



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

TRATAMIENTO SIMULTÁNEO DE AGUA RESIDUAL Y COLORANTE AZO
AZUL DIRECTO 2 EN UN FILTRO BIOLÓGICO AERADO CON CONTROL DE
OXÍGENO DISUELTO

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

PRESENTA:
ING. ERNESTO GONZÁLEZ GUTIÉRREZ DE LARA

TUTOR PRINCIPAL
DR. SIMÓN GONZÁLEZ MARTÍNEZ - INSTITUTO DE INGENIERÍA
COMITÉ TUTOR
DR. ALEJANDRO VARGAS CASILLAS - INSTITUTO DE INGENIERÍA
DR. ENRIQUE CÉSAR VALDEZ - FACULTAD DE INGENIERÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., DICIEMBRE DE 2017

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Secretario	Dr. Enrique César Valdez
Vocal	Dra. Gabriela Moeller Chávez
1er. Suplente	Dr. Alejandro Vargas Casillas
2do. Suplente	Dr. Simón González Martínez

El trabajo de investigación del presente documento se llevó a cabo en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental, edificio 5 del Instituto de Ingeniería, UNAM.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Simón González Martínez

DEDICATORIA

*A mi hermana, **Ethel**, quien siempre ha sido mi apoyo, mi fuerza y mi cómplice.*

*A mi padre, **Ernesto** (Q.E.P.D.), "pájaro corsario, que no conoce el alpiste...", incluso después de irte, me sigues enseñando a tu manera, la mejor manera en la que aprendo.*

*A mi madre, **Lupita**, aunque la vida nos ha separado físicamente, tu apoyo tranquiliza mi corazón.*

*A mi tío **Carlos**, quien ha sido siempre mi ejemplo de integridad y fortaleza. Mi segundo padre.*

*A mi **familia**, mi raíz, mi origen.*

"El Señor es mi pastor: nada me falta; en verdes pastos Él me hace reposar. A las aguas de descanso me conduce y reconforta mi alma."

[Salmos, 23.](#)

AGRADECIMIENTOS

Me siento enormemente agradecido con tantas personas e instituciones que me han proporcionado su apoyo para la realización de este trabajo y por ello dedico este espacio para expresarlo.

Agradezco...

... a la UNAM y al INSTITUTO DE INGENIERÍA por aceptarme como estudiante y ser mi casa durante estos dos años.

... al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Coordinación de Estudios de Posgrado, por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo.

... al Dr. Simón González, por permitirme ser parte de su equipo. Me siento muy honrado y orgulloso de haber trabajado bajo su tutela. Gracias por ser un excelente tutor y persona.

... al Dr. Óscar González, por su apoyo en el laboratorio y sus consejos, tanto académicos, como personales.

... a los doctores Alejandro Vargas, Enrique César, Petia Mijaylova y Gabriela Moeller, por sus excelentes consejos y guía para la realización de esta investigación y tesis.

... a mis compañeros de cubículo Alondra, Concepción, Sandra y Gabriel. Gracias por el tiempo compartido, experiencias buenas y momentos difíciles.

... al personal académico, técnico y administrativo del Instituto de Ingeniería y del Laboratorio de Ingeniería Ambiental, por su apoyo y disposición.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental que cuenta con certificación de la calidad ISO 9001:2008 otorgada por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. (IMNC) con registro RSGC 960 de fecha 11 de enero de 2016, vigente al 11 de enero de 2019.

Índice

1.	Introducción.....	2
1.1	Hipótesis.....	5
1.2	Objetivos.....	5
1.3	Alcances.....	5
2.	Filtración combinada	6
2.1	Generalidades.....	6
2.2	Hidráulica	9
2.3	Oxigenación	13
2.4	Configuración para remoción de nutrientes	14
2.4.1	Remoción de materia carbonosa	15
2.4.2	Remoción de nitrógeno amoniacal (nitrificación)	16
2.4.3	Remoción de nitrógeno de nitrato (desnitrificación)	16
2.4.4	Remoción de fósforo	17
2.5	Materiales filtrantes	18
2.6	Factores que afectan la operación de un BAF	20
2.6.1	Temperatura	20
2.6.2	Carga hidráulica y tiempo de retención hidráulico (TRH)	21
2.7	Retrolavado.....	22
2.8	Procesos comerciales	24
3.	Biopelículas.....	26
3.1	Descripción de biopelícula y características principales	26
3.2	Factores que afectan el desarrollo de biopelículas	28
3.2.1	Rugosidad de la superficie.....	29
3.2.2	Cargas eléctricas superficiales.....	29
3.2.3	Porosidad	30
3.2.4	Carga orgánica.....	30
3.2.5	Tasa de crecimiento de la biopelícula	32
3.3	Etapas del desarrollo de una biopelícula.....	34
3.4	Composición de los biopolímeros	36
3.5	La biopelícula y el oxígeno disuelto.....	37
4.	Colorantes azo	38
4.1	Generalidades.....	38
4.2	Proceso de biodegradación del colorante.....	40
4.3	Factores que afectan la degradación de colorantes azo por bacterias	42
4.3.1	Presencia del oxígeno y agitación.....	42
4.3.2	Presencia del carbono y nitrógeno.....	43
4.3.3	Efectos de la temperatura.....	43
4.3.4	Efectos del pH.....	44
4.3.5	Efectos de la concentración del colorante	44
5.	Metodología.....	46
5.1	Caracterización del medio filtrante	46
5.1.1	Diámetro del poro	48
5.1.2	Propiedades físicas del material.....	48
5.1.3	Determinación del área superficial por medio del análisis de adsorción – desorción de nitrógeno.....	50

5.1.4	Análisis de la superficie con ayuda de microscopía electrónica.....	50
5.2	Filtro experimental.....	50
5.3	Composición del agua residual sintética	51
5.4	Parámetros fisicoquímicos a evaluar	52
5.4.1	Muestras compuestas.....	53
5.4.2	Muestras puntuales.....	54
5.5	Comportamiento hidráulico del filtro biológico.....	54
5.6	Retrolavado del lecho empacado	55
5.7	Disminución del oxígeno disuelto	56
5.8	Potencial óxido-reducción.....	57
5.9	Cuantificación de la degradación biológica del colorante.....	58
6.	Resultados	59
6.1	Caracterización del material de soporte (tezontle).....	59
6.1.1	Determinación del área superficial por medio del análisis de adsorción - desorción de nitrógeno	61
6.1.2	Fotografía con microscopía electrónica.....	61
6.1	Caracterización del colorante Azul Directo 2 (AD2).....	63
6.1	Etapas de arranque de la experimentación	64
6.2	Monitoreo del filtro.....	66
6.2.1	Demanda química de oxígeno (DQO).....	67
6.2.2	Nitrógeno (N-NH ₄ y N-NO ₃).....	68
6.2.3	Sólidos suspendidos totales (SST).....	71
6.2.4	Nitrógeno Kjeldahl (NK).....	73
6.2.5	Fósforo de ortofosfatos (PO ₄).....	75
6.2.6	Oxígeno disuelto (O.D.) y temperatura.....	76
6.2.7	Comportamiento hidráulico del sistema.....	77
6.2.8	Remoción del colorante	81
6.3	Resumen de resultados.....	82
7.	Conclusiones	83
8.	Referencias.....	85
9.	Anexos	93
9.1	Anexo 1. Cálculo del agua residual	94
9.2	Anexo 2. Cálculo de caudales de alimentación.....	95
9.3	Anexo 3. Cálculo del influente del colorante.....	95
9.4	Anexo 4. Cálculo del TRC	96

Listado de figuras

Figura 1.1 Comportamiento tradicional del tratamiento de colorantes azo (van der Zee y Villaverde, 2005).	3
Figura 1.2. Degradación de un colorante azo bajo condiciones aerobias (2) y anaerobias (1).	4
Figura 1.3. Hipótesis de la investigación: transformaciones de sustancias en un poro de material filtrante, basado en el trabajo de van der Zee y Villaverde, 2005.	4
Figura 2.1. Biofiltro aerado típico ascendente	7
Figura 2.2. Representación de la filtración combinada	9
Figura 2.3. Aplicación de trazador al reactor.	10
Figura 2.4. Curvas de concentración de trazador para diferentes comportamientos hidráulicos (recuperado de CEPIS/OPS, Manual de evaluación, Tomo II, 1992)	11
Figura 2.5. Representación de una sección transversal de la biomasa inmovilizada en el medio de soporte.	15
Figura 2.6. Comportamiento de la DQO soluble y fósforo (adaptado de Sedlak, 1991).	17
Figura 2.7. Espuma volcánica con características importantes para la filtración biológica.	19
Figura 2.8. Expansión del lecho en el retrolavado, a) antes y b) durante	23
Figura 2.9. Medio de soporte Biofor® de Suez-Dégremont.	24
Figura 2.10. Biofiltro aerado, recuperado de Biostyr® BAF process, Veolia, 2014.	25
Figura 3.1. Heterogeneidad de especies en una biopelícula (Wimpenny et al., 2000).	27
Figura 3.2. Esquema simplificado del metabolismo heterótrofo (Adaptado de Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions, von Sperling y Lemos Chernicharo, 2005)	33
Figura 3.3. La ecuación de Monod es representada por una curva hiperbólica.	34
Figura 3.4. Ciclo de vida de una biopelícula (these images are copyright 1991-2010, extraído de Center for Biofilm Engineering at Montana State University, Bozeman, MT 59717-3980. All rights reserved)	35
Figura 3.5. Estructura química del Poli- β -Hidroxibutirato	36
Figura 4.1. Impacto de la descarga de colorante azo al ambiente	39
Figura 4.2. Estructura molecular del colorante azo Azul Directo 2 (Golka et al., 2004).	40
Figura 4.3. Posible degradación del colorante Azul Directo 2 (Cobos-Becerra, 2013).	41
Figura 5.1. Cribas para materiales pétreos.	47
Figura 5.2. Cribado del material	48
Figura 5.3. Diagrama del reactor escala piloto	51
Figura 5.4. Controlador de flujo másico de gases	57
Figura 5.5. Medidor de oxígeno disuelto	57
Figura 5.6. Colorante azo Azul Directo 2 (Golka et al., 2004)	58
Figura 6.1. Tamaño de las partículas de tezontle	59
Figura 6.2. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno de una pieza de tezontle.	62
Figura 6.3. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno de varias piezas de tezontle.	62
Figura 6.4. Colocación de muestras en soportes metálicos.	63
Figura 6.5. Microscopio electrónico de barrido.	63
Figura 6.6. Poro de partícula de tezontle tomado por medio de microscopía electrónica de barrido, la escala se muestra en la figura.	64
Figura 6.7. Absorbancias vs. longitud de onda del colorante "azul directo 2" con una concentración de 30 mg/L	65
Figura 6.8. Concentración del colorante "Azul Directo 2" vs. absorbancia.	65

Figura 6.9. Medio de soporte (tezontle) sin y con biopelícula.	66
Figura 6.10. Demanda química de oxígeno en el tiempo	68
Figura 6.11. Perfiles de DQO total con respecto a la altura del filtro	69
Figura 6.12. Perfil de DQO disuelta respecto a la altura del filtro	69
Figura 6.13. Evolución de la concentración de nitrógeno amoniacal y nitratos en el tiempo	70
Figura 6.14. Concentración de nitrógeno amoniacal a lo largo del filtro	71
Figura 6.15. Sólidos suspendidos totales en el reactor	72
Figura 6.16. Nitrógeno Kjeldahl en la biopelícula adherida al material filtrante y lodos de retrolavado en el interior del filtro.	73
Figura 6.17. Tiempo de retención celular (TRC) a lo largo del periodo experimental.	74
Figura 6.18. Concentración de ortofosfatos en el sistema	75
Figura 6.19. Comportamiento del oxígeno disuelto	76
Figura 6.20. Curvas de concentración de NaCl en el efluente del filtro contra tiempo.	77
Figura 6.21. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick (W&R) y en laboratorio, caudal de 5 L/min.	78
Figura 6.22. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 2 L/min.	79
Figura 6.23. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 1 L/min.	79
Figura 6.24. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 0.5 L/min.	80
Figura 6.25. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 0.0 L/min.	80
Figura 6.26. Concentración de colorante en el periodo experimental.	81

Listado de tablas

Tabla 2.1. Mecanismos de transporte y crecimiento de partículas en la filtración biológica ..	8
Tabla 2.2. Sistemas BAF comerciales y sus medios de soporte (deBarbadillo et al., 2010)....	24
Tabla 5.1. Composición del agua residual sintética (Cobos-Becerra, 2009; Kim et al., 2007)	52
Tabla 5.2. Técnicas analíticas para la determinación de los parámetros de seguimiento del sistema	53
Tabla 5.3. Parámetros a evaluar vs frecuencia y ubicación	54
Tabla 5.4. Especificaciones comerciales del colorante AD2	58
Tabla 6.1. Volumen y peso de las muestras.....	60
Tabla 6.2. Masa específica del tezontle.....	60
Tabla 6.3. Características bioquímicas del colorante AD2 disuelto para resultar en una concentración de 200 mg/L.....	64
Tabla 6.4. Comportamiento de los volúmenes en el reactor para cada caudal de aire.	79
Tabla 6.5. Volúmenes que ocupa el aire en el reactor.	80
Tabla 6.6. Tabla resumen.....	82

RESUMEN

Los colorantes azo son la clase más extensamente utilizada en la industria y contribuye en más de la mitad de la producción total de colorantes. La mineralización de los colorantes azo es difícil debido a su estructura compleja y recalcitrante. Los tratamientos biológicos han probado ser económicos y una eficiente alternativa para la degradación de colorantes. Un filtro biológico aerado a escala laboratorio que fue alimentado con agua residual sintética y colorante azo Azul Directo 2, fue estratégicamente reducida la concentración de oxígeno disuelto (5.0 a 0.0 L/min). El filtro fue empacado con piedra volcánica porosa (tezontle). Sobre el tezontle se desarrolló una biopelícula que presenta zonas aerobias y anaerobias simultáneamente. El filtro fue capaz de remover materia orgánica y nitrógeno amoniacal eficientemente. En términos generales, como el flujo de aire disminuyó y consecuentemente la concentración de oxígeno disuelto, la remoción de materia orgánica y nitrógeno amoniacal disminuyeron, sin embargo, la remoción de colorante Azul Directo 2, aumentó. Al añadir el colorante al agua residual (flujo de aire=2 L/min) disminuyeron las remociones de nitrógeno amoniacal y de fósforo de manera momentánea, lo cual se relacionó con un efecto inhibitor causado por el colorante. El potencial Redox disminuyó junto con la concentración de oxígeno disuelto, indicando condiciones reductoras a concentraciones mínimas. Al disminuir la concentración de oxígeno disuelto el tiempo de retención celular (TRC) disminuye y vuelve a aumentar ligeramente bajo condiciones anaerobias. En la última etapa de experimentación (OD de 0.0 mg/L) se observó turbiedad en el efluente, típico de las fermentaciones, que evitó la determinación adecuada de la mayoría de los parámetros del reactor.

ABSTRACT

Azo dyes are the most widely used and contribute more than half of the total production of dyes. The mineralization of azo dyes is difficult due to its complex and recalcitrant structure. Biological treatment has proven to be a cost-effective and efficient alternative for dye degradation. In an aerated biological filter fed with synthetic wastewater and Direct Blue 2 dye, was strategically reduced it, the dissolved oxygen concentration (5 to 0 L/min). In this filter packed with porous material (lava stone) grows a biofilm, and presents simultaneous aerobic and anaerobic zones. This filter is able to remove organic matter and ammonia nitrogen efficiently. In general terms, as the air flow decreases and consequently the dissolved oxygen concentration, the removal of organic matter and ammonia nitrogen decreases, however, the removal of the Direct Blue 2 dye increases. When dye is added to the wastewater the removal of ammonia nitrogen and phosphorus decreases momentarily, which was related to an inhibitory effect caused by the dye. The Redox potential decreased along with the oxygen concentration and reflected reducing conditions at minimum concentrations. The cell retention time decreased at the same time with the dissolved oxygen concentration, but as the air supply was cut off, it increased. In the last stage of experimentation (DO at 0 mg/L) turbidity appeared, typical of fermentations, making it impossible to determine the majority of the biochemical parameters of the reactor.

1. INTRODUCCIÓN

La descarga de los colorantes azo al ambiente representa un serio problema por las implicaciones que tiene, tanto para la salud pública, como para los ecosistemas. Los colorantes azo son ampliamente utilizados en variados sectores industriales, no solamente en la industria textil, también en la alimentaria, farmacéutica, cosmética, entre otras. El sector que más demanda colorantes azo es el textil, ya que representa más del 70% de los colorantes usados durante la tinción de las telas (Zollinger, 1987). Se estima que hasta un 50% del colorante utilizado en la industria textil termina descargándose al drenaje o a cuerpos receptores, debido a su bajo grado de fijación en las telas (van der Zee *et al.*, 2002). Adicionalmente a esto, muchos colorantes azo y sus productos de degradación (aminas aromáticas) pueden generar alergias o cáncer. Además, la descarga de estos contaminantes a ecosistemas acuáticos impide el desarrollo de las plantas debido a que la coloración que producen inhibe la fotosíntesis. Aunado a lo anterior, muchos colorantes han sido reportados como tóxicos para la vida acuática (dos Santos *et al.*, 2006).

Considerando lo anterior, es evidente que este sector industrial requiere de sistemas de tratamiento de aguas eficientes que permitan reutilizar sus efluentes a través de circuitos cerrados. Los sistemas biológicos son una alternativa viable para el tratamiento de efluentes de la industria textil. Hasta hace poco se pensaba que los colorantes azo no podían ser degradados eficientemente en sistemas biológicos aerobios convencionales. Lo anterior era motivado por la existencia de múltiples grupos funcionales altamente oxidados en su estructura que compiten con el oxígeno por los electrones disponibles en los biorreactores aerobios. De hecho, múltiples reportes en la literatura indican la factibilidad de esta estrategia (anaerobio-aerobio), con la cual se ha logrado eliminar altos niveles de materia orgánica y de color (Field *et al.*, 1995; Knackmuss *et al.*, 1996; dos Santos *et al.*, 2007). Por lo tanto, la etapa anaerobia era considerada como la etapa limitante en dicho proceso.

Por esta razón, van der Zee y Villaverde en el 2005, reportaron que la biodegradación biológica de los colorantes azo procedía en dos etapas (representadas en la figura 1.1) primero, bajo condiciones anaerobias, los compuestos azo pueden ser reducidos a las potencialmente peligrosas aminas aromáticas, las cuales no son biodegradadas normalmente en reactores anaerobios. La segunda etapa, involucra la degradación de las aminas aromáticas, casi exclusivamente bajo condiciones aerobias.

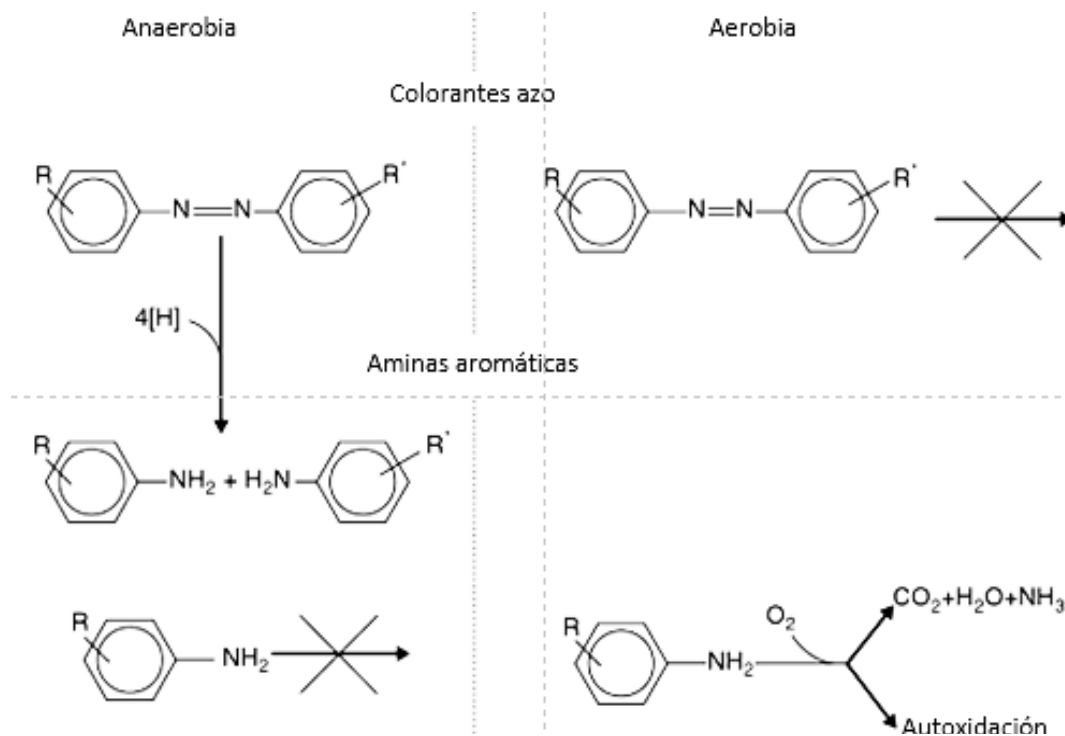


Figura 1.1 Comportamiento tradicional del tratamiento de colorantes azo (van der Zee y Villaverde, 2005).

Sin embargo, Cobos-Becerra y González-Martínez (2013), comprobaron que, bajo condiciones aerobias y anaerobias, una película es capaz de romper los dobles enlaces de los colorantes di-azo y posteriormente mineralizar los compuestos aromáticos que se desprenden de dicha ruptura (figura 1.2).

La integración de cosustrato al sistema, tanto en condiciones aerobias como anaerobias, en un reactor único, es una buena estrategia para la mineralización de colorantes azo mediante una biopelícula expuesta a bajas concentraciones de oxígeno, ya que estimula la respiración de sustrato, haciendo más rápida la descomposición del colorante por tener una mayor cantidad de donadores de electrones (Tan *et al.*, 2000; Field *et al.*, 1995). La remoción de colorante aumenta con la carga orgánica. Cuando el colorante es la única fuente de carbono, la remoción disminuye considerablemente para un filtro aerobio (Cobos-Becerra, 2013).

