



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

REMOCIÓN DE NITRÓGENO EN AGUA RESIDUAL POR MEDIO DE UN
BIODISCO CON UNA BAJA RELACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA/AMONIO

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
JUAN ANTONIO CALVA OLVERA

TUTOR PRINCIPAL
DR. ÓSCAR GONZÁLEZ BARCELÓ – INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR
DR. GUILLERMO QUIJANO GOVANTES - INSTITUTO DE INGENIERÍA,
UNIDAD ACADÉMICA JURQUILLA, UNAM
DR. IVÁN MORENO ANDRADE - INSTITUTO DE INGENIERÍA,
UNIDAD ACADÉMICA JURQUILLA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Iván Moreno Andrade
Secretario: Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Vocal: Dr. Guillermo Quijano Govantes
1^{er} Suplente: Dra. Georgina Fernández Villagómez
2^{do} Suplente: Dr. Óscar González Barceló

Lugar donde se realizó la tesis: Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería

TUTOR DE TESIS:

Dr. Óscar González Barceló

FIRMA

Índice

1. Antecedentes.....	1
1.1 Justificación.....	1
1.2 Remoción aerobia de material orgánico.....	2
1.3 Eliminación biológica de nitrógeno.....	4
1.3.1 Ciclo del nitrógeno.....	4
1.3.2 Nitrificación.....	5
1.3.3 Desnitrificación.....	6
1.3.4 Anammox.....	7
1.4 Biopelículas.....	10
1.4.1 Formación de biopelículas.....	10
1.4.2 Factores que afectan la formación de biopelículas.....	13
1.4.3 Estructura de las biopelículas.....	13
1.4.4 Composición de biopelículas.....	15
1.5 Biodiscos.....	16
1.6 Nitrificación-desnitrificación a bajos niveles de OD.....	18
1.7 Efecto de las rpm y sumergencia en el sistema.....	20
2. Objetivos, hipótesis y metas.....	23
2.1 Hipótesis.....	23
2.2 Objetivo General.....	23
2.3 Objetivos específicos.....	23
2.4 Alcances.....	23
2.5 Metas.....	24
3. Metodología.....	25
3.1 Condiciones de operación.....	25
3.2 Descripción de reactor.....	28
3.3 Determinación de coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno... 29	
3.4 Arranque y operación de reactor.....	30
3.5 Determinaciones experimentales.....	33
3.6 Estrategia experimental.....	35
3.7 Balance de masa.....	36
4. Resultados y discusión.....	39

4.1	Coeficiente de transferencia de oxígeno	39
4.2	Inoculación y arranque de reactor	41
4.3	Comportamiento parámetros de control	43
4.4	Evaluación del reactor	46
4.4.1	Sólidos suspendidos y adheridos	46
4.4.2	Demanda química de oxígeno	48
4.4.3	Transformaciones de nitrógeno	50
4.4.4	Otras pérdidas de nitrógeno	58
4.5	Cinética de reacciones	62
4.6	Balance gráfico de nitrógeno.....	73
4.7	Tasas de remoción de nitrógeno	76
4.8	Actividad heterótrofa y autótrofa en el reactor.....	82
5.	Conclusiones	84
6.	Referencias.....	86
A.	Anexos	97
A.1	pH	97
A.2	Oxígeno disuelto (OD)	98
A.3	Sólidos suspendidos totales	99
A.4	Sólidos suspendidos volátiles	100
A.5	Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	101
A.6	Nitrógeno amoniacal (N-NH ₄ ⁺).....	102
A.7	Nitrógeno nitrato (N-NO ₃ ⁻).....	103
A.8	Nitrógeno nitrito (N-NO ₂ ⁻).....	104
A.9	Características de influente a reactor reportados en la literatura y el presente trabajo	105
A.10	Micronutrientes en soluciones traza para el agua sintética reportados en la literatura y el presente trabajo.....	106

Índice de figuras

Figura 1.1 Ciclo del nitrógeno (Rojas Rosales, 2017)	5
Figura 1.2 Reacción Anammox (Water Solutions, 2014)	9
Figura 1.3. Etapas de formación de la biopelícula (Dirckx, 2003).....	12
Figura 1.4. Esquema de un biodisco	17
Figura 3.1. Área y reactor de trabajo	29
Figura 4.1. Comportamiento del coeficiente de transferencia de oxígeno a 30°C	40
Figura 4.2. Aumento de sólidos suspendidos en el reactor durante arranque.....	42
Figura 4.3. Comportamiento de la temperatura a través del tiempo.....	43
Figura 4.4. Comportamiento del oxígeno disuelto en el reactor	45
Figura 4.5. Comportamiento del pH.....	45
Figura 4.6. Sólidos suspendidos totales y volátiles en líquido del reactor	47
Figura 4.7. Valores DQO a través de las etapas	50
Figura 4.8. Concentraciones a la salida del reactor.....	53
Figura 4.9 Vías de generación de N ₂ O (Tomada de Frutos et al., 2018).....	59
Figura 4.10 Emisión de gases de N en relación con tasas de remoción de N-NH ₄ ⁺	60
Figura 4.11. Porcentaje de NH ₃ a diversas temperaturas como función del pH (Tomada de Xiong et al., 2018).....	61
Figura 4.12. Perfil de concentraciones etapa I.	63
Figura 4.13. Perfil de concentraciones etapa II	64
Figura 4.14. Perfil de concentraciones etapa III	65
Figura 4.15. Perfil de concentraciones etapa IV.....	66
Figura 4.17. Perfil de concentraciones etapa V	67
Figura 4.17. Perfil de concentraciones etapa VI.....	68
Figura 4.18. Valores de OD en las diferentes etapas	70
Figura 4.19. Orden de reacción especies nitrógeno. A) N-NH ₄ ⁺ , B) N-NO ₃ ⁻ , C) N- NO ₂ ⁻	72
Figura 4.20. Especies nitrogenadas en el reactor	74
Figura 4.21. Monitoreo avance etapas experimentales	75
Figura 4.22. Tasas de remoción específicas por etapa	77
Figura 4.23. Tasas de remoción de amonio y nitrógeno total por etapa	81
Figura 4.24. Porcentaje de actividad heterótrofa y autótrofa por etapas	82
Figura A.1 Potenciómetro Thermo Orion Scientific 2 Star	97
Figura A.2 Medidor de oxígeno disuelto	98
Figura A.3 Estufa digital Riossa HCF-62	99
Figura A.4 Mufla Lindberg 51894	100
Figura A.5 Digestor HACH DRB 200 y espectrofotómetro Genesys	101
Figura A.6 Kit de determinación de amonio y espectrofotómetro Genesys	102
Figura A.7 y espectrofotómetro Genesys	103
Figura A.8 Kit de determinación de nitritos y espectrofotómetro Genesys	104

Índice de tablas

Tabla 3.1. Características de influente a reactor.....	26
Tabla 3.2. Concentraciones de amonio y bicarbonato de sodio utilizadas a la entrada del reactor	27
Tabla 3.3. Características del reactor y medio de soporte para biopelícula.....	28
Tabla 3.4. Biomasa, como sólidos, extraída de cubos de poliuretano	31
Tabla 3.5. Comparación de impacto de TRH en remoción de N.....	32
Tabla 3.6. Métodos Empleados	34
Tabla 3.7. Etapas experimentales.....	35
Tabla 4.1. Coeficientes de transferencia de oxígeno a 30 °C.	39
Tabla 4.2. Valores promedio de parámetros de control	44
Tabla 4.3. Valores de TRS.....	47
Tabla 4.4. Valores de DQO inicial y final	48
Tabla 4.5. Carga orgánica y tasa de consumo.....	48
Tabla 4.6. Concentraciones a la entrada del reactor	51
Tabla 4.7. Concentraciones de nitrógeno en el efluente	54
Tabla 4.8. Consumo y producción de especies nitrogenadas en el reactor	54
Tabla 4.9. Nitrógeno utilizado en síntesis celular.....	56
Tabla 4.10. Remoción teórica heterótrofa	57
Tabla 4.11. Remoción atribuida a actividad anammox	58
Tabla 4.12. Estimación de N ₂ O emitido por etapas	60
Tabla 4.13. Comportamiento OD durante prueba cinética	69
Tabla 4.14. Constantes de reacción para etapas experimentales	70
Tabla 4.15. Tasas específicas de remoción.....	76
Tabla 4.16. Tasas de remoción.....	79

Abreviaturas

Anammox	Oxidación anaerobia de amonio
AOB	Bacterias oxidantes de amonio
CO	Carga orgánica
DQO	Demanda química de oxígeno
NH_4^+	Amonio
NO_2	Nitrito
NO_3	Nitrato
NOB	Bacterias oxidantes de nitrito
N_{org}	Nitrógeno orgánico
OD	Oxígeno disuelto
RBC	Rotating Biological Contractor (Biodisco)
SST	Sólidos suspendidos totales
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
TRH	Tiempo de retención hidráulico
TRS	Tiempo de retención de sólidos

Resumen

La remoción de nitrógeno en aguas residuales usando un proceso anammox es una alternativa para disminuir los costos de aireación en una instalación de tratamiento de agua. En este estudio se evaluó la capacidad que tiene un reactor de biodiscos de presentar actividad anammox al limitar la relación C/N a valores entre 0.4 y 0.6, con cargas de amonio de 1.05 a 1.68 mg N-NH₄⁺/m²·d, el TRH del reactor se mantuvo en 24 horas. El reactor funcionó bajo régimen discontinuo durante 243 días, que se dividieron en seis etapas y una fase de arranque, el mayor valor de tasa de remoción específica de amonio se tuvo en la etapa IV (113.3 mg N-NH₄⁺/g SSV·d), donde se encontró una contribución de anammox de 76.6 mg N-NH₄⁺/g SSV·d. En cuanto a remoción de nitrógeno total, la mayor remoción (77.72%) se presentó en la etapa V, mientras que la menor remoción (54.35%) se tuvo en la etapa III. Se consiguió, de acuerdo con el balance de masa propuesto, un aporte por actividad anammox de hasta un 63% para la etapa V en cuanto a remoción de nitrógeno amoniacal.

1. Antecedentes

1.1 Justificación

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales, un paso crítico es la etapa aerobia para oxidar el amonio y el carbono orgánico, lo cual requiere de un gran aporte de oxígeno, mientras que si se tiene un proceso anaerobio a menudo se requiere de una entrada adicional de carbono orgánico. El desafío de sincronizar los procesos aerobio y anaerobio en un mismo sistema de tratamiento, es mantener una comunidad nitrificadora a bajas concentraciones de oxígeno disuelto (Chen *et al.*, 2018a).

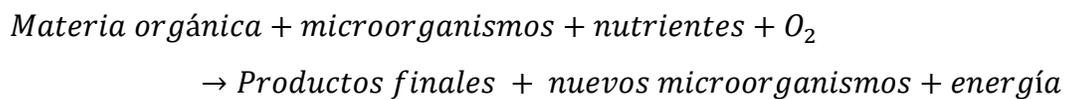
La eliminación de nitrógeno durante el tratamiento de aguas residuales a menudo se logra por el proceso convencional de nitrificación autótrofa y desnitrificación heterótrofa. Este proceso es adecuado para el tratamiento de aguas residuales ricas en amonio con alto contenido de carbono biodegradable. Sin embargo, se vuelve más costoso para las aguas residuales con bajas relaciones de carbono a nitrógeno (C: N) debido a la adición requerida de una fuente externa de carbono orgánico para la etapa de desnitrificación (Zhang *et al.*, 2019). En este último caso, la combinación de nitrificación parcial y oxidación anaerobia de amonio (anammox, por sus siglas en inglés) puede disminuir los costos operacionales en casi un 90% (De Clippeleir *et al.*, 2009). El proceso de nitrificación parcial/anammox en una sola etapa (SPN/A) es un método económicamente viable para la eliminación de amonio del agua residual. En dicho proceso, el amonio es oxidado parcialmente a nitrito por las bacterias oxidantes de amonio (AOB), el nitrito producido y el amonio restante son aprovechados para producir nitrógeno gas por las bacterias anammox. Este proceso tiene varias ventajas con respecto a los métodos convencionales de eliminación de nitrógeno, tales como no requerir carbono orgánico, la baja generación de lodos y requerimientos energéticos mínimos (Li *et al.*, 2017).

El escenario actual de tratamiento de aguas residuales está orientado hacia el desarrollo y uso de tecnologías energéticamente eficientes. El método de aireación

en los sistemas de tratamiento de aguas residuales consume aproximadamente 55.6% del consumo total de energía del proceso (Sandip *et al.*, 2017).

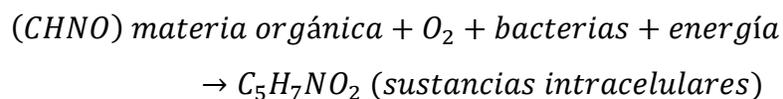
1.2 Remoción aerobia de material orgánico

La oxidación biológica es el mecanismo por el cual los microorganismos degradan el material orgánico contenido en el agua residual. De esta manera, estos microorganismos se alimentan de dicha materia orgánica en presencia de oxígeno y nutrientes, de acuerdo con la siguiente reacción:



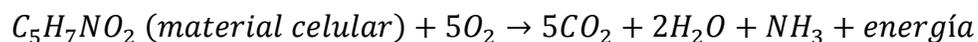
Para que lo anteriormente expuesto se produzca, son necesarias dos tipos de reacciones fundamentales totalmente acopladas: de síntesis o asimilación y de respiración endógena u oxidación (MWH, 2005).

La síntesis o asimilación de nutrientes, consiste en la incorporación del alimento (materia orgánica y nutrientes) al interior de los microorganismos. Estos microorganismos al obtener suficiente alimento forman nuevos microorganismos reproduciéndose rápidamente. Parte de este alimento es utilizado como fuente de energía. La reacción que ocurre es la siguiente:



Reacciones de oxidación y respiración endógena

Los microorganismos necesitan de energía para realizar sus funciones vitales, dicha energía la obtienen transformando la materia orgánica asimilada y aquella acumulada en forma de sustancias de reserva en gases, agua y nuevos productos de acuerdo con la siguiente reacción (Metcalf & Eddy, 2003):



Como se puede observar en la reacción la materia orgánica del medio disminuye considerablemente transformándose en nuevas células, gases y otros productos. A todo este conjunto de reacciones se les denomina oxidación biológica, porque los microorganismos necesitan de oxígeno para realizarlas.

Los factores principales que hay que tener en cuenta para que se produzcan las reacciones biológicas, y, por tanto, las eliminaciones de contaminantes del agua residual son (Segura, 2007):

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

Los nutrientes: En el agua residual aparte de C, N y P, elementos característicos de la materia orgánica, se encuentran otros elementos como son el S, Ca, Mg etc., denominados nutrientes y que a pesar de que muchos de ellos se encuentran en pequeñas cantidades, son fundamentales para el desarrollo de la síntesis biológica. Se ha determinado a nivel medio que los microorganismos para sobrevivir necesitan por cada 1000 g de C, 43 de N y 6 de P. por lo tanto es importante que el efluente de nuestro sistema aporte los nutrientes necesarios para favorecer el desarrollo de comunidades bacterianas.

Concentración de oxígeno disuelto: Para que se desarrollen las reacciones biológicas es necesario un medio aerobio, es decir, con oxígeno suficiente que permita el desarrollo y la respiración de los microorganismos aerobios, además de permitir que se lleven a cabo las reacciones de oxidación.

Temperatura: existe una relación entre la temperatura del medio y la degradación de material orgánico en aguas residuales, se ha encontrado que a medida que aumenta la temperatura, aumenta la velocidad con que los microorganismos

degradan la materia orgánica, sin embargo, a partir de los 37°C, dichos organismos empiezan a tener dificultades para realizar sus funciones metabólicas.

1.3 Eliminación biológica de nitrógeno

1.3.1 Ciclo del nitrógeno

El ciclo del nitrógeno es uno de los ciclos biogeoquímicos más importantes que tienen lugar en la naturaleza, permite mantener un equilibrio entre las distintas formas de nitrógeno y la composición de la biósfera. Se trata de un proceso a través del cual el nitrógeno se incorpora al suelo y pasa a formar parte de los organismos vivos antes de regresar a la atmósfera. En la figura 1.1 se puede observar el ciclo del nitrógeno.

El ciclo del nitrógeno está compuesto por diferentes procesos naturales que mediante la acción de diversos microorganismos suministran este elemento a los seres vivos. El nitrógeno, parte esencial de las proteínas y los aminoácidos, se encuentra mayoritariamente en la atmósfera en un porcentaje del 79%. Sin embargo, este nitrógeno gas tiene que ser transformado químicamente para ser utilizado por los seres vivos a través de su fijación y asimilación (López Castillo, 2009).

La fijación del nitrógeno molecular permite incorporar diferentes compuestos de nitrógeno (N_{org} , NH_4^+ , NO_3^-) susceptibles de ser utilizados por los seres vivos para su crecimiento, dicha fijación la llevan a cabo organismos autótrofos que transforman el nitrógeno orgánico mediante su metabolismo. Una vez que los compuestos orgánicos nitrogenados (N_{org}) son asimilados, las bacterias los transforman en amonio (NH_4^+) a través de la descomposición de los seres vivos, de los excrementos y de la orina. Los organismos nitrificantes (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*) en presencia de oxígeno, convierten este amonio en nitrito (NO_2^-) y posteriormente en nitrato (NO_3^-) a través del proceso de nitrificación. Finalmente, este nitrato, en condiciones anóxicas y consumiendo materia orgánica, se

transforma en nitrógeno gas por las bacterias desnitrificantes (*Pseudomonas* principalmente), mediante el proceso de desnitrificación. En este ciclo también intervienen los microorganismos llamados bacterias anammox, que oxidan el amonio a nitrógeno gas utilizando el nitrito como aceptor de electrones en condiciones anaerobias y sin la necesidad de materia orgánica (Strous *et al.* 1998).

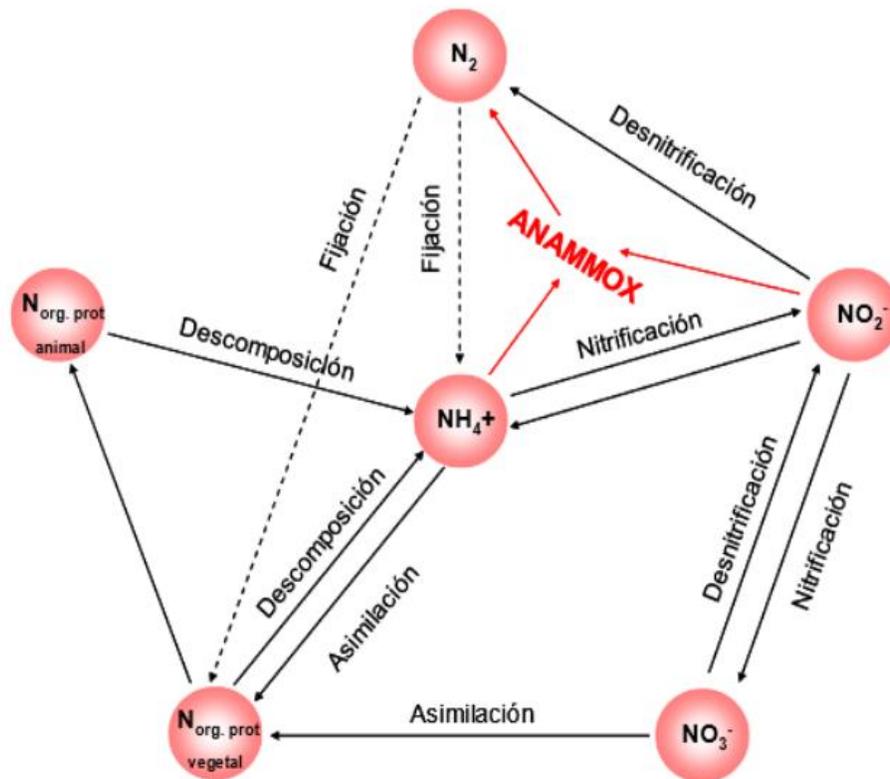


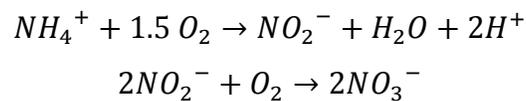
Figura 1.1 Ciclo del nitrógeno (Rojas Rosales, 2017)

1.3.2 Nitrificación

La nitrificación es la formación biológica de nitrato a partir de amonio, pasando por la formación de nitrito. Estas reacciones de oxidación son catalizadas por dos grupos de microorganismos llamados oxidantes de amonio y oxidantes de nitrito, dichas reacciones son llevadas a cabo por dos grupos de microorganismos autótrofos: *Nitrobacter* y *Nitrosomonas* (Lin *et al.*, 2009).

La nitrificación es un proceso aerobio realizado por microorganismos quimiolitotróficos. Los organismos nitrificantes se dividen en dos grandes

grupos: las bacterias oxidantes de amonio (AOB) y las bacterias oxidantes de nitrito (NOB). Estos microorganismos, obtienen la energía de los compuestos reducidos de nitrógeno (amonio y nitrito, respectivamente) y la fuente de carbono es el sistema de carbonatos en el agua. Una característica importante de estos microorganismos es que realizan sus procesos metabólicos a manera de mutualismo, pues el producto final de las AOB es el sustrato de las NOB. La primera ecuación mostrada a continuación corresponde a la reacción realizada por las AOB, mientras que la segunda ecuación es realizada por la NOB (Lin *et al.*, 2009; Frutos *et al.*, 2018; Wett *et al.*, 2010).



De acuerdo con la estequiometría de la reacción, durante el proceso de nitrificación se produce un consumo de oxígeno de 4.57 g O₂ por 1 g de NH₄⁺ oxidado a NO₃⁻. De igual forma, se producen dos moles de protones por cada mol de amonio oxidado. Por esta razón, la alcalinidad en el agua residual debe ser suficiente para mantener el pH en el rango óptimo (7.0-7.5) para realizar la nitrificación, debido a que se consumen 7.14 g CaCO₃ por 1 g de NH₄⁺ oxidado a NO₃⁻ (Metcalf & Eddy, 2003).

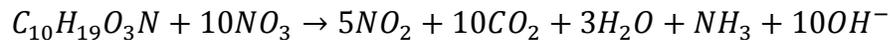
1.3.3 Desnitrificación

La desnitrificación es un proceso heterótrofo bajo condiciones anóxicas donde ocurre una reducción desde nitrato hasta N₂ catalizada por medio de diferentes enzimas. Los productos intermedios de este proceso son el nitrito (NO₂⁻), el óxido nítrico (NO) y el óxido nitroso (N₂O).

La desnitrificación se realiza en presencia de un donador de protones, que generalmente es materia orgánica; aunque también puede llevarse a cabo con otras especies químicas reducidas como H₂S o algunos metales, y se utiliza a los óxidos de nitrógeno como aceptores de electrones en sustitución del oxígeno disuelto. Dependiendo de cual sea la fuente de materia orgánica disponible se tienen

diversas expresiones que describen el proceso de desnitrificación (Metcalf and Eddy, 2003):

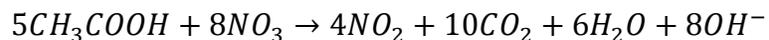
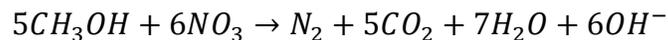
1. Materia orgánica presente en las aguas residuales.



2. Materia orgánica producida durante la muerte de los microorganismos (endógena)



3. Materia orgánica como fuente de carbono exógena (metanol o acetato)



El rendimiento del proceso de desnitrificación está relacionado con la concentración de materia orgánica biodegradable presente en el efluente. Por ello, para aguas residuales con una baja relación C: N es necesario adicionar una fuente externa de materia orgánica para completar el proceso de desnitrificación. Mientras que con relaciones de C/N inferiores a 2.5 no se alcanza una desnitrificación óptima, con una relación de C/N superior a 4, la tasa de desnitrificación aumenta un factor de 1.5 a 1.7. En este sentido, la relación C/N se ha de ajustar para tener un proceso desnitrificante eficiente (Cervantes Carrillo *et al.*, 2000; López Castillo, 2009)

1.3.4 Anammox

El proceso anammox, consiste en la oxidación de amonio bajo condiciones anaerobias, utilizando el nitrito como aceptor de electrones, y el amonio como donador de electrones para producir nitrógeno gas (Lackner *et al.*, 2015; Strous *et al.*, 1997).

La característica principal del sistema anammox es que no necesita materia orgánica biodegradable para desnitrificar debido a que las bacterias implicadas en el proceso son quimiolitotóxicas, es decir, obtienen el carbono necesario para su crecimiento a partir del carbono inorgánico. Además, para el tratamiento previo de nitrificación parcial se requiere un menor consumo de oxígeno. Estas dos

características presentan una ventaja respecto al proceso de nitrificación-desnitrificación. Al mismo tiempo, la biomasa generada en el proceso anammox es menor que la producida por los procesos convencionales (López Castillo, 2009; Strous *et al.*, 1997; Szatkowska & Paulsrud, 2014).

El proceso anammox ha atraído la atención recientemente debido a su potencial de transformar las plantas de tratamiento de agua de consumidoras de energía a productoras o al menos neutras en cuanto al balance energético. Sin embargo, la presencia de DQO a la entrada de un proceso anammox contribuye al desarrollo de comunidades de bacterias heterótrofas que pueden competir por nitritos con las bacterias Anammox, interfiriendo de esta manera con el proceso de remoción autótrofa de nitrógeno. Además, los largos periodos requeridos para arrancar un sistema con biomasa anammox, han hecho que su utilización no sea todavía más grande (Liu *et al.*, 2017; Malamis *et al.*, 2014).

El proceso anammox no elimina completamente el nitrógeno, ya que aparte del nitrógeno gas generado se obtiene una pequeña cantidad de nitratos. Esta producción de nitrato se debe a la oxidación de una parte del nitrito en condiciones anaerobias. La energía obtenida en esta reacción se utiliza para fijar el CO₂ lo que permite el crecimiento de nuevas células. Al mismo tiempo, según la estequiometría de la reacción, se produce un consumo de protones que provoca un aumento de pH debido a la actividad de la biomasa anammox, en la figura 1.2 se ilustra el proceso anammox (Strous *et al.*, 1997).

El crecimiento de las bacterias anammox es muy lento, con una velocidad específica de crecimiento máxima de $\mu_{max}=0.065 \text{ d}^{-1}$ y, por consiguiente, un tiempo de duplicación de entre 8.3 - 11 días (Isaka *et al.*, 2006, van der Star *et al.*, 2008). Este es el punto crítico que tomar en cuenta para hacer crecer a los microorganismos anammox. En comparación con las bacterias nitrificantes, éstas presentan velocidades diez veces superiores ($\mu_{max}=0.77 \text{ d}^{-1}$ para las Nitrosomonas y

$\mu_{max}=1.08 \text{ d}^{-1}$ para las Nitrobacter), con tiempos de duplicación de 1.3 y 0.92 días respectivamente (Strous *et al.*, 1998).

Este lento crecimiento de las bacterias anammox está relacionado con la baja velocidad específica de consumo de amonio, $0.04 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ mg proteína}^{-1}\text{min}^{-1}$, siete veces menor que la velocidad específica de las bacterias amonio oxidantes, $0.3 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ mg proteína}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Por esta razón es que las bacterias anammox requieren períodos de retención celular elevados (Strous *et al.*, 1998).

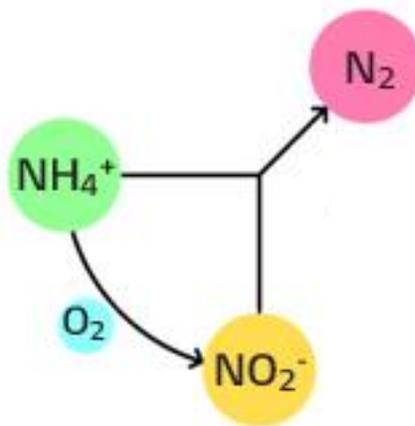


Figura 1.2 Reacción Anammox (Water Solutions, 2014)

El proceso anammox tiene como desventaja su alta sensibilidad a alteraciones de los parámetros que intervienen en el sistema, principalmente pH, temperatura, oxígeno disuelto, así como los efectos de la concentración de sustrato (amonio y nitrito), producto (nitrato) y materia orgánica sobre la actividad de la biomasa anammox (López Castillo, 2009).

Efecto del pH. La actividad de las bacterias anammox puede verse afectada por el pH. El rango de pH para llevar a cabo el proceso anammox se encuentra entre 6.7 y 8.3, en el que se obtiene la mayor tasa de eliminación de amonio y nitrito.

Efecto de la temperatura. Se ha observado que la temperatura óptima para llevar a cabo el proceso anammox oscila entre 30 y 35°C, a temperaturas mayores no se observa actividad de estos microorganismos (Strous *et al.*, 1998).

Efecto de la velocidad de agitación. El mecanismo de cómo las fuerzas hidrodinámicas influyen en la formación y estructura de las biopelículas no está todavía descrito. Sin embargo, la velocidad de agitación es un parámetro a tener en cuenta a la hora de poner en marcha y enriquecer un reactor anammox. Entre 60 y 180 revoluciones por minuto (rpm) no existe inhibición del proceso anammox. En cambio, a velocidades de agitación superiores a 250 rpm la actividad específica de la biomasa anammox decrece un 40% debido a la desestabilización del sistema provocada por la muerte celular y la ruptura de uniones. Al romperse el gránulo la retención de la biomasa en el sistema disminuyó, provocando su pérdida por el efluente y en consecuencia una menor eliminación de nitrógeno, la acumulación de nitrito y la inhibición del proceso (López Castillo, 2009).

Para eliminar eficaz y eficientemente el nitrógeno, el proceso anammox ha atraído la atención mundial. El requisito previo para lograr el proceso anammox para el tratamiento de aguas residuales municipales es lograr una nitrificación parcial estable a largo plazo. Muchos factores, como la disolución del oxígeno (OD), el tiempo de retención de sólidos (TRS), el amoníaco libre y el ácido nitroso libre, afectan la estabilidad de la nitrificación parcial, es por eso que este proceso es tan inestable pero tan valioso una vez que se alcanza (Zhou *et al.*, 2018).

