



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
INGENIERÍA AMBIENTAL – SUELOS Y AGUAS SUBTERRÁNEAS

**REMOCIÓN DE NITRATOS MEDIANTE BARRERAS REACTIVAS PARA  
APLICACIÓN EN AGUA SUBTERRÁNEA**

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

PRESENTA:  
DANGELO ANTONIO SANDOVAL CHACÓN

TUTOR PRINCIPAL  
Dra. ANA ELISA SILVA MARTINEZ FACULTAD DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR  
Dra. ANNE HANSEN HANSEN INSTITUTO MEXICANO DE  
TECNOLOGÍA DEL AGUA  
M. en C. ROLANDO GARCÍA GÓMEZ FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D. F. NOVIEMBRE 2018

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Dra. ORTA LEDESMA MARÍA TERESA  
Secretario: Dra. HANSEN HANSEN ANNE M  
Vocal: M. en C. GARCÍA GÓMEZ ROLANDO SALVADOR  
1 er. Suplente: Dr. GARCÍA VILLANUEVA LUIS ANTONIO  
2 d o. Suplente: Dra. SILVA MARTÍNEZ ANA ELISA

Lugar donde se realizó la tesis: Facultad de Ingeniería, UNAM, Ciudad de México.

**TUTOR DE TESIS:**

Dra. SILVA MARTÍNEZ ANA ELISA

-----  
**FIRMA**

## **Dedicatoria**

*Con mucho cariño para Arabela por inspirarme para seguir adelante sin importar los obstáculos que se presenten*

## **Agradecimientos**

Agradezco a la Oficina de Asuntos Internacionales y Cooperación Exterior de la Universidad de Costa Rica y a la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología de México por el apoyo económico brindado para desarrollar la investigación, así como a la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme realizar los estudios de Posgrado.

Quiero expresar mi agradecimiento por todo el apoyo recibido por el comité tutoral, a la Dra. Ana Elisa Silva y Dra Anne Hansen y el M en C. Rolando García, por todos sus aportes y tiempo invertido en la revisión de resultados y lectura del presente documento. A la Dra. Teresa Orto y el Dr. Luis Antonio García por sus aportes.

Al Laboratorio de Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la Facultad de Ingeniería por facilitar el espacio e instrumentos para realizar la fase experimental y a la Biol. Livia Sánchez por su apoyo. Al Laboratorio de Hidrogeoquímica del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Laboratorio de Difracción de Rayos X, al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía y al Laboratorio de Física de Suelos y Experimentación en Columnas del Instituto de Geología de la UNAM, por todos los análisis que me permitieron realizar. Así como al Laboratorio 3-301 del conjunto E de la Facultad de Química y al Mtro. Roberto Briones del Instituto de Ingeniería, por el aporte que le realizaron a la investigación.

A mis compañeros y amigos del posgrado, en especial a José Juan por todo el tiempo invertido, así como de la Dra. Georgina Fernández por el invaluable apoyo recibido.

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| ÍNDICE .....   | 1  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....  | 3  |
| RESUMEN .....  | 5  |
| ABSTRACT .....   | 6  |
| 1. INTRODUCCIÓN .....  | 7  |
| 1.1 Justificación.....   | 8  |
| 1.2 Hipótesis de Investigación.....  | 11 |
| 1.3 Objetivos .....  | 11 |
| 1.3.1 Objetivo General .....   | 11 |
| 1.3.2 Objetivos Específicos.....   | 11 |
| 1.4 Alcances y limitaciones .....  | 12 |
| 1.5 Estructura del trabajo .....   | 12 |
| 2. ANTECEDENTES.....   | 13 |
| 2.1 Ciclo del nitrógeno.....   | 13 |
| 2.2 Problema de contaminación por nitrógeno .....  | 18 |
| 2.3 Algunos casos de contaminación por nitratos en agua subterránea en México                  | 19 |
| 2.3.1 Efectos del nitrato en la salud .....  | 20 |
| 2.4 Procesos para la remoción de nitratos .....  | 24 |
| 2.5 Barreras reactivas permeables.....   | 28 |
| 2.5.1 Barreras permeables para la remoción biológica de nitrato .....                          | 30 |
| 2.5.2 Barreras permeables para la remoción físico-química de nitrato .....                     | 33 |
| 3. METODOLOGÍA .....   | 37 |
| 3.1 Diseño Experimental .....  | 37 |
| 3.1.2 Determinaciones analíticas .....   | 37 |
| 3.1.3 Evaluación de la variable de respuesta.....  | 38 |
| 3.1.4 Modelo experimental.....   | 38 |
| 3.1.5 Diagrama de flujo.....   | 39 |
| 3.2 Selección de fuentes de Inóculo de consorcios microbianos.....                             | 41 |
| 3.2.1 Desarrollo de consorcios microbianos para la desnitrificación biológica ....             | 41 |
| 3.2.2 Selección y multiplicación del consorcio microbiano .....                                | 43 |
| 3.2.3 Formación de la biopelícula en el material de soporte .....                              | 44 |
| 3.3 Acondicionamiento de la zeolita natural .....  | 44 |
| 3.3.1 Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la zeolita natural ....             | 46 |
| 3.3.2 Determinación de la capacidad de intercambio de la zeolita natural<br>acondicionada..... | 46 |
| 3.3.3 Operación del sistema de intercambio iónico por la técnica de lotes .....                | 47 |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 3.4   | Diseño de las columnas para las barreras .....                          | 47  |
| 3.4.1 | Tiempo de Retención .....   | 47  |
| 3.4.2 | Dimensionamiento de la barrera biológica .....                          | 48  |
| 3.4.3 | Dimensionamiento de la barrera de intercambio iónico.....               | 48  |
| 3.4.4 | Conductividad hidráulica .....  | 49  |
| 3.4.5 | Diseño de los reactores .....   | 50  |
| 3.5   | Evaluación de las fortalezas y debilidades .....                        | 51  |
| 3.5.1 | Determinación del porcentaje de eficiencia de remoción de nitrato ..... | 51  |
| 3.5.2 | Costos de operación .....   | 51  |
| 3.5.3 | Saturación de la zeolita.....   | 51  |
| 3.5.4 | Mantenimiento de las columnas.....                                      | 51  |
| 3.5.5 | Pérdida de permeabilidad .....  | 52  |
| 3.5.6 | Crecimiento de biopelícula y generación de lodos .....                  | 52  |
| 4.    | RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....  | 54  |
| 4.1   | Desarrollo del consorcio microbiano para la desnitrificación .....      | 54  |
| 4.1.2 | Selección y multiplicación del consorcio microbiano .....               | 58  |
| 4.1.3 | Formación de la biopelícula en el material de soporte .....             | 60  |
| 4.2   | Caracterización físico-química de la zeolita natural.....               | 61  |
| 4.2.1 | Sistema de intercambio iónico por la técnica de lotes.....              | 62  |
| 4.3   | Diseño de las columnas para las barreras permeables .....               | 63  |
| 4.4   | Evaluación de fortalezas y debilidades.....                             | 65  |
| a)    | Eficiencia de remoción.....   | 65  |
| b)    | Costos de operación.....  | 68  |
| c)    | Saturación de la zeolita.....   | 70  |
| d)    | Mantenimiento .....   | 70  |
| e)    | Pérdida de permeabilidad .....  | 72  |
| f)    | Crecimiento de biopelícula y generación de lodos .....                  | 73  |
| 5.    | CONCLUSIONES .....  | 76  |
| 6.    | RECOMENDACIONES.....  | 77  |
| 7.    | LITERATURA CITADA .....   | 78  |
| 8.    | ANEXOS.....   | 100 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |     |
|--|-----|
| Figura 1-1. Síntomas del síndrome del "bebé azul" .....  | 9   |
| Figura 2-1. Ciclo del nitrógeno.....   | 17  |
| Figura 2-2. Configuración de barreras reactivas permeables para el tratamiento de aguas subterráneas. a- Sistema continuo. b- Sistema en embudo.....                                       | 29  |
| Figura 3-1. Diagrama de flujo de la metodología de investigación.....  | 40  |
| Figura 3-2. Metodología para el desarrollo de un consorcio microbiano en la desnitrificación biológica.....  | 43  |
| Figura 3-3. Proceso para la activación de la zeolita.....  | 45  |
| Figura 3-4. Diagrama de distribución de materiales dentro de las columnas.....   | 50  |
| Figura 3-5. Metodología para aislamiento de microorganismos presentes en la barrera biológica. ....  | 53  |
| Figura 4-1. Cuantificación de STV (a), pH (b) y potencial óxido reducción (c) durante la etapa de desarrollo del consorcio microbiano para la desnitrificación .....                       | 56  |
| Figura 4-2. Cuantificación de los sólidos totales volátiles (d), pH (e) y potencial óxido-reducción (f) en la etapa de multiplicación del consorcio microbiano.....                        | 59  |
| Figura 4-3. Eficiencia de remoción de nitrato en la prueba de remoción por lotes. ....   | 62  |
| Figura 4-4. Efecto del pH en la remoción de nitrato.....   | 63  |
| Figura 4-5. Diagrama de Schoeller- Berkaloff para la concentración de iones.....   | 64  |
| Figura 4-6. Eficiencia de remoción de nitratos en agua subterránea. ....   | 66  |
| Figura 4-7. Evaluación del tiempo de saturación de la barrera de zeolita.....  | 70  |
| Figura 4-8. Evaluación de la eficiencia de remoción de la zeolita activada y regenerada .....  | 71  |
| Figura 4-9. Determinación de sólidos totales volátiles en muestras de agua subterránea y agua tratada en el sistema biológico.....   | 73  |
| Figura 4-10. Proceso de crecimiento del tezontle sobre medio de cultivo .....  | 74  |
| Figura 4-11. Muestras analizadas al microscopio óptico (a, b y c a 100 X) y d a 10 X. ....   | 75  |
| Figura 8-1. Curva de calibración a) N-nitrato, b) N-nitrito y c) N-amonio .....  | 101 |
| Figura 8-2. Difractograma de rayos X a) zeolita natural b) zeolita natural acondicionada y c) zeolita acondicionada al final del proceso de remoción de nitratos en agua subterránea ..... | 103 |
| Figura 8-3. Coeficiente de Uniformidad de tamaño de partícula.....   | 104 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |     |
|---|-----|
| Tabla 2-1. Límites máximos permisibles de formas nitrogenadas en agua potable ....  | 23  |
| Tabla 2-2. Límites máximos permisibles de formas nitrogenadas en aguas residuales establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996..... | 24  |
| Tabla 2-3. Comparación técnica de algunos procesos de remoción de nitratos en agua .....  | 26  |
| Tabla 2-4. Capacidad de intercambio aniónico de diferentes resinas para la remoción de nitratos en agua .....                   | 27  |
| Tabla 2-5. Rangos de pH para el proceso de desnitrificación biológica.....  | 31  |
| Tabla 2-6. Diferentes tiempos de retención hidráulica para la desnitrificación biológica .....                                  | 33  |
| Tabla 2-7. Tiempo de retención hidráulica en el intercambio iónico con zeolita.....   | 35  |
| Tabla 3-1. Parámetros para la evaluación de la calidad del agua.....  | 38  |
| Tabla 3-2. Nomenclatura de las fuentes de inóculo de consorcios microbianos .....   | 41  |
| Tabla 3-3. Requerimientos nutricionales para soluciones basado en Luo <i>et al.</i> , (2016). .....                             | 42  |
| Tabla 4-1. Seguimiento en el crecimiento de la biopelícula .....  | 60  |
| Tabla 4-2. Propiedades fisicoquímico de la zeolita natural utilizada para la formación de la barrera permeable. ....            | 61  |
| Tabla 4-3. Análisis del costo de operación de una barrera biológica .....   | 69  |
| Tabla 4-4. Análisis del costo de operación de una barrera de intercambio aniónico..   | 69  |
| Tabla 4-5. Análisis de permeabilidad de los materiales de las barreras. ....  | 72  |
| Tabla 8-1. Análisis de identificación de fases de tres muestras de zeolita.....   | 102 |

## RESUMEN

La contaminación de agua subterránea con nitrato es una preocupación alrededor del mundo, esta es causada por el uso de fertilizantes nitrogenados, ganadería, contaminación atmosférica y la descarga de aguas residuales de actividades industriales y municipales. El nitrato es un compuesto móvil que no es adsorbido en acuíferos lo que provoca que este se traslade a fuentes de abastecimiento de agua. Adicionalmente, el consumo de aguas contaminadas con nitratos en concentraciones mayores a 50 [mg/L] en niños menores de 3 meses puede causar la enfermedad llamada metahemoglobinemia. Existen tecnologías para la remoción de nitratos en agua, principalmente con tratamientos *ex situ*, como los biológicos, intercambio iónico, ósmosis inversa, adsorción y oxidación química. Una técnica para remediación *in situ* de agua subterránea es el uso de barreras reactivas permeables, las cuales se colocan perpendiculares al flujo de agua y promueven una reacción para la remoción del nitrato.

Dado lo anterior, se planteó comparar las eficiencias de remoción de nitratos mediante una barrera reactiva biológica y otra de intercambio iónico aplicable a casos de contaminación en agua subterránea. Para el desarrollo de la barrera reactiva biológica (BB) se evaluaron cuatro posibles fuentes de consorcios microbianos: *i*) lodos granulares de un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB *Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor* por sus siglas en inglés), *ii*) lodos activados de un reactor Anaerobio-Anóxico-Aerobio (A-A-A) y dos profundidades de un perfil de suelo de una chinampa de Xochimilco *iii*) de 20 a 30 cm y *iv*) de 30 a 40 cm.

De las curvas de crecimiento de los consorcios, se seleccionaron los lodos del UASB los cuales se multiplicaron y se fijaron como biopelícula sobre “tezontle”. Para el diseño de los reactores se consideró 20.5 h como tiempo de retención y en el caso de la barrera biológica la dimensión fue de 0.20 m de alto con un diámetro de 10.2 cm. Paralelo, se diseñó y desarrolló la barrera reactiva de intercambio aniónico (BIA), para esto se acondicionó una zeolita natural con una solución de 0.1 M de NaOH a 40°C por 24 h, y se obtuvo una capacidad de intercambio aniónico de 0.94 [meq/g]. Además, se consideró la concentración de aniones presentes en el agua subterránea tomada de Ciudad Universitaria, el gasto y el flujo másico, con lo cual se determinó la dimensión de la barrera 0.1 m de alto y un diámetro de 10.2 cm.

Para la evaluación de la eficiencia de remoción se utilizaron reactores, cada tratamiento se compuso de un reactor y tuvo dos repeticiones que operaron con tanques de agua sintética preparada con 100 [mg/L] de nitrato. En el caso de la BB las dimensiones fueron (de abajo hacia arriba) de 30 cm de arena, 20 cm tezontle con biopelícula y 20 cm de arena. Para la BIA se colocaron 30 cm de arena, 10 cm de zeolita natural acondicionada y 40 cm de arena y un tratamiento testigo únicamente de arena. En todos los reactores la arena tuvo una permeabilidad de  $2.35 \times 10^{-4}$  [m/s].

El tratamiento biológico presentó una eficiencia de remoción de nitrato promedio del 80%, no obstante se determinó la formación de subproductos de la desnitrificación como nitrito y amonio. La remoción de nitrato en la barrera de intercambio aniónico fue del 35% durante 30 días de evaluación, pero la concentración de aniones como el bicarbonato, el cloruro y el sulfato del agua subterránea, ocuparon sitios de intercambio, compitiendo con el nitrato y disminuyendo la eficiencia de la BIA.

## ABSTRACT

Groundwater pollution caused by forms of nitrogen is a main concern around the world due to the use of nitrogen fertilizers, atmospheric pollution, cattle and the discharge of untreated wastewater from industry and municipal use. The main issue with nitrate relies in the mobile nature of the compound, which in groundwater is not adsorbed, allowing it to be dissolved in great amounts in water sources. Additionally, the ingestion of nitrate above 50 [mg/L] by infants under three months old could cause methemoglobinemia. There are several technologies for *ex situ* nitrate removal such as, biological, ion exchange, reverse osmosis, adsorption, and chemical oxidation. Reactive permeable barriers are an *ex situ* emergent technology for pollutant attenuation in groundwater; these are built perpendicular to the water flow in which geochemical reactions are encouraged in order to remove or stabilize the pollutant. Given the above, this investigation aimed to compare the nitrate removal efficiency and the operation of a reactive permeable biological barrier vs. an ion exchange barrier for groundwater.

For the establishment of the biological reactive barrier (BB), four possible sources of microbial consortia were evaluated for the development of the definite microbial consortium for biological denitrification: *i*). Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), *ii*). Anaerobic-Anoxic-Aerobic sludge (A-A-A) and two depths of soil samples from the Xochimilco chinampas, *iii*). from 20 to 30 cm, and *iv*). from 30 to 40 cm.

From the performance in growth curves of the consortia and the nitrate removal, the UASB sludge was selected as the best of the four evaluated. This consortium was multiplied and fixed as a biofilm in a porous material locally known as "tezontle", from volcanic origin. Considering a retention time of 20.5 h, the size of the barrier for biological denitrification was dimensioned 0.20 m high and 10.2 cm diameter. In parallel, an anion exchange reactive barrier (BIA) was designed and developed. For this, natural zeolite was physically and chemically conditioned with a 0.1 M solution of NaOH at 40°C for 24 hours, in order to obtain an anion exchange capacity of 0.94 [mg/L]. Additionally, the anion concentration from groundwater used (from UNAM campus), as well as the anion exchange capacity from the zeolite were considered for the design of the anion exchange barrier. The dimensions of the barrier were 0.1 m high and 10.2 cm diameter.

Reactors were built for the efficiency evaluations, each reactor was a treatment, made of two repetitions. All which operated with synthetic water tanks prepared with 100 [mg/L] of nitrate. For the BB the dimensions used were from bottom to top: 30cm of sand, 20 cm of tezontle inoculated with the developed biofilm and 20 cm of sand. For the BIA the reactor was built with 30 cm of sand, 10 cm of natural conditioned zeolite and topped with 40cm of sand. The witness reactor was built with 80 cm of sand. In all the reactors, the sand had a permeability of  $2.35 \times 10^{-4}$  [m/s].

The biological treatment had an average of 80% removal efficiency (ER), nevertheless there was formation of several subproducts such as nitrite and ammonia. The ER of the ion exchange barrier was of 35% during 30 days of evaluation; however, the anion concentrations of bicarbonate, chloride and sulfate from the groundwater competed for the exchange sites against nitrate, consequently decreasing the efficiency of the BIA.

## 1. INTRODUCCIÓN

El agua juega un rol importante en el soporte y mantenimiento de la salud humana así como de la sostenibilidad de los ecosistemas; el crecimiento de la población, la urbanización, industrialización y el consumo son los factores que han generado un incremento en la demanda del agua potable (Sun *et al.*, 2016).

En las regiones con frecuentes periodos de estrés hídrico, el agua subterránea se utiliza como un recurso para satisfacer la demanda, en muchas de estas áreas la explotación del agua subterránea exceden la recarga, agotando las reservas y afectando negativamente los cuerpos de agua y el ecosistemas (Graaf *et al.*, 2014).

En el caso de México, el agua subterránea representa el 38.9% del volumen total del líquido por los principales usos consuntivos, lo que equivale a 33,311 millones de  $m^3$  al año (CONAGUA, 2016), siendo los usos domésticos, urbanos, industrial y principalmente el agrícola los mayores consumidores de este líquido (Díaz *et al.*, 2013).

A partir del año de 1970, la contaminación por nitratos en aguas subterráneas se ha reportado en de Europa, Estados Unidos, Canadá (Anormu *et al.*, 2017), así como en el noreste de China (Zhai *et al.*, 2017) entre otros. En el caso de México, se han reportado sitios contaminados principalmente en la zona del estado de Mérida y Yucatán (Pacheco y Cabrera, 2015). En áreas de vegetación natural la concentración de nitrato en agua no excede 1  $mg/L$ ; no obstante un aumento del uso de fertilizantes nitrogenados en la agricultura se ha relacionado con un incremento de la concentraciones de nitratos en agua subterránea (Foster, 2000).

Por año, en el mundo se estima que se utilizan 200 millones de toneladas de fertilizante nitrogenado, del cual entre un 40% y 50% es asimilado por las plantas, un 20% es lixiviado a cuerpos de agua, un 20% se volatiliza y un 10% se transforman en formas que pueden permanecer en el suelo (Gugava y Korokhashvili, 2018).

Otra causa, es el uso de agua residual (AR) en la agricultura. En el valle del Mezquital se estima que el agua residual proporciona hasta  $630 \text{ kg N ha}^{-1}$  de los cuales hasta un 10% se lixivia hasta la zona vadosa (Salazar *et al.*, 2018). En un área de cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) regado con AR se cuantificó una lixiviación de  $70 \text{ kg NO}_3^- \text{ ha}^{-1}$  a través del perfil del suelo (Díaz, 2011), pese a esto la concentración del nitrato en agua subterránea varió entre 10 y  $34 \text{ [mg/L]}$ , debido al proceso de desnitrificación biológica (Cortés, 2011).

Además se produce el dióxido de nitrógeno durante la oxidación de los gases  $\text{NO}_x$  emitidos durante los procesos de uso de combustibles fósiles e incendios forestales. Los  $\text{NO}_x$  sufren reacciones fotoquímicas produciendo ácido nítrico, el cual se puede depositar por efecto de la lluvia ácida (Hsu *et al.*, 2016). Una fuente adicional de formas nitrogenadas, es originado como producto de los lixiviados de rellenos sanitarios (Arenas, 2017)

La Organización Mundial de la Salud ha fijado que el nivel máximo permisible en agua de consumo humano debe ser de  $50 \text{ [mg/L]}$  de  $\text{NO}_3^-$  (Riveet *et al.*, 2008), para el caso de México el nivel según la NOM-SSA-127-1994 corresponde a  $10 \text{ [mg/L]} \text{ N} - \text{NO}_3^-$  (equivalente a  $45 \text{ [mg/L]} \text{ NO}_3^-$ ).

## 1.1 Justificación

La contaminación de las aguas subterráneas por formas de nitrógeno inorgánico en sus formas de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) constituye una preocupación importante en todo el mundo (Gilbert *et al.*, 2008). El nitrato se encuentra relacionado con el ciclo del elemento en el suelo debido a que depende de procesos de degradación microbiana, además de ser un indicador de contaminación en aguas naturales (Cabrera *et al.*, 2003).

Según Pacheco *et al.*, (2004), la problemática con los nitratos es ocasionada por ser un contaminante móvil en el agua, el cual no es adsorbido en los acuíferos ni se precipita como mineral, lo que permite que se disuelvan en el agua y que por su

naturaleza hace que se pueda desplazar en la subsuperficie tanto en suelos como en sedimentos del drenaje agrícola y en rocas fracturadas.

Por su movilidad, se infiltran hacia los acuíferos, aunque depende de factores como el uso y propiedades del suelo, carga de nitrógeno desde la zona de recarga de agua subterránea, nivel freático, el potencial oxido-reducción entre otros, (Montiel, 2015).

Los nitratos no se consideran como tóxicos, pero la ingesta prolongada en cantidades superiores a niveles máximos permisibles representa un riesgo para la salud de los humanos por el desarrollo del síndrome "del bebé azul" causada por la metahemoglobinemia en menores de 6 meses (Martínez *et al.*, 2017) como se puede observar en la Figura 1-1.



**Figura 1-1. Síntomas del síndrome del "bebé azul"**

Tomado: Zárate *et al.*, 2013

La causa de esta enfermedad es la reducción del nitrato a nitrito por microorganismos en el agua, el cual al ingresar al organismo humano oxida al  $Fe_2^+$  presente en la hemoglobina y es convertido en  $Fe_3^+$ , evitando así que el oxígeno pueda unirse a la hemoglobina y distribuirse a las células. El síndrome causa cianosis, estupor y anoxia cerebral, presentando una sintomatología de coloraciones gris azulada o parda en la piel (Fewtrell, 2004).

Los  $NO_3^-$  también se relacionan con la formación de compuestos nitrosos asociados a malformaciones congénitas, pues bajo ciertas condiciones en presencia de aminas se puede formar nitrosaminas, las cuales tienen una acción carcinógena en animales y en humanos (Vitoria *et al.*, 2015).

Los tratamientos convencionales como coagulación, floculación, sedimentación, filtración y adsorción son ineficientes en la remoción de nitrato, siendo el tratamiento biológico el más utilizado. Aunque existen otros procesos tales como reducciones químicas, de intercambio iónico, fotoquímicas y electroquímicas para la reducción de los nitratos en el agua (Moussavi y Shekoohiyan, 2016).

El proceso de eliminación biológica de nitratos se denomina desnitrificación, el cual ocurre en condiciones anaerobias donde los microorganismos autótrofos o heterótrofos utilizan el nitrato como aceptor terminal de electrones (Li *et al.*, 2016). En cuanto al intercambio iónico puede ser simple y efectivo, pero depende de la selectividad del material, principalmente resinas. De esto dependerá el costo siendo el cloruro el que se intercambia con mayor frecuencia por el nitrato (Boumediene y Achour, 2004).

El tratamiento del agua subterránea principalmente se realiza *ex situ* mediante la extracción-tratamiento y posterior bombeo, lo cual demanda una gran cantidad de energía limitando su aplicación en lugares apartados (Pi *et al.*, 2017). Una alternativa para atenuar la contaminación en aguas subterráneas por nitratos pueden ser la construcción de barreras reactivas (BR), las cuales consisten en sistemas en el subsuelo que generen un gradiente natural por donde el agua pase y el contaminante sea retenido, inmovilizado o convertido en una especie no tóxica (Powell *et al.*, 1998).

Las BR se pueden construir con sustratos que permitan realizar una remoción biológica permitiendo el desarrollo de colonias de microorganismos desnitrificadoras (Huang *et al.*, 2015), o bien un mineral que por su estructura física y propiedades químicas permitan el intercambio iónico (Bao *et al.*, 2016).

## **1.2 Hipótesis de Investigación**

Las barreras reactivas biológicas serán más eficientes en la desnitrificación de agua subterránea debido a su especificidad en la remoción de nitrato, que las barreras de zeolitas, las cuales se saturan rápidamente por la diversidad de iones presentes en el agua subterránea.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo General**

Evaluar la eficiencia de remoción de nitratos mediante una barrera permeable biológica y otra de intercambio iónico aplicable a casos de contaminación en agua subterránea.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

1. Desarrollar un consorcio microbiano adaptado a una barrera permeable de tezontle para la desnitrificación biológica.
2. Diseñar y acondicionar una barrera permeable de zeolita natural para el intercambio aniónico.
3. Determinar la eficiencia de remoción de nitratos de las barreras reactivas a nivel de laboratorio.
4. Evaluar los parámetros que determinen las fortalezas y debilidades de la operación de cada tipo de barrera, en términos de eficiencia de remoción, saturación, mantenimiento y costos a nivel experimental.

#### **1.4 Alcances y limitaciones**

- Solo se utilizaron cuatro posibles fuentes de inóculos de consorcios microbianos: i) Lodo de Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente y ii) Lodo de reactor Aerobio- Anóxica- Anaerobia, de la Ciudad de México y dos profundidades de suelos de Xochimilco, iii) 20-30 cm y iv) 30- 40 cm
- Se empleó tezontle comercial para la fijación de la película de las bacterias.
- Se acondicionó en el laboratorio una zeolita natural comercial marca Zeolitech.
- Se realizó un análisis de factibilidad económica de los procesos de remoción de nitrato planteados a nivel de laboratorio.

#### **1.5 Estructura del trabajo**

El trabajo inicia en una sección de antecedentes con una revisión de conceptos tal como el ciclo del nitrógeno, algunos casos de contaminación por nitratos en México y el efecto en la salud ocasionado por la ingesta de agua contaminada con nitrato. Se mencionan las principales tecnologías para la remoción de nitrato en agua y en detalle la técnica *in situ* llamada barreras reactivas tanto en la remoción biológica como en la remoción físico-química de nitratos en agua subterránea.

En el capítulo 3 se detalla la metodología para el diseño y desarrollo paralelo de las barreras reactivas biológica y de intercambio iónico. En el capítulo 4 se muestran los resultados y discusión. En el capítulo 5 se presentan conclusiones y en el capítulo 6 las recomendaciones del trabajo de investigación. En el capítulo 7 se detallan las referencias bibliográficas. En los anexos se incluye junto la descripción de las metodologías para la determinación de las formas de nitrógeno así como la determinación del coeficiente de uniformidad de la arena y los difractogramas de la zeolita natural, la zeolita natural acondicionada y la del proceso posterior a la remoción.

## 2. ANTECEDENTES

En este capítulo se describe el origen de los nitratos en el agua subterránea y algunos casos de contaminación por nitratos en acuíferos de México, así mismo se describe los procesos comunes para la remoción de este anión, destacando la aplicación de las barreras reactivas con una técnica *in situ*.