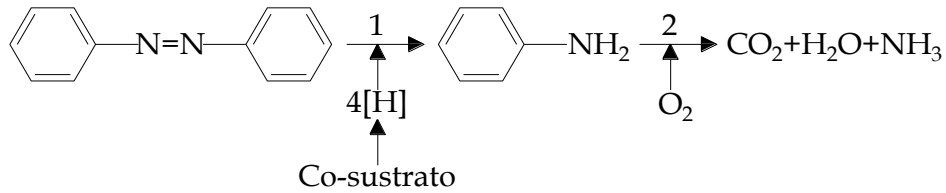


Figura 1.2. Degradación de un colorante azo bajo condiciones aerobias (2) y anaerobias (1).

En la Figura 1.3, se muestra el comportamiento de la biopelícula que da origen a la hipótesis de la presente investigación, donde las sustancias disueltas en el agua residual bajo condiciones aerobias propician la formación de colonias de bacterias que pueden llegar a ser extensas y por tal, en algunas zonas, el espesor se incrementa considerablemente, como en los poros de materiales de soporte porosos. El consumo de oxígeno por los microorganismos impide que la transferencia de oxígeno se dé adecuadamente en capas profundas de la biopelícula. En estas zonas donde no hay difusión de oxígeno, los microorganismos facultativos y anaerobios, pueden romper los enlaces azo de los colorantes. El producto de la descomposición de los colorantes bajo condiciones anaerobias, son las aminas aromáticas, que también por difusión entran a la parte aerobia de la biopelícula, donde son mineralizadas. Los productos de la mineralización de dichas aminas finalmente son difundidos a la fase acuosa.

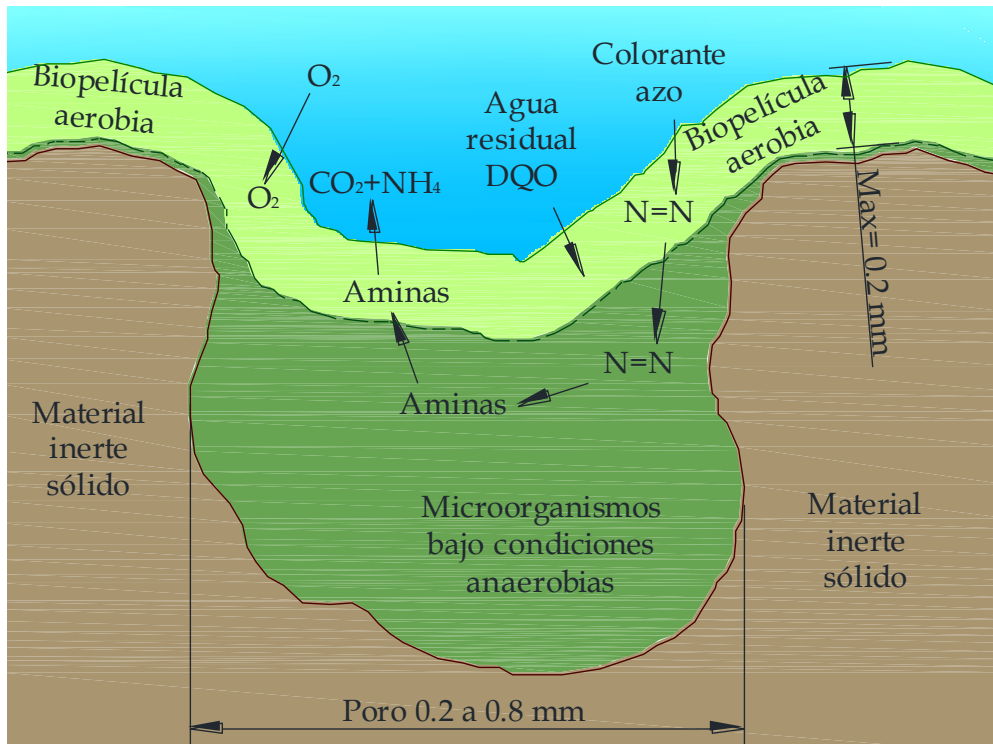


Figura 1.3. Hipótesis de la investigación: transformaciones de sustancias en un poro de material filtrante, basado en el trabajo de van der Zee y Villaverde, 2005.

Los filtros biológicos contienen una gran concentración de biomasa que, con una buena transferencia de oxígeno, logran una alta tasa de remoción de materia orgánica y nutrientes disueltos en las aguas residuales. Una baja concentración de oxígeno disuelto en el sistema propicia que exista una limitada difusión de oxígeno en la biopelícula aerobia, disminuyendo su espesor y dando paso al desarrollo de metabolismos aerobios y anaerobios, de esta manera, se logra la degradación del colorante y sus aminas aromáticas (Lu et al., 2009; Chen et al., 2006).

En resumen, se expondrá la biopelícula a diferentes condiciones de oxígeno disuelto para que los colorantes sean degradados bajo condiciones anaerobias y aerobias simultáneas.

1.1 Hipótesis

Una biopelícula que crece en un medio de soporte poroso presenta zonas aerobias y anaerobias de manera simultánea. Por esta razón, la unión azo de los colorantes, puede ser rota bajo condiciones anaerobias en el fondo de los poros y las aminas aromáticas resultantes pueden ser degradadas en la región aerobia de la biopelícula (figura 1.3).

1.2 Objetivos

Objetivo general

Determinar las concentraciones de oxígeno disuelto que permiten la mejor remoción de colorantes azo y la oxidación de nitrógeno amoniacal.

Objetivos particulares

- Determinar el comportamiento de la DQO al disminuir la concentración de oxígeno disuelto.
- Determinar el comportamiento del nitrógeno al reducir la concentración de oxígeno disuelto.

1.3 Alcances

- El trabajo experimental se llevó a cabo en un filtro biológico aerado a nivel laboratorio.
- El medio de soporte para la biopelícula es tezontle.
- Se utilizó agua residual sintética como cosustrato.

2. FILTRACIÓN COMBINADA

2.1 Generalidades

Los filtros combinados o filtros biológicos aerados (BAF por sus siglas en inglés) constan de tres fases: una fase sólida que sirve como medio de soporte para el crecimiento microbiano, una fase líquida en la cual el material de soporte se encuentra sumergido y una fase gaseosa originada por la entrada de aire al sistema (Mendoza-Espinoza y Stephenson, 1999; Stensel y Reiber, 1983).

La filtración combinada o filtración con biopelícula, es un tipo de filtro sumergido que cumple con dos funciones: el tratamiento biológico del agua residual y el tratamiento físico por medio de la filtración (Qiu *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007). El funcionamiento del filtro biológico aerado (BAF, por sus siglas en inglés), básicamente es hacer fluir agua residual a través del medio y propiciar la colonización del medio de soporte por los microorganismos. En otras palabras, este proceso físico-biológico consiste en la filtración del agua residual a través de un medio granular sobre el que se desarrolla una biopelícula. Los sólidos suspendidos son atrapados por el lecho filtrante y el desarrollo de la biopelícula permite la disminución la concentración de material orgánico disuelto en el agua (Rogalla y Sibony, 1992; Pujol, 1992).

Los procesos de filtración biológica aerobia son económicos en comparación con tratamientos químicos (muchas veces costosos), de fácil mantenimiento, infraestructura particularmente sencilla, gran capacidad de tratamiento y su impacto ambiental es moderado respecto a los procesos anaerobios que generan metano (de impacto negativo si se libera a la atmósfera). Se obtienen diferentes características de tratamiento y eficiencias en función de la configuración del filtro biológico.

El funcionamiento hidráulico de los BAF se reduce a dos opciones principales: flujo ascendente o flujo descendente. Para los BAF de flujo ascendente (figura 2.1), el influente es introducido en la base del filtro y fluyen agua y aire hacia la superficie, mientras que para los BAF de flujo descendente, el influente se alimenta por la parte superior y fluye en sentido contrario al aire.

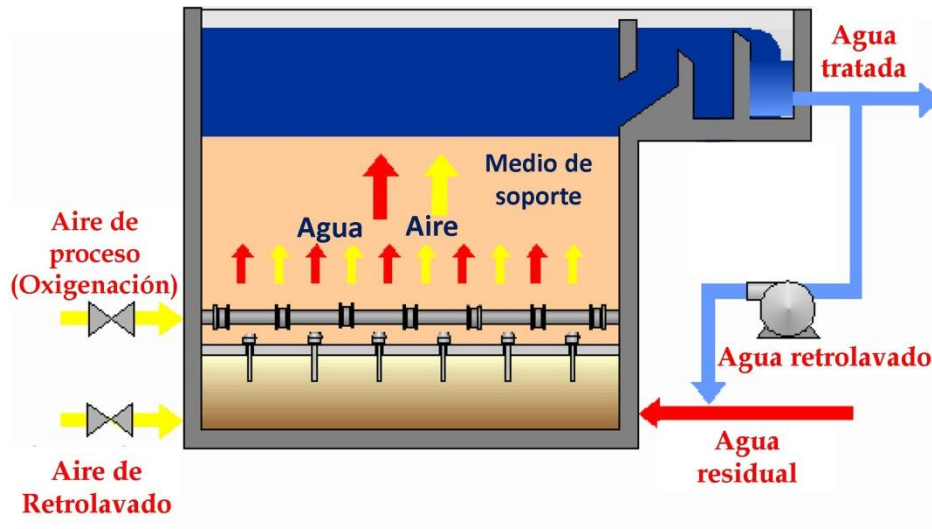


Figura 2.1. Biofiltro aerado típico ascendente

Generalmente, a nivel mundial el BAF de flujo ascendente es el más empleado en el tratamiento de aguas residuales, pero presenta algunas dificultades para remoción de amonio, por tener un bajo tiempo de contacto entre el aire y el agua residual. En contraste, el BAF de flujo descendente tiene capacidad de soportar mayores caudales de entrada, tiene un ciclo de operación más largo y puede minimizar problemas de olores. El BAF de flujo descendente, también ofrece una ventaja en cuanto a mejor mezclado y mayor tiempo de contacto aire-agua residual, que conlleva a una mayor transferencia de oxígeno y biodegradación en el filtro (Hasan *et al.*, 2009).

Existen en el mercado, productos de diferentes densidades, respecto de la del agua. La principal diferencia entre materiales de mayor o menor densidad, radica en que cuando el medio filtrante es más ligero que el agua, el agua de retrolavado debe introducirse por la parte superior y extraerse por la parte inferior. En la tabla 2.1, se describen los principales mecanismos de transporte y adherencia de partículas al medio filtrante.

En cuanto al tratamiento biológico de los filtros, estos son utilizados para la oxidación de la materia orgánica y los procesos de nitrificación y desnitrificación, de las aguas residuales. La biomasa adherida se reproduce en condiciones aerobias y con el paso del tiempo, dicha capa aumenta de espesor constantemente, hasta que el oxígeno disuelto no logra difundirse hasta el lecho de soporte, desarrollándose de esta manera, condiciones anaerobias en la biopelícula. En condiciones anaerobias se producen gases, que junto con el flujo de agua, provocan desprendimiento de los estratos más antiguos, de esta manera, se da paso a nueva generación

de bacterias en esas zonas, devolviendo las condiciones aerobias. El lodo desprendido es retirado por medio de retrolavados periódicos para evitar la colmatación del medio y favoreciendo el desarrollo de nuevas bacterias.

Una ventaja de los filtros combinados es que se requiere un espacio pequeño para su instalación, lo que podría facilitar su implementación en lugares con limitaciones de espacio (Moore *et al.*, 2001; Osorio, 2006).

Tabla 2.1. Mecanismos de transporte y crecimiento de partículas en la filtración biológica

<i>Mecanismos</i>	<i>Descripción</i>
TRANSPORTE	
Impacto inercial	Durante el paso del agua a través del medio filtrante, las partículas suspendidas colisionan y quedan atrapadas en el medio filtrante.
Intercepción	Las partículas suspendidas son forzadas a ponerse en contacto entre ellas mismas y con el medio filtrante siendo entonces interceptadas y retenidas por éste.
Sedimentación	La sedimentación se produce cuando las partículas suspendidas relativamente grandes y densas poseen una velocidad de sedimentación superior a la velocidad ascendente del fluido.
Difusión	Debido al movimiento browniano, el cual se debe al aumento de la energía de las partículas y a la disminución de la viscosidad del agua, existe una tendencia de las partículas pequeñas a difundirse desde las áreas de mayor concentración a las de menor concentración.
ADHESIÓN	
Enlace químico	Los enlaces químicos entre partículas floculentas y la superficie del medio filtrante se pueden presentar debido al intercambio iónico, enlaces de hidrógeno y adsorción.
Enlace físico	Las partículas sólidas pueden adherirse al medio filtrante debido a la interacción combinada de las fuerzas de van der Waals y fuerzas electrostáticas por la disociación de iones en la superficie de las partículas, presencia de cargas no balanceadas por las imperfecciones de la estructura de las partículas y reacciones químicas con iones específicos en suspensión.
<i>Adaptación de Huisman y Wood, 1994</i>	

En la figura 2.2, se representa el funcionamiento básico de la filtración combinada. A través del filtro empacado al hacer pasar la corriente de agua residual y burbujeando aire con el tiempo se forma una biopelícula sobre la superficie del material de empaque y se cumple con las dos funciones de la filtración combinada.

En los filtros combinados, mediante los procesos biológicos, que generalmente pertenecen a un nivel secundario de tratamiento, se realiza la remoción de sólidos disueltos y la estabilización de materia orgánica por medio de la actividad de los microorganismos. Estos reactores dependen de la tendencia natural de las poblaciones microbianas mixtas para adherirse a las superficies y formar la biopelícula (Iwai y Kitao, 1994).

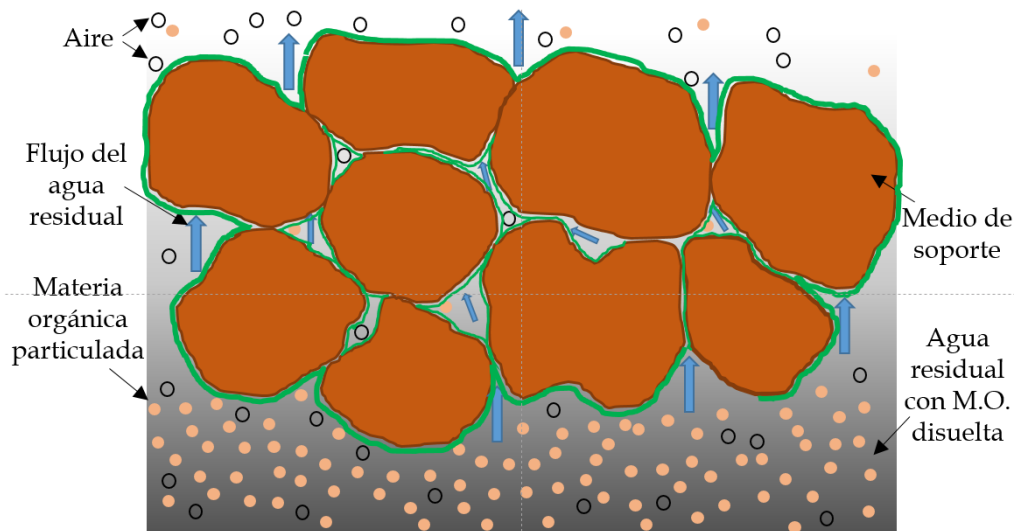


Figura 2.2. Representación de la filtración combinada

Un BAF con suficiente suministro de aire tendrá buenas condiciones para el crecimiento de biopelículas nitrificantes y la remoción de amonio. Si el flujo de aire es más alto que el requerido, la biopelícula nitrificante que se ha desarrollado se erosionará y saldrá del sistema junto con el efluente (Cobos-Becerra y González-Martínez, 2013). Un volumen bajo de aireación o un bajo contenido de oxígeno disuelto en el sistema puede afectar la tasa específica de crecimiento de la biopelícula nitrificante. La concentración de oxígeno disuelto para el crecimiento de biopelículas nitrificantes en la fase líquida es de 2-3 mg/L (Hasan *et al.*, 2009).

2.2 Hidráulica

Las características de flujo en los filtros biológicos están determinadas por el influente de líquido y aire, así como por el medio de soporte (Le Cloirec y Martin, 1984). Al mismo tiempo, la hidrodinámica de los reactores afecta la estructura física de las biopelículas (Wilderer *et al.*, 1995).

En el tratamiento biológico de aguas residuales, el desempeño del reactor está determinado por su hidrodinámica, ya que tiene influencia directa sobre el tiempo de contacto entre los microorganismos y el sustrato, además de controlar la transferencia de masa (Tembhurkar y Mhaisalkar, 2006).

Por su régimen de flujo, los reactores pueden clasificarse en dos tipos:

- De flujo intermitente: consiste en llenar un recipiente, mantener un tiempo y vaciar.
- De flujo continuo: sin interrumpir la alimentación al reactor, el flujo de entrada es igual al de salida (comúnmente utilizado).

Generalmente el flujo en reactores biológicos es continuo, y puede clasificarse en tres tipos principales:

- Flujo completamente mezclado: supone que el líquido entra en el sistema e inmediatamente se mezcla uniformemente presentando la misma concentración en todo el reactor y el efluente.
- Flujo pistón: no presenta variaciones longitudinales a la dirección del flujo, por tanto, la primera partícula en entrar es la primera en salir. Todas las partículas que ingresan, permanecen el mismo tiempo dentro del reactor.
- Flujo no ideal: es una combinación de los dos flujos anteriores.

Todo comportamiento hidráulico en un reactor empacado que no cumpla con las características del flujo completamente mezclado o flujo pistón, representa una desviación de la idealidad. En la práctica, normalmente se presentan los dos tipos de flujo simultáneamente, en otras palabras, puede que una parte del volumen quede atrapado momentáneamente, mientras otro sale con rapidez del sistema. Las zonas muertas son otro fenómeno habitual que puede alterar de manera importante el funcionamiento del sistema ya que reducen el volumen efectivo y el tiempo de retención hidráulico (CEPIS, 2004). El empaque irregular del material filtrante, propicia la formación de canales preferentes (velocidad de flujo mayor) y zonas de estancamiento (velocidad de flujo menor), aumentando la irregularidad en el comportamiento. (Smith, 1981). Se ha concluido que los BAF actúan como sistemas parcialmente mezclados, debido a la generación de canales preferenciales o zonas de mezclado interno (Boller et al., 1994), en la mayoría de los casos, los patrones de flujo en los BAF están cerca de flujo pistón (Mann et al., 1995; Fernández-Polanco et al., 1996).

La hidráulica de un biorreactor puede evaluarse por el método experimental “estímulo-respuesta” pruebas de trazado. En la figura 2.3, se representa éste método con el cual se inyecta un trazador fácilmente detectable y que no modifique las propiedades físicas y/o químicas del sistema (Escudié *et al.*, 2005; de Nardi *et al.*, 1999; Swaine y Daugulis, 1988).

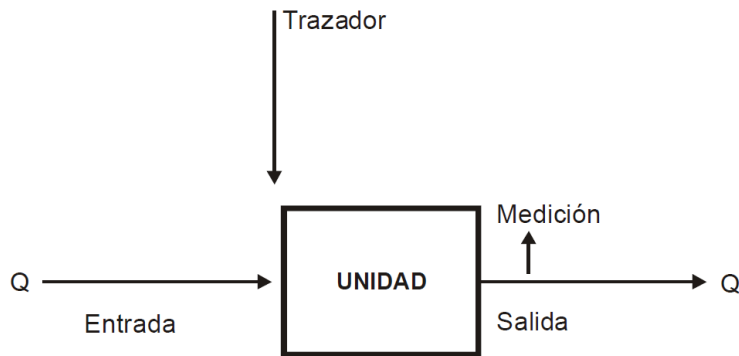


Figura 2.3. Aplicación de trazador al reactor.

El trazador puede aplicarse al sistema de forma continua o instantánea. En la figura 2.4, se muestran las curvas de comportamiento del trazador en el efluente respecto al tiempo. Así mismo se muestra en la tercera columna, el comportamiento del reactor bajo condiciones reales de funcionamiento (flujo no ideal; con cierto grado de mezcla, cortocircuitos, zonas muertas), al medir y graficar la concentración del trazador a la salida.

