación de nitritos en el sistema, fomentando que la degradación del amonio se mantuviera constante. Sin embargo y a diferencia de los periodos analizados con anterioridad las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  se mantuvieron



constantes con promedio de 0.20 mg/L. A partir del periodo comprendido entre los días 84 y 113 se registró un descenso en las concentraciones de nitratos hasta en 95.77 %, posterior a este periodo los niveles de nitratos registran una concentración promedio de 0.04 mg/L, sugiriendo que se presentó un incremento en la tasa de transformación de  $\text{NO}_3^-$  a otros compuestos nitrogenados no detectables por las técnicas empleadas, denotando que la comunidad bacteriana encargada de la transformación de este compuesto alcanzó una cinética de degradación mayor.

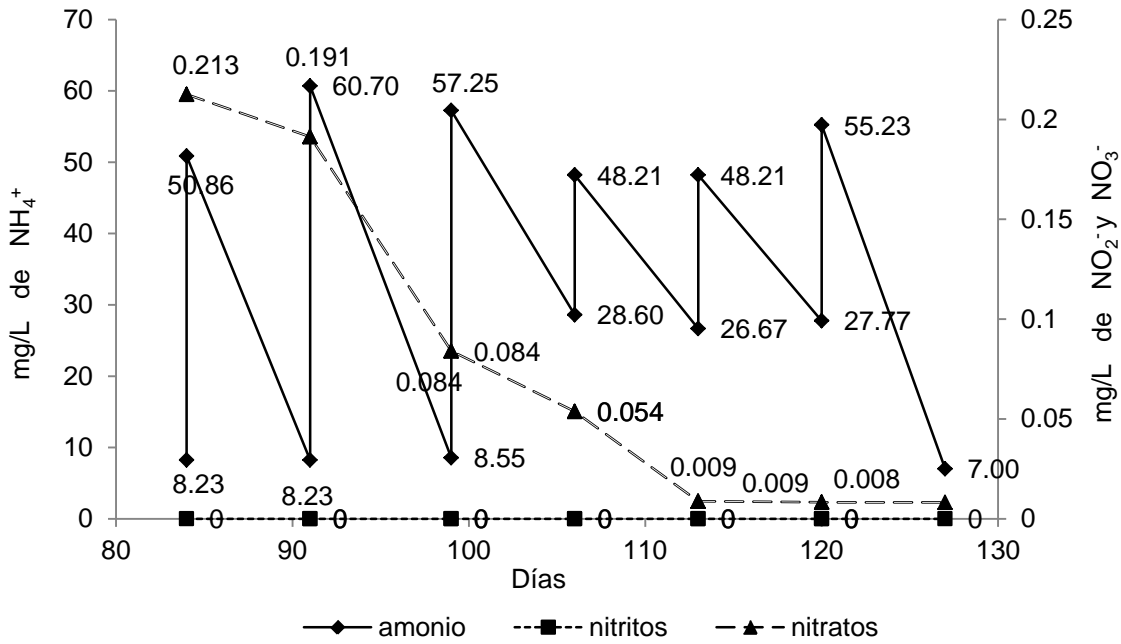


Figura 6:9. Dinámicas del  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  en el REE, periodo del día 86 al 128

Una vez alcanzada la estabilización en el sistema, se llevó a cabo la modificación del tiempo de residencia hidráulico y número de alimentaciones por día como se indica en el punto 5.1.4 del presente trabajo, estas pruebas arrojaron los datos presentados en la Tabla 6:5.

Se programó el sistema de automatización para suministrar cuatro, seis y ocho recirculaciones por día con agua enriquecida con amonio, a una concentración inicial de 45 mg/L., se hicieron pruebas al influente y efluente para determinar la disminución del amonio una vez por día hasta obtener valores por debajo de 15 mg/L.

Tabla 6:5. Resultados de pruebas sin plantas en el REE

Tiempo (d)	Concentración de N-NH <sub>4</sub> (mg/L)		
	4 recirculaciones /día	6 recirculaciones /día	8 recirculaciones /día
1	45	45	45
2	39	32	26
3	31	24	21
4	26	19	18
5	21	15	12
6	18	8	6
7	<b>7.1</b>	<b>5.3</b>	<b>4.2</b>

Al cabo de seis días de operación con cuatro recirculaciones por día, los valores de amonio disminuyeron hasta en un 84.44%, mientras que para seis recirculaciones por día los valores alcanzaron un valor mínimo de 5.3 mg/L de amonio lo que equivale al 88.22% y por último, al programar ocho recirculaciones los valores disminuyeron en un 90.7% las concentraciones de amonio en el sistema.

Para el primer número de recirculaciones, las concentraciones deseadas de amonio se alcanzaron hasta el día siete, para seis recirculaciones, seis días, mientras que para ocho recirculaciones de igual forma fueron seis días (Figura 6:10). Dado que para el número de recirculaciones de seis y ocho la concentración de amonio se logró disminuir en el mismo número de días, es importante contemplar como una operación más favorable el ciclo de seis recirculaciones ya que el valor deseado se alcanza aunado a un ahorro de energía con respecto al ciclo de ocho recirculaciones.

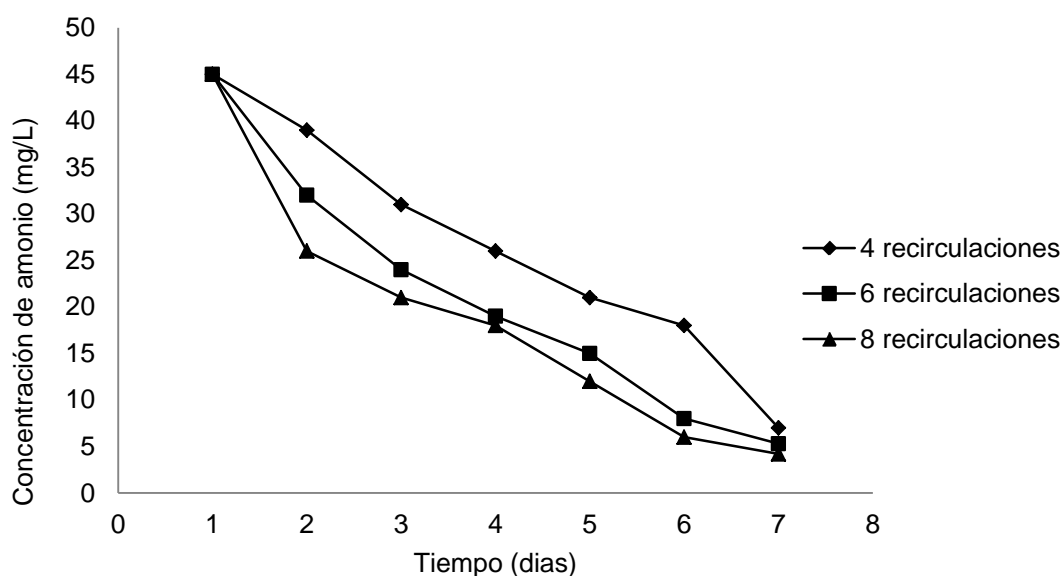


Figura 6:10. Dinámica del NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en el REE, cuatro, seis y ocho recirculaciones

#### 6.4.1 Resultados de la velocidad de degradación de amonio por cada número de recirculación en la etapa de estabilización sin plantas

A continuación se presentan los valores de las constantes de degradación de amonio generadas por los resultados previos.

Tabla 6:6. Constantes de degradación de amonio en el REE

Tratamiento	$K_s(\text{NH}_4^+)$ constante de degradación del Amonio [1/t]
$\text{NH}_4^+$ (4 recirculaciones)	-0.266
$\text{NH}_4^+$ (6 recirculaciones)	-0.356
$\text{NH}_4^+$ (8 recirculaciones)	-0.474

Los resultados que se generaron acerca de las cinéticas de degradación del  $\text{NH}_4^+$  en un medio enriquecido con amonio e inoculados con bacterias *Nitrosomonas europaea*, (Tabla 6:6) permitieron calcular y estimar la dinámica de degradación del amonio bajo condiciones controladas (Figura 6:11 y 6:12). La degradación del amonio es resultado en gran medida de la actividad metabólica de los organismos nitrificantes (Kadlec, 2009), por lo tanto el seguimiento de las dinámicas poblacionales de *Nitrosomonas europaea* evidencian la existencia de amonio como fuente energética. El seguimiento de la transformación del amonio en la etapa de arranque condujo a los siguientes resultados.

En las Figuras 6:11 y 6:12, se observa la velocidad de degradación y transformación de amonio en el reactor experimental empacado en la etapa de estabilización, en estos resultados se logra ver que la transformación se llevó a cabo partiendo desde un tiempo cero hasta 7 días como máximo para 4, 6 y 8 recirculaciones.

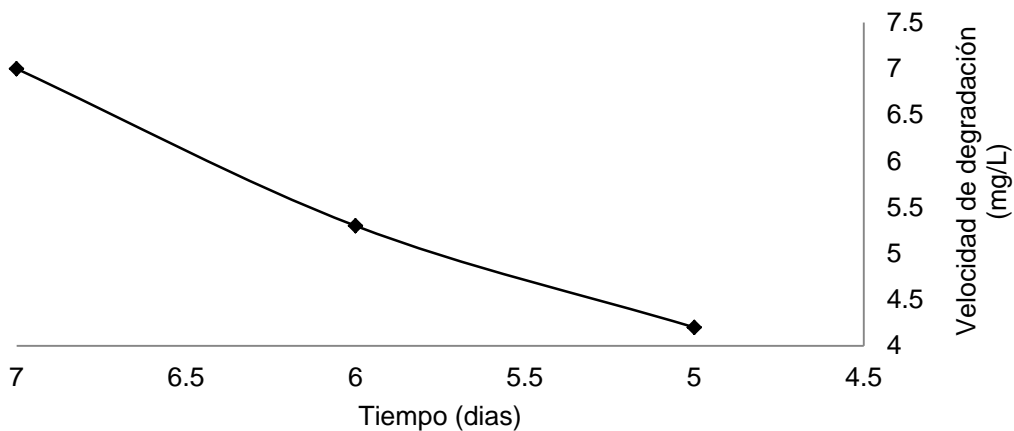


Figura 6:11. Velocidad de degradación del amonio en el REE en la etapa de estabilización sin plantas

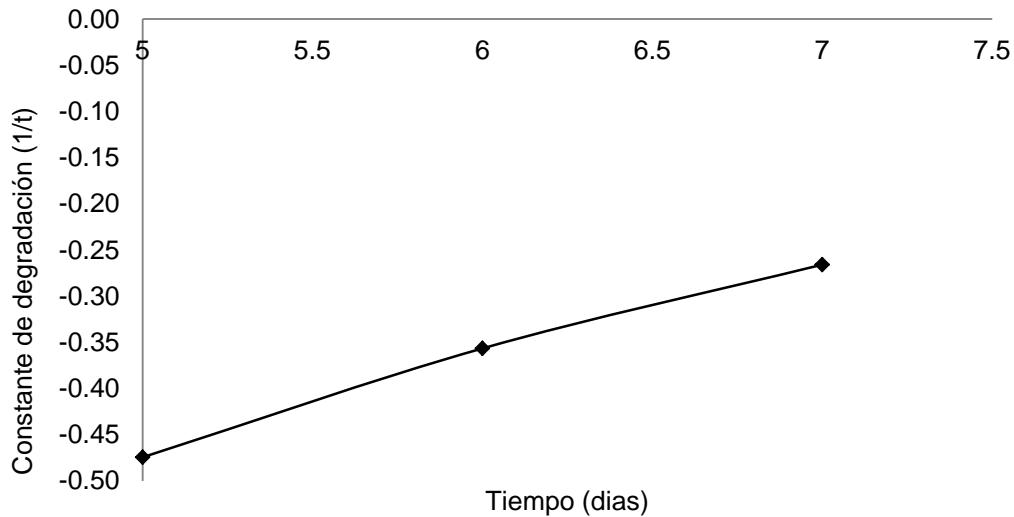


Figura 6:12. Constantes de degradación del amonio en el REE

### 6.5 Resultados en el REE con plantas

Con el propósito de observar si existe algún efecto en la eficiencia de remoción de amonio en el REE, se introdujo un componente vegetal. Éste, se integro al sistema una vez determinado el número de recirculaciones más conveniente para la transformación del amonio reportado en este trabajo. La especie vegetal fue *Arundo donax*, estas fueron previamente propagadas, a las cuales, por medio de lavados con agua corriente, se les retiro el excedente de sustrato en la zona del rizoma para ser introducidos 4 ejemplares en el sistema como lo muestra la siguiente imagen (Figura 6:13).

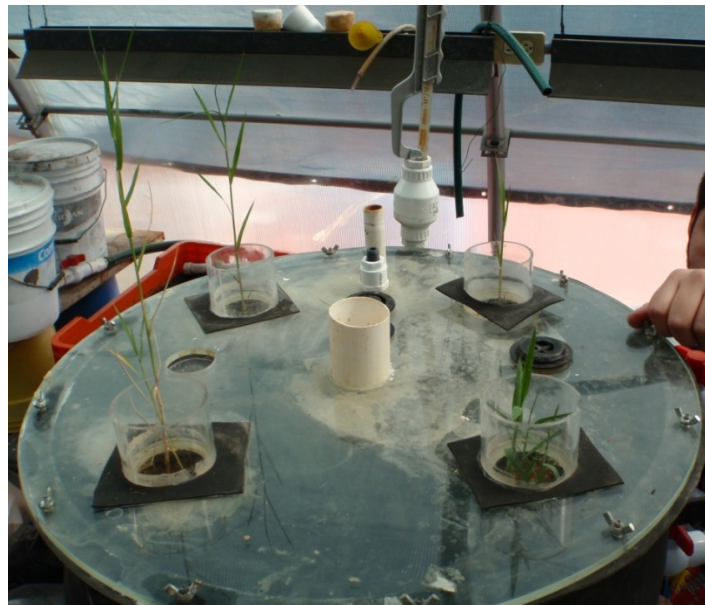


Figura 6:13. Incorporación de especies vegetales al sistema

---

El tiempo de adaptación de las especies llevó aproximadamente ocho semanas ya que hubo la necesidad de sustituir varias veces la especie debido a su inestabilización en el medio de empaque dentro del sistema. Una vez adaptadas las plantas, se les dio seguimiento dosificando el agua enriquecida con amonio para estabilizar el sistema, esto último, se llevó al observar la transformación del amonio medido mediante las pruebas de laboratorio.