### 2.1 Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno (N), el carbono (C), hidrógeno (H), fósforo (P), oxígeno (O) y el azufre (S) son necesarios para los organismos vivos. El nitrógeno es un elemento necesario para la formación de las cadenas de ácidos nucleicos (ADN y ARN), nucleótidos como el ATP, proteínas y enzimas. La forma química más abundante se presenta como nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) cuyo triple enlace es tan fuerte que no se encuentra disponible para la mayoría de los organismos, haciendo que sea un nutriente limitante (Denk *et al.*, 2017).

El nitrógeno ( $N_2$ ) es el elemento más abundante de la atmósfera, hidrósfera y biosfera, con una cantidad aproximadamente de  $4 \times 10^{21}$ g, no obstante solo está disponible para el 1% de los organismos debido a la dificultad para romper los enlaces que une al  $N_2$ , por lo que muy pocos organismos pueden realizar la fijación biológica (Galloway *et al.*, 2003).

La fijación biológica del nitrógeno se lleva a cabo por un grupo especializado de procariontas como cianobacterias y bacterias libres del suelo como *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, estas utilizan la enzima nitrogenasa para catalizar la conversión del  $N_2$  en amoníaco ( $NH_3$ ), forma en que las plantas lo asimilan con mayor facilidad (Wagner, 2011).

El grupo de bacterias *Rhizobium* es de importancia por la relación simbiótica mutualista que permite la formación de nódulos en las raíces de plantas leguminosas. En esta, las bacterias reciben energía en forma de fotosintatos, y mediante condiciones de oxidación-reducción (redox) adecuadas, fijan el nitrógeno atmosférico en formas disponibles para las plantas (Van Ham *et al.*, 2016). Se

estima que la fijación anual es de  $18,5 \times 10^{12}$  g a nivel global para leguminosas oleaginosas como la soya (*Glycine max*) (Herridge *et al.*, 2008).

Una vez fijado el nitrógeno e involucrado en la cadena trófica, este se transforma en biomasa vegetal o microbiana (por el proceso de inmovilización) que, posteriormente forma parte de la materia orgánica del suelo, después de la senescencia y descomposición microbiana. Los microorganismos involucrados se encuentran en el proceso llamado mineralización, que representa la descomposición de moléculas de materia orgánica complejas en compuestos monoméricos de nitrógeno orgánico (despolimerización) (Denk *et al.*, 2017), para la posterior liberación de compuestos como amoníaco ( $NH_3$ ), amonio ( $NH_4^+$ ) en su mayor parte y nitrato ( $NO_3^-$ ) (Jaramillo, 2002).

Además del aporte del ion amonio y nitrato por mineralización de la materia orgánica, se presenta el proceso de amonificación, que consiste en una serie de reacciones químicas en las que los grupos amino ( $NH_2$ ) asociados con las formas orgánicas de nitrógeno se convierten en amoníaco o amonio (Strock, 2008).

Bajo condiciones de inundación, anegamiento de suelos o tratamiento anaerobio de aguas residuales, se favorecen los microorganismos anaerobios facultativos, consecuentemente aumentando el procesos de amonificación, en el cual el amoníaco y amonio, son retenidos en el suelo (Figueiredo *et al.*, 2015), principalmente por arcillas de la familia 2:1 (illita, vermiculita, esméctica y montmorillonita), por una sustitución isomorfa de aluminio ( $Al_3^+$ ) por silicio ( $Si_4^+$ ) forma una carga superficial negativa sobre la arcilla en la cual se inmoviliza el  $NH_4^+$  (Liu *et al.*, 2008).

El amonio puede ser oxidado de manera biológica con una formación intermedia de nitrito ( $NO_2^-$ ) hasta la formación del nitrato ( $NO_3^-$ ), en un proceso llamado nitrificación. Ocurre una serie de reacciones oxidativas llevadas a cabo por dos grupos de microorganismos, los oxidantes desde el amonio y los que oxidan desde el nitrito (Wang *et al.*, 2008).

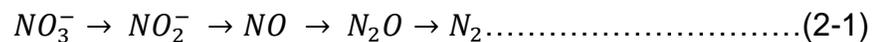
Los microorganismos asociados con la nitrificación pertenecen a un grupo llamado quimiolitotróficos (quimiototróficos autotróficos) que oxidan compuestos inorgánicos reducidos, como las moléculas de nitrógeno o azufre, para derivar energía y electrones para la biosíntesis. Posteriormente fijan el dióxido de carbono como su fuente de carbono a través de un metabolismo llamado el ciclo de Calvin (Wang *et al.*, 2008).

Durante la nitrificación del  $N_2O$  se forma como un proceso químico, por oxidación de una especie intermedia llamada hidroxilamina ( $NH_2OH$ ); en cuanto a la reducción escalonada realizada por enzimas en el cual se puede formar  $N_2O$  como producto intermedio el cual puede escapar a la atmósfera (van Groenigen *et al.*, 2015).

En la oxidación hasta nitrito participan los organismos oxidantes del amonio (llamados AOB) como los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*. En cuanto al paso entre  $NO_2^-$  a  $NO_3^-$  principalmente se realiza por las bacterias del género *Nitrobacter*, todos los géneros presentes en el suelo (Teshamariam *et al.*, 2014).

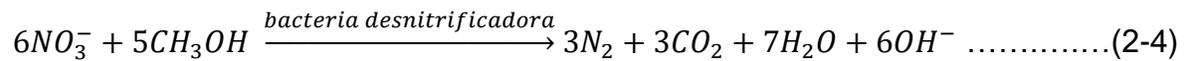
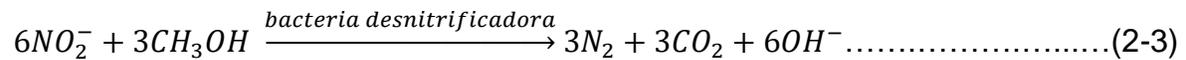
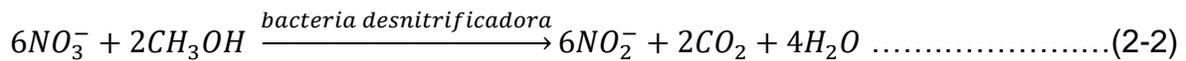
Las moléculas de nitrato por la carga negativa se repelen y no se adhieren fácilmente en el suelo por lo que son susceptibles a lixiviarse. En condiciones anaerobias que coincide con sitios que presentan drenaje inadecuado, se propicia el proceso de desnitrificación (Subbarao *et al.*, 2013).

La desnitrificación es un proceso metabólico donde el nitrato es el aceptor terminal de electrones en ausencia de oxígeno, en los que los óxidos de nitrógeno como el nitrato y nitrito ( $NO_3^-$  y  $NO_2^-$ ) son reducidos a óxido nítrico ( $NO$ ) y óxido nitroso ( $N_2O$ ) hasta nitrógeno molecular ( $N_2$ ), (Knowles, 1982) como se observa en la ecuación 2-1.



Aunque hay cuatro pasos bioquímicos involucrados en la desnitrificación (ecuación 2-1), solo hay dos pasos de producción de energía. Estas reacciones son la reducción del nitrato a nitrito (ecuación 2-2) y la reducción del nitrito a nitrógeno

molecular (ecuación 2-3). Estas dos reacciones se pueden combinar y presentar como una reacción de rendimiento energético global, como se observa en la ecuación número 2-4. Los principales géneros que contienen más géneros de bacterias desnitrificadoras son el *Alcalingens* sp, *Bacillus* spp y *Pseudomonas* sp.



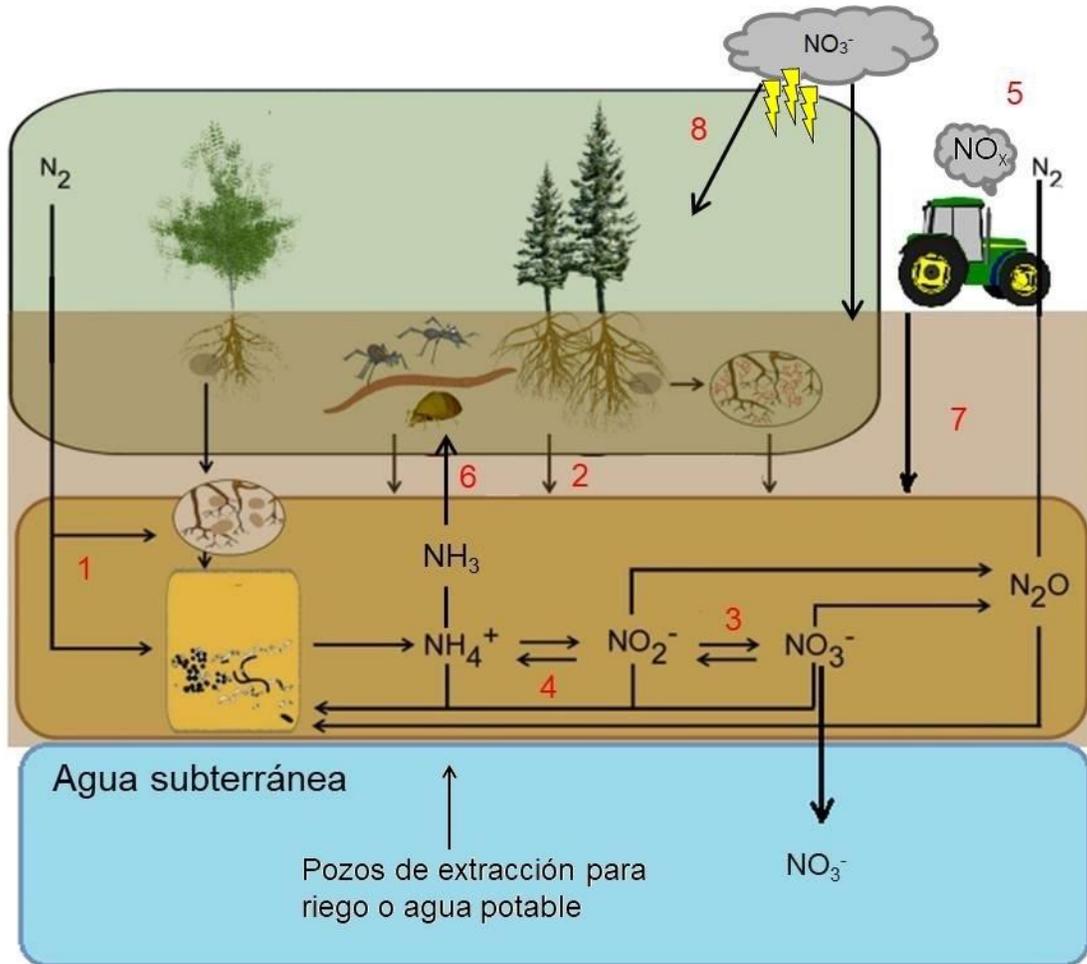
En la desnitrificación biológica se pueden encontrar dos formas diferentes de reducir el nitrato. La reducción disimilatoria se realiza en ausencia de oxígeno molecular, las bacterias anaerobias facultativas eliminan el nitrato de la solución para oxidar el carbono orgánico soluble, el nitrógeno no se incorpora al nuevo material celular, este sale de las células como nitrógeno molecular y óxido nitroso (Gerardi, 2006).

La segunda forma de reducción, es a través de la reducción asimilatoria del nitrato, pues en ausencia de amonio (no así de oxígeno), las bacterias toman del ( $NO_3^-$ ) el nitrógeno para utilizarlo como nutriente, siendo incorporado al nuevo material celular, en este proceso no se libera nitrógeno molecular (Gerardi, 2006).

Los desnitrificadores son en su mayoría heterotrofos anaerobios facultativos, por tanto, requieren de la oxidación de compuestos orgánicos como fuente de energía. Aunque algunas bacterias son autótrofas, ya que obtienen su energía de la oxidación de especies inorgánicas, favorecidas por la ausencia de oxígeno y la presencia de azufre reducido o hierro (Rivett *et al.*, 2008).

Existen fuentes adicionales que contribuyen con la presencia del nitrógeno, como por ejemplo la fertilización con urea ( $CO(NO_2^-)_2$ ) la cual se hidroliza con el agua para formar amonio el cual posteriormente se disocia en amoniaco, para después volatilizarlo a  $NH_{3(g)}$  (Raymond *et al.*, 2016), o bien se puede oxidar en el suelo

hasta nitritos o nitratos. En la Figura número 2-1, se puede observar un diagrama del ciclo del nitrógeno.



**Figura 2-1. Ciclo del nitrógeno**

Tomado y modificado de Van Groenigen *et al.*, 2015

1- Fijación biológica del N. 2- Mineralización. 3- Nitrificación 4- Desnitrificación. 5- Emisiones por combustión de combustibles fósiles. 6- Hidrólisis y disociación de la urea. 7- Nitrificación por descarga de agua residual sin tratamiento. 8- Depositiones.

El uso de combustibles fósiles contribuyen con las emisiones de gases de efecto invernadero incluyendo los óxidos de nitrógenos principalmente  $NO$  y  $N_2O$  (Rent *et al.*, 2017), los cuales son precursores del ozono que reacciona con el  $NO$  teniendo como producto la formación de  $N_2O$  y  $O_3$  (Reyes 2007).

Según el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, 2007), en año 2005 la concentración del  $N_2O$  en la atmósfera es de  $319 \pm 0.12$  ppb con una variación de  $\pm 5$  ppb presentada desde el año de 1998. Una vez que las especies reactivas de nitrógeno son liberados a la atmósfera ( $NH_3$  y  $NO_x$ ) pueden llevarse a cabo procesos como la transformación, transporte y deposición, tanto de manera seca como húmeda (Singh *et al.*, 2017). Dicha deposición se compone de  $HNO_3$  (ácido nítrico) principalmente (Hsu *et al.*, 2016).

## **2.2 Problema de contaminación por nitrógeno**

Los nutrientes como el nitrógeno son esenciales para el crecimiento de los organismos, se puede considerar como un contaminante cuando las concentraciones de éstos ocasionan un crecimiento excesivo de plantas y otros organismos en cuerpos de agua (Master y Ela, 2008).

Aunque los compuestos nitrogenados se producen de manera natural y pueden afectar negativamente los sistemas acuáticos, los compuestos de origen químico y antropogénico impactan con mayor frecuencia a cuerpos de agua (Schweitzer y Noblet, 2017)

Una de las principales causas de origen antropogénico son las descargas de sistemas de alcantarillado de aguas y lodos sin tratamiento, pues depositan residuos los cuales se descomponen en el agua e incrementa la concentración de formas nitrogenadas como amonio y nitrato, entre nutrientes (Debela *et al.*, 2016).

El proceso en el cual un sistema acuático se enriquece con nutrientes se denomina eutrofización. Lo cual implica un incremento de la tasa fotosintética del ecosistema incremento el contenido de algas y por lo tanto de turbiedad del agua, las cuales al morir se descomponen en condiciones anóxicas en partes más profundas del cuerpo de agua (Bhagowati y Ahamad, 2016). Existe un riesgo para la salud de animales y humanos al potabilizar un cuerpo de agua que se encuentre eutrofizado, pues en el proceso de cloración se pueden formar subproductos como cloraminas, que resultan cancerígenas (Rashid *et al.*, 2015).

El impacto de la eutrofización en cuerpos de agua es a nivel global, por ejemplo se registra en la parte norte del Mar de Caspio, debido a actividades agrícolas e industriales afectando una zona con problemas geopolíticos (Lomsadze *et al.*, 2017). En Australia, la eutrofización afectó hasta 1000 km de la cuenca más grande dentro de su territorio; creando condiciones para la proliferación de cianobacterias tóxicas, que afectaron la salud de los seres humanos y el ganado (Bowling *et al.*, 2013).

La eutrofización en el río Potomac, en la costa Atlántica de los Estados Unidos, inicio desde finales del siglo XVII como resultado de una creciente carga derivado de la deforestación (Kirby y Miller, 2005). Este río es de importancia como fuente de agua para consumo y receptor de descargas de agua residual tratada (Callender y Hammond, 1982).

En México, los cuerpos de agua de Xochimilco; Embalse Valle del Bravo y Laguna Zumpango presentaron problemas de eutrofización en su mayoría por descargar de agua residual sin tratar así como un efecto de la agricultura (Lozano, 2009).

### **2.3 Algunos casos de contaminación por nitratos en agua subterránea en México**

Además del impacto del nitrato ( $NO_3^-$ ) en cuerpos de agua superficiales, este ion es uno de los principales contribuyentes de la contaminación del agua subterránea, convirtiéndose en un problema ambiental principalmente en países con economías emergentes (Zhang *et al.*, 2015). En el caso de México los primeros reportes de niveles elevados de  $NO_3^-$  en agua subterránea se presentaron en la Península de Yucatán en 1974 (Steinich *et al.*, 1998).

Pacheco y Cabrera (1997), analizaron muestras tomadas entre 1983 y 1986 en la misma región donde un 56% de las muestras mostraron concentraciones superiores a 45 [ $mg/L$ ], atribuyendo la contaminación por la formación geológica de roca caliza, la cual permite una alta filtración por la fisuras, debido a descargas de agua residual sin tratar.

Entre 1992 y 1993 en la península de Yucatán, se analizaron las variaciones temporales en el agua subterránea, donde se han reportan concentraciones hasta de 156  $mg/L$  de nitrato; en este caso es atribuido al uso de fertilizantes nitrogenados y a la agricultura intensiva (Pacheco *et al.*, 2001).

Aranda *et al.*, (2011) menciona que las fuentes de contaminación con nitrato en la península se deben en un 4% por deposiciones atmosféricas, 60% por ganadería, 34% por agricultura y un 2% de causa antropogénica tanto por descargas de agua doméstica e industrial; quedando latente el impacto que podría generar el sector turismo.

En otras zonas del país como el valle de Hermosillo del Estado de Sonora, Steinich *et al.*, (1998) menciona que la sobreexplotación de las aguas subterráneas en áreas agrícolas incrementó las concentraciones de  $NO_3^-$  por abatimiento del acuífero, de igual manera Daesslé *et al.*, (2009) atribuye la misma causa en Baja California.

Mientras tanto Downs *et al.*, (1999) reporta algunos sitios del valle del Mezquital con concentraciones de nitrato entre 47 a 69 [ $mg/L$ ], causado por el uso excesivo del agua residual sin tratamiento y de fertilizantes nitrogenados y Pastén *et al.*, (2014) reporta valores máximo de 49.7 [ $mg/L$ ] en Nuevo León concluyendo que existe una creciente tendencia a la contaminación por  $NO_3^-$ , debido que no existe un tratamiento de aguas residuales y que en periodo de verano disminuye la desnitrificación natural.

### **2.3.1 Efectos del nitrato en la salud**

El principal problema con los nitratos en el agua es el desarrollo de la metahemoglobina, al ser ingerido el nitrato la actividad bacteriana en la superficie de la lengua y la saliva, hace que se convierta el nitrato a nitrito (OMS, 2006), produciendo una oxidación del hierro de la hemoglobina y transformando en metahemoglobina, en la cual no hay una adecuada unión del oxígeno (Martínez de Zabarte *et al.*, 2017).

La baja capacidad enzimática de niños menores a 1 año de edad, hace que el nitrato entre al estómago, donde no ocurre una reducción bacteriana; con excepción a personas que presenten una baja acidez gástrica, como los menores a 3 meses, en los cuales el nitrato es fácilmente absorbido por intestino delgado superior, (OMS, 2011).

Los casos de metahemoglobinemia en niños mayores a tres meses y en adultos, se han reportado principalmente por consumo de nitrato por accidente; en grupos de riesgo por problemas gástricos y ligados a aditivos en alimento (FAO y WHO, 1996). Además se han reportado intoxicaciones en menores de 1 año debido al consumo de vegetales con altos contenidos de nitratos (Martínez de Zaberte *et al.*, 2017).

La existencia de co-factores (genéticos y el efecto de algunos medicamentos) hace que haya una limitante de datos en cuanto a la relación de la población expuesta y la tasa de la enfermedad; aunque existen numerosos reportes de sitios contaminados con más de 50 [mg/L] de nitrato, paralelamente no se reporta una alta incidencias del padecimiento (Fewtrell, 2004).

Los primeros reportes sobre la incidencia de la exposición a altas concentraciones de nitratos en agua se hicieron en Europa desde 1933; y para 1970, la Organización Mundial de la Salud estableció los primeros límites de concentración de nitratos en agua (Hill, 1999). No obstante, desde 1968 se reportó como enfermedad recurrente en Hungría.

Entre 1968 y 1975 se reportaron 1073 casos en menores de 3 meses, con una tasa de mortalidad del 3.2%. Los casos continuaron en ascenso y entre 1976 y 1982 se reportaron 1353 incluyendo 21 fallecidos. Todos los casos se presentaron en zonas rurales, cuyo suministro de agua potable provinieron de pozos poco profundos. A partir de 1979 debido a las medidas tomadas en ese país, los casos disminuyeron y para 1982 solo se presentaron 96 casos (OMS, 1985).

Otra región afectada fue el Principado de Transilvania en Rumania. A partir de registros médicos se determinó que el agua de pozo correspondía a la fuente

principal de nitrato para la inducción de metahemoglobinemia infantil. Los casos se presentaron después de la lactancia cuando los niños consumieron agua contaminada con nitrato, al utilizar esta para la fórmula de mezcla. La edad promedio de los lactantes fue de 39 días (Ayebo *et al.*, 1997).

Las tasas de incidencia promedio de metahemoglobinemia en los condados oscilaron entre 24 y 363 por cada 100,000 nacidos vivos durante un período de cinco años (1990-1994). Durante el periodo de evaluación no se reportaron fallecidos y la causa de la presencia del nitrato en el agua se atribuyó al uso de fertilizantes químicos en la región (Ayebo *et al.*, 1997).

Otros casos reportados en Europa con menor incidencia correspondieron a 30 casos en Reino Unido en 1976, con 1 fallecido. Como causa se menciona, que se produjo por consumo de agua subterránea durante un periodo de sequía. Se reportaron casos ocasionales en Suiza, Dinamarca y Holanda, sin fatalidades y como consecuencia de toma de agua de pozos privados (OMS, 1985) y en España por una combinación de factores como la reconstitución de fórmulas infantiles con agua restante de la cocción de vegetales (Vitoria, 2004).

En el caso de Latinoamérica se reportan sitios en Brasil (Fernícola y Azevedo, 1981), Argentina (Rodríguez *et al.*, 2012), México (Downs *et al.*, 1999) y Costa Rica (A y A, 2015) con altas concentraciones de nitrato en el agua, aunque no se reportan casos de metahemoglobinemia.

En el caso de Cuba en las provincias de Camagüey, Tunas y Cienfuegos las concentraciones de nitratos han incrementado los porcentajes de metahemoglobina en la sangre de los grupos vulnerables, sin embargo no se han detectado cianosis en lactantes (Larios, 2009). Cabe mencionar que la normativa en México, únicamente la NOM-127-SSA1-1994 incluye parámetros para los límites máximos permisibles en el agua de consumo humano para nitrato y otras formas nitrogenadas.

A nivel internacional, la OMS presenta una norma específica para la concentración de nitrato en agua de consumo humana (OMS, 2011). Los parámetros de dichas normas se pueden observar en la Tabla número 2-1.

**Tabla 2-1. Límites máximos permisibles de formas nitrogenadas en agua potable**

| Norma  | Objetivo   | Límite máximo permisible |   |                        |
|--|--|--------------------------|---|------------------------|
|  |  |                          |   |                        |
| NOM- 127<br>SSA1- 1994   | Agua para uso y consumo humano.<br>Límites permisibles de calidad y<br>tratamientos que debe someterse el<br>agua para su potabilización | $N - NO_3^-$             | 10 [mg/L]                               | 45 [mg/L]<br>$NO_3^-$  |
|  |  | $N - NO_2^-$             | 0.05<br>[mg/L]                          | 0.2 [mg/L]<br>$NO_2^-$ |
|  |  | $N - NH_4^+$             | 0.50<br>[mg/L]                          | 1 [mg/L]<br>$NH_4^+$   |
| Nitrato y<br>nitrito en<br>agua de<br>consumo<br>humano,<br>OMS (2011) | Documento de referencia para la<br>elaboración de las Guías de la OMS<br>para la calidad del agua potable                                | $NO_3^-$                 | 50 [mg/L] (exposición a<br>corto plazo) |                        |
|  |  | $NO_2^-$                 | 3 [mg/L] (exposición a<br>corto plazo)  |                        |
|  |  | $NO_2^-$                 | 0.2 [mg/L] (exposición<br>prolongada)   |                        |

Las normas NOM-001-SEMARNAT -1996 y NOM-015-CONAGUA -2007 contempla límites máximos permisibles de manera general para formas nitrogenadas como se pueden apreciar en la Tabla 2-2, tanto como para la descarga de aguas residuales en aguas y bienes nacionales y en la infiltración artificial de agua a los acuíferos .

En tanto la NOM-002-SEMARNAT-1996, NOM-003-SEMARNAT-1997 y la NOM-004-SEMARNAT-2002; no contempla la concentración de formas nitrogenadas tanto en agua residual para descarga en alcantarillado municipal y uso público, ni la concentración que se pueda descargar o disponer (en el caso de los biosólidos) sobre un suelo.

**Tabla 2-2. Límites máximos permisibles de formas nitrogenadas en aguas residuales establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996**

| Norma                 | Objetivo  | Límite máximo permisible          |   |
|-----------------------|---|-----------------------------------|---|
|                       |   | Nitrógeno total [mg/L]            |   |
| NOM-001-SEMARNAT-1996 | Límites máximos permisible de contaminantes en descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales   | Ríos                              | Riego agrícola<br>PD: 40 y PM: 60           |
|                       |   |                                   | Uso público urbano<br>PD: 20 y PM: 30       |
|                       |   |                                   | Protección vida acuática<br>PD: 15 y PM: 25 |
|                       |   | Embalses naturales o artificiales | Riego agrícola<br>PD: 40 y PM: 60           |
|                       |   |                                   | Uso público urbano<br>PD: 15 y PM: 25       |
|                       |   | Aguas Costeras                    | Estuarios<br>PD: 15 y PM: 25                |
| Suelos y Humedales    | No aplica LMP en la norma   |                                   |   |
| NOM-015-CONAGUA-2007  | Infiltración artificial de agua a los acuíferos. Caracterización y especificaciones de las obras y del agua | Acuífero                          | Infiltración<br>Cantidad total: 40          |

Promedio diario (PD): es el valor que resulta del análisis de una muestra compuesta. Promedio mensual (PM): Es el valor que resulte de calcular el promedio ponderado en función del caudal de los valores que resulten del análisis de al menos dos muestras compuestas (PD) NOM-001-SEMARNAT-1996.

#### 2.4 Procesos para la remoción de nitratos

Las principales técnicas para la remoción de nitratos en agua son intercambio iónico, tratamiento biológico y el uso de membranas (OMS, 2006); La ósmosis inversa, ultra-micro y nanofiltración, inicialmente fueron utilizadas en aplicaciones industriales y médicas, aunque actualmente se aplican en el tratamiento de agua de consumo (Martínez *et al.*, 2017).

Los tratamientos biológicos se utilizan bacterias desnitrificantes, las cuales requieren del nutrientes como el fósforo, azufre, calcio, magnesio y micronutrientes como el boro, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc y cobalto (Rivett, 2008), así como una fuente de carbono adicional como sacarosa, etanol y metanol (Gómez *et al.* 2000).

Los procesos como la ósmosis inversa consiste en la separación mediante una membrana semipermeable y presentan la ventaja de recuperar una mayor cantidad de agua, a una menor demanda química sin ser selectivas para un ion, con la ventaja de requerir un menor tiempo en operación que los procesos biológicos (Kikhavani *et al.*, 2014).

La remoción electroquímica se ha probado en el tratamiento de aguas residuales, aunque presentan problemas en la formación de compuestos tóxicos como el  $NO_2^-$  y  $NH_3$ , debido a su baja tasa de reducción (Polatides *et al.*, 2005). En la Tabla 2-3, se puede observar una comparación entre algunas diferentes técnicas para la remoción de nitrato en agua.

En cuanto al intercambio iónico (II), consiste en el intercambio de iones con la misma carga, que en el caso de la remoción de nitratos, es un proceso selectivo y relativamente de bajo costo. Algunos iones como el sulfato pueden competir por el sitio de intercambio, además de generar una salmuera concentrada de difícil tratamiento (Primo *et al.*, 2009).

El II como proceso de remoción de nitratos, implica el paso de agua cargada de este nutriente a través de un lecho que contiene resinas de intercambio aniónico, principalmente de base de cloruros ( $Cl^-$ ) y oxidrilos ( $OH^-$ ); sobre las cuales se intercambian hasta que se agota la capacidad de intercambio de la resina (Samatya *et al.*, 2006).