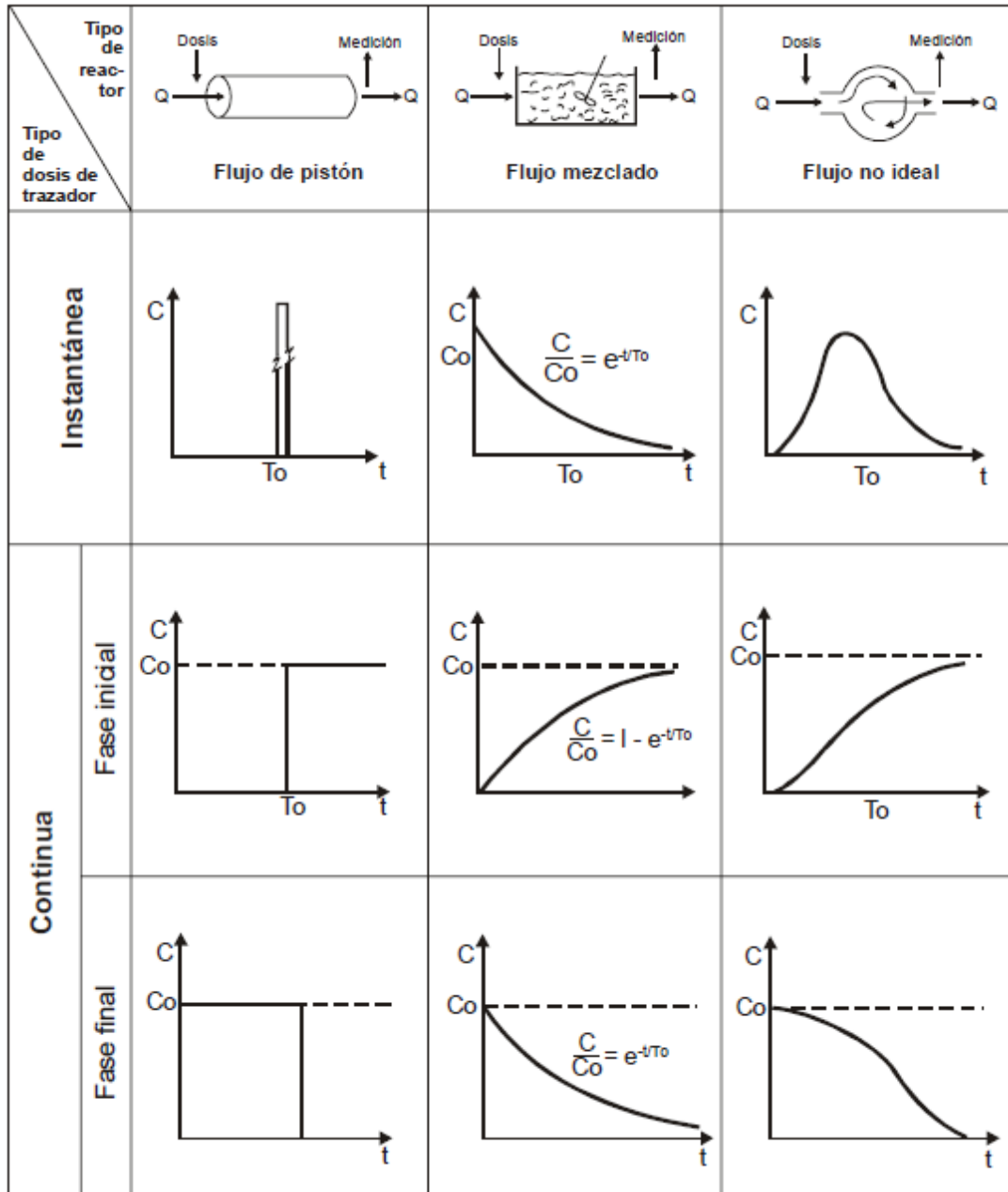


Figura 2.4. Curvas de concentración de trazador para diferentes comportamientos hidráulicos (recuperado de CEPIS/OPS, Manual de evaluación, Tomo II, 1992)

Mediante estas pruebas de trazado es posible determinar el tiempo de retención hidráulica (TRH) real del sistema. Se ha demostrado que, mientras mayor es el caudal de alimentación, la diferencia entre el TRH real y el teórico aumenta. Se ha reportado que, el reactor empacado con las partículas más grandes presentaba una mayor desviación del TRH esperado (Domínguez, 2012).

Generalmente, la tendencia de las curvas de respuesta dan un primer indicio de la hidrodinámica del sistema (Smith *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1993); a partir de éstas se puede

obtener información de la distribución de los tiempos de residencia y aplicar modelos matemáticos que permitan el mejor entendimiento del comportamiento hidráulico (Tembhurkar y Mhaisalkar, 2006).

Existen diferentes tipos de modelos matemáticos (dispersión axial, Wolf & Resnick, reactores completamente mezclados en serie, etc.) y cada uno tiene aplicaciones más adecuadas dependiendo del tipo de flujo que se estudia. El modelo de dispersión axial, generalmente es más adecuado para flujo pistón por no tomar en cuenta desviaciones de la idealidad y el modelo de Wolf y Resnick, es más eficiente para flujos no ideales, ya que toma en cuenta los espacios muertos en el sistema. (Teixeira et al., 2016; Shiono y Teixeira, 2000; Hart y Gupta, 1978).

El modelo de Wolf y Resnick (1963) determina de manera eficiente el porcentaje de volumen muerto dentro del sistema. El modelo indica que el flujo de un sistema está compuesto por la suma de los porcentajes de flujo pistón, flujo no pistón y de volúmenes muertos. Es evidente que cuando no existen dichos volúmenes muertos, la fracción de flujo pistón y la fracción de mezcla completa deben ser igual a la unidad.

Si suponemos que un sistema no tiene espacios muertos, puede tener porcentaje de flujo pistón (p) y otro porcentaje de flujo de mezcla completa ($1-p$), por lo tanto, estos dos porcentajes deben ser iguales al 100%.

Ecuación 2.1

$$p + (1 - p) = 1.$$

Si se toman en cuenta los espacios muertos (m) como parte de las dos anteriores:

Ecuación 2.2

$$p(1 - m) + (1 - p)(1 - m) + m = 1$$

Con base en estas consideraciones, el modelo de Wolf & Resnick (1963) plantea las siguientes ecuaciones para el cálculo de las diferentes fracciones de flujo:

Para determinar el porcentaje de flujo pistón:

Ecuación 2.3

$$P = p(1 - m)$$

Para determinar el porcentaje de flujo de mezcla completa:

Ecuación 2.4

$$M = (1 - p)(1 - m)$$

Para determinar el porcentaje de espacios muertos:

Ecuación 2.5

$$m = 1 - (\theta/p)$$

Donde $\theta = p(1 - m)$ punto de intersección de la curva trazada con el eje X y α es el ángulo de la curva.

Entonces:

Ecuación 2.6

$$p = \frac{\theta(\tan\alpha)}{0.435 + \theta(\tan\alpha)}$$

2.3 Oxigenación

El oxígeno gaseoso se disuelve en el agua por diversos procesos como la difusión entre la atmósfera y la superficie del agua, agitación producida por oleaje, viento o el propio paso entre rocas y por la fotosíntesis de plantas acuáticas. La concentración de oxígeno disuelto está afectada principalmente por diversos factores: temperatura, tipo de flujo de la corriente, presión del aire, existencia de plantas acuáticas, materia orgánica disuelta y actividades humanas.

El oxígeno en los sistemas aerobios es el principal factor limitante. Los sistemas biológicos con y sin oxígeno, son en esencia, totalmente distintos e involucran otro tipo de organismos. El oxígeno disuelto en el tratamiento de agua determina entre otros aspectos, la profundidad física del lecho filtrante, los procesos biológicos implicados y el tiempo en que el sustrato será consumido por los microorganismos.

La transferencia de oxígeno constituye un factor importante en el crecimiento de los microorganismos y es variable fundamental para el escalado y la economía de los sistemas aerobios. La concentración de oxígeno disuelto en un cultivo con microorganismos aerobios depende de la tasa de transferencia de oxígeno de la fase gas al líquido, de la velocidad de transporte del oxígeno hacia las células y de la tasa de consumo de oxígeno (OUR, *oxygen uptake rate*) por los microorganismos para el crecimiento, mantenimiento y producción de metabolitos y estructuras celulares (Galaction *et al.*, 2004).

El volumen de aire requerido para tratamiento está en función de la carga de contaminantes, la tasa de respiración endógena de la biomasa y de la eficiencia de la transferencia de masa (Robinson *et al.*, 1994). En los BAF, una adecuada aeración es esencial para alcanzar el nivel adecuado de tratamiento (Vedry *et al.*, 1994).

La eficiencia de utilización de oxígeno en los BAF (5 – 9.2%) es mayor que en otros procesos de tratamiento de aguas residuales (Benefield y Randall, 1980), probablemente debido a un incremento en el tiempo de contacto de las burbujas por atascamiento y rutas intrincadas generados por el medio de soporte (Stensel *et al.*, 1988). Adicionalmente, las burbujas de aire están directamente en contacto con la biopelícula del BAF, se piensa que entre 50 y 65 % del oxígeno suministrado es transferido directamente a los microorganismos (Lee y Stensel, 1986).

Dentro de la lista de los procesos que requieren consumo de oxígeno en los reactores biológicos, está la oxidación del nitrógeno amoniacal. El nitrógeno amoniacal puede ser eliminado del sistema de varias maneras, pero, el método más frecuente, es por nitrificación, el cual se compone de dos pasos donde el amonio es oxidado, primero a nitritos (N-NO₂) y después a nitratos (N-NO₃). Este proceso, requiere un índice de aireación alto para suministrar oxígeno suficiente para satisfacer las necesidades de energía de los

microorganismos. Estas reacciones las llevan a cabo bacterias autótrofas, las cuales, se reproducen lentamente y son sensibles a los cambios de su medio habitual y, de esta forma en sistemas aerobios, necesitan una concentración de oxígeno disuelto de al menos 2 mg/L (Metcalf y Eddy, 2002).

En el biorreactor, la transferencia de oxígeno está afectada por diferentes factores que intervienen sobre la hidrodinámica de éste, como: las propiedades físicas tanto del medio de cultivo como del gas utilizado para aportar el oxígeno, los parámetros geométricos del biorreactor, las condiciones de operación a las que se desarrolla el proceso y el tipo de microorganismos (Deckwer y Schumpe, 1993). Con el propósito de conocer el efecto de estos factores sobre la transferencia de oxígeno se han desarrollado diferentes trabajos para evaluar la incidencia de cada factor buscando mejorar los procesos de transferencia de oxígeno, logrando en algunos casos superar las limitaciones a las que los microorganismos se encuentran expuestos en los diseños convencionales (García-Ochoa y Gómez, 2009).

Una de las razones principales por las que la disponibilidad del oxígeno en el medio es limitada, está relacionada con su baja solubilidad en el agua. Para superar este inconveniente y evitar que la transferencia de oxígeno sea el paso limitante para el crecimiento microbiano, viéndose afectado el tratamiento (García-Ochoa *et al.*, 2010), se emplean como alternativas convencionales, cambios en la velocidad de agitación o en el flujo de aireación o en los sistemas de distribución de aire (Akita y Yoshida, 1973; Nikakhtari y Hill, 2005; Flores-Cotera y García-Salas, 2005; Yazdian *et al.*, 2009; Moraveji *et al.*, 2012).

Al incrementar la carga orgánica (arriba de 31 gDBO/m²·d) la tasa de consumo de oxígeno aumenta hasta llegar a un punto en el cual la transferencia de oxígeno se vuelve limitante para la eliminación de contaminantes (Valdivia, 1998).

En las biopelículas, cierto tipo de bacterias, pueden modificar su metabolismo, debido a la limitación en la difusión del oxígeno, por ello pueden encontrarse zonas aerobias y anaerobias (Zhang, *et al.*, 1995; Zhang y Bishop 1994; Jiang y Bishop, 1994). Considerando lo anterior, la profundidad límite a la cual el oxígeno disuelto puede difundirse en una biopelícula es de 200 μ m.

El consumo bioquímico de oxígeno total para la degradación de un sustrato es la suma de la respiración exógena (el sustrato es externo) y la respiración endógena (el sustrato son las reservas propias). Para poder cuantificar el consumo de oxígeno por sustrato es necesario determinar el consumo total de oxígeno y el consumo de oxígeno en condiciones endógenas.

2.4 Configuración para remoción de nutrientes

La materia orgánica medida como DQO y los nutrientes son removidos de la fase líquida mientras pasan a lo largo de la biopelícula. Los procesos aerobios de biomasa fija pueden ser los de flujo descendente y de flujo ascendente, y cada uno de éstos aporta diferentes características a la biopelícula. El tipo y tamaño del medio de soporte, es el principal factor que afecta el desempeño y las características operativas de los procesos de biomasa inmovilizada sumergida.

En la Figura 2.5 se muestra el paso de la materia orgánica. En la fase líquida (2), que se difunde a la biopelícula (1) y los productos de la degradación de la materia orgánica y los nutrientes se difunden de la biopelícula (1) a la fase líquida (2).

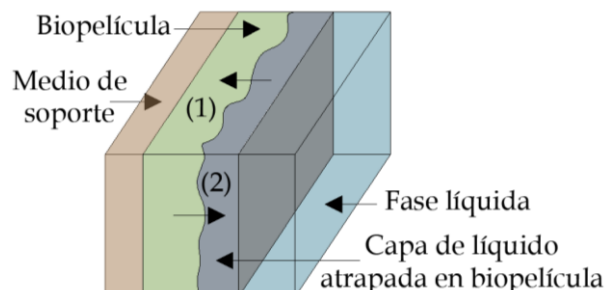


Figura 2.5. Representación de una sección transversal de la biomasa inmobilizada en el medio de soporte.

En un proceso de tratamiento de biomasa inmobilizada, una biopelícula compuesta de microorganismos, materia particulada y polímeros extracelulares están conglomerados y cubren el material de soporte empacado, el cual puede ser plástico, roca y otros materiales. En la figura 2.4 se representan las partes involucradas en la difusión que sucede en la biopelícula, donde el sustrato, oxígeno y nutrientes se difunden a través de la capa inmediata de la fase líquida hacia la biopelícula, y los productos de biodegradación salen de la biopelícula, hacia la fase líquida del sistema (Metcalf y Eddy, 2002).

En aplicaciones de biofiltración, especialmente en sistemas de flujo ascendente, las tasas de alimentación pueden ser mayores que en otros sistemas, optimizando los volúmenes del reactor y minimizando los tiempos de contacto. Para un determinado nivel de tratamiento, los biofiltros requieren tres veces menos volumen de aeración que sistemas de lodos activados y veinte veces menos que filtros percoladores (Smith et al., 1991)

2.4.1 Remoción de materia carbonosa

El proceso de remoción de materia orgánica (DQO) por medio de biomasa inmobilizada requiere suficiente tiempo de contacto entre el agua residual y los microorganismos heterótrofos, además de suficiente oxígeno y nutrientes. Durante el consumo biológico inicial de materia orgánica, más de la mitad de ésta, es oxidada y el remanente es asimilado como nueva biomasa, la cual puede volver a ser oxidada para la respiración endógena (Metcalf y Eddy, 2002).

Al aumentar la carga orgánica aplicada al sistema aumenta la DQO en el efluente. (Pujol et al., 1989). Cargas orgánicas de hasta $10 \text{ kgDQO/m}^3 \cdot \text{d}$ o $6 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{h}$ han podido ser removidas de manera importante (más del 80 % de remoción), con partículas de entre 3 y 6 mm de diámetro, limitado únicamente por la difusión de oxígeno disuelto y su consecuente aprovechamiento por parte de la célula (Farabegoli et al., 2009; Pujol et al., 1992). Para la remoción de materia carbonácea, el pH en rango 6.0 a 9.0 es tolerable; sin embargo, el óptimo desempeño ocurre cerca de pH neutral (Metcalf y Eddy, 2002).

Se ha documentado que los BAF de flujo ascendente tienen un mejor desempeño para la remoción de materia orgánica y la nitrificación (Pujol et al., 1994)

2.4.2 Remoción de nitrógeno amoniacal (nitrificación)

Nitrificación es el término utilizado para describir el proceso biológico de dos etapas en el cual el amonio (N-NH_4) es oxidado a nitrito (N-NO_2), y el nitrito es oxidado a nitrato (N-NO_3), en ambos casos, por medio de bacterias nitrificantes (Metcalf y Eddy, 2002). Dichas bacterias nitrificantes autótrofas, requieren de un adecuado balance de nutrientes en términos de fósforo y bicarbonatos esenciales, que deben suministrarse para lograr el proceso (Feng et al., 2010; Pujol et al., 1989).

En sistemas de biomasa inmovilizada usados para nitrificación, la mayor parte de la carga orgánica expresada como DQO, debe ser removida antes de que los organismos nitrificantes puedan ser estabilizados. Las bacterias heterótrofas tienen un mayor desarrollo de biomasa y por lo tanto, pueden dominar el área superficial disponible sobre las bacterias nitrificantes (Metcalf y Eddy, 2002), impidiendo el logro del proceso.

En condiciones normales de operación, la tasa de nitrificación es del orden del 80 - 90 % para cargas de alimentación de $1.4 \text{ kg N-NH}_4/\text{m}^3\cdot\text{d}$. (Pujol et al., 1989). Además, al aumentar la concentración de amonio en el influente, aumenta la remoción. (Zhang et al., 2011; Pujol et al., 1989). Las bajas temperaturas inhiben la nitrificación, y por debajo de 10°C no se realiza el proceso. Sin embargo se han reportado remociones de amonio de $0.3 \text{ kg N-NH}_4 / \text{m}^3\cdot\text{d}$, logradas a 6°C , con una previa estabilización. (Feng et al., 2010; Qiu, L. y Ma, J., 2005).

En sistemas con flujo descendente, donde el aire y el agua fluyen a contracorriente, el tiempo de contacto es mayor. Esto es particularmente importante cuando la remoción de materia carbonosa y amonio es requerida en un mismo reactor. De este modo, los microorganismos nitrificantes, que habitan en la parte baja del filtro, reciben aire rico en oxígeno y se disminuye la probabilidad de que el oxígeno se vuelva limitante (Thomas, A., 2015; Mendoza-Espinosa y Stephenson, 1999; González-Martínez y Wilderer, 1991)

A bajas concentraciones de oxígeno disuelto ($<0.50 \text{ mg/L}$), la tasa de nitrificación se encuentra mayormente inhibida. Dicho efecto de inhibición lo muestran principalmente "bacterias del género *Nitrobacter*", provocando una nitrificación parcial, incrementando la concentración de nitrito (N-NO_2) en el efluente (Metcalf y Eddy, 2002).

2.4.3 Remoción de nitrógeno de nitrato (desnitrificación)

La desnitrificación es el proceso de reducción biológica mediante el cual, bajo condiciones anóxicas, se transforma el nitrato a nitrógeno molecular, el cual escapa a la atmósfera. La desnitrificación biológica es parte de la remoción integral de nitrógeno, que involucra nitrificación y desnitrificación (Metcalf y Eddy, 2002).

El proceso más comúnmente utilizado para la remoción biológica de nitrógeno en aguas residuales, consiste en un proceso anóxico seguido de uno aerobio, donde ocurre

nitrificación. El nitrato producido en la sección aerobia es devuelto a la sección anóxica. Debido a que el sustrato orgánico del influente de agua residual provee a los donadores de electrones para las reacciones óxido-reductoras utilizando nitrato, el proceso es denominado “desnitrificación por sustrato”, además, debido a que el proceso anóxico precede al aerobio, el proceso es conocido como “desnitrificación preanóxica” (Metcalf y Eddy, 2002).

Está ampliamente documentado que el proceso de desnitrificación requiere adicionar cosustrato carbonoso para lograr los requerimientos metabólicos de las bacterias heterótrofas desnitrificantes (Farabegoli et al., 2009; Han et al., 2001; Pujol et al., 1989). El metanol es el sustrato carbonoso más ampliamente utilizado para lograr la desnitrificación (deBarbadillo et al., 2010; Pujol et al., 1989), tomando esto en cuenta, no es difícil señalar que, la viabilidad técnica y económica del proceso de desnitrificación, depende principalmente del suministro ajustado de metanol (deBarbadillo et al., 2010; De Feo, G. 2007). No solamente el cosustrato carbonoso es un factor limitante, también ha sido reportado que una concentración de oxígeno disuelto de 0.2 mg/L y mayores, inhiben la desnitrificación (Koren et al., 2000; Terai y Mori, 1975).

2.4.4 Remoción de fósforo

Generalmente, el fósforo se remueve para controlar la eutrofización porque el fosforo es un nutriente en la mayoría de los sistemas acuáticos. La descarga del efluente de una planta de tratamiento debería estar en un rango de entre 0.10 y 2.0 mg/L de fósforo, dependiendo de la ubicación de la planta y del impacto potencial al cuerpo receptor (Metcalf y Eddy, 2002).

La remoción de fósforo por vía biológica se da por medio de bacterias heterótrofas facultativas acumuladoras de fosfatos, las cuales incorporan el fósforo a su biomasa celular, que, subsecuentemente es removida del proceso con el retrolavado. Los organismos acumuladores de fósforo (PAOs, siglas en inglés) requieren una configuración de sistema que les otorgue ventaja sobre otras bacterias (Metcalf y Eddy, 2002).

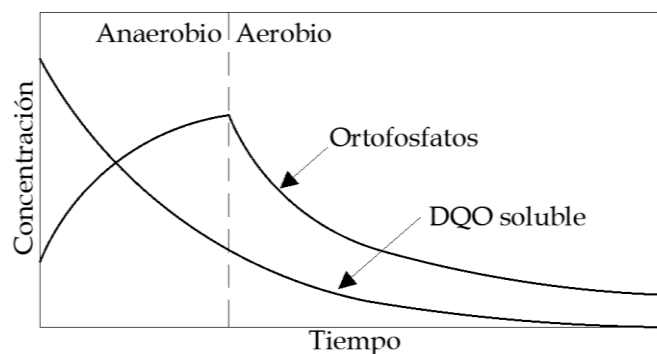


Figura 2.6. Comportamiento de la DQO soluble y fósforo (adaptado de Sedlak, 1991).

Según Muñoz y González (2009), la carga orgánica es una de las principales factores de operación que afectan el proceso de remoción biológica de fósforo. Cargas altas favorecen el crecimiento de bacterias acumuladoras de fosfatos (poly-P). Es muy importante que existan dos fases, una anaerobia y una aerobia, esto para que se remueva la mayor cantidad de sustrato carbonoso y que se evite que las bacterias heterótrofas facultativas no poly-P

dispongan de fuente de carbono. En la figura 2.6 se muestra el comportamiento de los ortofosfatos en fases anaerobia y aerobia consecutivas. De esta manera, un BAF puede remover hasta un 70 % del fósforo, trabajando simultáneamente con la nitrificación (Pujol et al., 1994; Qiu, L. y Ma, J., 2005).

Sedlak (1991) menciona que los sistemas de remoción biológica de fósforo están basados en las siguientes observaciones:

1. Gran cantidad de bacterias son capaces de almacenar grandes cantidades de fósforo como poli-fosfatos en sus células.
2. Bajo condiciones anaerobias, los PAOs pueden asimilar productos de fermentación (p.ej. ácidos grasos volátiles) almacenándolos dentro de la célula con la liberación simultánea de fósforo, almacenado como polifosfatos.
3. Bajo condiciones aerobias, la energía es producida por la oxidación de los polifosfatos almacenados.

En un tratamiento terciario de remoción de fósforo, concentraciones arriba de 4 mg/L pueden ser totalmente removidas, pero, cargas mayores pueden provocar un incremento en la cantidad de sólidos en el efluente (Carrand et al., 1990; Sekoulov, I. y Oles, T., 1993).