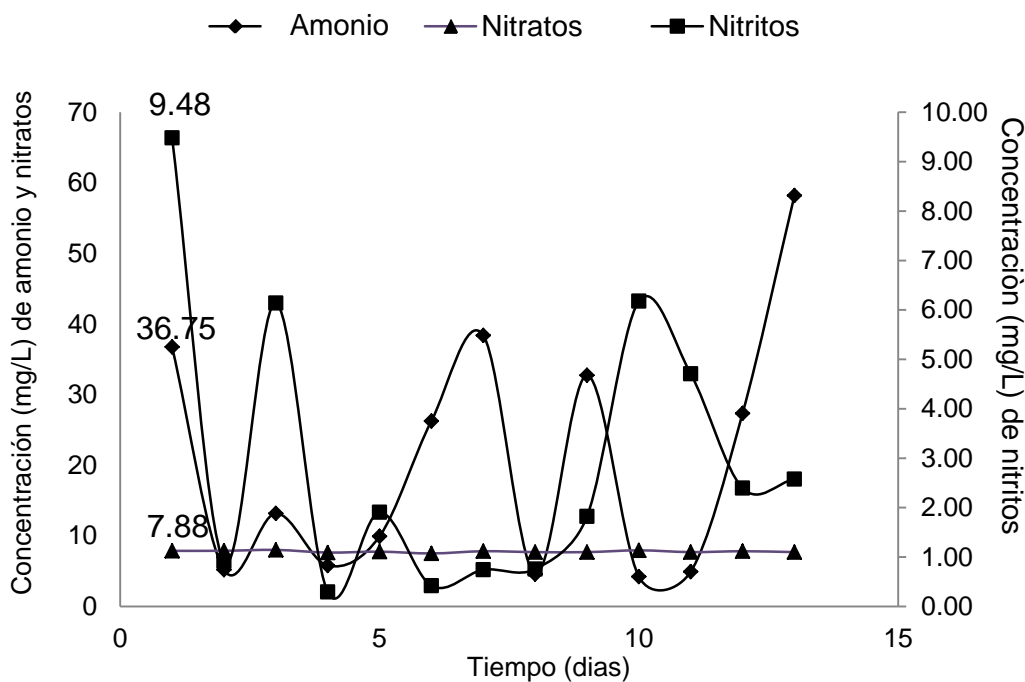
Para esta prueba se tomaran en cuenta las mismas variables de operación antes reportadas, esto con el fin de hacer una comparación en cuanto al efecto que puedan tener las plantas en el sistema.

En esta última etapa de experimentación, se comenzó a obtener valores del comportamiento del REE funcionando con 4 recirculaciones por día. Estos resultados presentan un comportamiento parecido a la fase de arranque. En la Figura 6:13 se representan los datos obtenidos después de aproximadamente 20 días de operación con las plantas en adaptación.

El comportamiento del REE con la integración de las plantas fue inconsistente, la concentración de amonio variaba en función del tiempo y conforme se reemplazaba el amonio transformado. Esto podría ser una respuesta de que existe un efecto adicional por parte de las plantas en el sistema en cuanto a la transformación de amonio, por supuesto sin dejar atrás la madurez y estabilidad a la cual está operando el REE.

Es importante mencionar que los muestreos en esta etapa experimental se llevaron a cabo dos veces al día (mañana y tarde del cual se tomó un promedio) dado que la disminución del amonio alcanzaba valores muy alejados uno de otro, esto con el fin de hacer una captura de información un poco más detallada que permitiera entender más el proceso de transformación del amonio.

En la Figura 6:14 se representan los valores obtenidos del REE una vez incorporadas las plantas al sistema. Es importante mencionar que en la figura existe una concentración por encima de los 50 mg/L de amonio. Esto puede ser debido a la variación del volumen en el REE debido a la toma de muestras, a la evaporación-evapotranspiración, o a las técnicas de preparación del influente. Sin embargo, en principio se puede suponer que los valores a los que llega la disminución del amonio podrían ser debidos en parte, por la introducción de las plantas.



**Figura 6:14. Dinámica del  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  el REE con plantas (etapa de adaptación)**

Zegal (1994), comenta que las plantas absorben compuestos solubles del nitrógeno, tanto en la forma de nitrato (que constituye la forma dominante de N soluble en el suelo) como la forma de amonio. El equilibrio estará en función de las especies, pero en general, el nitrato constituye la fuente principal de N para los cultivos. Los microorganismos pueden utilizar ambas formas como fuentes de N pero en general prefieren amonio.

Una vez que las plantas se acondicionaron en el sistema se comenzó a modificar las condiciones de operación para hacer una comparación del posible aporte o efecto que las plantas pudieran brindar al sistema, como se indica en el punto 5.1.4 del presente trabajo, estas pruebas arrojaron los siguientes datos:

En la Tabla 6:7 se presentan los datos (en promedio) obtenidos para cada punto de muestreo en el REE con plantas, la disminución de las concentraciones de amonio la cual fue de 45.86 mg/L al inicio, fue disminuyendo con respecto al tiempo de contacto del agua sintética en el material de empaque.

Tabla 6:7. Resultados operando el REE con cuatro recirculaciones con plantas

4 recirculaciones por día [amonio]			
Tiempo (días)	Punto 1 [mg/L]	Punto 2 [mg/L]	Punto 3 [mg/L]
0.0	45.86	45.86	45.86
0.5	43.42	41.15	41.62
1.0	40.75	41.07	39.18
1.5	36.67	39.03	35.10
2.0	34.86	36.12	32.66
2.5	32.58	33.13	28.11
3.0	27.40	29.99	25.67
3.5	19.94	20.09	18.99
4.0	16.72	17.42	16.09
4.5	13.18	11.22	9.10

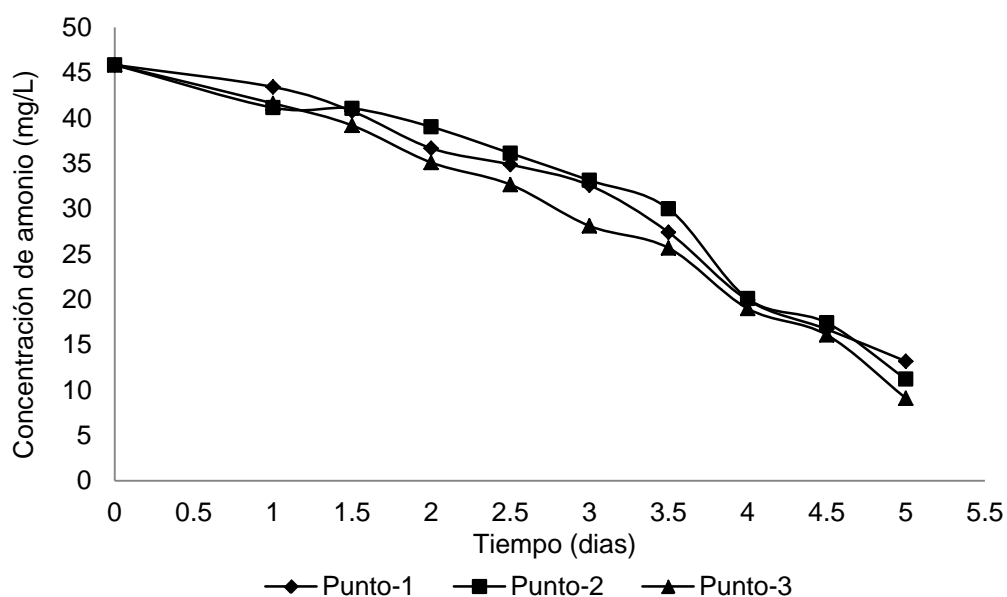


Figura 6:15. Comportamiento del amonio para cuatro recirculaciones con plantas

En la Figura 6:15 se muestra que para obtener valores por debajo de los 15 mg/L de amonio fue necesario operar 4.5 días el REE con cuatro recirculaciones por día. Esto llevó a un valor final de 13.18, 11.22 y 9.10 mg/L de amonio para los puntos de muestreo 1, 2 y 3, respectivamente. Estas concentraciones nos dan un valor en promedio de 11.16 mg/L en 4.5 días, por lo tanto hay una mejoría en el tiempo de resultados de hasta un 35% menos, con lo cual existe un ahorro de energía significativo en la operación del REE para obtener valores por debajo de los 15 mg/L.

---

Los resultados obtenidos en el REE con plantas en operación con seis recirculaciones arrojaron la siguiente tabla de datos:

**Tabla 6:8. Resultados operando el REE con seis recirculaciones con plantas**

<b>6 recirculaciones por día [amonio]</b>			
<b>Tiempo (días)</b>	<b>Punto 1 [mg/L]</b>	<b>Punto 2 [mg/L]</b>	<b>Punto 3 [mg/L]</b>
<b>0.0</b>	40.66	40.66	40.66
<b>0.5</b>	35.81	35.21	31.71
<b>1.0</b>	33.93	31.03	31.71
<b>1.5</b>	29.75	26.34	27.62
<b>2.0</b>	25.15	24.38	23.10
<b>2.5</b>	22.25	18.41	19.27
<b>3.0</b>	21.23	15.00	20.38
<b>3.5</b>	15.69	9.46	10.74
<b>4.0</b>	14.66	8.01	8.27

En la Tabla 6:8 se presentan los datos obtenidos de la operación del REE con plantas y seis recirculaciones por día, el tiempo de contacto disminuyó a cuatro días para obtener resultados con concentraciones menores a los 15 mg/L de amonio. En este modo de operación la concentración inicial fue de 40.66 mg/L de amonio. Los resultados para los puntos 1, 2 y 3 son 14.66, 8.01 y 8.27, respectivamente. Estos valores dan un promedio en la concentración de 10.31 mg/L en cuatro días de operación; esto brinda un ahorro energético del 33% con respecto a los valores obtenidos en el reactor operando sin plantas. De igual forma estos valores se encuentran por debajo de los 15 mg/L de amonio.

En la Figura 6:16, se observan valores por debajo de los 15 mg/L de amonio operando 4 días el REE con seis recirculaciones por día en el REE con plantas. La tendencia de los valores en las concentraciones de amonio en cuanto al tiempo de contacto del agua en el medio de empaque dentro del reactor disminuye con respecto a los valores obtenidos operando con 4 recirculaciones.

Para finalizar la etapa experimental, el REE con plantas es programado para operar con ocho recirculaciones por día adicionando una concentración inicial de amonio en el agua sintética de 44.67 mg/L.



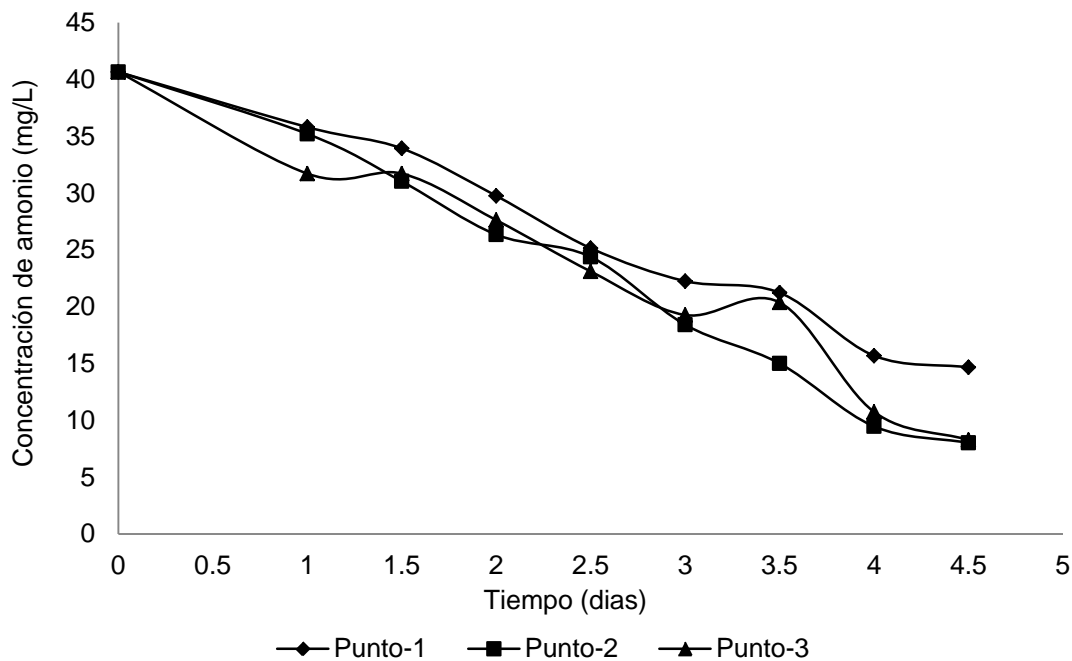


Figura 6:16. Comportamiento del amonio para seis recirculaciones con plantas

En la Tabla 6:9 se presentan los resultados obtenidos para una operación de ocho recirculaciones con plantas en el REE por día. El tiempo de contacto disminuyó a 3 días de contacto del agua sintética dentro del sistema. Los valores finales para los puntos 1, 2 y 3 se presentan en esta tabla, lo que en promedio arroja un valor de 12.39 mg/L. En cuanto al tiempo de operación hay un 40% de ahorro en la operación del sistema.