1.4 Biopelículas

1.4.1 Formación de biopelículas

La biopelícula comienza a formarse cuando una bacteria libre se adhiere a una superficie. En un principio el crecimiento de las bacterias se da en forma de una monocapa gruesa y uniforme que crea una escasez de nutrientes en las capas más profundas. En las estructuras de la biopelícula esto se evita mediante la formación de estructuras similares a pilares con canales intermedios a través los cuales

penetra el agua que aporta los nutrientes a las bacterias. En aguas de flujo rápido las biopelículas tienden a adoptar la forma de serpentinas filamentosas adheridas al extremo en dirección a la corriente. Las bacterias de la biopelícula pueden desempeñar funciones en forma cooperativa, en la figura 1.3 se muestran las etapas de formación de una biopelícula (McBain, 2009; Tortora *et al.*, 2007).

Una vez que se cumplen las condiciones de afinidad entre la superficie del material y las bacterias, el crecimiento de la biopelícula se lleva a cabo en etapas, donde de manera general se entiende a la formación de la biopelícula como resultado de la interacción entre una serie de procesos físicos, químicos y biológicos enlistados a continuación (Characklis & Marshall, 1990):

- ✓ **Adherencia.** Una vez que algunos organismos logran adherirse a la superficie, se inicia el desarrollo de las primeras capas de bacterias que utilizan mecanismos para garantizar su adherencia y la de las generaciones siguientes. Por lo general, este proceso lo logra una sola especie de rápido crecimiento que forma una película delgada que cubre toda la superficie. La adherencia es un proceso que ocurre en dos fases: la primera fase es reversible y se da por fuerzas Van der Waals y atracciones electrostáticas entre el medio de soporte las bacterias. En la segunda fase, ocurre con una interacción física de las células con la superficie por medio de material extracelular de naturaleza polisacárida o proteica producida por las bacterias, ésta se denomina matriz extracelular, y soporta la formación de la biopelícula (Tribelli & López, 2015; Zhang *et al.*, 2004).

- ✓ **Colonización o inducción.** Las bacterias u organismos presentes en el agua residual deben entrar en contacto con la superficie y adherirse a ella para realizar una colonización incipiente. En esta etapa la biopelícula aumenta su grosor, pues en un principio solo es una monocapa y aquí se desarrolla un crecimiento de microorganismos en la biopelícula (Sehar, & Naz, 2016).

- ✓ **Oportunismo.** Al existir una primera película y su matriz extracelular, otros organismos de más lento crecimiento, como pueden ser las bacterias autótrofas tienen la oportunidad de encontrar un lugar aprovechando la primera biopelícula como soporte para su crecimiento. Al paso del tiempo un mayor número de especies tienen oportunidad de utilizar la biopelícula como medio de adherencia y supervivencia (Boltz *et al.*, 2005).

- ✓ **Estabilización.** También se le conoce como maduración y generalmente se entiende como el tiempo que el sistema biológico, o biocenosis, requiere para que se establezcan las relaciones entre los diferentes organismos y el número de individuos de cada grupo no cambie con respecto al tiempo (Lewandowski & Boltz, 2011).

- ✓ **Desprendimiento.** El primer paso en el desprendimiento de una parte de la biopelícula es causado por (Piculell, 2016):
 - a) la hidrólisis de polihidroxi-butirato en condiciones anaerobias,
 - b) acción mecánica del movimiento de depredadores secundarios y
 - c) acción del agua sobre la superficie de la biopelícula.

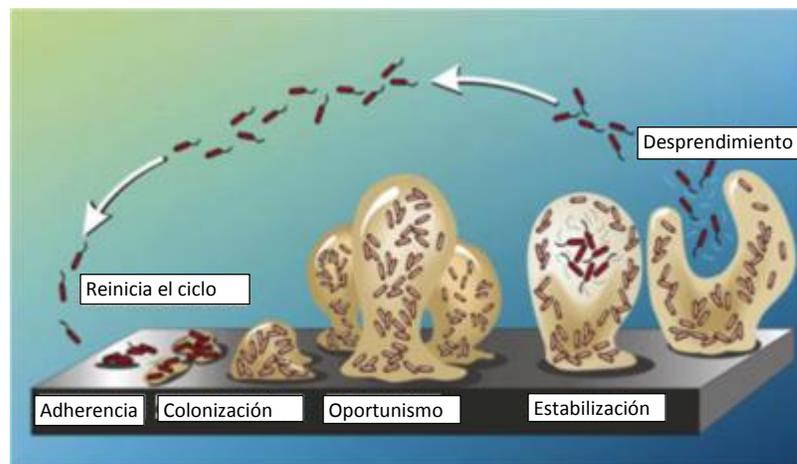


Figura 1.3. Etapas de formación de la biopelícula (Dirckx, 2003)

1.4.2 Factores que afectan la formación de biopelículas

Cuando una superficie inerte se pone en contacto con el agua residual y oxígeno atmosférico, las bacterias comienzan a formar la biopelícula dependiendo de las características de la superficie del material entre las que se encuentran (Iwai & Kitao, 1994; Palmer *et al.*, 2007):

Cargas electrostáticas. La superficie externa de las bacterias tiene una carga electrostática predominantemente negativa a valores de pH superiores a 4-5. Por este motivo, la superficie del medio de soporte para el desarrollo de las biopelículas debe tener cargas superficiales positivas para crear la fuerza necesaria que permita a las bacterias adherirse al material (Tyagi & Vembu, 1990; Palmer *et al.*, 2007).

Afinidad al agua. Es un factor de suma importancia que influye en la preferencia de las bacterias por una superficie ya que dependiendo de su grado de hidrofobicidad o afinidad por el agua esta van a formar biopelículas más estables. Por este motivo las superficies de materiales altamente hidrofóbicos, como el polietileno, poliestireno y poliamida, atraen eficazmente organismos hidrofóbicos como son las bacterias del tipo de la Zoogloea y otras formadoras de PHB (Iwai & Kitao, 1994).

Porosidad. Las biopelículas que se desarrollan sobre materiales porosos son más estables y resistentes que las que crecen sobre materiales lisos, ya que un material poroso expone una mayor área superficial al crecimiento de los microorganismos permitiendo que una parte de estos se encuentre en las zonas profundas de los poros.

1.4.3 Estructura de las biopelículas

Originalmente se tenía la percepción de que la estructura de las biopelículas era homogénea con pequeñas variaciones en sus propiedades tales como porosidad, distribución del tamaño del poro, densidad y población microbiana, esto debido a pruebas realizadas con microscopios ópticos de resolución limitada y microscopios

de barrido electrónicos que requerían muestras deshidratadas antes de ser examinadas. Cuando se comenzaron a realizar pruebas con microscopios confocales láser fue que se lograron realizar pruebas no destructivas y con muestras hidratadas para conocer la verdadera naturaleza de las biopelículas (Castrejón, 2005; Palmer *et al.*, 2007).

Mediante el uso de microscopía confocal se logró establecer un modelo que predice el crecimiento de microorganismos en una forma similar a la de un hongo, en donde las colonias de microorganismos están situadas en la parte superior de este hongo, lo que constituye una capa límite. Algunas de estas formaciones crecen juntas y se fusionan, pero entre ellas se presentan canales de agua abiertos de manera que el agua puede fluir a través de la mayor parte de la biopelícula (Bishop & Yu, 1999; Costerton *et al.*, 1994).

La matriz es muy hidratada debido a que incorpora grandes cantidades de agua dentro de su estructura, llegando este elemento a representar hasta el 97% de ésta. Las bacterias en biopelícula viven en agrupaciones de células que se desarrollan en forma tridimensional desde la superficie a la cual están adheridas. Estas agrupaciones están compuestas por colonias de diferentes tipos de bacterias, tanto aerobias como anaerobias, adheridas por medio de exopolisacáridos, y separadas unas de otras por espacios intersticiales, comúnmente llamados canales de agua, que permiten el flujo de líquido y permiten el transporte y difusión de nutrientes y oxígeno a las bacterias ubicadas en su interior, incluso aquellas situadas en las zonas más profundas de la biopelícula pueden tener acceso a estos nutrientes. Otra utilidad que tiene es como mecanismo para la remoción de productos de desecho metabólico (Nazar, 2007).

La existencia de estos canales de agua no hace que su composición sea homogénea, pues al interior de la biopelícula se encuentran ambientes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Se genera, de esta manera, una gradiente de pH y concentración de oxígeno, siendo metabólicamente más activas las áreas superficiales respecto a las más profundas. En estas últimas,

las bacterias deben adaptarse a una concentración limitada de oxígeno. La formación y estructura de una biopelícula depende de las características del substrato al cual se une y a otros aspectos del medio ambiente (Costerton *et al.*, 1994; Nazar, 2007).

1.4.4 Composición de biopelículas

La composición de las biopelículas presentes en los diferentes sistemas de tratamiento depende principalmente de la cantidad y calidad de los nutrientes disponibles y de las condiciones ambientales, pero generalmente se encuentran las siguientes poblaciones en las mismas:

✓ **Bacterias:** La masa de bacterias es superior al 90 por ciento, como materia seca. Los principales géneros observados en biodiscos son predominantemente bacterias heterótrofas con la presencia de algunas nitrificantes en las zonas de baja carga orgánica. Entre ellos se puede mencionar *Achromobacterium*, *Alcaligenes*, *Beggiatoa*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphaerotilus* y *Zoogloea*. Dependiendo de las condiciones del medio con respecto a presencia de amonio, se pueden encontrar bacterias autótrofas *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, las cuales habitan dentro de la matriz gelatinosa formada por las heterótrofas, debido a que ellas no pueden excretar exopolisacáridos (Pereira *et al.*, 2002)

✓ **Algas:** Debido a su dependencia de la luz, pues son fotótrofas, por lo general están presentes en lugares donde los rayos de luz solar pueden penetrar para que lleven a cabo su metabolismo. Debido a esto, su participación en el proceso de transformación de compuestos orgánicos y contaminantes es prácticamente despreciable, sin embargo, es común encontrar algas en cualquier parte de los sistemas de tratamiento ya que son arrastradas por el agua.

✓ **Protozoarios:** Se distinguen tres grupos principales: los ciliados y las amebas, también llamados depredadores primarios, y los flagelados que no son

depredadores, sino que compiten por el material orgánico disuelto. La actividad depredadora de las amebas, al igual que la actividad depuradora de los flagelados, se consideran despreciables debido al bajo número de individuos que se han observado. En cambio, los ciliados tienen una función importante ya que se alimentan principalmente de bacterias y su número puede llegar a valores hasta del 5 por ciento determinado como materia seca (Pereira, *et al.*, 2005).

✓ **Depredadores secundarios:** Se alimentan no sólo de bacterias, sino también de otros organismos pequeños como protozoarios y de material orgánico particulado. Estos participan en los procesos de desprendimiento de la biopelícula, siendo los más importantes en su número los rotíferos, aunque también se pueden encontrar algunos nematodos, insectos y sus larvas.

1.5 Biodiscos

Los biodiscos son un sistema de tratamiento de aguas residuales que remueven la materia orgánica soluble y coloidal presente en el agua residual, bajo condiciones aerobias. Consiste en un tanque que contiene una serie de discos instalados a manera de material de soporte para la formación de biopelícula, colocados en una flecha (eje) horizontal, en la figura 1.4, se observa un esquema básico de un biodisco. Los discos giran a velocidades entre 1 y 10 r.p.m. y se encuentran sumergidos aproximadamente al 40% de su área superficial (Deloya, 2001; Welter *et al.*, 2004).

Los microorganismos presentes en el agua residual empiezan a adherirse y multiplicarse en la superficie de los discos, lo que ocasiona una película biológica de 2 a 4 milímetros de espesor. La forma de mantener oxigenado al sistema está dada por la rotación del reactor, la cual permite una difusión de oxígeno del aire hacia la superficie de la biopelícula adherida al material de soporte. Los microorganismos presentes en la biopelícula de los discos remueven la materia orgánica soluble de manera anaerobia, es decir estabilizan la materia orgánica en

sustancias más simples, en presencia de oxígeno (Deloya, 2001; Welter *et al.*, 2004).

La utilización de biodiscos tiene potenciales beneficios en la reducción del tamaño del tanque de reacción, tiempo de retención hidráulico y gastos de aireación, además de tener una gran capacidad de remoción de altas cargas de nitrógeno, comparado con sistemas tradicionales de tratamiento de agua residual (Hassard *et al.*, 2015).

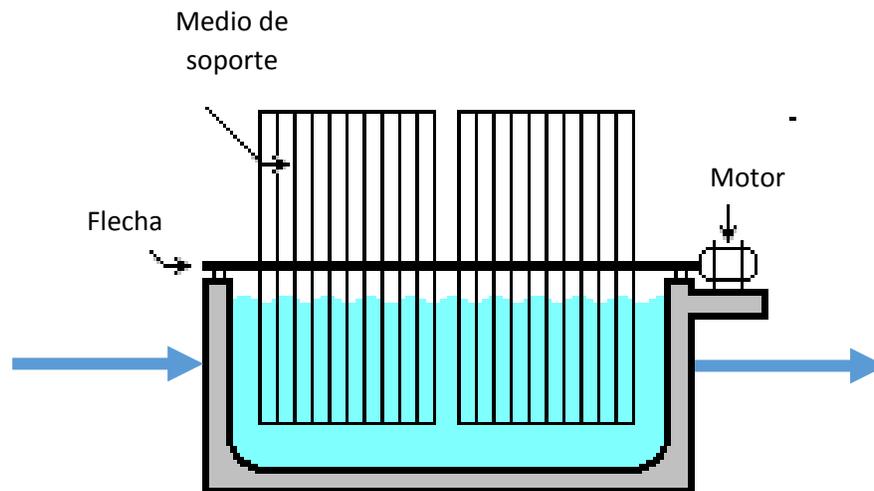


Figura 1.4. Esquema de un biodisco

El consumo de oxígeno, así como la remoción de la materia orgánica se efectúa mientras que el sistema gira a través del agua residual, las fuerzas de fricción ejercidas sobre la biopelícula mientras giran los discos provocan que el exceso de biomasa se desprenda, esto evita la producción excesiva de biomasa manteniendo una biopelícula con un espesor no muy grande para no interferir con otros discos. La rotación del sistema mantiene en suspensión a la biomasa desprendida hasta que el flujo de agua la saca del sistema.

Generalmente el flujo de agua residual es paralelo al eje, pero puede fluir en forma perpendicular. Algunas de las variables que afectan el proceso son: temperatura, pH, alcalinidad, salinidad (conductividad), carga orgánica e hidráulica, recirculación del efluente y velocidad de giro (Deloya, 2001; Welter *et al.*, 2004).

Los biodiscos presentan una serie de ventajas con respecto a otros sistemas de tratamiento entre las cuales destacan (Welter *et al.*, 2004):

- Alta eficiencia en la remoción de material orgánico
- Sencillez operativa y constructiva.
- Bajo consumo de energía.
- Regulación de la tasa de aireación mediante variación de la velocidad de giro.
- Bajo requerimiento de espacio físico.
- Minimización de las instalaciones de sedimentación secundaria por retención prolongada de los microorganismos en el soporte.

La operación de un reactor tipo RBC (Rotating biological contractor, por sus siglas en inglés), es popular debido a su construcción y operación simple, su robustez y bajo costo de operación (Courstens *et al.*, 2014).

1.6 Nitrificación-desnitrificación a bajos niveles de OD

Para tratar el agua residual con altos contenidos de amonio y baja carga orgánica se han estudiado procesos que funcionen con bajo oxígeno disuelto, por su ahorro energético por la disminución de instalaciones de aireación, siendo la tecnología OLAND la más utilizada. Esta tecnología OLAND (por sus siglas en inglés Oxygen limited autotrophic nitrification/denitrification) consiste en un reactor de una sola etapa que sirve para remover amonio de aguas residuales con una baja relación C/N a través de la combinación de nitrificación parcial y anammox (Courstens *et al.*, 2014; Banihani *et al.*, 2012).

De acuerdo con Zhang *et al.* (2017), la obtención de una nitrificación parcial es crucial para la aplicación exitosa de la combinación de nitrificación parcial con anammox. Para dichos autores una relación nitrito/amonio de 1 en el influente funcionó para lograr el proceso combinado.

Kuai y Verstraete (1998) reportaron un potencial de eliminación de nitrógeno del 40% en el reactor de disco rotatorio OLAND utilizando un agua sintética con 1g de

$\text{NH}_4^+\text{-N/L}$. Además, se reportó que el 22% del $\text{NH}_4^+\text{-N}$ alimentado fue convertido en $\text{NO}_2\text{-N}$ o $\text{NO}_3\text{-N}$ y el 38% se mantuvo como $\text{NH}_4^+\text{-N}$. La pérdida de nitrógeno reportada es atribuida a la oxidación del $\text{NH}_4^+\text{-N}$ a N_2 con el $\text{NO}_2\text{-N}$ como aceptor de electrones.

Existe otro proceso de remoción de nitrógeno amoniacal conocido como SPN/A. El proceso de nitrificación/anammox parcial en una sola etapa (SPN/A) es un método económicamente viable para la eliminación de amonio del agua residual (Li *et al.*, 2017, Miao *et al.*, 2017). En los procesos SPN/A, el amonio es oxidado parcialmente a nitrito por las bacterias oxidantes de amonio (AOB), el nitrito producido y el amonio restante se convierten en gas nitrógeno por las bacterias anammox. El proceso SPN/A tiene varias ventajas con respecto a los métodos convencionales de eliminación de nitrógeno, tales como no requerir carbono orgánico, la baja generación de lodos y requerimientos energéticos mínimos. Hasta la fecha, los procesos de SPN/A se han aplicado a aguas residuales de alto contenido de amonio, como el lixiviado de vertedero, la fracción líquida del digestato y el agua residual industrial (Li *et al.*, 2017).

El proceso de nitrificación parcial-anammox (PNA) bajo aireación intermitente es factible para agua residual con baja intensidad de amonio, pero el efecto de la demanda química de oxígeno (DQO) en los procesos anammox convencionales no está completamente entendido (Miao *et al.*, 2018).

Cuando las proporciones de C/N en el influente aumentan en un cierto nivel, las tasas de eliminación de amonio se reducen debido a la supresión de la actividad de bacterias anammox. Durante el funcionamiento a largo plazo de los sistemas SPN/A con altas cargas de DQO, los procesos dominantes de eliminación de nitrógeno cambian del proceso de anammox a la desnitrificación debido a la competencia por nitrito. La remoción de nitrógeno se ve favorecida por la coexistencia de procesos de desnitrificación y anammox con una relación DQO/N de 0.8. En general, en el proceso SPN/A, el rendimiento de eliminación de nitrógeno se ve significativamente afectado por el carbono orgánico en el influente, ya que es un factor clave que regula la sinergia de anammox y desnitrificación. Además, se ha informado que la DQO

influyente afecta significativamente a las comunidades microbianas en los procesos SPN/A, con diversidad microbiana y la abundancia está fuertemente correlacionada con las proporciones de COD/N (Li *et al.*, 2017).

Un proceso simultáneo de nitrificación parcial, anammox y desnitrificación (SNAD) para tratar el licor del digester de lodo en un reactor de lecho móvil (MBBR) tiene una eficiencia de eliminación de nitrógeno del 70%. Durante el período de puesta en marcha, y su posterior estabilización, la nitrificación se logró controlando la concentración de OD (0.3-0.5 mg/L), amoníaco libre (0.6-8.2 mg/L) y ácido nitroso libre (0.03-1.20 mg/L). Lo siguiente muestra que los procesos acoplados de nitrificación desnitrificación no son solo aplicados a aguas residuales, sino que tienen un potencial de aplicación más grande (Xu *et al.*, 2018).

La eliminación de amonio (NH_4^+) de las aguas residuales municipales es esencial para proteger los cuerpos de agua receptores de la eutrofización. Un proceso para lograr esta tarea es la Nitritación Parcial/Anammox (PNA). Hasta la fecha, la mayoría de los procesos PNA se aplican en el tratamiento de corrientes de agua a temperaturas mesofílicas ricas en amonio. Esencialmente, el proceso de PNA consiste en dos pasos de conversión: a) Nitritación parcial (PN) y b) oxidación anaerobia de amonio. Durante la nitrificación parcial el amonio se convierte de manera aerobia a nitrito por bacterias oxidantes de amoníaco (AOB), mientras que durante el proceso anammox el amonio junto con el nitrito es convertido de forma anaerobia al producto deseado (N_2) por bacterias anammox. PNA se puede obtener a través de una sola etapa (un reactor) o mediante dos etapas o reactores (Blum *et al.*, 2018).

1.7 Efecto de las rpm y sumergencia en el sistema

Con las ventajas de compactidad, bajo consumo de energía, fácil operación y una huella ecológica pequeña, los biodiscos han ganado popularidad con respecto a los sistemas convencionales para el tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, los biodiscos tienen algunas deficiencias, como un área de unión limitada y una capacidad de oxigenación relacionada con la velocidad de giro. Los biodiscos que

se operan a velocidades de rotación de 1.7-5 rpm alcanzan coeficientes de transferencia de oxígeno (K_{La}) de 0.00069-0.069 min^{-1} . Para lograr altas tasas de degradación del sustrato, es necesaria una mayor capacidad de oxigenación, que se logra al aumentar la velocidad de rotación. Sin embargo, las altas velocidades de rotación conducen al alto consumo de energía, lo que puede no ser económico para las aplicaciones de tratamiento de aguas residuales (Hewawasam, 2017).

De acuerdo con Di Palma (2009), la velocidad de giro del sistema de biodisco, afecta la aeración del agua, por lo tanto, es importante controlar este parámetro, en dicho estudio se encontró que a 3 rpm se lograba un buen nivel de aeración suficiente para lograr efluentes con calidad aceptable en cuanto a niveles de nitrógeno se refiere. El rango de rpm típico en un biodisco es de 2 a 10.

Courtens *et al.* (2014) investigaron los factores que influyen en el suplemento de oxígeno en un disco rotatorio OLAND, y demostraron que la nitración puede controlarse mediante el nivel de inmersión, además de que el control de oxígeno debería basarse principalmente en el porcentaje de exposición de los discos. Para cumplir este objetivo se combinaron dos velocidades de rotación (1.8 y 3.6 rpm) así como dos niveles de inmersión del disco (50 y 75%) los cuales fueron probados durante un periodo de dos semanas. Subsecuentemente se probaron diferentes niveles de inmersión durante un tiempo de 7 a 11 semanas a 1.8 rpm. La tasa de transferencia de oxígeno fue medida haciendo distinción en los diferentes mecanismos (absorción en la superficie líquida de la biopelícula y absorción directa de oxígeno por lo microorganismo de la biopelícula contra la transferencia de oxígeno en la fase líquida del reactor). Los resultados mostraron una influencia nula por parte de la velocidad de giro del reactor. Por el contrario del total en la transferencia de oxígeno del 85 al 89% fue absorbida por los microorganismos presentes en la biopelícula. Además, se reportó que un incremento en la sumergencia del biodisco (75 a 80%) podría suprimir significativamente la nitración no deseada, a corto y largo plazo.

Teixeira & Oliveira (2001), encontraron que, si se someten a comparación 2 reactores uno con sumergencia del 100% y otro del 65%, el primer reactor tiene una

mejor remoción de nitrógeno tanto de amonio como de nitrato, es decir es un proceso más eficiente, sin embargo, requiere de mayores tiempos de estabilización. También fue notorio el hallazgo de que la biopelícula formada en el reactor 2 (65% de sumergencia) era más delgada, lo cual facilita los procesos de transferencia de masa en el reactor.

2. Objetivos, hipótesis y metas

2.1 Hipótesis

La operación de un reactor de biopelícula con soporte rotatorio con bajas concentraciones de oxígeno disuelto dará lugar a una nitrificación parcial y desamonificación vía autótrofa de un influente de agua residual sintética con bajo contenido de material orgánico.

2.2 Objetivo General

Evaluar la remoción de nitrógeno en agua residual con una baja relación de materia orgánica/amonio, utilizando un biodisco.

2.3 Objetivos específicos

- Evaluar el comportamiento oxidativo de nitrógeno amoniacal a nitritos y nitratos, variando la concentración de nitrógeno amoniacal en un reactor de biopelícula.
- Evaluar la remoción de nitrógeno de una corriente de agua residual a través de diferentes relaciones C/N mediante un reactor de biopelícula.
- Determinar las condiciones que promueven la nitrificación parcial y la oxidación anaerobia de amonio variando la relación entre carga orgánica y carga de amonio en un reactor de biopelícula.

2.4 Alcances

- El reactor se alimentará con agua sintética preparada en el laboratorio.
- El reactor se inoculará con biomasa disponible en cubos de poliuretano de alta densidad que contienen bacterias nitrificantes.
- Para facilitar la formación de la biopelícula se construirá un reactor con soporte rotatorio.

2.5 Metas

- Se operará el reactor a bajas concentraciones de oxígeno disuelto y material orgánico.
- Propiciar las condiciones para que se forme la biopelícula con actividad nitrificante parcial y desamonificante por vía autótrofa.

3. Metodología

Con los antecedentes de que al disminuir por etapas la concentración de oxígeno disuelto se inhibe la nitratación para promover un proceso de nitrificación parcial y oxidación anaerobia de amonio por vía autótrofa. Se trabajó con un reactor de biopelícula con soporte rotatorio en donde se ajustó la temperatura, alcalinidad, relación DQO/N-NH₄⁺ en el influente

Para conseguir el objetivo de obtener el proceso nitrificación parcial-oxidación anaerobia de amonio por vía autótrofa, se debe limitar la concentración de oxígeno disuelto al interior del reactor, lo cual se hizo variando la superficie expuesta de material de soporte de biopelícula y cambiando la relación C/N. En esta investigación se trabajó con un intervalo de concentración de OD comprendido entre 0.68 – 1.23 mg/L.

La formación de biopelícula al inicio del experimento se favoreció trabajando con una sumergencia del disco al 50%, dicho valor aumentó conforme el experimento avanzó, debido a que, a menor superficie de material de soporte expuesta al medio ambiente, se tiene una menor concentración de OD en el reactor. Además, al aumentar la concentración de amonio en la entrada es necesario variar la cantidad de OD para garantizar la oxidación del mismo. La operación con los intervalos propuestos de concentraciones de OD, se lograron con dos valores de sumergencia de discos. Que dependieron de observar el comportamiento de parámetros una vez que la biopelícula se había formado.

3.1 Condiciones de operación

Las características del agua residual preparada en laboratorio son las indicadas en la tabla 3.1. Que, además, muestra las condiciones más relevantes de operación del reactor como son temperatura, pH y concentración de oxígeno disuelto.

Tabla 3.1. Características de influente a reactor

Reactivo	Valor
Sulfato de amonio (mg/L)	Ver tabla 3.2
Bicarbonato de sodio (mg/L)	Ver tabla 3.2
Fosfato de potasio monobásico (mg/L)	27.2
Cloruro de calcio dihidratado (mg/L)	300
Sulfato de magnesio heptahidratado (mg/L)	300
Solución Traza	1.25 mL
OD (mg/L)	0.6-1.2
T (°C)	30
pH	7.4-8

Como se observa en el anexo A.9., en diversos trabajos experimentales se trabaja con condiciones similares de nutrientes y micronutrientes para simular las características de un agua residual con altos contenidos de amonio y baja carga orgánica.

Los trabajos de Clippelier *et al.* (2009, 2011 y 2013) y Schaubroeck *et al.* (2012), coinciden en sus concentraciones de micronutrientes en el agua sintética, basándose en el trabajo de Kuai & Verstraete (1998).

Las concentraciones elegidas para el agua sintética, se basaron principalmente en una experimentación previa, realizada en tesis de García (2018), donde se obtuvieron resultados de una posible remoción de nitrógeno por vía autótrofa.

Para mantener el pH del sistema en el intervalo de trabajo, se necesita una relación molar 1:2 entre $N-NH_4^+$: HCO_3^- , por ello la concentración de $NaHCO_3^-$ fue variada a lo largo de la experimentación, además esto asegura que las bacterias autótrofas tengan su fuente de carbono, que obtienen a través del sistema HCO_3^- . En la tabla 3.2 se resumen las concentraciones de sulfato de amonio y bicarbonato de sodio utilizadas a lo largo de la experimentación.

Tabla 3.2. Concentraciones de amonio y bicarbonato de sodio utilizadas a la entrada del reactor

Etapa	(NH₄)₂SO₄ (mg/L)	NaHCO₃ (mg/L)
I	472	1200
II	566	1440
III	755	1920
IV	755	1920
V	566	1440
VI	472	1200

Se preparó una disolución de componentes traza, indispensables para la formación y estabilidad de la biopelícula, dichas concentraciones de compuestos resultan ser similares entre sí, por lo que no se realizaron grandes modificaciones a lo reportado por la literatura, los valores usados, así como valores reportados en la literatura se incluye en el anexo A.10.

En cuanto a las condiciones de operación del reactor (temperatura y pH), se encontró consistencia en trabajos de Clippelier *et al.*, (2009, 2011, 2013), Schaubroeck *et al.* (2012), por lo que se tomaron estos valores para iniciar la experimentación. En el caso de la concentración de oxígeno disuelto se eligió el valor más alto reportado por los autores, y de ahí los cambios conforme los resultados de la experimentación.

3.2 Descripción de reactor

Para realizar esta experimentación se utilizó un reactor de soporte rotatorio, el cual consta de 11 discos de polietileno de alta densidad de 14.5 cm de diámetro, sobre una barra de *Nylamid* construido especialmente para este trabajo. El área superficial total del reactor, expuesta para formación de biopelícula es de 0.38 m². El volumen efectivo del reactor es de 7 litros a una sumergencia del 100%. En la tabla 3.3 se enlistan las características principales del medio de soporte para crecimiento de la biopelícula.

Tabla 3.3. Características del reactor y medio de soporte para biopelícula.

Componente	Valor
Número de discos	11
Grosor de discos (cm)	0.3
Diámetro de discos (cm)	14.5
Espacio entre discos (cm)	1
Área superficial total (m ²)	0.38
Volumen efectivo (L)	7
Sumergencia (%)	100

La flecha con los discos está montada sobre un reactor de vidrio como se observa en la figura 3.1. Para hacer girar los discos se diseñó un sistema formado por una polea acoplada a un motor que le da potencia y esta a su vez hace girar un volante sostenido sobre el eje en que están sujetos los discos que sirven como soporte para la formación de biopelícula. El motor debido a su peso se colocó sobre una torre de metal, capaz de soportar el peso de este, además cuenta con un sistema de rodamientos para ajustar la altura del motor en caso de ser necesario.