2.5 Materiales filtrantes

Diversas investigaciones indican que un medio filtrante adecuado debe satisfacer la mayoría de las siguientes condiciones (Moore *et al.*, 2001; Elmitwalli *et al.*, 2000; Show y Tay, 1999; Fitzpatrick, 1998; Humby y Fitzpatrick, 1996; Iwai y Kitao, 1994).

- Grado adecuado de adherencia de los microorganismos;
- Elevada área superficial específica;
- Baja resistencia al flujo de agua;
- Estabilidad química y biológica;
- Buena resistencia mecánica, a la presión y la abrasión;
- Alta capacidad de atrapar sólidos suspendidos;
- Baja relación entre el peso específico del material con respecto al del agua para evitar que la carga sobre la estructura sea excesiva;
- Bajo costo;
- Facilidad de fabricación o abastecimiento, y transporte.

Es difícil encontrar un medio de soporte que reúna todas las características anteriormente listadas, de hecho, cualquier material de soporte presentará ventajas y desventajas en su utilización, por lo que habrá que analizar sus características y decidir cuándo un material es apropiado para los fines en los que será empleado. El material pétreo de origen volcánico presenta muchas de las características deseables para un material filtrante, ver figura 2.7.

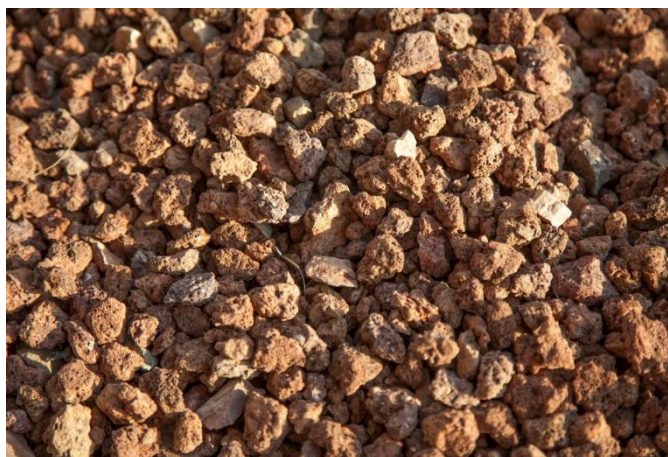


Figura 2.7. Espuma volcánica con características importantes para la filtración biológica.

El tamaño de partícula del medio filtrante determina la carga hidráulica máxima que puede ser aplicada al sistema. Medios filtrantes compuestos de partículas pequeñas ofrecen mayor área superficial por unidad de volumen para la formación de biopelículas, reduciendo el volumen del biofiltro, se ha encontrado que al disminuir el tamaño de partícula del medio mejora la capacidad de tratamiento del sistema, pero aumentan los requerimientos de retrolavado del mismo debido a que el medio tiende a colmatarse rápidamente por los sólidos contenidos en el agua residual cruda (Moore *et al.*, 2001). El tamaño de las partículas que componen el medio filtrante se selecciona de acuerdo con la finalidad del tratamiento que tendrá el filtro. Las partículas con diámetros superiores a 6 mm se recomiendan para eliminación de materia orgánica y nitrificación; para tratamiento terciario y eliminación de nutrientes se recomiendan partículas entre 2 y 3 mm de diámetro (Moore *et al.*, 2001).

La forma del material también afectará el desempeño del reactor. Se ha encontrado que el uso de partículas irregulares, en comparación con partículas esféricas, incrementa el desempeño de los filtros combinados. Las superficies irregulares en comparación con las superficies lisas proveen más sitios donde la biopelícula se puede adherir, produciendo biopelículas más estables (Mendoza-Espinoza y Stephenson, 1999).

La porosidad del material de soporte es un factor relevante en la adhesión de microorganismos al mismo. La porosidad afecta directamente el tiempo de retención celular, la concentración de biomasa retenida en el reactor y la caída de presión a través del filtro. Otro parámetro significativo es la rugosidad del medio, ya que afecta el funcionamiento del reactor. Las superficies rugosas disponen de más espacio para la adhesión de biopelícula que los medios lisos. Los reactores que usan medios lisos son más inestables bajo variaciones de flujo de líquido o aire, causando desprendimiento de la biopelícula. Los rugosos producen biopelículas más estables y también mejoran la retención de sólidos (Mendoza-Espinoza y Stephenson, 1999).

El material de empaque en los filtros combinados influye directamente sobre las características hidráulicas y la transferencia de oxígeno y sustrato (Mendoza-Espinoza y Stephenson, 1999). Además, las características del material filtrante y la altura de la sección empacada afectan de manera significativa la inversión inicial y los costos de operación. La

selección de un material filtrante apropiado es determinante en el diseño y operación del proceso para poder alcanzar los estándares deseados en el efluente (Farabegoli *et al.*, 2009).

El tamaño de partícula de lecho filtrante afecta la eficiencia del tratamiento en términos de remoción física de sólidos y superficie disponible para el crecimiento de biopelícula. El uso de material de empaque grande (mayor a 6 mm) disminuye la eficiencia en la remoción de nutrientes y sólidos, debido a pérdida de área superficial en contacto con los microorganismos; por otra parte, reduce los requerimientos de retrolavado, lo que al mismo tiempo reduce los costos de operación (Mendoza-Espinoza y Stephenson, 1999).

Kent *et al.*, (2000) encontraron que con un medio filtrante con partículas entre 2 y 4 mm se obtuvo la mejor nitrificación operando con cargas de nitrógeno amoniacal arriba de 0.6 kgN-NH₄/m³d y con valores superiores observaron que la nitrificación disminuyó. Han *et al.*, (2001) encontraron que, usando un medio filtrante con tamaños entre 3 y 5 mm se obtuvo una eficiencia en la nitrificación del 90% operando bajo una carga de nitrógeno amoniacal de 1.8 kgN-NH₄/m³d.

La selección de dicho material de empaque va directamente relacionada con los objetivos del tratamiento, el flujo de agua, régimen de retrolavado y la infraestructura específica del proceso. En la mayoría de los casos, el medio de soporte mineral es más denso que el agua y el medio plástico es más ligero. El medio necesita soportar el desgaste por abrasión provocado por el retrolavado y la degradación química causada por el agua residual.

2.6 Factores que afectan la operación de un BAF

Existen factores que modifican las condiciones de cada una de las fases, promoviendo características de efluente particulares. Las cargas orgánica y de nitrógeno amoniacal, la temperatura, los tiempos de retención celular e hidráulico, la frecuencia de retrolavado, el tamaño de partícula del medio filtrante y la disponibilidad de oxígeno disuelto han sido identificados como los factores más influyentes en la descomposición de la materia orgánica y la nitrificación (Ouyang *et al.*, 2000; Mann *et al.*, 1998; Çeçen y Gönenc, 1994; Boller *et al.*, 1994).

2.6.1 Temperatura

La temperatura es un factor relevante para los procesos biológicos. Afecta los valores de las constantes de equilibrio ácido/base, gas/líquido, a la solubilidad de las sustancias, los coeficientes de difusión y la actividad enzimática. El metabolismo de los microorganismos está supeditado a la temperatura (Rheinheimer, 1987). Las tasas de reacción biológica aumentan con la temperatura, bajas temperaturas en la fase líquida pueden requerir tiempos de retención más largos de lo usual. Los cambios en la temperatura del sistema pueden modificar la rapidez de las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo: crecimiento de los microorganismos, difusión de los nutrientes y solubilidad del oxígeno (Metcalf y Eddy, 2003).

Los sistemas de filtración combinada presentan una mejor respuesta a variaciones de la temperatura que los procesos convencionales, como los lodos activados. Estas variaciones no son tan significativas para los filtros biológicos, ya que parte importante de los procesos de

remoción son físicos (retención de los sólidos que vienen con el agua residual cruda y de los producidos por procesos biológicos) (Lazarova y Manem, 1994). Una particularidad interesante de los sistemas con biomasa inmovilizada es la tolerancia a las variaciones de temperatura. Sin embargo, caso particular de las bacterias nitrificantes sí disminuyen su actividad a las bajas temperaturas (Tanaka *et al.*, 1996; Wijffels y Tramper, 1995)

La eliminación de sólidos suspendidos, degradación de materia orgánica y la nitrificación, disminuyen drásticamente por exposición prolongada a temperaturas menores a 5°C, según evidencia de pérdida de biomasa, (Koustasakos, *et al.*, 1992). La temperatura representa un impacto significativo debido al incremento de la producción-transferencia de equivalentes reductores (dos Santos *et al.*, 2005; van der Zee y Villaverde, 2005; Cervantes *et al.*, 2006; van der Zee y Cervantes, 2009).

2.6.2 Carga hidráulica y tiempo de retención hidráulico (TRH)

Dos de los principales parámetros utilizados en el diseño de sistemas de tratamiento de aguas residuales son: la carga hidráulica superficial (CHS) y el tiempo de retención hidráulica (TRH).

La carga hidráulica superficial (también conocida como tasa de filtración) corresponde a un factor de carga hidráulica expresada en términos de flujo por área superficial (m/h ó m³/h/m²) y se determina por medio de la ecuación 2.6.

Esta carga hidráulica representa la cantidad de líquido que tiene contacto con una determinada superficie y que por lo tanto puede ser punto de comparación entre diferentes materiales filtrantes.

Ecuación 2.6

$$CHS = \frac{Q \text{ (m}^3\text{/h)}}{A_f \text{ (m}^2\text{)}}$$

donde:

Q= Caudal o tasa de flujo volumétrico (m³/h)

A_f= Área de filtración (m²)

El tamaño de partícula del medio filtrante determina la carga hidráulica que está siendo aplicada al sistema y depende directamente del material utilizado para crecimiento de la biopelícula y los objetivos particulares del tratamiento (Osorio y Hontoria, 2001; Moore *et al.*, 2001).

El tiempo de retención hidráulica (TRH) es un parámetro determinante en todo sistema de tratamiento de aguas residuales, ya que además de indicar el tiempo que permanece el agua residual en el reactor, permitiendo obtener la máxima remoción de sólidos y materia orgánica expresada como DQO. El TRH está definido en la ecuación 2.7.

Ecuación 2.7

$$TRH = \frac{V_{agua} (m^3)}{Q (m^3/h)}$$

Donde:

V_{agua} = Volumen ocupado por el agua (m^3)

Q = Caudal o tasa de flujo volumétrico (m^3/h)

El TRH es conocido también como tiempo medio de residencia, permanencia o retención en los procesos biológicos y de este dependen directamente la adecuada transferencia de nutrientes o las reacciones necesarias.

La permanencia puede describirse como el “tiempo medio que el fluido permanece en el reactor (V_{agua})”. Es el tiempo que tarda una partícula de cualquier fluido en entrar y salir del recipiente, en el caso de que todas las partículas del fluido tuvieran el mismo comportamiento (fluido estable ideal).

Al comparar las ecuaciones 2.6 y 2.7, el caudal es un factor inverso al TRH, por lo tanto, el incremento de la carga hidráulica en el sistema trae como consecuencia la disminución del tiempo de retención hidráulica.

2.7 Retrolavado

El medio filtrante retiene las partículas sólidas y da soporte a la biopelícula, lo que provoca la colmatación (disminución de los espacios vacíos entre partículas) progresiva de los filtros. Los mecanismos mediante los cuales las partículas sólidas quedan atrapadas en el medio filtrante son el transporte y la adherencia. El transporte de las partículas es un fenómeno físico e hidráulico afectado principalmente por los parámetros que gobiernan la transferencia de masa. La adherencia entre partículas y material filtrante es básicamente un fenómeno de acción superficial influenciado por parámetros fisicoquímicos superficiales (Huisman y Wood, 1974). Esta es la principal limitación de los BAF, la colmatación evita el libre flujo del agua residual restringiendo la efectividad. Por lo tanto, es imprescindible realizar acciones para mantener eficiente el sistema.

Para aguas residuales con altas concentraciones de sólidos, se elimina por filtración una parte significativa de estos. Los sólidos inertes serán retenidos entre el medio de soporte hasta que se efectúe el retrolavado, pero los sólidos biológicos pueden ser degradados dependiendo del tiempo de retención.

Respecto al engrosamiento constante de la biopelícula y colmatación del medio, hay dos soluciones principales: la primera opción es que la porosidad del medio filtrante debe ser suficientemente grande y las condiciones hidráulicas adecuadas para que el medio filtrante sea tal, que obtenga la mayor área superficial específica y por tanto, esta solución genere biofiltros considerablemente voluminosos. La segunda opción es aplicar un lavado del filtro eficiente. Esto se consigue aplicando un alto flujo de agua y/o aire, que expanda el lecho y provoque impactos inerciales en las partículas de soporte.

La operación de retrolavado se realiza con el propósito de evitar la colmatación del medio filtrante (figura 2.8a). El retrolavado de los filtros mejora el contacto microorganismo – sustrato y maximiza el tiempo de retención hidráulico, garantizando una calidad de efluente apropiada.

Inicialmente el retrolavado de los filtros biológicos se realizaba solo con agua, con una expansión del medio filtrante entre el 20 y el 50%. Debido al limitado número de colisiones y abrasiones que ocurren entre las partículas al realizar el retrolavado con agua, se ha demostrado que dicho procedimiento es poco efectivo para limpiar el soporte.

Un retrolavado eficiente debería propiciar, por lo menos, el desprendimiento de las capas más inestables y exceso de película que cubre las partículas del lecho filtrante y, además, hacer chocar los flóculos de partículas suspendidas contenidas en el agua residual cruda (figura 2.8b). Un mal proceso de retrolavado resultará en la reducción de la duración del filtro, la acumulación de sólidos y un detrimento del rendimiento.

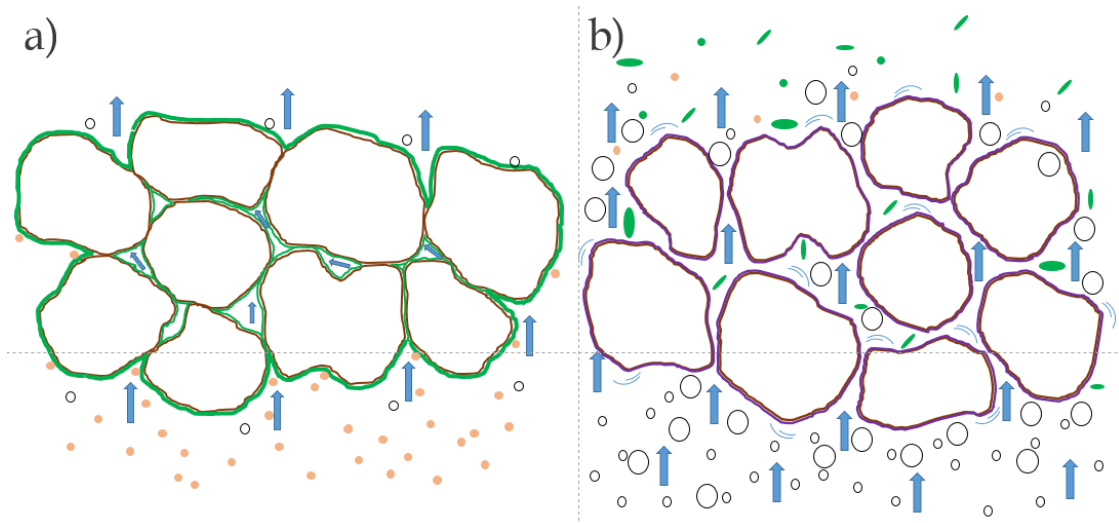


Figura 2.8. Expansión del lecho en el retrolavado, a) antes y b) durante

En todo caso, el retrolavado deberá ser en sentido contrario de la flotación del medio filtrante, en otras palabras, si el material flota, el flujo deberá ser descendente y si se hunde, deberá ser ascendente.

Por lo general, se recomienda que el tiempo de retrolavado sea de cinco a diez minutos. Se ha comprobado que el régimen más efectivo de retrolavado se logra utilizando aire combinado con agua, ya que esto incrementa considerablemente el número de impactos entre partículas. El medio de soporte se expande al introducir aire mediante difusores colocados en el fondo del filtro. Una vez expandido el medio filtrante y sin suspender la alimentación del aire, se introduce agua para arrastrar el exceso de biopelícula (Osorio y Hontoria, 2006; Humby y Fitzpatrick, 1996).

Las características físicas del medio, como son el diámetro, la porosidad, la densidad y la configuración, son las que determinan la frecuencia y duración del retrolavado (Fitzpatrick,

1998). Las partículas grandes disminuyen la frecuencia de retrolavado, pero la retención de sólidos es menor; inversamente, partículas pequeñas disminuyen más la concentración de sólidos suspendidos en el efluente, pero se requieren más frecuentes e intensos retrolavados. Para mejorar la adecuada operación de los biofiltros, es necesario que el material filtrante sea retrolavado con intervalos regulares; con esta condición cumplida el reactor puede tolerar altas variaciones de flujo y cargas, dentro de los límites de diseño.

2.8 Procesos comerciales

Los procesos comerciales basados en el funcionamiento del BAF que destacan por el número de plantas construidas y en funcionamiento son: Suez Environment (antes Degremont) tecnología Biofor® (ver figura 2.9) y Veolia (OTV) con sus tecnologías Biocarbone® y Biostyr® (Martin, 1999). Varias empresas desarrollaron tecnología y procesos teniendo en cuenta el funcionamiento básico de los BAF y mejorando la configuración de los sistemas para aumentar la eficiencia en: remoción de la materia orgánica, nitrificación, desnitrificación y la eliminación de fósforo, al mismo tiempo de disminuir costos de: construcción, suministro de insumos y mantenimiento.



Figura 2.9. Medio de soporte Biofor® de Suez-Dégremont.

Existen diferentes materiales de empaque que pueden usarse en filtros biológicos aerados. En el mercado existe una amplia variedad de productos comerciales basados en el concepto de filtración combinada (tabla 2.2).

Tabla 2.2. Sistemas BAF comerciales y sus medios de soporte (deBarbadillo et al., 2010)

Proceso	Proveedor	Tipo de flujo	Medio de soporte	Densidad específica	Tamaño partícula (mm)	A.S.E. (m ² /m ³)
---------	-----------	---------------	------------------	---------------------	-----------------------	--

Biobead®	Brightwater FLI	A	Polietileno	0.95		
Biocarbón®	OTV/ Veolia	D	Esquisto expandido	1.6	2 - 6	
Biofor®	Degrémont / Suez	A	Arcilla expandida	1.5 - 1.6	2.7, 3.5 y 4.5	1,400 - 1,600
Biolest	Stereau	A	Piedra pómez / puzolana	1.2		
Biopur	Sulzer / Aker Kvaerner	D	Polietileno		*	
Biostyr®	Kruger / Veolia	A	Poliestireno	0.04 - 0.05	2 - 6	1,000 a 1,400
Colox®	Severn / Trent	A	Arena	2.6	2 - 3	656
Denite®	Severn / Trent	D	Arena	2.6	2 - 3	656
Eliminite®	FB Leopold	D	Arena	2.6	2	
Submerged aerated filter	Severn / Trent	A/D	Escoria	2 - 2.5	28 - 40	240
			Grava lavada	2.6	19 - 38	240

A.S.E.: Área superficial Específica, * estructurado, A: Ascendente, D: Descendente, ® Marca Registrada

La figura 2.10 muestra un esquema representativo del sistema Biostyr® process de Veolia, donde el influente llega al material de soporte por la parte inferior, al igual que el aire. Al ingresar el agua residual al depósito, hace flotar al medio de soporte de la biopelícula. Al hacer circular el agua residual a través del medio, se reduce la cantidad de materia orgánica y sólidos suspendidos. El efluente es por la parte superior.

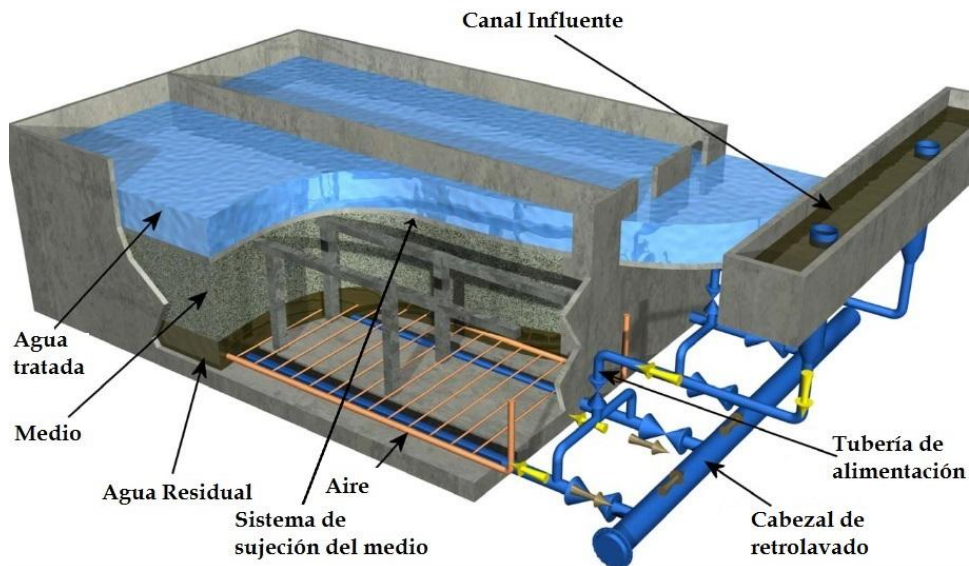


Figura 2.10. Biofiltro aerado, recuperado de Biostyr® BAF process, Veolia, 2014.

3. BIOPELÍCULAS

Recientemente, los reactores biológicos de película han sido considerados con mayor atención para el tratamiento de aguas residuales con tóxicos para los microorganismos, como el fenol, clorofenol, anilina, formaldehído, por mencionar algunos. La inmovilización de microorganismos en soportes para biopelículas es una estrategia que se utiliza cada vez más, debido a que los microorganismos poseen menor sensibilidad a los compuestos tóxicos, tiempos de residencia microbiana más largos y menor riesgo de lavado de la biomasa (Hosseini Koupaie *et al.*, 2013)

3.1 Descripción de biopelícula y características principales

La biopelícula es una estructura compleja formada por agregados celulares (grupos de células densamente empaquetados) y huecos intersticiales, adherida a un material que puede ser de origen natural o sintético. Su estructura es morfológica y fisiológicamente distinta a la de bacterias libres, utilizándose incluso mediadores químicos intercelulares para desarrollar la película (Davies *et al.*, 1998; De Beer *et al.*, 1996).