Tabla 6:9. Resultados operando el REE con ocho recirculaciones con plantas

8 recirculaciones por día [amonio]			
Tiempo (días)	Punto 1 [mg/L]	Punto 2 [mg/L]	Punto 3 [mg/L]
0.0	44.67	44.67	44.67
0.5	31.97	26.34	22.17
1.0	33.16	26.94	24.47
1.5	26.64	21.14	17.82
2.0	20.55	17.48	16.62
2.5	15.09	14.58	10.23
3.0	13.98	14.07	9.12

En la Figura 6:17 se observa que el tiempo de contacto disminuyó de forma considerable con respecto a los resultados que se obtuvieron en el reactor sin plantas obteniendo resultados por debajo de los 15 mg/L de amonio.

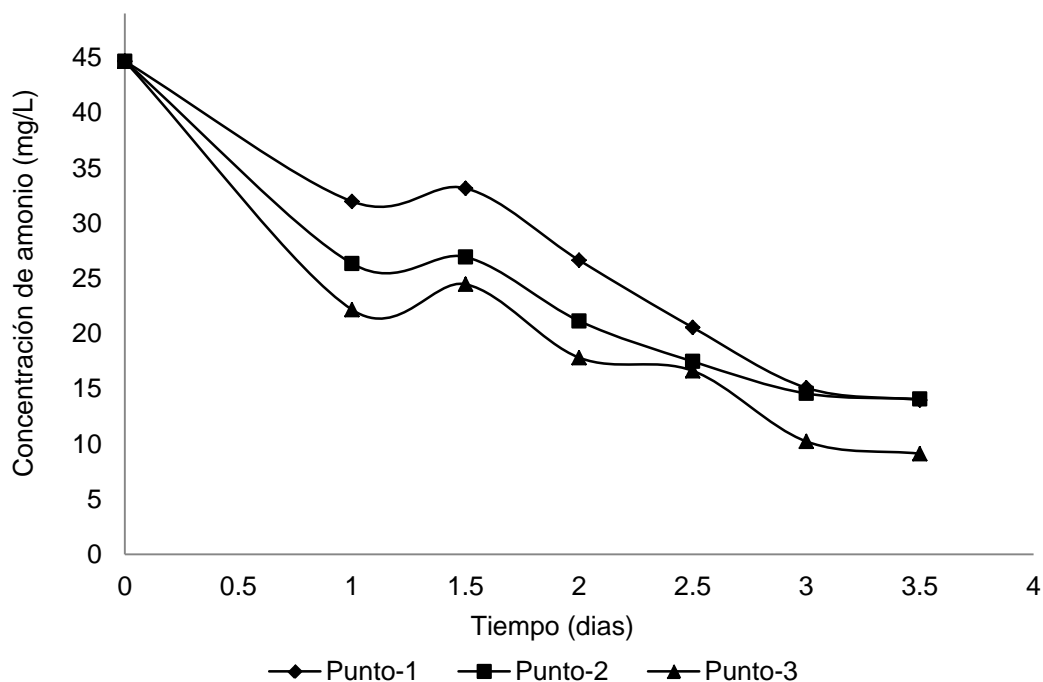


Figura 6:17. Comportamiento del amonio para ocho recirculaciones con plantas

### 6.6 Resultados de las constantes cinéticas de degradación del amonio, nitritos y nitratos en el sistema en estabilización con plantas

Los resultados generados sobre cinéticas de degradación del  $\text{NH}_4^+$  en el REE enriquecido con amonio e inoculado con bacterias *Nitrosomonas europaea*, permitieron realizar los cálculos y estimaciones sobre la dinámica de degradación y transformación del amonio hacia nitritos y nitratos bajo condiciones controladas. La degradación del amonio así como la producción de nitritos y nitratos son resultado en gran medida de la actividad metabólica de los organismos nitrificantes (Kadlec, 2009), por lo tanto el seguimiento de las dinámicas poblacionales de *Nitrosomonas europaea* evidencian la existencia de una fuerte correlación y especificidad al amonio como fuente energética. El seguimiento de las cinéticas bacterianas en los medios enriquecidos condujo a los siguientes resultados:

En la Tabla 6:10 se pudo observar que las concentraciones para cada punto de muestreo (1, 2 y 3) disminuyeron conforme desciende el agua sintética a lo largo del reactor experimental empacado como se esperaba; esto se reflejó en las constantes de degradación al presentar signo negativo dichos valores.

Asimismo, los valores de nitritos se mantienen en un valor promedio de 2.57 mg/L, mostrando valores de constantes positivos con lo que se evidencia la transformación del amonio a nitritos como se esperaba. En esta tabla es importante observar que los

tiempos de contacto fueron de 4.5 días como tiempo final en la experimentación manejando 4 recirculaciones por cada día.

**Tabla 6:10. Constantes de formación para la transformación del amonio con plantas operando con 4 recirculaciones en el REE**

Especie	Punto	Concentración inicial (mg/L)	Concentración final (mg/L)	Tiempo final (días)	Tiempo inicial (días)	Constante de degradación del sustrato (Ks) (1/día)
<b>Amonio</b>	<b>1</b>	45.86	13.18	4.5	0	-0.277
	<b>2</b>	45.86	11.22	4.5	0	-0.313
	<b>3</b>	45.86	9.1	4.5	0	-0.359
<b>Nitritos</b>	<b>1</b>	1.05	2.35	4.5	0	0.179
	<b>2</b>	1.01	2.35	4.5	0	0.188
	<b>3</b>	0.67	3.03	4.5	0	0.335
<b>Nitratos</b>	<b>1</b>	7.88	7.72	4.5	0	-0.005
	<b>2</b>	7.41	7.76	4.5	0	0.010
	<b>3</b>	7.45	7.69	4.5	0	0.007

De igual forma en la Tabla 6:11 se observa que los valores partiendo de la concentración inicial de 40.66 mg/L, presentaron valores negativos en las constantes de degradación del amonio; en comparación a la experimentación anterior, en esta tabla se observa que el tiempo de contacto del agua sintética con el material de soporte disminuyó 0.5 días, mientras que los nitritos aumentaron en un 0.89 mg/L en comparación con las concentraciones en promedio anteriores, de igual forma es importante observar que el número de recirculaciones fue de 6 por día.

Por último, en la Tabla 6:12 se presentan los valores obtenidos para la operación de 8 recirculaciones por día, en estos valores se observó que el tiempo disminuyó para obtener los valores en la concentración de amonio por debajo de los 15 mg/L, requisito necesario por el cual las dos etapas anteriores también se consideraron concluidas para la etapa experimental del presente trabajo.

Por último, en la Figura 6:17 se muestran los valores obtenidos que se generaron a partir de la etapa experimental manejando tres distintos tiempos de recirculación en el REE con plantas, como lo muestran la Tabla 6:10, Tabla 6:11 y Tabla 6:12, en ellas se observa que algunos valores en las constantes son negativos como era de esperarse dado que el amonio es transformado a nitritos por la actividad metabólica de los

organismos bajo condiciones controladas, asimismo, el nitrito es transformado de igual forma para ser transformado a nitratos.

**Tabla 6:11. Constantes de formación para la transformación del amonio con plantas operando con 6 recirculaciones en el REE**

Especie	Punto	Concentración inicial (mg/L)	Concentración final (mg/L)	Tiempo final (días)	Tiempo inicial (días)	Constante de degradación del sustrato (Ks) (1/día)
<b>Amonio</b>	1	40.66	14.66	4	0	-0.255
	2	40.66	8.11	4	0	-0.403
	3	40.66	8.27	4	0	-0.398
<b>Nitritos</b>	1	1.26	3.11	4	0	0.226
	2	1.64	3.53	4	0	0.192
	3	0.97	3.74	4	0	0.338
<b>Nitratos</b>	1	1.27	1.37	4	0	0.020
	2	1.25	1.36	4	0	0.021
	3	1.25	1.29	4	0	0.008

**Tabla 6:12. Constantes de formación para la transformación del amonio con plantas operando con 8 recirculaciones en el REE**

Especie	Punto	Concentración inicial (mg/L)	Concentración final (mg/L)	Tiempo final (días)	Tiempo inicial (días)	Constante de degradación del sustrato (Ks) (1/día)
<b>Amonio</b>	1	44.67	13.98	3	0	-0.387
	2	44.67	14.07	3	0	-0.385
	3	44.67	9.12	3	0	-0.530
<b>Nitritos</b>	1	1.34	1.12	3	0	-0.060
	2	1.21	1.23	3	0	0.005
	3	0.96	1.02	3	0	0.021
<b>Nitratos</b>	1	1.27	1.35	3	0	0.021
	2	1.25	1.31	3	0	0.016
	3	1.25	1.33	3	0	0.019

Estos resultados al igual que los que se muestran en la tabla 6:6, pueden ser tomados como referencia en diseños a futuro, dado que reflejan el comportamiento del trabajo aquí descrito y no para usarse como base de diseño en otros equipos, basados en conceptos como la cinética, la dinámica y la estructura de futuros reactores como lo indican las leyes de similitud.

## 6.7 Balance de materia en el REE para 4, 6 y 8 recirculaciones por día sin y con plantas

Una vez capturados los datos necesarios en el REE para determinar modo de operación más conveniente, se dispuso a llevar a cabo un balance de materia por cada número de recirculaciones y así estimar las distintas rutas en las pérdidas de amonio así como de sus diferentes especies en el sistema. Estos balances son medidos partiendo de la etapa de estabilización del sistema, es decir a partir de los 129 días de haber iniciado la etapa experimental.

Para el balance de materia que se muestra en la Figura 6:19, el cual operó con microorganismos sin plantas, se obtuvo una pérdida total del 84.22% de la concentración de amonio inicial, de los cuales 14.4% fue pérdida por muestreo y el 12.31% por volatilización (ver ANEXO) como  $\text{NH}_3^+$ , mientras que el 6.96% del nitrógeno es adsorbido por el material de empaque en el sistema; con esto se obtiene un valor del 50.51% de remoción por parte de los microorganismos en el sistema, esto pone en evidencia la importancia de los microorganismos en cuanto a la oxidación del amonio en el sistema de tratamiento.

### CUATRO RECIRCULACIONES SIN PLANTAS

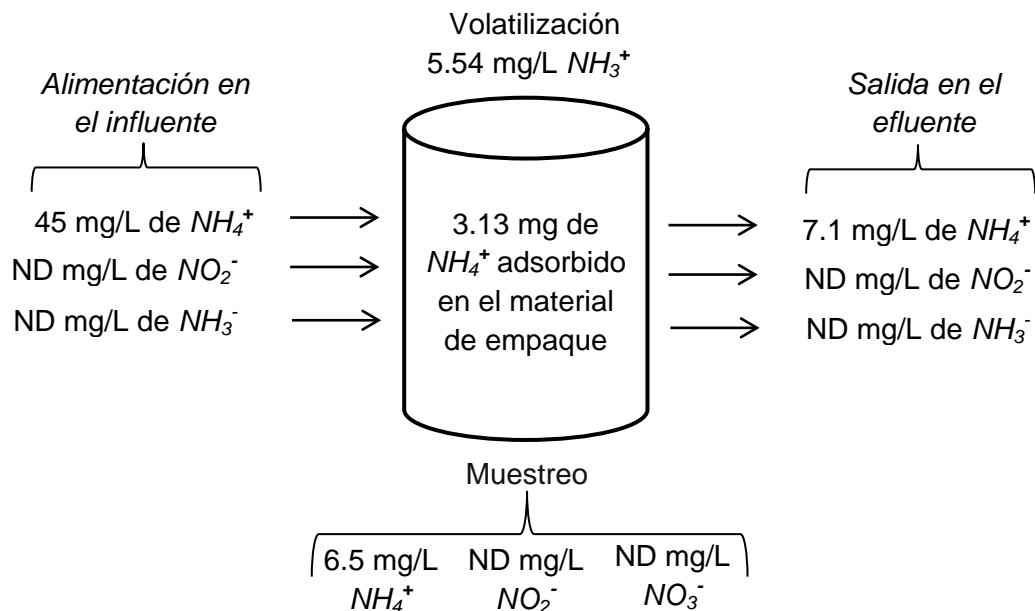


Figura 6:18 Balance de materia para el REE operando con cuatro recirculaciones con microorganismos sin plantas

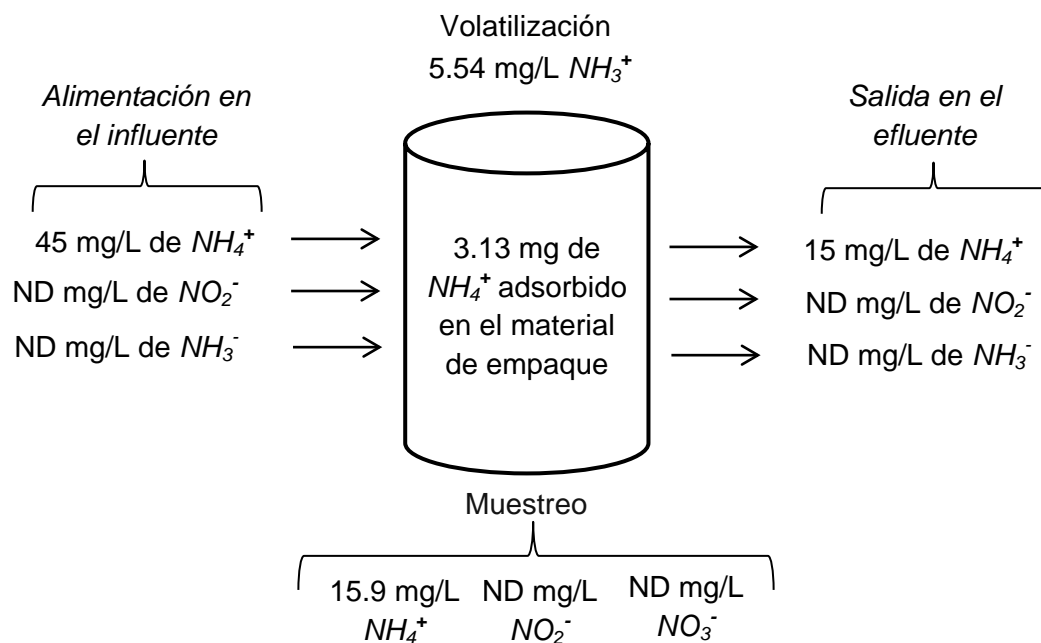
### SEIS RECIRCULACIONES SIN PLANTAS

En la Figura 6:20 se observa que el sistema operando con seis recirculaciones por día remueve hasta un 66.66% de  $\text{NH}_4^+$ , el 14.4% en el muestreo y de igual forma que en el

modo de operación anterior el 12.31% por volatilización como  $\text{NH}_3^+$ , mientras que el 6.96% del nitrógeno es adsorbido por el material de empaque en el sistema; por lo tanto, el 32.95% del amonio es transformado por los microorganismos del sistema.