El reactor se montó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental ubicado en el edificio 5 del Instituto de Ingeniería.

Para las mediciones de la concentración de OD se utilizó un medidor de OD YSI, y en cuanto a la temperatura ésta se ajustó por medio de una parrilla eléctrica.



Figura 3.1. Área y reactor de trabajo

3.3 Determinación de coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno

Antes de iniciar la inoculación y arranque del reactor fue necesario realizar una prueba que diera indicios del comportamiento referente a la transferencia de oxígeno de la atmósfera hacia el interior del reactor, ya que, al no contar con un sistema de aireación, la única manera de ingresar o mantener la concentración de oxígeno en el reactor es con el giro de los discos.

El coeficiente de transferencia sirve para indicar la magnitud de la transferencia de O_2 de la fase gaseosa a la líquida en función de la geometría y las condiciones de operación del reactor. Para la obtención de estos datos se realizó el método descrito en Ramalho (1983), que básicamente dice lo siguiente:

1. Colocar agua en el reactor hasta lograr una sumergencia del 40% aproximadamente de los discos y registrar el volumen requerido
2. Medir la cantidad de oxígeno disuelto en el agua

3. Con base en la lectura anterior calcular los requerimientos de Na_2SO_3 y CoCl_2 , sabiendo que la relación $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{O}_2$ es de 7.9 con un exceso del 10 al 20%, para determinar la cantidad de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ es necesario saber que se necesita una concentración de Co^{2+} de 1.5 ppm o 2.75 mg/L
4. Cuando la concentración de OD es cero, comenzar a airear con el giro del biodisco, midiendo las concentraciones de OD a intervalos se registran los datos en la tabla

Tiempo (min)	C(mg/L)	$C_s - C$ (mg/L)
-----------------	---------	------------------

Donde el termino C equivale a la concentración medida en el tiempo t, mientras que $C_s - C$ es igual a la diferencia que existe entre la concentración medida y el valor de la concentración de saturación de oxígeno en el agua a una determinada temperatura.

5. Se grafica $\ln(C_s - C)$ vs t para determinar el valor de la pendiente de acuerdo a la ecuación $dC/dt = K_L a (C_s - C)$
6. Al integrar la ecuación anterior se obtiene la siguiente expresión, y de manera gráfica el valor de la pendiente es igual a $-K_L a$

$$\int_{C_0}^{C_t} \frac{dC}{C_s - C} = K_L a \int_0^t dt$$

$$C_t = C_s - (C_s - C_0)e^{-K_L a t}$$

3.4 Arranque y operación de reactor

Para realizar la operación del reactor se inoculó con biomasa extraída de un reactor de lecho móvil MBBR, por sus siglas del inglés *moving bed biofilm reactor*, que tenía como medio de soporte cubos de poliuretano. Se seleccionó dicho inóculo debido a que en la experimentación previa se encontró que el reactor MBBR tuvo indicios de actividad oxidante anaerobia de amonio por vía autótrofa. El método para realizar la inoculación se describe a continuación:

1. Se tomó el lote de cubos de poliuretano, que se encontraba en refrigeración en una solución de agua sintética.
2. Los cubos fueron sometidos a una extracción mecánica de sólidos a través de una espátula.
3. La biomasa desprendida de los cubos fue depositada al interior del reactor.
4. Los cubos fueron sometidos a un lavado con agua sintética con el fin de desprender la mayor cantidad de biomasa adherida en estos, y el agua de lavado fue introducida al reactor.
5. Se procedió a arrancar el reactor.

Para conocer los parámetros de la inoculación, se determinaron los sólidos tanto totales como volátiles contenidos en el reactor, y con ellos se obtuvo la cantidad de biomasa al inicio del experimento, la información se resume en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Biomasa, como sólidos, extraída de cubos de poliuretano

Parámetro	Valor
SST (mg/L)	91
SSV (mg/L)	64
V_{reactor} (L)	4
Biomasa inicial, como SSV (mg)	256

El reactor se operó bajo un régimen discontinuo (reactor secuencial de operación discontinua). El inicio fue con recambios de volumen de 4 L, para mantener una sumergencia del 55%. Durante las primeras semanas de operación se mantuvo un TRH de 7 días, con el fin de lograr la formación de biopelícula. Posteriormente el TRH disminuyó a manera de realizar cambios de agua con un TRH de 72 horas, y finalmente se trabajó con un TRH de 24 horas de acuerdo a un comparativo ilustrado en la tabla 3.5, y a recomendaciones realizadas por autores como Sandip *et al.* (2017) y Courtens *et al.* (2014).

Tabla 3.5. Comparación de impacto de TRH en remoción de N

	TRH (h)	Remoción de N (%)
Wen <i>et al.</i>, 2017	24	79
Fu <i>et al.</i>, 2018	22	<90
Amand, 2008	24	72
Blum <i>et al.</i>, 2018	16	89
Kowalski <i>et al.</i>, 2018	24	82

Durante el tiempo de experimentación se midió y ajustó la concentración de oxígeno disuelto, cuidando que ésta no superara 1.3 mg/L con el fin de limitar la actividad de las bacterias oxidantes de nitrito. El reactor operó a 2 rpm, lo cual permitió controlar la concentración de OD en niveles bajos. Para iniciar el trabajo experimental se sumergieron los discos a un 50% de su superficie, esto con la finalidad de mantener el OD por debajo de 1.2 mg/L, se encontró que cuando los discos se encontraban entre el 50 y el 60 % de sumergencia, los valores de OD oscilaban entre 1.2 y 0.8 mg/L, por lo cual se inició con este intervalo de sumergencia la experimentación.

El pH se mantuvo por encima de 7.4, pero por debajo de 8, que es el intervalo en el cual el proceso de nitrificación parcial-oxidación anaerobia de amonio autótrofa se favorece. Para tener el ajuste del pH, se alimentó bicarbonato de sodio en relación molar 1:2 con respecto al amonio en la entrada del reactor, que aporta alcalinidad al agua, y además sirve como fuente de carbono para las bacterias autótrofas que se buscan.

En cuanto a la temperatura, diversas experimentaciones han encontrado que un rango entre 30 y 35 °C favorece el proceso de remoción de nitrógeno por vía autótrofa, por lo cual se seleccionó la temperatura de 30°C (Scaglione *et al.*, 2017; Miao *et al.*, 2017).

3.5 Determinaciones experimentales

Para dar seguimiento a la calidad del influente, así como el comportamiento de la biomasa en el reactor se realizaron determinaciones en laboratorio del LIA-IINGEN semanalmente. En el caso de SST, SSV y DQO, una vez a la semana; las determinaciones de temperatura, pH y OD se realizaron diariamente y las pruebas de nitrógeno en sus formas de amonio, nitrito y nitrato se realizaron tres veces por semana. En la tabla 3.6 se indican las pruebas realizadas, además se menciona en qué anexo se puede encontrar la manera de realizar dichas pruebas.

También fue necesario determinar la concentración de sólidos adheridos en los discos, por lo tanto, se utilizó la siguiente metodología.

Se extrajo el eje del reactor para poder remover los sólidos adheridos en un cuarto de la superficie de uno de los discos y se realizó prueba de determinación de SST y SSV, una vez obtenido el valor se procedió a multiplicarlo por ocho, que corresponde al número de cuartos que tiene el disco, incluyendo ambos lados y luego por once discos, de esa forma se obtuvo el valor de sólidos adheridos

Es importante conocer el valor del TRS que indica el tiempo promedio que permanece la biomasa al interior del reactor, para dicho cálculo se utilizó la siguiente relación de acuerdo a Tawfik *et al.* (2006):

$$TRS = \frac{VX}{QX_e}$$

Donde:

V= volumen de reactor (L)

X= concentración de sólidos en reactor (mg/L) -SSV

Q= flujo de efluente (L/d)

X_e= concentración de sólidos a la salida (mg/L)-SSV

Tabla 3.6. Métodos Empleados

Parámetro	Método	Anexo
Temperatura	Ajustada por medio de parrilla y monitoreada con medidor de oxígeno disuelto YSI Incorporate	
pH	Medición directa con electrodo de membrana del potenciómetro Thermo Scientific Orion 2 Star. Basado en: método 4500-O-G de APHA y WPCF (1992).	A.1
Oxígeno disuelto (OD)	Medición directa con electrodo de membrana del medidor de oxígeno YSI Incorporate. Basado en: método 4500-O-G de APHA y WPCF (1992).	A.2
Sólidos suspendidos totales (SST)	Por medio de método gravimétrico a 105°C. Basado en: 2540-D de APHA y WPCF (1992).	A.3
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	Gravimetría a 550°C. Basado en: método 2540-B de APHA.	A.4
Demanda química de oxígeno (DQO)	Digestión por reflujo cerrado a 150°C y espectrofotometría. Basado en: método 5220-D de APHA	A.5
Nitrógeno de amonio (N-NH₄⁺)	Técnica por espectrofotometría a 640nm. Basado en: analogous EPA 350.1, APHA 4500 NH ₃ F, ISO 7150-1, DIN 38406-5	A.6
Nitrógeno de nitrato (N-NO₃⁻)	Método por espectrofotometría a 324nm. Basado en: Norma DIN 38405-9.	A.7
Nitrógeno de nitrito (N-NO₂⁻)	Técnica por espectrofotometría a 525nm. Basado en: analogous EPA 354.1, APHA 4500- NO ₂ -B, DIN EN 26777	A.8

3.6 Estrategia experimental

El reactor se operó en seis etapas experimentales las cuales se resumen en la tabla 3.7. Dichas etapas tuvieron fundamento en los trabajos de Wen *et al.* (2017) que encontró valores de remoción de nitrógeno para relaciones C/N alrededor de 0.3 y de Liu *et al.* (2017) que muestra que la combinación de relación C/N bajas con una concentración de OD por debajo de 1 mg/L da crecimiento a bacterias para nitrificación parcial y oxidación anaerobia de amonio.

La concentración de DQO se mantuvo en valor medio de 64 ± 2.1 mg/L durante la experimentación, debido a resultados de una experimentación previa que mostraban indicios de actividad anammox a con esta concentración, lo cual llevó a modificar únicamente la concentración de nitrógeno amoniacal, esta variación permitió tener diferentes relaciones de DQO/N.

La concentración de OD se varió únicamente mediante la sumergencia de los discos, teniendo por tanto dos parámetros a considerar, la sumergencia de los discos, y la relación DQO/N, dichos factores impactan de manera directa en la capacidad de oxidación del reactor, entonces el experimento consistió en asignar la relación que tienen estos factores con la remoción de nitrógeno amoniacal y nitrógeno total (Choi *et al.*, 2018).

Tabla 3.7. Etapas experimentales

Etapas	Días	N-NH₄⁺ (mg/L)	DQO/N	Sumergencia (%)	OD (mg/L)
I	38-87	100	0.6	50	1.28 - 1.18
II	88-131	120	0.5	60	1.02 - 0.90
III	132-159	160	0.4	50	0.92 - 0.88
IV	160-187	160	0.4	60	0.73 - 0.63
V	188-215	120	0.5	50	0.82 - 0.80
VI	216-243	100	0.6	60	0.93 - 0.91

3.7 Balance de masa

En cada una de las etapas se realizó un balance de masa de nitrógeno. Primero determinando las transformaciones de nitrógeno ocurridas al interior del reactor, que incluyen, la transformación de amonio a nitrito, de nitrito a nitrato y de amonio a N orgánico; y segundo, calculando la remoción de nitrógeno en emisión de gases. Todo esto a partir de la siguiente ecuación, que es la ecuación general para balance de materia dada por Himmelblau (1997):

$$\left[\begin{array}{c} \text{Acumulación} \\ \text{dentro del} \\ \text{sistema} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{Entradas al} \\ \text{sistema} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{Salidas del} \\ \text{sistema} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{Generación} \\ \text{dentro del} \\ \text{sistema} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{Consumo} \\ \text{dentro del} \\ \text{sistema} \end{array} \right]$$

Al tratarse de un reactor discontinuo los términos de entrada y salida del sistema son cero, y los términos de generación y consumo se pueden unir en un término de masa reaccionante de la siguiente manera:

$$\left[\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{materia} \\ \text{acumulada} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{Entradas al} \\ \text{sistema} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{Salidas del} \\ \text{sistema} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{Tasa de materia} \\ \text{reaccionante} \\ \text{dentro del} \\ \text{sistema} \end{array} \right]$$

(Las flechas rojas en el diagrama original indican que los términos de 'Entradas al sistema' y 'Salidas del sistema' se cancelan con '0' por encima de ellos.)

$$V \frac{dC}{dt} = -kC^n V$$

Donde:

V: volumen del reactor

C: concentración de especie

n: orden de reacción

k: constante de reacción

Si se asume un orden de reacción 1, se cancelan los términos de volumen, y la ecuación queda de la siguiente manera:

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -k \int_0^t dt$$

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad C = C_0 e^{-kt}$$

Por tanto, es necesario obtener los perfiles cinéticos de las reacciones y verificar que se tenga una cinética de primer orden.

Una vez que se tienen los perfiles cinéticos es necesario realizar el balance de masa de nitrógeno en el reactor.

Se propuso establecer un balance en el que se incluyeran todas las transformaciones que tienen lugar en el sistema, considerando que solo se realizaron medidas al inicio y al final del ciclo de reacción.

En primer lugar, se definió la acumulación de nitrógeno de amonio, que es la diferencia que existe entre la masa de N-NH₄⁺ en el influente y en el efluente durante un ciclo.

$$\Delta N - NH_4 = [N - NH_{4_{infl}}] - [N - NH_{4_{efl}}] = \text{Acumulación de amonio}$$

Una vez que se conoce la acumulación de N-NH₄⁺, es necesario realizar las mediciones de las especies oxidadas de nitrógeno (N-NO₂⁻ y N-NO₃⁻) y producción de nitrógeno orgánica en crecimiento de biopelícula al inicio y final del ciclo de trabajo, dejando el balance de la siguiente forma:

$$\Delta N - NH_4 = [N - NO_{3_{efl}} - N - NH_{3_{infl}}] + [N - NO_{2_{efl}} - N - NH_{2_{infl}}] + N_{org}$$

$$\Delta N - NH_4 = [\Delta N - NO_3] + [\Delta N - NO_2] + \Delta N_{org}$$

Hasta el momento solo se ha considerado en el balance la parte de amonio que se consume, se transforma y permanece en el reactor. Sin embargo, para completar el balance se debe considerar la parte de nitrógeno que después de ser oxidado o parcialmente a nitrito es oxidado de forma anaerobia, o totalmente a nitrato es desnitrificado a nitrógeno gas, que en este caso es la generación de N₂, por lo tanto:

$$N_2 = [\Delta N - NH_4] - [\Delta N - NO_3] - [\Delta N - NO_2] - \Delta N_{org}$$

Una vez que se tiene el valor de N_2 , en este trabajo se asumió que este valor era producido tanto por desnitrificación heterótrofa como oxidación anaerobia autótrofa, por lo cual es necesario encontrar la manera de distinguir entre la generación por ambas vías. Si la tasa de generación de N_2 por vía heterótrofa, se calcula dividiendo la DQO influente entre 4.1 (Mateju *et al.*, 1992), máxima capacidad de desnitrificación heterótrofa entonces se despeja la tasa de generación por vía autótrofa de la siguiente manera:

$$N_{2T} = N_{2het} + N_{2aut} \quad N_{2aut} = N_{2T} - N_{2het}$$

Tasas de remoción

Para evaluar el comportamiento de remoción en el interior del reactor es necesario conocer las tasas de remoción promedio en el ciclo, para lo cual fueron usadas las siguientes expresiones de acuerdo a Li *et al.* (2017):

$$\text{Remoción de } N - NH_4 = \frac{(NH_4i + NO_3i + NO_2i) - (NH_4f + NO_3f + NO_2f)}{NH_{4inicial}} \times 100$$

$$\text{Tasa de remoción de } N = \frac{N_{inicial} - N_{final}}{HRT}$$

$$\text{Tasa de remoción de } N - NH_4 = \frac{[NH_{4,inicial} - NH_{4,final}]}{HRT}$$

Además de las anteriores expresiones es necesario calcular las tasas específicas de remoción las cuales dan información acerca de la capacidad de remoción de material con respecto a la cantidad de SSV en el reactor, pues tienen unidades de [g $N-NH_4^+$ /g SSV·d]. Con estos valores se compara el funcionamiento del reactor con otros trabajos.

4. Resultados y discusión

4.1 Coeficiente de transferencia de oxígeno

Se procedió a hacer girar los discos a 2 rpm y se realizaron mediciones de oxígeno disuelto cada 10 minutos durante 80 minutos, una vez concluido el tiempo se procedió a tratar los datos obtenidos con la siguiente formula:

$$\ln(C_s - C) = -k_L a \times t;$$

Donde:

$k_L a$: coeficiente de transferencia de oxígeno (h^{-1})

C_s : concentración de oxígeno disuelto de saturación

C : concentración de oxígeno al tiempo t

Dicho procedimiento se llevó a cabo para las sumergencias de 40, 50, 60, 70, 80 y 90%, a fin de explorar el comportamiento de la concentración de oxígeno en el agua con respecto a la sumergencia de los discos. Es importante hacer notar que en todas las corridas experimentales se obtuvo un coeficiente de correlación mayor a 0.99, lo que indica que los puntos experimentales se ajustan a una recta con pendiente $k_L a$.

Los resultados obtenidos para determinar el coeficiente de transferencia de oxígeno en el reactor, se resumen en la tabla 4.1, en dicha tabla se observa cómo a medida que el valor de sumergencia aumenta, es decir entre menos superficie de disco quedaba expuesta al aire, el coeficiente de transferencia de oxígeno disminuía.

Tabla 4.1. Coeficientes de transferencia de oxígeno a 30 °C.

Sumergencia %	$K_L a$ (h^{-1})
40	0.47
50	0.43
60	0.41
70	0.38
80	0.33
90	0.29

Los resultados corresponden al comportamiento reportado por Courtens *et al.* (2014), que encontraron que al aumentar la sumergencia de los discos, el valor de K_{La} disminuye. En cuanto a magnitud de este valor, los resultados son comparables con los reportados por Hewawasam *et al.* (2017), quienes encontraron valores de K_{La} del orden 0.25 h^{-1} , que son similares a los obtenidos para una alta sumergencia de los discos.

Para observar si había una tendencia en los resultados se graficaron los valores de k_{La} contra la sumergencia de disco como se observa en la figura 4.1, obteniéndose un factor de correlación de 0.98, que indica un comportamiento lineal

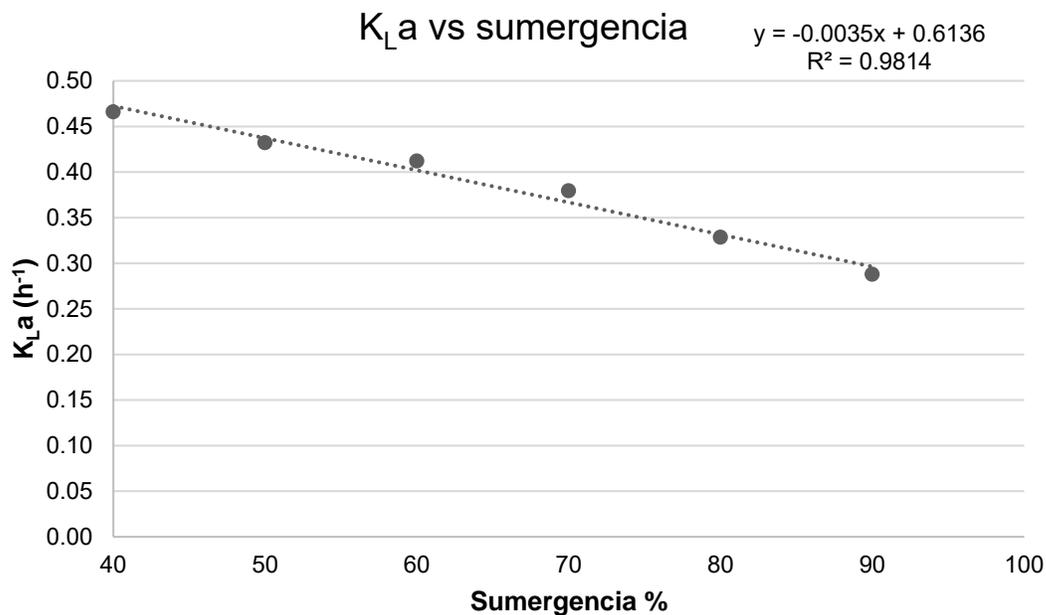


Figura 4.1. Comportamiento del coeficiente de transferencia de oxígeno a 30°C

Al ser representados los valores de k_{La} vs sumergencia mediante una recta con pendiente negativa se puede notar que a mayor sumergencia de los discos la velocidad de transferencia de oxígeno al medio será más lenta, por lo tanto, si se necesita controlar el valor de OD en el reactor a rangos bajos es necesario aumentar la sumergencia.

Con base en la figura 4.1, se observa un comportamiento similar al descrito por Tabraiz *et al.*, 2015, en donde si se mantiene las condiciones de rpm fijas, y solo se

varía la sumergencia de los discos, se encuentra que a mayor sumergencia de disco, se tiene una concentración menor de OD, lo que permite afirmar que el valor de OD se puede controlar con la sumergencia del biodisco, siempre y cuando se mantengan las 2 rpm durante el experimento.

4.2 Inoculación y arranque de reactor

Para realizar la inoculación del reactor se utilizó la biomasa proveniente de un reactor de lecho móvil, la cual se encontraba adherida a cubos de poliuretano. Dichos cubos fueron utilizados en un reactor que pretendía la remoción de nitrógeno por vía autótrofa, por tanto, las bacterias que se encontraban adheridas se utilizaron para inocular el reactor (García, 2018). Al mismo tiempo se utilizó lodo de purga proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales.

Durante los primeros días de operación del reactor, se mantuvo un régimen de alimentación discontinuo, para garantizar la formación de biopelícula y que las comunidades nitrificantes se formaran, pues es sabido que al ser una población autótrofa el tiempo de reproducción necesario es mayor. Durante este tiempo se tuvo un régimen de alimentación semanal, es decir, que el agua se cambiaba los lunes, este sistema de alimentación se mantuvo hasta la primera semana de julio, a partir de la segunda semana de este mes la alimentación se cambió a dos veces por semana (lunes y jueves) y se comenzaron a realizar determinaciones de nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos para conocer la actividad nitrificante que ocurría en el reactor.

El reactor inicio su operación con una concentración de SSV de 64 mg/L, y se dejó a proceso de colonización. Después de 24 días de operación se encontró un aumento en la concentración de SSV a 109 mg/L, lo cual representa una acumulación de biomasa al interior del reactor, por procesos de reproducción celular, que propicio una adherencia a la superficie de los biodiscos y un aumento en la concentración de sólidos en el líquido.

En la figura 4.2 se puede apreciar el aumento que se tuvo en las concentraciones de SST y SSV en el reactor, además es importante notar que las determinaciones que se hicieron de sólidos suspendidos fueron en el líquido, sin tomar en cuenta la biomasa que se adhirió a la superficie de los discos.

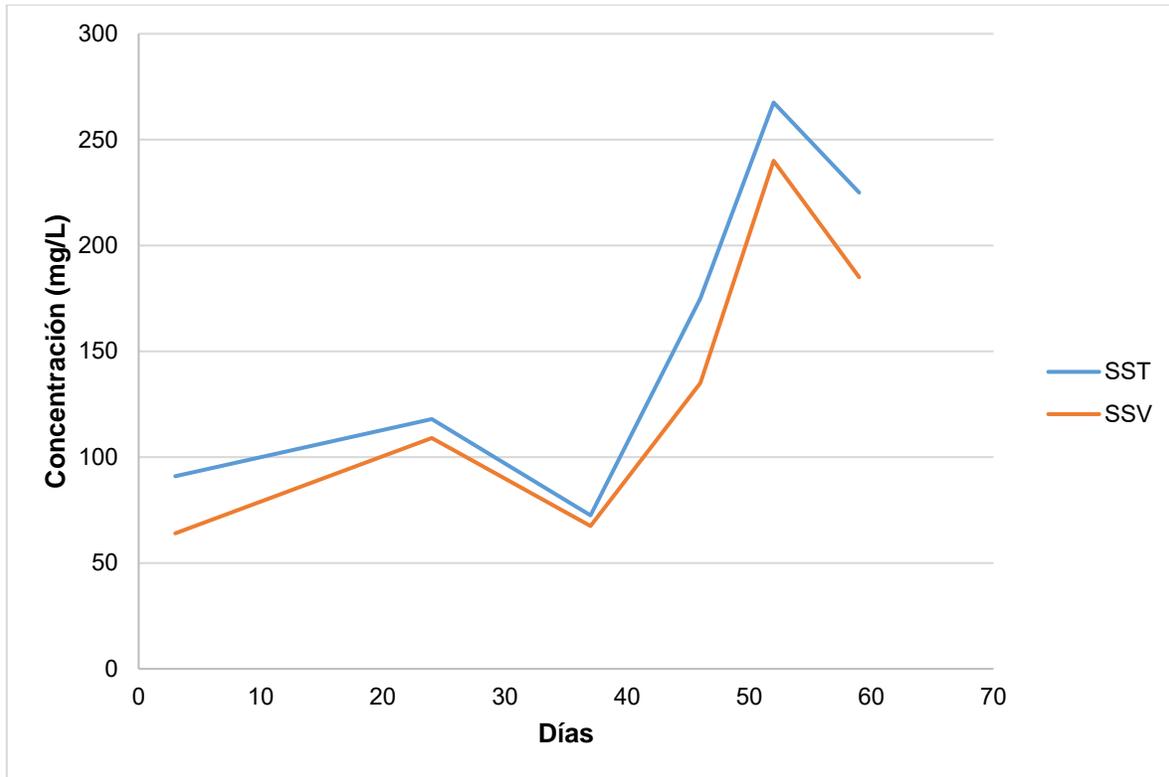


Figura 4.2. Aumento de sólidos suspendidos en el reactor durante arranque

En la figura se observa como en los primeros 24 días de experimentación se tuvo un aumento en la concentración de sólidos, sin embargo, en los siguientes 145 días se presentó una disminución de esta concentración a un valor similar a la inicial, probablemente debido a que una parte de los sólidos se comenzaron a adherir a la superficie del material de soporte. A partir del día 37 hasta el 52 se tuvo un aumento de alrededor de 200 mg/L de sólidos, y después de este día se comenzó una etapa de decremento de la concentración SST y SSV.

4.3 Comportamiento parámetros de control

Los parámetros que se midieron diariamente fueron temperatura, pH y oxígeno disuelto, para observar de manera continua los cambios que ocurren en el reactor, a continuación, se muestran las gráficas en las que se observa el comportamiento de dichos parámetros.

Temperatura

En la figura 4.3 se observa de manera gráfica el comportamiento que tuvo la temperatura a lo largo de la experimentación, el rango de temperaturas registradas durante todo el trabajo abarcó de 29 a 31°C. Durante la etapa de colonización del reactor la temperatura registró un valor promedio de 30.5°C, mientras que a lo largo de las seis etapas experimentales los valores promedio se mantuvieron entre 29.6 y 30.1°C, alcanzando su valor más alto en las etapas V y VI, el valor de temperatura más bajo se tuvo en la etapa III. En la tabla 4.2 se incluyen los valores promedio de las temperaturas registradas en cada una de las etapas.

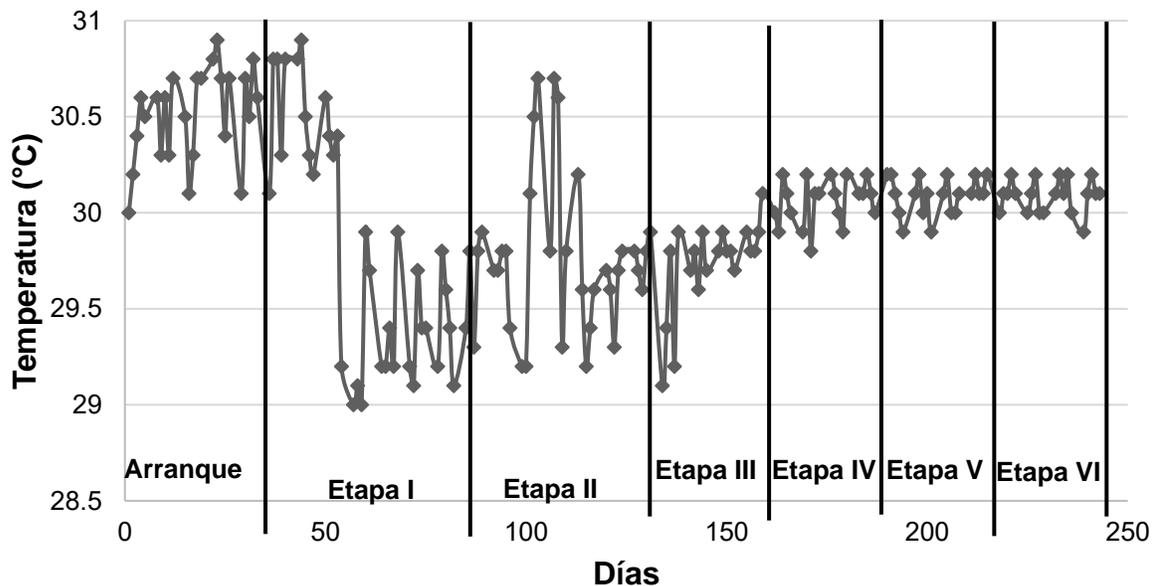


Figura 4.3. Comportamiento de la temperatura a través del tiempo

Los valores promedio para los parámetros de control, se encuentran resumidos en la tabla 4.2, en donde se observa que la etapa IV tuvo el menor valor de OD, mientras que la etapa I tuvo el valor mayor, esto sin tomar en cuenta la etapa de arranque del reactor. El comportamiento de la temperatura se mantuvo constante a lo largo de las seis etapas, al igual que el pH.