La estructura de las biopelículas está influenciada por la carga orgánica sobre la superficie de la misma, las condiciones hidrodinámicas incluyendo las fuerzas cortantes sobre la biopelícula y el tipo de microorganismos o grupo fisiológico. La fuerte influencia y, por tanto, la importancia de las variaciones en las cargas hidráulica y orgánica sobre la estructura de la biopelícula son extensamente conocidas. Estas variaciones pueden ocurrir incluso en un mismo poro del material de soporte. Con frecuencia, estos aspectos no son claramente descritos, haciendo difícil el comparar resultados de diferentes estudios, considerando a las fuerzas cortantes sobre la estructura de las biopelículas (van Loosdrecht *et al.*, 1995).

Generalmente, un tránsito rápido del agua residual a través del biofiltro, limita el crecimiento de las películas bacterianas a espesores reducidos. Los microorganismos forman capas más finas sobre superficies lisas en comparación con las películas microbianas sobre material poroso (Kosaric y Blaszczyk, 1990); Kimura *et al.* (2005); Hu *et al.* (2013) y cada sistema de tratamiento tiene un espesor típico de biopelícula.

Las sustancias inicialmente extendidas sobre la superficie, pasan al interior de la biopelícula por difusión molecular y son luego metabolizadas por los microorganismos que componen la biopelícula. Si las sustancias en el agua residual se encuentran como materia suspendida o coloidal no son capaces de difundirse hacia la biopelícula de manera directa y deben ser hidrolizadas a moléculas más pequeñas en la superficie de la biopelícula antes de que tomen el curso descrito.

La figura 3.1, representa de manera simplificada la heterogeneidad de especies microbianas en las biopelículas y el comportamiento de los metabolitos, que a su vez, pueden ser nutrientes de otro tipo de metabolismo. Los microorganismos aerobios dependen del oxígeno y del sustrato disponible (nutrientes); por lo tanto, sólo pueden vivir en áreas de la biopelícula con acceso a ambos. Los productos finales del metabolismo se transfieren a la fase líquida, por diferencial de concentraciones. Por lo tanto, si alguno de estos componentes se agota a cierta profundidad de la biopelícula, entonces las reacciones biológicas no ocurrirán en la parte más profunda.

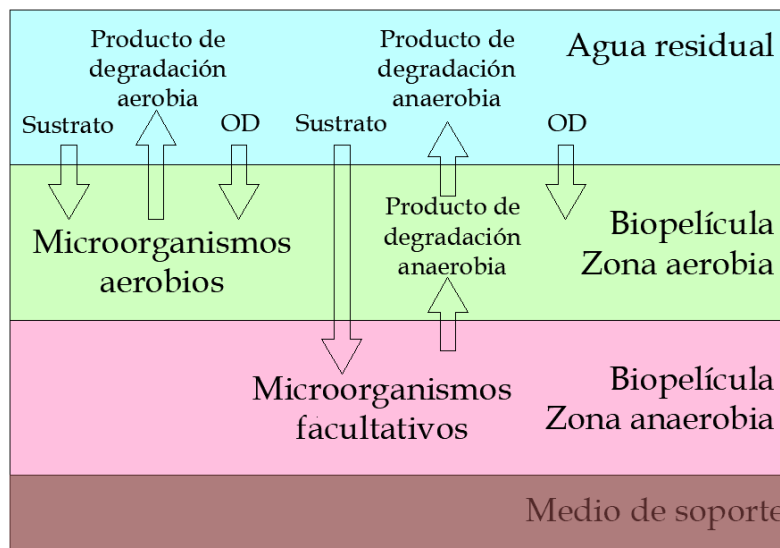


Figura 3.1. Heterogeneidad de especies en una biopelícula (Wimpenny *et al.*, 2000).

En las partes profundas de una biopelícula pueden presentarse condiciones anóxicas/anaerobias debido a que el oxígeno no se difunde hasta el fondo, de esta manera, algunos organismos facultativos que se han quedado sin acceso al oxígeno, modifican su metabolismo. Estos microorganismos consumirán el sustrato y nutrientes que los aerobios no aprovechan, e incluso algunos de los productos finales de la respiración aerobia, pueden ser nutrientes para organismos facultativos en las partes profundas.

Así, la sustancia agotada determina, en primer lugar, la profundidad efectiva de la biopelícula, de tal forma que esa sustancia se denomina "factor limitante". Los nutrientes tales como nitrógeno, fósforo y metales traza generalmente no llegan a ser factores limitantes, salvo en casos especiales. Consecuentemente, es posible que tanto la materia orgánica como el oxígeno sean factores limitantes en las biopelículas aerobias, y por otra parte, únicamente la materia orgánica será el factor limitante en las biopelículas anaerobias (Morgenroth y Wilderer, 2000).

La variedad y proporción de las diferentes especies de microorganismos dependen de varios factores, como por ejemplo: características del medio de soporte, características del líquido residual a tratar, carga hidráulica, carga orgánica y disponibilidad de oxígeno.

El grosor de la biopelícula está influenciado por múltiples factores, entre los cuales se encuentran el caudal a través del filtro, la estructura del material filtrante, el diseño del sistema de tratamiento y la concentración de oxígeno disuelto.

Usualmente, las biopelículas tienen espesores que varían desde un par de micrómetros a más de 1 cm, sin embargo, es importante considerar que el comúnmente observado promedia 1 mm (Morgenroth y Wilderer, 2000; Rittmann y Manem, 1992; Wanner y Gujer, 1984). De cualquier manera, no toda la biopelícula está activa, dicha actividad cambia con el espesor de la biopelícula, llamado espesor activo. En la parte superior de esta capa, la difusión de nutrientes se convierte en "factor limitante", entonces se diferencia una capa "activa" de una "inactiva" de acuerdo al nutriente en cuestión (Lazarova y Manem, 1995).

3.2 Factores que afectan el desarrollo de biopelículas

Una de las principales características de los reactores de lecho fijo es que la biopelícula presenta una tendencia a cambiar de densidad, espesor y forma de acuerdo con las condiciones de operación (Nicolella *et al.*, 2000). Esto afecta la transferencia de masa, el proceso de desprendimiento y las características hidrodinámicas del reactor (Stoodley *et al.*, 1999). Además, la estructura de la biopelícula puede ser alterada por la incorporación de nuevas especies a la población de la biopelícula o viceversa; esto, a su vez, afecta la rapidez y el transporte de masa dentro de ella puesto que ambas son altamente dependientes de la morfología de la superficie y de la estructura interna de la biopelícula (Okabe *et al.*, 1998). Las propiedades físicas que más influyen en la cinética de degradación son el espesor, la densidad, la geometría y la porosidad.

Las condiciones de flujo en el reactor modifican las propiedades físicas de la biopelícula y por consiguiente afectan su estabilidad y el transporte de masa. Si se tienen altas velocidades de flujo (con una misma concentración de sustrato), se tienen biopelículas delgadas y compactas. Conforme se obtiene un incremento en la turbulencia, aumentan la densidad de la biopelícula, su rigidez y, evidentemente, su estabilidad mecánica, dando como resultado mayor resistencia al desprendimiento. Esto se puede interpretar como una respuesta biológica en la que las bacterias refuerzan la matriz extracelular para protegerse de las agresivas condiciones hidrodinámicas. Como consecuencia disminuyen la difusión, la transferencia de masa y la tasa de reacción (Valdivia, 2005).

Por otro lado, las velocidades bajas favorecen la formación de biopelículas gruesas con una mayor cantidad de biomasa activa, concentrada en las capas exteriores, que consumen grandes cantidades de sustrato (Meló y Vieira, 1999). Sin embargo, son menos resistentes a los esfuerzos mecánicos, por lo que sus capas superficiales pueden ser afectadas fácilmente por las fuerzas cortantes del agua. Esto significa que la mayor parte de la biomasa activa (la de las zonas exteriores) puede ser eliminada durante el proceso de desprendimiento. Entonces, se recomienda buscar un balance entre la estabilidad física y la actividad biológica (Meló y Vieira, 1999).

3.2.1 Rugosidad de la superficie

El desarrollo adecuado de las biopelículas depende en gran medida de la rugosidad del medio, ya que involucra indirectamente el funcionamiento del reactor. Las superficies rugosas proveen más sitios para la colonización de biopelícula que los medios lisos. Los reactores que usan medios lisos son menos estables bajo comportamiento agresivo de líquido o gas, causando desprendimiento de la biopelícula. Los medios de soporte rugosos producen biopelículas más estables y también mejoran la retención de sólidos (Mendoza-Espinoza y Stephenson, 1999).

3.2.2 Cargas eléctricas superficiales

Las fuerzas electrostáticas son altamente significativas en las etapas iniciales de colonización bacteriana, puesto que la carga superficial de casi todos los microorganismos es negativa (Rijnaarts et al., 1999; Kolot et al., 1988) y en muchos casos el material de lecho también está cargado negativamente, una fuerza repulsiva electrostática puede impedir la colonización. Normalmente otras fuerzas más grandes superan esta barrera repulsiva y las células cargadas negativamente se unen al material cargado negativamente, como el vidrio y la cerámica. En otros casos, donde la superficie de fijación está cargada positivamente, las fuerzas electrostáticas pueden dominar el proceso de unión (Rijnaarts et al., 1999; Croke, 1970).

Debe tomarse en cuenta que la superficie externa de las bacterias presenta carga electrostática predominantemente negativa a valores de pH superiores a 4. Por este motivo, la superficie seleccionada para el desarrollo de las biopelículas deberá tener cargas superficiales positivas para crear la fuerza necesaria que permita a las bacterias (y sustrato en su momento) adherirse al material de soporte (Vadillo et al., 2005).

Las interacciones electrostáticas que intervienen en la fijación microbiana son en su mayoría de enlaces iónicos e hidrógeno, que aunque son individualmente débiles en comparación con enlaces covalentes son, sin embargo, capaces de producir una unión relativamente firme si el número de enlaces es suficientemente grande (Martins et al., 2013; Cassidy et al., 1996; Tampion y Tampion, 1987).

Los microorganismos negativamente cargados y el medio de soporte negativamente cargado, presentan una repulsión entre las dos partes, necesitándose otras fuerzas para que se dé la colonización. La incorporación de Fe^{3+} en un medio de soporte, incrementa la colonización de células en casi un 50 % (Kolot, 1988).

3.2.3 Porosidad

Las biopelículas que se desarrollan sobre materiales porosos son más estables y resistentes que las que crecen sobre otros materiales. Un material poroso expone una mayor área superficial específica al crecimiento de los microorganismos permitiendo que una parte de ellos se encuentre en las zonas profundas de los poros y otros en la superficie (Yarwood et al., 2002).

El grado de porosidad de un material es un factor importante en el grado y preferencia de fijación de microorganismos a dicho material de soporte. Un material de soporte, que tiene un alto espacio vacío en el interior, permite que los microorganismos se adhieran bajo condiciones de esfuerzos cortantes reducidos, mientras que el fluido externo al poro puede moverse a alta velocidad (van den Berg y Kennedy, 1981).

La porosidad aparente del medio es inversamente proporcional al porcentaje de espacios muertos, ya que al disminuir la porosidad debido a la acumulación de biopelícula, se reduce el volumen efectivo del sistema.

Se ha demostrado (Qureshi et al., 2001; van den Berg y Kennedy, 1981) que a pesar de que el cloruro de polivinilo (PVC) se utiliza frecuentemente como material de empaque en el tratamiento de aguas residuales, tarda mucho más tiempo en alcanzar una tasa máxima de colonización que con materiales de origen volcánico, esto debido a la menor porosidad del PVC que dé albergue a los microorganismos. La ventaja de los materiales sintéticos, es que la porosidad puede ser controlada, hasta cierto punto (Cohen, 2001).

Verma et al., 2006; Cohen 2001; Tampion y Tampion 1987, mencionan que la acumulación máxima de biomasa ocurre cuando el tamaño de poro es de uno a cinco veces el tamaño bacteriano debido a que permite la libre difusión de sustrato, nutrientes y oxígeno (si es necesario) para un adecuado desarrollo, al mismo tiempo de ofrecer un nicho de protección ante condiciones físicas o químicas adversas en el sistema y minimizar el impacto de la competencia entre especies.

3.2.4 Carga orgánica

La carga orgánica es definida como la cantidad de sustrato que se suministra al sistema por unidad de tiempo (Metcalf y Eddy, 2003). Este parámetro es el más usado en el diseño de filtros biológicos aerados y es frecuentemente empleado para comparar los diversos reactores de filtración combinada entre sí, a pesar de no basarse en el contenido de biomasa activa en el reactor (Álvarez, 2006).

Entre los parámetros físicos que determinan más eficientemente el comportamiento de los microorganismos, están la carga orgánica y el tiempo de retención hidráulico, que además, están estrechamente relacionados.

La carga orgánica también puede definirse como carga orgánica superficial, ya que la biomasa crece sobre una superficie. Este parámetro es el más usado para comparar reactores

de biomasa fija, en los cuales es posible medir con cierta precisión la superficie de crecimiento de la biopelícula (Álvarez, 2006), y se representa matemáticamente de la siguiente manera:

Ecuación 3.1

$$CO_s = \frac{Q \cdot S_0}{A_{SUP}}$$

donde:

CO_s = Carga orgánica superficial (kgDQO/m²·d)

Q = Caudal (m³/d)

S_0 = DQO en el influente (kgDQO/m³)

A_{sup} = Área de crecimiento de la biopelícula (m²)

Sin embargo, generalmente los resultados se reportan en función de la carga orgánica volumétrica aplicada al sistema (Valdivia, 1998), ecuación 3.2:

Ecuación 3.2

$$CO_v = \frac{Q \cdot S_0}{V}$$

donde:

CO_v = Carga orgánica volumétrica (kgDQO/m³·d)

Q = Caudal (m³/d)

S_0 = DQO en el influente (kgDQO/m³)

V = Volumen del reactor (m³)

Comparativamente, la carga orgánica superficial puede considerarse como la variable que describe mejor la capacidad de un BAF para degradar los compuestos presentes en un agua residual, debido a que el área superficial específica de las partículas que componen el lecho filtrante está directamente relacionada con la cantidad de biomasa activa en el reactor.

Thomas (2015), Farabegoli et al., (2006) y Canler y Perret (1994) sugieren que con la aplicación de cargas orgánicas volumétricas entre 6 y 7 kgDQO/m³·d se obtienen efluentes de calidad satisfactoria con menos de 100 mgDQO/L.

Osorio y Hontoria (2002) determinaron que, del agua residual del efluente primario de una planta de tratamiento convencional, la máxima carga orgánica volumétrica y de sólidos admisible para un filtro biológico con una altura de lecho de 3.7 m y 2.5 mm de diámetro de partícula es de 6.33 kg DBO/m³/d y 5.33 kg SST/m³/d con una carga hidráulica de 2.88 m³/m²·h para lograr una concentración de 25 mg DBO/L y 35 mg SST/L en el efluente, con un muy razonable consumo de 1.0 kg O₂/kg BOD_{consumido}.

Rogalla et al. 1991; Dauthuille et al. 1992 mencionan que existe una amplia variedad de valores para los parámetros operacionales en cuanto a cargas orgánicas y de nitrógeno amoniacal para los filtros biológicos aerados con las que se han obtenido resultados satisfactorios en la remoción de materia orgánica y nutrientes del agua residual, lo que sugiere que este tipo de sistemas posee un alto desempeño en la remoción de contaminantes y, así mismo, posee un amplio rango de aplicaciones.

La carga orgánica aplicada al sistema de tratamiento es importante debido a que el comportamiento de las poblaciones bacterianas es afectado directamente por las variaciones de la cantidad de sustrato suministrada y consecuentemente la remoción de nutrientes del agua residual aumenta o disminuye proporcionalmente según sea el caso. Al incrementar la carga orgánica, la tasa de consumo de oxígeno aumenta hasta llegar a un punto en el cual la transferencia de oxígeno se vuelve limitante para la eliminación de contaminantes, cuando la carga orgánica es superior a 31 gDBO/m²-d (Valdivia, 1998). Por otra parte, a cargas orgánicas bajas se obtiene mayor producción de nitratos y remoción de nitrógeno amoniacal, y por consiguiente, disminuye la frecuencia de retrolavado (Pujol et al., 1994).

En los BAF, se observa que conforme aumenta la carga orgánica, los patrones de flujo no son afectados por el crecimiento de la biopelícula debido a que: 1) el procedimiento de retrolavado mantiene el grosor de la biopelícula constante y, 2) al aumentar la carga orgánica no se observa una disminución significativa de la porosidad aparente del lecho filtrante. El comportamiento hidráulico es similar entre diferentes cargas orgánicas y el coeficiente de dispersión es el mismo (Cobos-Becerra, 2013).

Las aguas residuales con alto contenido orgánico, dan paso a la formación de biopelículas más densas. Conforme fluye el agua residual a través del medio de soporte, va disminuyendo su concentración de materia orgánica, originando películas de menor espesor progresivamente.

3.2.5 Tasa de crecimiento de la biopelícula

La tasa de crecimiento de una biopelícula, responde a múltiples factores, entre ellos: tipo de nutrientes disueltos, toxicidad del medio, espesor de la biopelícula, tipo de organismos dentro de la matriz, concentración de oxígeno, concentración de nutrientes, concentración de materia orgánica y factores físicos; adicionalmente, se ha comprobado que los consorcios microbianos, responden favorablemente a sustancias tóxicas o situaciones de estrés (Simpson 2008; Lazarova y Manem, 1995; Blenkinsopp y Costerton, 1991).

Los organismos heterótrofos utilizan la materia orgánica como una forma de energía condensada que es necesaria para para sus múltiples procesos metabólicos, incluidos el crecimiento y la reproducción. En la figura 3.2, en presencia de oxígeno (condiciones aerobias) o algún otro aceptor de electrones (ejemplo: nitratos, en condiciones anóxicas), los organismos oxidan la materia orgánica, al tiempo que producen más materia celular (crecimiento y reproducción) y liberación de energía (Metcalf y Eddy, 2002).

En muchos casos se ha medido una mayor actividad metabólica en sistemas de tratamiento de biomasa inmovilizada, en comparación con otros sistemas de tratamiento. Esta mayor actividad, también ha sido atribuida a la alta concentración de nutrientes en contacto con la biopelícula. Cohen (2001) menciona que el crecimiento adherido puede soportar mayores cargas con tiempos de retención hidráulica más cortos sugiriendo que la biopelícula adherida es más eficiente para la descomposición orgánica que los microorganismos en suspensión. Debido a su naturaleza viscosa la biopelícula atrapa material particulado del fluido tratado por lo que la concentración de nutrientes alrededor de las biopelículas suele ser mayor que la

del fluido libre. Esta alta concentración de nutrientes puede aumentar la tasa de crecimiento microbiano y mejorar la actividad de degradación (Cohen, 2001).

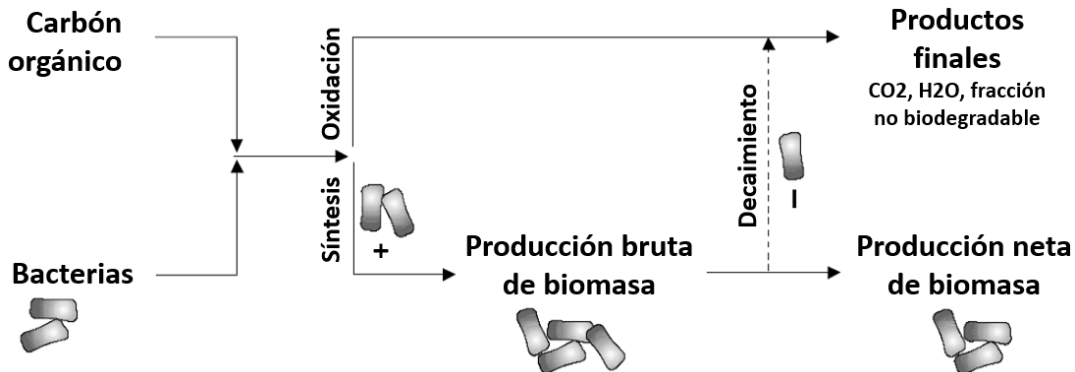


Figura 3.2. Esquema simplificado del metabolismo heterótrofo (Adaptado de *Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions*, von Sperling y Lemos Chernicharo, 2005)

Lazarova y Manem (1995); Senthilnathan y Ganczarzyk (1990), informan que la concentración de biomasa microbiana inmovilizada oscila entre 2 y 100 g SSVLM por litro de volumen del filtro, que es considerablemente mayor que en otros procesos.

Otros autores atribuyen sugieren que el aumento de la concentración de nutrientes alrededor de las biopelículas ayuda a los microorganismos a sobrevivir a mayores concentraciones de tóxicos (Madigan et al., 1997).

Naturalmente, el crecimiento bacteriano está estrictamente relacionado con la concentración de nutrientes en el medio. Cuando se inocula un volumen de líquido con una cantidad inicial de células bacterianas y una cantidad limitada de sustrato, el número de bacterias avanzará en el tiempo de acuerdo con la curva de crecimiento bacteriano.

Comparando distribuciones de biomasa por transferencia de oxígeno y nutrientes, Morgenroth y Wilderer (2000) observaron que la densidad máxima de la biomasa heterótrofa (de crecimiento rápido), se localiza en la superficie de la biopelícula, mientras que la biomasa autótrofa (de crecimiento lento) están predominantemente localizadas debajo de la capa heterótrofa, donde están mejor protegidas del desprendimiento.

Jacques Monod (1940) desarrolló la siguiente ecuación que describe la tasa de crecimiento:

Ecuación 3.3

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S}$$

Donde:

μ_{max} = tasa máxima de crecimiento específica (T⁻¹)

S= concentración del sustrato limitante (mg/L)

K_S = constante de saturación media (mg/L)

En la ecuación, μ_{\max} y K_s corresponden a propiedades particulares del tipo de microorganismos, además del tipo de sustrato utilizado y la temperatura.