### OCHO RECIRCULACIONES SIN PLANTAS

Para la última condición de operación la cual fue de 8 recirculaciones por día, (Figura 6:21) el porcentaje de amonio removido fue del 73.33% a la salida del sistema alcanzando una concentración final de 12 mg/L, del cual el 14.4% pertenece al muestreo, el 12.31% y 6.96% de amonio volatilizado como  $\text{NH}_3^+$  y adsorbido en el material de empaque respectivamente, mientras que el 39.62% fue transformado mediante la actividad de los microorganismos.



**Figura 6:19. Balance de materia para el REE operando con seis recirculaciones con microorganismos sin plantas**

Como ya se observó con anterioridad, el porcentaje de remoción total durante siete días de operación varía desde el 84.22, 66.67 y 73.33% para 4, 6 y 8 recirculaciones respectivamente en el sistema; con esto se creería que el número de 4 y 8 recirculaciones es el ideal por tener el mayor porcentaje de remoción, pero es importante observar el tiempo de operación y concluir al respecto. Los valores reportados en las concentraciones finales para los balances de materia en el sistema sin plantas, se hicieron a partir de que el amonio alcanzó valores por debajo de los 15 mg/L como lo indica la NOM-001-SEMARNAT-1996, la cual establece los límites

máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, donde establece el valor antes mencionado para la protección de vida acuática como se había planteado con anterioridad.

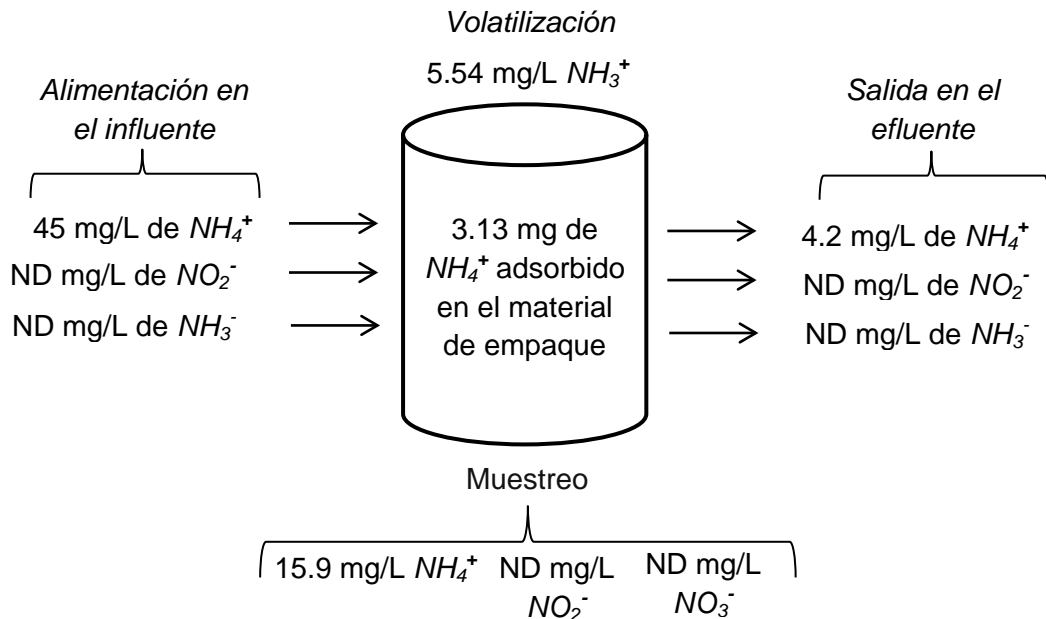


Figura 6:20. Balance de materia para el REE operando con ocho recirculaciones con microorganismos sin plantas

#### CUATRO RECIRCULACIONES CON PLANTAS

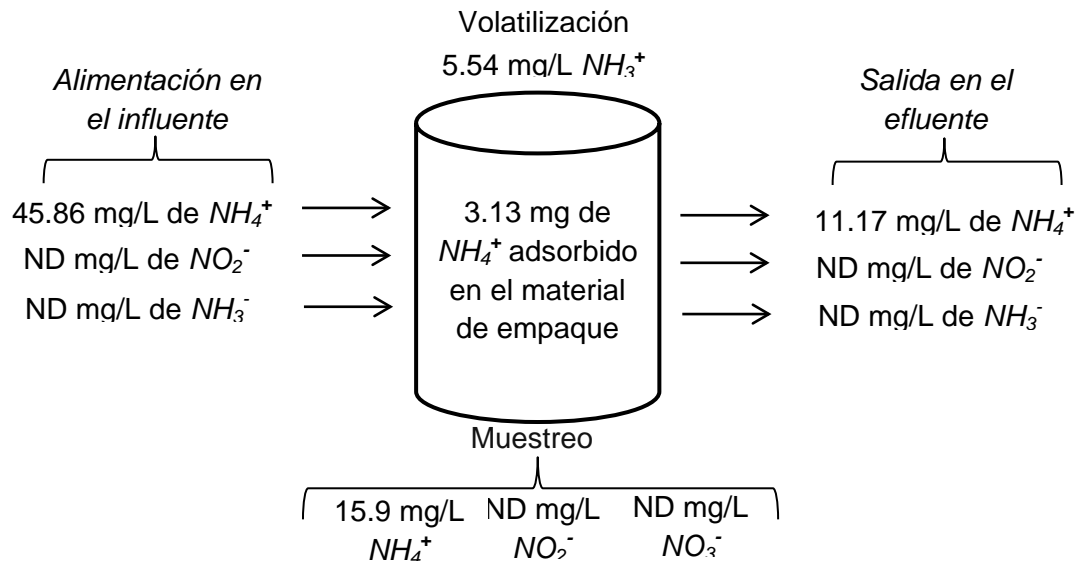


Figura 6:21. Balance de materia para el REE operando con cuatro recirculaciones con microorganismos y con plantas

## SEIS RECIRCULACIONES CON PLANTAS

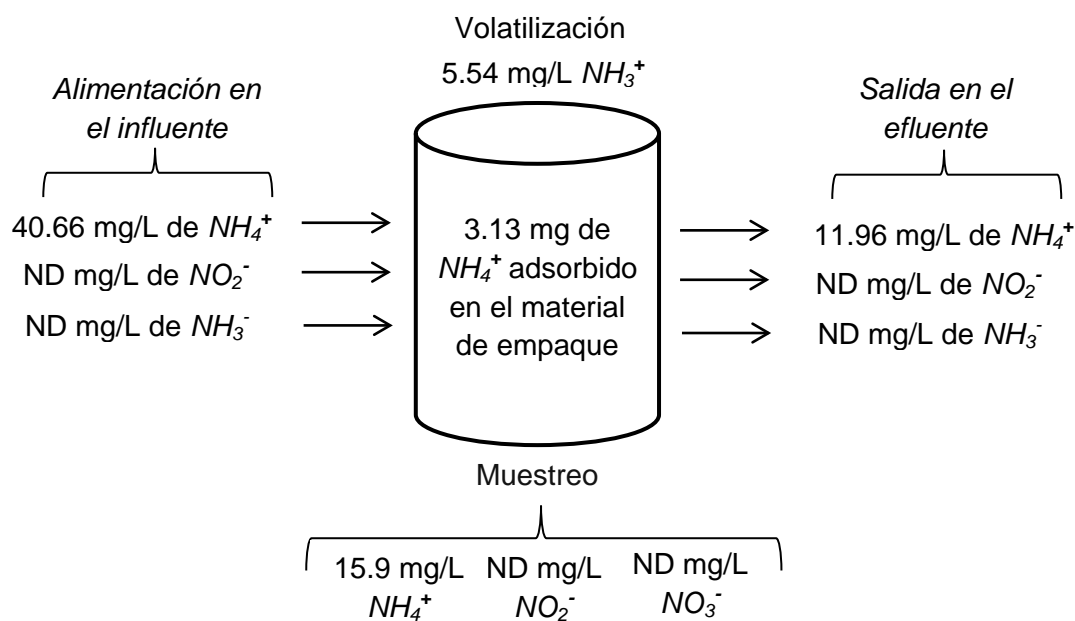


Figura 6:22. Balance de materia para el REE operando con seis recirculaciones con microorganismos y con plantas

En la Figura 6:22 se muestra el balance de masa para el REE con microorganismos y con plantas para cuatro recirculaciones por día. El porcentaje de remoción total del amonio fue de 75.64%; de igual forma se obtiene un valor del 33.71% de pérdidas en el sistema por adsorción, muestreo y volatilización conjuntamente.

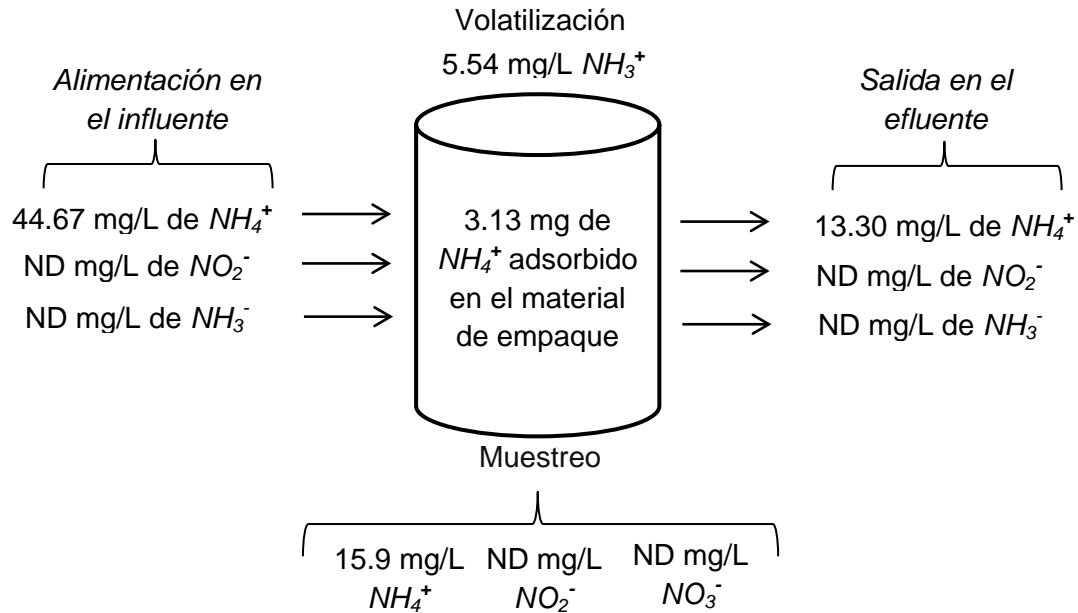
En la Figura 6:23 se muestra el segundo modo de operación de la etapa experimental del reactor con plantas, en este, la transformación y remoción total del amonio fue del 73.04%, de los cuales, al igual que en los demás modos de operación, el 33.71% el llevado a cabo por medio de la volatilización, el muestreo y lo adsorbido por el material de empaque contenido en el sistema. Es importante observar que la disminución de amonio crece en función de las recirculaciones, esto aunado a la actividad microbiana la cual ha permanecido en un estado de madurez reflejado en la estabilidad del mismo.

Para el último modo de operación propuesto en la parte experimental del presente trabajo se muestra en la Figura 6:24 el balance de materia para el REE con microorganismos y plantas, en este balance se alcanza la mayor remoción del amonio llevada a cabo por los microorganismos así como los demás fenómenos físico-químicos que ocurren en el REE como lo son las volatilización, la toma de muestras y el amonio absorbido por el material de empaque. En el sistema la transformación del



amonio el cual corresponde al 33.67% del amonio obedece a las pérdidas por evaporación, adsorción y muestreo en el sistema.

### OCHO RECIRCULACIONES CON PLANTAS



**Figura 6:23. Balance de materia para el REE operando con ocho recirculaciones con microorganismos y con plantas**

El amonio total removido es del 70.23%, de los cuales el 33.71% corresponde a los fenómenos físico-químicos que ocurren dentro del sistema mientras que el 36.52% corresponde a la actividad de los microorganismos que se encuentran dentro del sistema.