**Tabla 2-3. Comparación técnica de algunos procesos de remoción de nitratos en agua**

| Proceso            | Aspectos a considerar  | Eficiencia de remoción   |
|--------------------|--|--|
| Intercambio iónico | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Requiere manejo de la salmuera generada</li> <li>• Costos de operación medios</li> <li>• Temperatura y pH media no afecta el proceso</li> </ul>   | Al utilizar la resina Pureolite A520 E se obtuvo un %ER del 90% con una Cf de $10 [mg/L] NO_3^-$                                 |
| Ósmosis Inversa    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Requiere manejo de la salmuera generada</li> <li>• Los efectos de pH y temperatura no son importantes</li> <li>• Puede alcanzar hasta un 95% de eficiencia</li> <li>• Costos de operación alto</li> </ul>                                 | A través de una membrana modelo 4040-LHA-CPA2 se alcanzó una eficiencia de remoción del 95%, para una Cf de $2.15 [mg/L] NO_3^-$ |
| Adsorción          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Requiere manejo de la salmuera generada</li> <li>• El pH y la temperatura afecta</li> <li>• El agua no requiere de un post-tratamiento</li> <li>• La eficiencia varía según el adsorbente</li> <li>• Costos de operación medio</li> </ul> | El %ER en una arcilla del tipo montmorillonita fue del 22,28%, con una concentración final de $31.8 [mg/L] NO_3^-$               |
| Reducción química  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• No requiere de la eliminación de residuos</li> <li>• El pH y la temperatura afecta</li> <li>• El agua tratada requiere de un proceso para eliminar subproductos</li> <li>• Costos de operación son altos</li> </ul>                       | $Fe^0$ el %ER fue de 60%, con una Cf de $43.59 [mg/L] NO_3^-$  |
| Biológico          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Producción de residuos de biomasa</li> <li>• El pH y la temperatura influye</li> <li>• El agua tratada requiere eliminación de microorganismos</li> <li>• Eficiencia hasta del 99%</li> <li>• Costo de operación medio</li> </ul>         | Basado en un proceso al suministrar metanol como fuente de carbono, para un concentración final de $1 [mg/L] NO_3^-$             |

Tomado y modificado de Bhatnagar y Sillanpää (2011)

Las resinas de intercambio, tienen una capacidad de intercambio específica, por lo se deben de considerar se aspectos como la regeneración, y aspectos técnico-económicos. Además el consumo de agua para el lavado posterior a la regeneración (Ramalho, 1996) y la eficiencia de remoción varía entre 80 y 95% (OMS, 2006), (Samatya *et al.*, 2006) y (Bhatnagar y Sillanpää, 2011). En la Tabla 2-4 se pueden observar algunos modelos de resinas comerciales para la remoción de aniones en agua.

**Tabla 2-4. Capacidad de intercambio aniónico de diferentes resinas para la remoción de nitratos en agua**

| Nombre comercial  | Base   | Total de Capacidad [meq/mL] |
|-------------------|--------|-----------------------------|
| Amberlite IRA 410 | $Cl^-$ | 1.25                        |
| Amberlite IRA 401 | $OH^-$ | 0.80                        |
| Amberlite IRA 402 | $OH^-$ | 0.95                        |
| Purolite A520 E   | $Cl^-$ | 0.90                        |
| Purolite A300 E   | $Cl^-$ | 1.40                        |
| SIR-100 HP        | $Cl^-$ | 0.90                        |
| SIR-110 HP        | $Cl^-$ | 0.70                        |
| SBG1-HP           | $OH^-$ | 1.20                        |
| SBG2-HP           | $Cl^-$ | 1.40                        |

Tomado y modificado de Korkisch, J. (1988), Lenntech (2018) y ResinTech (2018).

La estructura de una resina se conforma de cadenas hidrocarbonadas a las que se unen de forma rígida grupos iónicos libres; unidos transversalmente formando una matriz tridimensional que proporcionan rigidez a la resina y por su grado de entrecruzamiento determina una estructura porosa. Las cargas de los grupos iónicos inmóviles se equilibran con iones de carga opuesta que se encuentran libres y son con los que se llevan a cabo los intercambios (Hernández, 2013).

Las resinas de intercambio poseen características como hidrofiliidad, estabilidad química y física, velocidad relativamente alta de intercambio iónico, alta capacidad de intercambio iónico, tamaño de partícula, superficie efectiva para su aplicación y viabilidad económica (Levchuk *et al.*, 2018). Se ha demostrado que la resina específica de nitrato tiene afinidad por los siguientes iones en orden decreciente  $NO_3^- > SO_4^{2-} > Cl^- > HCO_3^-$  (Samatya *et al.*, 2006).

La eliminación de nitratos con resinas basadas en cloruro causa un incremento de la cantidad de este ion en el agua, el cual puede representar un problema. Dicho problema se puede solucionar al utilizar resinas basadas en formas de bicarbonato, aunque estas tienen una menor capacidad de intercambio.

Otra ventaja de utilizar intercambiadores basados en  $OH^-$  son los que han mostrado más eficiencia en experimentos con altas concentraciones de nitratos (Matošić *et al.*, 2000).

El intercambio es el método más común para tratar las fuentes de agua potable contaminadas con nitratos, pero producen subproductos denominados salmuera durante la regeneración de la resina, produciendo un costo e impacto ambiental (Bergquist *et al.*, 2016).

## **2.5 Barreras reactivas permeables**

Las barreras reactivas permeables (BRP) se consideran como un sistema emergente para la atenuación de agua subterránea contaminada (Gavaskar, 1999). Estos sistemas iniciaron en los años noventa como una tecnología *in situ* alternativa al sistema tradicional que es "bombeo y tratamiento" (pumping and treatment) Obiri *et al.*, (2014).

Dicha tecnología inició para tratar aguas subterráneas contaminadas por drenajes ácidos de minas y con componentes inorgánicos disueltos incluyendo sulfatos, arsénico, selenio, cromo, tecnecio, molibdeno y antimonio (Blowes *et al.*, 2000). Posteriormente, se han utilizado para remediar aguas con altas concentraciones de hierro y manganeso (Wang *et al.*, 2016), además de compuestos orgánicos como BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) (Yen *et al.*, 2010) entre otros.

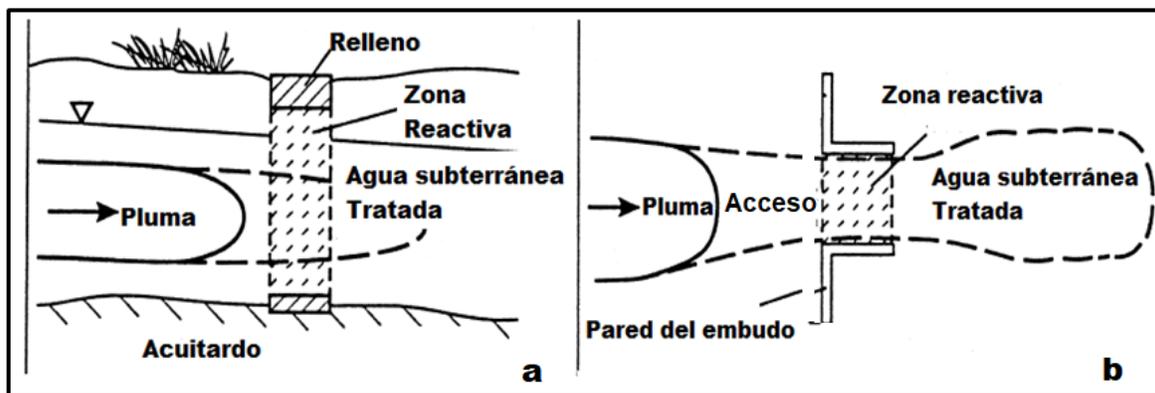
Los sistemas de BRP se construyen perpendicularmente al flujo de agua subterránea y por debajo de la capa freática para que el gradiente hidráulico natural transporte el contaminante a través de los medios reactivos. En el se promueven reacciones geoquímicas que generan destrucción o estabilización de los contaminantes a medida que el agua fluye a través del material (Araújo *et al.*, 2016).

La eliminación de contaminantes en las BPR se produce en la zona donde se encuentra el medio reactivo. Algunos de los medios reactivos eliminan los contaminantes a través del contacto físico, mientras que otros actúan alterando los

procesos biogeoquímicos en la zona de tratamiento; proporcionando así condiciones que conducen a la inmovilización, precipitación, desnitrificación o a la biodegradación (Obiri *et al.*, 2014).

Para la aplicación del sistema de BRP se deben considerar características como la profundidad y las dimensiones de la pluma y del acuífero, la permeabilidad, las variaciones estacionales, así como las propiedades del contaminante que se requiere tratar; como el pH, Eh, concentración de oxígeno disuelto, alcalinidad así como la concentración de  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $NO_3^-$  y  $SO_4^-$  (Gavaskar, 1999).

Los esquemas de construcción utilizados con mayor frecuencia corresponden a BRP en continuo o en embudo. El sistema en continuo consiste en una única zona reactiva instalada a través de la pluma; mientras que el sistema en embudo corresponde a la zona reactiva colocada entre dos paredes impermeables que dirigen la pluma hacia la barrera. Ambos sistemas se pueden observar en la Figura número 2-2. El rendimiento de un sistema BPR, está influenciado por la conductividad hidráulica de los medios reactivos, su estabilidad mecánica y características de sorción, la susceptibilidad a la obstrucción a largo plazo, la densidad aparente y la porosidad de los medios reactivos, así como la vida útil de los materiales (Araújo *et al.*, 2016).



**Figura 2-2. Configuración de barreras reactivas permeables para el tratamiento de aguas subterráneas. a- Sistema continuo. b- Sistema en embudo**

Tomado y modificado de Gavaskar, 1999

### 2.5.1 Barreras permeables para la remoción biológica de nitrato

Los procesos biológicos afectan numerosos ciclos de elementos como el hierro, azufre y el nitrógeno, por lo que se ha propuesto como una estrategia en el tratamiento para el control de contaminantes en agua (Powell *et al.*, 1998). En el caso de la remoción de nitratos se utiliza el proceso llamado de desnitrificación biológica, el cual se realiza mediante microorganismos que utilizan el  $NO_3^-$  como aceptor terminal de electrones, y de sustancias orgánicas como fuente de energía para sostener el crecimiento de la biomasa (Wang y Chu, 2016).

En el proceso de desnitrificación ocurre una reducción del  $NO_3^-$  a  $NO_2^-$  y posteriormente a compuestos de nitrógeno en estado gaseoso como el óxido nítrico ( $NO$ ), nitroso ( $N_2O$ ) y nitrógeno molecular ( $N_2$ ) (Claros, 2012).

Los microorganismos desnitrificadores se clasifican principalmente en dos grupos, los heterótrofos que corresponden a organismos que requieren sustratos orgánicos para obtener el carbono tanto de materia orgánica como de hidratos de carbono como metanol ( $CH_4O$ ), etanol ( $C_2H_5OH$ ), ácido acético ( $CH_2COOH$ ) y glucosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) (Wang y Chu, 2016); mientras que los organismos autótrofos utilizan sustancias inorgánicas como fuente de energía y de  $CO_2$  como fuente de carbono (Ghafari *et al.*, 2008).

Las barreras reactivas biológicas tienen como objetivo el desarrollo de una película en la cual ocurra una inmovilización biológica del nitrógeno (Jamali *et al.*, 2017). Sin embargo el crecimiento y la reproducción de las bacterias dependen de sustratos y de la formación inicial de una biopelícula que requiere de un tiempo prolongado e incluso sustratos adicionales (Feng *et al.*, 2017).

Los sustratos más comunes corresponden a aquellos donde exista un aporte de carbono orgánico para los microorganismos. Gilbert *et al.*, (2008) determinó hasta un 98% de remoción de  $NO_3^-$  utilizando madera blanda, madera dura y una mezcla de ambas así como un material composteado y hojas de coníferas.

Ejemplos de materiales inorgánicos como barrera reactiva son rocas calizas y hormigón triturado, mientras que materiales orgánicos reportados, son residuos de la planta de algodón, mantillo y turba de sphagnum (*Sphagnum* spp) (Su y Puls, 2007), para las cuales se deben de considerar parámetros como el pH, temperatura, oxígeno así como nutrientes (Pagnanelli *et al.*, 2009).

### 2.5.1.1 Efecto del pH en la desnitrificación

En el caso de los microorganismos desnitrificadores heterótrofos, el pH influye en el proceso de aclimatación al medio, así como la posible formación de compuestos intermedios de nitrógeno como óxido nítrico; en condiciones ácidas es posible que ocurra una inhibición del proceso, por lo que las condiciones óptimas son cercanas a un pH 7 (Rivett *et al.*, 2008). Algunos rangos mencionados en la literatura, se pueden observar en la Tabla 2-5.

En condiciones de pH menor a 5, se puede inhiben la desnitrificación produciendo formas como el óxido nítrico ( $NO$ ) (Rivett *et al.*, 2008), mientras que en condiciones de pH mayor a 7, se tienen acumular formas como óxido nitroso ( $N_2O$ ) y en  $NO_2^-$  (Lee y Rittman, 2003).

**Tabla 2-5. Rangos de pH para el proceso de desnitrificación biológica**

| Rango pH  | Fuente                    |
|-----------|---------------------------|
| 4.0 - 9.5 | Winkler (2008)            |
| 7.0 – 9.0 | Tang <i>et al.</i> , 2012 |
| 5.5 – 8.0 | Rust <i>et al.</i> , 2000 |
| 6.5 – 7.5 | MeltCalf y Eddy (1996)    |

### 2.5.1.2 Efecto de la temperatura en la desnitrificación

La temperatura afecta la desnitrificación ya que tiene un efecto sobre la tasa de consumo de nitrato y la tasa de crecimiento de los microorganismos, con un rango óptimo entre 20 y 35 °C. Los efectos de las temperaturas bajas ocasionan cambios fisicoquímicos en las estructuras de la membrana celular (Cervantes, 2009); además de la acumulación de estados intermedios como nitrito (Zhao *et al.*, 2018).

### **2.5.1.3 Efecto del oxígeno disuelto en la desnitrificación**

La desnitrificación es menos favorable si el sistema contiene oxígeno disuelto, ya que el oxígeno será el aceptor de electrones preferido (Rivett *et al.*, 2008). Además, el efecto competitivo del oxígeno inhibiendo la formación de la nitrato reductasa o de la óxido nitroso reductasa, lo que detiene el proceso enzimático; y da lugar a una reducción progresiva de la producción de nitrógeno molecular y la consecuente acumulación de los diferentes productos intermedios (Luo *et al.*, 2016).

### **2.5.1.4 Efecto de los nutrientes en la desnitrificación**

Las bacterias desnitrificantes requieren del carbono, fósforo, azufre así como de micronutrientes como el boro, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc y cobalto (Rivett, 2008). En ambientes de agua subterránea el nutriente limitante es el carbono orgánico (Gilbert *et al.*, 2008), pues el carbono es requerido como sustrato de donde se obtienen energía para los procesos metabólicos y de crecimiento de las bacterias (Rivett, 2008).

La importancia del carbono es su relación con el nitrógeno (*ratio* C/N). Esta relación dependerá de la fuente de carbono. Karanasios *et al.*,(2016) reporta que con azúcar comercial la condición más favorable de C/N es de 13.5; mientras Gómez *et al.*,(2000) menciona que para el etanol la relación es de 1.08 C/N y de 1.1 C/N para el metanol para la remoción del nitrato.

### **2.5.1.5 Efecto del tiempo de retención hidráulica**

Para que un sistema de biopelícula adherido inmovilice biológicamente el nitrógeno, dependerá tanto del sustrato que se esté utilizando, como de la superficie de contacto, definido por el tiempo de retención hidráulica (TRH) para la eliminación del nitrato (Feng *et al.*, 2017). La eficiencia de remoción varía según la concentración del nitrato, así como también depende del tipo de sustrato, la temperatura y la fuente de carbono, por lo que en la Tabla 2-6, se pueden observar algunos valores mencionados en la literatura, para los sistemas de

biomasa adherida considerando la concentración en  $[mg/L]$  inicial (Ci), la concentración final (Ce) y la eficiencia de remoción de iones según el caso

**Tabla 2-6. Diferentes tiempos de retención hidráulica para la desnitrificación biológica**

| TRH (horas) | Ci  | Cf   | Eficiencia de remoción | Referencia                     |
|-------------|-----|------|------------------------|--------------------------------|
| 3           | 80  | 10.4 | 87%                    | Chu y Wang (2016)              |
| 8           | 135 | 1.35 | 99%                    | Gutiérrez <i>et al.</i> , 2012 |
| 10          |     |      | 60%                    | MetCalf y Eddy (1996)          |
| 12          | 80  | 25.6 | 68%                    | Xu <i>et al.</i> , 2014        |
| 30*         | 100 | 1    | 99%                    | Mannina <i>et al.</i> , 2018   |

\* Corresponde a la fuente de N

### 2.5.2 Barreras permeables para la remoción físico-química de nitrato

En los procesos físico-químicos, el intercambio iónico es una operación en la que ocurre una transferencia de uno o más iones de una fase líquida a una fase sólida mediante un intercambio o desplazamiento de iones de la misma carga (Villicaña, 2015). Existen dos tipos básicos de intercambiadores iónicos: los catiónicos y los aniónicos; en el caso de los intercambiadores aniónicos, la separación de aniones ocurre de una solución intercambiándolos por iones oxhidrilo ( $OH^-$ ) e iones cloruro ( $Cl^-$ ) (Ramalho, 1996).

Las barreras permeables comúnmente utilizan el  $Fe^0$  como medio reactivo, pues tiene la capacidad de inmovilizar contaminantes como hidrocarburos y de precipitar ciertos aniones; no obstante, numerosos medios reactivos se han utilizado en las barreras reactivas, como es el caso de la zeolita (Powell *et al.*, 1998).

Un tipo de zeolita natural es la clinoptilolita, con una estructura formada por aluminosilicatos tridimensionales de superficie alta, se conforma por átomos de silicio y de aluminio en el centro y oxígenos en los vértices entrelazándose y originando estructuras poliédricas. El aluminio origina un exceso de la carga y puede ser compensado por un ion (Luna *et al.*, 2015).

Las zeolitas naturales también se caracterizan por la propiedad única de que la superficie interna es perfectamente accesible y puede contener más de 98% de la superficie total, en la que se pueden encontrar áreas superficiales entre 300 – 700 [ $m^2/g$ ]. Otra propiedad que presenta es la estabilidad a temperaturas menores a 700 °C y que según su relación  $Si/Al$  pueden ser hidrofóbicas o hidrofílicas (Payra y Dutta, 2003).

La zeolita natural presenta principalmente una carga negativa equilibrada por cationes electrostáticamente retenidos, por lo que se utiliza en la remoción de los mismos a través del intercambio iónico. Se ha utilizado en la remoción de aniones y en la adsorción de sustancias orgánicas (Ma *et al.*, 2018).

Una carga negativa descompensada de la estructura cristalina de la zeolita es lo que causa su baja afinidad por los aniones inorgánicos o partículas no polares. El aumento de la capacidad de intercambio aniónico se logra modificando las propiedades químicas de la superficie (Barczyk, 2014).

La capacidad de la zeolita para el intercambio iónico proviene tanto de su estructura química como de la microporosidad. La porosidad proviene de su naturaleza cristalina que asegura que las aberturas de los poros sean uniformes, formando galerías o canales interconectados de tamaños que van desde 0.20 a 0.80 nm con un volumen entre 0.1 hasta 0.35 [ $cm^3/g$ ] (Payra y Dutta, 2003).

En el proceso de intercambio iónico se espera que la reacción de la zeolita con el agua produzca un incremento del pH, esto inicialmente por el  $Na$  que puede contener o el intercambio con  $OH^-$ . Además se ha demostrado que cuando se coloca una zeolita en el agua, se produce una reacción en la superficie de los cristales que hace que se disuelva una pequeña cantidad de  $Si$  y  $Al$ . Esto puede complicar el intercambio iónico que involucra pequeñas cantidades de iones (Sherry, 2003).

Existen algunos factores que pueden afectar el proceso de intercambio iónico en la zeolita como el pH. Los valores reportados varían entre pH 5.0 a 8.0 siendo el pH 7.0 como el óptimo en una solución acuosa. A pH menores a 4.0 la estructura

de la zeolita comienza a colapsar o disolverse al reducir el pH en soluciones acuosas. En el caso del amonio un pH mayor a 7.0 puede influir en la transformación del  $NH_4^+$ , pues se convierte en amoníaco que no se puede intercambiar por el estado gaseoso en que se encuentra (Mazloomi y Jalali, 2016).

Otro factor que influye en la capacidad de intercambio iónico, es el proceso de activación de la zeolita, que consiste en la modificación de la superficie a través de diferentes sustancias y técnicas como  $NaOH$ ,  $H_2SO_4$ ,  $NaCl$  y surfactantes como el HDTMA (Liu *et al.*, 2017), PDA (Nematollahzadeh *et al.*, 2015) así como  $CaCl_2$  (Zhang *et al.*, 2011) y  $FeCl_3$  (Sun *et al.*, 2011) entre otras.

Las eficiencias de remoción varían dependiendo de la técnica y del ion que se espera remover del agua. Las eficiencias más altas se han observado al utilizar ácidos (Liu *et al.*, 2017) y surfactantes en la activación de zeolitas naturales (de Gennaro *et al.*, 2014) y (Barczyk *et al.*, 2014). No obstante se ha observado que al incrementar el pH la concentración de  $OH^-$  existe una mayor afinidad del nitrato hacia la superficie de la zeolita (Gouran *et al.*, 2018).

La temperatura, no es un factor que afecte el intercambio iónico (Bhatnagar y Sillanpää, 2011), no obstante Gouran *et al.*, (2018) menciona que a una temperatura de 35°C se mejora la eficiencia de remoción del anión  $NO_2^-$  en un agua sintética. El tiempo de contacto así como el acondicionamiento de la superficie de la zeolita pueden influir dependiendo del diseño del reactor. En la Tabla 2.7 se puede observar algunas referencias de remoción de iones en reactores con zeolita, considerando la concentración en  $[mg/L]$  inicial (Ci), la concentración final (Ce) y la eficiencia de remoción de iones según el caso.

**Tabla 2-7. Tiempo de retención hidráulica en el intercambio iónico con zeolita**

| TRH (h) | Ci  | Ce | Eficiencia | Ion      | Referencia                        |
|---------|-----|----|------------|----------|-----------------------------------|
| 2       | 10  | 1  | 90%        | $F^-$    | Sun <i>et al.</i> , (2011)        |
| 0.5     | 40  | 6  | 85%        | $NH_4^+$ | Mazloomi y Jalali (2016)          |
| 8       | 59  | 5  | 90%        | $NH_4^+$ | Widiastuti <i>et al.</i> , (2011) |
| 12      | 82  | 28 | 66%        | $NO_2^-$ | Liu <i>et al.</i> , (2017)        |
| 0.2     | 150 | 12 | 88-96%     | $NO_3^-$ | Gouran <i>et al.</i> , (2018)     |

Aunque las resinas de intercambio aniónico pueden ser específicas para remover nitratos, en el caso del uso de zeolitas naturales, se ha reportado competencia por otros aniones que a su vez afectan el rendimiento del intercambiador, como lo son,  $HCO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  y  $PO_4^{3-}$  (Gouran *et al.*, 2018),  $CO_3^-$  (Zhang *et al.*, 2011) y  $Cl^-$  (Arora *et al.*, 2010).

### **3. METODOLOGÍA**

Para probar la hipótesis planteada se realizó a nivel de laboratorio un ensayo para comparar si una barrera reactiva biológica es más eficiente en la remoción de nitrato en agua subterránea, debido a la especificidad de los consorcios microbianos, en comparación con una barrera de zeolita natural por la competencia de aniones por los sitios de intercambio.

#### **3.1 Diseño Experimental**

Para comparar la eficiencia en la remoción de nitratos en un agua subterránea contaminada se definieron las siguientes unidades experimentales: 1) barrera biológica con una biopelícula formada sobre tezontle, 2) barrera físico-química de zeolita y 3) barrera de arena como tratamiento testigo.

En estas unidades experimentales se cuantificó como variable de respuesta la concentración de nitrato, expresada en porcentaje de remoción del contaminante ( $NO_3^-$ ); apoyado por variables de control como el pH, temperatura ( $^{\circ}C$ ), sólidos totales volátiles (STV), Demanda Química de Oxígeno (DQO), turbiedad ( $UTN$ ) y potencial de reducción (Eh) y tiempo de operación.

##### **3.1.2 Determinaciones analíticas**

Los parámetros que se describen en la Tabla 3.1 se determinaron en el influente y efluente del agua subterránea utilizada. Las mediciones de los parámetros se realizarán de manera diaria, para cada uno de los tres tratamientos y su repetición.

Los sólidos totales se determinaron de manera semanal, mientras que la concentración de oxígeno disuelto (OD) se cuantificó en el punto de captación del agua subterránea para dosificar el agente reductor sulfito de sodio ( $Na_2SO_3$ ) al tanque del tratamiento de la barrera biológica para remover el OD.

**Tabla 3-1. Parámetros para la evaluación de la calidad del agua**

| Parámetros                 | Norma Oficial Mexicana |
|----------------------------|------------------------|
| $N - NO_2^-$               | APHA-AWWA-WEF (1960)   |
| $N - NO_3^-$               | APHA-AWWA-WEF (1960)   |
| Oxígeno Disuelto           | NMX-AA-012-SCFI-2009   |
| pH                         | NMX-AA-008-SCFI-2016   |
| Turbiedad                  | NMX-AA-038-SCFI-2001   |
| Temperatura                | NMX-AA-007-SCFI-2013   |
| Sólidos Totales            | NMX-AA-034-SCFI-2001   |
| Demanda Química de Oxígeno | NMX-AA-030/1-SCFI-2012 |

### 3.1.3 Evaluación de la variable de respuesta

Para realizar la evaluación el proceso de remoción de nitrato por las barreras reactivas, se utilizó el porcentaje de eficiencia de remoción ( $ER$  (%)), el cual corresponde a diferencia entre la concentración inicial ( $C_o$ ) de nitratos en el agua subterránea y la fracción del contaminante eliminado por cada una de las barreras, cuantificado en la concentración final ( $C_f$ ), como se indica en la ecuación 3.1.

$$ER (\%) = \frac{C_o - C_f}{C_o} \times 100 \dots \dots \dots (3.1)$$

Dónde:

$ER$  (%) = Porcentaje de eficiencia de remoción

$C_o$  = Concentración inicial de  $NO_3^-$

$C_f$  = Concentración final de  $NO_3^-$

### 3.1.4 Modelo experimental

La investigación se realizó siguiendo un diseño completamente al azar con un factor. Considerando como unidad experimental cada tratamiento, aleatorizando las dos repeticiones para garantizar la independencia en los efectos del experimento.

El modelo fue definido de la siguiente manera:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = Eficiencia de remoción del nitrato en la unidad experimental con la barrera  $i$

$\mu$  = Media general de la remoción de nitrato

$T_i$  = Efecto del tratamiento de remoción biológica o físico-química en la barrera  $i$

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental de la unidad experimental  $i$

Como hipótesis nula se plantea que las barreras permeables no muestran una diferencia significativa en la remoción del nitrato, mientras que la hipótesis alternativa es que la barrera biológica es más eficiente en la remoción de nitrato en agua subterránea, debido a la especificidad de los consorcios microbianos, en comparación con una barrera de zeolita natural por la competencia de aniones por los sitios de intercambio.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ , además las medias fueron comparadas mediante una prueba de Tukey según lo mencionado por Montgomery (2005).

### **3.1.5 Diagrama de flujo**

La metodología experimental se dividió en actividades paralelas. La primera consistió en el desarrollo y diseño de la barrera biológica basada en consorcios de microorganismos seleccionados de cuatro fuentes de desnitrificadores biológicos. Como segundo proceso fue el diseño de una barrera de intercambio iónico con base a zeolita natural tipo clinoptilolita. Diseñadas las barreras permeables, se realizaron las pruebas funcionales para comparar la eficiencia de remoción de nitratos como se observa en la Figura 3-1, además de la evaluación de fortalezas y debilidades utilizando parámetros como el tiempo de saturación, costos de operación, mantenimiento y pérdida de permeabilidad y costos de operación



### 3.2 Selección de fuentes de Inóculo de consorcios microbianos

Considerando los sitios donde se desarrollan los consorcios microbianos para la desnitrificación biológica se tomaron dos muestras de lodos, la primera de una planta de tratamiento de agua residual doméstica, tipo Anaerobia-Anóxica-Aerobia (A-A-A) y la segunda de lodos granulares de un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB- *Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor* por sus siglas en inglés), así como muestras a dos profundidades de un suelo regado con aguas residuales tratadas en la zona chinampera de Xochimilco. Para el muestreo de suelos se consideraron dos profundidades: 20 a 30 cm y de 30 a 40 cm, cercanas a las raíces con el objetivo de encontrar microorganismos desnitrificadores. En la Tabla 3-2 se observa la nomenclatura utilizada para la identificación de las muestras.