Tabla 4.2. Valores promedio de parámetros de control

Etapas	OD (mg/L)	T (°C)	pH
Arranque	3.46 ± 0.2	30.5 ± 0.24	7.66 ± 0.2
I	1.23 ± 0.05	29.82 ± 0.62	7.64 ± 0.15
II	0.96 ± 0.06	29.77 ± 0.4	7.67 ± 0.09
III	0.90 ± 0.02	29.68 ± 0.24	7.65 ± 0.08
IV	0.68 ± 0.05	30.06 ± 0.11	7.61 ± 0.06
V	0.81 ± 0.01	30.09 ± 0.09	7.62 ± 0.04
VI	0.92 ± 0.01	30.09 ± 0.08	7.64 ± 0.04

Oxígeno disuelto (OD) y pH

El comportamiento presentado por el oxígeno disuelto se ilustra en la figura 4.4, donde se observa un descenso en el valor justo en el día que comienzan las etapas experimentales, debido a que al acortarse el TRH, el oxígeno no puede volver a valores altos, pues las reacciones de oxidación todavía lo consumen, en la tabla 4.2 se incluyen los valores promedio, donde se aprecia que la etapa IV registró el promedio más bajo en la experimentación (0.68 mg/L), mientras que la etapa I obtuvo el valor más alto de oxígeno disuelto (1.26 mg/L), valores similares de OD fueron hallados por Veuillet *et al.* (2014). El pH se comporta de manera casi constante, principalmente debido a que el agua sintética se prepara con cierta cantidad de bicarbonato de sodio, el cual sirve como amortiguador en caso de que se generen iones H⁺ como en el caso de la nitrificación. En la figura 4.5 se muestra el comportamiento del pH hasta el día 159 de experimentación, y en la tabla 4.2 se tienen los valores promedio de este parámetro que se encuentran en un valor de 7.66 con una desviación mínima 0.04 y máxima de 0.2, dicho valor promedio coincide con lo reportado por Aslan & Dahab (2008).

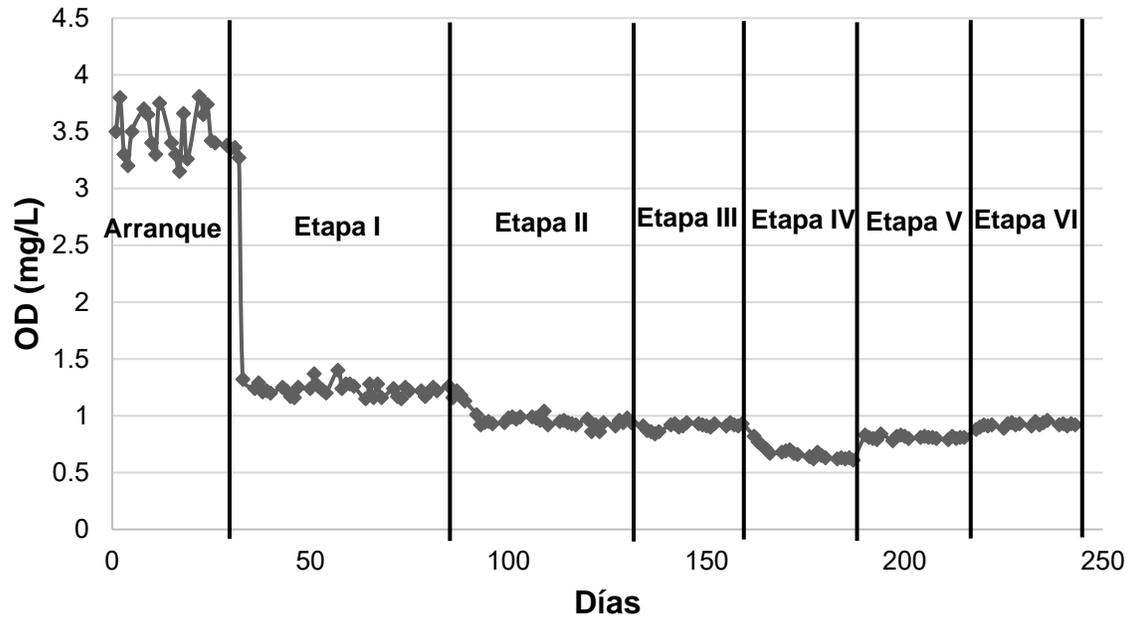


Figura 4.4. Comportamiento del oxígeno disuelto en el reactor

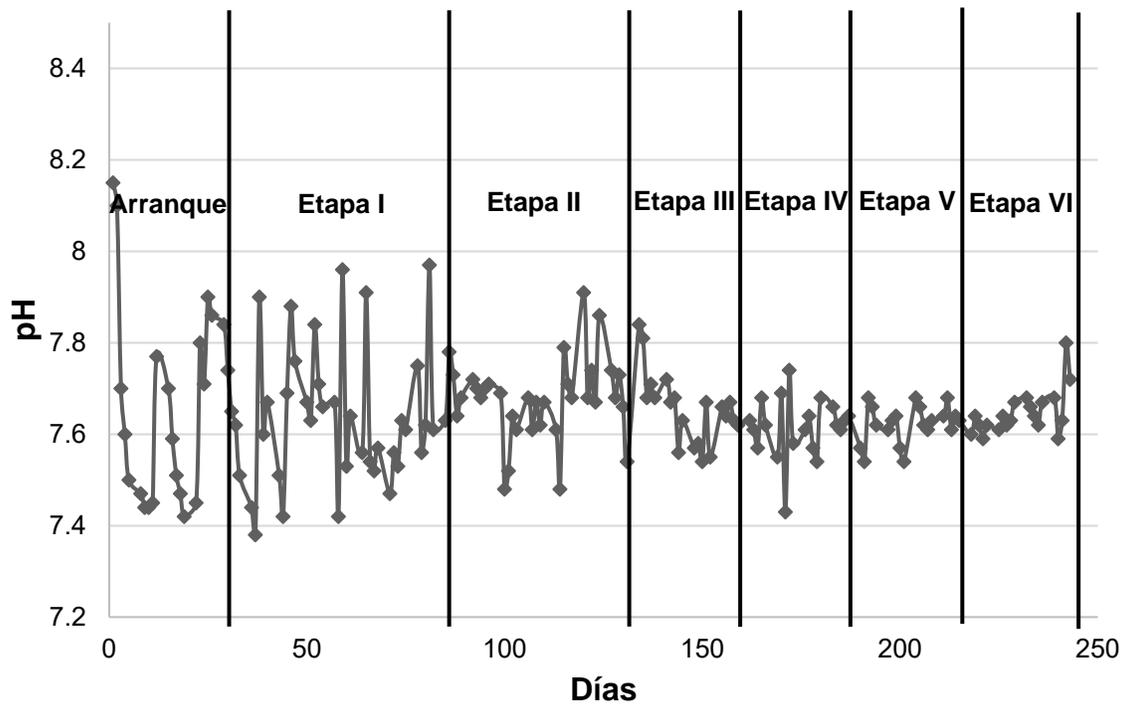


Figura 4.5. Comportamiento del pH

Langone *et al.* (2016), encontró que trabajar en un rango de pH de 7.6 a 7.9, favorece la desamonificación de corrientes de agua residual, de igual manera Choi *et al.* (2018) encontró que trabajar con un rango desde 7.37 hasta 7.71 permite una buena remoción de nitrógeno en aguas residuales, por lo tanto, los valores que se tuvieron en la experimentación fueron adecuados para permitir una actividad desamonificante y desnitrificante.

4.4 Evaluación del reactor

4.4.1 Sólidos suspendidos y adheridos

Para evaluar los sólidos en suspensión en el reactor se llevó a cabo el procedimiento descrito en los apéndices A.2 y A.3, encontrando como los sólidos aumentaron hasta el día 59 a valores de 306 y 240 mg/L en cuanto a SST y SSV, respectivamente; y a partir de ese día, los valores comenzaron a descender para estabilizarse en la etapa I, a medida que la experimentación progresó el valor de los SST y SSV disminuyó, debido a que el déficit de oxígeno disuelto impacta directamente este parámetro, además al incrementar el valor del TRS hay una menor generación de sólidos. En la figura 4.6 se ilustra de manera gráfica lo anteriormente descrito.

Wang *et al.* (2018) reportan concentraciones de SSV de hasta 20 mg/L en el líquido del reactor y se presenta un buen comportamiento oxidativo, en esta experimentación se tuvieron concentraciones por encima de 100 mg/L. también es importante notar la relación existente entre SSV/SST que en la experimentación se encontró alrededor de 0.8, autores como Augusto *et al.* (2018) reportan una relación de 0.6 para tener un buen funcionamiento de sistema anammox.

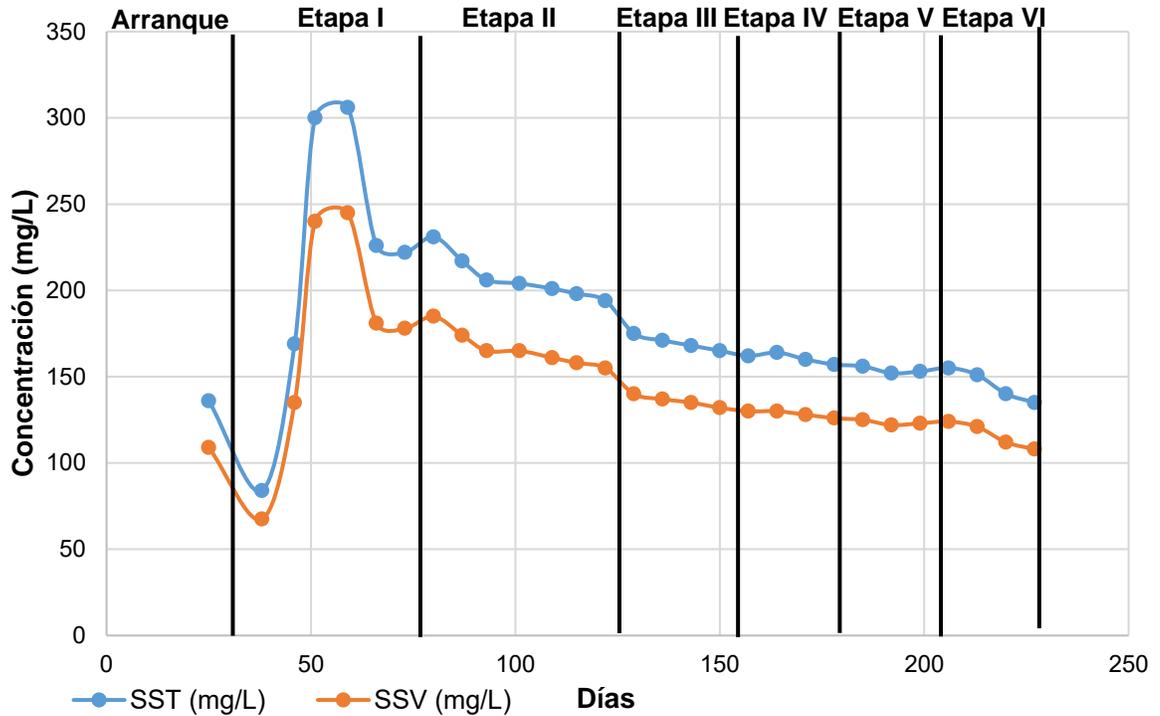


Figura 4.6. Sólidos suspendidos totales y volátiles en líquido del reactor

Sólidos adheridos

El TRS para las seis etapas se calculó y los valores se muestran en la tabla 4.3. Donde se observa que en la etapa I el valor de TRS se encontraba por debajo de lo recomendado, que es alrededor de 10 días para permitir el crecimiento de las bacterias anammox (Strous *et al.*, 1998). En cambio, hacia las etapas II y III el valor de TRS aumentó, beneficiando de esta manera a la comunidad autótrofa buscada. Durante las etapas IV y V, el valor de TRS disminuyó con respecto a la etapa III, y en la última etapa el valor de TRS fue máximo al alcanzar 11.7 días.

Tabla 4.3. Valores de TRS

Etapa	SSV _{efluente} (mg/L)	SSV _{adherido} (mg/L)	TRS (días)
I	177 ± 38	3828 ± 67	6.4
II	157 ± 9.3	5298 ± 73	9.4
III	133 ± 3.1	5307 ± 82	11.1
IV	127 ± 2.2	5410 ± 79	10.6
V	122 ± 1.3	5222 ± 84	10.5
VI	108 ± 2.6	5086 ± 92	11.7

4.4.2 Demanda química de oxígeno

Durante la experimentación se llevaron a cabo determinaciones de DQO, descritas en los apéndices A.5 y A.6, respectivamente, dichas determinaciones se realizaron al inicio y final de cada ciclo (24 h). Los valores promedio por etapa de DQO se muestran en la tabla 4.4.

Tabla 4.4. Valores de DQO inicial y final

Etapa	DQO _o (mg/L)	DQO _{final} (mg/L)
I	64.6 ± 2.1	19.7 ± 3.4
II	62.3 ± 5.8	16.6 ± 3.6
III	63.0 ± 0.8	22.0 ± 1.6
IV	64.2 ± 0.9	21.0 ± 1.3
V	66.2 ± 1.7	21.8 ± 0.3
VI	66.0 ± 2.1	21.9 ± 0.4

Para encontrar la eficiencia de remoción de materia orgánica, así como la carga orgánica y la tasa de consumo de material orgánico se tiene la tabla 4.5, donde se resumen dichos valores. La remoción de DQO se encuentra por arriba de los valores reportados por Tawfik *et al.* (2005), quienes reportan uno valores desde 55 hasta 63% utilizando un reactor RBC.

Tabla 4.5. Carga orgánica y tasa de consumo

Etapa	Carga orgánica (g DQO/m ² ·d)	Tasa de consumo (g DQO/m ² ·d)	Eficiencia de remoción DQO (%)
I	0.68 ± 0.02	0.47 ± 0.05	69.32 ± 6.09
II	0.73 ± 0.06	0.48 ± 0.08	73.1 ± 6.92
III	0.66 ± 0.01	0.43 ± 0.01	65.09 ± 2.23
IV	0.76 ± 0.01	0.45 ± 0	67.21 ± 1.58
V	0.69 ± 0.01	0.46 ± 0.02	66.95 ± 1.24
VI	0.78 ± 0.02	0.46 ± 0.01	66.76 ± 0.65

En la figura 4.7 se presentan de manera gráfica los valores de concentración de DQO a la entrada y a la salida en el eje de la izquierda, mientras que el porcentaje de remoción de DQO se tiene en el costado derecho de la gráfica. En dicha gráfica

se observa que los valores a la entrada se mantuvieron por encima de los 60 mg/L, teniendo como valor promedio 63 mg/L, mientras que a la salida se tienen valores que van desde los 14 hasta los 27 mg/L. En cuanto los valores de remoción de DQO, se encontró que la etapa con valor más alto fue la II con un promedio de 73.1%, a partir de la etapa III el promedio de remoción de DQO se mantuvo apenas por encima del 65%.

Kiran *et al.* (2018), reporta valores de remoción de DQO comprendidos desde 60 hasta 85%, ellos trabajaron con un reactor de biodiscos, lo cual hace entrar al reactor de este trabajo dentro de límites conocidos de remoción de DQO para reactores que funcionen con este sistema de tratamiento de aguas residuales.

Anjali & Sabumon (2017), reportan valores comprendidos desde 67 hasta 83% en cuanto a remoción de DQO, en esta experimentación se tienen valores que entran en esta categoría pues con excepción de la etapa III, que tuvo una eficiencia de remoción de 65% las demás etapas se encuentran por encima de un 67% de remoción de DQO.

Durante las etapas I y VI, en las que se tuvo una relación C/N = 0.6, se tuvo una remoción de DQO de 69.3 y 66.7% respectivamente, dichos valores son similares a los reportados por Langone *et al.* (2016), quienes trabajaron con un reactor secuencial por cuatro etapas, el valor reportado por estos autores para su cuarta etapa es de 63.5%, dicho valor se fue hallado con una relación C/N igual a la utilizada en las etapas I y VI de este trabajo. Los mismos autores trabajaron en sus dos primeras etapas experimentales con una relación C/N = 0.5, y reportan una remoción de DQO de 82.3%, si se compara con las etapas II y V de este proyecto se observa que los valores obtenidos en este trabajo se encuentran por debajo de los reportados por dichos autores, pues a pesar de que en la etapa II se tuvo el valor más alto de remoción de DQO, aun así, está por debajo del 82.3%.

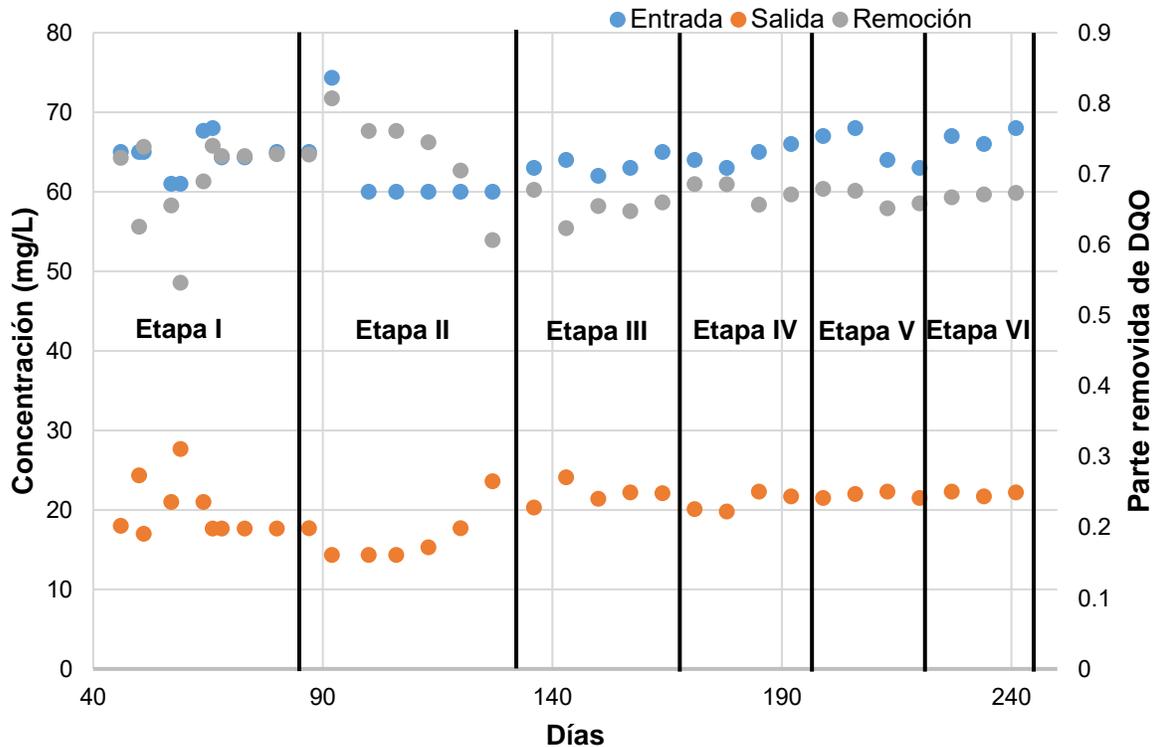


Figura 4.7. Valores DQO a través de las etapas

De acuerdo con la tabla 4.6 los valores de remoción de DQO más altos se tienen en la segunda etapa, pues se presenta una remoción del 73% en promedio. A partir de la tercera etapa los valores de remoción de DQO se mantienen con cambios mínimos, pues sólo presentan variaciones de máximo un 2%, comprendiendo desde un 65 hasta el 67% de remoción.

4.4.3 Transformaciones de nitrógeno

Las concentraciones promedio de las diferentes formas del nitrógeno en el inicio del ciclo, así como la relación C/N y la carga de amonio que se tuvo por etapa se resumen en la tabla 4.7. En dicha tabla se observa que se mantuvo una concentración inicial de nitrógeno de nitratos y nitritos baja, pues ésta no sobrepasó los 5 mg/L en ninguna etapa, mientras que la concentración de nitrógeno de amonio era menor a los 100, 120 y 160 mg/L que contenía el agua en el influente en las

etapas I, II, III, respectivamente, debido a que al final del ciclo el reactor quedaba con 200 mL de agua, lo cual diluía la concentración inicial de amonio.

Aslan & Dahab (2008) afirman que al aumentar la carga de amonio la eficiencia de remoción del reactor decae, por tanto, se decidió realizar las pruebas de carga de amonio con los valores reportados en la tabla 4.6, sin embargo, dicha afirmación no se cumplió, por el contrario, al aumentar la carga de amonio también aumentó la eficiencia de remoción.

Tabla 4.6. Concentraciones a la entrada del reactor

Etapa	DQO/N-NH ₄ ⁺	Carga de amonio (g N-NH ₄ ⁺ /m ² ·d)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)
Arranque	-	-	95.72 ± 0.57	1.15 ± 0.93	0.02+0.01
I	0.45	1.05	95.52 ± 0.07	1.15 ± 0.07	0.39+0.12
II	0.38	1.42	115.77 ± 0.02	1.18 ± 0.02	0.07+0.02
III	0.27	1.68	153.08 ± 1.27	2.68 ± 0.08	0.64+0.02
IV	0.30	1.89	153.41 ± 0.24	1.53 ± 0.06	0.41+0.02
V	0.40	1.26	115.47 ± 0.01	0.89 ± 0.02	0.23+0.01
VI	0.47	1.18	96.19 ± 0.01	0.84 ± 0.04	0.57+0.02

En la figura 4.8 se observa el comportamiento que se ha presentado en cuanto a las especies de nitrógeno en el reactor, en la fase de arranque del reactor se tiene valores muy altos en cuanto nitrógeno de nitratos, esto debido a que los tiempos de retención eran largos, y por lo tanto el nitrógeno amoniacal se oxidaba completamente, además que se agotaba el material orgánico para que ocurriera una desnitrificación convencional. En la etapa I se tuvo una oxidación de amonio, pero los valores de nitrógeno de nitratos y nitritos se mantuvieron en valores casi constantes.

La concentración de nitrógeno de nitratos durante las dos primeras etapas se mantuvo en valores similares entre los 25 y 30 mg/L. Sin embargo, cuando se pasó a la tercera etapa, su concentración en el efluente aumentó por encima de los 50 mg/L. Al pasar a las etapas subsecuentes, la concentración de nitratos disminuyó de manera gradual, teniendo en la etapa IV un promedio de 35 mg/L, mientras que

para las etapas V y VI se tuvieron concentraciones de 18 y 17 mg/L respectivamente. Han *et al.* (2018) reporta valores similares para el nitrógeno de nitratos en el efluente de un reactor MBBR.

El nitrógeno de nitritos en el efluente se comportó de manera similar en las etapas I y III, con valores entre 10 y 15 mg/L, mientras que en la etapa II tuvo su concentración en efluente más baja, pues ésta estaba por debajo de los 5 mg/L. La etapa IV arrojó concentraciones de salida similares a las obtenidas en la etapa I, para la etapa V, la concentración de salida de nuevo disminuyó y para la fase final el valor de nitrito tuvo un aumento a 12 mg/L en promedio. El aumento en la concentración de la etapa III se atribuye al cambio en la carga de amonio proporcionada, al aumentar este valor no hubo tiempo suficiente para remover el nitrito presente, ya que las etapas IV y V presentaron disminución en la concentración de nitritos y también en la carga de amonio. De acuerdo a Zhao *et al.* (2018) estos valores en el efluente son logrables, ya que ellos reportan valores inferiores a 8 mg/L, mientras que Chen *et al.*, 2018b encontraron concentraciones por debajo de 10 mg/L.

El comportamiento del nitrógeno de amonio, tuvo su concentración mayor en el efluente durante la etapa II, donde alcanzó valores de más de 20 mg/L. En las otras etapas su concentración se mantuvo por debajo de los 10 mg/L. El aumento en la concentración de amonio en la segunda etapa se debe a que el reactor todavía no toleraba cambios en la carga de amonio en el influente, por ello el aumento en la concentración en la salida, mientras que con las etapas subsecuentes los cambios de carga amoniacal no impactaron de igual manera en la concentración de salida de amonio pues el sistema ya tenía una mayor resistencia a los cambios de carga amoniacal. Zhao *et al.* (2018) reportan valores por debajo de los 25 mg/L para N-NH₄⁺, que coincide con los valores encontrados en el experimento. En la etapa II, que fue cuando se dio un aumento de concentración, se puede atribuir a que el sistema no tuvo la capacidad de oxidar el amonio en el influente, pues la concentración de entrada y volumen alimentado incrementaron, lo cual llevo a tener una concentración de salida de 20.79 mg/L en promedio.

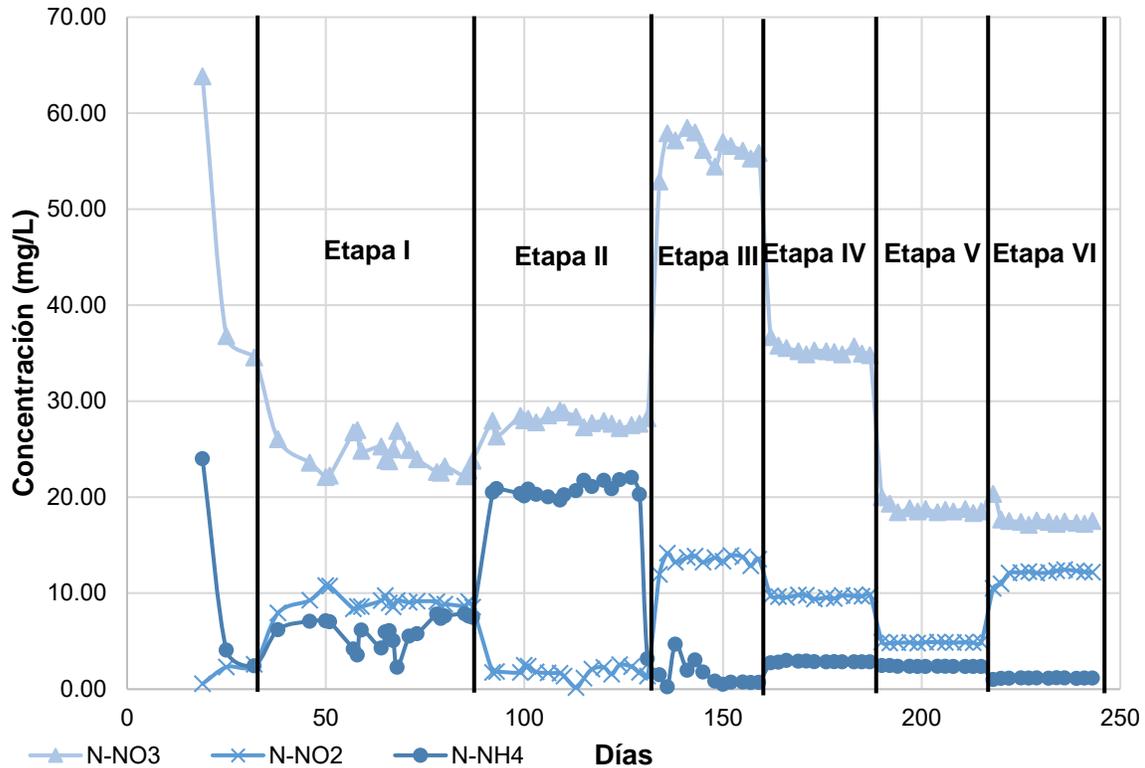


Figura 4.8. Concentraciones a la salida del reactor

Los valores de concentraciones de especies nitrogenadas (amonio, nitrato y nitrito) en el efluente promedio por etapa de cada una de las etapas experimentales se resumen en la tabla 4.7, en la tabla también se incluyen los promedios en el valor final de OD.

En la tabla 4.7 se observa que la concentración de amonio a partir de la etapa III se mantuvo por debajo de los 5 mg/L, lo que indica una alta remoción de nitrógeno amoniacal, sin embargo, la concentración de nitrato con excepción de las etapas V y VI, se mantuvo por encima de los 25 mg/L, de acuerdo con Shao *et al.*, (2017) esto puede explicarse debido a la baja relación C/N existente en el reactor, lo cual lleva a una desnitrificación heterótrofa incompleta, dando lugar a una mayor presencia la desnitrificación por vía autótrofa.

Un comportamiento similar al obtenido en este experimento en el caso de la formación de nitratos lo tuvieron Li *et al.* (2018), pues también tuvieron acumulación de nitratos en un reactor secuencial, dicha acumulación fue desde 35 mg/L hasta

más de 50 mg/L, aunque en el presente trabajo la concentración de nitratos a la salida se encontró en el rango de 17 a 56 mg/L.

He *et al.* (2018), reporta concentraciones de salida de nitratos en el rango de 19 hasta 56 mg/L, dichos valores se parecen aún más a los arrojados por la experimentación actual.

Tabla 4.7. Concentraciones de nitrógeno en el efluente

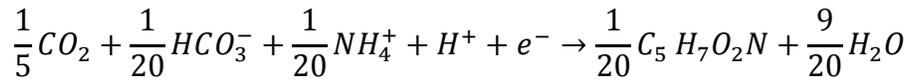
Etapa	OD (mg/L)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)
Arranque	3.46 ± 0.2	10.15 ± 12.01	47.17 ± 17.07	1.87+1.15
I	1.23 ± 0.05	6.08 ± 1.56	25.29 ± 1.68	9.47+0.76
II	0.96 ± 0.06	20.79 ± 0.69	29.19 ± 0.67	1.76+0.57
III	0.9 ± 0.02	1.63 ± 1.35	56.46 ± 1.7	13.48+0.62
IV	0.68 ± 0.05	2.84 ± 0.06	35.32 ± 0.53	9.65+0.14
V	0.81 ± 0.01	2.37 ± 0.03	18.75 ± 0.47	4.85+0.03
VI	0.92 ± 0.01	1.12 ± 0.04	17.64 ± 0.85	11.97+0.59

En la tabla 4.8 se incluyen los valores de diferencia de masa que existía entre la entrada y la salida del reactor, los valores reportados se encuentran en unidades de gasto másico para facilitar la solución del balance posterior, el cambio de concentración de nitritos y nitratos se debe a una producción de los mismos, mientras que, en el caso del amonio, se debe a un consumo.