En resumen, la degradación o transformación del amonio, en su mayoría es debida a la actividad de los microorganismos que se encuentran adheridos al material de empaque dentro del REE, esta actividad es estimulada conforme se aumentan los ciclos de recirculación en el sistema o también conocidos como tiempos de contacto o tiempo de residencia hidráulica. Es importante mencionar que para las dos etapas de trabajo en la parte experimental de este trabajo en el reactor experimental empacado, (etapa de trabajo con y sin plantas) los factores importantes en la remoción fueron el número de recirculaciones y por lo tanto el tiempo de residencia hidráulica o tiempo de contacto del agua sintética con el material de empaque. De igual forma, se observó una rapidez en términos de tiempo de la transformación del amonio con plantas en el REE en comparación con el que no contaba con plantas, sin embargo no se determinó cuantitativamente el aporte de las plantas en el sistema ya que no es un alcance del presente trabajo, pero si se reporta un análisis estadístico el cual permitirá determinar

si es o no significativo el componente vegetal dentro del sistema. De igual forma se toma en cuenta trabajos previos a esta investigación para conocer datos numéricos que digan cual es el aporte de las plantas en un sistema con las mismas características

En la siguiente tabla se presenta un resumen de los datos obtenidos, en el cual, se observa la diferencia entre los porcentajes de remoción con plantas y sin plantas en el REE.

**Tabla 6:13. Datos obtenidos en el sistema por etapas (sin y con plantas)**

		Pérdidas por efecto físico (volatilización, muestreo y adsorción)(%)	Rem. total (%)	Rem. microo. (%)	C.i (mg/L)	C.f (mg/L)	$\Theta$ (d)
<b>Sistema</b>	Sin plantas						
	4 recirculaciones	33.71	84.22	50.51	45	7.1	7
	6 recirculaciones	33.71	66.67	32.96	45	15	5
	8 recirculaciones	33.71	73.33	39.62	45	12	5
	Con plantas						
	4 recirculaciones	33.71	75.64	41.93	45.86	11.17	4.5
	6 recirculaciones	33.71	73.04	39.33	40.66	10.96	4
	8 recirculaciones	33.71	70.23	36.52	44.67	13.30	3

$\Theta$  (d), tiempo en días, rem (remoción), Ci y Cf (concentración inicial y final), microo (microorganismos)

## 7. Resultados de análisis estadístico

Una vez presentados los resultados obtenidos en la etapa experimental de este trabajo, estos se evaluaron mediante estadística descriptiva (coeficiente de variación y *t* de Student), la cual, permitió reducir el conjunto de datos para describir ambos experimentos, la etapa de experimentación sin plantas y con plantas dentro del reactor; tomando en cuenta que las variables son del tipo cuantitativas, unidimensionales y continuas.

Es importante mencionar que las pruebas estadísticas antes mencionadas son solo factibles para los datos colectados en este trabajo de investigación, ya que para un sistema alterno, se tendrán que aportar y considerar otras condiciones de operación.

Como ya se había mencionado en el capítulo 6, sección 6.4 (Tabla 6:5) los resultados de las pruebas sin plantas en el reactor proporcionaron datos que permitieron llegar a un valor considerable para detener la operación del reactor apegados a los límites máximos de la NOM-001-SEMARNAT-1992. La recopilación de datos se obtuvieron

hasta un máximo de 7 días ininterrumpidos en su operación; estos datos fueron tomados cada día aproximadamente a la misma hora. Como se comento, los datos presentan valores por debajo de los 15 mg/L a diferentes tiempos, asimismo, para los datos colectados en la etapa del reactor donde se incorporaron las plantas (ver Tabla 6:13). Partiendo de los datos del reactor con plantas, se determina una prueba para conocer el coeficiente de variación (Anexo A) entre los diferentes puntos de muestreo para cada número de recirculación en el reactor experimental como se muestra en las siguientes tablas:

**Tabla 7:1. Coeficiente de variación para los puntos 1, 2 y 3 con 4 recirculaciones con plantas (amonio)**

<b>Concentración (mg/L)</b>			<b>Desviación estándar</b>	<b>Media</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>Punto 1</b>	<b>Punto 2</b>	<b>Punto 3</b>			
45.86	45.86	45.86	0	45.86	<b>0</b>
43.42	41.15	41.62	1.20	42.06	<b>0.03</b>
40.75	41.07	39.18	1.01	40.34	<b>0.03</b>
36.67	39.03	35.10	1.98	36.93	<b>0.05</b>
34.86	36.12	32.66	1.75	34.55	<b>0.05</b>
32.58	33.13	28.11	2.76	31.28	<b>0.09</b>
27.40	29.99	25.67	2.17	27.69	<b>0.08</b>
19.94	20.09	18.99	0.59	19.68	<b>0.03</b>
16.72	17.42	16.09	0.67	16.74	<b>0.04</b>
13.18	11.22	9.10	2.04	11.17	<b>0.18</b>

**Tabla 7:2. Coeficiente de variación para los puntos 1, 2 y 3 con 6 recirculaciones con plantas (amonio)**

<b>Concentración (mg/L)</b>			<b>Desviación estándar</b>	<b>Media</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>Punto 1</b>	<b>Punto 2</b>	<b>Punto 3</b>			
40.66	40.66	40.66	0	40.66	<b>0</b>
35.81	35.21	31.71	2.21	34.24	<b>0.06</b>
33.93	31.03	31.71	1.52	32.23	<b>0.05</b>
29.75	26.34	27.62	1.72	27.91	<b>0.06</b>
25.15	24.38	23.10	1.03	24.21	<b>0.04</b>
22.25	18.41	19.27	2.01	19.98	<b>0.10</b>
21.23	15.00	20.38	3.37	18.87	<b>0.18</b>
15.69	9.46	10.74	3.29	11.96	<b>0.27</b>
14.66	8.11	8.27	3.74	10.35	<b>0.36</b>

**Tabla 7.3. Coeficiente de variación para los puntos 1, 2 y 3 con 8 recirculaciones con plantas (amonio)**

<i>Concentración (mg/L)</i>			<i>Desviación estándar</i>	<i>Media</i>	<i>Coeficiente de variación</i>
Punto 1	Punto 2	Punto 3			
44.67	44.67	44.67	0	44.67	<b>0</b>
31.97	26.34	22.17	4.92	26.83	<b>0.18</b>
33.16	26.94	24.47	4.48	28.19	<b>0.16</b>
26.64	21.14	17.82	4.46	21.87	<b>0.20</b>
20.55	17.48	16.62	2.07	18.22	<b>0.11</b>
15.09	14.58	10.23	2.67	13.30	<b>0.20</b>
13.98	14.07	9.12	2.83	12.39	<b>0.23</b>

En las Tabla 7:1, Tabla 7:2 y Tabla 7:3 se presentan los valores obtenidos en la etapa experimental donde se integraron las especies vegetales al reactor. La prueba de coeficiente de variación indica que no hay diferencia entre los puntos de muestreo, es decir: para la etapa de experimentación de 4 recirculaciones por día, el valor máximo en los coeficientes de variación fue de 0.18 mientras que el valor mínimo es de 0.03 unidades con respecto a su media general. Para la etapa de 6 recirculaciones por día el valor mínimo es de 0.04 y para el máximo es de 0.36 unidades con respecto a la media general en esa etapa de experimentación. Y por último, se tiene que para la etapa con 8 recirculaciones por día el valor mínimo es de 0.11 y para el máximo es de 0.23 unidades de igual forma con respecto a su media general.

El resultado de esta prueba indica que no existe diferencia entre cada punto de muestreo por operación, es decir la variabilidad no es considerable estadísticamente entre el punto de muestreo 1, 2 y 3 aunque numéricamente sí se observe una diferencia. Partiendo de estos resultados, se puede resumir la información experimental para cada una de las etapas, así como para los tiempos de operación en los cuales este disminuye. Como ya se había mencionado anteriormente, los muestreos se llevaron a cabo 2 veces por día así como el análisis de las muestras colectadas.

En la Tabla 7:4 se muestran los valores promedio resultantes de la prueba de coeficiente de variación (Tabla 7:1, 7:2 y 7:3) las cuales indican que no existe interferencia estadística en cuanto a las tomas de muestras para el análisis y pruebas de laboratorio, por lo tanto, reduce el número de datos en el reactor. Asimismo se observa en la misma tabla, que los tiempos de transformación del amonio para el primer modo de operación (4 recirculaciones) logró un valor de 11.17 mg/L en cinco días, mientras que para seis recirculaciones en el cuarto día llegó una concentración

de 11.96 mg/L en cuatro días; por último para el modo de operación de ocho recirculaciones por día el valor obtenido a los tres días fue de 13.30 mg/L.

Es importante mencionar que para el fin de los objetivos del presente trabajo se tomaron los valores que presentan una concentración por debajo de los 15 mg/L para cada columna de resultados dado que esta concentración está por debajo del límite máximo permisible; por lo tanto se descartan los valores de 10.35 y 12.39 mg/L para las columnas con seis y ocho recirculaciones respectivamente.

**Tabla 7:4. Concentraciones de amonio para cada recirculación con plantas**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>4 recirculaciones amonio promedio (mg/L)</b>	<b>6 recirculaciones amonio promedio (mg/L)</b>	<b>8 recirculaciones amonio promedio (mg/L)</b>
0.5	45.86	40.66	44.67
1	42.06	34.24	26.83
1.5	40.34	32.23	28.19
2	36.93	27.91	21.87
2.5	34.55	24.21	18.22
3	31.28	19.98	13.30
3.5	27.69	18.87	12.39
4	19.68	11.96	
4.5	16.74	10.35	
5	11.17		

### 7.1 Resultados del análisis estadístico del REE sin plantas y con plantas

En la última etapa del análisis estadístico se compararon los datos producidos por el REE sin plantas y con plantas, esto con el fin de identificar si es que existe un efecto estadístico uno del otro. En la siguiente tabla se muestra la comparación de los datos reacomodados para poder hacer la comparación y poder concluir al respecto.

**Tabla 7:5. Comparación estadística del REE sin plantas y con plantas operando con cuatro recirculaciones**

<b>Cuatro recirculaciones sin plantas vs con plantas</b>				
Sin plantas [mg/L]	Con plantas [mg/L]	Desviación estándar	Promedio [mg/L]	Coefficiente de variación
45	45.86	0.61	45.43	0.013
39	42.06	2.17	40.53	0.053
31	36.93	4.19	33.97	0.123
26	31.28	3.73	28.64	0.130
21	19.68	0.94	20.34	0.046
18	11.17	4.83	14.58	0.331

En la Tabla 7:5 se presentan los datos obtenidos en la comparación de los valores de las concentraciones entre los resultados arrojados por el REE sin plantas y con plantas de los que se observa que los valores en cuanto a los coeficientes de variación no son considerables con respecto al promedio entre ambos casos. Esto es similar en los datos para el sistema operando con seis y ocho recirculaciones como lo muestra la Tabla 7:6 y Tabla 7:7.

**Tabla 7:6. Comparación estadística del REE sin plantas y con plantas operando con seis recirculaciones**

<b>Seis recirculaciones sin plantas vs con plantas</b>				
Sin plantas [mg/L]	Con plantas [mg/L]	Desviación estándar	Promedio [mg/L]	Coefficiente de variación
45	40.66	3.07	42.83	0.072
32	34.24	1.59	33.12	0.048
24	27.91	2.76	25.95	0.106
19	19.98	0.69	19.49	0.035
15	11.96	2.15	13.48	0.159

El resultado de esta prueba estadística proporciona datos que numéricamente no son reflejados por los datos obtenidos, pero sin duda aportan una valiosa información con la cual se puede concluir en este trabajo experimental, así como aportar recomendaciones que permitan hacer eficiente y controlar el proceso en la transformación de amonio.

**Tabla 7:7. Comparación estadística del REE sin plantas y con plantas operando con ocho recirculaciones**

<b>Ocho recirculaciones sin plantas vs con plantas</b>				
Sin plantas [mg/L]	Con plantas [mg/L]	Desviación estándar	Promedio [mg/L]	Coefficiente de variación
45	44.67	0.23	44.84	0.005
26	26.83	0.58	26.41	0.022
21	21.87	0.61	21.43	0.029
18	13.30	3.32	15.65	0.212

## 7.2 Prueba *t* de Student

Para determinar si existe diferencia entre la etapa donde no se usaron plantas y donde sí se usaron las plantas integrándolas al REE, se determinó una última prueba estadística llamada prueba *t* de Student, en ella se planeó hacer la diferencia entre dos

conjuntos de pruebas como su definición lo indica, tomando en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas correspondientes, de ahí los datos se analizaron en *Excel* para un nivel de significancia del 0.05 a dos colas dado que los resultados son independientes uno de otro.

Para esto se plantearon dos hipótesis:

Hipótesis nula ( $H_0$ )

$$P_{sp} = P_{cp} (N.S > 0.05)$$

Hipótesis alterna ( $H_a$ )

$$P_{sp} \neq P_{cp} (N.S < 0.05)$$

En la hipótesis nula se plantea que el proceso sin plantas ( $P_{sp}$ ) es igual al proceso con plantas ( $P_{cp}$ ) si el nivel de significancia es mayor a 0.05 para la prueba a dos colas.

Mientras que para la hipótesis alterna se plantea que el proceso sin plantas ( $P_{sp}$ ) es desigual al proceso con plantas ( $P_{cp}$ ) si el nivel de significancia es menor a 0.05 para la prueba a dos colas.