**Tabla 3-2. Nomenclatura de las fuentes de inóculo de consorcios microbianos**

| Muestra                                | Nomenclatura | Descripción  |
|--|--------------|--|
| Lodos de planta de agua residual       | A-A-A        | Tratamiento de agua doméstica en reactor Anaerobio-Anóxico-Aerobio |
|  | UASB         | Lodos granulares de un reactor anaerobio de flujo ascendente       |
| Muestra de suelo de la zona chinampera | 20 - 30 cm   | Primera profundidad en el perfil de suelo                          |
|  | 30 - 40 cm   | Segunda profundidad en el perfil de suelo                          |

#### 3.2.1 Desarrollo de consorcios microbianos para la desnitrificación biológica

De las cuatro fuentes de inóculos de consorcios microbianos seleccionadas se colocaron 150 mL de cada una de las muestras de lodos (UASB y A-A-A) y 50 g de las muestras de suelo, en 250 mL de la solución de agua sintética. La solución

de agua sintética, en esta etapa se realizó con agua destilada siguiendo las concentraciones que se presentan en la Tabla 3-3.

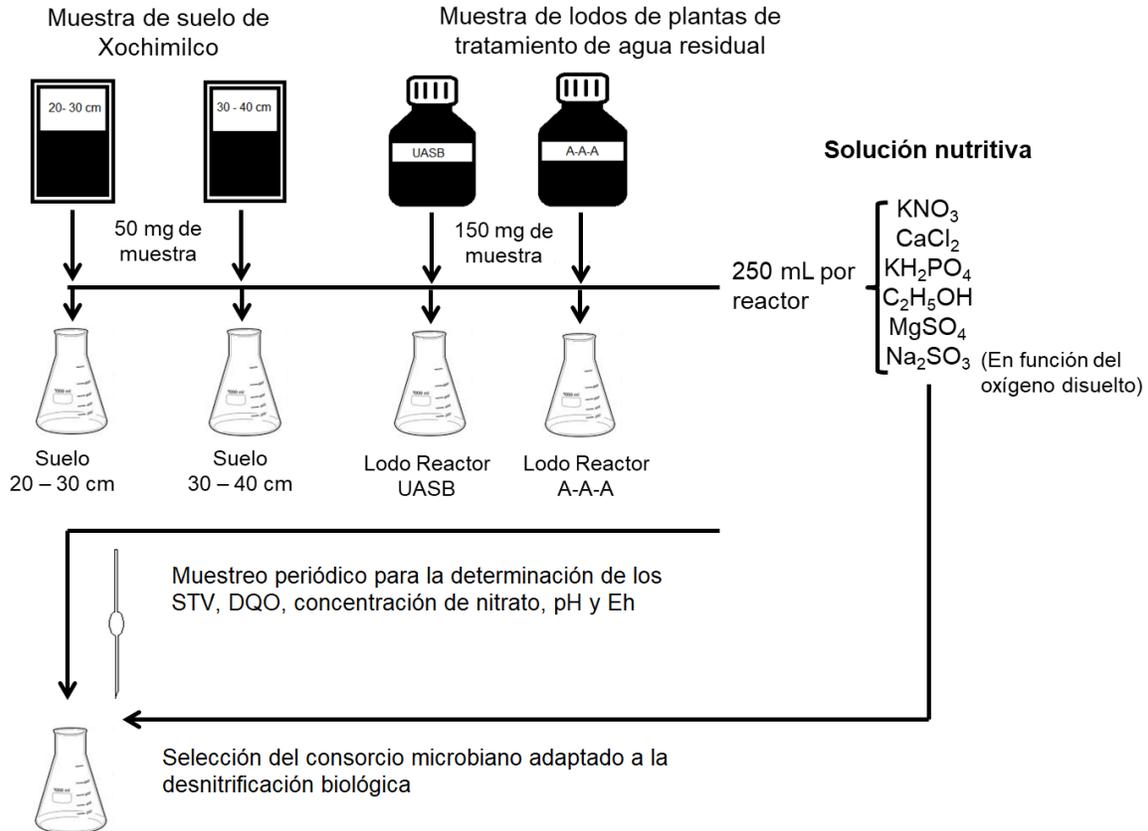
**Tabla 3-3. Requerimientos nutricionales para soluciones basado en Luo et al., (2016).**

| Compuestos    | Nutrientes  | Concentración de nutriente [mg/L] |
|---------------|-------------|-----------------------------------|
| 1) $KNO_3$    | $NO_3^-$    | 100                               |
| 2) $KH_2PO_4$ | $PO_4^{3-}$ | 31                                |
| 3) $CaCl_2$   | $Ca^{2+}$   | 26                                |
| 4) $MgSO_4$   | $SO_4^{2-}$ | 0.68                              |
| 5) $C_2H_5OH$ | $C_{org}$   | 108                               |

Para obtener las concentraciones de OD cercanas a cero en la solución nutritiva, se utilizó el reactivo  $Na_2SO_3$ , que según Gómez et al., (2000) por cada [mg/L] de OD se deben de adicionar 7.9 [mg/L] de  $Na_2SO_3$  para lograr disminuir la concentración de OD hasta cero [mg/L]. Por lo anterior a cada uno de los reactores se les adicionaron 25 mL de la solución nutritiva cada cinco días.

Con la finalidad de monitorear el desarrollo de los consorcios microbianos se realizó una curva de crecimiento microbiano, tomando muestras cada 5 días, para determinar el parámetro de STV. Se realizaron determinaciones periódicas de DQO, concentración de nitratos [mg/L], pH y el potencial óxido-reducción (Eh).

La Figura 3-2 se observa el diagrama de la metodología empleada para el establecimiento de los consorcios microbianos. Cabe mencionar que en esta etapa los reactores mantuvieron una agitación a 50 [r/min], manteniendo una temperatura en los reactores cercana a los 20°C, además de colocar una cubierta para evitar la radiación solar.



**Figura 3-2. Metodología para el desarrollo de un consorcio microbiano en la desnitrificación biológica.**

### 3.2.2 Selección y multiplicación del consorcio microbiano

De acuerdo a lo obtenido en el punto 3.2.1 se seleccionó, un consorcio microbiano para el desarrollo de la barrera biológica, el cual se multiplicó utilizaron 4 matraces Erlenmeyer de 1 L, inicialmente se desinfectaron en la autoclave y posteriormente se tomó una alícuota de 100 mL del reactor con los microorganismos seleccionados. Posteriormente, se colocaron 900 mL de solución nutritiva mencionada en la Tabla 3-3, con agitación constante a 70  $[r/min]$ . Este proceso fue acompañado de la medición de los STV, la DQO  $[mg/L]$ , la concentración de  $\text{NO}_3^-$   $[mg/L]$ , el pH y el potencial de óxido-reducción medidos cada 96 horas.

### 3.2.3 Formación de la biopelícula en el material de soporte

Para la formación de la biopelícula se acondicionaron 4 Kg de tezontle como material de soporte, con un tamaño de partícula entre los 20 y 50 mm. El tezontle se lavó para remover impurezas, se colocó en bandejas de aluminio para secarse en un horno a 150°C durante 48 horas, con la finalidad de remover la humedad y como proceso para eliminar posibles microorganismos.

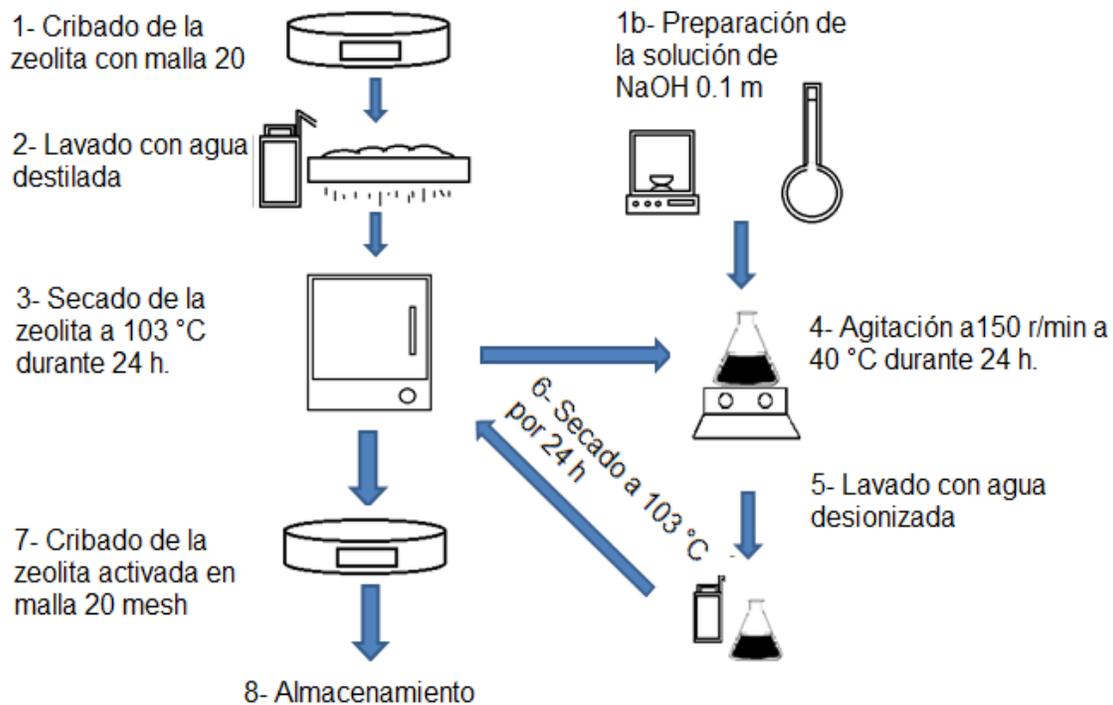
Posteriormente, se colocó en una columna de PVC de 10.16 cm de diámetro por 85 cm de alto en el cual se hizo pasar una carga de 0.01 [m<sup>3</sup>/d] de una mezcla de la solución nutritiva con una solución del consorcio microbiano seleccionado. Para el arranque se colocaron 7 L de solución nutritiva así como 3 L del inóculo del consorcio microbiano, desde un tanque ubicado en la parte superior de la columna.

El efluente de la columna se hizo recircular en el sistema manteniendo la temperatura a 23°C por medio de un termostato. Para determinar la calidad se realizó un monitoreo cada 96 horas de la concentración de los parámetros: DQO [mg/L], NO<sub>3</sub><sup>-</sup> [mg/L], pH, STV [mg/L] y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) [mg/L].

De esta forma, conforme disminuyó la calidad del efluente se introdujo nueva solución nutritiva e inóculo del consorcio microbiano. Para la solución nutritiva se mantuvieron las concentraciones de la Tabla 3-3, agregando una alícuota del 100 mL del inóculo, cada tres días.

### 3.3 Acondicionamiento de la zeolita natural

El material utilizado corresponde a un tectosilicato de origen natural llamado zeolita del tipo clinoptilolita marca comercial Zeolitech, con una granulometría entre 0.5 a 2 mm. El proceso de acondicionamiento de la zeolita se basó en lo reportado por Alvarado *et al.*, (2013) y Villicaña (2015), como se detalla en la Figura 3-3.



**Figura 3-3. Proceso para la activación de la zeolita**

El acondicionamiento consistió en un cribado para la remoción de las partículas menores a 2 mm, posteriormente se realizó un lavado con agua destilada; y finalmente se colocó en el horno durante 24 h a 103 °C con el objetivo de remover la humedad del material.

Posterior al tiempo en la estufa, se preparó una solución de  $NaOH$  a una concentración de 0.1 M en la que se colocaron 50 gramos de la zeolita, agitando por 24 h a 150 [r/min], manteniendo una temperatura de 40°C. Después del ciclo se decantó la solución y se realizó un lavado con agua desionizada para remover el exceso de  $NaOH$ , y por último se colocó en el horno durante 24 h a 103 °C .

Luego, se tamizó el material para remover partículas menores a 2 mm, y se almacenó en recipientes plásticos. A partir de este proceso el material se denominó zeolita acondicionada.

### **3.3.1 Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la zeolita natural**

A la zeolita natural acondicionada se realizó análisis físicos para determinar el área superficial, tamaño y volumen del poro. Para ello se utilizó un equipo de sorción de gases modelo Quantachrome® ASiQwin™, ubicado en el laboratorio de Hidrogeoquímica del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).

Además se determinó la composición del material, por medio de un análisis de difracción de rayos X (DRX) a tres muestras, como lo fue la zeolita natural, la zeolita acondicionada y la zeolita posterior al proceso de remoción de nitratos. Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Difracción de Rayos X del Instituto de Geología-UNAM, utilizando un Difractómetro de rayos X, marca Empyrean equipado con un filtro de níquel, un tubo de cobre de foco fino y un detector PIXcel 3D.

Las muestras fueron homogeneizadas y tamizadas previamente en una malla de 0.063 mm. Se colocaron en un portamuestra de aluminio de doble carga. La lectura se realizó en el intervalo angular  $2\theta$  de  $5^\circ$  a  $80^\circ$ , con un paso de escáner “step scan” de  $0.003^\circ$  (2 Theta) y un tiempo de integración de 40 s por paso.

### **3.3.2 Determinación de la capacidad de intercambio de la zeolita natural acondicionada**

Para la determinación de la capacidad de intercambio aniónico (CIA) de la zeolita natural se consideró la metodología mencionada por Villicaña (2015). Consistió en colocar 1 g de la zeolita acondicionada en recipientes plásticos de 125 mL con una solución de  $HCl$  0.1 N, agitándose a 50 [r/min] por 1 h. Inicialmente, se tomó una alícuota de 20 mL de la solución de  $HCl$  0.1 N, se colocó en un matraz Erlenmeyer adicionando el indicador fenolftaleína, la cual se tituló con la solución de  $NaOH$  0.2 N para obtener el volumen del punto de equivalencia inicial ( $Eq_i$ ).

Transcurrido el tiempo de agitación se determinó el punto de saturación ( $Eq_f$ ) repitiendo la titulación con  $NaOH$  0.2 N. La CIA fue cuantificada la diferencia de concentraciones, entre la cantidad de equivalentes contenidos antes de la

saturación y la medición final, dividido entre los gramos de zeolita y expresado en *meq/g* como se observa en la ecuación 3.2.

$$CIA[meq/g] = Eq_i - Eq_f / g \text{ zeolita} * 1000 \dots \dots \dots 3.2$$

Dónde:

*Eq<sub>i</sub>* = punto de equivalencia inicial

*Eq<sub>f</sub>* = punto de saturación

### 3.3.3 Operación del sistema de intercambio iónico por la técnica de lotes

De acuerdo a lo propuesto por Montiel (2015), se elaboró una prueba de intercambio iónico por la técnica de lotes. Para ello se utilizaron las concentraciones de 0.5, 0.05 y 0.005 moles de una solución de *KNO<sub>3</sub>*. Se colocó 100 mL de cada solución en recipientes de 125 mL de volumen, los cuales contenían 5 g de zeolita natural acondicionada. Las muestras se agitaron a 50 [r/min] por 96 h, analizando dos muestras por tratamiento cada 24 h. Se cada solución se determinó el pH y las concentraciones de *N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup>* mediante la técnica colorimétrica detallada en el punto 8-1.

### 3.4 Diseño de las columnas para las barreras

Para el diseño de las columnas, se consideraron las variables de tiempo de retención, así como la velocidad del agua y la permeabilidad de los materiales además de la Ley de Darcy, como detallan a continuación.

#### 3.4.1 Tiempo de Retención

El tiempo de retención hidráulica se determinó según MetCalf y Eddy (1996), siguiendo las condiciones cuantificadas en el ensayo como la concentración de *N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup>* [mg/L] en el influente, denominada (*S<sub>o</sub>*) y en el efluente (*S*), la concentración de SSV (*X*), temperatura promedio (*T*), la concentración de OD [mg/L] y la tasa de desnitrificación específica *U<sub>DN</sub>* según Eckenfelder (1989).

En la ecuación 3.3, se puede observar la corrección por temperatura para la tasa de desnitrificación ( $U'_{DN}$ ), mientras que en la ecuación 3.4, se utilizó para el cálculo del tiempo de retención celular  $\theta$  [ $d^{-1}$ ].

$$U'_{DN} = U_{DN} \times 1.09^{(T-20)}(1 - Od) \dots\dots\dots 3.3$$

$$\theta [d^{-1}] = S_o - S / U'_{DN} \times X \dots\dots\dots 3.4$$

Dónde:

$U'_{DN}$  = tasa de desnitrificación

$S_o$  = concentración de nitrato en el influente [ $mg/L$ ]

$S$  = concentración de nitrato en el efluente [ $mg/L$ ]

$\theta$  = Tiempo de retención [ $d^{-1}$ ]

### 3.4.2. Dimensionamiento de la barrera biológica

Para determinar las dimensiones de la barrera permeable biológica se propuso una altura para la misma de 20 cm, utilizando un reactor con un diámetro de 10.16 cm. El volumen ( $V$ ) se obtuvo al calcular el área superficial del reactor. Finalmente, para determinar el Gasto ( $Q$ ) se utilizó la ecuación número 3.4 y el resultado de la ecuación 3.5.

$$Q [ml/d] = V/\theta \dots\dots\dots 3.5$$

### 3.4.3 Dimensionamiento de la barrera de intercambio iónico

Para determinar la dimensión de la barrera de intercambio iónico se consideró el volumen utilizada para la barrera biológica en el punto 4.3.2, así como la CIA resultado de la ecuación número 3.2, además de la concentración de aniones del agua subterránea [ $meq/L$ ], el Gasto (ecuación 3.5) y el flujo másico [ $meq/d$ ] según lo indicado por Ramalho (1996). Finalmente, se consideró el diámetro del reactor se determinó la cantidad de zeolita acondicionada necesaria para formar la barrera de intercambio iónico.

Adicionalmente, se caracterizó el agua subterránea que abastece el Anexo de Ingeniería, la cual proviene de un pozo ubicado en Ciudad Universitaria. Para la determinación de aniones y cationes se tomaron muestras del agua a las 7:00 am, 13:00 y 19:00 horas del 4 de diciembre del 2017. Las muestras se analizaron en el Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía por medio de un cromatógrafo de líquidos marca Waters con columna IC-Pack Anion HR y C4 marca Metrohm y un detector de conductividad modelo 432.

Además, se analizó el contenido de carbono orgánico total de agua subterránea en el laboratorio de E-301 del conjunto E de la Facultad de Química, por medio de un Analizador TOC –Vcsn marca Shimadzu. Posteriormente, se calculó el balance iónico utilizando los equivalentes de cada especie mediante la ecuación 3-6.

$$\frac{\Sigma \text{ cationes} - \Sigma \text{ aniónico}}{\Sigma \text{ cationes} + \Sigma \text{ aniónico}} \times 100 \dots\dots\dots 3-6$$

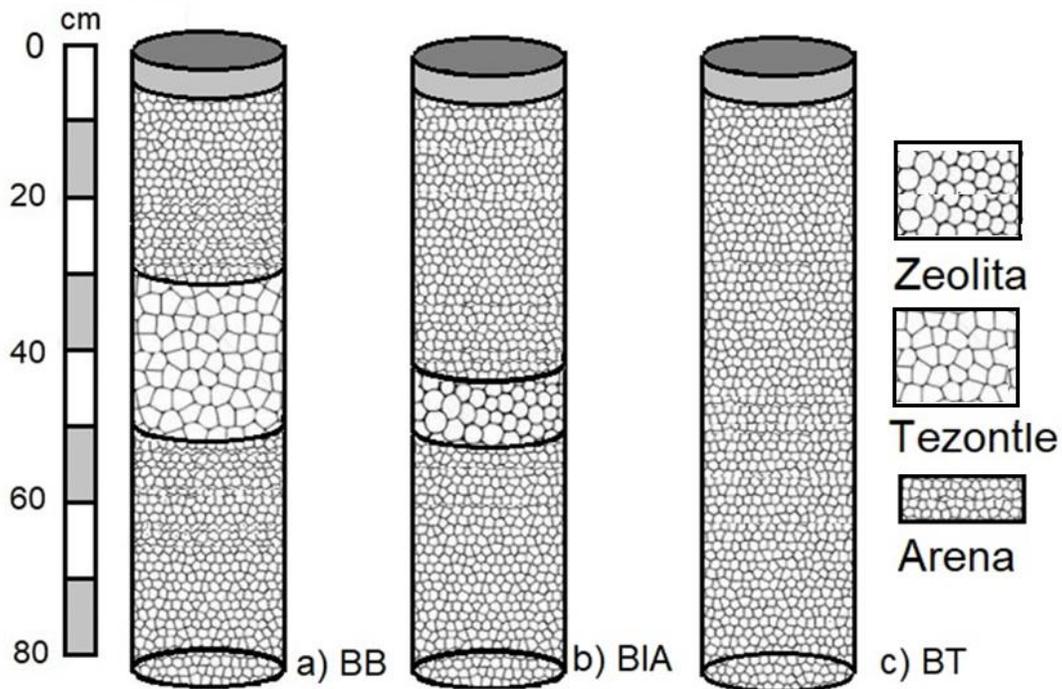
### 3.4.4 Conductividad hidráulica

Para determinar la conductividad hidráulica se tomaron muestras de arena separada previamente en una serie de número de mallas 16, 30, 60 y 200 mesh equivalente al sistema métrico decimal a 1.19, 0.595, 0.250 y 0.074 mm respectivamente. La zeolita y el tezontle se separaron para tener un tamaño de partícula entre 1190 y 2000 micras.

Posterior, las muestras se colocaron en cilindros de acero inoxidable y un cilindro plástico en la parte superior y en su parte inferior un filtro de papel sobre un embudo Büchner. El conjunto anterior se satura por capilaridad durante 48 h. Una vez saturadas las muestras se colocaron los cilindros sobre una malla y en una probeta de 50 mL por debajo del embudo Büchner, al cual se le hizo pasar una columna de agua constante, registrando el tiempo que tarda en completarse el volumen (Flores y Alcalá, 2010).

### 3.4.5 Diseño de los reactores

La configuración de las barreras permeables fueron: a) Barrera Biológica (BB): compuesta por 20 cm de arena, 20 cm de tezontle y 30 cm de arena. b) Barrera de Intercambio Aniónico (BIA): 40 cm de arena, 10 cm de zeolita y 30 cm de arena. c) Barrera Testigo (BT): 80 cm de arena. Cada una de las columnas se puede observar en la Figura 3-4.



**Figura 3-4. Diagrama de distribución de materiales dentro de las columnas**

La arena utilizada fue secada a la sombra durante 24 h, posterior se tamizó en una malla número 60 con una abertura de 250 micrómetros para estandarizar el tamaño de partícula en las columnas. Se utilizó una zeolita natural con un tamaño de partícula de 0.5 mm y 2 mm, mientras que para el tezontle se utilizó un tamaño entre 2 mm hasta 10 mm. Cada columna estuvo conectada con un tanque con la solución de agua subterránea a través de una bomba peristáltica de flujo lento.

Se contó en total con tres tanques de agua; dos con agua subterránea enriquecida únicamente con  $NO_3^-$  y un tercer tanque con la solución nutritiva mostrada en la Tabla 3-3.

### **3.5 Evaluación de las fortalezas y debilidades**

Se consideraron los siguientes parámetros: a) eficiencia de remoción de nitratos, b) costos de operación, c) tiempo de saturación, d) requerimientos de mantenimiento (BIA), e) cambios en la permeabilidad del tezontle así como crecimiento de la biopelículas y f) generación de lodos durante el periodo de evaluación en el tratamiento (BB).

#### **3.5.1 Determinación del porcentaje de eficiencia de remoción de nitrato**

La eficiencia de remoción, se evaluó al operar las barreras permeables durante un periodo de 30 días consecutivo, y se cuantificó utilizando la ecuación 3.1.

#### **3.5.2 Costos de operación**

Se consideraron los costos de insumos, mano de obra y reactivos de laboratorio necesarios para el desarrollo y operación de cada uno de las barrera. En el caso del tratamiento biológico se incluyó las etapas de desarrollo, selección y multiplicación del consorcio microbiano, además de la formación de la biopelícula. Para el tratamiento de intercambio iónico, se analizó el costo del proceso de acondicionamiento de la zeolita natural, así como el costo de la regeneración de la misma posterior a la saturación.

#### **3.5.3 Saturación de la zeolita**

Se analizó la disminución de la eficiencia de remoción de nitratos (ecuación 3.1) como parámetro de toma de decisión del cambio de barrera.

#### **3.5.4 Mantenimiento de las columnas**

Para el caso de la barrera de intercambio iónico, se determinó la frecuencia en que se deben de cambiar la barrera de zeolita natural acondicionada posterior a su saturación.

Una vez saturada la barrera, se tomó una muestra de la zeolita para reacondicionarla y determinación de la CIA. Adicionalmente se realizó una prueba de remoción por lotes, repitiendo el proceso mencionado en el punto 3.3.3.

### **3.5.5 Pérdida de permeabilidad**

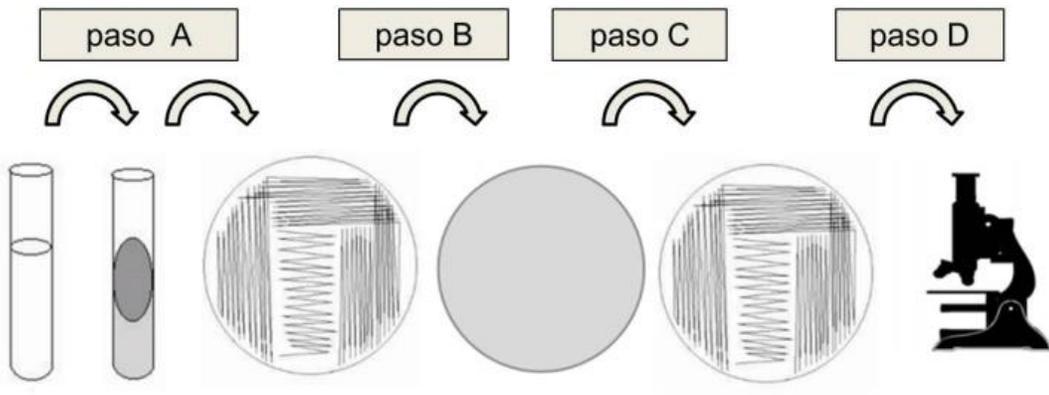
Se determinaron los cambios en la permeabilidad de la zeolita natural, tezontle y arena empleada en los reactores, realizando una prueba de conductividad hidráulica según la metodología mencionada por Flores y Alcalá (2010) en el punto 3.4.4.

### **3.5.6 Crecimiento de biopelícula y generación de lodos**

Se tomaron muestras del efluente de los reactores con el tratamiento de BB, cada 5 días para determinar la concentración de STV [*mg/L*]. Posteriormente, se tomaron muestras del tezontle con biopelícula de la BB, para evaluar visualmente los microorganismos presentes con ayuda del microscopio óptico.

El tezontle se colocó en cajas de Petrí con agar nutritivo a incubar a 35°C, luego se tomó una muestra y se colocaron en tubos con caldo nutritivo, realizando diluciones de 1/10 mL, siguiendo la metodología mencionada por Moeller y Ferat (1990). Las muestras se colocaron en una incubadora a 35°C. Después de a 48 horas se tomaron muestra de los tubos 5 y 6 (paso A); y con un asa estéril se realizó una inoculación en una caja petri con agar nutritivo, siguiendo el patrón que se observa en la figura 3-5 (paso B); y se colocó en la incubadora a 35°C.

Después de 48 horas se analizaron las cajas y con un asa se tomó una muestra y se distribuyó en una nueva caja siguiendo el patrón de la Figura 3-5 (paso C). Posteriormente, se colocaron en la incubadora a 35°C durante 48 horas. De las cajas se tomaron muestras y se colocaron sobre un portaobjeto el cual se le realizó una tinción de Gram para observar en el microscopio óptico de campo claro (paso D).



**Figura 3-5. Metodología para aislamiento de microorganismos presentes en la barrera biológica.**

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este apartado se exponen los resultados obtenidos en el proceso de aclimatación, selección y multiplicación de los consorcios microbianos, así como del acondicionamiento de la zeolita natural. Además, se detalla el diseño de las barreras para la evaluación de la eficiencia en la remoción de nitratos en agua subterránea. Asimismo se evaluaron las fortalezas y debilidades de cada tratamiento en función de la eficiencia de remoción, costos de operación, saturación de la zeolita natural acondicionada y pérdida de permeabilidad del tezontle.