Tabla 4.8. Consumo y producción de especies nitrogenadas en el reactor

Etapa	Consumo Δ N-NH ₄ ⁺ (mg/d)	Producción Δ N-NO ₃ ⁻ (mg/d)	Producción Δ N-NO ₂ ⁻ (mg/d)
Arranque	342.26 ± 45.75	184.06+72	7.39 ± 4.59
I	357.75 ± 5.96	96.56+6.42	36.34 ± 2.8
II	427.4 ± 2.98	126.02+2.90	7.61± 2.47
III	605.77 ± 8.79	215.1+6.51	51.16 ± 2.37
IV	677.59 ± 1.19	152.07+2.43	41.54 ± 0.58
V	452.41 ± 0.14	71.42+1.79	18.49 ± 0.14
VI	427.82 ± 0.2	75.63+3.68	51.31 ± 2.56

De Hatzikioseyan & Tsezos (2006), se tiene que el consumo de amonio debido al crecimiento celular es de 0.124 mg N-NH₄⁺ por cada mg de células, el cual es usado por las bacterias para aumentar su población, en la ecuación siguiente se tiene la ecuación de generación de nuevo material celular:



De acuerdo a esta ecuación, y sabiendo que los pesos moleculares para C₅H₇O₂N y nitrógeno de amonio son 113 y 14 g/mol respectivamente, se tiene:

$$\frac{1}{20}(14) \rightarrow \frac{1}{20}(113)$$

$$0.7 \text{ g N} - NH_4^+ \rightarrow 5.65 \text{ g } C_5H_7O_2N$$

$$\frac{0.7 \text{ g N} - NH_4^+}{5.65 \text{ g } C_5H_7O_2N} = 0.124 \frac{\text{g N} - NH_4^+}{\text{g } C_5H_7O_2N}$$

A fin de hacer más fácil el cálculo del consumo de nitrógeno para actividades anabólicas, se sabe que 1.42 g DQO/ g SSV, por lo tanto (Grady *et al.*, 1999):

$$0.124 \frac{\text{g N} - NH_4^+}{\text{g } C_5H_7O_2N} \bigg/ 1.42 \frac{\text{g DQO}}{\text{g } C_5H_7O_2N} = 0.087 \frac{\text{g N} - NH_4^+}{\text{g DQO}}$$

El valor encontrado de 0.087 g N-NH₄⁺/g DQO, corresponde con lo reportado por Lessard *et al.* (2007), por lo tanto, se tomó este valor para incluirlo en el balance de masa, y estimar el consumo de amonio por síntesis celular.

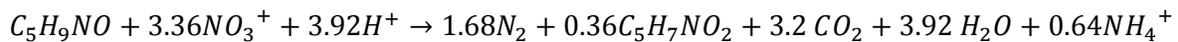
En la tabla 4.9, se tienen los valores de nitrógeno utilizado para síntesis celular por día en cada una de las etapas.

Tabla 4.9. Nitrógeno utilizado en síntesis celular

Etapa	$\Delta N-N_{org}$ (mg/d)
Arranque	---
I	22.51 ± 0.74
II	21.71 ± 1.91
III	21.83 ± 0.39
IV	22.30 ± 0.31
V	23.08 ± 0.49
VI	22.85 ± 0.66

Una vez que se tienen los valores de todas las variables involucradas en el balance, solo falta conocer la desnitrificación máxima teórica por vía heterótrofa.

Para calcular la desnitrificación heterótrofa que podía ocurrir en el reactor se planteó lo siguiente, con la ecuación reportada por Mateju *et al.*, 1992:



De acuerdo a la anterior ecuación se observa que, por cada mol de material orgánico, se puede desnitrificar 3.36 moles de nitrato, por lo tanto:

$$3.36 \left(14 \frac{g N}{mol N} \right) = 47.04 g N$$

Si se calcula la masa de oxígeno requerida para oxidar la materia, a fin de conocer la DQO que aporta, se tiene:



$$6 \left(32 \frac{g}{mol O_2} \right) = 192 g O_2 \text{ como DQO}$$

$$\frac{192 g O_2}{47.04 g N} = 4.08 \frac{g DQO}{g N}$$

El valor encontrado se encuentra dentro de lo estipulado por Capodaglio *et al.* (2016), que reporta un valor de 3.3 g O₂/g N-NH₄⁺, a una eficiencia de proceso del 89%, si el proceso fuera de un 100% de eficiencia se tendría 3.7 g O₂/g N-NH₄⁺. Por

tanto, el valor calculado se utilizó para determinar la cantidad teórica de amonio que se puede remover por vía heterótrofa por gramo de DQO en el influente.

En la tabla 4.10 se ilustran los valores promedio para la desnitrificación teórica por vía heterótrofa, a manera de ejemplo se tomó la etapa III,

$$\frac{(DQO_{entrada} - DQO_{salida}) \times Q_{cambio}}{4.08 \text{ g DQO} / \text{g N}}$$

$$\frac{\left(63.08 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 22 \frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 4 \text{ L/d}}{4.08 \text{ g DQO} / \text{g N}} = 40.27 \text{ mg/d}$$

Tabla 4.10. Remoción teórica heterótrofa

Etapa	Remoción heterótrofa (mg/d)
Arranque	
I	44.54 ± 4.06
II	49.75 ± 8.75
III	39.83 ± 1.64
IV	46.71 ± 2.16
V	43.76 ± 1.75
VI	42.87 ± 1.50

Para cerrar el balance se tiene como ejemplo de nuevo la etapa III,

$$\Delta NH_4 - \Delta NO_3 - \Delta NO_2 - \Delta N_{org} - N_{2het} = \text{Consumo por anammox}$$

$$605.77 \frac{\text{mg}}{\text{d}} - 215.1 \frac{\text{mg}}{\text{d}} - 51.16 \frac{\text{mg}}{\text{d}} - 21.83 \frac{\text{mg}}{\text{d}} - 39.83 \frac{\text{mg}}{\text{d}} = 278 \frac{\text{mg N}}{\text{d}}$$

En la etapa III, en el ejemplo se tienen 278 mg/d de nitrógeno que no se pueden medir, por lo tanto, son atribuibles al proceso anammox. En la tabla 4.11 se colocan los valores promedio del nitrógeno removido atribuido a Anammox, es decir el nitrógeno faltante en el balance después de considerar las transformaciones debidas a la oxidación de amonio, además del remanente de amonio y los gases de nitrógeno generados durante la nitrificación y por ultimo considerando también el

nitrógeno utilizado para llevar a cabo la síntesis celular de las bacterias y la tasa máxima de desnitrificación que es posible llevar a cabo conociendo el valor de DQO inicial.

Tabla 4.11. Remoción atribuida a actividad anammox

Etapa	Probable anammox (mg/d)	% N atribuido a Anammox
Arranque	--	--
I	154.87 ± 4.08	41 ± 1.0
II	217.46 ± 8.85	42 ± 1.0
III	272.86 ± 11.66	45 ± 1.0
IV	410.66 ± 2.42	59 ± 0.0
V	291.51 ± 3.48	63 ± 1.0
VI	231.07 ± 2.95	53 ± 0.0

4.4.4 Otras pérdidas de nitrógeno

Generación de gases de nitrógeno

Durante los procesos de remoción de nitrógeno en aguas residuales, un problema que se presenta es la emisión de gases de efecto invernadero, siendo dos de los más importantes el N₂O (óxido nitroso) y NO (monóxido de nitrógeno). Cuando se trabaja con procesos de remoción de nitrógeno amoniacal autótrofos unos de los problemas que se presentan es la emisión de óxidos de nitrógeno, lo cual puede, restar efectividad al proceso, a pesar de todos sus beneficios. En la figura 4.9 se ilustra cómo es que se genera el óxido nitroso, en color amarillo se encuentra el proceso de nitrificación por bacterias oxidantes de amonio, en el cual ocurre la formación de un compuesto llamado hidroxilamina que es precursor del óxido nitroso y los nitritos; en azul se tiene la nitrificación por bacterias oxidantes de nitrito y en verde la desnitrificación heterótrofa, que como se puede ver transforma los nitratos en nitritos, que a su vez son convertidos a óxido nítrico para posteriormente ser reducidos a óxido nitroso y nitrógeno molecular (Frutos *et al.*, 2018; Peng *et al.*, 2016).

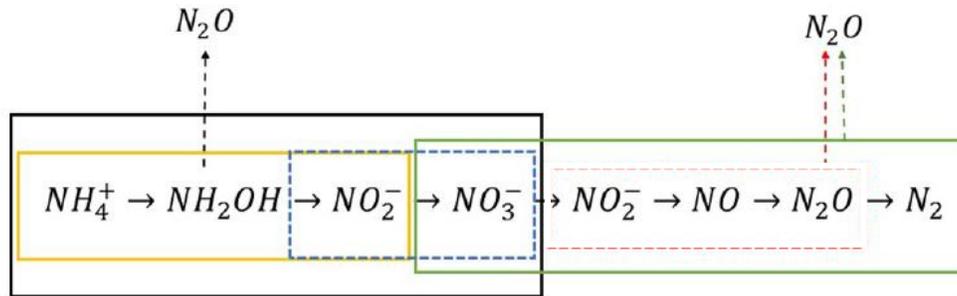


Figura 4.9 Vías de generación de N_2O (Tomada de Frutos *et al.*, 2018).

Durante el desarrollo de la experimentación, pudo haber formación de dichos gases, sin embargo, las concentraciones que estos gases pueden alcanzar son mínimas de acuerdo con autores como Blum *et al.* (2018) y Ribera-Guardia & Pijuan (2017), que afirman que, con una tasa de remoción específica de amonio del orden de la obtenida en este trabajo, el valor de la tasa de emisión de gases de óxidos de nitrógeno sería menor a 2 mg N- N_2O /g SSV·d y para el caso de NO, sería prácticamente de cero.

En la figura 4.10 se aprecia que para un valor de tasa de remoción de amonio de 0.078 mg N- NH_4^+ /g SSV min, que corresponde al promedio obtenido para la etapa IV; y el más alto de los encontrados en el experimento, se tiene un valor extrapolado de 0 mg N-NO/g SSV min. Mientras que en el caso de N_2O se tiene un valor por debajo de 0.001 mg N- N_2O /g SSV·min, por lo tanto, se promediaron ambos valores y se obtuvo como resultado 0.0005 mg N- N_2O /g SSV·min, esto con la intención de tener un balance mucho más cercano a la realidad y considerar emisiones de gases de nitrógeno a la atmósfera.

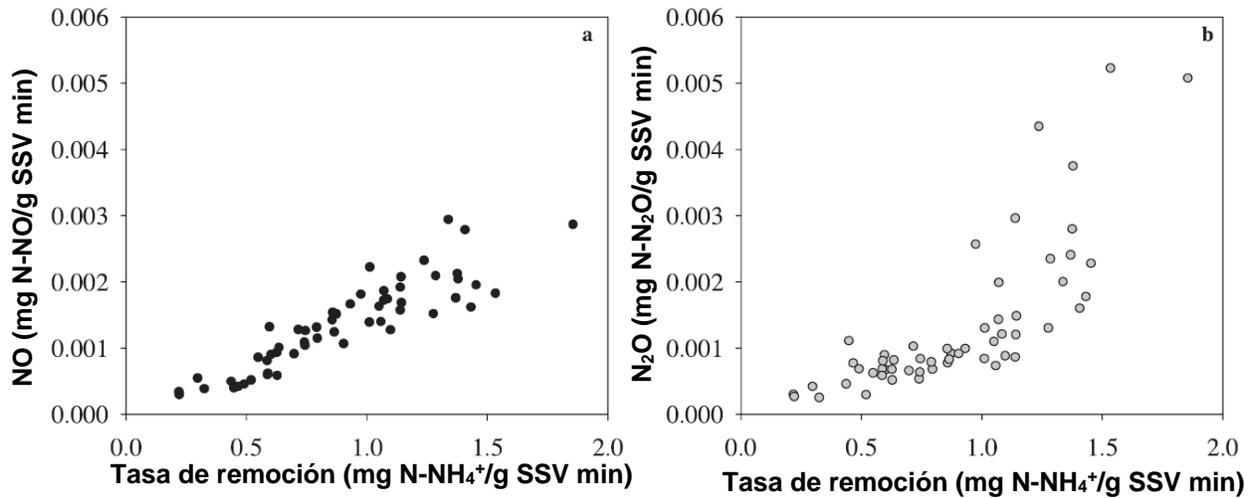


Figura 4.10 Emisión de gases de N en relación con tasas de remoción de $N-NH_4^+$

(Tomada de Ribera-Guardia & Pijuan, 2017)

Tomando en cuenta la tasa de emisión de 0.0005 mg $N-N_2O/g$ SSV·min, se estimó la emisión diaria de este gas, considerando el valor de sólidos volátiles medidos, los resultados obtenidos se resumen en la tabla 4.12.

Tabla 4.12. Estimación de N_2O emitido por etapas

Etapa	$N-N_2O(mg/d)$
I	3.14 ± 0.64
II	4.26 ± 0.25
III	4.21 ± 0.02
IV	4.29 ± 0.03
V	4.12 ± 0.05
VI	4.07 ± 0.01

Considerando esta nueva aportación de remoción de nitrógeno amoniacal, es necesario realizar un ajuste al balance final, quedando de la siguiente manera:

$$\Delta NH_4 - \Delta NO_3 - \Delta NO_2 - \Delta N_{org} - N_2het - N_2O = Consumo por anammox$$

Y para continuar con el ejemplo de cálculos con la etapa III, se incluye la siguiente actualización:

$$606.23 \frac{mg}{d} - 215.1 \frac{mg}{d} - 51.16 \frac{mg}{d} - 21.92 \frac{mg}{d} - 40 \frac{mg}{d} - 4.21 = 272.86 \frac{mg N}{d}$$

Pérdidas por Stripping

Otra posible fuga de nitrógeno del sistema puede ser por un proceso llamado stripping, que consiste en una volatilización del amoníaco presente en las aguas residuales, sin embargo, este proceso se ve afectado por la temperatura y pH del sistema, pues para que se pueda remover nitrógeno amoniacal por esta vía es necesario que el pH se encuentre alrededor de 10.5, mientras que la temperatura tiene que encontrarse por arriba de los 38 °C, esto para garantizar un porcentaje de amoníaco elevado y que su volatilización se lleve a cabo (Kinidi *et al.*, 2018; Xiong *et al.*, 2018).

En la figura 4.11 se puede apreciar un diagrama que muestra el porcentaje de amoníaco que se encuentra en un sistema, como función de la temperatura y del pH. Tomando en consideración la temperatura de trabajo promedio (30°C) y el pH de 7.66 que se mantuvo en promedio durante el experimento, el porcentaje de amoníaco en el sistema se observa que se encuentra por debajo del 5%.

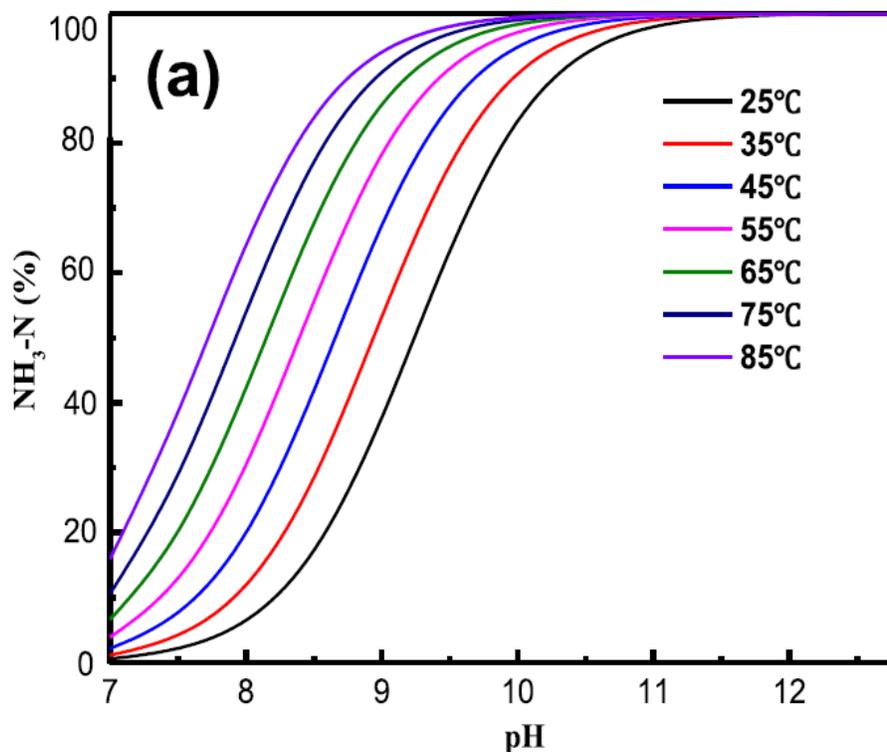


Figura 4.11. Porcentaje de NH_3 a diversas temperaturas como función del pH (Tomada de Xiong *et al.*, 2018)

Utilizando la ecuación propuesta por Bonmati & Flotats (2003):

$$NH_3 = \frac{NH_3 + NH_4}{1 + 10^{pKa-pH}}$$

$$pKa = 4 \times 10^{-8} \times T^3 + 9 \times 10^{-5} \times T^2 - 0.0356 \times T + 10.072$$

Se encontró que el porcentaje de amoníaco presente en el sistema era de 2.3%, tomando como valor de temperatura 30°C y pH = 7.7. Debido a que el valor arrojado del anterior cálculo es tan pequeño, se puede considerar que el impacto del proceso de stripping no afectó de manera considerable los procesos de remoción de amonio. Por lo tanto, este fenómeno no entró en los cálculos para cerrar el balance de nitrógeno, sin embargo, es importante hacer notar que no se niega que un porcentaje de amonio se volatilizó, pero este porcentaje es muy pequeño.

4.5 Cinética de reacciones

Para evaluar el comportamiento oxidativo/reductor que tenía lugar en el reactor, se realizaron cinéticas de reacción para cada una de las etapas, con el fin de intentar detectar el punto donde iniciaba el proceso de reacción anammox, de acuerdo a la relación estequiométrica. Se tomó una muestra del reactor cada 15 minutos hasta cumplir una hora y posteriormente cada hora para después poder observar la manera en que se iban dando las transformaciones de nitrógeno. En las figuras 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16 y 4.17, se ilustran los perfiles de concentración en el tiempo para las etapas I, II, III, IV, V y VI, respectivamente.

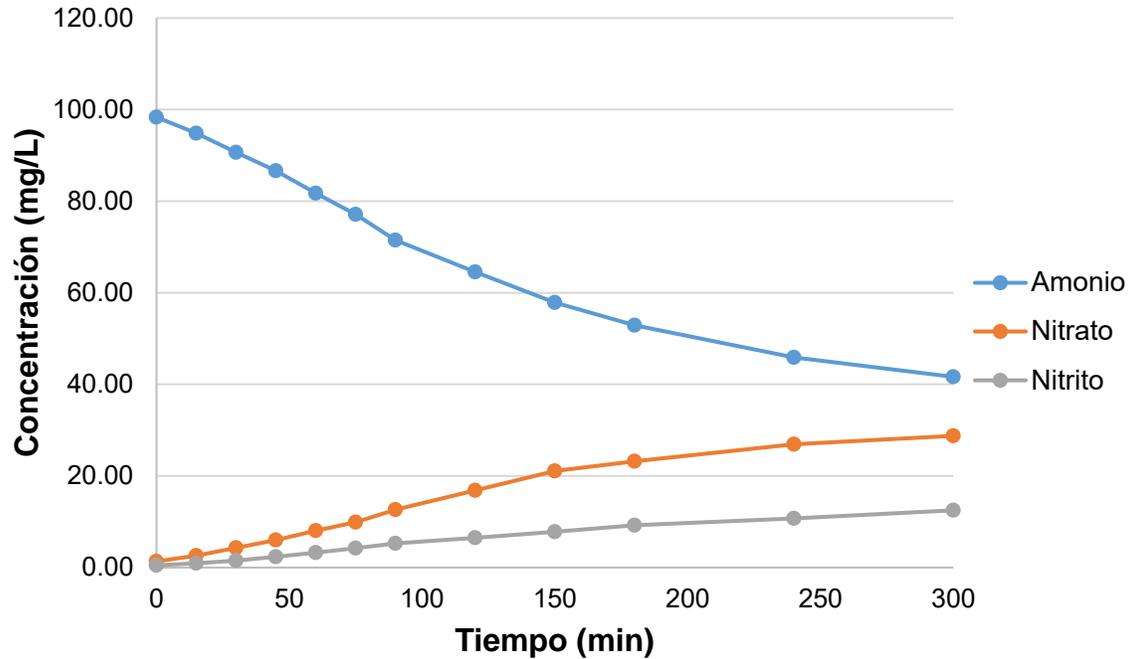


Figura 4.12. Perfil de concentraciones etapa I.

En la etapa I como se puede observar en la figura 4.12, las concentraciones de las tres formas de nitrógeno (amonio, nitrito, nitrato), no se tocaron en ningún punto, caso similar al reportado por Zheng et al. (2018), quienes realizaron una cinética a lo largo de 8 horas y el comportamiento encontrado por los autores fue similar al encontrado en este trabajo. Se puede observar que el amonio continuaba su descenso, lo cual propiciaría un aumento en la concentración tanto de nitritos como de nitratos, tal como se observa en la gráfica. Es importante hacer notar que los autores previamente mencionados trabajaron con una relación HCO_3^- : N-NH_4^+ de 0.5, mientras que en este trabajo dicho valor se mantuvo en 2.

En la figura 4.13, correspondiente a una cinética durante la etapa II, el comportamiento de las especies oxidadas de nitrógeno es distinto a la primera etapa, en ésta se observa un cruce entre nitritos y amonio alrededor de las 7 horas de reacción, esto podría ser evidencia de una reacción de la presencia de una desnitrificación autótrofa, pues se tienen las mismas concentraciones de amonio y nitrito lo cual da pie a una reacción Anammox (Zheng et al., 2018).

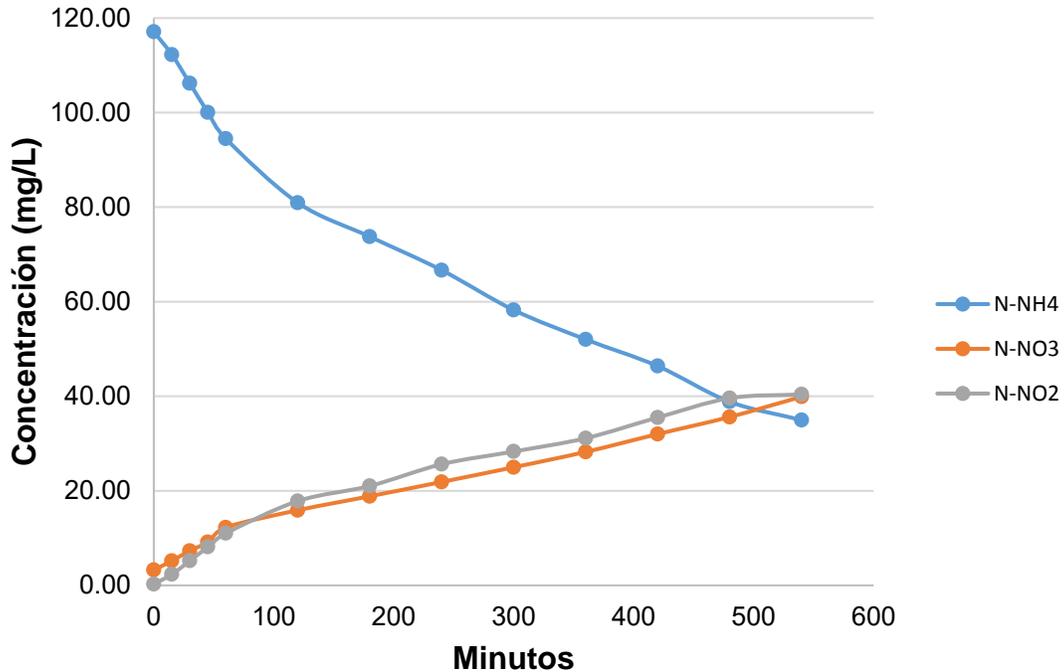


Figura 4.13. Perfil de concentraciones etapa II

En la figura 4.14, que corresponde a una cinética para la etapa III, de nuevo ocurre un cruce entre las especies amonio y nitrito, sólo que ahora ocurre antes, aproximadamente a las 6 horas de reacción, es decir que el proceso de desnitrificación autótrofa ocurrió antes. También se observa una mayor velocidad de formación de nitratos con respecto a las etapas anteriores, y también dicha concentración alcanza valores más altos, lo que indica que la reacción de nitrificación se llevó a cabo de manera más rápida con respecto a las anteriores etapas, además de que la concentración de OD permitía que la oxidación de nitrógeno se llevara a cabo por un periodo más prolongado. Un caso similar fue reportado por Soler-Jofra *et al.* (2019), donde también ocurría un cruce entre especies de amonio, nitrato y nitrito.

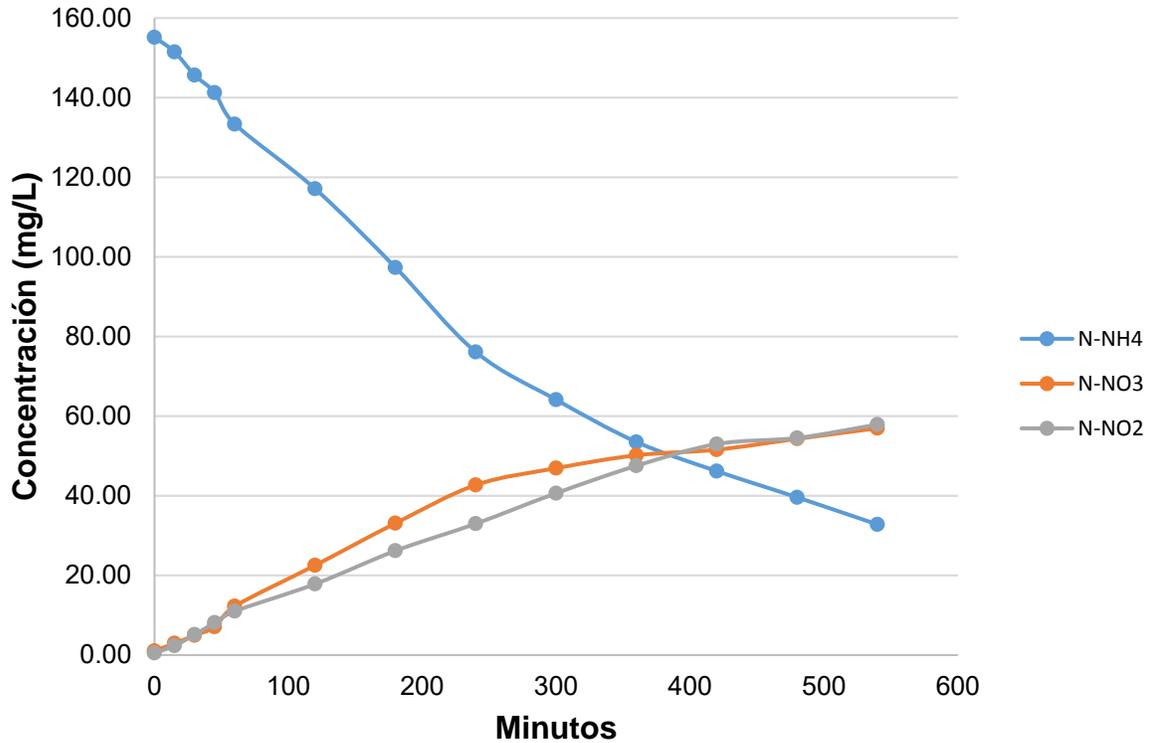


Figura 4.14. Perfil de concentraciones etapa III

En la etapa IV, se observa en la figura 4.15, el cruce de concentraciones amonio/nitrito alrededor de las 8 horas de reacción, y ocurre por debajo de los 40 mg/L, en esta etapa se observa una baja velocidad de formación de nitratos, pues durante las 9 horas que se monitoreó el comportamiento cinético, no sobrepasó los 30 mg/L en ningún momento, en esta etapa es donde se tiene una mayor aportación de desnitrificación por vía autótrofa, debido a que se logró alcanzar una nitrificación parcial, ya que se inhibió la oxidación de nitrito a nitrato (Wang *et al.*, 2018).

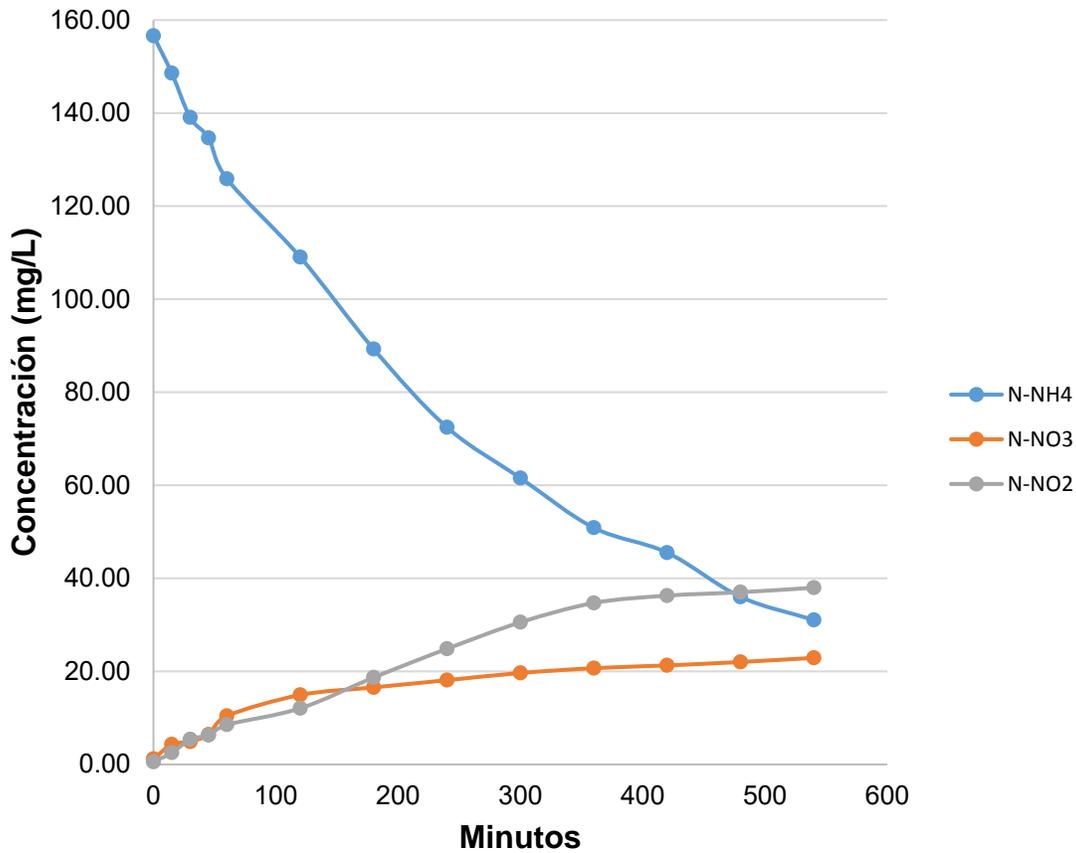


Figura 4.15. Perfil de concentraciones etapa IV

En la figura 4.16, correspondiente a la cinética de la etapa V, no se observa un comportamiento que permita visualizar una igualdad de concentraciones entre amonio y nitrito, pues a lo largo de las 9 horas que duró la prueba, la concentración de nitritos no paso en ningún punto los 30 mg/L. Al trabajar con una concentración inicial de amonio igual que la etapa II, se tiene un comportamiento cinético similar. Sin embargo, en esta etapa se logró mantener por debajo de los 40 mg/L ambas especies de nitrógeno oxidadas (nitritos y nitratos). El comportamiento oxidativo presentó concentraciones de nitrato por debajo de los 40 mg/L, subiendo con respecto a la etapa anterior.