A continuación se presentan los datos obtenidos para cada número de recirculación y los valores del nivel de significancia calculados respectivamente:

**Tabla 7:8. Resultados para t de Student para cuatro recirculaciones sin y con plantas**

<b>Cuatro recirculaciones (para el REE sin y con plantas)</b>		
Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
	Variable 1	Variable 2
Media	30	31.1621716
Varianza	109.6	179.97643
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
P(T<=t) dos colas (nivel de significancia)	<b>0.57614071</b>	
Valor crítico de t (dos colas)	2.57058184	

**Tabla 7:9. Resultados para t de Student para seis recirculaciones sin y con plantas**

<b>Seis recirculaciones (para el REE sin y con plantas)</b>		
Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
	Variable 1	Variable 2
Media	27	26.949846
Varianza	141.5	128.817754
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
P(T<=t) dos colas (nivel de significancia)	<b>0.97604213</b>	
Valor crítico de t (dos colas)	2.77644511	

---

**Tabla 7:10. Resultados para t de Student para ocho recirculaciones sin y con plantas**

<b><i>Ocho recirculaciones (para el REE sin y con plantas)</i></b>		
Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	27.5	26.6655179
Varianza	147	175.28986
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
P(T<=t) dos colas (nivel de significancia)	<b>0.57167154</b>	
Valor crítico de t (dos colas)	3.18244631	

En esta prueba la decisión indica que: como todos los valores en el nivel de significancia en los modos de operación están por encima de 0.05, entonces se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna. Lo que indica que no hay diferencia significativa en los valores para los datos obtenidos en el reactor experimental empacado operando sin plantas y con plantas, por lo tanto no existe un aporte considerable de transformación de amonio entre ellos para los datos obtenidos en este trabajo experimental.



---

## 8. Conclusiones

Se evaluó la capacidad nitrificante en un reactor experimental empacado con grava sílica, modificando los tiempos de contacto operando como un pos-tratamiento de un humedal artificial empleando una calidad de agua que simula las condiciones de un efluente de tratamiento biológico secundario; el cual presentó ventajas en los materiales seleccionados para su diseño, así como en el material de empaque que permitió la formación de una biopelícula que sirvió como soporte para las colonias de microorganismos que favorecieron a la transformación del amonio impidiendo la interacción con el agua sintética. Asimismo, se observó un ahorro de energía, de recursos humanos y materiales, así como en la mano de obra entre otros.

Se evaluó la capacidad de nitrificación de un REE alimentado de manera intermitente, modificando los tiempos de contacto y el número de recirculaciones por día lo cual propicio la transformación del amonio manejando sus condiciones operativas.

Se compararon los porcentajes de nitrificación en presencia y ausencia del componente vegetal, presentando una favorable adaptación al reactor experimental empacado, sin embargo, la remoción del amonio no presentó gran diferencia numérica, pero sí reflejó cambios estadísticos,

Estadísticamente se comprobó que no hay diferencia significativa entre operar el sistema con y sin plantas. Por lo cual se concluye que las plantas no contribuyen en la transformación del amonio dentro del REE.

La hipótesis se acepta parcialmente dado que el manejo de las condiciones operativas sí favoreció la transformación del amonio, pero el aporte de la especie vegetal no contribuye estadísticamente en este proceso.

---

## 8.1 Recomendaciones

Cerciorarse de que el material de empaque del sistema presente un mínimo de partículas o polvos menores al diámetro requerido para evitar obstrucciones en las tuberías y en el equipo de bombeo.

Seleccionar de mejor manera el sistema de bombeo tomando en cuenta las características físicas del material de empaque en sistemas a futuro para impedir obstrucciones que impidan su buen funcionamiento.

Usar un sistema de automatización de mayor simpleza y que convenga para los diversos modos de operación y muestreos.

Es considerable contar con tubería de *PVC* adaptable en la parte inferior del sistema que cuente con un cespol o un sistema de mallas que sirvan como medio filtrante en las salidas y entradas de agua al sistema para evitar el azolvamiento y fallas en la operación.

Proteger todas las áreas en las cuales exista un contacto directo de los rayos de luz solar con el agua a tratar para evitar la formación de moho en el sistema.

Es importante realizar estudios sobre el papel que desempeñan las comunidades de algas y hongos en cuanto a la degradación de contaminantes en los sistemas de tipo HA.

Rediseñar un sistema que cuente con accesorios para que midan de forma más precisa diferentes parámetros en el sistema como la temperatura, el oxígeno disuelto, el pH y las especies de amonio disueltas en el medio con el fin de detallar los diversos ciclos que puedan estar ocurriendo en sistema parecidos al que se presenta en este trabajo experimental.

Determinar un modo de muestreo o técnica que permita cuantificar las concentraciones de amonio en los rizomas de las plantas así como en las hojas para considerar estos valores en los balances requeridos en la etapa de análisis de resultados.

---

## 9. REFERENCIAS

1. Aburto C. S. (2011). Análisis y modelación del proceso de nitrificación en sistemas experimentales que simulan humedales artificiales. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
2. Arheimer B. y Wittgren H. B. (2002). Modelling nitrogen removal in potential wetlands at the catchment scale. *Ecological Engineering*. 19: 63-80.
3. Atlas M. Roland. (2005). Handbook of media for environmental microbiology. 2da Edición Editorial CRC. Florida E.U.A. 673 pp.
4. Atlas R.M., Bartha R. (2001). Ecología microbiana y microbiología ambiental. 4ta Edición Edit. Addison Wesley. España. 696 pp.
5. Bajaj M. Gallert C., Winter J. (2008). Biodegradation of high phenol containing synthetic wastewater by an aerobic fixed bed reactor. *Bioresource Technology* 8376–8381.
6. Bayley M. L., Davison L. y Headley T. R. (2003). Nitrogen removal from domestic effluent using subsurface flow constructed wetlands: influence of depth, hydraulic residence time and pre-nitrification. *Water Science and Technology*. 48(5): 175-182.
7. Beavers P.D. y Tully I.K. (2005). Nutrient reduction evaluation of sewage effluent treatment options for small communities. *Water Science and Technology*. 55(10): 221-229.
8. Braskerud B. C. (2002). Factors affecting nitrogen retention in small constructed wetlands treating agricultural non-point source pollution. *Ecological Engineering*. 18: 351-370.
9. Brock T.D. y Schlegel H.G. (1989). Introduction. En *Autotrophic bacteria*. Schlegel H.G. and Bowien B. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience Ferms. Springer-Verlag. 1-15.
10. Burrell P.C., Keller J. y Blackall J. (1998). Microbiology of a nitrite oxidizing bioreactor. *Appl. Environmental Microbiology*. 64 (5): 1878-1883.
11. Byström O., Andersson H. y Gren I. M. (2000). Economic criteria for using wetlands as nitrogen sink under uncertainty. 35: 35-45.
12. CICEANA. Enero 2012. Centro de información y comunicación ambiental de Norte América, A.C. <http://www.ciceana.org.mx/>.
13. Comisión Nacional del Agua, (2007). Estadísticas del Agua en México (2007). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

- 
14. Comisión Nacional del Agua. (2007). Estadísticas del agua en México, Edición 2007. Editado por Comisión Nacional del Agua. México, D.F. 273 p.
  15. Crites J. y Tchobanoglous E. (2005). Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. McGraw Hill. Colombia, 756 p.
  16. Drizo A., Frost A., Grace J. y Smith K. (2000). Phosphate and ammonium distribution in a pilot-scale constructed wetland with horizontal subsurface flow using shale as a substrate. *Wat. Res.* 34(9): 2483-2490.
  17. Faulter.L.A., Gagnonb V., Sundelrbeg C, hazarenc F. Burr. (2009). Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: A review. *Ecological Engineering.* 35, 987–1004.
  18. Gerke S. y Xu Y. (2001). Nitrogen transformations in a wetland receiving lagoon effluent: Sequential model and implications for water reuse. *Water.* 16(35): 3857–3866.
  19. Hibiya K., Terada A., Tsuneda S. y Hirata A. (2003). Simultaneous nitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrana aerated biofilm reactor. *J. Biotechnol.* 100: 23-32.
  20. Holt J. (1999). Bergey's Manual of systematic bacteriology, Vol. 3. Baltimore, E.E.U.U.A. 126 p.
  21. Hommes N. G., Russell S. A., Bottomley P. J. y Arp D. J. (1998). Effects of soil on ammonia, ethylene, chloroethane oxidation and 1,1,1 trichloroethane by *Nitrosomonas europaea*. *Appl. Environmental. Microbiology.* 64(4): 1372-1378.
  22. Kadlec H. (2003). Effects of pollutant speciation in treatment wetlands. *Ecological. Engineering.* 20: 1-16.
  23. Kantawanichkul S. y Shutes R. E. (2001). Nitrogen removal in a combined system: vertical vegetated bed over horizontal flow sand bed. *Water Science and Technology.* 44(11-12): 137-142.
  24. Kowalchuck O. A. y Stephen J. (2001). Ammonia-oxidizing bacteria and model for molecular microbial ecology. *Ann. Rev. Microbial.* 55: 485-529.
  25. Krasnits E., Friedler E., Sabbah I., Beliavski M., Tarre S., Green M., (2009). Spatial distribution of major microbial groups in a well established constructed wetland treating municipal wastewater. *Ecol Eng* 35, 1085–1089.
  26. Kusch P., Wießner U., Weißbrodt F., Kästner M. y Stottmeister U. (2003). Annual cycle of nitrogen flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water research.* 37: 4236-4242.
  27. Luna P. V.M., Durán de Bazúa C, Ramírez C. H, Fenoglio L.F. y Sánchez

- 
- G. H. (1997). Sistemas de tratamiento de aguas residuales a base de humedales artificiales. Una tecnología alterna para la protección del equilibrio ecológico en zonas urbanas. En Memorias de las III Jornadas Panamericanas. Medio Ambiente y Vivienda. Zacatecas, México. pp. 78-83.
28. Mayo A. W. y Bigambo T. (2005). Nitrogen transformations in horizontal subsurface flow constructed wetlands I: Model development. *Phys. Chem. Earth*. 30: 658–667.
29. Mayo A. W., Mutamba J. (2005). Modelling nitrogen removal in a coupled HRP and unplanted horizontal on subsurface gravel bed constructed wetland. *Phys. Chemical. Earth*. 30: 673–679.
30. McBride G. B. y Tanner C. C. (2000). Modelling biofilm nitrogen transformations in constructed wetland mesocosms with fluctuating water levels. *Ecological. Engineering*. 14: 93–106.
31. NMX-AA-003/1-SCFI-2008. Aguas residuales – Muestreo.
32. Park S., Bae W. 2009. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. *Process Biochem* 44, 631–640.
33. Pauwels H. y Talbo H. (2004). Nitrate concentration in wetlands: assessing the contribution of deeper groundwater from anions. *Water research*. 38: 1019–1025.
34. Ramírez C. H. F. (1998). Desarrollo de la Ingeniería Básica para el Diseño de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales a base de un Humedal Artificial de flujo Combinado. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma México, D.F. 113 p.
35. Ramírez C. H. F. (2003). Tesis de maestría. Evaluación de la remoción biótica y abiótica de ortofosfatos en reactores empacados con diferentes materiales de uso potencial en humedales artificiales. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 74 p.
36. Ramírez C. H. F. (2012). Inducción de la capacidad nitrificante de reactores experimentales empacados mediante cambios en los procesos de convección y difusión. Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana. (Tesis en proceso).
37. Rousseau D. P., Vanrolleghem P. A. y De Pauw N. (2004). Model-based design of subsurface flow constructed wetlands: a review. *Water research* 38, 1484-1493.
-

- 
38. Scholten Th., Foekema E.M., Van Dokkum H.P., Kaag N.H.B.M., y Jak R.G. (2005). *Eutrophication Management and Ecotoxicology*. Springer-Verlag. Heidelberg, Alemania. 122 pp.
  39. SEMARNAT. (1996). 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 Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Diario Oficial de la Federación.
  40. SEMARNAT. (2009). Inventario nacional de plantas municipales de potabilización y de tratamiento de aguas residuales en operación.
  41. SEMARNAT. (2010). Estadísticas del agua en México.
  42. Stein O. R., Hook P. B., Biederman J. A. y Borden D. J. (2003). Does batch operation enhance oxidation in subsurface constructed wetlands? *Water. Science. Technology*. 48(5): 149-156.
  43. Tanner C. C., Kadlec R. H., Gibss M. M., Sukias J. y Nguyen M. L. (2002). Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands-influence of wastewater characteristics. *Wat. Res.* 18: 499-520.
  44. Truu M., Juhanson J. y Truu J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Science Total Environ* 407, 3958–3971.
  45. USEPA. (2000). *Constructed wetlands treatment of municipal waste waters*. Environmental Protection Agency. United States.
  46. Vayenas D. V., Pavlov S. y Lyberatos D. 1997. Development of a dynamic model describing nitrification and nitrification in trickling filters. *Water research*. 31(5): 1135-1147.
  47. Vymazal J. (2009). The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater. *Ecological Engineering*. 35, 1–17.

---

## ANEXO A

### I. Composición del agua sintética.

Formula del agua enriquecida con amonio para una concentración de 60 mg/L de  $\text{NH}_4^+$  modificada de Hanaki (1990) y Atlas (2005).

Tabla A:1. Composición del agua sintética

Medio basal Nitrificantes		
Compuesto	Concentración	
NaCl	0.30	g/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.14	g/L
$\text{FeSO}_4$	0.13	g/L
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	10.0	mL/L
Sol. Micronutrientes	0.20	mL/L
Agua destilada	1,000	mL/L

Tabla A:2. Solución de micronutrientes

Solución de micro nutrientes		
Compuesto	Concentración	
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.554	g/L
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.630	g/L
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0.330	g/L
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.343	g/L
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.356	g/L

Fuente de amonio para Nitrificantes		
Compuesto	Concentración	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.22	g/L
$\text{CaCO}_3$	3.3	g/L
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	0.022	g/L

### II. Selección y propagación del componente vegetal

El componente vegetal se propagó siguiendo el método de división por esquejes a partir un organismo de *Arundo donax* extraído de la zona lacustre de Xochimilco.

Propagación del componente vegetal:

1. Se seleccionó el rizoma del ejemplar en segmentos de 0.15 m de longitud para obtener esquejes.

---

2. Se aplicó una solución de enraizador comercial en una proporción de 2 g/L a lo largo de todo el rizoma.

3. Se introdujo el rizoma en la cavidad del sustrato a una profundidad de entre 0.03 y 0.05 m.

Una vez que los esquejes desarrollaron rizomas, fueron trasplantados a contenedores con medio de soporte compuesto por humus. El componente vegetal fue irrigado con agua potable durante 30 días.