### **4.1 Desarrollo del consorcio microbiano para la desnitrificación**

El crecimiento y aclimatación de los consorcios microbianos en la solución nutritiva se estableció mediante el parámetro de STV, debido a que no se logró la separación por membrana de los SSV. De las muestras de suelos se obtuvieron valores menores a 20 [mg/L] de STV en ambas profundidades de (20-30 cm y 30-40 cm) y se obtuvo que el máximo crecimiento se presentó en la tercera semana de evaluación.

Para el caso de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), se alcanzaron valores hasta de 110 [mg/L] de STV, y su máximo crecimiento se presentó a la cuarta semana. En la Figura 4-1 (a) se describe el crecimiento presentado por todos los consorcios en el medio de cultivo en el periodo de aclimatación.

En el proceso de aclimatación de los consorcios microbianos a una solución de agua sintética enriquecida con nitrato, intervienen factores como el pH, la concentración de nutrientes, la presencia de compuestos que resulte tóxico, el tiempo de retención y el diseño del reactor (Rizvi *et al.*, 2015). Los inóculos se mantuvieron bajo las condiciones químicas y físicas controladas, de modo que el mayor crecimiento de los lodos de PTAR se relaciona a una mejor aclimatación de estos al medio de crecimiento.

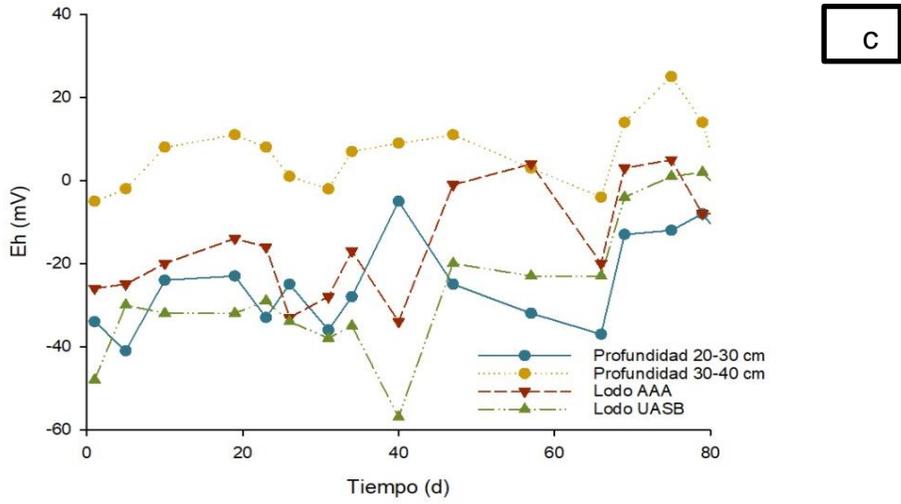
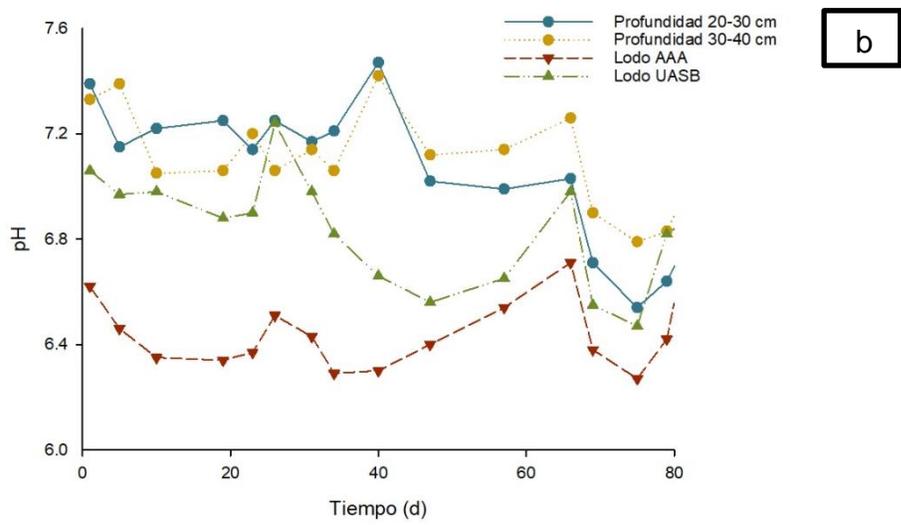
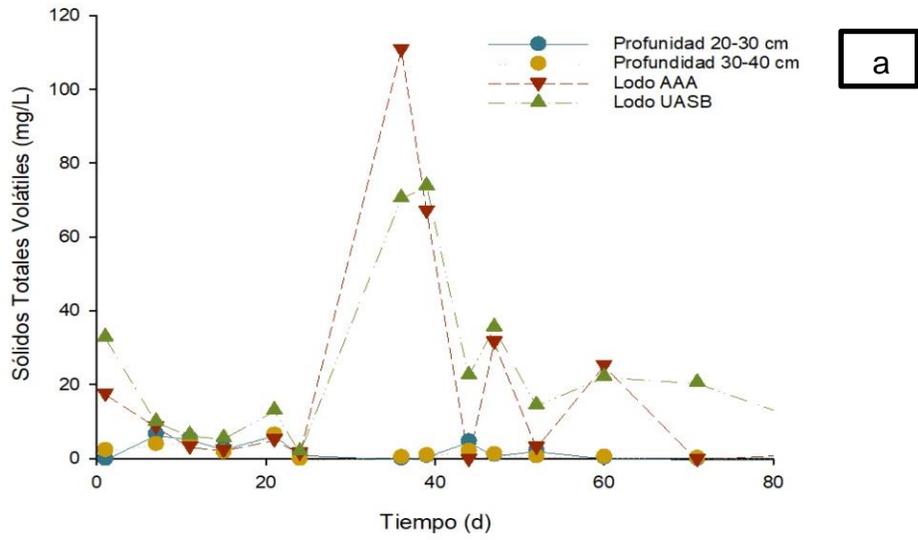
A nivel de laboratorio He *et al.*, (2016) y Liu *et al.*, (2013) reportan periodos de aclimatación de microorganismos a soluciones de agua sintética aproximadas de 120 días para consorcios provenientes de PTAR. En cuanto a los STV, los valores reportados varían según los sistemas utilizados, desde concentraciones menores a 50 [mg/L] (Wang *et al.*, 2009) hasta 3000 [mg/L] como STV (Li *et al.*, 2014).

Se reporta el uso de lodos de PTAR como inóculo para la remoción de nitratos con eficiencias de hasta 98%, y una mejor adaptación en aguas sintéticas que las bacterias nativas provenientes de fuentes de agua (He *et al.*, 2016). Lo anterior, producto de la adaptación que tienen los consorcios a sistemas anaerobios y a diferentes fuentes de carbono orgánico como el etanol y el metanol (Wang *et al.*, 2008).

El uso de los microorganismos para realizar tratamientos de desnitrificación en aguas subterráneas se ha limitado a tratamientos *ex situ* (Gilbert *et al.*, 2008). Adicionalmente, se ha reportado el uso de bacterias para la formación de barreras biológicas a partir de inóculos de suelos (Brettar *et al.*, 2002) y lodos de plantas de tratamiento de agua residual (He *et al.*, 2016) a nivel de laboratorio.

Lo anterior explica las diferencias en crecimiento observadas en la Figura 4-1(a), Aunque se observa un incremento en los STV, los inóculos de PTAR mostraron un mayor crecimiento y se encontró que estos inóculos presentaron una mayor eficiencia de remoción de la DQO en la solución de agua sintética.

El inóculo del lodo UASB presentó un valor de remoción de DQO del 44%, mientras que el lodo AAA presentó un valor de 34.9%. Las muestras de suelo removieron hasta un 24.5% (profundidad de 30 a 40 cm) y de 17.7% (profundidad 20 a 30 cm). Según Gilbert *et al.*, (2008) la capacidad de remoción de nitratos de los inóculos provenientes del suelo, depende del contenido de materia orgánica de la matriz, por lo que es más lenta la adaptación a una fuente externa de carbono orgánico.



**Figura 4-1. Cuantificación de STV (a), pH (b) y potencial óxido reducción (c) durante la etapa de desarrollo del consorcio microbiano para la desnitrificación**

Las mediciones de pH presentaron valores que se consideran óptimas para el proceso de desnitrificación biológica (Winkler, 1994). No obstante, se ha observado una mayor tasa de formación de nitrógeno molecular ( $N_2$ ) cuando los microorganismo se mantienen en un medio entre 6.5 a 7 de pH (Ovez, 2006).

Las fuentes de inóculo provenientes del suelo mostraron valores promedios entre 7.0 y 7.2 de pH, por su parte los lodos del reactor A-A-A, mostraron valores de pH por debajo de 6.5. En cuanto a los lodos del reactor UASB mantuvieron un valor dentro del rango óptimo de pH, esto se puede observar en la Figura 4-1 (b). Tanto los valores superiores a 8 y menores a 5 pueden fomentar la formación del óxido nitroso ( $N_2O$ ) y no de  $N_2$  (Simek *et al.*, 2002).

En la Figura número 4-1(c) se observa la variación del potencial óxido-reducción (Eh). De manera general se puede observar que los valores aumentaron hacia el final de la evaluación, registrando valores entre -50 hasta 50 mV. Las condiciones en que se lleva a cabo la desnitrificación biológica corresponden a valores entre 10 y 300 mV (Brettar *et al.*, 2002).

El inóculo de suelo de 20-30 cm tuvo un incremento en el valor de potencial al Eh, sin embargo el potencial finalizó en un valor de -20 mV. Por su parte, el consorcio del lodo A-A-A registró un valor de 5 mV y el inóculo de suelo la profundidad de 30-40 cm junto con el inóculo del lodo UASB terminaron en 15 mV, estos valores se encuentran dentro del rango de condiciones de desnitrificación (Brettar *et al.*, 2002).

Las concentraciones finales de nitrato fueron 3.83 [mg/L] en el reactor UASB, 12,7 [mg/L] en el reactor inoculado con suelo de 20 – 30 cm y de 36.7 [mg/L] de nitrato en el reactor inoculado con el suelo de la profundidad de 30- 40 cm. En el caso del reactor del lodo A-A-A no se logró determinar nitrato en el medio. Cabe mencionar que la determinación se realizó posterior a la eliminación de la turbiedad presente en los reactores, al realizar filtraciones consecutivas con filtros en 1.5 y 0.45  $\mu m$ .

#### 4.1.2 Selección y multiplicación del consorcio microbiano

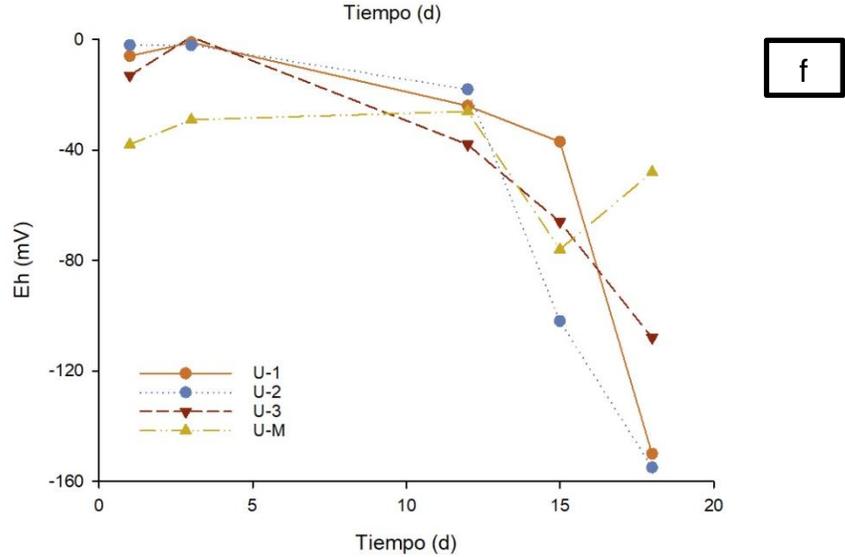
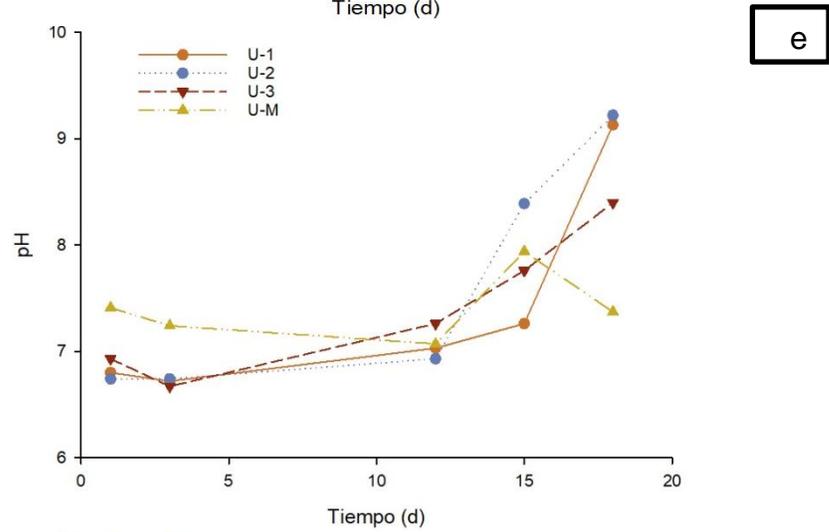
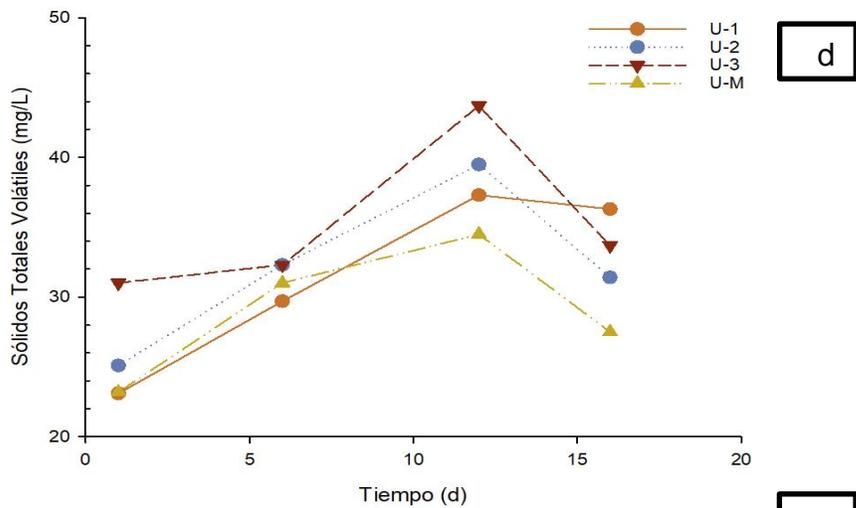
Con base en el punto 4.1.1, las condiciones de pH, el potencial óxido-reducción (Eh), concentraciones de  $N - NO_3^-$  [mg/L], la remoción de la DQO [mg/L] y la concentración de microorganismos mediante STV [mg/L], se seleccionó el consorcio microbiano proveniente de los lodos de una planta residual del tipo UASB.

El uso de lodos provenientes de PTAR para promover la desnitrificación biológica en agua es una técnica mencionada por autores como Krishna *et al.*, (2016), Koderá *et al.*, (2017), enfatizando como ventaja la estabilidad de los microorganismos y la adaptabilidad a diferentes formas de carbono orgánico.

Los consorcios microbianos provenientes del suelo presentaron un menor crecimiento como se observa en la Figura 4-2 (d), esto se puede deber a que naturalmente se encuentran adaptados a la presencia de carbono orgánico disuelto y a una condición redox (Zhou *et al.*, 2017) así como a una temperatura particular del sitio (Mathieu *et al.*, 2006), por lo que en los reactores se pudieron afectar por el tipo de carbono orgánico suministrado. En este caso se utilizó la nomenclatura de la letra U para indicar que corresponde a repeticiones que provienen del reactor de lodos UASB.

En cuanto a las condiciones de pH en los reactores en donde se realizó la multiplicación, se observó que hubo un aumento en el pH, ya que en las tres repeticiones los valores pasaron de 7 a 9 cercanos a los 20 días como se muestra en la Figura 4-2 (e). Según Gerardi, (2006) uno de los indicadores de la desnitrificación biológica es el incremento en la alcalinidad y en el pH, esto debido a que durante el proceso en que los microorganismos consumen el nitrato, se produce  $HCO_3^-$  y  $OH^-$  como parte de la degradación del carbono orgánico.

El potencial Redox disminuyó con respecto al tiempo pues para día número 1 de evaluación, los valores estuvieron entre -40 y 0 mV, mientras que para el día número 18, las repeticiones mostraron valores cercano a -150 mV con excepción al matraz. Estos valores se pueden observar en la Figura 4-2 (f).



**Figura 4-2. Cuantificación de los sólidos totales volátiles (d), pH (e) y potencial óxido-reducción (f) en la etapa de multiplicación del consorcio microbiano.**

Las condiciones de óxido-reducción fueron afectadas por las concentraciones de oxígeno disuelto en el medio; conforme disminuyó el oxígeno disuelto se observó una disminución en Eh. Los valores encontrados de Eh de -150 mV se relacionaron con concentraciones anóxicas de 0 [mg/L] de oxígeno disuelto (Atlas y Bastha, 1993).

En cuanto a la concentración de nitrato, los reactores mostraron que para el día 5 de evaluación se tuvo una concentración de 65 [mg/L]  $NO_3^-$  como valor promedio, partiendo de los de los 100 [mg/L] iniciales; mientras que para el día 15 los valores promedios fueron de 15 [mg/L]  $NO_3^-$  para un 85% de eficiencia de remoción al final del proceso de evaluación.

#### 4.1.3 Formación de la biopelícula en el material de soporte

En la Tabla 4-1 se puede observar los resultados del proceso de formación de la biopelícula en el material de soporte (tezontle). Se analizó el parámetro de STV [mg/L] con el fin de determinar el crecimiento asociado al aporte del agua sintética (enriquecida con nutrientes). De las 5 semanas analizadas se encontró un incremento de STV en la tercera semana y posteriormente un descenso. No obstante las mediciones del potencial óxido-reducción mostraron una reducción sin afectar las condiciones anóxicas que se requieren para llevar a cabo la desnitrificación (Atlas y Bartha, 1993).

**Tabla 4-1. Seguimiento en el crecimiento de la biopelícula**

| Semana | Eh [mV] | STV [mg/L] | DQO [mg/L] | Temperatura °C |
|--------|---------|------------|------------|----------------|
| 1      | -93     | 17.6       | 294        | 19.0           |
| 2      | -72     | 12.0       | 206        | 25.5           |
| 3      | -51     | 39.2       | 208        | 20.6           |
| 4      | -43     | 37.4       | 175        | 19.5           |
| 5      | -16     | 33.5       | 50         | 19.9           |

En cuanto a la DQO [mg/L], se puede observar una reducción a la quinta semana, con respecto a los valores iniciales, esta reducción indica una eficiencia de remoción del 71%. Mijaylova *et al.*, (2008) reportan una remoción de carbono

orgánico de una biopelícula adherida en tezontle hasta del 90% en 30 días de operación, aunque esto pueda depender del tipo de carbono orgánico y de los nutrientes presentes en el agua (Safwat, 2018).

Las eficiencias de remoción de nitrato fueron hasta del 85% para la quinta semana. Los sistemas de biopelícula han mostrado hasta 99% de eficiencia para la remoción de nitratos, esta eficiencia está influenciada por el tiempo de retención hidráulica, cargas volumétricas y la temperatura (Gutiérrez *et al.*, 2012). El crecimiento y la reproducción bacteriana dependerán de factores como el sustrato y la formación inicial de una biopelícula “biofilm”, la cual requiere de un tiempo prolongado (Feng *et al.* 2017). Las condiciones encontradas en esta fase, propiciaron el establecimiento de consorcios microbianos adaptados a la desnitrificación, por lo que se utilizaron en la formación de la barrera biológica permeable.

#### 4.2 Caracterización físico-química de la zeolita natural

Las principales características físico-químico de la zeolita natural tipo clinoptilolita utilizada, se pueden resumir en la Tabla 4-2. En cuanto a la CIA el valor fue superior al reportado por de Gennaro *et al.*, (2014), cuyo valor fue de  $0.137 \text{ meq/g}$  al activarse con HDTMK (hexadecyl trimethyl ammonium) conocido como cloruro de cetrimonio. La CIA obtenida es similar a la CIA de resinas comerciales como Amberlite IRA 402 basado en  $\text{OH}^-$  Korkisch, J. (1988).

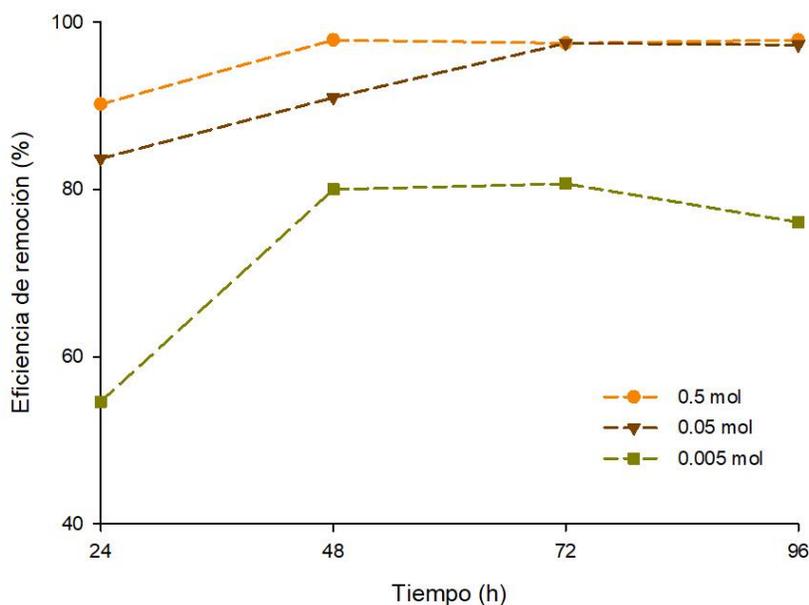
**Tabla 4-2. Propiedades físicoquímico de la zeolita natural utilizada para la formación de la barrera permeable.**

| Parámetro                   | Valor                         |
|-----------------------------|-------------------------------|
| Volumen de poro             | $0.049 \text{ cm}^3/\text{g}$ |
| Área superficial            | $82.343 \text{ m}^2/\text{g}$ |
| Ancho de poro               | $0.590 \text{ nm}$            |
| CIA (zeolita acondicionado) | $0.94 \text{ meq/g}$          |
| Densidad aparente           | $1.03 \text{ g/cm}^3$         |

El volumen interno de la zeolita natural consiste en una medición de la interconexión tridimensional de los canales. Los valores usuales del volumen varían entre 0.1 y 0.35 [ $cm^3/g$ ], además poseen un tamaño de poro de 0.20 a 0.80 nm (Payra y Dutta, 2003), sin embargo la Tabla 4-2 muestra que el volumen del poro obtenido es menor al rango mencionado.

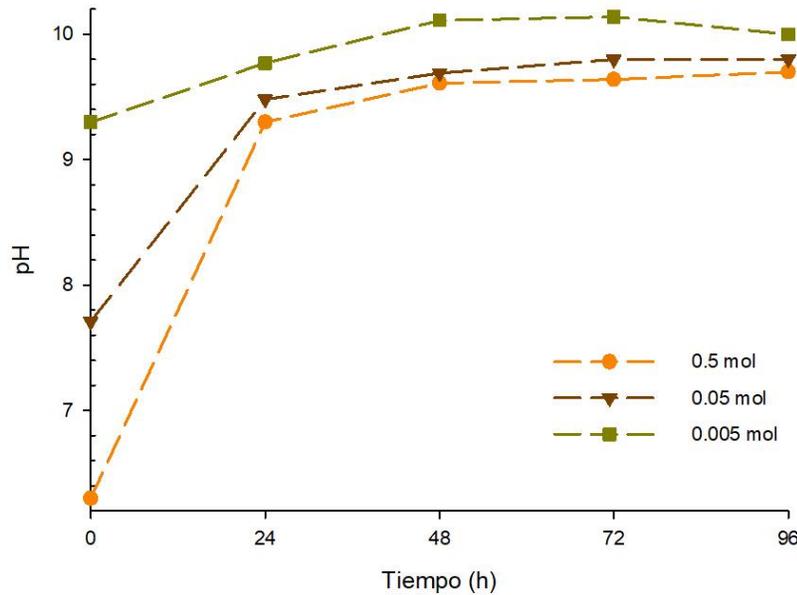
#### 4.2.1 Sistema de intercambio iónico por la técnica de lotes

Los resultados de la prueba de remoción por lotes mostraron que a mayor concentración de nitrato existe una mayor remoción por parte de la zeolita, como se aprecia en la Figura 4-3. En esta prueba, se determinó hasta 95% de eficiencia de remoción de nitratos en 48 h de TRH. Esta prueba consideró únicamente una solución de agua sintética basada en agua destilada enriquecida con  $KNO_3^-$  para conocer el comportamiento de la zeolita natural acondicionada. En otros estudios se ha reportado una competencia tanto del sulfato y cloruro, por los sitios de intercambio, pues el acondicionamiento no hace a la zeolita selectiva para la remoción únicamente del nitrato (Arora *et al.*, 2010).



**Figura 4-3. Eficiencia de remoción de nitrato en la prueba de remoción por lotes.**

Adicionalmente se monitoreó la variación de pH de la solución. En la Figura 4-4 se observa que conforme aumenta el tiempo de contacto, incrementa del pH de la solución; este incremento confirma el intercambio del nitrato por iones  $OH^-$  en la solución (Luo *et al.*, 2018).

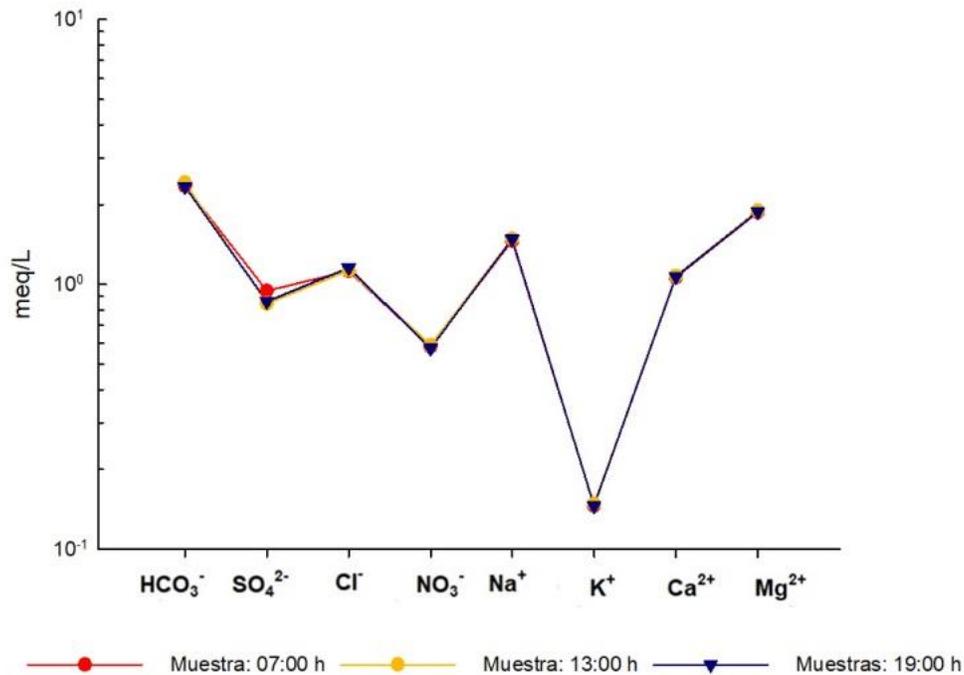


**Figura 4-4. Efecto del pH en la remoción de nitrato.**

### 4.3 Diseño de las columnas para las barreras permeables

Para el diseño de las columnas se contempló la concentración de iones en el agua subterránea de Ciudad Universitaria como se aprecia en la Figura 4-5. Al utilizar la ecuación 3-6, se identificó que el tipo de agua subterránea presente en Ciudad Universitaria tiene dos componentes principales como los son el bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) y sodio ( $Na^+$ ), cuyo balance iónico promedio es del -4.1%.

Estos valores coinciden con los presentados por Montiel *et al.*, (2014), al analizar 42 pozos de la zona sur de la cuenca de México. Este autor clasifica el agua subterránea del área de estudio como bicarbonatada sódica. Además reporta la presencia de aguas bicarbonatadas sódicas-mixta y mixta-mixta, esto debido a la trayectoria del flujo a través de rocas volcánicas.