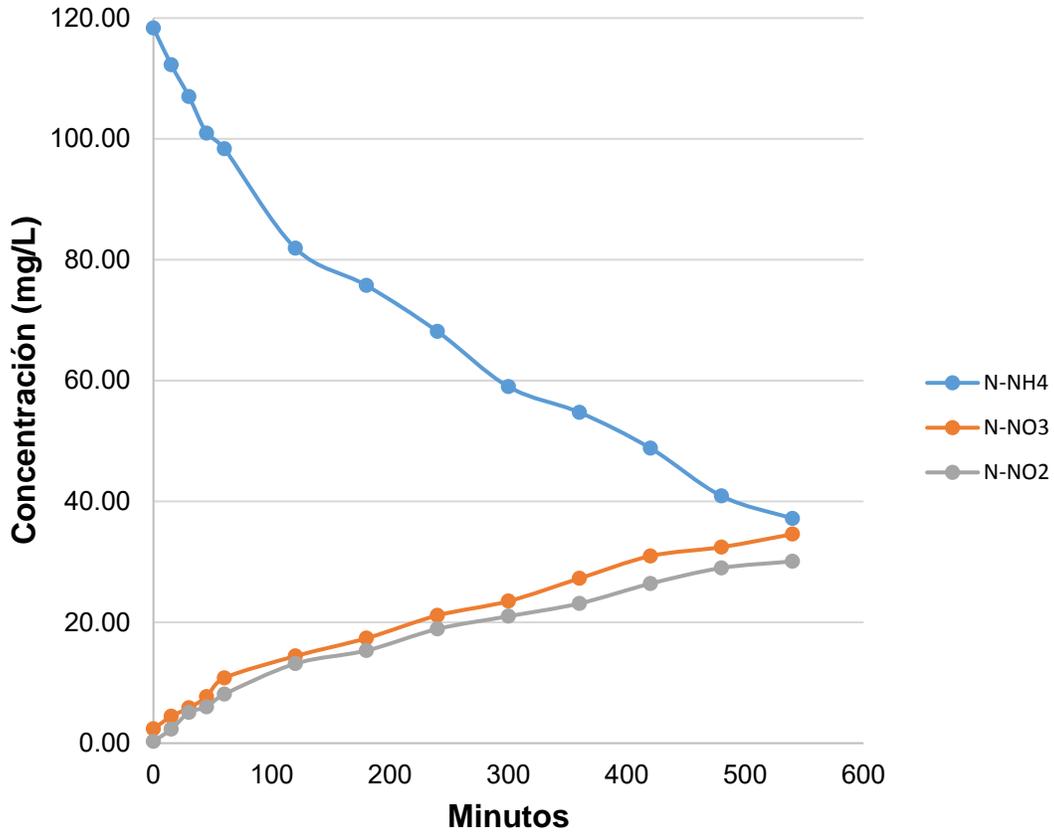


Figura 4.16. Perfil de concentraciones etapa V

En la etapa VI, donde se trabajó con una concentración de amonio inicial igual a la etapa I, se encontró un comportamiento en la remoción de amonio y de formación de nitrito y nitrato similar, pues en ambos la concentración de nitritos al finalizar la prueba fue de aproximadamente 15 mg/L, mientras que para los nitratos de 30 mg/L, dicho comportamiento se puede ver en la figura 4.17, con estos resultados se puede deducir que la etapa con 100 mg/L en el influente de amonio, es la que presenta un comportamiento oxidativo más lento, con respecto a las otras dos concentraciones iniciales.

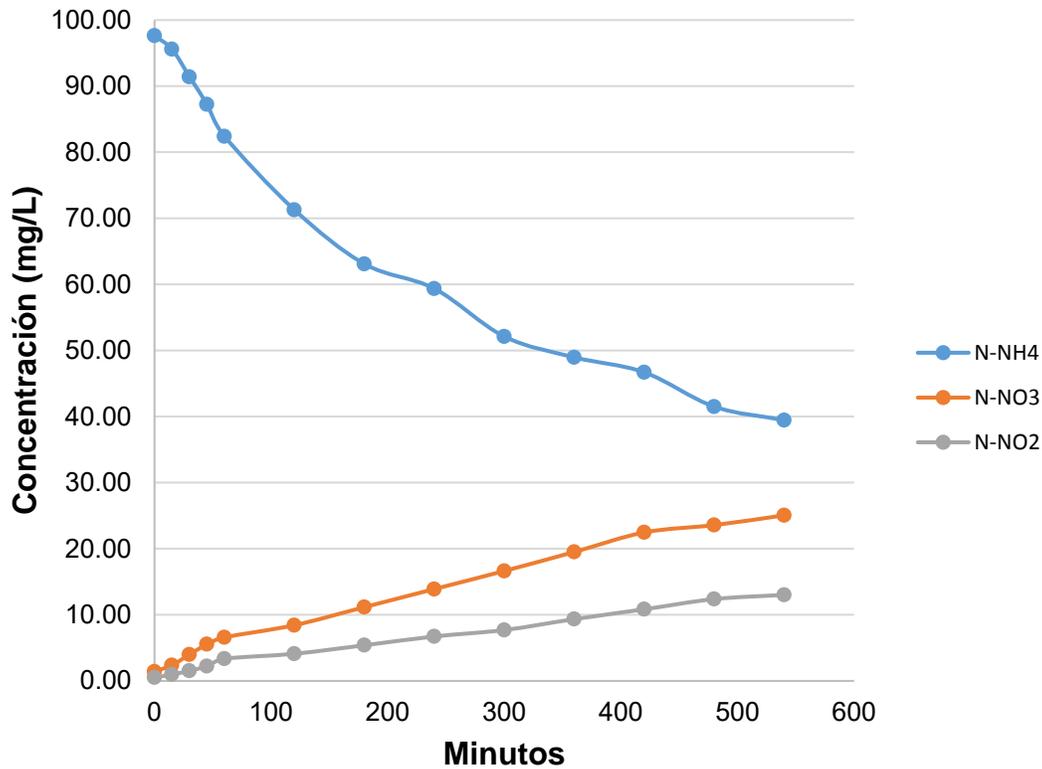


Figura 4.17. Perfil de concentraciones etapa VI

Comportamiento de OD en las etapas experimentales

En la tabla 4.13, se colocan los valores de cómo disminuyó el valor de OD a través del tiempo que dura la prueba (9 horas), en la etapa I sólo se realizó la prueba por 6 horas. Sin embargo, para las restantes 5 etapas este valor se ajustó a 9 horas, con la finalidad de tener una mejor visualización del proceso que se llevaba a cabo al interior del reactor. En la etapa IV, se alcanzó un menor valor de OD a las 9 horas, seguido de la etapa V y III, dichos valores, corresponden con el OD promedio tabulado en la tabla 4.2, no en valor, sino en tendencia, pues ese mismo orden se tiene en el valor final de OD.

Tabla 4.13. Comportamiento OD durante prueba cinética

Tiempo (min)	O.D. I (mg/L)	O.D. II (mg/L)	O.D. III (mg/L)	O.D. IV (mg/L)	O.D. V (mg/L)	O.D. VI (mg/L)
0	5.34	5.31	5.37	5.39	5.36	5.38
15	4.24	4.21	4.88	4.77	4.89	4.97
30	3.36	3.47	4.36	4.08	4.17	4.44
45	2.34	2.68	3.77	3.41	3.79	3.84
60	1.83	2.11	3.12	2.91	3.24	3.18
120	1.29	1.64	2.04	1.77	2.25	2.08
180	1.22	1.53	1.62	1.24	1.82	1.65
240	1.21	1.39	1.27	1.02	1.39	1.29
300	1.21	1.26	1.07	0.91	1.14	1.09
360	---	1.22	0.92	0.78	0.97	0.93
420	---	1.16	0.84	0.67	0.9	0.85
480	---	1.14	0.82	0.6	0.86	0.83
540	---	1.04	0.8	0.54	0.78	0.81

Como se observa en la tabla 4.13, la figura 4.18 ilustra la manera en que el OD comienza a caer a medida que el tiempo avanza, debido a los procesos de oxidación llevados a cabo en el reactor, pues no solo ocurre la oxidación del amonio, sino también del material orgánico, la etapa IV no solo presenta una disminución más rápida en cuanto al OD, además alcanza un valor más bajo, lo cual da más tiempo de reacción a las bacterias anammox, pues estas necesitan las condiciones de bajo OD, por ello fue importante la realización de estas cinéticas.

La etapa II tuvo el valor de OD final a las 9 horas más alto de las 6 cinéticas, mientras que la etapa IV tuvo el valor más bajo, las otras cuatro etapas tuvieron valores finales muy similares, pues en la figura 4.14 se observa como las etapas I, III, V y VI convergen al mismo punto final, que se encuentra alrededor de 0.80 mg/L de OD.

También es importante notar que la etapa I tuvo la caída más notoria en la primera hora de reacción. Sin embargo, después de transcurrida una hora, el comportamiento cambia y se empieza a dibujar una especie de asíntota con el eje x, este comportamiento ocurre en las otras etapas transcurridas las 2 horas de reacción.

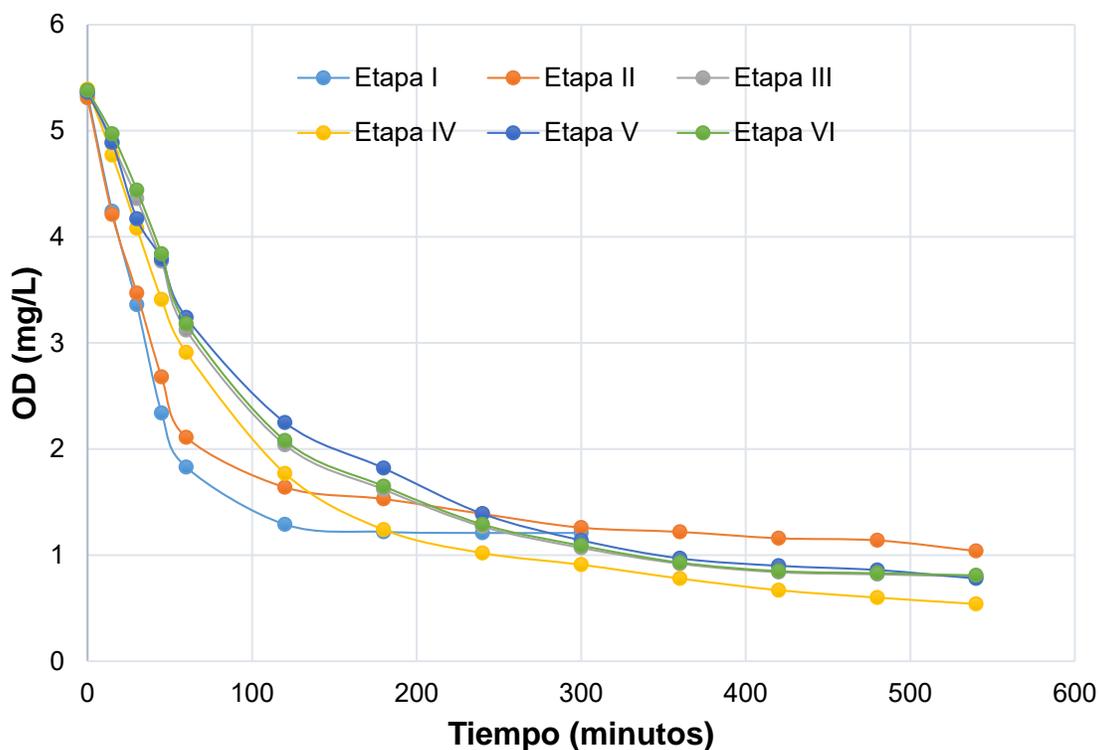


Figura 4.18. Valores de OD en las diferentes etapas

En la tabla 4.14 se comparan las constantes de reacción encontradas para las seis etapas experimentales. Para el caso de la desaparición de amonio la constante cinética es similar en las seis etapas. Con respecto a la formación de nitratos, se tiene que la etapa III, presenta la constante cinética más alta de las seis etapas, seguido de la etapa IV, teniendo como valor mínimo el encontrado en la etapa II. En la formación de nitritos se encontró que la etapa II tiene la constante cinética más alta, y la etapa I tiene el valor menor.

Tabla 4.14. Constantes de reacción para etapas experimentales

Etapa	k_{NH_4} (min^{-1})	k_{NO_3} (min^{-1})	k_{NO_2} (min^{-1})
I	-0.003	0.030	0.031
II	-0.004	0.022	0.057
III	-0.002	0.039	0.049
IV	-0.003	0.032	0.043
V	-0.003	0.024	0.052
VI	-0.003	0.026	0.030

En la figura 4.19 se incluyen las gráficas que permiten conocer los órdenes de reacción que se tienen en el reactor durante la etapa I. Se observa que las transformaciones de nitrógeno ocurren como reacciones de primer orden, en el caso de N-NH_4^+ , se tienen valores negativos en el eje de las abscisas debido a que el amonio está desapareciendo del reactor, es decir se consume. Las gráficas de nitratos y nitritos son de pendiente positiva, debido a que son especies que aumentan su concentración en el tiempo, es decir, son generadas por las reacciones de oxidación llevadas a cabo por las bacterias nitrificantes.

La formación de nitratos se debe a que cuando inicia el ciclo en el reactor, la concentración de OD se encuentra cerca del punto de saturación, a pesar de que este valor desciende de manera rápida, las bacterias anammox se ven afectadas por este fenómeno, si se pudiera controlar de mejor manera la concentración al inicio del ciclo se tendría una menor oxidación de amonio hasta nitrato, quedando más nitrito en el agua y, por tanto, facilitando la reacción anammox (Seuntjens *et al.*, 2018).

Sun *et al.* (2018), encontró que para una concentración inicial de 100 mg/L de amonio, mediante el uso de un reactor secuencia de gránulos, en un periodo de tres horas se llegaba a valores de prácticamente cero, presentando una velocidad de remoción de amonio más alta que en este trabajo, pues después de 9 horas de funcionamiento del reactor, apenas lograba llegar a una concentración cercana a los 30 mg/L.

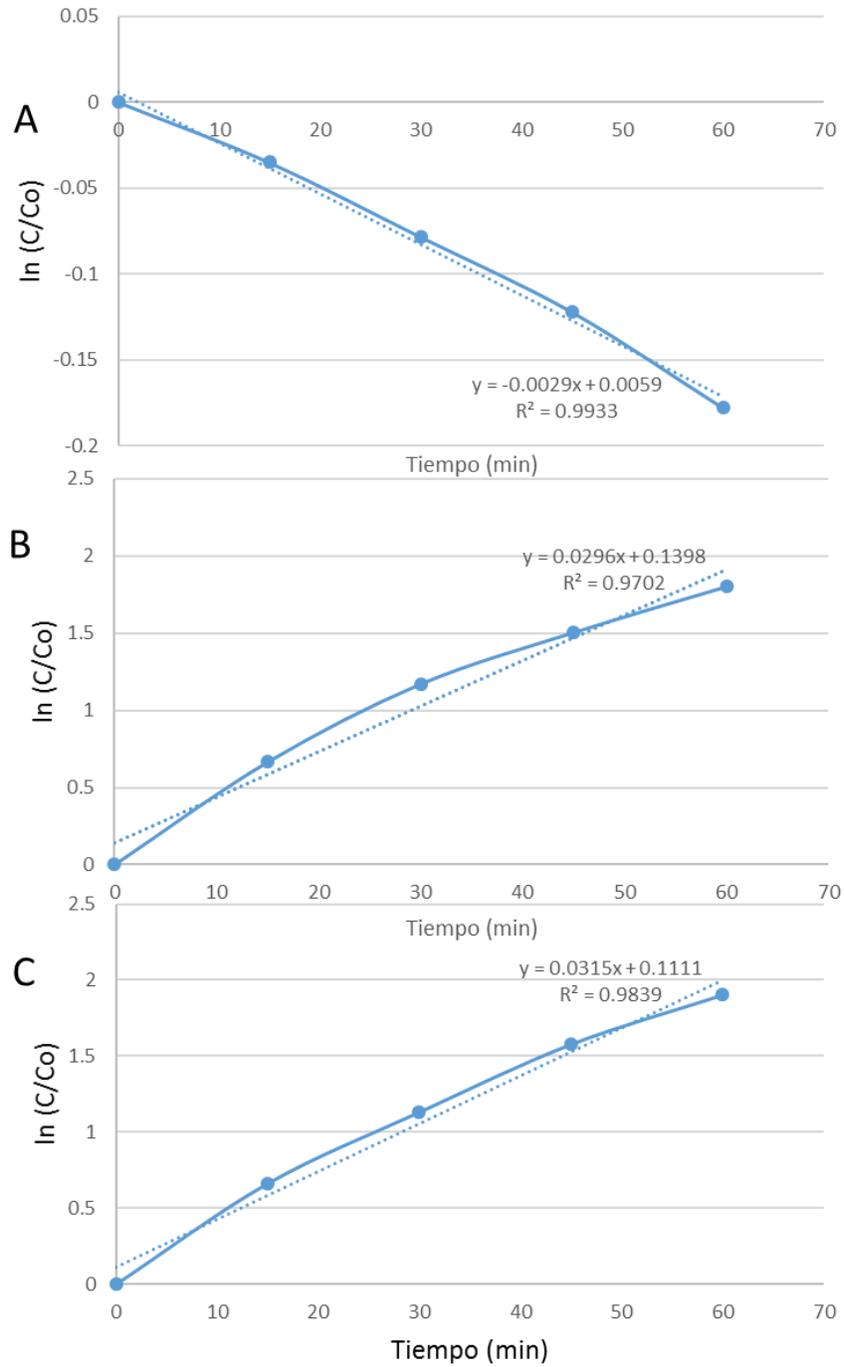


Figura 4.19. Orden de reacción especies nitrógeno. A) N-NH₄⁺, B) N-NO₃⁻, C) N-NO₂⁻

4.6 Balance gráfico de nitrógeno

Para entender de mejor manera el proceso de remoción de nitrógeno llevado a cabo por el sistema, en la figura 4.20 se resume la variación de las concentraciones de las diferentes formas en que se encuentra el nitrógeno (amoniacal, en nitritos o nitratos) así como el valor de nitrógeno faltante, que se puede atribuir a actividad anammox. En dicha figura se observa en color azul la concentración inicial de amonio por etapas, otro aspecto importante de la gráfica es el valor con color rojo, que es el valor de nitrógeno faltante en el balance de masa, que no se encuentra oxidado ni como amonio, es decir, que ha sido desnitrificado, ya sea por vía autótrofa o heterótrofa.

En la figura 4.21 se resume de manera gráfica la actividad nitrificante y desnitrificante que se vio a lo largo de las etapas, los valores en el eje primario referidos a las transformaciones de nitrógeno, mientras que el valor de consumo másico de amonio se encuentra en el eje secundario. En esta figura se puede apreciar que en las etapas III y IV es cuando se tuvo un aumento en el consumo másico de amonio, debido a un aumento en la carga de amonio que tenía el influente del reactor.

También es importante notar que en estas etapas la producción de nitratos fue elevada, sobre todo en la etapa III, pues en la etapa IV los valores de salida de nitrógeno disminuyeron. Se observa que en las últimas dos etapas la producción de nitrato fue la de menor valor, lo cual indica que la producción de nitratos está directamente relacionada con la carga de amonio en el influente del reactor.

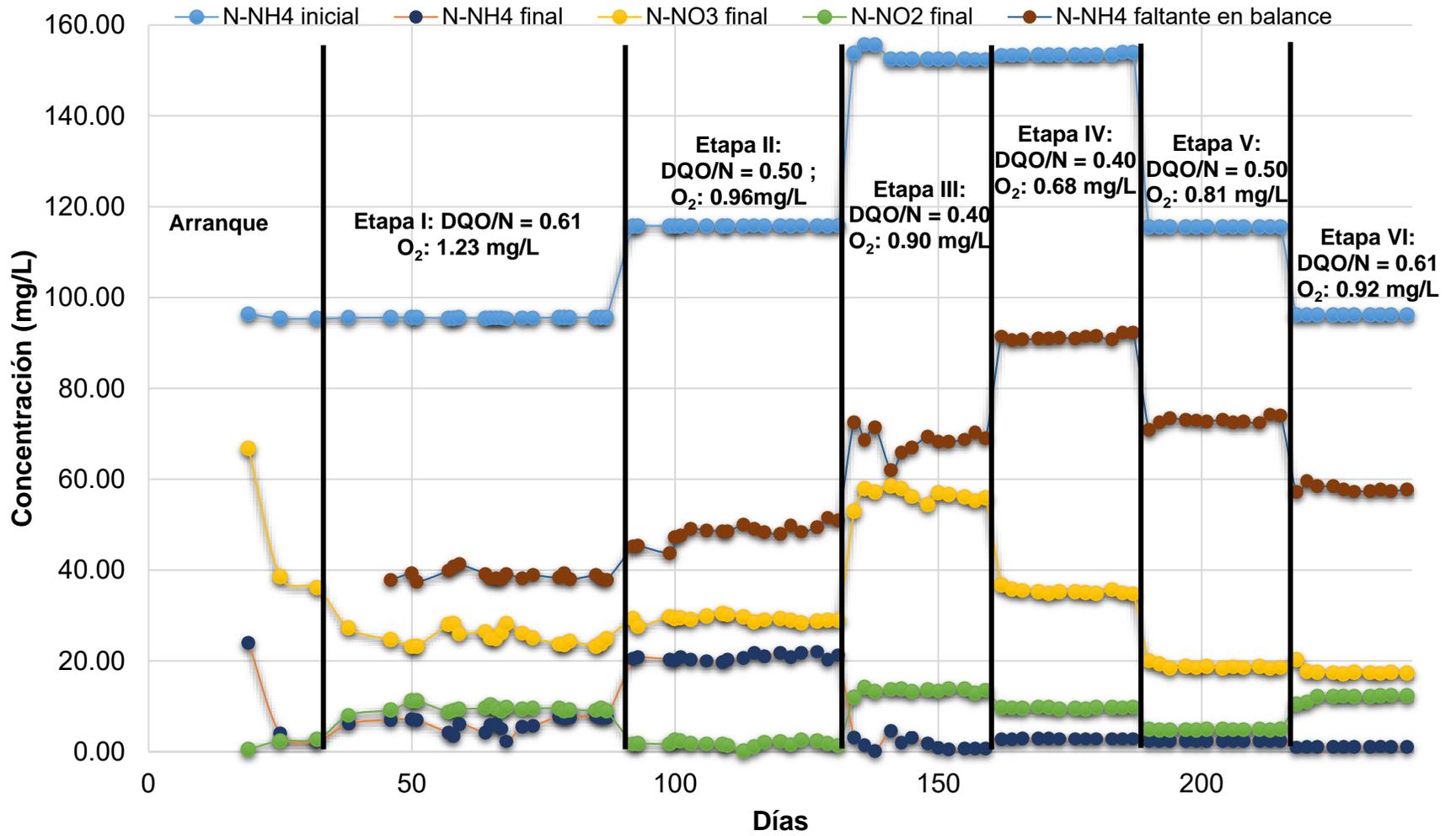


Figura 4.20. Especies nitrogenadas en el reactor

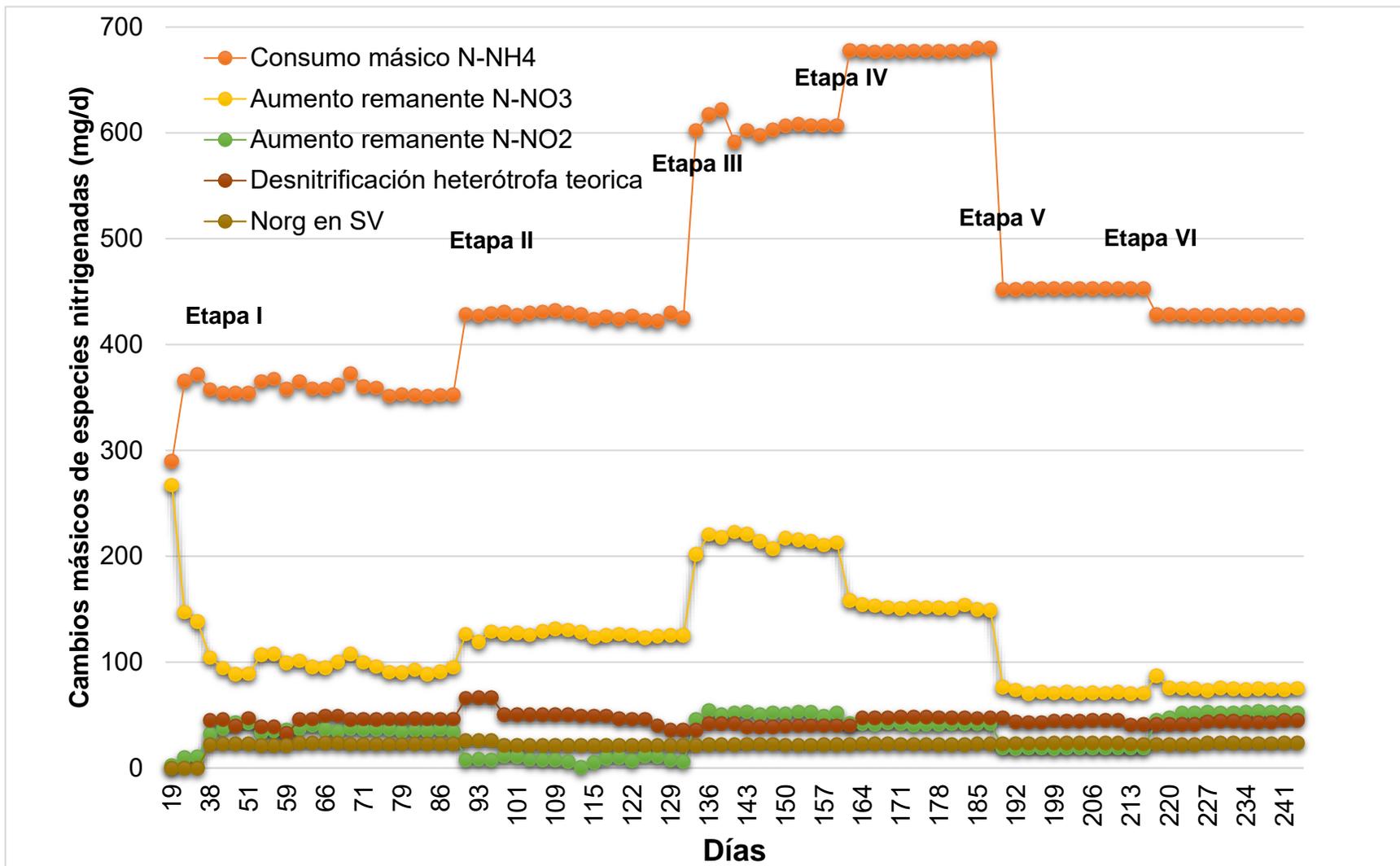


Figura 4.21. Monitoreo avance etapas experimentales

4.7 Tasas de remoción de nitrógeno

Tasas de remoción específicas

Para conocer el estado en el que se encuentra la operación de un reactor es importante conocer el valor de las tasas de remoción específicas, pues éstas permiten conocer la remoción de compuestos nitrogenados por cantidad de sólidos volátiles presentes en el sistema. En la tabla 4.15 se incluyen las tasas específicas de remoción para nitrógeno de amonio y nitrógeno total, además se incluye la tasa de remoción específica atribuida a actividad anammox.

Tabla 4.15. Tasas específicas de remoción

Etapa	Tasa de remoción específica de N-NH ₄ ⁺ (mg N-NH ₄ ⁺ /g SSV d)	Tasa de remoción específica de N-NH ₄ ⁺ por actividad anammox (mg N-NH ₄ ⁺ /g SSV d)	Tasa de remoción N (mg N/g SSV d)
I	79.03 ± 4.07	33.65 ± 1.1	43.36 ± 1.51
II	71.23 ± 0.7	36.63 ± 1.68	44.76 ± 0.65
III	104.1 ± 0.96	46.75 ± 1.34	53.6 ± 1.43
IV	113.3 ± 0.39	68.69 ± 0.63	76.61 ± 0.61
V	79.2 ± 0.07	51.17 ± 0.62	58.75 ± 0.37
VI	75.64 ± 0.11	41.07 ± 0.64	48.69 ± 0.36

Rathnayake *et al.* (2015) reporta un valor de tasa de remoción de nitrógeno amoniacal de 115.2 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, que coincide al reportado en la etapa IV, como se observa en la tabla 4.15, por lo cual se asume que la tasa de remoción específica de amonio detectada se encuentra dentro de rangos conocidos de trabajo.

Ji *et al.*, 2018 reportan tasas específicas de remoción de amonio por actividad anammox de 40 y 40.8 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, para una eficiencia de remoción de nitrógeno de 77.2 y 83.6 % respectivamente, mientras que en este trabajo se tienen tasas específicas de remoción de amonio por actividad anammox desde 33.65 hasta 68.69 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, para una eficiencia de remoción de nitrógeno del 54 al 77%, de tal manera que los valores encontrados en este estudio se encuentran por encima de los reportado por Ji *et al.* (2018).