Como se aprecia en la figura 3.3, la ecuación es representada por una curva hiperbólica que se comporta asintóticamente cuando se aproxima a la tasa máxima de crecimiento, y donde la constante de saturación media, se obtiene de determinar la media de la tasa máxima de crecimiento específica.

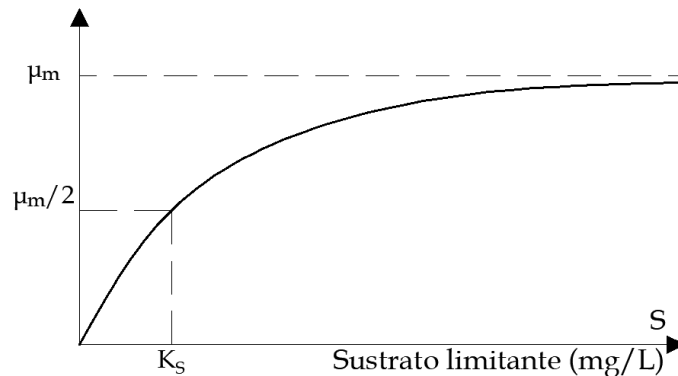


Figura 3.3. La ecuación de Monod es representada por una curva hiperbólica.

3.3 Etapas del desarrollo de una biopelícula

Una de las teorías más aceptadas para la formación de biopelícula, fue desarrollada por Marshall en 1971, y menciona que la adhesión es un proceso que ocurre en dos etapas: La primera es reversible, en función del proceso de adhesión de los microorganismos a la superficie que ocurre por fuerzas Van der Waals y atracción electrostática. La segunda etapa ocurre con la interacción física de las células a la superficie por medio de material extracelular de naturaleza polisacáridica o proteica producida por las bacterias; se le denomina matriz de PHB, y soporta la formación de la biopelícula (Marshall, 1971).

Dependiendo de la afinidad "microorganismo - superficie del material", la resistencia que presenta la biopelícula puede variar, en particular, a factores mecánicos como pueden ser los hidrodinámicos y el impacto de las partículas entre ellas.

Una vez que se cumplen las condiciones de afinidad entre la superficie del material y las bacterias, el crecimiento de la biopelícula se lleva a cabo en etapas, como resultado de la interacción entre una serie de procesos físicos, químicos y biológicos (Iwai y Kitao, 1994), como son:

- Colonización o inducción. Las bacterias u organismos presentes en el agua residual deben entrar en contacto con la superficie y adherirse a ella para realizar una colonización incipiente. La primera adhesión puede darse por secreción de polímeros (PHB) o por fijación con flagelos.
- Adherencia. Una vez que algunos organismos logran adherirse a la superficie, se inicia el desarrollo de las primeras capas de bacterias que utilizan mecanismos para garantizar su

adherencia y la de las generaciones siguientes. Por lo general, este proceso lo logra una sola especie de rápido crecimiento que forma una película delgada que cubre toda la superficie.

- Oportunismo. Al existir una primera película y la consecuente matriz gelatinosa, otros organismos de más lento crecimiento, que puedan o no producir sustancias que permitan su adhesión, tienen la oportunidad de encontrar acomodo aprovechando la primera biopelícula o utilizarlo como soporte para su crecimiento. Conforme transcurre el tiempo, un mayor número de especies tienen oportunidad de utilizar la biopelícula como medio de vida.
- Estabilización. Esta fase se lleva a cabo cuando, desde un punto de vista teórico, se tienen todas las especies presentes y se ha alcanzado un equilibrio trófico. Desde el punto de vista ecológico, el tiempo de "maduración" es el que el sistema biológico, o biocenosis, requiere para que se establezcan las relaciones entre los diferentes organismos y el número de individuos de cada grupo no cambie con respecto al tiempo. Desde el punto de vista práctico, el número de individuos de cada especie cambiará de acuerdo con los factores bióticos y abióticos. Los factores abióticos son los ambientales y los efectos que ocasionen sobre la biopelícula los nutrientes y otras sustancias contenidas en el agua residual. Los bióticos son los generados por la relación entre los diferentes organismos que forman la biopelícula.
- Desprendimiento. El primer paso en el desprendimiento de una parte de la biopelícula es causado por a) la hidrólisis de PHB en condiciones anaerobias, b) la acción mecánica del movimiento de estructuras o seres vivos y c) la acción mecánica del agua sobre la superficie de la biopelícula.

El Instituto de la Biopelícula, de la Universidad de Montana, engloba los procesos antes mencionados en tres principales (figura 3.6):

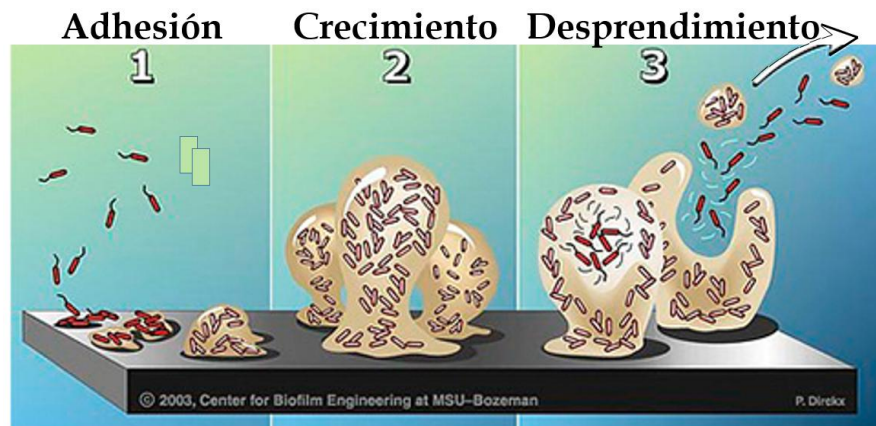


Figura 3.4. Ciclo de vida de una biopelícula (these images are copyright 1991-2010, extraído de Center for Biofilm Engineering at Montana State University, Bozeman, MT 59717-3980. All rights reserved)

- 1) Adhesión: Las bacterias pueden estar suspendidas en un medio sumergido (plancton) y en pocos minutos adherirse a una superficie. Inmediatamente, estas bacterias comienzan a producir sustancias poliméricas extracelulares (EPS) y a colonizar la superficie.
- 2) Crecimiento: La producción de EPS permite a la biopelícula emergente desarrollar una estructura compleja en tres dimensiones que está influenciada por una gran variedad de

factores ambientales. Una biopelícula compleja se puede desarrollar en cuestión de horas.

- 3) Desprendimiento: Las biopelículas pueden colonizar nuevas superficies a través del desprendimiento de una sección, o por un tipo de "desprendimiento" que libera células individuales. Cualquier tipo de desprendimiento permite que las bacterias se adhieran a una superficie nueva o a otra biopelícula, aguas abajo de la comunidad de origen.

3.4 Composición de los biopolímeros

Los polímeros extracelulares, conocidos como "sustancias poliméricas extracelulares" (SPE), están compuestos de polisacáridos (40-95%), proteínas (1-60%), en algunos casos lípidos (1-40%), con menor contenido de ácidos nucleicos (1-10%) y otros biopolímeros (Flemming y Wingender, 2001). Por su parte, Lazarova y Manem (1995) reportan que la estructura y composición de la matriz extracelular varía entre biopelículas, pero generalmente los polisacáridos predominan en la matriz extracelular y representan hasta el 65% de este material, mientras que las proteínas usualmente comprenden de 10-15% de su biomasa total.

Estas biopelículas son comunidades bacterianas englobadas en una matriz de exopolisacáridos producida por las bacterias, denominada poli- β -hidroxibutiratos o PHB. Estos polisacáridos son adheridos a superficies vivas o inertes. En la naturaleza constituyen un modo de crecimiento protegido que permite la supervivencia de las bacterias en un medio hostil. Las estructuras que forman estas micro colonias contienen canales por los que circulan los nutrientes (Costerton *et al.*, 1999). En la figura 3.7 se representa la estructura química del biopolímero, representado como cadena polimérica.

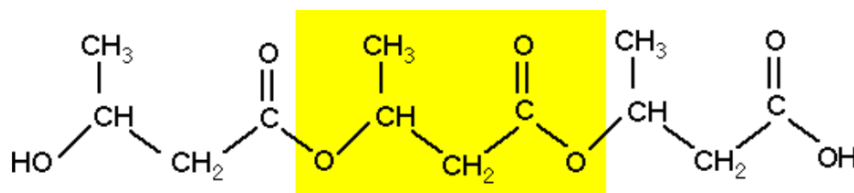


Figura 3.5. Estructura química del Poli - β -Hidroxibutirato

Dichas estructuras, mantienen unida a la biopelícula por medio de hilos moleculares, colectivamente denominadas "sustancias poliméricas extracelulares" o "EPS". Las células producen EPS y se mantienen unidas por estas hebras, que les permite desarrollar complejas y resistentes comunidades.

Dentro de las biopelículas, el volumen celular total es sólo una pequeña parte del volumen total. La matriz extracelular en la que las células y colonias están incrustadas, es responsable de la mayor parte del volumen de la biopelícula (Lazarova y Manem, 1995).

Como se mencionó anteriormente, dentro de la matriz de exopolisacáridos de una biopelícula los sustratos se transportan por difusión dentro de los conglomerados celulares, sin embargo, los polímeros extracelulares dentro de una biopelícula forman poros y canales, que están

lentos de líquido donde el transporte de masa se lleva a cabo por convección y difusión. El flujo de líquido dentro de los poros y canales está en función de la velocidad del líquido fuera de la biopelícula (De Beer, *et al.*, 1994).

3.5 La biopelícula y el oxígeno disuelto

En el tratamiento de aguas residuales por medio de biomasa inmovilizada los microorganismos degradan el sustrato y nutrientes difundidos desde la superficie de la biopelícula.

El oxígeno disuelto es, generalmente, el factor limitante en las biopelículas, lo cual se puede deber a la tasa de crecimiento de los microorganismos, una alta concentración de biomasa o que las propiedades físico-químicas del sistema limitan la transferencia de masa (Casas *et al.*, 2000). Sin embargo, una de las razones principales por las que la disponibilidad de oxígeno en el medio es limitada, es por su baja solubilidad en líquidos. Por lo tanto, la distribución espacial del oxígeno en la biopelícula es sumamente importante para el adecuado funcionamiento de los reactores.

Los procesos de las biopelículas pueden clasificarse como aerobios o anaerobios. Sin embargo, aún en condiciones aerobias, no sólo existen microorganismos aerobios sino también anaerobios y facultativos (Aoi *et al.*, 2000). La coexistencia de los diferentes tipos de microorganismos se debe a que el espesor que puede alcanzar la biopelícula, limita el acceso del oxígeno disuelto, el cual penetra por difusión sólo cerca de la superficie de la biopelícula dando lugar a zonas anaerobias lejos de la superficie de la biopelícula (Hibiya *et al.*, 2004; Santegoeds *et al.*, 1998; Schramm *et al.*, 1996) y causando competencia entre poblaciones heterótrofas y autótrofas nitrificantes por el acceso al oxígeno (Aoi *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 1994).

En biopelículas, las limitaciones de transferencia de oxígeno o sustrato puede restringir el crecimiento de los microorganismos en el fondo de la biopelícula, pero, esas mismas bacterias tienen la ventaja de ser protegidas del desprendimiento mientras que las bacterias en la superficie son removidas rápidamente (Furumai y Rittmann, 1994).

De hecho, Wimpenny *et al.*, (2000), mencionan que el fenómeno de difusión es menor en la biopelícula que en el agua y está influenciado por las características físicas y químicas de la biopelícula.

Hibiya *et al.* (2004) estudiaron la distribución de oxígeno en la biopelícula utilizando un microelectrodo de oxígeno y determinaron que el oxígeno con una concentración de 3 mg/L penetró totalmente en biopelículas de menos de 300 μ m de espesor y gradualmente fue disminuyendo al incrementar el espesor. Por tanto, el coeficiente efectivo de difusión interna, cambia con la densidad y el espesor de la biopelícula. La difusividad efectiva varía de 40 a 90% (Hibiya *et al.*, 2004).

4. COLORANTES AZO

4.1 Generalidades

La gran mayoría de las empresas del sector industrial requieren una gran cantidad de agua en sus procesos. Encabezando la lista de las empresas consumidoras de agua están las dedicadas a la rama textil, debido a que la tinción del producto pocas veces es eficiente por la baja tasa de fijación de la mayoría de los colorantes. Lo anterior deriva finalmente en aplicaciones de productos colorantes ineficientes, que se descargan con el agua de desecho al drenaje sanitario municipal, muchas veces, sin un tratamiento previo. Sumado a lo anterior, para la fabricación de telas naturales, la demanda de agua varía entre 120 y 750 litros por kilogramo de tela, mientras que para la elaboración de fibras de nylon y de poliéster, la demanda es entre 100-150 y 60-130 litros por kilogramo respectivamente (Cervantes, 2007).

Amplia es la variedad de procesos de tratamiento de las aguas vertidas de este ramo industrial. Sin embargo, presentan diversos niveles de aplicabilidad por la heterogeneidad de su contenido: carga orgánica (2 - 100 g/kg fibra), presencia de sales para el proceso de fijación (cloruro de sodio, sulfato de sodio, carbonato de sodio) y gran diversidad de parámetros presentes como la conductividad, pH y biodegradabilidad (Cervantes et al., 2006; IPCC 2003; Schönberger y Schäfer, 2002).

En 1995, la producción total de colorantes en México ascendió a 16,000 toneladas con una tendencia creciente (Bandala *et al.*, 2008). Los colorantes azo presentan naturaleza tóxica por los componentes de su fórmula y no son empleados a nivel mundial, por tanto, hay poca información en torno a su descomposición. Se estima que el colorante que no se fija a las fibras, varía entre el 2 y 50%, dependiendo del tipo de colorante; por lo tanto, dicho porcentaje es vertido a las aguas residuales y no puede ser reutilizado ya que su estructura química se modifica en el proceso.

En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-065-ECOL-1994 (abrogada, actualmente rige la norma NOM-001-SEMARNAT-1996) determinaba los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de las industrias de pigmentos y colorantes orgánicos dentro del parámetro de la DQO es de 300 mg/L para descargas diarias y 360 mg/L para descargas instantáneas.

Como se ve en la figura 4.1, los colorantes, incluso a bajas concentraciones, son altamente notorios y, dependiendo del proceso de utilización y de la normatividad aplicada (1 mg/L de colorante es el máximo permitido en cauces del Reino Unido), es posible requerir de una reducción hasta del 98% de la concentración del colorante presente en el efluente industrial. Por esta razón, existe una fuerte demanda de tecnologías que permitan eliminar el color en estos efluentes y así hacer posible reciclar el importante volumen de agua que se consume durante el proceso (Prato, 2009).



Figura 4.1. Impacto de la descarga de colorante azo al ambiente

Se ha reportado que el tiempo de vida media del colorante azul 19 es de 46 años a 25°C y pH 7.0 (Hao *et al.*, 2000). Adicionalmente, muchos de los colorantes tienen una pobre fijación sobre las telas y en la descarga post-proceso se pueden encontrar concentraciones de colorante arriba de 1,500 mg/L. Más del 90% de los colorantes persisten después de los tratamientos con lodos activados y son considerados como recalcitrantes a los tratamientos biológicos (Días *et al.*, 2007). En la industria se prefiere este tipo de sustancias ya que resisten la exposición solar o el ataque químico, debido a que poseen una estructura química compleja por lo que, en la mayoría de los casos, resultan también resistentes a la degradación microbiana.

Se ha demostrado que ciertos colorantes azo pueden ser carcinogénicos y mutagénicos, además de que los productos de su degradación pueden resultar más tóxicos (Gavril y Hodson, 2007; Ramsay y Nguyen, 2002; Brown y De Vito, 1993). Las aminas aromáticas que se generan de la ruptura del enlace azo son comúnmente conocidas por su potencial carcinógeno (Weisburger, 2002; Chung y Stevens, 1993; Chung *et al.*, 1992).

En la figura 4.2, se muestra la estructura molecular de un colorante azo, donde se aprecia la presencia de enlaces dobles en su estructura química y son parte de un grupo funcional del tipo $R-N=N-R'$, donde R y R' son grupos que contienen átomos de carbono, y los átomos de nitrógeno están unidos por enlace doble. Estos compuestos que contienen doble enlace de nitrógenos son denominados azo derivados, compuestos azoicos o azocompuestos (Solís *et al.*, 2012). Adicionalmente, este enlace azo, está combinado con dos anillos aromáticos, dándole la particularidad de absorber la radiación electromagnética en el espectro visible, por lo que presenta coloración y que además es intensa. Esta es la razón principal por la que tienen tanta demanda en la industria. El 70% de los colorantes que se producen comercialmente son del tipo azo (Zollinger, 1987).

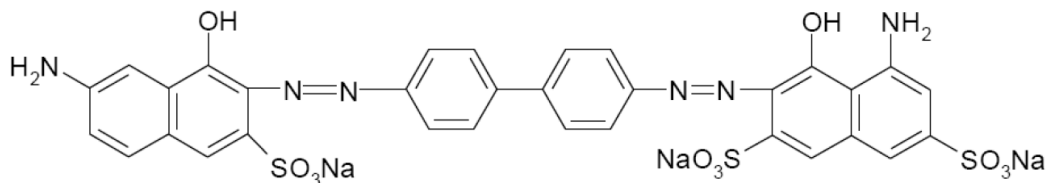


Figura 4.2. Estructura molecular del colorante azo Azul Directo 2 (Golka *et al.*, 2004).

Los colorantes directos son moléculas largas que tienen alta afinidad con las fibras celulósicas, principalmente. Este tipo de colorantes son aplicados directamente a las fibras, sin necesidad de un proceso adicional de fijado. Son compuestos aniónicos y solubles en agua que generalmente contienen grupos ácido-sulfonados representados como sales de sodio (van der Zee, 2002).

4.2 Proceso de biodegradación del colorante

Los colorantes azo no son tóxicos al utilizarlos en el proceso de teñido, pero en altas concentraciones, en presencia de grupos reactivos no hidrolizados o, presencia de metales pesados, los dobles enlaces $N=N$ se rompen, formando las aminas, que son muy tóxicas. Las aminas son compuestos identificados generalmente por tener uno o más anillos aromáticos con uno o varios grupos amino.

Originalmente, se considera que la degradación del colorante se produce de manera anaerobia, por medio de la ruptura del doble enlace azo que genera aminas aromáticas y da paso a la mineralización de estos metabolitos por vía aerobia (van der Zee, 2002). Los factores principales que afectan la degradación de colorantes azo, son la temperatura $35-45^{\circ}\text{C}$ y el pH $6-10$. La tasa de remoción disminuye en rangos fuera de los mencionados. Al romper el doble enlace de los nitrógenos, generando aminas aromáticas, puede darse un incremento en el pH, provocando eventualmente, que se afecte la remoción por vía anaerobia, por las altas concentraciones de dichas aminas. Cobos-Becerra (2013) comprobó que la presencia de cosustrato, como fuente donadora de electrones, ayuda en la remoción de los colorantes, al incrementar las fuentes de carbono. En la figura 4.2 se representa la posible degradación del colorante en las aminas aromáticas “bencidina” y “4-aminobifenil” (Cobos-Becerra, 2013).

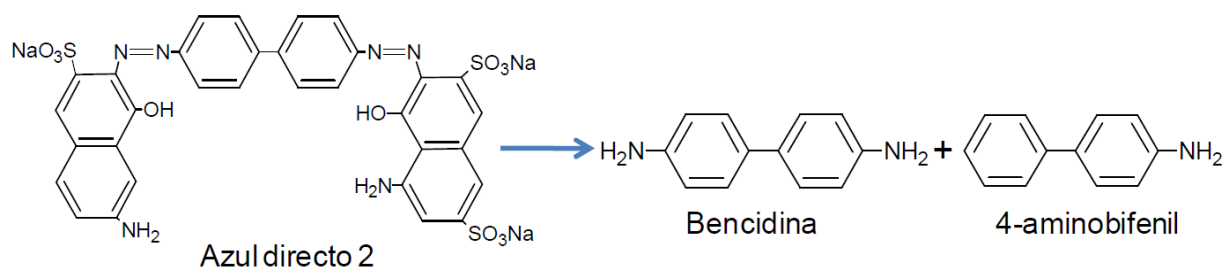


Figura 4.3. Posible degradación del colorante Azul Directo 2 (Cobos-Becerra, 2013).

La temperatura requerida para producir la máxima tasa de decoloración corresponde con la temperatura óptima para el crecimiento microbiano, entre 25 y 45 °C. La disminución de la tasa de decoloración a altas temperaturas puede deberse a la pérdida de viabilidad en las células microbianas y a la desnaturalización de las enzimas azorreductasas (Saratale *et al.*, 2011; Pearce *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2001)

Se ha observado que la remoción de colorantes azo, aumenta con la carga orgánica (concentración de sustrato orgánico). También se ha documentado que después de detener la alimentación del agua residual, dejando solamente al colorante como fuente de carbono, se reduce sustancialmente la remoción de color. A pesar de que los microorganismos, bajo condiciones anaerobias y aerobias, pueden degradar el colorante como único sustrato, las mayores remociones de color se obtuvieron en presencia de cosustrato (Cobos-Becerra, 2013).

La biodegradación de colorantes se lleva a cabo mediante distintos procesos. Se pueden utilizar cultivos mixtos que contengan dos grupos generales de especies, el primero conformado por organismos que no participan en la degradación del colorante, pero que estabilizan el consorcio microbiano, y un segundo grupo que incluya a las especies involucradas en el rompimiento del grupo funcional de la molécula y la transformación de los productos metabólicos resultantes. Otra manera de llevar a cabo la biodegradación es mediante microorganismos aislados que son capaces de degradar los colorantes (Kandelbauer y Guebitz 2005).