**Figura 4-5. Diagrama de Schoeller- Berkaloff para la concentración de iones.**

Posterior a la caracterización del agua subterránea, se determinó el tiempo de retención hidráulica ( $\theta$ ) para la barrera biológica. Al considerar las ecuaciones número 3-3 y 3-4 (página 48), se calculó en  $\theta = 20.5 h$ . Este tiempo se encuentra dentro del rango de  $\theta$  mencionado en la Tabla 2-2.

Para determinar el gasto ( $Q$ ) se utilizó la ecuación número 3-5 (página 48), tomando en cuenta para calcular el volumen ( $V$ ) el área superficial del reactor con un diámetro de  $81.03 [cm^2]$  y una altura propuesta de  $20 [cm]$ , ambos como resultado de un análisis previo de diferentes dimensiones para el diseño del reactor.

Para determinar la altura en la que se colocaría la barrera biológica se utilizó la ecuación de Darcy, considerando la permeabilidad de la arena ( $Ks = 2.35 \times 10^{-4} [m/s]$ ) como resultado de analizar un tamaño de partícula medio de  $0.18 mm$ ; y  $Q = 1894.27 [mL/d]$  para mantener el  $\theta$ . De esta manera las dimensiones de la columna fueron de  $30 cm$  de arena en el fondo,  $20 cm$  de la tezontle la biopelícula adherida y  $30 cm$  de arena. Todo lo anterior colocado dentro de la columna del reactor.

De manera paralela, se diseñó la columna de la barrera de intercambio iónico, para ello, se determinó que el agua subterránea presentaba una concentración de iones en la solución de 5.52 [meq/L], además se consideró el mismo gasto para la barrera biológica y un flujo másico de 10.43 [meq/d].

Al considerar la capacidad de intercambio aniónico de la zeolita acondicionada, y estimando al menos 10 días de funcionamiento continuo, se calculó un total de 333 g de zeolita por columna. Según la granulometría del material, la densidad aparente correspondió a 0.76 [g/cm<sup>3</sup>] para una columna de 10.16 cm de diámetro se requirió una altura de 5.44 cm. Al utilizar la ecuación de Darcy con los valores antes mencionado las dimensiones de la columna fueron de 30 cm de arena en el fondo, 10 cm de la zeolita activada y 30 cm de arena. Se utilizó una columna de arena con la misma permeabilidad de las barreras biológicas y de intercambio aniónico como tratamiento testigo.

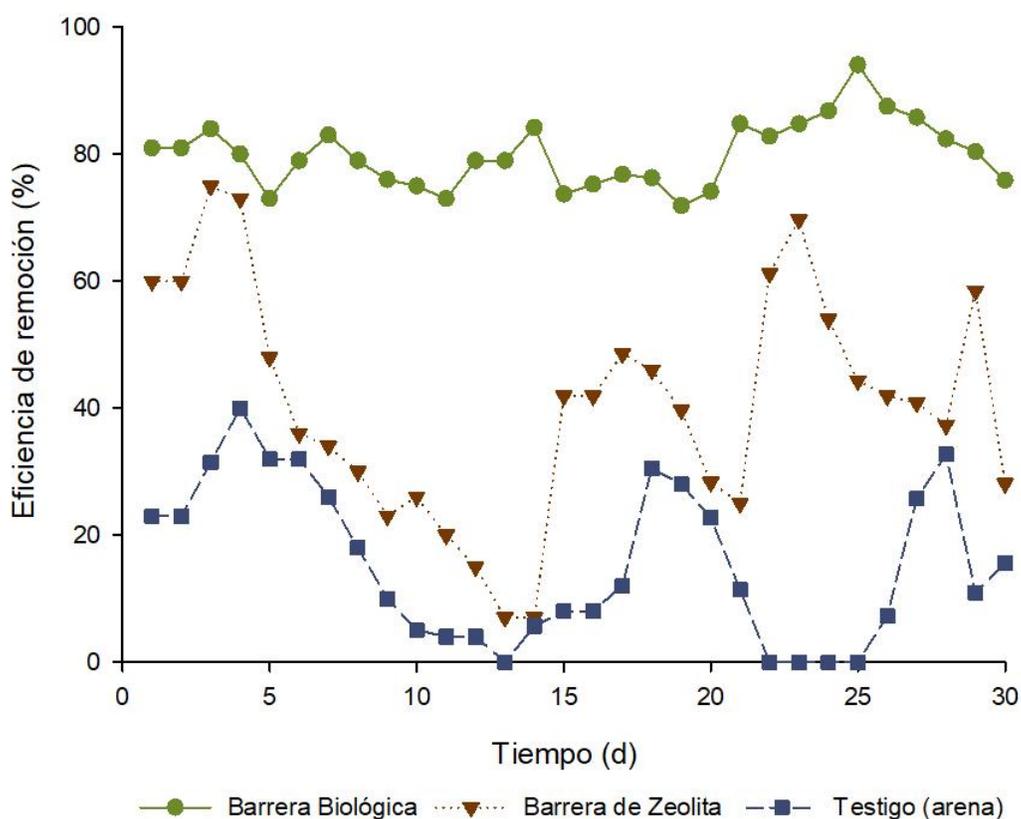
#### **4.4 Evaluación de fortalezas y debilidades**

Para la evaluación de fortalezas y debilidades se consideraron los resultados al finalizar el periodo de evaluación, para los parámetros de: a) eficiencia de remoción, b) costos de operación, c) saturación de zeolita, d) mantenimiento de la BIA, e) pérdida de permeabilidad y f) crecimiento de la biopelícula y g) generación de lodos en la BB.

##### **a) Eficiencia de remoción**

Al término de 30 días de operación, la barrera biológica presentó una mayor eficiencia en la remoción de nitratos, con una diferencia estadística entre tratamientos según el análisis de varianza ( $\alpha = 0.05$ ) y la prueba de separación de medias (Tukey  $\alpha = 0.05$ ). El porcentaje promedio de remoción de nitratos fue del 80%. En cuanto a las barreras de intercambio aniónico, la media de ER fue del 35%, mientras que para la barrera del tratamiento testigo fue del 21%, como se presenta en la Figura 4-6.

A nivel de laboratorio se han encontrado %ER, en barreras de desnitrificación biológicas entre un 71 y un 87% (He *et al.*, 2016); entre un 44 y 93% (Hunter, 2002); y entre 73 y 96% (Gilbert *et al.*, 2008). Como se observa en la Figura 4-6, el %ER del tratamiento biológico fluctuó entre 71 y 95% valores dentro de los rangos mencionados en la literatura. Esta variación en los %ER se le atribuye a la temperatura durante el periodo de evaluación (enero 2018) pues el valor promedio fue de 18.7 °C en el interior del laboratorio. Al tratarse de un proceso biológico (Rivett *et al.*, 2008) menciona que dichos cambios pueden afectar la velocidad de la desnitrificación biológica.



**Figura 4-6. Eficiencia de remoción de nitratos en agua subterránea.**

Además se analizaron las concentraciones de  $N - NO_2^-$  y  $N - NH_4^+$  en el efluente. En el caso de la barrera biológica se tuvo una concentración hasta de 50 [mg/L] cercano al tercer día de evaluación. No obstante en días posteriores la concentración disminuyó, lo cual evidencia la adaptación de los microorganismos

a la barrera biológica. En promedio las concentraciones de  $N - NO_2^-$  durante el periodo de evaluación fueron de 1.87 [mg/L] presentes en el efluente (lo cual equivale a 5.95  $NO_2^-$  [mg/L]). El valor promedio para  $N - NH_4^+$  fue de 2.02 [mg/L] (equivalente a 2.45 [mg/L]  $NH_4^+$ ), por lo que durante el proceso de remoción biológica de nitrato, un 71.6% del  $N - NO_3^-$  se transformó a algunas formas diferentes de  $NO_2^-$  o  $NH_4^+$ , como el nitrógeno molecular o algunos subproductos intermedios en la desnitrificación biológica, como el óxido nítrico y el óxido nitroso. Estas sustancias aunque en condiciones favorables de pH, se transforman rápidamente en nitrógeno molecular (Hiscock *et al.*, 2003). En cuanto a la formación de  $N - NH_4^+$ , se podría relacionar con una reducción hasta amonio que se puede presentar en exceso de carbono disuelto (Capodici *et al.*, 2018).

Las condiciones promedio del pH en el efluente durante el periodo de la evaluación fue de  $7.50 \pm 0.26$ , lo que evidencia que el proceso de desnitrificación pudo haber llevado de manera completa hasta alcanzar transformar el nitrato en nitrógeno molecular por acción de los consorcios microorganismos presentes en la barrera biológica. El incremento en el pH se debe a la liberación de iones  $OH^-$  producto de las reacciones, los cuales se combinan hasta producir  $HCO_3^-$  (Rust *et al.*, 2000).

Con lo que respecta a la eficiencia mostrada por la zeolita natural acondicionada, los valores de %ER fluctuaron de acuerdo a la frecuencia en que se realizó el cambio de la barrera. Dichos cambios se presentaron en los días 10, 17, 22 y 28 de la evaluación, observado que la eficiencia disminuye al quinto día.

La pérdida de eficiencia del sistema de intercambio aniónico se puede atribuir a dos factores. Como primer factor se puede mencionar la concentración de aniones muy solubles presente en el agua subterránea como bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) y el cloruro ( $Cl^-$ ). De acuerdo con Samatya *et al.*, (2006) la presencia de estos aniones aumentan la competencia por los sitios de intercambio en la zeolita acondicionada.

En mediciones realizadas en el agua subterránea de Ciudad Universitaria en el periodo de investigación se encontró que variaciones en las concentraciones de aniones como los  $SO_4^{2-}$ , los cuales presentaron un valor de 44.26 [mg/L]  $\pm$  2.4, los  $Cl^-$  de 37.84 [mg/L]  $\pm$  0.57 y los  $HCO_3^-$  de 175.44 [mg/L]  $\pm$  2.40, además de la presencia de nitratos en el agua subterránea que varió entre 18.89 y 36.6 [mg/L], este último ion también reportado por Montiel *et al.*, (2014).

El segundo factor que afectó la eficiencia de la barrera de zeolita se le atribuye a la composición del material comercial utilizado, el cual presentó según el análisis por DRX hasta un 50% de zeolita natural tipo clinoptilolita, además de calcita (43%  $\pm$  2.65) y de cuarzo (25%  $\pm$  3), los cuales no contribuyen en aumentar los sitios de intercambio iónico.

En cuanto al tratamiento testigo fue posible observar un %ER de hasta un 40%, debido a que la arena utilizada presentó una CIA de 0.082 [meq/g], que combinado con las dimensiones del reactor proporcionaron hasta 332.18 [meq] de CIA. No obstante, los días 13, 23, 24 y 25 de evaluación las mediciones analíticas reportaron concentraciones de nitratos por encima de las aportadas en la entrada al sistema; por lo que se supone que en estos momentos al saturarse las cargas hubo una liberación del nitrato retenido.

Además, se encontró en algunas evaluaciones valores de hasta 2.2  $\pm$  2.6 [mg/L] N –  $NO_2^-$  y de 1.11  $\pm$  0.95 [mg/L] N –  $NH_4^+$  subproductos del proceso de desnitrificación biológica. Esto posiblemente a la presencia de bacterias endógenas del agua subterránea (Capodici *et al.*, 2018).

## **b) Costos de diseño**

En cuanto al costo de operación se analizaron los valores de los reactivos de laboratorio utilizados en cada una de las actividades, los materiales como tezontle y zeolita natural, así como el agua destilada y desionizada para los procesos de acondicionamiento de la zeolita natural y preparación de la solución nutritiva.

En el caso de la formación de la biopelícula adherida al tezontle para la operación de la barrera biológica, los costos que se aprecian en la Tabla 4-3 corresponden a las horas de mano de obra invertidas para la preparación de la solución nutritiva para el proceso de aclimatación y multiplicación del consorcio microbiano; además del proceso de fijación de la biopelícula,

**Tabla 4-3. Análisis del costo de diseño de una barrera biológica**

| <b>Costo</b>              | <b>Cantidad</b> | <b>Pesos</b>           |
|---------------------------|-----------------|------------------------|
| <b>Solución nutritiva</b> | 44.0 L          | 526.3                  |
| <b>Agua destilada</b>     | 44.0 L          | 625.1                  |
| <b>Tezontle</b>           | 3.9 Kg          | 16.1                   |
| <b>Mano de Obra</b>       | 304 h           | 19,300.0               |
| <b>Total</b>              |                 | <b>\$ 20,467.8 M.N</b> |

En cuanto a los costos de la barrera de intercambio aniónico se puede observar en la Tabla 4-4, para lo cual se consideró la cantidad de hidróxido de sodio utilizado para el acondicionamiento de la zeolita natural, así como el agua destilada y desionizada, como la mano de obra para realizar este proceso.

**Tabla 4-4. Análisis del costo de diseño de una barrera de intercambio aniónico**

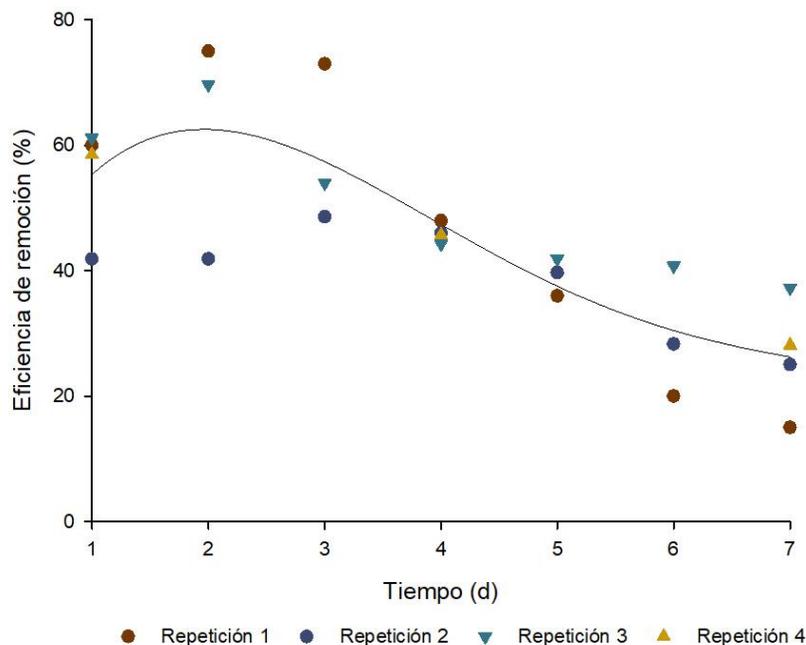
| <b>Insumo</b>                  | <b>Cantidad</b> | <b>Pesos</b>           |
|--------------------------------|-----------------|------------------------|
| <b>Reactivos (<i>NaOH</i>)</b> | 67.0 g          | 175.5                  |
| <b>Agua destilada</b>          | 201.0 L         | 2855.4                 |
| <b>Agua desionizada</b>        | 134.0 L         | 2236.8                 |
| <b>Zeolita natural</b>         | 3.3 Kg          | 38.6                   |
| <b>Mano de Obra</b>            | 120 h           | 7,500.00               |
| <b>Total</b>                   |                 | <b>\$ 12,810.3 M.N</b> |

Analizando los resultados presentados en la Figura 4-6, la barrera biológica alcanzó a remover 40.5 [mol] de nitrato del agua subterránea utilizada, mientras que la barrera de intercambio aniónico removió 19.7 [mol] de nitrato. Tomando los costos presentados en las Tablas 4-3 y 4-4, se puede mencionar que el costo de

remover 1 [mol] de nitrato utilizando la barrera biológica fue de \$504.7 M.N, mientras que para remover 1 [mol] de nitrato con la barrea de zeolita natural acondicionada \$650.3 M.N.

### c) Saturación de la zeolita

Se analizó los valores que se obtuvieron en cada una de los ciclos de operación de la barrera de intercambio aniónico. Durante el proceso de evaluación se realizaron los cambios de manera periódica cada 7 días. En la Figura 4-7 se observa los porcentajes de remoción de nitratos, se observa que para el cuarto día de operación se alcanzó en promedio la mayor remoción, llegando a saturarse para el séptimo día de operación aproximadamente.

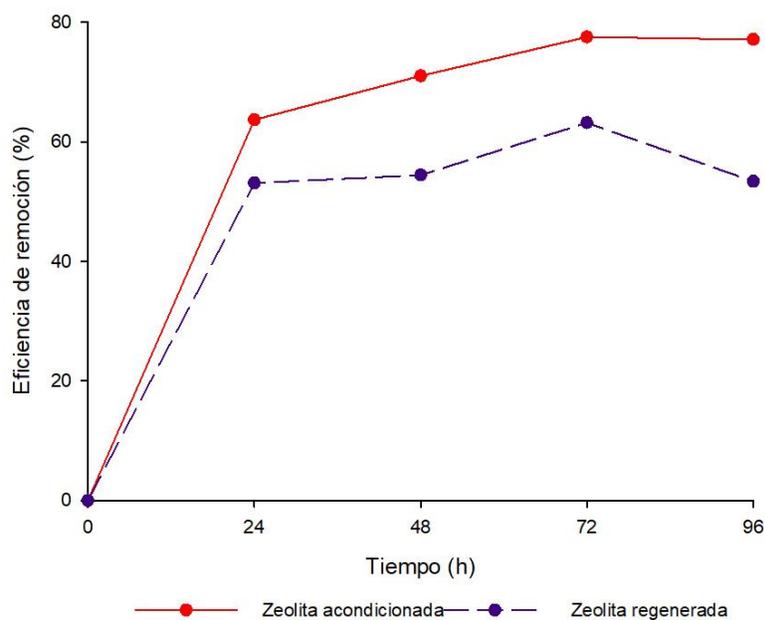


**Figura 4-7. Evaluación del tiempo de saturación de la barrera de zeolita.**

### d) Mantenimiento

Para la regeneración de la zeolita se analizó la capacidad de intercambio anionica, cuyo valor después del primer proceso de remoción en la barrera fue de 0.76 [meq/g] de zeolita.

También se realizó una prueba de remoción por lotes (prueba batch) para analizar el comportamiento de la zeolita posterior a la regeneración, la cual se observa en la Figura 4-8.



**Figura 4-8. Evaluación de la eficiencia de remoción de la zeolita activada y regenerada**

La zeolita natural regenerada redujo un 20% su capacidad de intercambio aniónica. La eficiencia de remoción a través del tiempo disminuye, pues alcanzó un valor máximo de 60% de ER h, mientras que para el mismo tiempo de evaluación (72 h) la zeolita natural acondicionada fue del 80%.

Los resultados obtenidos difieren con algunos valores reportados en la literatura. Rahmani *et al.*, (2009), realizó 3 procesos de regeneración sin pérdida en la capacidad de intercambio; por su parte Zhang *et al.*, (2017) realizó 20 ciclos de regeneración sin cambios, reportando cambios en el área superficial por efecto de microfracturas, esto último favoreció el aumento en el área superficial de la zeolita natural. Sin embargo Li *et al.*, (2010) obtuvo una disminución de la capacidad de intercambio, debió a la contaminación de la solución y de la zeolita en el proceso de regeneración además de la zeolita.

Cabe mencionar que según la prueba de difracción de rayos X, posterior al proceso de remoción de nitrato en la barrera, mostró una disminución en la cristalinidad. Agámez *et al.*, (2006) menciona que este proceso es consecuencia de una desaluminización que puede sufrir la estructura por una migración del aluminio a la superficie externa de la zeolita, la cual puede incidir en los posibles sitios de intercambio.

#### e) Pérdida de permeabilidad

Para determinar el cambio de permeabilidad se realizaron pruebas de conductividad hidráulica de los materiales utilizados, los cuales se aprecian en la Tabla 4-5. En el caso de la arena que contuvo los reactores de intercambio iónico y del tratamiento testigo, se mostraron valores similares al inicial, al igual que la zeolita utilizada en la barrera de intercambio iónico. En el caso del reactor biológico, la arena mostró una disminución en la permeabilidad de un 57% con respecto al valor inicial. Además de un cambio en la coloración de la matriz, según Jaramillo (2002) colores grisáceos corresponden a condiciones de reducción.

**Tabla 4-5. Análisis de permeabilidad de los materiales de las barreras.**

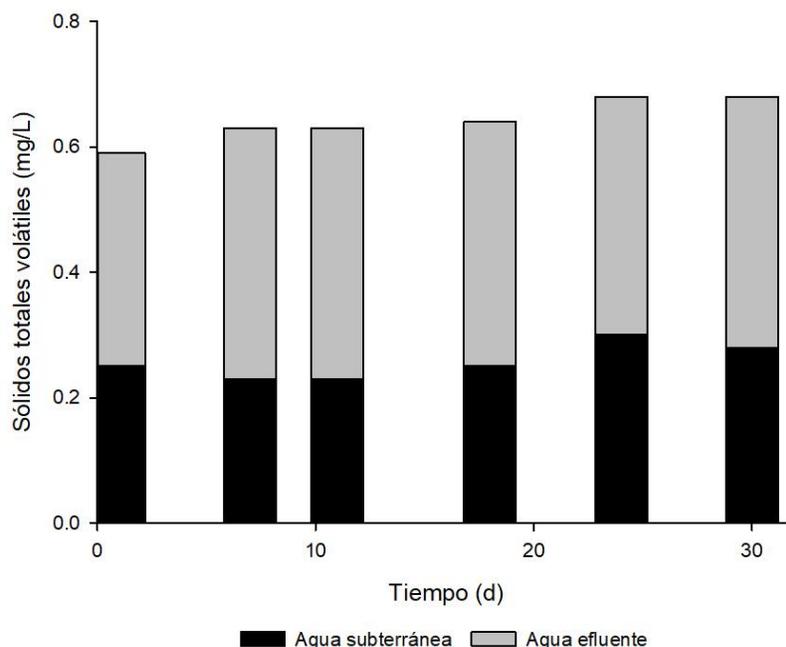
| Evaluación                             | inicial               | Final                 | Diferencia |
|--|-----------------------|-----------------------|------------|
| Material                               | $K_s [m/s]$           |                       | %          |
| Arena para reactores (arena y zeolita) | $2.35 \times 10^{-4}$ | $2.97 \times 10^{-4}$ | NDS        |
| Arena para reactores biológicos        |                       | $1.36 \times 10^{-4}$ | 57         |
| Zeolita                                | $1.10 \times 10^{-4}$ | $1.16 \times 10^{-4}$ | NDS        |
| Tezontle                               | $19.8 \times 10^{-4}$ | $4.60 \times 10^{-4}$ | 74         |

NDS: Sin diferencia significativa

En el caso del tezontle la permeabilidad disminuyó un 77% con respecto al valor inicial. Esta disminución en el coeficiente de permeabilidad coincide con los presentados con Arenas (2017), el cual reportó el cambio debido al crecimiento de la biopelícula en el medio.

## f) Crecimiento de biopelícula y generación de lodos

Del efluente del tratamiento biológico se tomaron muestras para realizar el análisis de STV, tanto del agua subterránea como del agua a la salida de los tratamientos. En la Figura 4-9, se observan los valores determinados.

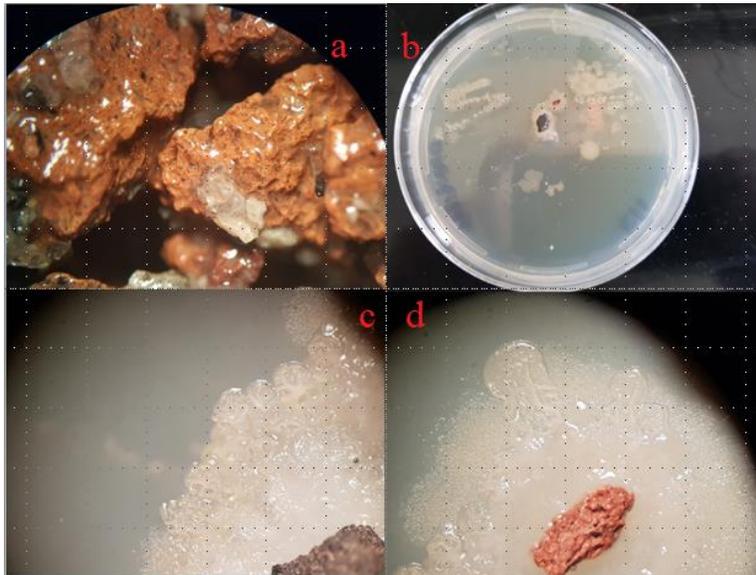


**Figura 4-9. Determinación de sólidos totales volátiles en muestras de agua subterránea y agua tratada en el sistema biológico.**

Como se observa en la Figura 4-9, las muestras de agua subterránea presentaron un valor promedio de STV de 0.256 [mg/L], por su parte las muestras de agua tomadas a la salida de la barrera biológica alcanzó un valor promedio de 0.640 [mg/L], con una tendencia a incrementarse a través del tiempo. Tanto los valores de permeabilidad como las concentraciones de STV y la eficiencia de remoción, mostraron una disminución a través del tiempo, como producto del crecimiento de la biopelícula en el tezontle.

A partir del tezontle recuperado de las columnas se colocaron muestras del material en solución nutritiva para observar el crecimiento de los posibles microorganismos presentes en el consorcio. En la Figura 4-10 se aprecia el crecimiento de la biopelícula y en la Figura 4-11 se observa las muestras

procesadas con la tinción de Gram y una muestra tomada en el agua sobre el tezontle.

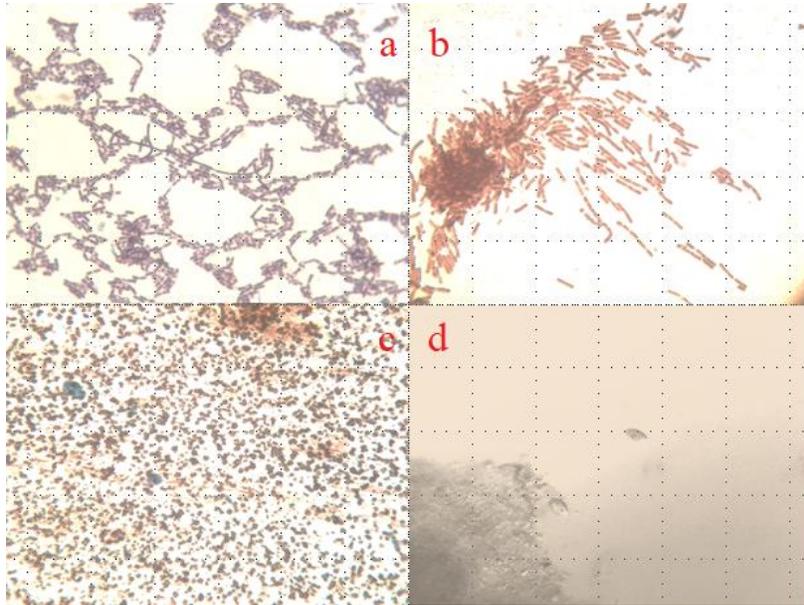


**Figura 4-10. Proceso de crecimiento del tezontle sobre medio de cultivo**

a- Muestra de tezontle (columna), b- Tezontle sobre el agar nutritivo, c y d crecimiento de microorganismos sobre el medio de cultivo

Ben *et al.*, (2016) menciona que varios géneros de bacterias de la clase *Bacillus* como *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp. y *Halomonas* son capaces de eliminar los altos niveles de nitrato del agua. También existen cepas de microorganismos modificadas a nivel de laboratorio con genes que promueven la desnitrificación como *Agrococcus* sp LN828197; *Cronobacter sakazakii* LN828198 y, *Pedicoccus pentosaceus* LN828199.

Cervantes (2009), menciona a otros microorganismos que pueden llevar a cabo el proceso de desnitrificación como: *Alcaligenes* sp, *Paracoccus* sp, *Thiobacillus* sp, *Rhodopseudomonas* sp, *Rhizobium* spp, *Neisseia* sp y *Propionibacterium* sp. La eficacia de cada microorganismo dependerá de las condiciones de pH y de la fuente de carbono.