### **III. Obtención de bacterias nitrificantes a partir de una muestra ambiental**

Con el objetivo de obtener un inóculo de bacterias nitrificantes para el REE se empleó una muestra procedente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria, a partir de la cual se aisló y caracterizó el componente microbiano empleado en el REE.

Las muestras colectadas fueron sedimentadas por 5 h. El sedimento se resuspendió en 1 L de medio enriquecido con amonio partir de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Hanaki, 1999) por duplicado. El cultivo fue puesto bajo condiciones aerobias con aire húmedo para evitar el arrastre de humedad debido a la aireación. El cultivo se mantuvo en un cuarto de incubación durante 20 días en condiciones de oscuridad y a una temperatura de 30°C. Al cabo de 20 días el cultivo fue resuspendido por agitación, a partir de este, se realizaron 4 diluciones: 50, 25, 10 y 5 mL de muestra en 100 mL de medio mineral para bacterias nitrificantes (Hanaki, 1999). Las diluciones se incubaron por 20 días bajo aireación húmeda permanente y se realizó el monitoreo del pH, transcurridos 20 días se repitió el procedimiento.

Durante este periodo el valor del pH fue monitoreado y controlado con la adición periódica de NaOH al 2M para mantener un valor promedio de 8.5 unidades de pH dentro de los cultivos. Lo anterior, debido a que el valor de pH descendió en promedio 2 unidades cada 2 días. Transcurridos 60 días, se filtraron los cultivos con un papel filtro con diámetro de poro de 180  $\mu\text{m}$  con el fin de depurar los cultivos de microorganismos y partículas no deseados. El filtrado fue diluido nuevamente al 50 % con medio rico en  $\text{NH}_4^+$  y cultivado por 20 días con aireación húmeda permanente a 30° C.

Para determinar si existía actividad nitrificante se realizaron pruebas bioquímicas



---

colorimétricas con el reactivo de Griess (Anexo A). Con esta prueba el nitrito es detectado y analizado por la formación de un color rojo o rosado en el tratamiento de una muestra conteniendo  $\text{H-NO}_2^-$ , el color tiende a ser más tenue cuando existe una mayor concentración a  $\text{H-NO}_3^-$ .

#### **IV. Pruebas de densidad real aparente y relativa**

Calculo de la densidad aparente del material de empaque

La densidad aparente del material de empaque se determinó siguiendo el método propuesto por UEX (2009), el cual consistió en los siguientes pasos:

Se tara una probeta graduada limpia de 100 mL, se consideró un volumen de 100 mL el cual se llenó con gravilla de óxido de sílice con un diámetro de 1 a 2 mm, se pesó la probeta y se registró el peso.

El cálculo de la densidad aparente se realizó con la siguiente ecuación:

$$\rho_{Ap} = (\text{peso con material} - \text{peso sin material}) \text{ g}/100 \text{ mL}$$

Calculo de la densidad real del material de empaque

Se introdujo 100 mL de agua en una probeta graduada, a la cual se le añadieron 10 g de grava la densidad real fue calculada con la siguiente ecuación:

$$\rho_R = 10 \text{ g}/(\text{volumen con material} - \text{volumen sin material}) \text{ mL}$$

Determinación de la porosidad de la grava de dióxido de sílice

La porosidad es el espacio libre de la matriz del medio, conformado por los poros que quedan entre las partículas del medio la porosidad se calculó con la siguiente ecuación:

$$P = 100*(1-(\rho_{Ap}/\rho_R))$$

Las pruebas anteriores se realizaron con una n=10

#### **V. Pruebas de conductividad hidráulica**

La conductividad hidráulica se define como la velocidad en que el agua que fluye en un medio poroso, la cual es directamente proporcional al gradiente hidráulico causado por el flujo (ley de Darcy 1856).

Se evaluó como:

---

$$Q=K*A*(h/L)$$

Dónde:

Q = caudal [m<sup>3</sup>/día]

K = conductividad hidráulica [m/d]

A = área [m<sup>2</sup>]

h= altura de agua [m]

L= largo de la muestra de suelo [m]

El método que se siguió fue el siguiente:

- 1.- Se colocó un volumen de material en el permeámetro de carga constante
- 2.- Se adicionó un gasto (Q) constante a la entrada
- 3.- Se colocó una probeta de 1 L y se midió el Q a la entrada del sistema, en el desvío y a la salida.
- 4.- Se registraron los tiempos requeridos en llenar el volumen de la probeta

## VI. Pruebas de evaporación y evapotranspiración

El objetivo de esta prueba es determinar la evapotranspiración del agua en en prototipos escala que simulan un sistema de humedal artificial, bajo condiciones controladas.

Al hacer un balance hídrico en determinada área, el principal interés radica en la determinación de las pérdidas de agua totales, lo cual involucra la evaporación de superficies de agua, suelo, nieve, hielo y de cualquier otra superficie más la transpiración. El factor consuntivo del agua es la evaporación total de un área más el agua utilizada para construir los tejidos de las plantas.

Existen enfoques para hacer la estimación real de la evapotranspiración real, ninguno de los cuales se puede aplicar a todos los propósitos. El tipo de datos necesarios depende del uso que se requiera.

Para la realización de esta prueba fue necesario el siguiente material:

- Recipientes de plástico planos (12 piezas) con capacidad de entre 5 y 10 litros
- Gravilla para construcción de entre 1 a 2 mm de diámetro perfectamente lavada y libre de polvo
- 2 probetas graduada de 500 y 1000 L
- Plantas (6 carrizos de la zona de la especie *Arundo donax*)
- 3 cubetas de plástico
- 2 pares de guantes de plástico

---

## METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO

Arreglo de los contenedores para la determinación de la evapotranspiración.

- Estas pruebas se hicieron por duplicado.
- La gravilla se seleccionó mediante tamices de 2 mm y se colocó la cantidad necesaria de este material (aprox. 3 kg) dentro de los recipientes de plástico cuidando dejar 5 cm. de espacio entre el final del contenedor y la gravilla (bordo libre); los arreglos se realizaron conforme a la siguiente tabla:

Recipiente	Medición	Gravilla (A)	Plantas (B)	Agua problema (C)	Agua limpia (D)
1	Evaporación				
2	Evapotranspiración				
3	Evapotranspiración				
4	Evapotranspiración				
5	Evapotranspiración				
6	Evaporación				

- Los recipientes de pruebas deberán de estar situados en los puntos de mayor conveniencia cuidando que la luz del sol sea directa y procurando recibir el menor tiempo de sombra posible.

### PROCEDIMIENTO

Una vez colocados los recipientes conforme a los arreglos mencionados en la tabla anterior, llevar a cabo los siguientes pasos:

- Colocar agua hasta la marca y cuantificar el volumen
- Dejar los baldes al sol
- Pasados 3 o 4 días, sustituir el volumen evaporado en cada balde con una probeta graduada y anotar el volumen agregado.
- Repetir estos pasos hasta obtener valores que permitan cuantificar la evaporación y evapotranspiración llevadas a cabo por cada balde de agua durante aproximadamente 30 días.
- Una vez colectados los datos durante este tiempo, se hace un promedio de ellos y se relacionan las pérdidas por evaporación con y sin plantas para establecer las el volumen que se asumirá como la evapotranspiración.

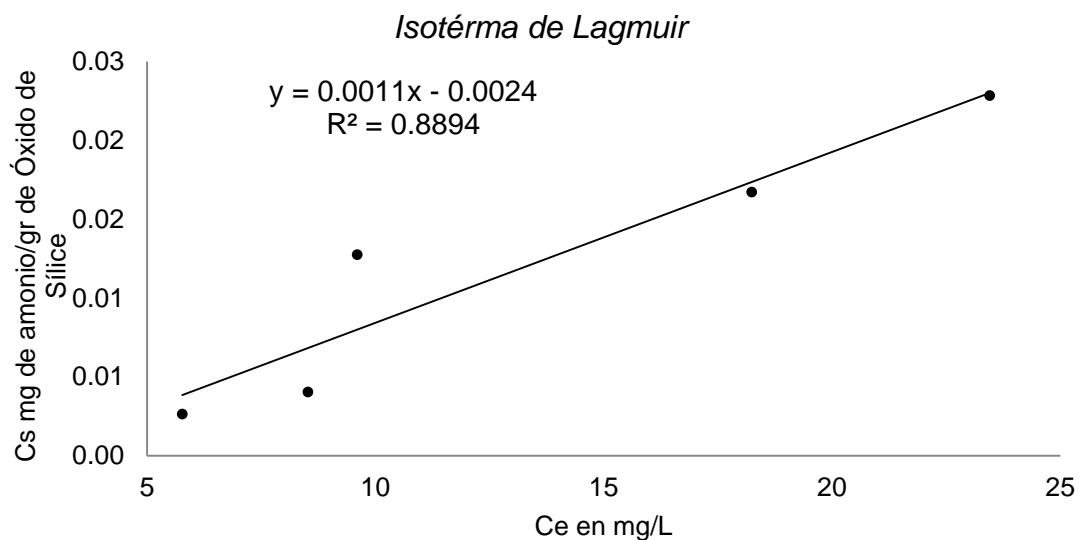
---

## **VII. Prueba para la obtención del coeficiente de variación**

El coeficiente de variación permite comparar la dispersión entre dos poblaciones distintas e incluso, comparar la variación producto de dos variables diferentes (que pueden provenir de una misma población).

El coeficiente de variación elimina la dimensionalidad de las variables y tiene en cuenta la proporción existente entre una medida de tendencia y la desviación típica o estándar.

El cálculo del coeficiente de variación se determina de la siguiente forma:



**Figura 7:1. Isoterma de Langmuir**

## IX. Pruebas de contenido de nitrógeno y carbono

Las pruebas se realizaron en el Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM. Marzo del 2011.

En relación de las pruebas que se solicitaron, fueron analizadas tres muestras por duplicado de sedimento utilizando un analizador elemental CNHS Perkin Elmer 2400, serie II. Las muestras se analizaron bajo las siguientes condiciones:

Gas acerrador: Helio

Temperatura de combustión: 980 °C

Temperatura de reducción: 640 °C

Detector: conductividad térmica

Compuesto de calibración: acetanilida

## Resultados

**Tabla A:4. Contenido de nitrógeno y carbono**

Muestra	% de C total	% de N total
M-1	0,019	0,000
	0,018	0,000
M-2	0,014	0,007
	0,014	0,009
M-3	0,021	0,011
	0,013	0,007

---

**X. Fórmulas para el cálculo de las cinéticas a partir de los datos generados en el experimento del cual se habla en el presente trabajo.**

Y	Velocidad de degradación: <b>Y<sub>0</sub></b> =concentración inicial del sustrato <b>K</b> = constante de degradación <b>t</b> =tiempo transcurrido	
K <sub>s</sub>	Constante de degradación o formación: <b>N</b> = Concentración final <b>N<sub>0</sub></b> = Concentración inicial <b>t</b> = Tiempo final <b>t<sub>0</sub></b> = Tiempo inicial	

**XI. Determinación de pruebas fisicoquímicas**

Durante el tiempo de experimentación es importante lavar el material con un detergente libre de nitrógeno o fósforo en cualquier de las técnicas a determinar.

Después de lavar el material con este detergente, enjuagarlo con agua corriente y agua destilada, una vez lavado con ácido clorhídrico o sulfhídrico con una concentración al 20%. Al finalizar debe enjuagarse el material con agua desionizada y dejarlo secar.

Algunas técnicas que se pueden llevar a cabo en el LMBE para cuantificar nitrógeno en alguna de sus formas se describen a continuación:

**Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)**

**Método de espectrofotometría ultravioleta.**

La técnica que se describe a continuación, funciona para agua con poca materia orgánica presente.

La determinación de nitratos debe procurar hacerse poco tiempo después de haber tomado la muestra, de no ser posible, se recomienda almacenar la muestra a 4°C por un máximo de dos días. Para mayor tiempo de almacenaje de muestras que no contengan cloro, se pueden preservar con 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado por litro de muestra a 4°C. Cuando las muestras son preservadas con ácido, ya no es posible determinar nitritos y nitratos como dos especies diferentes.

Tabla A:5. Equipo para la determinación de nitratos

Aparatos	Reactivos	Materiales
Espectrofotómetro con por lo menos una celda	Agua desionizada	Tubo Nessler con tapón
	Ácido clorhídrico [1N]	Pipeta (1mL)

Verter en un tubo Nessler 50mL de muestra, filtrarla antes si existe presencia notable de materia en suspensión.

Agregar al tubo 1mL de HCl y agitarlo, inmediatamente medir la absorbancia a 220nm. La curva de calibración se puede preparar para las concentraciones comprendidas entre 0 y 7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - N/l, haciendo las diluciones necesarias a partir de una solución madre de nitratos, que se prepara como se indica a continuación:

Secar nitrato de potasio por 24 horas en el horno a 105°C.

Disolver 0.7218g del reactivo seco en 1 litro de agua desionizada para tener una concentración conocida de 1.0mL de solución patrón = 100.0µg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - N.

Nota: Esta solución patrón puede ser preservada hasta por 6 meses agregando 2mL de CHCl<sub>3</sub>/l (cloroformo).

Para conocer la interferencia que tiene la materia suspendida en el análisis, puede medirse la absorbancia de la muestra a 220nm y a 275nm, ya que el nitrato no absorbe la luz en la segunda longitud de onda.

El uso de ácido en esta técnica previene la interferencia de hidróxidos o carbonatos en concentraciones mayores a 1,000mg de CaCO<sub>3</sub>/l.

El cloro presente en la muestra no afecta la determinación.

Sí causan interferencias en esta técnica la presencia de surfactantes, nitritos y Cr<sub>6</sub><sup>+</sup>.