En un sistema dual, aerobio/anaerobio, es posible combinar ambos procesos, donde se lleva a cabo la adaptación de las bacterias facultativas (Supaka *et al.*, 2004). Estos microorganismos realizan sus funciones metabólicas tanto en condiciones anaerobias como aerobias, permitiendo la degradación de los compuestos recalcitrantes para alguna de estas condiciones (Supaka *et al.*, 2004 y Buitrón *et al.*, 2003).

Las condiciones de las descargas, no siempre son las más adecuadas para la remoción de los colorantes azo. La presencia de nitratos, pueden interferir en la remoción del colorante ya que son mejores receptores de protones (Panswad y Luangdilok, 2000).

Se ha reportado que, bajo condiciones anaerobias, un bajo potencial redox (≤ 50 mV) hace que la decoloración de los colorantes azoicos sea eficaz (Bromley-Challenor *et al.*, 2004). Algunos investigadores sugieren que la presencia de oxígeno, usualmente, inhibe la reducción del enlace azo, ya que la respiración aerobia puede dominar la utilización de NADH, impidiendo

así la transferencia de electrones desde el NADH a los enlaces azo (Chang et al., 2001b). Así mismo, se ha reportado que en la decoloración anaerobia de los colorantes azo, el colorante puede actuar como aceptor de electrones, sustituyendo a los portadores de la cadena transportadora de electrones (Bromley-Challenor et al, 2004; Stolz, 2001). Por lo tanto, la decoloración puede atribuirse a las reacciones no específicas extracelulares ocurridas entre los compuestos reducidos generados por la biomasa anaerobia (Van der Zee et al., 2005).

Sin embargo, investigaciones recientes han comprobado que la decoloración y la mineralización de los colorantes azo, se puede llevar a cabo bajo condiciones anaerobias y aerobias (Cobos-Becerra y González-Martínez, 2013).

Algunas bacterias aerobias son capaces de reducir los compuestos azoicos con la ayuda de azorreductasas catalizadas por el oxígeno y produciendo aminas aromáticas (Lin et al., 2010).

4.3 Factores que afectan la degradación de colorantes azo por bacterias

Son marcadas las diferentes composiciones del agua residual de un efluente textil, ya que la versatilidad de fibras textiles producen una considerable variabilidad química, incluyendo orgánicos, nutrientes, compuestos azufrados, sales y diferentes sustancias tóxicas (Ghodake et al, 2009b; Chen et al., 2003; Pearce et al., 2003).

Algunos de los microorganismos más frecuentemente utilizados para la biorremediación de efluentes textiles son las bacterias, ya que éstas presentan crecimiento rápido bajo condiciones aerobias, anaerobias e incluso pueden ser facultativas. Estas bacterias son afectadas directamente, en su desempeño en la decoloración de los colorantes azo, por las condiciones a las que están expuestas: intensidad de agitación, concentración de oxígeno disuelto, temperatura, pH, estructura y concentración del colorante, suministro de diferentes fuentes de carbono y nitrógeno, del donador de electrones, del mediador redox y el tiempo de retención hidráulico. Todo ello influye directamente en la degradación de este tipo de compuestos (van der Zee y Villaverde, 2005; Pearce *et al.*, 2003; Panswad *et al.*, 2001; Jiang y Bishop, 1994).

Se ha reportado que la incorporación de cosustrato (glucosa, almidón, acetato, etanol y otros más complejos), podrían afectar el proceso de degradación y la mayor reducción de colorante azo a aminas ocurre durante el crecimiento bacteriano activo (Van der Zee y Villaverde, 2005; Banat et al., 1996; Yoo et al., 2000).

4.3.1 Presencia del oxígeno y agitación

En algunos estudios se reporta que durante la degradación bacteriana de colorantes azo, tanto oxidativos como reductivos, las enzimas juegan un papel importante; así mismo, indican que para tener una remoción eficiente de color, se debe evitar la aeración y agitación, o sea, evitar el aumento de oxígeno disuelto (Chang y Lin, 2001).

La presencia de oxígeno puede favorecer o inhibir la degradación de los colorantes azo. La agitación incrementa la transferencia de masa y oxígeno, y la actividad enzimática puede depender de la presencia de oxígeno si el medio es aerobio. Son necesarias condiciones aerobias para la completa mineralización de las moléculas del colorante azo. Por tanto, el tratamiento más eficaz, sería involucrando un proceso anaerobio y uno subsecuente aerobio que decoloraría las aguas residuales que contienen colorantes y además, mejora su biodegradabilidad (Khehra et al., 2006, You y Teng, 2009).

En un estudio de Chang y Kuo (2000), bajo condiciones estáticas (sin agitación) el nivel de oxígeno disuelto en el medio inmediatamente cayó cerca de cero, entonces, la decoloración se dio; y cuando se mantuvo agitación a 200 rpm el nivel de oxígeno disuelto sólo disminuyó a 0.5 mg/L y no se observó disminución significativa de color.

Durante la etapa de remoción del colorante, si el entorno extra-celular es aerobio, el receptor de electrones de alto potencial redox, puede inhibir el mecanismo de reducción del colorante; esto es porque los electrones liberados de la oxidación de los donadores de electrones, son preferencialmente usados para reducir el oxígeno sobre el colorante azo y el producto de la reducción, agua, no es un reductor (Yoo et al., 2001).

4.3.2 Presencia del carbono y nitrógeno

Los colorantes azo son deficientes en fuentes de carbono y su biodegradabilidad sin fuentes de carbono o nitrógeno, generalmente, es difícil (Sani and Banerjee, 1999). La decoloración de colorantes azo por consorcios microbianos frecuentemente requiere de fuentes orgánicas complejas como extracto de levaduras, péptidos o combinaciones de proteínas y carbohidratos. Las fuentes de carbono tienen dos propósitos: 1. Ser fuentes de energía para el crecimiento microbiano y 2. Actuar como donadores de electrones, los cuales son necesarios para la ruptura del enlace azo (Yemendzhiev et al., 2009; Yang et al., 2009; González-Gutiérrez y Escamilla-Silva, 2009).

Para la degradación del colorante azo también son importantes las fuentes de nitrógeno. El metabolismo de nitrógeno orgánico es considerado esencial para la regeneración de NADH (Saratale et al., 2009). Diferentes fuentes de nitrógeno han sido estudiadas para mejorar la tasa de decoloración. El uso de extractos de levaduras, por algunos tipos de microorganismos incrementan la remoción de colorante (Moosvi et al., 2007). A través de estudios se ha comprobado que la presencia de una fuente de nitrógeno (peptonas, extracto de carne de res, cascarilla de arroz, sulfato de amonio, entre otras) trae como resultado mayores tasas de decoloración (Saratale et al., 2010; Jadhav et al., 2008; Ramalho et al., 2002).

4.3.3 Efectos de la temperatura

La temperatura afecta el crecimiento microbiano y la producción de enzimas, consecuentemente, el porcentaje de decoloración y la biosorción (por el incremento de la actividad superficial y la energía cinética de las moléculas de colorante) (Pearce et al., 2003).

En muchos sistemas, la tasa de remoción de color aumenta con el incremento de la temperatura. La temperatura requerida para producir la máxima tasa de remoción de color,

corresponde generalmente a la temperatura óptima de crecimiento del consorcio bacteriano. Altas temperaturas pueden propiciar una caída en la remoción del color, que puede atribuirse a la pérdida de viabilidad celular o a la desnaturalización de las enzimas azorreductasas (Chang et al., 2001). De cualquier manera, la inmovilización de microorganismos en un medio de soporte, genera un incremento en el rango máximo de temperatura debido a que el microambiente generado en el soporte, proporciona protección para las células (Pearce et al., 2003).

4.3.4 Efectos del pH

El pH óptimo para remoción de color es frecuentemente neutro o ligeramente alcalino y la tasa de remoción de color tiende a disminuir rápidamente a pH fuertemente ácidos o alcalinos. Por tal motivo, el pH del agua residual con colorante, frecuentemente es amortiguado para incrementar el desempeño de remoción del cultivo microbiano. La reducción biológica del enlace azo puede causar el incremento del pH debido a la formación de las aminas aromáticas, las cuales, son más alcalinas que el compuesto colorante original (Willmott et al., 1997). Modificar el pH en un rango de 7.0 a 9.5 tiene pequeños efectos en el proceso de reducción del colorante. Chang et al. (2001), encontraron que la tasa de reducción de colorante se incrementó casi 2.5 veces aumentando el pH de 5.0 a 7.0, mientras que la tasa se mantuvo en el rango de 7.0 a 9.5. La adsorción y la actividad enzimática son dependientes del pH, además, afecta la intensidad y la solubilidad del colorante (Pearce et al., 2003)

4.3.5 Efectos de la concentración del colorante

La concentración del colorante puede influenciar la eficiencia de remoción, a través de una combinación de factores incluidos la toxicidad del colorante y la habilidad de las enzimas para reconocer el sustrato eficientemente a muy bajas concentraciones (Pearce et al., 2003); de hecho, las constantes cinéticas que gobiernan la eficiencia de los procesos, pueden ser descritas utilizando la cinética de Michaelis-Menten, expresada en la ecuación 4.1.

Ecuación 4.1

$$\mu = \frac{\mu_{\max} [S]}{K_s + [S]}$$

donde:

μ es la tasa específica de reacción, dada la concentración [S]

μ_{\max} es la tasa específica máxima a saturación de concentración de colorante

K_s es la constante de Michaelis

La aplicación de la cinética de Michaelis-Menten puede, por ejemplo, permitir predicciones en torno a la eficiencia del proceso, incluida la concentración de biomasa o la temperatura operacional necesaria para mantener la remoción de colorante con una eficiencia dada dentro de los alcances determinados por el volumen del reactor, la composición del agua de alimentación y su caudal (Pearce et al., 2003).

La aplicación de la cinética de Michaelis-Menten puede, por ejemplo, permitir predicciones en torno al proceso de eficiencia, incluida la carga de biomasa o la temperatura operacional necesaria para mantener la remoción de colorante con una eficiencia dada dentro de los alcances determinados por el volumen del reactor, la composición del agua de alimentación y su caudal (Pearce et al., 2003).

Wuhrmann et al. (1980) observaron que después de una rápida reducción inicial de color, la remoción del colorante presentó una tasa menor que la que pudo haberse estimado con una reacción de primer orden. Este efecto es atribuido a la toxicidad de los metabolitos que fueron formados durante la reducción del color. La alta concentración de colorante requiere mayores tiempos para lograr la remoción del color.

5. METODOLOGÍA

Con el presente trabajo se documenta el comportamiento de la biopelícula a diferentes concentraciones de oxígeno disuelto para la degradación de material orgánico y el colorante Azul Directo 2 en un filtro biológico aerado (BAF por sus siglas en inglés). Además, se determinaron las condiciones adecuadas para la remoción del colorante azo y para la oxidación del amonio a nitratos.

Para fines de desarrollar la investigación y el cumplimiento de los objetivos mencionados anteriormente, se llevaron a cabo actividades para determinar el comportamiento de un filtro biológico aerado, a escala piloto, empacado con partículas de tezontle de tamaño uniforme, expuesto a una carga orgánica superficial de manera constante.

Las actividades generales fueron:

- Adquisición y caracterización del medio filtrante.
- Montaje y puesta en marcha del reactor.
- Seguimiento y ajuste de las condiciones de operación del reactor a lo largo del tiempo de experimentación.
- Determinación de las características y frecuencia del retrolavado.
- Ajuste de las concentraciones de oxígeno disuelto.
- Aplicación del colorante azo.

5.1 Caracterización del medio filtrante

Entre los materiales reportados en la bibliografía, el tezontle ha demostrado brindar buenos resultados. Gracias a su elevada área superficial específica y la afinidad de las bacterias por este material, tiene una alta velocidad de colonización y, al ser un material inorgánico, es

resistente al ataque microbiano, exhibiendo alta termoestabilidad y con buenas propiedades de flujo (Ojeda y Buitrón, 2001). Bajo las diferentes condiciones de trabajo que diversos autores han usado el tezontle ha demostrado ser un medio de soporte adecuado para el tratamiento de agua residual en biofiltros (Piña, 2007; Álvarez, 2006; Millán, 2001; Valdivia, 1998).

El tezontle se ha seleccionado como material para el medio filtrante, ya que cumple con la mayoría de las características deseables para un medio de soporte con capacidad de alojar consorcios microbianos, como son: porosidad, rugosidad, gran resistencia mecánica, resistencia al ataque microbiano, gran superficie específica, bajo costo y disponibilidad en el mercado mexicano. En investigaciones previas, se ha demostrado que el tezontle es un medio adecuado y eficiente para el crecimiento de biopelículas estables (Cobos-Becerra y González-Martínez, 2013, González-Martínez *et al.*, 2007).

El tezontle es una roca formada por la espuma del magma, que al enfriarse rápidamente, mantiene las burbujas del gas parcialmente disueltas. Dichas burbujas presentan diámetros variables, dependiendo de la profundidad y presión donde el magma solidificó.

Primeramente, se llevó a cabo el cribado del material con el fin de asegurar la uniformidad en el tamaño de partícula y además, para disminuir la probabilidad de que las pruebas físicas realizadas, presenten incongruencias o errores. En la figura 5.1 se muestran las cribas para materiales pétreos que fueron utilizadas para uniformizar el tamaño de las partículas.

Se seleccionó un tamaño de partícula entre 9.5 y 12.7 mm por ser el tamaño de partícula que proporciona un área adecuada para obtener efluente con buena calidad y, al mismo tiempo, evitar la colmatación frecuente a cargas orgánicas medias (Cobos-Becerra y González-Martínez, 2013). El cribado consiste en hacer pasar las partículas a través de mallas graduadas y separar las retenidas en la malla mayor y las que pasen a través de la malla menor como se aprecia en la figura 5.2.



Figura 5.1. Cribas para materiales pétreos.

Se realiza el cribado del material y posteriormente se llevan a cabo pruebas físicas para determinar algunas de sus características como: área específica, porosidad seca, porosidad húmeda, masa específica seca y húmeda.



Figura 5.2. Cribado del material

El cribado consiste en hacer pasar las partículas a través de mallas graduadas y separar las retenidas en la malla mayor y las que pasen a través de la malla menor como se aprecia en la figura 5.2.

Se realiza el cribado del material y posteriormente, se llevan a cabo pruebas físicas para determinar algunas de sus características como: área específica, porosidad seca, porosidad húmeda, masa específica seca y húmeda.

5.1.1 Diámetro del poro

Los poros de la superficie del medio filtrante representan la parte medular del material de soporte en la filtración combinada, ya que aquí es donde los microorganismos se desarrollarán y formarán colonias. Los poros del tezontle van desde los 10 hasta los 600 μm (Álvarez, 2006). En este caso, los diámetros aproximados se determinaron por medio de microscopía óptica y electrónica.

5.1.2 Propiedades físicas del material

- **Densidad relativa seca y saturada**

El peso específico de un material se define como la relación entre su peso y su volumen; es un valor que depende de la humedad y de los poros. Una relación baja entre el peso específico del material con respecto al del agua puede ser un indicador de una alta porosidad (Ramírez et al., 2004; Coates, 1973).

La densidad es el peso del material seco entre su volumen total (Ramírez et al., 2004; Coates, 1973). La densidad en húmedo se determina cuando el material se pesa después de sumergirlo en agua durante un tiempo y escurrirlo permitiendo que el agua retenida en los poros permanezca dentro del tezontle; el peso se divide entre el volumen que ocupa el material. Vargas et al., (2008) reportaron que las densidades seca y saturada del tezontle aumentan conforme disminuye el tamaño de la partícula; mientras que el espacio poroso total se incrementa con el aumento en el tamaño de partícula.

- **Porosidad aparente húmeda**

La porosidad (n) es la relación entre el volumen de huecos o vacíos que se encuentra entre las partículas de material filtrante (volumen ocupado por líquidos y/o gases) y el volumen total propio del material (Ramírez et al., 2004; Stagg et al., 1970).

Para determinar la porosidad en húmedo del lecho, se toman aleatoriamente tres muestras de aproximadamente 200 ml cada una, se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Se enjuagan las muestras para arrastrar el posible polvo adherido que pudieran tener las partículas.
- b) Se determina el volumen ocupado por cada una de las tres muestras.
- c) Se seca en la estufa durante 24 horas a 105°C y se verifica nuevamente el volumen.
- d) Se agrega un volumen conocido de agua destilada y se permite que salga el posible aire atrapado como burbujas, posteriormente, se determina el volumen que ocupa el agua y el tezontle.
- e) Se vacía el agua del recipiente conteniendo el tezontle y se determina el volumen del agua extraída. La diferencia entre el volumen extraído y el suministrado representa el volumen ocupado (atrapado) por el agua dentro de los poros del tezontle.

Se hacen 3 repeticiones y se promedian para considerar el error de medición.

- **Área específica**

Para determinar el área superficial expuesta, se podrían considerar las partículas como esferas, pero es impreciso, ya que las partículas difieren mucho en tamaño y forma, encontrando partículas con dimensiones dispares en cualquiera de sus ejes. Por esto es recomendable considerar a las partículas como elipsoides (Tizpa et al., 2015; Shepherd, 1989; Burmister, 1954). Se calcula el área superficial considerando la superficie de acuerdo con la fórmula de un elipsoide en donde se ingresan las dimensiones de largo y ancho promedio de las partículas.

- **Número de partículas en el reactor**

Es importante determinar el número de partículas en el reactor ya que de esta manera se puede conocer la superficie total susceptible de ser colonizada por los microorganismos. Para determinar esta cantidad, se cuenta el número de piedras en cada una de las muestras y se divide entre el volumen seco para obtener el promedio. Así entonces, se extrapola el volumen de muestra al del reactor, y se determina el número de partículas dentro del reactor.

5.1.3 Determinación del área superficial por medio del análisis de adsorción – desorción de nitrógeno

Con el fin de obtener mayor información de la superficie colonizable del material de soporte, se tomó la decisión de realizar la técnica de “adsorción - desorción de nitrógeno gas” y de tomar fotografías por medio de microscopía electrónica con el apoyo del Instituto de Investigación en materiales de la UNAM.

Esta determinación indica la superficie fuera de las partículas y la superficie disponible dentro de los poros y en los pliegues de dichas superficies. Debido a la presencia de distorsiones, fisuras, microporos, entre otros, la superficie expuesta real es mayor, algunas veces mucho mayor que la que se calcula asumiendo forma geométrica. Muchos instrumentos dedicados a este análisis, determinan áreas a nivel molecular, cubriendo un rango amplio desde la investigación hasta el control de calidad de materiales. Algunos instrumentos miden otras propiedades además del área superficial, como el volumen, el tamaño de los poros y la actividad química (Brame y Griggs, 2016)

La determinación por medio de gas nitrógeno BET (Brunauer, Emmett y Teller, 1938), es un tratamiento generalizado de la isoterma de adsorción física de Langmuir. Asume que un gas (por ejemplo, nitrógeno) a bajas temperaturas, se adsorbe sobre superficies sólidas, limpias y llenará toda la superficie disponible formando capas múltiples. La ecuación de BET permite el cálculo de la “mono capa” extendida sobre la superficie.

5.1.4 Análisis de la superficie con ayuda de microscopía electrónica

El procedimiento es colocar una muestra previamente deshidratada, de aproximadamente 3 mm, en un soporte metálico porta muestras y fijada a éste con cinta de carbono. Las observaciones se realizan en condiciones de vacío.

5.2 Filtro experimental

Se trabajó con un filtro de flujo ascendente, construido con un tubo de PVC hidráulico, de 6 pulgadas de diámetro y 1.90 m de altura, colocado verticalmente (figura 5.3). Se empacó con las partículas de tezontle del diámetro indicado anteriormente y caracterizadas. La base del filtro está compuesta de una tapa ciega con brida a la cual se le hicieron dos perforaciones, una en el centro, de ½ pulgada de diámetro, para atornillar el difusor de aire, y otra, excéntrica, a 5 cm de distancia para el influente de agua. El agua se distribuye de manera uniforme en el filtro y asciende a través del lecho en co-corriente con el aire.

El lecho filtrante tiene una profundidad de 1.0 m. A lo largo del filtro se encuentran 4 llaves para muestreo colocadas a 20 cm de distancia entre ellas y del fondo. Adicionalmente se colocaron tres salidas con válvulas de ¾ de pulgada; una que sirvió de efluente, la segunda para drenar retrolavado y una tercera de emergencia para drenar en caso de que las otras dos llaves se obstruyeran.

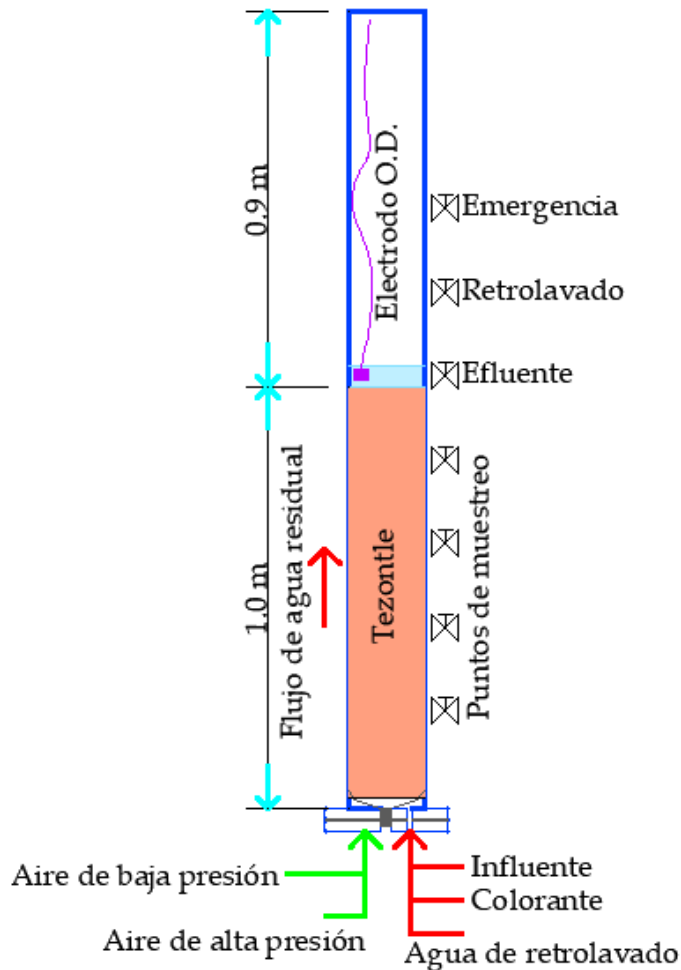


Figura 5.3. Diagrama del reactor escala piloto

El suministro de agua residual sintética y de colorante azo, fue por la parte inferior del reactor (flujo ascendente), por medio de bombas peristálticas, de manera continua. Las muestras compuestas se tomaron por medio de bombas peristálticas en influente y efluente. El cálculo de los caudales del agua residual sintética y del colorante se expresan en el anexo 1 y 2.