**Figura 4-11. Muestras analizadas al microscopio óptico (a, b y c a 100 X) y d a 10 X.**

**Muestras a y b bacterias posibles estreptobacilos, c- bacterias tipo coco, d- microorganismo del phylum Ciliophora**

## 5. CONCLUSIONES

1. Se comprobó que una barrera reactiva biológica en ausencia de oxígeno disuelto, es más eficiente para realizar un proceso de desnitrificación en agua subterránea debido al desarrollo de microorganismos específicos para la remoción de nitrato, en comparación con una barrera de zeolita natural acondicionada, que se satura por la concentración de aniones presentes en el agua subterránea.
2. El uso de lodos granulares de un reactor anaerobio de flujo ascendente mostraron una mejor adaptación que los microorganismos provenientes del suelo, a un sustrato rico en nitrato para el desarrollo de un consorcio microbiano adherido sobre una barrera permeable de tezontle para la desnitrificación biológica en agua subterránea contaminada.
3. La zeolita natural tipo clinoptilolita acondicionada con  $NaOH$  a nivel de laboratorio, incrementó la capacidad de intercambio aniónico permitiendo la remoción de nitratos del agua subterránea y su uso como barrera permeable a escala piloto.
4. A nivel de laboratorio, la eficiencia de la barrera permeable biológica presenta un 80% en la remoción de nitratos en agua subterránea contaminada artificialmente, mientras que la barrera permeable de zeolita natural presenta un 35% de eficiencia, debido a la competencia entre nitrato con otros aniones presentes en el agua subterránea y el porcentaje de material con baja capacidad de intercambio aniónico como el cuarzo y la calcita.
5. La barrera biológica requirió 135 días para su establecimiento, mientras que la barrera de intercambio aniónica se preparó en 15 días. Desarrollar un gramo de la barrera biológica es un 28% menos costoso, que acondicionar un gramo de zeolita natural para la remoción de nitratos. Adicionalmente, la barrera biológica operó por 30 días consecutivos mientras que la barrera de intercambio aniónico se restituyó cada 6 días, ya que disminuyó su eficiencia de remoción de nitratos.

## **6. RECOMENDACIONES**

1. Utilizar otros materiales porosos para la fijación de la biopelícula, en especial aquellos que contribuyan como fuente de carbono orgánico.
2. Emplear otras zeolitas naturales comerciales, así como resinas de intercambio iónico.
3. Realizar estudios con barreras en serie que tengan adaptadas grupos de bacterias para cada paso de la desnitrificación hasta nitrógeno gaseoso (nitratos a nitritos a óxido nitroso hasta nitrógeno gaseoso), a fin que se consuman los productos intermedios del proceso
4. Realizar pruebas piloto en campo bajo situaciones de contaminación por nitratos en agua subterránea.

## 7. LITERATURA CITADA

A Y A (INSTITUTO COSTARRICENSE DE ACUEDUCTOS Y ALCANTARILLADOS). 2015. Informe de resultados, naciente el Salto, Paso Ancho y Boquerón de Oreamuno. Laboratorio Nacional de Aguas. AYA-PT-019-5. En prensa.

AGÁMEZ YY., OVIEDO LA., NAVARRO U., CENTENO MA., ODRIOZOLA JA. 2006. Modifications of the textural and structural properties of zeolite USY and its mixture with kaolin clay and chlorhydrol as consequence of the hydrothermal treatment. *Revista Colombiana de Química*. 35 (1) 7 -17.

ALVARADO J., SOTELO M., MEZA D., MAUBERT M., PAZ F. 2013. "Evaluación de la potencialidad de una chabasita natural mexicana en la remoción de plomo en agua". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 29 (2) 201-210.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION., WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. (APHA-AWWA-WEF). 1960. Métodos Estándar para el examen de aguas y aguas de desecho, incluyendo sedimentos bentales y lodos. Ed. Interamericana S.A. México. 609 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION., WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (APHA-AWWA-WEF).1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Washington D.C. USA. 1193 p.

ANORMU G., GIBRILLA A., ADOMAKO. 2017. "Tracking nitrate sources in groundwater and associated health risk for rural communities in the White Volta River basin of Ghana using isotopic approach ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  single bond  $\text{NO}_3$  and H)". *Science of the Total Environment*. 603 (1) 687 – 698.

ARANDA N., COMÍN F., HERRERA J. 2011. "Nitrogen and phosphorus Budget for the Yucatán litoral: An approach for groundwater management". *Environmental Monitoring and Assessment*. 172 (1) 493 – 505.

ARAÚJO R., MEIRA A., SANTOS J., FIÚZA A. 2016. "Nanosized iron based permeable reactive barriers for nitrate removal- Systematic review". *Physics and Chemistry of the Earth*. 94 (1) 29 – 34.

ARENAS G. 2017. Barreras reactivas aplicables en acuíferos para la remoción de materia orgánica proveniente de residuos urbanos. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 89 p.

ARORA M., EDDY N., MUFORD K., BABA Y., PERERA J., STEVENS GW. 2010. "Surface modification of natural zeolite by chitosan and its use for nitrate removal in cold regions". *Cold Regions Science and Technology*. 62 (1) 92- 97.

ATLAS R., BARTHA R. "Degradation and mineralization of petroleum in seawater: limitation by nitrogen and phosphorus". *Biotechnology Bioengineering*. 14 (3) 309-318.

AYEBO A., KROSS BC., VLAD M., SINCA A. 1997. "Infant metahemoglobinemia in the Transylvania Region of Romania". *International Journal of Occupational and Environmental Health*. 3(1) 20-29.

BAO T., CHEN T., WILLW ML., AHMADI N., RATHNAYAKE S., CHEN D., FROST R. 2016. "Synthesis, application and evaluation of non-sintered zeolite porous filter (ZPF) as novel filter media in biological aerated filters (BAFs)". *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 4 (1). 3374- 3384.

BARCZYK K., MOZGAWA W., KRÓL M. 2014."Studies of anions sorption on natural zeolites". *Spectrochimica Acta part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 133 (1) 876-882.

BEN F., FDHILA K., ELABED H., BOUGUERRA A., KOUIDHI B., BAKHROUF A., CHAIEB K. 2016. "Molecular identification of potential denitrifying bacteria and use of D-optimal mixture experimental design for the optimization of denitrification process". *Microbial Pathogenesis*. 93 (1) 158 – 165.

BERGQUIST A., KWON J., STRATHMANN TJ., WERTH CJ. 2016. "Evaluation of a hybrid ion exchange-catalyst treatment technology for nitrate removal from drinking water". *Water Research*. 96 (1)177-187.

BHAGOWATI B., AHAMAD KU. 2016. "A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling". *Ecohydrology & Hydrobiology*. 175 (1) 1- 12.

BHATNAGAR A., SILLANPÄÄ. 2011. "A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water". *Chemical Engineering Journal*. 168 (1) 493- 504.

BLOWES D., PTACEK C., BENNER S., MCRAE C., BENNETT T., PLUS R. 2000. "Treatment of inorganic contaminants using permeable reactive barriers". *Journal of Contaminant Hydrology*. 45 (1) 123-137.

BOUMEDIENE M., ACHOUR D. 2004. "Denitrification of the underground waters by specific resin exchange of ion". *Desalination*. 168 (1) 187-194.

BOWLING LC., MERRICK C., SWANN J., GREEN D., SMITH G., NEILAN B. 2013. "Effects of hydrology and river management on the distribution, abundance and persistence of cyanobacterial blooms in the Murray River, Australia". *Harmful Algae*. 30 (1) 27 - 36.

BRETTAR I., TRÉMOLIERES M., SANCHEZ JM. 2002. "Nitrate elimination by denitrification in hardwood forest soils of the Upper Rhine floodplain - correlation with redox potential and organic matter". *Hydrobiologia*. 469 (1): 11- 21.

CABRERA A., PACHECO J. 2003. "Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas". *Revista Académica de la facultad de Ingeniería*. 7 (2) 47 – 54.

CABRERA E., HERNÁNDEZ L., GÓMEZ H., CAÑIZARES MP. 2003. "Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar". *Journal of the Mexican Chemical Society*. 47 (1) 88 – 92.

CALLENDER E., HAMMOND D. 1982. "Nutrient Exchange across the sediment water interface in the Potomac River Estuary". *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 15 (1) 395-413.

CAPODICI M., AVONA A., LAUDICINA VA., VIVIANI G. 2018. "Biological groundwater denitrification system: Lab-scale trials aimed at nitrous oxide production and emission assessment". *Science of The Total Environment*. 630 (1) 462 – 468.

CERVANTES F. 2009. Environmental Technologies to treat Nitrogen Pollution. Sub-department of environmental technology, UNESCO. Netherlands. 446 p.

CHU L., WANG J. 2016. "Denitrification of groundwater using PHBV blends in packed bed reactors and the microbial diversity". *Chemosphere*. 155 (1) 463-470.

CLAROS J. 2012. Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de aguas residual con alta carga de nitrógenos amoniacal. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia. España. 254 p.

CONAGUA (COMISION NACIONAL DEL AGUA). 2016. Atlas del Agua en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. 140 p.

CORTES M. 2011. Flujo, movimiento, transporte, entradas y transformaciones de nitratos en el agua subterránea en las inmediaciones de Tlahuelilpan. Valle del

Mezquital, Hidalgo. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 70 p.

DAESSLÉ L., RUIZ L., TOBSCHALL H., CHANDRAHITH R., CAMACHO V., MENDOZA L., QUITANILLA A., LUGO K. 2009. "Fluoride, nitrate and water hardness in groundwater supplied to the rural communities of Ensenada County, Baja California, Mexico". *Environmental Geology*. 58 (1) 419- 429.

DE GENNARO B., CATALANOTTI L., BOWMAN R., MERCURIO M. 2014. "Anion exchange selectivity of surfactant modified clinoptilolite-rich tuff for environmental remediation". *Journal of Colloid and Interface Science*. 430 (1) 178 – 183.

DEBELA T., BEYENE A., TESFAHUN E., GETANEH A., GIZE A., MEKONNE Z. 2016. "Fecal contamination of soil and water in sub Saharan Africa cities: The case of Addis Ababa, Ethiopia". *Ecohydrology & Hydrobiology*. 18 (2) 225 - 230.

DENK T., MOHN J., DECOCK C., LEWICKA D., HARRIS E., BUTTERBACH K., KIESE R., WOLF B. 2017. "The nitrogen cycle: A review of isotope effects and isotope modeling approaches". *Soil Biology and Biochemistry*. 105 (1) 121 – 137.

DÍAZ C. 2011. Cuantificación de la lixiviación de nitratos en una parcela regada con agua residual en el Valle del Mezquital. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 75 p.

DÍAZ RE., BRAVO LC., ALATORRE LC., SÁNCHEZ E. 2013. "Presión antropogénica sobre el agua subterránea en México: una aproximación geográfica". *Boletín del Investigaciones Geofísicas*. 82 (1) 93-103.

DOWNS T., CIFUENTES E., MEL I. 1999. "Risk Screening for Exposure to Groundwater Pollution in a Wastewater Irrigation District of the Mexico City Region". *Environmental Health Perspectives*. 107 (7) 553 – 561.

ECKENFELDER W. 1989. Industrial Water Pollution Control. McGraw Hill Book Company. United State. 400 p.

FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), OMS (Organización Nacional de la Salud). 1996. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Nitrate. Safety evaluation of certain food additives. Food Additives Series 35. [en línea]. [consultado 14 de septiembre del 2018]. Disponible en el World Wide Web: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je01.htm>.

FENG L., MU J., SUN J., KOMG Y., WANG J., LV Z., ZHU L., XU X., YANG G. 2017. "Kinetic characteristics and bacterial structures in biofilm reactors with pre-cultured biofilm for source water pretreatment". *International Biodeterioration & Biodegradation*. 121 (1) 26 – 34.

FERNÍCOLA N., AZEVEDO F. 1981. "Metemoglobinemia e nitrato nas aguas". *Revista Saude pública Sao Pablo*. 15(1). 242-248.

FEWTRELL L. 2004. "Drinking water nitrate, methamoglobinemia and global burden of disease: a discussion". *Environmental Health Perspective*. 112 (14) 1371-1374.

FIGUEIREDO N., CARRANCA C., GOUFO P., PEREIRA J., TRNDADE H., COUTINHO J. 2015. "Impact of agricultural practices, elevated temperature and atmospheric carbon dioxide concentration on nitrogen and pH dynamics in soil and flood water during the seasonal rice growth in Portugal". *Soil & Tillage*. 145 (1) 198 – 207.

FLORES L., ALCALÁ J.R. 2010. Manual de Procedimientos Analíticos. Laboratorio de Física de Suelos. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Departamento de Geología. 56 p.

FOSTER S. 2000. "Assessing and controlling the impacts of agriculture on groundwater — from barley barons to beef bans". *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*. 33 (1) 263 – 280.

GALLOWAY J., ABER J., WILLEM J., SEITZINGER S., HOWART W., COWLING E., COSBY J. 2003. "The Nitrogen Cascade". *American Institute of Biological Sciences*. 53 (1) 341 – 356.

GAVASKAR A. 1999. "Design and construction techniques for permeable reactive barriers". *Journal of Hazardous Materials*. 68 (1) 41 -71.

GERARDI M. 2006. *Wastewater Bacteria*. Ed. Wiley-Interscience a John Wiley & Sons. United States. 256 p.

GHAFFARI S., HASAN M., KHEIREDDINE A. 2008. "Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater- A review". *Bioresource Technology*. 99(1) 3965 – 3974.

GILBERT O., POMIERNY S., ROWE I., KALIN R. 2008. "Selection of organic substrates as potential reactive materials for use in a denitrification permeable reactive barrier (PRB)". *Bioresource Technology*. 99 (16): 7587 – 7596.

GÓMEZ MA., GONZÁLEZ J., HONTORIA E. 2000. "Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter". *Journal of Hazardous Materials*. 80 (3) 69 – 80.

GOURAN R., MIRZAYI B., NEMATOLLAHZADEH A., TARDAST A. 2018. "Competitive adsorption of nitrate in fixed-bed column packed with bio-inspired polydopamine coated zeolite". *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 6(2) 2232-2240.

GRAAF I., Van BEEK L., WADA Y., BIERKENS M. 2014. "Dynamic attribution of global water demand to surface water and groundwater resources: Effects of abstractions and return flows on river discharges". *Advances in Water Resources*. 64(14) 21-33.

GUGAVA E., KOROKHASHVII A. 2018. "Technologies for obtaining nitrogen fertilizers prolonged effect in wheat". *Annals of Agrarian Science*. 16 (1) 22-26.

GUTIERREZ MT., MALONE R., RUSCH K. 2012. "Evaluation of polyhydroxybutyrate as a carbon source for recirculating aquaculture water denitrification". *Aquacultural Engineering*. 51 (1) 36- 43.

HE Q., FENG C., PENG T., CHEN N., HU Q., HAO C. 2016. "Denitrification of synthetic nitrate-contaminated groundwater combined with rice washing drainage treatment". *Ecological Engineering*. 95 (2016) 152 – 159.

HERNÁNDEZ O. 2013. Cuantificación de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  en aguas subterráneas de la zona sureste del Valle de México mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de intercambio iónico. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 88 p.

HERRIDGE D., PEOPLES M., BODDEY R. 2008. "Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems". *Plant Soil*. 311 (2) 1 – 18.

HILL MJ. 1999. "Nitrate toxicity: myth or reality?". *British Journal of Nutrition*. 81 (1) 343-344.

HISCOCK KM., BATEMAN AS., MUHLHERR IH., FUKADA T., DENNIS PF. 2003. "Indirect emissions of nitrous oxide from regional aquifers in the United Kingdom". *Environmental Science Technology*. 37 (16) 3507 – 3512.

HSU Y., BYTNEROWICZ A., FENN M., PERCY K. 2016. "Atmospheric dry deposition of sulfur and nitrogen in the Athabasca oil sands region, Alberta, Canada". *Science of the total Environment*. 568 (1) 285 – 295.

HUANG G., HUANG Y., HU H., LIU F., ZHANG Y., DENG R. 2015. "Remediation of nitrate-nitrogen contaminated groundwater using a pilot scale two layer heterotrophic-autotrophic denitrification permeable reactive barrier with spongy iron/pin bark". *Chemosphere*. 130 (2015) 8 – 16.

HUNTER W. 2002. "Bioremediation of Chlorate or Perchlorate Contaminated water using Permeable Barriers Containing Vegetable Oil". *Current Microbiology*. 45 (1) 287 – 292.

IPCC (Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático). 2007. Cambio Climático 2007, Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático [Equipo de redacción principal: Pachauri, R.K. y Reisinger, A. (directores de la publicación)]. IPCC, Ginebra, Suiza, 104 p.

JAMALI N., JAHIM J., ISAHAK W., ABDUL P. 2017. "Particle size variations of activated carbon on biofilm formation in thermophilic biohydrogen production from palm oil mill effluent". *Energy Conversion and Management*. 141 (1) 354 – 366.

JARAMILLO D. 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 619 p.

KARANASIOS K., VASILIADOU I., TEKERLEKOPOULOU A., AKRATOS C., PAVLOU S., VAYENAS D. 2016. "Effect of C/N ratio and support material on heterotrophic denitrification of potable water in bio-filters using sugar as carbon source". *International Biodeterioration & Biodegradation*. 111 (1) 62 – 73.

KIKHAVANIA T., ASHRAFIZADEHA S., VAN DER BRUGGEN B. 2014. "Nitrate Selectivity and Transport Properties of a Novel Anion Exchange Membrane in Electrodialysis". *Electrochimica Acta*. 144 (1) 341 -351.

KIRBY M., MILLER H. 2005. "Response of a benthic suspension feeder (*Crassostrea virginica*) to three centuries of anthropogenic eutrophication in Chesapeake Bay". *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 62 (2) 679-689.

KNOWLES R. 1982. "Denitrification". *Microbiological Review*. 46 (1) 43 – 70.

KODERA T., AKIZUKI S., TODA T. 2017. "Formation of simultaneous denitrification and methanogenesis granules in biological wastewater treatment". *Process Biochemistry*. 58 (1) 252-257.

KORKISCH J. (1988). CRC Handbook of Ion Exchange Resins, Volume VI. New York: Routledge.

KRISHNA T.V., NANCHARAIH Y.V., VENUGOPALAN V.P., SATYA P. 2016. "Effect of C/N ratio on denitrification of high-strength nitrate wastewater in anoxic granular sludge sequencing batch reactors". *Ecological Engineering*. 91 (1) 441-448.

LARIOS L. 2009. "Metahemoglobinemia en niños: situación actual". *Archivo Médico de Camaguey*. 13 (3) 1- 9.

LEE KC., RITTMAN B. 2003. "Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor". *Water Research*. 37 (2003) 1551 – 1556.

LENNTECH. 2018. Rohm and Haas Resins. [en línea]. [consultado 14 de septiembre del 2018]. Disponible en el World Wide Web: <https://www.lenntech.com/products/Rohm-Haas-Resins/index.html>.

LEVCHUK I., RUEDA JJ., SILLANPÄÄ M. 2018. "Removal of natural organic matter (NOM) from water by ion exchange". *Chemosphere*. 192 (1) 90-104.

LI J., MENG J., LI J., WANG C., DENG K., SUN K., BUELNA G. 2016. "The effect and biological mechanism of COD/TN ratio on nitrogen removal in a novel upflow microaerobic sludge reactor treating manure-free piggery wastewater". *Bioresource Technology*. 209 (1) 360 – 368.

LI M., FENG C., ZHANG Z., LEI X., CHEN N., SUGIURA N. 2010. "Simultaneous regeneration of zeolites and removal of ammonia using an electrochemical method". *Microporous and Mesoporous Materials*. 127 (3) 161- 166.

LI R., FENG C., CHEN N., ZHANG B., HAO C., PENG T., ZHU X. 2014. "A bench-scale denitrification wall for simulating the in-situ treatment of nitrate-contaminated groundwater". *Ecological Engineering*. 73 (1) 536 – 544.

LIU J., CHENG X., ZHANG Y., WANG X., ZOU Q., FU L. 2017. "Zeolite modification for adsorptive removal of nitrite from aqueous solutions". *Microporous and Mesoporous Material*. 252 (1) 179-187.

LIU SJ., ZHAO Z., LI J., WANG J., QI J. "An anaerobic two-layer permeable reactive biobarrier for the remediation of nitrate-contaminated groundwater". *Water Research*. 47 (16) 5977 – 5985.

LIU Y., ZHANG B., HU F., VELDE B. 2008. "Long-term fertilization Influences on clay mineral composition and Ammonium adsorption in a Rice Paddy Soil". *Soil Fertility & Plant Nutrition*. 72 (1) 1580 – 1590.

LOMSADZE Z., MAKHARADZE K., PIRTSKHALAVA R. 2017. "The ecological problems of rivers of Georgia (The Caspian Sea basin)". *Annals of Agrarian Science*. 14 (1) 237-242.

LOZANO J. 2009. Herramientas moleculares para la detección de cianobacterias nocivas presentes en cuerpo de agua. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.

LUNA J., FUENTES N. PERERA Y. PÉREZ O., CASTRUITA G. 2015. "Caracterización de clinoptilolita natural y modificada con  $\text{Ca}^{2+}$  por distintos métodos físico-químicos para su posible aplicación en procesos de separación de gases". *Superficies y Vacío*. 28(1) 5-11.

LUO G., XU G., TAN H., GAO J., LIU W. 2016. "Effect of dissolved oxygen on denitrification using polycaprolactone as both the carbon source and the biofilm carrier". *International Biodeterioration & Biodegradation*. 110 (1) 155 – 162.

LUO T., ABDU S., WESSLING M. 2018. "Selectivity of ion exchange membranes: A review". *Journal of Membrane Science*. 555 (1) 429-454.

MA J., STEVENS W., MUMFORD K. 2018. "The effect of temperature on hydrocarbon adsorption by diphenyldichlorosilane coated zeolite and its application in permeable". *Cold Regions Science and Technology*. 145 (1) 169-176.

MANNINA G., CAPODICI M., COSENZA A., DI TRAPANI D., EKAMA G. 2018. "The effect of the solids and hydraulic retention time on moving bed membrane bioreactor performance". *Journal of Cleaner Production*. 170 (1) 1305 – 1315.

MARTÍNEZ DE ZABARTE JM., GARCÍA JP., DOMÍNGUEZ M. 2017. "Metahemoglobinemia en lactantes mayores de un año". *Medicina Clínica*. 88 (6) 335-340.

MARTINEZ J., ORTIZ A., ORTIZ I. 2017. "State of the art and perspectives of the catalytic and electrocatalytic reduction of aqueous nitrates". *Applied Catalysis B: Environmental*. 207 (1) 42-59.

MASTER G., ELA W. 2008. *Introducción a la Ingeniería Medio Ambiental*. Ed Pearson Educación. Madrid, España. 753 p.

MATHIEU O., LÉVEQUE J., HÉNAULT C., MILLOUX M., BIZOUARD F., ANDREUX F. 2006. "Emissions and spatial variability of N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> and nitrous oxide mole fraction at the field scale, revealed with <sup>15</sup>N isotopic techniques". *Soil Biology and Biochemistry*. 38(5) 941-951.

MATOŠIĆ M., MIJATOVIĆ I., HODŽIĆ E. 2000. "Nitrate removal from drinking water using ion Exchange, Comparison of Chloride and Bicarbonate from of the resins". *Chemistry Biochemistry*. 14(4) 141- 146.

MAZLOOMI F., JALALI M. 2016. "Ammonium removal from aqueous solutions by natural Iranian zeolite in the presence of organic acids, cations and anions". *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 4 (2) 240 - 249.

METCALF y EDDY INC. 1996. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. Tomo II. McGraw Hill. México. 1485 p.

MIJAYLOVA P., MOELLER G., BUSTOS C., GARZÓN MA. HORNELAS Y. 2008. "Comparison of bioreactors with different kinds of submerged packed beds for domestic wastewater treatment". *Water Science & Technology*. 58 (1) 29 – 36.

MOELLER G., FERAT C. 1990. Manual de prácticas microbiología sanitaria. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. 130 p.

MONTGOMERY DC. 2005. Design and Analysis of Experiments. 6<sup>a</sup> edition. John Wiley and Sons. North Carolina, USA. 277 p.

MONTIEL S. 2015. Comportamiento Hidrogeoquímico del nitrato en el agua subterránea de la zona suroeste de la cuenca de México. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 136 p.

MONTIEL S., ARMIENTA MA., RODRIGUEZ R., DOMÍNGUEZ E. 2014. "Identificación de zonas de contaminación por nitratos en el agua subterránea de la zona sur de la cuenca de México". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 30 (2) 149- 165.

MOUSSAVI G., SHEKOOHIYAN S. 2016. "Simultaneous nitrate reduction and acetaminophen oxidation using the continuous-flow chemical-less VUV process as an integrated advanced oxidation and reduction process". *Journal of Hazardous Materials*. 318 (1) 329-338.

NEMATOLLAHZADEH A., SERAJ S., MIRZAYI B. 2015. "Catecholamine coated maghemite nanoparticles for the environmental remediation: Hexavalent chromium ions removal". *Chemical Engineering Journal*. 277 (1) 21-29.

NORMA MEXICANA. NMX-AA-007-SCFI-2013. “Análisis de agua – Medición de la temperatura en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba”. Diario Oficial de la Federación, 23 de enero de 2014.

NORMA MEXICANA. NMX-AA-008-SCFI-2016. “Análisis de agua- medición de pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba”. Diario Oficial de la Federación, 09 de septiembre de 2016.

NORMA MEXICANA. NMX-AA-012-SCFI-2009. “Determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba”. Diario Oficial de la Federación, 12 de julio de 2010.

NORMA MEXICANA. NMX-AA-030/1-SCFI-2012. “Análisis de agua- Medición de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.- Método de prueba. Parte 1 - Método de reflujo abierto”. Diario Oficial de la Federación, 21 de mayo de 2013.

NORMA MEXICANA. NMX-AA-034-SCFI-2001. “Análisis de agua-Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.- Método de prueba”. Diario Oficial de la Federación, 01 de agosto de 2001.

NORMA MEXICANA. NMX-AA-038-SCFI-2001. “Análisis de agua-Determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas- Método de prueba”. Diario Oficial de la Federación, 01 de agosto de 2001.

NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-001-SEMARNAT-1996. “Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales”. Diario Oficial de la Federación, 6 de enero de 1997.

NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-002-SEMARNAT-1996. “Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales los sistemas de alcantarillado urbano o municipal”. Diario Oficial de la Federación, 3 de junio de 1998.

NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-003-SEMARNAT-1997. “Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público”. Diario Oficial de la Federación, 21 de septiembre de 1998.

NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-004-SEMARNAT-2002. “Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final”. Diario Oficial de la Federación, 15 de marzo del 2003.

NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-015-CONAGUA-2007. “Infiltración artificial de agua a los acuíferos. Características y especificaciones e las obras y del agua”. Diario Oficial de la Federación, 18 de agosto de 2009.

NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-127-SSA1-1994. “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”. Diario Oficial de la Federación, 22 de noviembre de 2000.

OBIRI F., GRAJALES J., MALINA G. 2014. “An overview of permeable reactive barriers for in situ sustainable groundwater remediation”. Chemosphere. 111 (2014) 243 – 259.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 1985. Health Hazards from Nitrates in Drinking Water. Report on WHO meeting. Copenhagen 5-9 March 1984. Geneva: World Health Organization.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2006. Guías para la calidad del agua potable. Tercera Edición. Ed. Organización Mundial de la Salud. Suiza 408p. [en línea]. [consultado 4 de abril del 2018]. Disponible en: el World Wide Web: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health](http://www.who.int/water_sanitation_health).

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2011. Nitrate and nitrite in drinking water. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 31 p.

OVEZ B. 2006. "Batch biological denitrification using *Arundo donax*, *Glycyrrhiza glabra* and *Gracilaria verrucosa* as carbon source". *Process Biochemistry*. 41 (6) 1289-1295.

PACHECO J., CABRERA A. 1997. Groundwater Contamination by Nitrates in the Yucatan Peninsula, México. *Hydrogeology Journal*. 5 (2) 47 – 53.

PACHECO J., CABRERA A., PÉREZ R. 2004. "Diagnóstico de la calidad del agua subterránea en los sistemas municipales de abastecimiento en el Estado de Yucatán, México". *Ingeniería*. 8 (2) 165- 179.

PACHECO J., MARÍN L., CABRERA A., STEINICH B., ESCOLERO O. 2001. "Nitrate temporal and spatial in 12 water supply Wells, Yucatan, Mexico". *Environmental Geology*. 6 (1) 708-715.

PACHECO J., MÉNDEZ R., CABRERA S., CASTILLO E., VÁSQUEZ E., CABAÑAS D. 2015. Evaluación espacio temporal de la contaminación por Nitratos del agua subterránea en Yucatán, México. In: Memoria 2° congreso Nacional AMICA. Puebla, México.

PAGNANELLI F., CRUZ C., MAINELLI S., TORO L. 2009. "Assessment of solid reactive mixture for the development of biological permeable reactive barriers". *Journal of Hazardous Materials*. 170 (3) 998- 1005.

PASTÉN E., LEDESMA R., HARTER T., RAMÍREZ A., MAHLKNECHT J. 2014. "Assessment of sources and fate of nitrate in shallow groundwater of an agricultural area by using a multi-tracer approach". *Science of the Total Environment*. 470-471 (1) 855- 864.