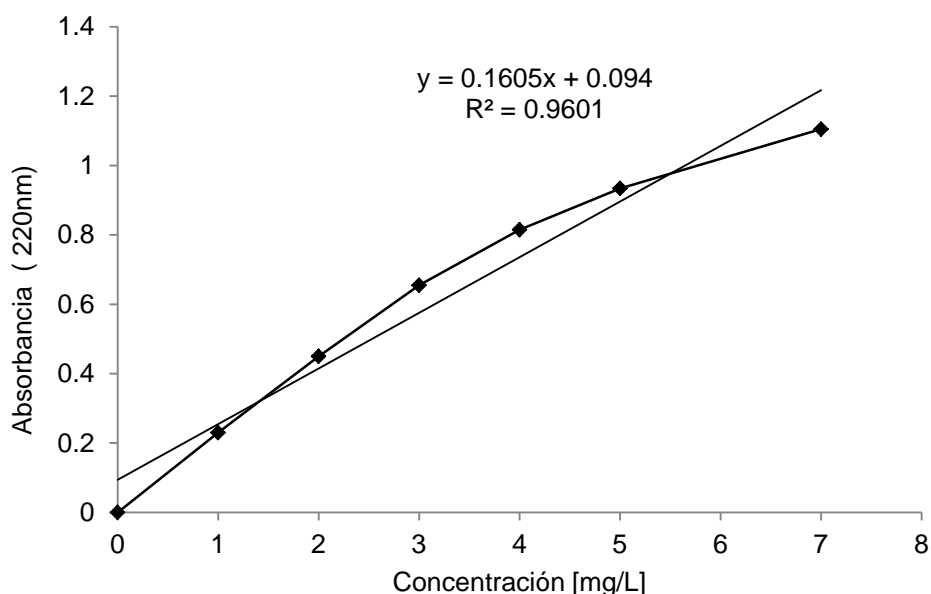


Figura 7:2. Curva patrón para la determinación de nitratos

---

## Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ )

### Método de determinación de nitritos por el método de diazotización simple.

Esta técnica se basa en las reacciones simples de diazotización que se llevan a cabo con la P – nitroanilina (PNA) con el acetoacetato de etilo (ACE).

Este método puede ser empleado para muestras de agua con concentraciones de nitrito entre 0.05 y 6.0  $\mu\text{g NO}_2^-$  - N/l.

Tabla A:6. Equipo para la determinación de nitratos

Aparatos	Reactivos	Materiales
Espectrofotómetro con por lo menos una celda	Agua desionizada	Matraz aforado de 10 ml
	Solución de p – nitroanilina (PNA)	1 Pipeta (5mL)
	Solución de acetato de etilo (ACE)	3 Pipetas (3mL)
	Solución de hidróxido de sodio [2M]	

Tabla A:7. Lista de soluciones para determinar nitritos

Solución de p – nitroanilina (PNA)	Disolver 0.125g de PNA en 55.3mL de HCl. Aforar la solución a 250mL con agua destilada.
Solución de acetato de etilo (ACE)	Aforar 5mL de acetato de etilo a 100mL con alcohol.
Solución de hidróxido de sodio [2M]	Disolver 8g de NaOH en agua destilada y aforar a 100mL con este mismo solvente.

Procedimiento, en un matraz aforado de 10mL, verter:

1. 5mL de muestra y 1mL de la solución de p – nitroanilina (PNA), agitar vigorosamente durante 2 minutos para que se complete la reacción de diazotización.
2. Agregar al matraz 1mL de acetoacetato de etilo (ACE) y 2mL de hidróxido de sodio 2M.
3. Aforar el matraz y después de 5 minutos medir la absorbancia a 507nm.
4. La curva de calibración se puede preparar para las concentraciones comprendidas entre 0.05 y 6.0  $\mu\text{g NO}_2^-$  - N/mL, haciendo las diluciones necesarias a partir de una solución madre de nitritos, que se prepara como se indica a continuación:



1. Disolver 0.150g de nitrato de sodio en 100mL de agua destilada. Esta solución, tiene una concentración conocida de 1,000 $\mu\text{g NO}_2^- \text{ N/mL}$
2. Se puede preservar con 2mL de cloroformo.

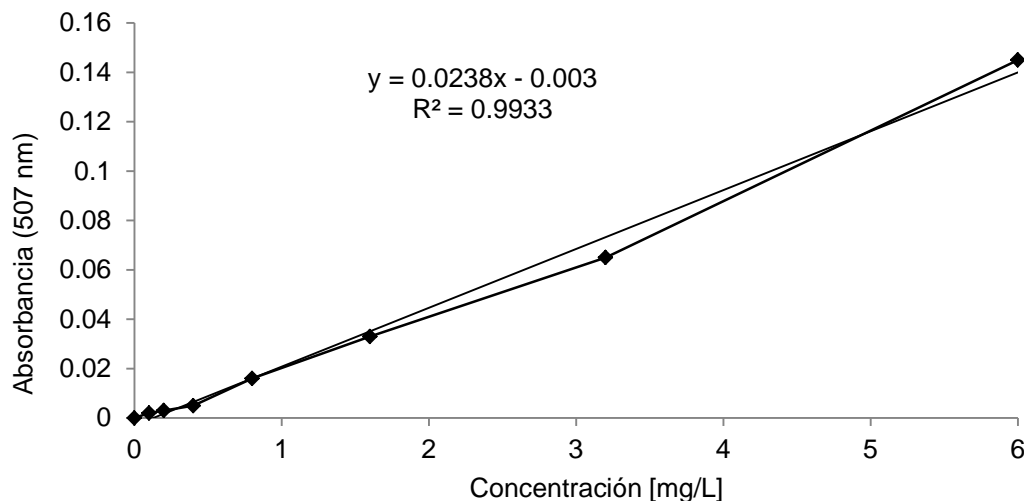


Figura 7:3. Curva patrón para la determinación de nitritos

### Nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )

#### Método de la nesslerización.

Los principales factores que afectan esta técnica son la concentración y la presencia de interferencias.

Se utiliza únicamente para aguas potables purificadas, si no se hace para este tipo de agua se puede hacer una destilación previa para eliminar turbidez, color, magnesio y calcio. Como una opción de la destilación se puede precipitar la materia presente en el agua con sulfato de zinc y álcali.

Debido a que la técnica sólo puede ser utilizada en bajas concentraciones de amonio ( $20\mu\text{g NH}_3 - \text{N/L}$ ) se llevan a cabo los siguientes pasos para preparar una muestra antes del análisis:

Primeramente se filtra la muestra a través de un filtro de fibra de vidrio de 0.75 micras, para eliminar la materia orgánica presente. Es importante que el filtro sea de este material para evitar la posible interferencia con la nitrocelulosa de los filtros de papel. Se realiza una dilución de la muestra tomando sólo 1mL de filtrado aforando con 9mL de agua desionizada. La dilución se lleva a cabo para evitar altas concentraciones de minerales en la muestra que con la presencia del reactivo de Nessler puedan formar

flóculos que interfieran en la medición de la absorbancia de la muestra.

**Tabla A:8. Equipo para la determinación de nitrógeno amoniacal**

Aparatos	Reactivos	Materiales
Espectrofotómetro con por lo menos una celda	Agua desionizada	Tubo de Nessler (10mL)
	Solución de EDTA	1 Micropipeta (10µl)
	Solución de Nessler	1 Micropipeta (200µl)

**Tabla A:9. Preparación de soluciones para determinar nitrógeno amoniacal**

<b>Solución de EDTA</b>	Disolver 50g de tetraacetato de etilendiamina disódica dihidratada, en 60 mL de agua con 10 g de NaOH. Aforar la solución a 100mL.
<b>Solución de Nessler</b>	Disolver 100g de HgI <sub>2</sub> y 70g de KI en una pequeña cantidad de agua. Adicionar esta mezcla lentamente y con agitación a una solución fría de 160 g de NaOH en 500mL de agua. Aforar esta nueva solución a 1l. Esta solución debe ser almacenada en material de vidrio de borosilicato con tapón de goma y protegido de la luz solar, para mantener su estabilidad por 1 año. Se puede comprobar la efectividad del reactivo si produce color 10 minutos después de agregar 0.1mg de solución de NH <sub>3</sub> - N/l y no forma un precipitado en las dos horas siguientes.

En el tubo Nessler verter los 10 mL de muestra diluida y agregar 1 gota (10 µl) de EDTA, agitar para homogeneizar. Agregar 200 µl de solución de Nessler y volver a agitar, se debe esperar por lo menos 15 minutos para que se efectúe la reacción y después medir la absorbancia a 420nm.

La curva de calibración se puede preparar para las concentraciones comprendidas entre 0.05 y 6.0 µg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> - N/mL, haciendo las diluciones necesarias a partir de una solución madre de nitritos, que se prepara como se indica a continuación:

Disolver 3.189 g de NH<sub>4</sub>Cl anhidro, secado a 100° C en agua y aforarla a 1L.

Diluir 10 mL de esta solución en 1 litro de agua destilada. Esta solución tiene la siguiente concentración: 1.0 mL = 10.0 µgN = 12 µh NH<sub>4</sub> =12.2 µg NH<sub>3</sub>.

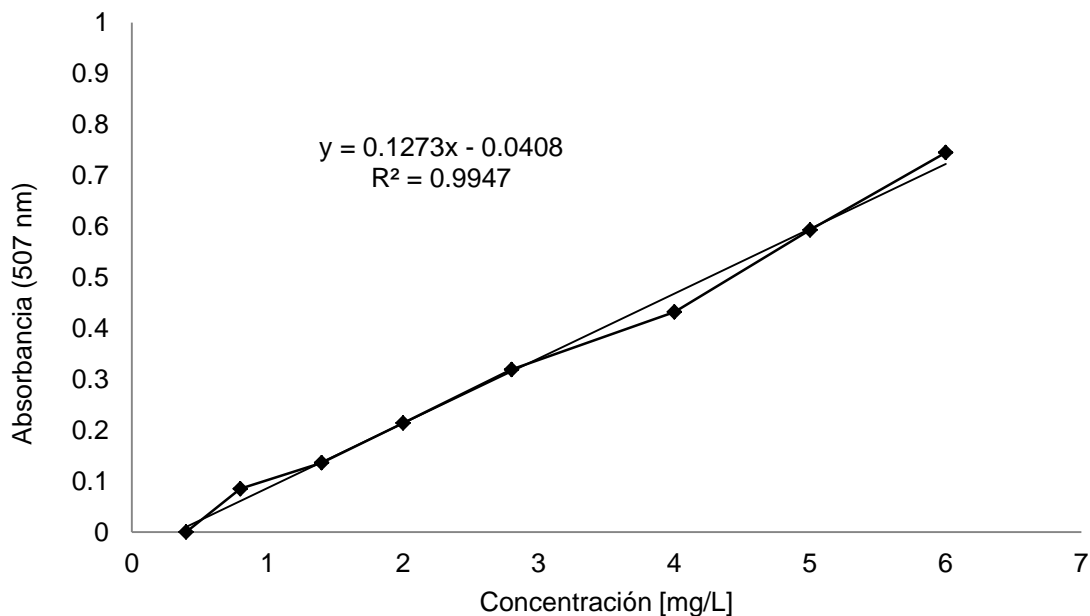


Figura 7:4. Curva patrón para la determinación de nitrógeno amoniacal

## X Resultados del componente microbiano

La obtención, aislamiento e identificación de las bacterias dio como resultado una coincidencia del 99% con la secuencia del gen *amoA* perteneciente a *Nitrosomonas europaea*.

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max Ident
<a href="#">AL954747.1</a>	<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718, complete genome	1995	3991	100%	0.0	100%
<a href="#">L08050.1</a>	<i>Nitrosomonas europaea</i> ammonia monooxygenase acetylene-binding	1995	1995	100%	0.0	100%
<a href="#">AF058692.1</a>	<i>Nitrosomonas europaea</i> ammonia monooxygenase subunit A2 ( <i>amoA</i> )	1993	1993	99%	0.0	100%
<a href="#">AF058691.1</a>	<i>Nitrosomonas europaea</i> ammonia monooxygenase subunit A1 ( <i>amoA</i> )	1988	1988	99%	0.0	99%
<a href="#">AB079054.1</a>	<i>Nitrosomonas</i> sp. ENI-11 <i>amoC2</i> , <i>amoA2</i> , <i>amoB2</i> genes for ammonia	1655	1655	100%	0.0	94%
<a href="#">AB079054.1</a>	<i>Nitrosomonas</i> sp. ENI-11 <i>amoC1</i> , <i>amoA1</i> , <i>amoB1</i> genes for ammonia	1655	1655	100%	0.0	94%

Figura 7:5. Resultado del alineamiento de secuencias (BLAST: Basic Local Alignment Search Tool) obtenida del DNA proveniente de la bacteria nitrificante aislada. (Aburto C, 2011)

Por lo cual se concluye que la bacteria nitrificante que fue aislada a partir de la muestra ambiental fue *Nitrosomonas europaea* la cual es la encargada de oxidar el amonio a nitritos (Aburto, 2011).

---

## XI Determinación de la cantidad de bacterias

A los 29 días de operación del sistema se obtiene lo siguiente :

$$Y = Y_0 * e^{kt}$$

$K_s(\text{bacteriano}) = 0.007$  (UFC media/mL/día ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (Aburto, 2009)

Ci de bacterias=  $3.64 \times 10^3$

Remoción de amonio en 29 días= 55.37 mg/L de amonio

$$Y = 3.64 * 10^3 * e^{0.007*29}$$

$$Y = 60028.55 \text{ bacterias en 29 días}$$

Por día se obtiene que se consumen 1.9 mg de amonio, por lo tanto hay  $3.15 \times 10^4$  bacterias degradan 1 mg de amonio por día.