Langone *et al.* (2016), reporta para una relación C/N = 0.6 un valor de tasa específica de remoción de amonio de 67 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, debido a la relación C/N este valor puede compararse directamente con las etapas I y VI de este trabajo, al hacerlo es evidente que los valores encontrados en el presente trabajo se encuentran por encima de lo reportado por Langone.

En la figura 4.22, se muestran mostrados de manera gráfica los valores encontrados de tasas específicas de remoción tanto de amonio como de nitrógeno total y remoción atribuida a actividad anammox en las etapas experimentales.

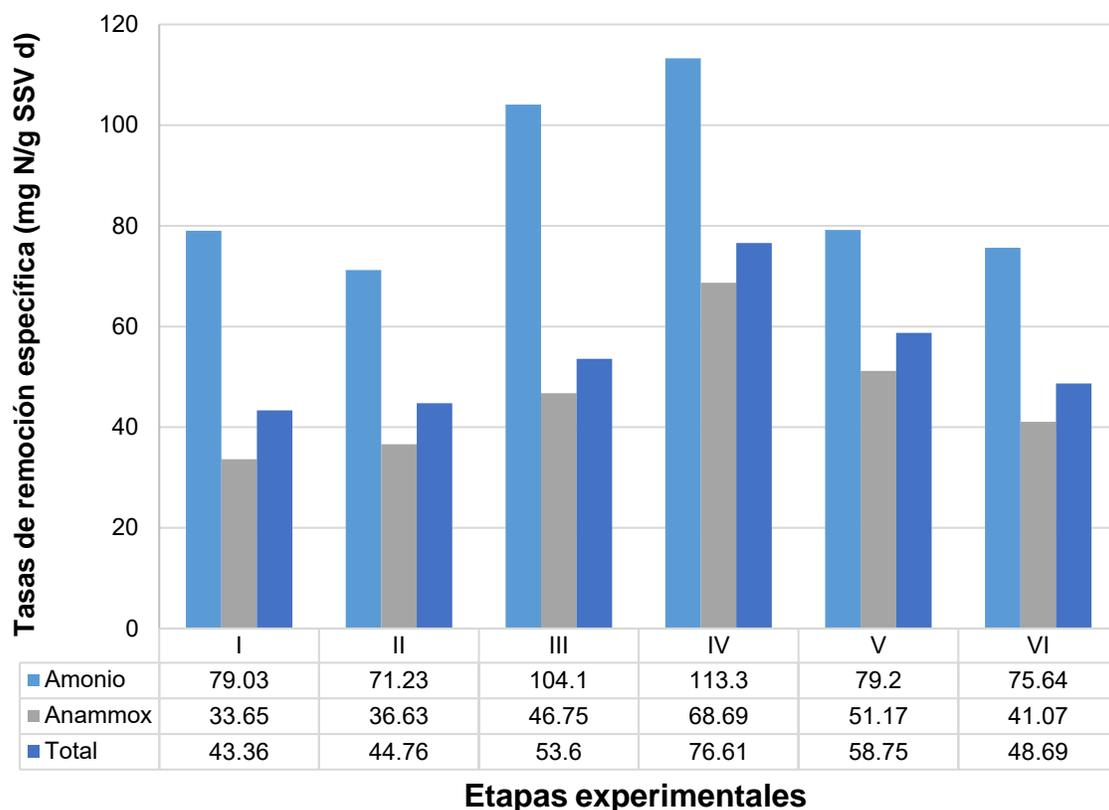


Figura 4.22. Tasas de remoción específicas por etapa

Los valores mayores de tasas específicas de remoción de amonio se tuvieron en las etapas III y IV con valores de 104.1 y 113.3 mg N-NH₄⁺/L·d respectivamente; Anjali & Sabumon (2017), reportan un valor de 185 mg N-NH₄⁺/L·d, que, si bien está por arriba del encontrado en este trabajo, son de orden similar. Estos mismos autores reportan un valor en la tasa de remoción específica de nitrógeno total de

172 mg N/g SSV·d, este valor comparado con los 76.71 mg N/g SSV·d obtenidos en la etapa IV es más del doble, lo cual indica que en este trabajo hizo falta inhibir más la generación de nitratos, a fin de tener una tasa de remoción específica de valor más alto.

Choi *et al.* (2018) reporta tasas específicas de remoción de amonio por vía anammox en el rango de 57 hasta 63 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, en este trabajo el rango de dicha tasa de remoción comprendió desde 33.6 hasta 68.7 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, donde las tres primeras etapas se encuentran por debajo de los valores reportados por Choi *et al.*, sin embargo, en la etapa IV el valor hallado los supera y en las últimas dos etapas el valor de la tasa de remoción baja de nuevo.

Durante toda la experimentación se hallaron valores de tasas específicas de remoción de nitrógeno dentro del rango reportado por Hendrickx *et al.* (2018), pues ellos reportan una tasa máxima de 44 mg N/g SSV·d y en todas las etapas experimentales se estuvo dentro de este rango, alcanzando el valor de tasa de remoción más alto en la etapa IV.

Autores como Panwivia *et al.* (2014) y Lotti *et al.* (2014), reportan valores de tasa de remoción de nitrógeno de 350 y 440 mg N/g SSV·d respectivamente, dichos valores se encuentran por arriba del intervalo de este trabajo.

Tasas de remoción volumétricas y porcentajes de remoción

Para conocer la eficiencia de remoción en el proceso en la tabla 4.16 se resumen las tasas de remoción de nitrógeno total y amoniacal, así como su porcentaje de remoción. Chen *et al.* (2009), encontraron un valor de remoción de nitrógeno amoniacal de 79%, y un 70% de nitrógeno total para una relación C/N= 0.5, en este trabajo para las etapas I y VI, que son las etapas en donde se trabajó con una relación C/N= 0.45, se tuvieron valores de remoción de nitrógeno amoniacal y total de 89% y 57.9%, respectivamente para la etapa I. Para etapa VI, valores de 95% y 68.5%. dichos resultados muestran que en estas dos etapas el reactor tenía una actividad desamonificante que superaba al reactor de Chen *et al.* (2009), sin embargo, en cuanto a la remoción de nitrógeno total en el presente trabajo se

tuvieron valores por debajo de los reportados por Chen, debido a que se tuvo acumulación de especies oxidadas de amonio en el reactor.

Tabla 4.16. Tasas de remoción

Etapa	Tasa de remoción de amonio (mg N-NH₄⁺/L·d)	Remoción N-NH₄⁺ (%)	Tasa de remoción de nitrógeno (mg N/L·d)	Remoción N (%)
I	89.43 ± 1.49	93.62 ± 1.63	56.21 ± 0.54	57.90 ± 0.55
II	94.97 ± 0.66	82.03 ± 0.59	65.28 ± 0.78	55.77 ± 0.69
III	151.44 ± 1.99	98.92 ± 0.88	85.02 ± 2.65	54.35 ± 1.57
IV	150.57 ± 0.26	98.14 ± 0.04	107.54 ± 0.69	69.22 ± 0.35
V	113.1 ± 0.03	97.94 ± 0.03	90.62 ± 0.48	77.72 ± 0.43
VI	95.07 ± 0.04	98.83 ± 0.04	66.86 ± 0.44	68.50 ± 0.47

En el caso de las etapas II y V, donde se trabajó con una relación C/N = 0.38, se obtuvo un valor de remoción de amonio promedio de 79% y 94%, este segundo valor coincide con el reportado por Jin *et al.* (2019), que reporta un valor promedio de remoción de amonio de 94% a lo largo de una experimentación de 260 días. En el caso de la remoción de nitrógeno total, los datos reportados por el mismo autor coinciden nuevamente con los encontrados en la etapa V, pues en ambos trabajos se obtuvo un valor promedio de remoción de 77%.

Para las etapas III y IV, donde se trabajó con una relación C/N= 0.28, se encontraron valores de remoción de nitrógeno amoniacal de 98% en ambas, y nitrógeno total de 54% y 69%. Dichos valores en cuanto a porcentaje de remoción de amonio coinciden con Liang *et al.*, (2014), pues reporta un valor promedio de 93.5%, sin embargo, en el caso de remoción total de nitrógeno ellos reportan un valor de 76%, que se encuentra por encima de las etapas trabajadas.

Anjali & Sabumon (2017), reportaron un promedio de remoción de nitrógeno amoniacal de 94% coincidente con el encontrado en las etapas III, IV y V de este trabajo, mientras que para la remoción de nitrógeno total reportan un valor promedio de 82%, debido a esto la etapa que más se parece a este trabajo fue la V, pues en ella se tuvo un promedio de remoción de nitrógeno total del 77%.

Xing et al., (2018) encontraron porcentajes de remoción total de 87.2 hasta 92.8%, valores que se localizan por encima de los encontrados en ese trabajo, pues van de 54.35 hasta 77.72%, lo cual muestra que faltó remover más material nitrogenado, en especial nitratos, ya que fue la especie más abundante a la salida del reactor en todas las etapas.

Yang et al. (2018), obtuvieron un comportamiento de remoción de nitrógeno total similar al encontrado en el presente trabajo, pues encontraron valores desde 60 hasta un 85%, mientras que, en el caso de la remoción de amonio, los valores que reportan se encuentran desde 65 hasta 99%. Los autores trabajaron con un reactor secuencial de gránulos, a lo largo de 120 días.

En la figura 4.23 se muestra de manera gráfica los valores encontrados de remoción de tasas de remoción de amonio y nitrógeno total a lo largo de las 6 etapas experimentales. Los valores reportados al ser comparados con la literatura muestran un comportamiento similar a los mostrados por autores como Lan *et al.* (2011), que trabajaron con un reactor secuencial y reportan valores de tasa de remoción de nitrógeno de 62 mg/L·d, que corresponden a las etapas II y VI de este trabajo; en el caso de la remoción de amonio reportan un valor promedio de 66 mg/L·d, el cual se encuentra por debajo de los valores registrados a lo largo de la realización de este trabajo.

Zhang *et al.* (2012) reportan un valor promedio de 133 mg N/L·d, mientras que Daverey *et al.*, (2013) hallaron valores promedio de 168 mg N/L·d, que se encuentran por arriba de los valores obtenidos durante la etapa IV de esta experimentación, que fue la etapa en donde se logró obtener una mayor tasa de remoción de nitrógeno total. Para el caso de la tasa de remoción de amonio dichos autores reportan valores promedio de 260 y 175 mg N/L·d respectivamente, ambos valores se localizan por encima de los encontrados en este estudio, sin embargo, el valor reportado por Daverey et al. (2013) es de orden similar al obtenido en las etapas III y IV, donde se tuvo tasas de remoción de 150.5 y 151.4 mg N/L·d, respectivamente.

Li et al. (2018), reportan un valor promedio de tasa de remoción de nitrógeno de 220 mg N/L·d, que es aproximadamente dos veces el valor encontrado en este trabajo, dicho autor trabajo con un reactor secuencial con relación C/N = 0.5, coincidente con dos de las etapas desarrolladas en la experimentación. Sin embargo, Li et al. (2018) trabajaron con cargas de nitrógeno más elevadas, de dos a casi tres veces más que las empleadas en este trabajo.

Augusto *et al.* (2018) reportan valores de tasa de remoción de amonio entre 50 y 100 mg N/L·d, lo cual coincide con los valores encontrados en el trabajo presente. Dichos autores también trabajaron con un TRH de 24 horas, sin embargo, solo trabajaron con dos concentraciones de N-NH₄⁺ (50 y 100 mg/L).

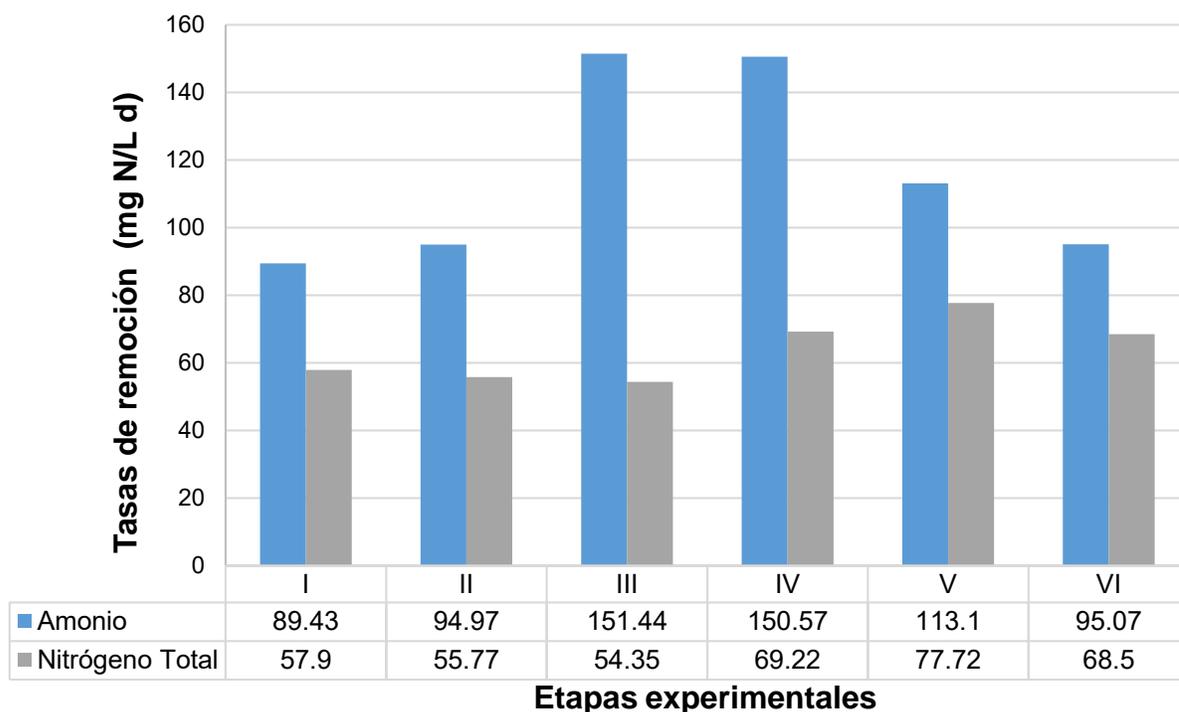


Figura 4.23. Tasas de remoción de amonio y nitrógeno total por etapa

4.8 Actividad heterótrofa y autótrofa en el reactor

De acuerdo con Liu *et al.* (2018) la competencia entre las comunidades bacterianas heterótrofas y autótrofas, se debe a la capacidad que tiene la DQO de penetrar en la biopelícula, lo cual da lugar a variaciones en la composición de la biopelícula a lo largo de ésta.

En la figura 4.24 se ilustra los porcentajes obtenidos en cuanto a remoción de amonio total, por vía heterótrofa, es decir, una oxidación de amonio hasta nitratos para su posterior desnitrificación heterótrofa. También se grafican los valores de desnitrificación autótrofa, es decir, interrumpiendo el proceso de oxidación del amonio hasta la formación de nitritos y la subsecuente utilización de estos para reaccionar con el amonio para liberar nitrógeno gas.

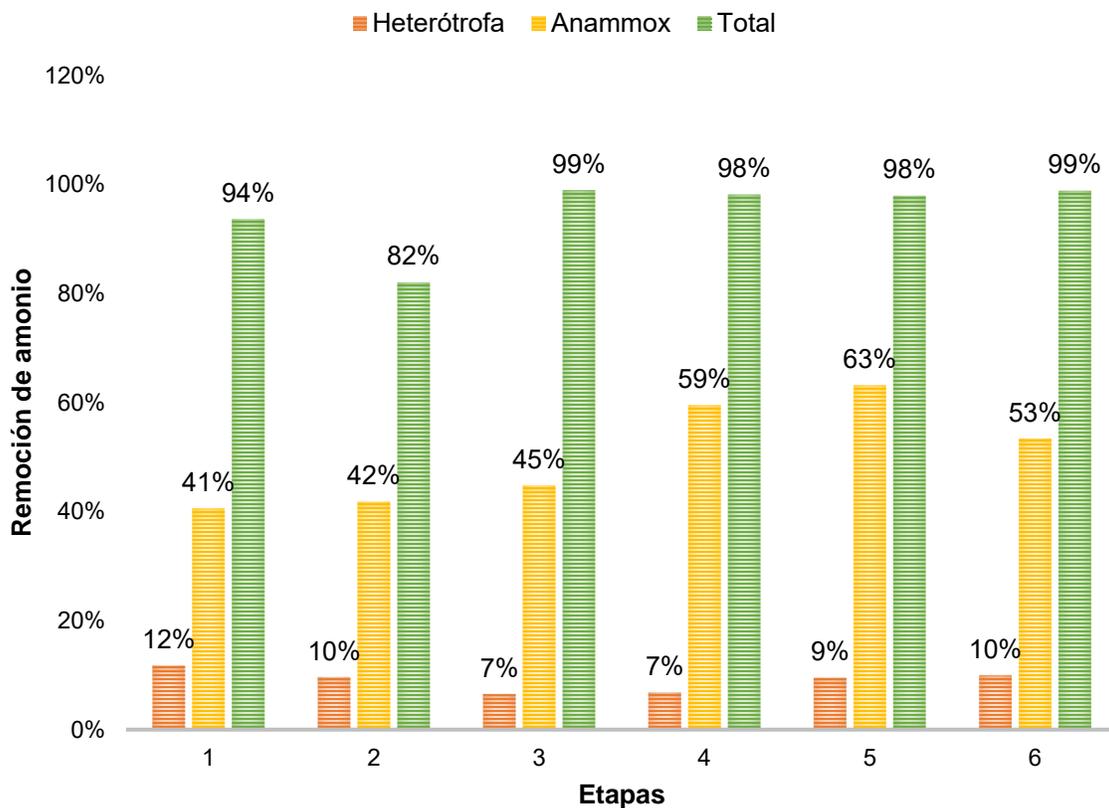


Figura 4.24. Porcentaje de actividad heterótrofa y autótrofa por etapas

En la figura 4.24, se puede observar como en las tres primeras etapas experimentales la contribución de actividad autótrofa a la remoción de amonio se mantuvo entre el 42 hasta un 45%, aumentando su participación en la etapa IV a un 59% y para la etapa V alcanzo su valor máximo de 63%. En el caso de la contribución de la remoción por vía convencional o heterótrofa, se mantuvo una aportación que fue desde un 7 hasta el 12% de la remoción total. Comparando estos números con Azari *et al.* (2018), son similares en el caso de la actividad heterótrofa, pues reportan valores de actividad heterótrofa entre un 10 y 15%, mientras que, en el caso de la actividad autótrofa de remoción de amonio, reportan valores promedio de 20%, con un máximo de 30% a lo largo de un periodo de 350 días.

Con este gráfico también se hace evidente la remanencia de especies nitrogenadas al interior del reactor, pues tomando como ejemplo la etapa III, se observa una remoción de nitrógeno amoniacal del 99%, con contribuciones autótrofa y heterótrofa del 45 y 7%, respectivamente. Si se suma estas dos contribuciones da un total de 52%, lo que indica que un 47% de nitrógeno amoniacal removido se encuentra en formas oxidadas, y como se vio anteriormente en su mayoría nitratos.

Liu *et al.* (2017), mostraron que con una relación C/N menor a 0.5 y con condiciones de OD entre 0.2 y 0.8 mg O₂/L, la actividad desnitrificante se lleva a cabo por bacterias autótrofas (anammox) en al menos un 65%, y en esta experimentación al trabajar con la relación C/N descrita y por debajo de los 0.8 mg/L de OD que fue en la etapa V, el porcentaje máximo encontrado de actividad anammox fue de 63%, lo cual indica que la actividad anammox hallada se encuentra dentro de un rango aceptable.

5. Conclusiones

- Se consiguió formar una biopelícula con actividad nitrificante desnitrificante, capaz de funcionar con concentraciones de DQO por debajo de 65 mg/L y de OD en un rango de 0.6 a 1.3 mg/L.
- La hipótesis planteada al inicio del experimento se acepta, pues con concentraciones de OD por debajo de 1.3 hasta 0.3 mg/L se tuvo evidencia de presencia de una nitrificación parcial y desamonificación por vía autótrofa.
- El mayor consumo de amonio se tuvo en la etapa IV, con un 677.6 mg N-NH₄⁺/d y el menor valor de consumo corresponde a la etapa con 357.6 mg N-NH₄⁺/d.
- La mayor producción de nitrato se encontró en la etapa III, con un valor de 215.1 mg N-NO₃⁻/d, y la menor producción fue de 71.4 mg N-NO₃⁻/d en la etapa V.
- El nitrito alcanzó su mayor producción durante la etapa III, que fue de 51.2 mg N-NO₂⁻/d, mientras que la producción menor se tuvo en la etapa II con un valor de 7.6 mg N-NO₂⁻/d.
- Se consiguieron tasas de remoción de amonio y nitrógeno total similares a las reportadas en la literatura, encontrando sus valores más altos en la etapa IV siendo estas 150.57 mg N-NH₄⁺/L·d y 107.54 mg N/L·d.
- La desamonificación es la causa del nitrógeno faltante en el balance, lo cual se atribuye a la oxidación anaerobia del amonio con nitrito.
- La remoción de nitrógeno atribuida a actividad Anammox, es directamente proporcional a la carga de amonio cuando se limita la concentración de oxígeno disuelto y DQO.
- El mayor valor de actividad específica anammox se tuvo en la etapa IV con un valor de 68.7 mg N-NH₄⁺/g SSV·d, que corresponde a un 59% de la remoción de amonio en el reactor.

- La relación C/N que tiene un mejor desempeño en cuanto a remoción de nitrógeno de una corriente de agua residual donde se limita el oxígeno disuelto y el material orgánico es de 0.4.
- Para tener un máximo desempeño en cuanto a remoción de nitrógeno en el reactor las condiciones de C/N y carga de amonio son 0.4 y 1.89 mg N-NH₄⁺/L·d.

6. Referencias

- Agusto, M.R., Camiloti, P.R., Octavio de Souza, T.S., 2018. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. *Bioresource Technology* 266, pp 151 – 157.
- Amand, L., 2008. Evaluation of the step-feed biological nitrogen removal process at Kungsängen wastewater treatment plant. Uppsala University, Sweden.
- American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Ed. 18. Washington, APHA, 1992.
- Anjali, G., Sabumon, P., 2017. Development of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in a non-aerated SBR. *International Biodeterioration Biodegradation* 119, pp 43–55.
- Aslan, S., Dahab, M., 2008. Nitrification and denitrification of ammonium-rich wastewater using fluidized-bed biofilm reactors. *Journal of Hazardous Materials* 156, pp 56 – 63.
- Azari, M., Le, A.V., Lubken, M., Denecke, M., 2018. Model-based analysis of microbial consortia and microbial products in an anammox biofilm reactor. *Water Science & Technology* 77, pp 1951 – 1959.
- Bagchi, S., Biswas, R., Vlaeminck, S. E., Roychoudhury, K., Nandy, T., 2012. Stable performance of non-aerated two-stage partial nitrification/anammox (PANAM) with minimal process control. *Microbial Technology* 5, pp 425-432
- Banihani, Q., Hadadin, N., Jamrah, A., 2012. Start-up of Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) from Conventional Return Activated Sludge in Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactor for Autotrophic Nitrogen Removal from Wastewater. *Jordan Journal of Civil Engineering* 6, pp 17-27
- Bishop, P. L. & Yu, T., 1999. A microelectrode study of redox potential change in biofilms. *Water Science & Technology*, 39(7), pp. 179 - 185.
- Blum, J.M., Jensen, M.M., Smets, B.F., 2018. Nitrous oxide production in intermittently aerated Partial Nitrification-Anammox reactor: oxic N₂O production dominates and relates with ammonia removal rate. *Chemical Engineering Journal* 335, pp 458-466
- Boltz, J., Smets, B.F., Rittmann, B.E., van Loosdrecht, M.C.M., Morgenroth, E., Daigger, G.T., 2017. From biofilm ecology to reactors: a focused review. *Water Science & Technology*, pp. 1-9.

- Bonmati, A., Flotats, X., 2003. Air stripping of ammonia from pig slurry: characterization and feasibility as a pre- or post-treatment to mesophilic anaerobic digestion. *Waste Management* 23, pp 261 - 272.
- Capodaglio, A., Hlavínek, P., Rabonil, M., 2016. Advances in wastewater nitrogen removal by biological processes: state of the art review. *Revista Ambiental Agua* 11, pp 250-267.
- Castrejón, P., 2005. *Comparación de dos medios de soporte de biopelícula (liso y poroso) para nitrificación y desnitrificación de lixiviados de un relleno sanitario*. CDMX: UNAM.
- Cervantes-Carrillo, F., Pérez, J. & Gómez, J., 2000. Avances en la Eliminación Biológica del Nitrógeno en aguas residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42, pp. 73-82.
- Characklis, W. G. & Marshall, K. C., 1990. *Biofilms*. Ed. Wiley-Interscience.
- Chen, C., Ouyang, W., Huang, S., Peng, X., 2018a. Microbial Community Composition in a Simultaneous Nitrification and Denitrification Bioreactor for Domestic Wastewater Treatment. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 112.
- Chen, H., Liu, S., Yang, F., Xue, Y., Wang, T., 2009. The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal. *Bioresource Technology* 100, pp. 1548–1554.
- Chen, Z., Wang, X., Chen, X., Chen, J., Feng, X., Peng, X., 2018b. Nitrogen removal via nitritation pathway for low-strength ammonium wastewater by adsorption, biological desorption and denitrification. *Bioresource Technology* 267, pp 541 – 549.
- Choi, D., Cho, S., Jung, J., 2018. Key operating parameters affecting nitrogen removal rate in single-stage deammonification. *Chemosphere* 207, pp 357-364.
- Cortez, S., Teixeira, P., Oliveira, R., Mota, M., 2008. Rotating biological contactors: a review on main factors affecting performance. *Environmental Science Biotechnology* 7, pp 155-172.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D., James, G., 1994. Biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology* 176, pp. 2137-2142.
- Courtens, E.N.P., Boon, N., De Clippeleir, H., Berckmoes, K., Mosquera, M., Seuntjens, D., Vlaeminck, S.E., 2014. Control of nitritation in an oxygen-limited autotrophic nitrification/denitrification rotating biological contactor through disc immersion level variation. *Bioresource Technology* 155, pp 182-188.

Daverey, A., Hung, N.T., Dutta, K., Lin, J.G., 2013. Ambient temperature SNAD process treating anaerobic digester liquor of swine wastewater. *Bioresource Technology* 141, pp 191–198.

De Clippeleir, H., Vlaeminck, S.E., Carballa, M., Verstraete, W., 2009. A low volumetric exchange ratio allows high autotrophic nitrogen removal in a sequencing batch reactor. *Bioresource Technology* 100, pp 5010-5015.

De Clippeleir, H., Vlaeminck, S.E., De Wilde, F., Daeninck, K., Mosquera, M., Boeckx, P., Verstraete, W., 2013. One-stage partial nitritation/anammox at 15 °C on pretreated sewage: feasibility demonstration at lab-scale. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97, pp.

De Clippeleir, H., Yan, X., Verstraete, W., Vlaeminck, S.E., 2011. OLAND is feasible to treat sewage-like nitrogen concentrations at low hydraulic residence time. *Applied Microbiology and Biotechnology* 90, pp 1537-1545.

Deloya, A., 2001. Biodiscos: una alternativa de tratamiento biológico para tratamiento de aguas residuales cuando no se dispone de grandes extensiones de terreno. *Tecnología en marcha* 13, pp. 57-59.

Di Palma, L., Verdone, N., 2009. The effect of disk rotational speed on oxygen transfer in rotating biological contactors. *Bioresource Technology* 100, pp 1467-1470.

Ebrahimi, M., Kazemi, H., Mirbagheri, S.A., Rockaway, T., 2018. Integrated Approach to Treatment of High-Strength Organic Wastewater by Using Anaerobic Rotating Biological Contactor. *Journal of Environmental Engineering*, Vol 2, pp

Frutos, O.D., Quijano, G., Aizpuru, A., Muñoz, R. 2018. A state-of-the-art review on nitrous oxide control from waste treatment and industrial sources. *Biotechnology Advances* 36 pp 1025-1037.

Fu, G., Yu, T., Huangshen, L., Han, J., 2018. The influence of complex fermentation broth on denitrification of saline sewage in constructed wetlands by heterotrophic nitrifying/aerobic denitrifying bacterial communities. *Bioresource Technology* 250, pp. 290-298.

García, L.D., 2018, Remoción de nitrógeno en un reactor biológico secuencial con biopelícula para el tratamiento de aguas residuales. UNAM, CDMX.

Grady, L., Daigger, G., Lim, H., 1999. *Biological Wastewater Treatment*, Revised and Expanded. Estados Unidos, New York. Marcel Dekker, Inc.

Han, F., Ye, W., Wei, D., Xu, W., Du, B., Wei, Q., 2018. Simultaneous nitrification-denitrification and membrane fouling alleviation in a submerged biofilm membrane bioreactor with coupling of sponge and biodegradable PBS carrier. *Bioresource Technology* 270, pp. 156-165.