PAYRA P., DUTTA P. 2003. Zeolite a Primer. In AUERBACH SM., CARRADO KA., DUTTA PK. Handbook of Zeolite Science and Technology. New York, USA. Marcel Dekker Inc. 1- 24 p.

PI K., WANG Y., XIE X., MA T., LIU Y., SU C., ZHU Y. 2017. "Remediation of arsenic contaminated groundwater by in situ stimulating biogenic precipitation of iron sulfides". *Water Research*. 109 (1) 337 – 346.

POLATIDES, C., DORTSIOU, M., KYRIACOU, G., 2005. "Electrochemical removal of nitrate ion from aqueous solution by pulsing potential electrolysis". *Electrochimica Acta*. 50 (25) 5237–5241.

POWELL R., BLOWES D., GILLHAM R., SCHULTZ D., SIVAVEC T., PULS R., VOGAN J., POWELL P. 1998. Permeable reactive barrier technologies for contaminant remediation. United States Environmental Protection Agency. Washington DC, United State. 102 p.

PRIMO O., RIVERO M., URTIAGA A., ORTIZ I. 2009. "Nitrate removal from electro-oxidized landfill leachate by ion Exchange". *Journal of Hazardous Materials*. 164 (1) 389-393.

RAHMANI AR., SAMADI MT., EHSANI HR. 2009. "Investigation of Clinoptilolite natural zeolite regeneration by air stripping followed by ion Exchange for removal of ammonium from aqueous solution". *Iran Journal Environmental Health Science Engineering*. 6 (3) 167 – 172.

RAMALHO R. 1996. Tratamiento de aguas residuales. Ed Reverte. Barcelona, España. 705 p.

RASHID NS., PRAVEENA SM., ARIS AZ. 2015. "Drinking water assessment on ammonia exposure through tap water in Kampung Sungai Sekamat, Kajang". *International Conference of Environmental Forensics*. 30 (1) 354-357.

RAYMOND J., FOX T., STRAHM B., ZERPA J. 2016. "Ammonia volatilization following nitrogen fertilization with enhanced efficiency fertilizers and urea in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) plantations of the southern United States". *Forest Ecology and Management*. 376 (1) 247 – 255.

RENT X., SUN R., MENG X., VOROBIEV N., SCHIMEMANNM., LEVENDIS Y. 2017. "Carbon, sulfur and nitrogen oxide emissions from combustion of pulverized raw and torrefied biomass". *Fuel*. 188 (1) 310 – 323.

RESINTECH. 2018. Ion Exchange. [en línea]. [consultado 14 de septiembre del 2018]. Disponible en el World Wide Web: <https://www.resintech.com/products/mixed-bed-resins>

REYES FM. 2007. Análisis de Emisiones Vehiculares por Espectroscopía FTIR. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 276 p.

RIVETT M., BUSS S., MORGAN P., SMITH J., BEMMENT C. 2008. "Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes". *Water Research*. 42 (16) 4215 -4232.

RIZVI H., AHMAD N., ABBAS F., HUSSAIN I., YASAR A., ALI S., YASMEEN T., RIAZ M. 2015. Start-up of UASB reactors treating municipal wastewater and effect of temperature/sludge age and hydraulic retention time (HRT) on its performance. *Arabian Journal of Chemistry*. 8 (6) 780 -786.

RODRÍGUEZ S., GAUNA L., MARTÍNEZ G., ACEVEDO H., ROMERO C. 2012. "Relación del nitrato sobre la contaminación bacteriana del agua". *Terra Latinoamericana*. 30 (2) 111-1119.

RUST C, AELION, C, FLORA J. 2000. "Control of pH during denitrification in sub-surface sediment microcosms using encapsulated phosphate buffer". *Water Research*. 34 (5), 1447–145.

SAFWAT M. 2018. "Performance of moving bed biofilm reactor using effective microorganism". *Journal of Cleaner Production*. 185 (1) 723- 731.

SALAZAR M., HERNÁNDEZ L., PRADO B., SIEBE C. 2018. Entendimiento del movimiento del agua, la dinámica de nitrógeno y el destino ambiental del herbicida Atrazina en la zona vadosa de un observatorio de la zona crítica regado con agua

residual. En: XLII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Texcoco, Estado de México, México. Ed. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo 419 p.

SAMATYA D., KABAY N., YÜKSEL Ü., ARDA M., YÜKSEL M. 2006. "Removal of nitrate from aqueous solution by nitrate selective ion exchange resins". *Reactive & Functional Polymers*. 66 (11) 1206 – 1214.

SCHWEITZER L., NOBLET J. 2017. Water Contamination and Pollution. En Torok B., DRANSFIELD T. Green Chemistry an inclusive approach. Boston, United State. Ed. ELSEVIER. (pp. 261-290).

SHERRY H. 2003. Ion Exchange. In AUERBACH SM., CARRADO KA., DUTTA PK. Handbook of Zeolite Science and Technology. New York, USA. Marcel Dekker Inc. 1271 – 1353 p.

SIMEK M., JISOVÁ L., HOPKINS DW. 2002. "What is the so called optimum pH for denitrification in soils". *Soil Biology & Biochemistry*. 34 (9). 1227- 1234.

SINGH S., SHARMA A., KUMAR B., KULSHRESTHA UC. 2017. "Wet deposition fluxes of atmospheric inorganic reactive nitrogen at an urban and rural site in the Indo-Gangetic Plain". *Atmospheric Pollution Research*. 8 (4) 669 – 677.

STEINICH B., ESCOLERO O., MARÍN L. 1998. "Salt-water intrusión and nitrate contamination in the Valley of Hermosillo and El Sahuaral coastal aquifers, Sonora, Mexico". *Hydrogeology Journal*. 6 (4) 518 – 526.

STROCK JS. 2008. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. *Capitulo Ammonification*. 162 – 165 p.

SU C., PULS R. 2007. "Removal of added nitrate in the single, binary and ternary systems of cotton burr compost, zerovalent iron, and sediment: Implications for groundwater nitrate remediation using permeable reactive barriers". *Chemosphere*. 67 (8) 1653 – 1662.

SUBBARAO G., SAHRAWAT K., NAKAHARA K., RAO I., ISHITANI M., HASH C., KISHII M., BONNETT D., BERRY W., LATA J. 2013. "A paradigm shift towards low-nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI)". *Annals of Botany*. 112 (2) 297 – 316.

SUN Y., FANG Q., DONG J., CHENG X., XY J. 2011. "Removal of fluoride from drinking water by natural stilbite zeolite modified with Fe (III)". *Desalination*. 277 (1) 121-127.

SUN Z., LV Y, M LIU T., REN R. 2016. "Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a novel metal resistant bacterium *Cupriavidus* sp. S1". *Bioresource Technology*. 220 (1) 142 – 150.

TANG Y., ZHOU C., ZIV M., RITTMANN B. 2012. "A pH-control model for heterotrophic and hydrogen based autotrophic denitrification". *Water Research*. 45 (1) 233- 240.

TESFAMARIAM T., YOSHINAGA H., DESHPANDE S. RAO P., SAHRAWAT K., ANDO Y., NAKAHARA K., HASH C., SUBBARAO. 2014. "Biological nitrification inhibition in sorghum: roles of sorgoleone production". *Plant Soil*. 379 (1) 325 – 335.

VAN GROENIGEN J., HUYGENS D., BOECKX P., KUYPER W., LUBBERS I., RUTTING T., GROFFMAN PM. 2015. "The soil N cycle: new insights and key challenges". *Soil Journal*. 1 (2015) 235 – 256.

VAN HAM R., O'CALLAGHAN M., GEURT R., RIDGWAY H., BALLARD R., NOBLE A., MACARA G., WAKELIN S. 2016. "Soil moisture deficit selects for desiccation tolerant *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolli". *Applied Soil Ecology*. 108 (1) 371 – 380.

VILLICAÑA F. 2015. Determinación experimental del equilibrio de intercambio iónico del sistema Arseniato/Cloruro con una resina de intercambio iónico fuerte. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 70 p.

VITORIA I. 2004. "Agua de bebida en el lactante". *Anales de Pediatría*. 60 (2) 161-169.

VITORIA I., MARAVER F., SÁNCHEZ F., ARMIJO F. 2015. "Contenido en nitratos de aguas de consumo público españolas". *Gaceta Sanitaria*. 29 (3) 217 -220.

WAGNER C. 2011. "Biological Nitrogen Fixation". *Nature Education Knowledge*. 3 (1): 10- 15.

WANG J., CHU L. 2016. "Biological nitrate removal from water and wastewater by solid-phase denitrification process". *Biotechnology Advances*. 34 (6) 1103- 1112.

WANG L., PEREIRA N., HUNG YT. 2008. Handbook of Environmental Engineering, Biological Treatment Processes. Humana Press c/o Springer Science, Business Media. New York, USA. 883 p.

WANG Q., FENG C., ZHAO Y., HAO C. 2009. "Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor". *Bioresource Technology*. 100 (7) 2223- 2227.

WANG Y., PLEASANT S., JAIN P., POWELL J., TOWNSEND. 2016. "Calcium carbonate-based permeable reactive barriers for iron and manganese groundwater remediation at landfills". *Waste Management*. 53 (1) 128 – 135.

WEBER A., RUHL A., AMOSR. 2013. "Investigating dominant processes in ZVI permeable reactive barriers using reactive transport modeling". *Journal of Contaminant Hydrology*. 151 (1) 68 – 82.

WIDIASTUTI N., WU H., ANGH M., ZHANG D. 2011. "Removal of ammonium from greywater using nature zeolite". *Desalination*. 277 (1) 15- 23.

WINKLER M. 2008. Tratamiento Biológico de Aguas de Desecho. Ed. Limusa. México. pp. 338.

XU S., WU D., HU Z. 2014. "Impact of hydraulic retention time on organic and nutrient removal in a membrane coupled sequencing batch reactor". *Water Research*. 55 (1) 12-20.

YEN C., LIN C., WU C. 2010. "A permeable reactive barrier for the bioremediation of BTEX- contaminated groundwater: Microbial community distribution and removal efficiencies". *Journal of Hazardous Materials*. 178 (3) 74 – 80.

ZÁRATE R., ROSAS A., RÁNCHEZ A., TRUJILLO G. 2013. "Metahemoglobinemia congénita. Informe de un caso". *Acta Pediátrica Mexicana*. 34 (1): 39-42.

ZHAI Y., ZHAO X., TENG Y., LI X., ZHANG J., WU J., ZUO R. 2017. "Groundwater nitrate pollution and human health risk assessment by using HHRA model in an agricultural area, NE China". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 137 (1) 130- 142.

ZHANG Q., SUN J., LIU J., HUANG G., LU C., ZHANG Y. 2015. "Driving mechanism and sources of groundwater nitrate contamination in the rapidly urbanized region of south China". *Journal of Contaminant Hydrology*. 182 (1) 221 – 230.

ZHANG W., ZHOU Z., AN Y., DU S., RUAN D., ZHAO C., REN N., TIAN X. 2017. "Optimization for zeolite regeneration and nitrogen removal performance of a hypochlorite-chloride regenerant". *Chemosphere*. 178 (3) 565 – 572.

ZHANG Z., TAN Y., ZHONG M. 2011. "Defluorination of wastewater by calcium chloride modified natural zeolite". *Desalination*. 276 (1) 246- 252.

ZHAO Y., XIONG X., WU C., XIA Y., LI J., WU Y. 2018. "Influence of light and temperature on the development and denitrification potential of periphytic biofilm". *Science of The Total Environment*. 613 (1) 1430 – 1437.

ZHOU W., XIA L., YAN X. 2017. "Vertical distribution of denitrification end-products in paddy soils". *Science of The Total Environment*. 576 (5) 462-471.

## 8. ANEXOS

En este capítulo se describen algunos detalles adiciones de la metodología utilizada para la determinación de las formas nitrogenadas en el agua subterránea así como cada uno de los procesos de aclimatación y crecimiento de los inóculos microbianos, así como en el proceso de cuantificación de la eficiencia de remoción de nitratos por la barreras permeables, basado en APHA- AWWA-WEF (1960). Además se describe la metodología para la determinación del coeficiente de uniformidad granulometría de la arena utilizada en cada reactor y los difractogramas obtenidos de las muestras de zeolitas analizadas.

### 8.1 Descripción de la técnica analítica utilizada para la determinación de las diferentes formas de nitrógeno.

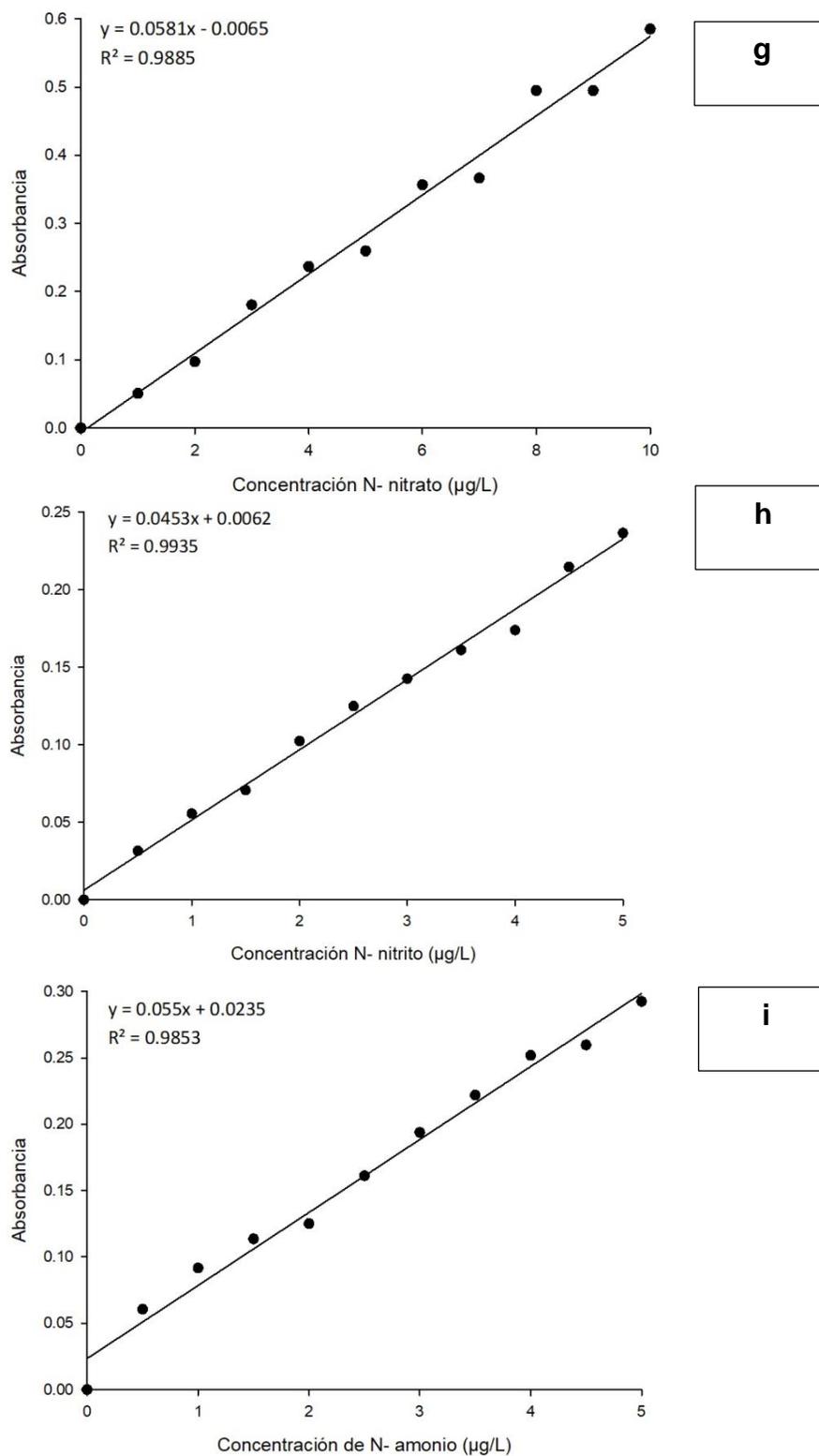
#### a) Determinación de $N - NO_3^-$

Se inicia realizando una curva patrón con una solución de  $KNO_3^-$  (1 mL=10  $\mu$ g) en concentraciones de 0 a 10 mL (1 mL=10  $\mu$ g de  $N - NO_3^-$ ), aforando tubos Nessler de 100 mL, la cual se puede apreciar en la Figura 8-1 (g). En el caso de las muestras que se tomaron de cada uno de los reactores, inicialmente se filtraron en papel de 0.45  $\mu$ m para evitar interferencias con materia orgánica suspendida; de la cual se tomaron 20 mL de muestra. En el proceso tanto a la solución para la curva como de la muestra, se le agregan 10 mL de agua destilada y 2 mL de ácido fenilsulfónico; posteriormente 6 mL de  $NH_4OH$  aforando hasta 100 mL. Posterior a los 10 min se procede a tomar una muestra y hacer la lectura en 410 nm.

#### b) Determinación de $N - NO_2$

Se inicia realizando una curva patrón con una solución de  $N - NO_2$  (1 mL = 10  $\mu$ g) en concentraciones entre 0 y 5 mL, aforando tubos Nessler de 50 mL, como se observa en la Figura 8-1 (h). Las muestras tomadas del reactor se filtraron en papel de 0.45  $\mu$ m para evitar interferencias de la cual se tomaron 20 mL de muestra. A las muestras se le colocó 1 mL de ácido sulfanílico y después de 10 minutos se le adicionan 1 mL de clorhidrato de naftilamina y 1 mL de acetato de

sodio como solución amortiguadora, luego de 10 minutos se toma una muestra y se realiza la lectura en un espectrofotómetro a 520 nm.



**Figura 8-1. Curva de calibración a) N-nitrato, b) N-nitrito y c) N-amonio**

### c) Determinación de $N - NH_3$

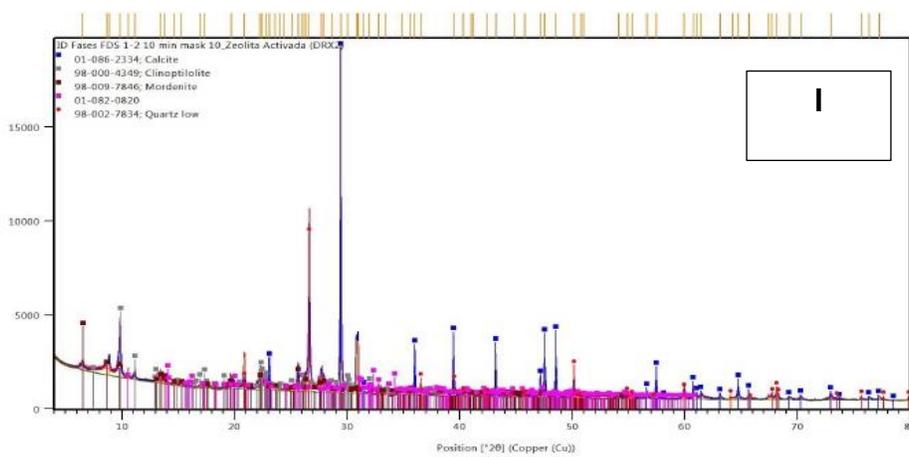
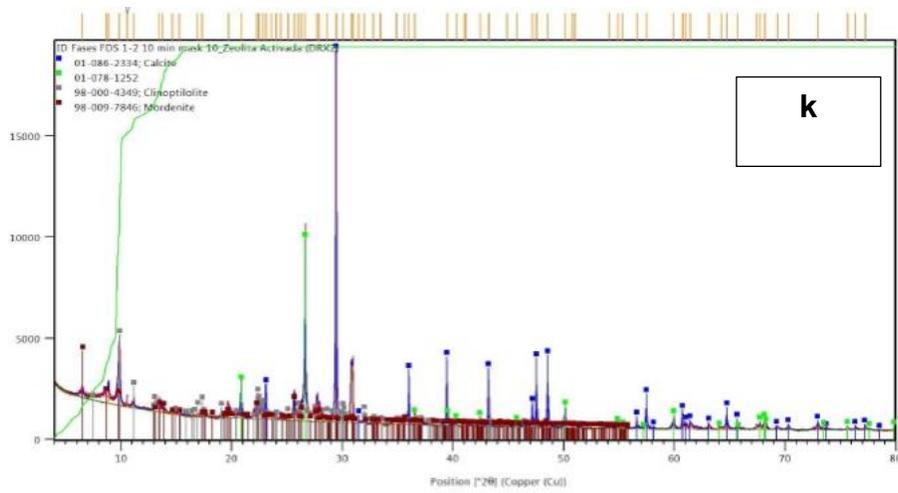
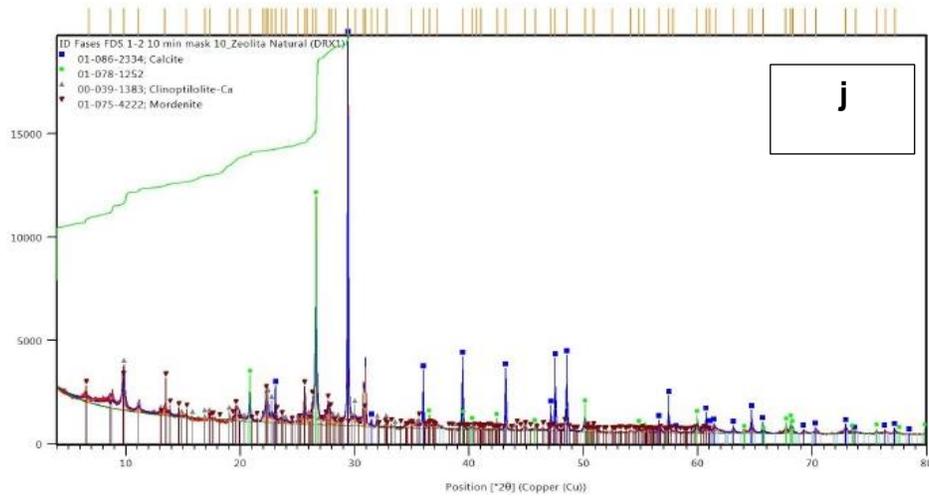
Se inicia realizando una curva patrón con una solución de  $NH_4Cl$  (1 mL=10  $\mu$ g) en concentraciones entre 0 y 5 mL, aforando tubos Nessler de 50 mL, como se observa en la Figura 8-1 (i). Las muestras tomadas del reactor se filtraron en papel de 0.45  $\mu$ m para evitar interferencias de la cual se tomaron 20 mL de muestra. A las muestras se le coloca 1 mL del reactivo de Nessler y posterior a los 10 min se realiza la lectura en un espectrofotómetro a 410 nm.

## 8.2 Difracción de Rayos X de la zeolita

Se analizó una muestra de la zeolita natural, otra de zeolita natural con el proceso activación y una posterior al proceso de intercambio aniónico a través de una Difractómetro. En la Tabla 8-1 se aprecia la identificación de las fases de la prueba de DRX; mientras que en las Figuras 8-2 (j) se aprecia el difractograma de la zeolita natural, Figura 8-2 (k) zeolita natural con el proceso de acondicionamiento y en la Figura 8-3 (l) la zeolita natural acondiciona al final del proceso de intercambio aniónico respectivamente.

**Tabla 8-1. Análisis de identificación de fases de tres muestras de zeolita.**

| MUESTRA | Clave            | FASES IDENTIFICADAS   | Fichas PDF   | OBSERVACIONES   |
|---------|------------------|---|--|---|
| DRX1    | Zeolita Natural  | Calcita: $CaCO_3$<br>Cuarzo: $SiO_2$<br>Heulandita- Clinoptinolita:<br>$(Ca,Na)_{2-9}Al_3(Al,Si)_2Si_3O_{36} \cdot 12H_2O$<br>Mordenita: $(Ca, Na_2, K_2)Al_2Si_{10}O_{24} \cdot 7H_2O$   | ICDD 02 086 2334<br>ICDD 01 078 1252<br>ICDD 00 039 1383<br>ICSS 98 009 7846                     | Contenido en zeolita < 50%  |
| DRX2    | Zeolita Activada | Calcita: $CaCO_3$<br>Cuarzo: $SiO_2$<br>Heulandita- Clinoptinolita:<br>$(Ca,Na)_{2-9}Al_3(Al,Si)_2Si_3O_{36} \cdot 12H_2O$<br>Mordenita: $(Ca, Na_2, K_2)Al_2Si_{10}O_{24} \cdot 7H_2O$<br>Hidróxido de sodio hidratado: $Na(OH) \cdot 3.5H_2O$ | ICDD 02 086 2334<br>ICDD 01 078 1252<br>ICDD 00 039 1383<br>ICSS 98 009 7846<br>ICDD 01 082 0820 | Aparece un pico en $\approx 8.4\text{\AA}$ que parece corresponder a la precipitación del agente activador.         |
| DRX3    | Zeolita Final    | Calcita: $CaCO_3$<br>Cuarzo: $SiO_2$<br>Heulandita- Clinoptinolita:<br>$(Ca,Na)_{2-9}Al_3(Al,Si)_2Si_3O_{36} \cdot 12H_2O$<br>Mordenita: $(Ca, Na_2, K_2)Al_2Si_{10}O_{24} \cdot 7H_2O$   | ICDD 02 086 2334<br>ICDD 01 078 1252<br>ICDD 00 039 1383<br>ICSS 98 009 7846                     | Disminuye cristalinidad en algunos picos.<br>Por esa causa se incrementa de manera aparente la cantidad de zeolita. |



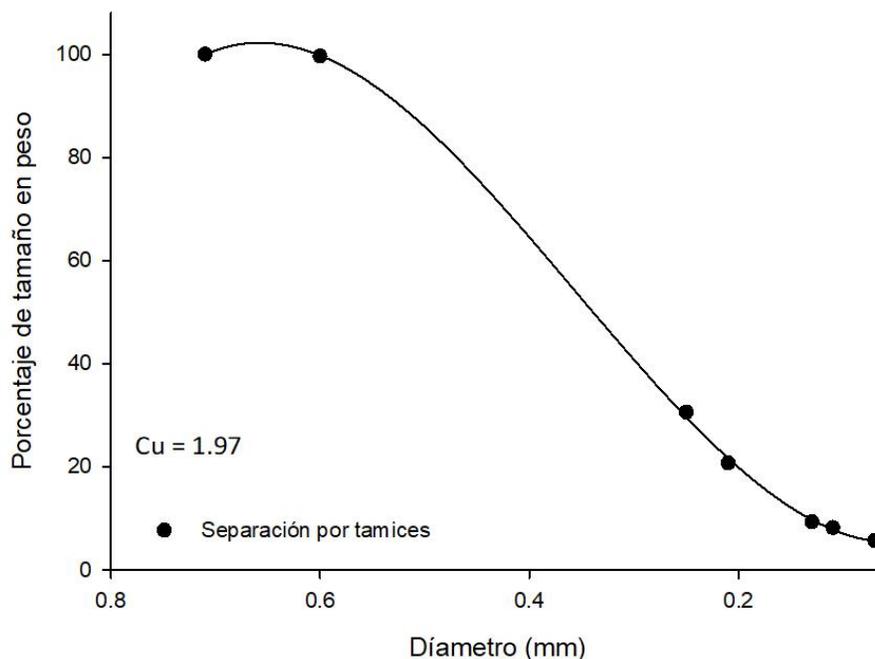
**Figura 8-2. Difractograma de rayos X a) zeolita natural b) zeolita natural acondicionada y c) zeolita acondicionada al final del proceso de remoción de nitratos en agua subterránea**

### 8.3 Granulometría de la arena

Para el análisis del tamaño de partículas se tomó una muestra de 1 kg del material que se utilizó en los reactores del ensayo, la cual se secó al aire por 48 h y posteriormente a 110 °C por 24 h en la estufa. Para la separación por tamaño de partículas se utilizó una serie de número de malla 30, 60, 70, 120, 140 y 200, equivalente al sistema métrico decimal (0.596, 0.250, 0.21, 0.125, 0.105 y 0.074 mm), las cuales se colocaron sobre un vibrador mecánico por 10 min.

El material retenido en cada malla se pesó en una balanza digital y se grafican, como se observa en la Figura 8-7. Para determinar el coeficiente de uniformidad ( $C_u$ ), se determinó el  $D_{60}$  que corresponde al diámetro o tamaño por debajo del cual queda el 60% del material, así como el  $D_{10}$  que representa el diámetro o tamaño por debajo del cual queda el 10% del material, mediante la ecuación 8-1.

$$D_u = \frac{D_{60}}{D_{10}} \dots \dots \dots (8-1)$$



**Figura 8-3. Coeficiente de Uniformidad de tamaño de partícula.**

El coeficiente de uniformidad de la arena es de 1.97, mientras que el tamaño específico de la partícula corresponde a 0.06 mm.