- Hassard, F., Biddle, J., Cartmell, E., Jefferson, B., Tyrrel, S., Stephenson, T., 2015. Rotating biological contactors for wastewater treatment – A review. *Process Safety and Environmental Protection* 94, pp 285 – 306.
- Hatzikioseyan, A., Tsezos, M., 2006. Modelling of microbial metabolism stoichiometry: Application in bioleaching processes. *Hydrometallurgy* 83, pp. 29-34.
- He, S., Chen, Y., Qin, M., Mao, Z., Yuan, L., Niu, Q., Tan, X., 2018. Effects of temperature on anammox performance and community structure. *Bioresource Technology* 260, pp 186-195.
- Hendrickx, T.L.G., Kampman C., Zeeman, G., Temmink, H., Hu, Z., Kartal, B., Buisman, C.J.N., 2014. High specific activity for anammox bacteria enriched from activated sludge at 10° C. *Bioresource Technology* 163, pp. 214-221.
- Hewawasam, C., Matsuura, N., Maharjan, N., Hatamoto, M., Yamaguchi, T., 2017. Oxygen transfer dynamics and nitrification in a novel rotational sponge reactor. *Biochemical Engineering Journal* 128, pp 162–167.
- Himmelblau, D., 1997. Principios básicos y cálculos en ingeniería química. Sexta edición. México, CDMX. Prentice Hall Latinoamérica.
- Isaka, K., Date, Y., Sumino, T., Yoshie, S. & Tsuneda, S., 2006. Growth characteristic of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic biological filtrated reactor. *Applied Microbiology Biotechnology* 70, pp. 47–52.
- Iwai, S. & Kitao, T., 1994. *Wastewater treatment with microbial films*. Technomic Public Company: EUA.
- Ji, J., Peng, Y., Mai, W., He, J., Wang, B., Li, X., Zhang, Q., 2018. Achieving advanced nitrogen removal from low C/N wastewater by combining endogenous partial denitrification with anammox in mainstream treatment. *Bioresource Technology* 270, pp. 570-579.
- Jin, P., Li, B., Mu, D., Li, X., Peng, Y., 2019. High-efficient nitrogen removal from municipal wastewater via two-stage nitritation/anammox process: Long-term stability assessment and mechanism analysis. *Bioresource Technology* 271, pp 150 – 158.
- Khan, S. J., Ilyas, S., Rehman, Z., 2013. Impact of nitrogen loading rates on treatment performance of domestic wastewater and fouling propensity in submerged membrane bioreactor (MBR). *Bioresource Technology* 141 pp 46-49.
- Kinidi, L., Tan, I., Wahab, N., Tamrin, K., Hipolito, C., Salleh, S., 2018. Recent Development in Ammonia Stripping Process for Industrial Wastewater Treatment. *International Journal of Chemical Engineering* 2018, pp 1- 14.
- Kiran, M.G., Pakshirajan, K., Das, G., 2018. Metallic wastewater treatment by sulfate reduction using anaerobic rotating biological contactor reactor under high metal loading conditions. *Frontiers of Environmental Science & Engineering* 12, pp. 1-12

- Kowalski, M. S., Devlin, T. R., Oleszkiewickz, J.A., 2018. Start-up and long-term performance of anammox moving bed biofilm reactor seeded with granular biomass. *Chemosphere* 200, pp 481-486.
- Kuai, L., Verstraete, W., 1998. Ammonium removal by the Oxygen limited Autotrophic Nitrification-Denitrification System. *Applied and Environmental Microbiology* 64, pp 4500-4506.
- Lackner, S., Thoma, K., Gilbert, E., Gander, W., Schreff, D., Horn, H., 2015. Start-up of a full-scale deammonification SBR-treating effluent from digested sludge dewatering. *Water Science & Technology* 71, pp. 553-559.
- Lan, C.-J., Kumar, M., Wang, C.-C., Lin, J.-G., 2011. Development of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in a sequential batch reactor. *Bioresource Technology* 102, pp. 5514–5519.
- Langone, M., Ferrentino, R., Cadonna, M., Andreottola, G., 2016. Stoichiometric evaluation of partial nitritation, anammox and denitrification processes in a sequencing batch reactor and interpretation of online monitoring parameters. *Chemosphere* 164, 488–498.
- Lessard, P., Tusseau-Vuillemin, M., Héduit, A., Lagarde, F., 2007. Assessing chemical oxygen demand and nitrogen conversions in a multi-stage activated sludge plant with alternating aeration. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82, pp 367-375.
- Lewandowski, Z. & Boltz, J., 2011. Biofilms in Water and Wastewater Treatment. En: s.l.: Elsevier, pp. 529 - 560.
- Li, J., Zhang, L., Peng, Y., Zhang, Q., 2017. Effect of low COD/N ratios on stability of single-stage partial nitritation/anammox (SPN/A) process in a long-term operation. *Bioresource Technology* 244, pp 192-197.
- Li, Q., Wang, S., Zhang, P., Yu, J., Qiu, C., Zheng, J., 2018. Influence of temperature on an Anammox sequencing batch reactor (SBR) system under lower nitrogen load. *Bioresource Technology* 269, pp 50 – 56.
- Liang, Y., Li, D., Zhang, X., Zeng, H., Yang, Z., Zhang, J., 2014. Microbial characteristics and nitrogen removal of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process treating low C/N ratio sewage. *Bioresource Technology* 169, 103–109.
- Lin, Y., Tay, J., Liu, Y. & Hung, Y., 2009. Biological nitrification and denitrification process. En: L. Wang, ed. *Handbook of Environmental Engineering, Volume 8: Biological Treatment Processes*. Totowa: The Humana Press.
- Liu, T., Mab, B., Chen, X., Ni, B., Peng, Y., Guo, J., 2017. Evaluation of mainstream nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification

(SNAD) process in a granule-based reactor. *Chemical Engineering Journal* 327, pp 973-981.

Liu, Y., Li, C., Lackner, S., Wagner, M, Horn, H., 2018. The Role of interactions of effective biofilm surface area and mass transfer in nitrogen removal efficiency of an integrated fixed film activated sludge system. *Chemical Engineering Journal* 350, pp 992-999.

López Castillo, H., 2009. *Desarrollo del proceso Anammox para el tratamiento de lixiviados: puesta en marcha y aplicación*. Girona: Universidad de Girona.

Lotti, T., Kleerebezem, R., van Erp Taalman Kip, C., Hendrickx, T.L.G, Kruit, J., Hoekstra, M., van Loosdrecht, M.C.M., 2014. Anammox growth on pretreated municipal wastewater. *Environmental science and technology* 48, 7874-7880.

Malamis, S., Katsou, E., Di Fabio, S., Bolzonella, D., Fatone, F., 2014. Biological nutrients removal from the supernatant originating from the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste. *Critical Reviews in Biotechnology* 34, pp 244-257.

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

McBain, A. J., 2009. In vitro biofilm models: An overview. *Advances in Applied Microbiology* 69, pp. 99-132.

Metcalf. & Eddy, 2003. *Wastewater engineering: treatment and reuse*. 4° Ed. New York: McGraw-Hill.

Miao, Y., Peng, Y., Zhang, L., Li, B., Li, X., Wu, L., Wang, S., 2018. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chemical Engineering Journal* 334, pp 664-672.

Miao, Y., Zhang, L., Li, B., Zhang, Q., Wang, S., Peng, Y., 2017. Enhancing ammonium oxidizing bacteria activity was key to singlestage partial nitrification-anammox system treating low-strength sewage under intermittent aeration condition. *Bioresource Technology* 231, pp 36-44.

Millán, T., 2005. *Filtración biológica aerada de aguas residuales en lecho profundo*. CDMX: UNAM.

MWH, 2005. *Water Treatment: Principles and Design*, 2° Ed. John Wiley & Sons, Inc.

Nazar, J., 2007. Bacterial biofilms. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*, Volumen 67, pp. 61-72.

- Ning, Y.-F., 2014. A new approach for estimating aerobic–anaerobic biofilm structure in wastewater treatment via dissolved oxygen microdistribution. *Chemical Engineering Journal* 255, pp. 171 - 177.
- Palmer, J., Flint, S., Brooks, J., 2007. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 34, pp. 577-588.
- Panwivia, S., Sirvithayapakorn, S., Wantawin, C., Noophan, P. L., Munakata-Marr, J. 2014. Comparison of nitrogen removal rates and nitrous oxide production from enriched anaerobic ammonium oxidizing bacteria in suspended and attached growth reactors. *Journal of Environmental Science and Health* 49, 851-856.
- Peng, L, Liu, Y., Ni, B., 2016. Nitrous oxide production in completely autotrophic nitrogen removal biofilm process: A simulation study. *Chemical Engineering Journal* 287, pp 217 – 224.
- Peng, L., Ngo, H.H., Song, S., Xu, Y., Guo, W., Liu, Y., Wei, W., Chen, X., Wang, D., Ni, B., 2019. Heterotrophic denitrifiers growing on soluble microbial products contribute to nitrous oxide production in anammox biofilm: Model evaluation. *Journal of Environmental Management* 242, pp 309-314.
- Pereira, M., Morin, P., Vieira, M. & Melo, L., 2002. A versatile reactor for continuous monitoring of biofilm properties in laboratory and industrial conditions. *Letters in Applied Microbiology*, pp. 22-26.
- Pérez, A., Torres, P, 2008. Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería y competitividad*, Vol. 10, pp 41-52.
- Piculell, M., 2016. New Dimensions of Moving Bed Biofilm Carriers: Influence of biofilm thickness and control possibilities Lund: Department of Chemical Engineering, Lund University.
- Pynaert, K., Smets, B., Beheydt, D., Verstraete, W., 2004. Start-up of Autotrophic Nitrogen Removal Reactors via Sequential Biocatalyst Addition. *Environmental Science & Engineering* 38, pp 1228-1235.
- Ramalho, R.S, 1983. Introduction to wastewater treatment processes. New York, Estados Unidos: Academic Press.
- Rathnayake, R., Oshiki, M., Ishiim, S., Segawa, T., Satoh, H., Okabe, S., 2015. Effects of dissolved oxygen and pH on nitrous oxide production rates in autotrophic partial nitrification granules. *Bioresource Technology* 197, pp. 15-22.
- Ribera-Guardia, A., Pijuan, M., 2017. Distinctive NO and N₂O emission patterns in ammonia oxidizing bacteria: Effect of ammonia oxidation rate, DO and pH. *Chemical Engineering Journal* 321, pp. 358-365.

Rojas Rosales, M.A., 2017. Tratamiento de aguas residuales en reactor integral en columna. UAM, CDMX.

Sandip, M., Kalyanraman, V., 2017. Existing biological nitrogen removal processes and current scope of advancement. *Research Journal of Chemistry and Environment* 21, pp 43-53.

Scaglione, D., Caffaz, S., Bettazzi, E., Lubello, C., 2009. Experimental determination of Anammox decay coefficient. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 84, pp 1250-1254.

Scaglione, D., Lotti, T. Ficara, E., Malpei, F., 2017. Inhibition on anammox bacteria upon exposure to digestates from biogas plants treating the organic fraction of municipal solid waste and the role of conductivity. *Waste Management* 61, pp 213-219.

Schaubroeck, T., Bagchi, S., De Clippeleir, H., Carballa, M., Verstraete, W., Vlaeminck, E., 2012. Successful hydraulic strategies to start up OLAND sequencing batch reactors at lab scale. *Microbial Biotechnology*, Vol 5, pp 403-414.

Segura, J., 2007. *Efecto de la variación de oxígeno disuelto en la velocidad específica de nitrificación de agua y agua residual enriquecida con amonio*. CDMX: UNAM.

Sehar, S. & Naz, I., 2016. Role of the Biofilms in Wastewater Treatment. En: *Microbial Biofilms - Importance and Applications*. InTech, pp. 121 - 131.

Seuntjens, D., Carvajal-Arroyo, J.M., Ruopp, M., Bunse, P., De Mulder, C.P., Lochmatter, S., Agrawal, S., Boon, N., Lackner, S., Vlaeminck, S.E., 2018. High resolution mapping and modeling of anammox recovery from recurrent oxygen exposure. *Water Research* 144, pp 522-531.

Shao, Y., Shi, Y., Mohammed, A., Liu, Y., 2017. Wastewater ammonia removal using an integrated fixed-film activated sludge-sequencing batch biofilm reactor (IFAS-SBR): Comparison of suspended flocs and attached biofilm. *International deterioration & biodegradation* 116, pp 38-47.

Soler Jofra, A., Wang, R., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M.C.M., Pérez J., 2019. Stratification of nitrifier guilds in granular sludge in relation to nitritation. *Water Research* 148, pp 479 – 491.

Strous, M., Heijnen, J., Kuenen, J. & Jetten, M., 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology & Biotechnology* 50, pp. 589-596.

Strous, M., van Gerven, E., Zheng, P., Kuenen, G., Jetten, M.S.M., 1997. Ammonium removal from concentrated waste streams with the Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) process in different reactor configurations. *Water Research*, 31, pp. 1955-1962.

- Sun, X., Du, L., Hou, Y., Cheng, S., Zhang, X., Liu, B., 2018. Endogenous influences on anammox and sulfocompound-oxidizing autotrophic denitrification coupling system (A/SAD) and dynamic operating strategy. *Bioresource Technology* 264, pp 253 – 260.
- Szatkowska, A. B. & Paulsrud, B., 2014. The Anammox process for nitrogen removal from wastewater - achievements and future challenges. *VANN*, pp. 186-194.
- Tabraiz, S., Haydar, S., Hussain, G., 2015. Evaluation of a cost-effective and energy-efficient disc material for rotating biological contactors (RBC), and performance evaluation under varying condition of RPM and submergence. *Desalination and water treatment*, pp 1-8.
- Tawfik, A., Klapwijk, A., El-Gohary, F., Lettinga, G., 2005. Potentials of using a rotating biological contactor (RBC) for post-treatment of anaerobically pre-treated domestic wastewater. *Biochemical Engineering Journal* 25, pp 89 – 98.
- Tawfik, A., Temmink, H., Zeeman, G., Klapwijk, B. Sewage treatment in a biological rotating contractor (RBC) system. 2006. *Water, air and soil pollution* 175, pp 275-289.
- Teixeira, P., Oliveira, R., 2001. Denitrification in a closed rotating biological contactor: effect of disk submergence. *Process Biochemistry* 37, pp 345–349.
- Tortora, G., Funke, B. R. & Case, C., 2007. *Microbiología Ambiental*. En: *Introducción a la microbiología*. 9° ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, pp. 820 - 822.
- Tribelli, P. & López, N., 2015. Poly(3-hydroxybutyrate) influences biofilm formation and motility in the novel Antarctic species *Pseudomonas extremaustralis* under cold conditions. *Extremophiles* 15(541).
- Tyagi, R. & Vembu, K., 1990. *Wastewater Treatment by Immobilized Cells*. Florida: CRC Press.
- van der Graaf, A. A., de Bruijn, P., Robertson, L. A., Jetten, M. S. M., Kuenen, J. G., 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. *Environmental Microbiology* 142, 2187-2196.
- van der Star, W. R., Miclea, A., van Dongen, U.G., Muyzer, G, Picioreanu, C., van Loosdrecht, M.C., 2008. The membrane bioreactor: a novel tool to grow anammox bacteria as free cells. *Biotechnology & Bioengineering* 101, pp 286–294.
- Veuillet, F., Lacroix, S., Bausseron, A., Gonidec, E., Ochoa, J., Christensson M., Lemaire, R., 2014. Integrated fixed-film activated sludge ANITA™ Mox process – a new perspective for advanced nitrogen removal. *Water Science and technology* 69 (5), 915-922.

- Wang, X., Xu, X., Zou, Y., Yang, F., Zhang, Y., 2018. Nitric oxide removal from flue gas with ammonium using AnammoxDeNOx process and its application in municipal sewage treatment. *Bioresource Technology* 265, pp 170 – 179.
- Welter, A.B., Romero, J.B., Grumelli, Y.A., Sánchez, J.A., Áscar, G.I., 2004. *La biopelícula en los procesos RBC*. Córdoba: Universidad Católica de Córdoba.
- Wen, X, Gong, B., Zhou, J., He, Q., Qing, X., 2017. Efficient simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) system equipped with a real-time dissolved oxygen (DO) intelligent control system and microbial community shifts of different substrate concentrations. *Water Research* 119, pp 201-211.
- Wett, B., Hell, M., Nyhuis, G., Puempel, T., Takacs, I., Murthy S., 2010. Syntrophy of aerobic and anaerobic ammonia oxidisers. *Water Science & Technology* 61, pp. 1915-1922.
- Xing, W., Li, J., Li, D., Hu, J., Deng, S., Cui, Y., Yao, H., 2018. Stable-Isotope Probing Reveals the Activity and Function of Autotrophic and Heterotrophic Denitrifiers in Nitrate Removal from Organic-Limited Wastewater. *Environmental Science & Technology* 52, pp 7867 – 7875.
- Xiong, J., Zheng, Z., Yang, X., Dai, X., Zhou, T., He, J., Luo, X., 2018 Recovery of NH₃-N from mature leachate via negative pressure steam-stripping pretreatment and its benefits on MBR systems: A pilot scale study. *Journal of Cleaner Production* 203, pp. 918-925.
- Xu, X., Wang, G., Zhou, L., Yu, H., Yang, F., 2018. Start-up of a full-scale SNAD-MBBR process for treating sludge digester liquor. *Chemical Engineering Journal* 343, pp 477-483.
- Yang, Y., Zhang, L., Cheng, J., Zhang, S., Li, X., Peng, Y., 2018. Microbial community evolution in partial nitritation/anammox process: From sidestream to mainstream. *Bioresource Technology* 251, pp 327-333.
- Zhang, H., Du, R., Cao, S., Wang, S., Peng, Y., 2019. Mechanisms and characteristics of biofilm formation via novel DEAMOX system based on sequencing biofilm batch reactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 127, pp 206 – 212.
- Zhang, Q., Li, X., Miao, Y., Sun, Y., Zhang, M., Peng, Y., 2017. Rapid start-up of partial nitritation and simultaneously phosphorus removal (PNSPR) granular sludge reactor treating low-strength domestic sewage. *Bioresource Technology* 243, pp 660-666.
- Zhang, R., Xu, X., Chen, C., Xing, D., Shao, B., Liu, W., Wang, A., Lee, D., Ren, N., 2018. Interactions of functional bacteria and their contributions to the performance in integrated autotrophic and heterotrophic denitrification. *Water Research* 143, pp 355 – 366.

- Zhang, S., Norrlöw, O., Wawrzynczyk, J. & E., S., 2004. Poly(3-hydroxybutyrate) biosynthesis in the biofilm of *Alcaligenes eutrophus*, using glucose enzymatically released from pulp fiber sludge. *Applied Environmental Microbiology* 70, pp. 6776-6782.
- Zhang, X., Zhao, B., Yue, X., Li, F., Kong, X., Ma, X., Li, H., 2019. Effect of the method of falling water aeration-reflux on nitrogen removal and applicability in a novel upflow microaerobic sludge reactor treating low carbon-to-nitrogen ratio wastewater. *Bioresource Technology* 285, pp.
- Zhang, Z., Li, Y., Chen, S., Wang, S., Bao, X., 2012. Simultaneous nitrogen and carbon removal from swine digester liquor by the CANON process and denitrification. *Bioresource Technology* 114, pp 84–89.
- Zhao, J., Wang, X., Li, X., Jia, S., Peng, Y., 2018. Advanced nutrient removal from ammonia and domestic wastewaters by a novel process based on simultaneous partial nitrification-anammox and modified denitrifying phosphorus removal. *Chemical Engineering Journal* 354, pp 589-598.
- Zhang, M., Wang, S., Ji, B., Liu, Y., 2019. Towards mainstream deammonification of municipal wastewater: Partial nitrification-anammox versus partial denitrification-anammox. *Science of the Total Environment* 696, pp 393 - 401
- Zheng, M., Wu, X., Zuo, Z., Wang, Z., Qiu, Y., Liu, Y., Huang, X., Yuan, Z., 2018. Predictions of the Influent and Operational Conditions for Partial Nitritation with a Model Incorporating pH Dynamics. *Environmental Science & Technology* 52, pp 6457 – 6465.
- Zhou, X., Liu, X., Huang, S., Cui, B., Liu, Z., Yang, Q., 2018. Total inorganic nitrogen removal during the partial/complete nitrification for treating domestic wastewater: Removal pathways and main influencing factors. *Bioresource Technology* 256, pp 285-294.
- Zhou, X., Zhang, Z., Zhang, X., Liu, Y., 2018. A novel single-stage process integrating simultaneous COD oxidation, partial nitritation-denitritation and anammox (SCONDA) for treating ammonia-rich organic wastewater. *Bioresource Technology* 254, pp 50 – 55.

A. Anexos

A.1 pH

Descripción

El pH indica el grado de acidez o alcalinidad en un medio acuoso, éste se mide por la concentración del ion hidrógeno.

Procedimiento

Una vez realizada la calibración del potenciómetro. Introducir el electrodo en el medio acuoso a medir, esperar 1 minuto hasta asegurar que la lectura se ha estabilizado. El valor que marca la pantalla digital del potenciómetro es el dato del pH.

Materiales y equipos



Figura A.1 Potenciómetro Thermo Orion Scientific 2 Star

A.2 Oxígeno disuelto (OD)

Descripción

La concentración de oxígeno disuelto en un medio acuoso se refiere a la cantidad de oxígeno libre en el agua.

Procedimiento

Se utilizó el medidor de oxígeno disuelto YSI Incorporate. Debido a que las mediciones fueron llevadas a cabo en Ciudad Universitaria en la Ciudad de México el factor de calibración es 0.76 para la CDMX (Altura 2250m y Presión 585 mmHg). Encender el medidor de oxígeno disuelto y ajustar en ceros (Perilla 1), obtener la temperatura ambiente en °C arrojada por el medidor (perilla 2). Calibrar el con el oxígeno disuelto de saturación correspondiente a la temperatura arrojada por el medidor con la perilla 3

Materiales y equipos



Figura A.2 Medidor de oxígeno disuelto

A.3 Sólidos suspendidos totales

Descripción

Los sólidos suspendidos totales indican la cantidad de sólidos que se encuentran presentes en suspensión y que pueden ser separados por un medio mecánico, como lo es la filtración al vacío.

Procedimiento

1. Pesar un papel filtro previamente mantenido a peso constante en una estufa a 103-105°C, registrar este valor como “B”
2. Filtrar 50 mL de una muestra homogenizada utilizando el filtro de fibra de vidrio (1.5 µm)
3. Lavar con agua destilada el recipiente con el cual se tomó la muestra, para arrastrar sólidos que hayan quedado pegados en sus paredes
4. Colocar el filtro en una capsula de aluminio y llevarla a la estufa durante una hora
5. Pasar la cápsula con el filtro a un desecador y esperar 15 min
6. Pesar el filtro (peso del filtro más residuo) y registrar el volumen como “A”
7. Calcular los sólidos suspendidos totales en mg/L

$$SST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{volumen de muestra (L)}}$$

Materiales y equipo



Figura A.3 Estufa digital Riossa HCF-62

A.4 Sólidos suspendidos volátiles

Descripción

Los sólidos suspendidos volátiles representan el contenido de orgánicos, que corresponden a los compuestos que se pierden por llevar una muestra a sequedad durante un tiempo determinado a 550°C.

Procedimiento

1. Encender la mufla y fijar la temperatura a 550°C
2. Llevar a la mufla el residuo de la determinación de SST (previamente pesado) durante 20 min
3. Enfriar en un desecador durante 15 min
4. Pesar el residuo incinerado y registrar el valor como “C”
5. Calcular los sólidos suspendidos volátiles en mg/L

$$SSV \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(C - B) \times 1000}{\text{volumen de muestra (L)}}$$

Materiales y equipo



Figura A.4 Mufla Lindberg 51894

A.5 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Descripción

La demanda química de oxígeno (DQO) determina la cantidad de oxígeno equivalente requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual. La demanda química de oxígeno representa la cantidad del oxígeno contenido en dicromato de potasio necesaria para oxidar la materia orgánica contenida en la muestra.

Procedimiento

1. En un vial con taparrosca se colocan 2.5 mL de la muestra y se añaden 1.5 de la solución de $K_2Cr_2O_7$ y 3.5 mL del reactivo de H_2SO_4 . Tapar y agitar el vial
2. Introducir vial en el reactor HACH por 2 h a $150\text{ }^\circ\text{C}$
3. Dejar enfriar a temperatura ambiente
4. Vaciar el contenido del vial en una celda de vidrio y leer la absorbancia de las muestras a 600 nm. Se debe leer primero el testigo para ajustar la absorbancia a cero

Las pruebas se deben realizar por duplicado y hacer un testigo con agua destilada

Materiales y equipos



Figura A.5 Digestor HACH DRB 200 y espectrofotómetro Genesys

A.6 Nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺)

Descripción

La concentración de nitrógeno en forma de amonio se encuentra determinada mediante la transformación del nitrógeno, contenido en una muestra, en amoniaco en medio alcalino en la cual se lleva a cabo la separación del amoniaco de los compuestos del nitrógeno orgánico.

Procedimiento

1. Filtrar una muestra utilizando filtros de nitrocelulosa
2. En un vial adicionar 5 mL de muestra
3. Agregar una cucharadita de reactivo 1 de Kit de determinación de nitritos
4. Agitar hasta disolver
5. Dejar reaccionar por 15 min
6. Adicionar 0.6 mL de NaOH y esperar 5 minutos
7. Agregar reactivo número 2 del kit de determinación de NH₄⁺ y esperar 5 min
8. Vaciar el contenido del vial en una celda de vidrio
9. Medir la absorbancia de la muestra a 640 nm se debe medir primero el testigo para ajustar la absorbancia a cero (el testigo es agua destilada sin reactivo)

Las pruebas se deben realizar por duplicado y hacer un testigo con agua destilada

Materiales y equipos



Figura A.6 Kit de determinación de amonio y espectrofotómetro Genesys

A.7 Nitrógeno nitrato (N-NO₃⁻)

Descripción

Los iones nitrato (NO₃⁻) reaccionan con 2,6-dimetilfenol en presencia de una mezcla de ácidos fosfórico y sulfúrico para producir 4-nitro-2,6-dimetilfenol.

Procedimiento

1. Filtrar una muestra utilizando filtros de 45 µm
2. En un vial adicionar 1 mL de muestra
3. Agregar 8 mL de mezcla de ácidos (H₂SO₄:H₃PO₄)
4. Adicionar 1 mL de reactivo 2,6 dimetilfenol
5. Dejar reaccionar por 10 min
6. Vaciar el contenido del vial en una celda de vidrio
7. Medir la absorbancia de la muestra a 324 nm se debe medir primero el testigo para ajustar la absorbancia a cero

Las pruebas se deben realizar por duplicado y hacer un testigo con agua destilada

Materiales y equipos

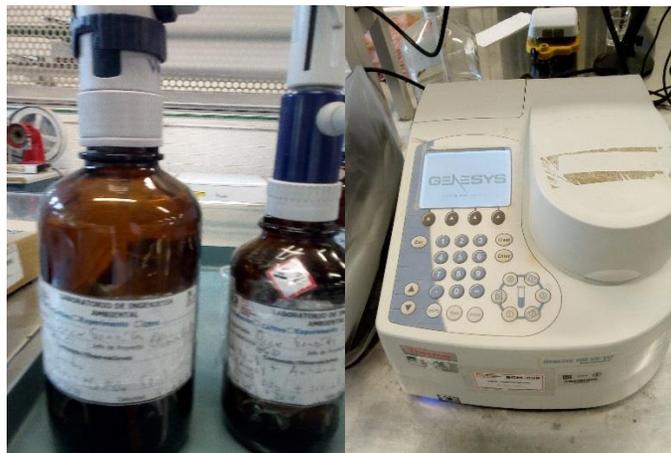


Figura A.7 y espectrofotómetro Genesys

A.8 Nitrógeno nitrito (N-NO_2^-)

Descripción

Es utilizado el kit MERK para la determinación de nitrito (NO_2^-) se encuentra basado en el principio de reacción entre una disolución de iones nitrito y ácido sulfanílico produciendo sal de diazonio la cual reacciona con N-1(1-Nafty) etilendiamina obteniendo un color púrpura.

Procedimiento

1. Filtrar una muestra utilizando filtros de nitrocelulosa
2. En un vial adicionar 5 mL de muestra
3. Agregar una cucharadita de reactivo 1 de Kit de determinación de nitritos
4. Agitar hasta disolver
5. Dejar reaccionar por 15 min
6. Vaciar el contenido del vial en una celda de vidrio
7. Medir la absorbancia de la muestra a 525 nm. se debe medir primero el testigo para ajustar la absorbancia a cero (el testigo es agua destilada sin reactivo)

Las pruebas se deben realizar por duplicado y hacer un testigo con agua destilada

Materiales y equipos



Figura A.8 Kit de determinación de nitritos y espectrofotómetro Genesys

A.9 Características de influente a reactor reportados en la literatura y el presente trabajo

Reactivo	De Clippeleir <i>et al.</i> , 2009	Schaubroeck <i>et al.</i> , 2012	De Clippeleir <i>et al.</i> , 2011	De Clippeleir <i>et al.</i> , 2013	Tesis García, 2018	Este trabajo
Sulfato de amonio (mg/L)	480	480	96	255	222	Ver tabla 3.2
Bicarbonato de sodio (mg/L)	76	10	26	-	1500	Ver tabla 3.2
Fosfato de potasio monobásico (mg/L)	343	343	78	78	27.2	27.2
Cloruro de calcio dihidratado (mg/L)	5500	5500	5500	-	300	300
Sulfato de magnesio heptahidratado (mg/L)	-	-	-	-	300	300
Solución Traza	1.5 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1.25 mL	1.25 mL
OD (mg/L)	0.3-0.7	0.35-0.5	<1.4	1.1-3.1	-	0.6-1.2
T (°C)	33	30-34	25	15-29	30	30
pH	<7.4	<7.4	<7.3	<7.5	7.7	7.4-8

A.10 Micronutrientes en soluciones traza para el agua sintética reportados en la literatura y el presente trabajo

	Huosheng <i>et al.</i> , 2011	Banihani, Hadadin & Jamrah, 2012	Bagchi <i>et al.</i> , 2012	Lei <i>et al.</i> , 2013	Kazuichi <i>et al.</i> , 2013	Swati <i>et al.</i> , 2016	Van der Graaf, 1996	Kuai & Verstraete, 1998	García, 2018	Este trabajo
EDTA (mg/L)	-	15000	15000	15000	15000	15000	15000	5000	15000	15000
Sulfato de zinc heptahidratado (mg/L)	430	430	430	430	430	430	430	2200	430	430
Sulfato de cobre pentahidratado (mg/L)	250	250	250	250	250	250	250	1600	250	250
Cloruro de manganeso tetrahidratado (mg/L)	990	630	990	-	990	990	990	5100	990	990
Cloruro de níquel hexahidratado (mg/L)	190	190	190	190	190	190	190	-	190	190
Cloruro de cobalto hexahidratado (mg/L)	240	240	240	240	240	240	240	1600	240	240
Ácido bórico (mg/L)	14	10	14	14	14	14	14	-	14	14
Molibdato de sodio (mg/L)	220	50	220	220	220	220	220	1100	220	220
Seleniato de sodio decahidratado (mg/L)	-	210	210	-	210	210	210	-	-	-