El aire se proporcionó de manera continua por la base del reactor, regulado con un controlador de flujo másico para suministrar 5.0, 2.0, 1.0, 0.5 y 0.0 L/min. El oxígeno se monitoreó continuamente usando un electrodo de oxígeno disuelto antes del efluente del reactor.

5.3 Composición del agua residual sintética

Se utilizó agua residual sintética, cuya composición aparece en la tabla 5.1, preparada en el laboratorio ajustada para proporcionar una carga orgánica constante de 6 gDQO/m²-d (1.75

kgDQO/m³.d) para propiciar la formación de la biopelícula y como cosustrato (proteína vegetal y maltodextrina), el cual, se ha comprobado que favorece la degradación de los colorantes azo, por ser una fuente externa de carbono adicional, donadora de electrones (Cobos-Becerra, 2013, Panswad *et al.*, 2001). La proteína vegetal hidrolizada y la maltodextrina, han sido utilizadas en investigaciones anteriores por aportar la parte de carbono del agua residual municipal de una ciudad de tamaño medio. Se adicionó un complemento de micronutrientes para favorecer el desarrollo de microorganismos.

Previamente, se debe determinar la cantidad de DQO y nitrógeno amoniacal de los compuestos de proteína vegetal hidrolizada, la maltodextrina y colorante con la finalidad de verificar su aportación al influente.

Tabla 5.1. Composición del agua residual sintética (Cobos-Becerra, 2009; Kim *et al.*, 2007)

Compuesto	Concentración (mg/L)	
Maltodextrina	62	60 mgDQO/L
Proteína vegetal hidrolizada	310	206 mgDQO/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	120	25 como N
K ₂ HPO ₄	56	10 como P
MgSO ₄ .7H ₂ O	25	
FeSO ₄ .7H ₂ O	20	
NaHCO ₃	105	60 como CaCO ₃
Solución de micronutrientes (1 mL/L)	B, Zn, Cu, Mn, Mo, Co, Al, Ni (0.5 g/L)	

5.4 Parámetros fisicoquímicos a evaluar

La determinación de los parámetros fisicoquímicos del agua es imprescindible para conocer el comportamiento del reactor biológico a través del tiempo, por ello, se tomaron muestras compuestas y puntuales periódicas y se les realizaron las determinaciones de acuerdo con los Métodos Estándar (APHA, 2012) (Tabla 5.2).

La biomasa que se desprende por medio del retrolavado fue cuantificada una vez por semana por medio de la determinación de sólidos suspendidos volátiles y su correspondiente nitrógeno Kjeldahl, por medio de la válvula de efluente, tomando una muestra representativa del volumen total generado por este proceso.

Para la cuantificación de microorganismos adheridos al material filtrante, al no poderse retirar de manera directa o confiable para cuantificarlos como sólidos totales, se evaluó por medio de la técnica de nitrógeno Kjeldahl.

Se tomaron muestras para análisis de influente y efluente, además de perfiles de concentración de DQO, colorante y nutrientes a lo largo del lecho filtrante para cuantificar el desempeño del filtro. Estas muestras se realizaron de forma compuesta y puntual, de acuerdo con la tabla 5.3.

Tabla 5.2. Técnicas analíticas para la determinación de los parámetros de seguimiento del sistema

Parámetro	Técnica Analítica
Colorante azo Azul Directo 2	Fotometría a $\lambda=439$ nm
Demanda química de oxígeno, DQO	Digestión por reflujo cerrado (148°C) con base en el método 5220-D de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Nitrógeno amoniacal, N-NH₄	Método de destilación y titulación basado en el método 4500 NH ₃ -B y E de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Nitrato, N-NO₃	Método espectrofotométrico, por reacción con 2,6- dimetilfenol a 325 nm. Norma DIN 38405-9.
Nitrógeno Kjeldahl	Digestión en equipo micro Kjeldahl (digestión y destilación), basado en el método 4500N-C de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Fosfato, P-PO₄	Fotometría del ácido molibdovanadofosfórico a 410 nm. Kit de Merck Spectroquant (1.14842) en un rango de 0.5-30 mg P-PO ₄ /L, basado en el método 4500P-C de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Sólidos suspendidos totales, SST	Método gravimétrico; sólidos retenidos en papel filtro de microfibra de vidrio (1.6mm), secados a 103 - 105 °C, basado en el método 2540-D de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Sólidos suspendidos volátiles, SSV	Sólidos volátiles incinerados a 550 °C, basado en el método 2540-E de de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Temperatura	Medición directa con termómetro digital, basado en el método 2550-B de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Oxígeno disuelto, OD	Medición directa con electrodo de membrana, basado en el método 4500-0-G de APHA, AWWA y WCPF (1992).
pH	Medición directa con pHmetro, basado en el método 4500 H-B de APHA, AWWA y WCPF (1992).

5.4.1 Muestras compuestas

Las muestras de tipo compuesto consistieron en la recolección de agua por un periodo de 24 horas y fueron almacenadas bajo refrigeración a 4 °C. Para el análisis se homogeniza el agua obtenida por medio de un agitador magnético y se toman las muestras representativas necesarias para cada una de las determinaciones. Las muestras de influente y efluente, fueron sometidas a este proceso. Estas muestras compuestas se tomaron por medio de bombas peristálticas con cabezal Masterflex de velocidad variable y manguera calibre 16. Para el caso del influente, se coloca una "te", justo antes de la entrada al reactor, que envía de manera constante una fracción del caudal a refrigeración. Para el efluente, se diseñó un sistema que introduce de la manguera de succión dentro del tubo de efluente de manera excéntrica, y siempre sumergida. Se tomaron muestras continuamente por 24 h, dos veces por semana.

Tabla 5.3. Parámetros a evaluar vs frecuencia y ubicación

Parámetro	Influente	Efluente	Medio filtrante	Retrolavado	Día	
OD			Puntual		Diario	
Temperatura			Puntual		Diario	
DQO	Compuesta	Compuesta			M y V	
	Perfil	Perfil		Puntual	Martes	
	Puntual	Puntual		Puntual	Martes	
Nitrógeno total	Nitrógeno amoniacal N-NH ₄	Compuesta	Compuesta		M y V	
		Perfil	Perfil		Martes	
		Puntual	Puntual		Viernes	
	Nitratos N-NO ₃	Compuesta	Compuesta			M y V
		Nitritos N-NO ₂ (*)	Compuesta	Compuesta		M y V
	Nitrógeno Kjeldhal	Compuesta	Puntual	Puntual	Martes	
Fosfatos	Compuesta	Compuesta			Martes	
SST	Compuesta	Compuesta		Puntual	M y V	
	Perfil	Perfil		Puntual	Martes	
SSV	Compuesta	Compuesta		Puntual	Martes	
	Perfil	Perfil		Puntual	Martes	
pH (**)		Puntual			Diario	

* Oxígeno disuelto 1.0, 0.5 y 0.0 mg/L

** Al alimentar colorante

M = martes y V = viernes

5.4.2 Muestras puntuales

Las muestras de tipo puntual fueron tomadas de manera inmediata en cada uno de los puntos colocados ex-profeso a lo largo del sistema. Se realizó esta toma de muestras semanalmente por medio de las válvulas colocadas ex-profeso, también una muestra representativa del agua extraída por el proceso de retrolavado y una muestra del material filtrante.

5.5 Comportamiento hidráulico del filtro biológico

El comportamiento hidráulico del reactor es de suma importancia ya que determina en gran medida el desempeño biológico del reactor por tener influencia directa en el tiempo de contacto entre el sustrato y los microorganismos y afectar la tasa de transferencia de masa. Este comportamiento es frecuentemente determinado con una “prueba de trazado”, con la

cual se aprecia el comportamiento de la fase líquida dentro del reactor (Escudí *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 1996).

Las pruebas de trazado permiten determinar las desviaciones de la idealidad de la hidráulica del reactor, indicando la posible presencia de canales preferenciales formados entre las partículas y que pueden evitar la distribución homogénea del sustrato en el medio y volúmenes muertos que evitan un adecuado funcionamiento del sistema (Fatihah y Donelli, 2008)

El método de trazado fue del tipo: estímulo - respuesta. Este método consiste en inyectar un trazador fácilmente detectable, el cual se monitorea en el efluente, y se registra el tiempo y el cambio que se espera que produzca. El tipo de inyección que se utilizó fue de manera continua, midiendo el tiempo y característica en que se detecta en el efluente.

Las pruebas de trazado se realizaron inmediatamente después de cada disminución de concentración de oxígeno en el reactor y una vez que la biopelícula se encontraba aclimatada a la nueva condición. Como trazador se utilizó cloruro de sodio (NaCl) en concentración de 20 mg/L, inyectado continuamente por el fondo del reactor. Se seleccionó este trazador ya que no afecta la biopelícula y se monitoreó en el efluente con un electrodo de conductividad.

Las pruebas de trazado se realizaron con aireación y con TRH de 2 horas (funcionamiento habitual del reactor) para cada condición de oxígeno disuelto (ver apartado 5.9 sobre el procedimiento de disminución del oxígeno disuelto). Con esta prueba se determina la influencia de las variaciones en el flujo de aire que se aplican al sistema y provee mayor información acerca de los posibles cambios en la eficiencia de remoción de nutrientes a distintos caudales de aire.

Las curvas de respuesta se analizaron por medio de los modelos matemáticos para reactores no ideales de Wolf y Resnick (Wolf y Resnick, 1963)

5.6 Retrolavado del lecho empacado

Con el continuo aumento de la población bacteriana, es necesario realizar frecuentemente un proceso de control y remoción del exceso de biopelícula para evitar la colmatación del medio filtrante, y procurar una distribución homogénea de los microorganismos en cualquier parte del medio filtrante. Este proceso, denominado "retrolavado", ocasiona el desprendimiento de las capas externas y más antiguas de microorganismos de la biopelícula.

Esta operación provoca que consorcios microbianos que han quedado en el fondo de la biopelícula y a los que el oxígeno disuelto en el agua no logra llegar, queden expuestos a condiciones aerobias, viéndose obligados a adaptarse a estas nuevas condiciones modificando su metabolismo o dando paso a que especies aerobias se desarrollen nuevamente, dándose de esta manera una alternancia microbiana benéfica para el proceso.

En trabajos anteriores se determinó que el proceso de retrolavado es esencial para el adecuado funcionamiento del reactor ya que, con el paso del tiempo, la biomasa aumenta de

espesor disminuyendo el libre flujo del agua residual y formándose canales preferenciales (Cobos-Becerra, 2013; Millán, 2005; Valdivia, 1998).

Según Cobos-Becerra (2013), la aplicación de aire con una presión de 4 kg/cm² es suficiente para expandir el lecho y desprender el exceso de biopelícula (por los impactos inerciales entre partículas) que puede ocasionar la colmatación del sistema, dando como resultado efectos positivos en la degradación de la materia orgánica, remoción de nutrientes y de sólidos suspendidos.

Para el adecuado arrastre de exceso de biopelícula desprendida en el proceso se colocó una bomba centrífuga marca Little Giant de 1/20 hp, que succiona agua y recambia totalmente el agua del reactor en 4 minutos durante el proceso de retrolavado.

Durante el proceso de arranque del reactor, se propuso realizar el retrolavado cada semana, a fin de favorecer el crecimiento de la biopelícula. Sin embargo, se decidió que la frecuencia de retrolavado sería diaria, ya que los microorganismos no se ven afectados por esta frecuencia.

El proceso se realizó de la siguiente manera:

- a. Se suspende la alimentación de agua residual y aireación.
- b. Se detienen las bombas peristálticas de muestreo.
- c. Con la finalidad de producir impactos entre las partículas del lecho y separar la biomasa se abre 3 veces el flujo de aire de alta presión, con 4 pulsos de un segundo por serie, para introducir aire por la parte inferior del filtro.
- d. Para hacer más eficiente el proceso y arrastrar la biomasa desprendida se realiza nuevamente la serie de los pulsos de aire, ahora con agua limpia proporcionado por una bomba centrífuga.
- e. Se suspende la alimentación de agua limpia y aire a presión.
- f. Se reanuda la alimentación de agua residual y el funcionamiento normal.

Con la finalidad de obtener una muestra para realizar la prueba de nitrógeno Kjeldahl al agua de retrolavado, un día a la semana se almacena el agua de retrolavado en un recipiente destinado para este fin. Al mismo tiempo se toman muestras de las partículas del lecho filtrante. Las muestras de retrolavado se toman para realizar el balance de masa y calcular el tiempo de retención celular (TRC).

Posteriormente a la extracción del material se repone la misma cantidad de partículas al reactor. Para tener un adecuado control del volumen del medio de soporte, regularmente se tomó la distancia entre la superficie de las piedras y el borde superior del reactor.

5.7 Disminución del oxígeno disuelto

El filtro biológico fue operado con un continuo suministro de aire, el cual propició la formación de una biopelícula aerobia sobre el material filtrante y que, debido a lo profundo de los poros del tezontle y por la difusión limitada del oxígeno disuelto, se presentaron zonas anóxicas/anaerobias en el fondo de los poros. La hipótesis de este trabajo indica que en el fondo de los poros, bajo condiciones anaerobias, se lleva a cabo la ruptura de los enlaces azo

(decoloración) y posteriormente, en la zona aerobia, la mineralización de las aminas producidas.

La disminución en la alimentación del oxígeno se hizo por medio de un controlador de flujo másico (figura 5.4), proporcionando caudales de aire de 5.0, 2.0, 1.0, 0.5 y 0.0 L/min. El monitoreo del oxígeno disuelto en el sistema se realizó con un electrodo colocado en la parte superior del lecho filtrante justo antes del efluente.

Por medio del electrodo de oxígeno disuelto (Dissolved Oxygen Meter YSI 5000), cuya imagen aparece en la figura 5.5, se registraron datos cada segundo; sin embargo, se tomó un dato por hora estadísticamente representativo.



Figura 5.4. Controlador de flujo másico de gases



Figura 5.5. Medidor de oxígeno disuelto

5.8 Potencial óxido-reducción

Las reacciones de oxidación y reducción regulan el comportamiento de muchos compuestos químicos presentes en cuerpos de agua. La reactividad y solubilidad de elementos esenciales

para los sistemas biológicos (p.e. Fe, S, N, C, P, y varios elementos metálicos) son afectados por cambios en los sistemas óxido reductivos del medio.

El potencial redox es positivo en una zona en donde predominen los procesos oxidativos y negativo en donde los procesos sean predominantemente reductivos y, por tanto, condiciones redox negativas corresponden generalmente con bajas concentraciones de oxígeno.

Se determinó el potencial redox por medio de un electrodo colocado en el efluente del sistema.

5.9 Cuantificación de la degradación biológica del colorante

Como parte medular de la experimentación se evaluó la degradación del colorante azo Azul Directo 2 (AD2), cuya estructura molecular se muestra en la Figura 5.6. Este colorante es muy utilizado en la industria textil mexicana para el teñido de la mezclilla. En la tabla 5.4, se presentan las características bioquímicas del colorante.

La cuantificación de este proceso se hizo determinando la concentración del colorante por espectrofotometría en influente y efluente. Los cálculos para los caudales de alimentación y concentración de colorante se exponen en el anexo 2 y 3 respectivamente.

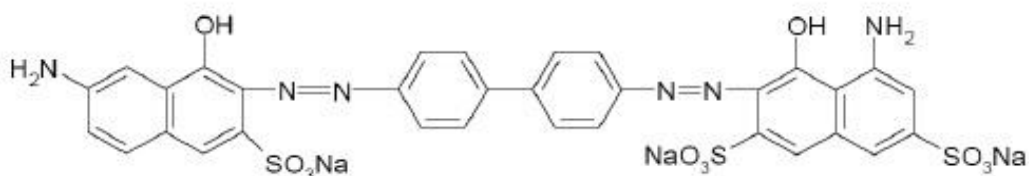


Figura 5.6. Colorante azo Azul Directo 2 (Golka et al., 2004)

Tabla 5.4. Especificaciones comerciales del colorante AD2

Nombre comercial	Chlorazol Black BH, Azul Directo 2
Fórmula Química	$C_{32}H_{21}N_6Na_3O_{11}S_3$
Peso Molecular	830.71 g/mol
Colour Index	22590
No. Cas	2429-73-4
Solubilidad (en agua)	45 g/l (25°C)
Apariencia física	Polvo de color negro

6. RESULTADOS

6.1 Caracterización del material de soporte (tezontle)

El material adquirido se sometió al cribado para tener seguridad del tamaño de partícula. Las cribas utilizadas fueron: la malla de 1/2 pulgada (12.7 mm) y la malla de 3/8 de pulgada (9.5 mm). En la figura 6.1 se muestra el tamaño de las partículas después de dicho cribado.



Figura 6.1. Tamaño de las partículas de tezontle

Una vez cribado se tomaron tres muestras del material, se colocaron en probetas de 500 mL y se enrasaron con agua destilada. En la tabla 6.1 se expresan los valores obtenidos de las determinaciones realizadas a las muestras, denominadas para este fin: M1, M2 y M3.

Tabla 6.1. Volumen y peso de las muestras

	Unidad	M1	M2	M3
Volumen aparente	ml	198.0	194.0	198.0
Peso	g	136.0	142.0	145.5
Volumen agua añadido	ml	180.0	180.0	180.0
Volumen que se desaloja al drenar	ml	60.0	59.0	54.0
Volumen piedras	ml	120.0	121.0	126.0
Volumen total s/aire	ml	182.0	186.0	184.0
Volumen de vacíos s/aire (porosidad aparente)	ml	88.0	91.0	87.0
Peso piedras saturadas con agua	g	168.0	171.2	177.6
Peso piedras secas 24h	g	136.0	142.0	145.5

Con base en esto se calculó la densidad, el peso, la densidad relativa y la porosidad (secas y saturadas de agua) de cada muestra (tabla 6.2):

Tabla 6.2. Masa específica del tezontle

	Unidad	M1	M2	M3	Promedio
Densidad seca	kg/m ³	747.25	763.44	790.76	767.15
Densidad saturada con agua	kg/m ³	923.08	920.43	965.22	936.24
Peso específico seco	N/m ³	7,330.55	7,489.35	7,757.36	7,525.76
Peso específico saturado	N/m ³	9,055.38	9,029.42	9,468.78	9,184.53
Densidad relativa seca	-	0.75	0.76	0.79	0.77
Densidad relativa saturada	-	0.92	0.92	0.97	0.94
Porosidad "seca"	%	64.71	64.08	59.79	62.86
Porosidad "húmeda"	%	52.38	53.15	48.99	51.51

Peso específico: relación entre el peso y su volumen
N=newton: masa afectada por la aceleración de la gravedad=peso

El área superficial de las partículas de tezontle, con diámetros entre 12.7 y 9.5 mm, relacionadas por el proceso de cribado, es de **292.5 m²/m³**. Por lo tanto, para un volumen de reactor (18.24 L), el área superficial disponible para colonización de bacterias es de **5.33 m²**.

A la cantidad de piedras contabilizada en las muestras de 200 mL (120, 121 y 120 piezas) se extrapoló al volumen del reactor (18.24 L) resultando en 11,930 partículas de tezontle.

Se realizó una comparación del cálculo del área superficial de las partículas partiendo de la suposición de forma esférica, su volumen y el número de partículas, resultando en un área superficial de 7.66 m². Este dato resulta coherente al tener en cuenta que la irregularidad de la

forma, propicia un mayor espacio entre partículas por el acomodo imperfecto, llevando a un menor número de partículas empacadas y por consiguiente, una menor área superficial.

6.1.1 Determinación del área superficial por medio del análisis de adsorción - desorción de nitrógeno

Se realizó una determinación adicional del área superficial por medio de la técnica de adsorción-desorción de nitrógeno en el equipo Belsorp mini, de la empresa Bel Japan Inc. y con el apoyo de la Dra. Brenda C. Alcántar del Instituto de Ingeniería.

Se dio un pretratamiento de la muestra por medio de desgasificación a 120 °C durante 4 horas en flujo de nitrógeno. El análisis se realizó a 77 K sumergiendo el recipiente con las muestras en nitrógeno líquido. Posteriormente, se tomaron las muestras de tezontle pretratado colocándolas en el recipiente del equipo y se permitió el paso del nitrógeno gas al recipiente con la muestra. Finalmente, se determinaron las cantidades adsorbidas de acuerdo con la presión ajustada.

Las isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno fueron proporcionadas por el equipo y se muestran en las figuras 6.2 y 6.3. De acuerdo a la UIQPA, estas isotermas corresponden al tipo II con histéresis H3, características de materiales no porosos o macroporosos.

El área superficial indicada en las figuras 6.2 y 6.3, se calculó de acuerdo al modelo BET (Brunauer, Emmett y Teller, 1938).

De estos dos datos de área superficial obtenidos durante la prueba, se desprende finalmente el área superficial total dentro del reactor, de acuerdo con la densidad del tezontle (1,300 g/L) y al volumen ocupado por las piedras dentro del reactor (18.2 L), resultando lo siguiente:

$$A_{\text{sup1}} = 1.74 \text{ m}^2\text{g}^{-1} (1,300 \text{ g/L}) (18.2 \text{ L}) = 41,168.4 \text{ m}^2 \text{ en el reactor.}$$

$$A_{\text{sup2}} = 0.76 \text{ m}^2\text{g}^{-1} (1,300 \text{ g/L}) (18.2 \text{ L}) = 17,981.6 \text{ m}^2 \text{ en el reactor.}$$

Esta información no es completamente útil para la presente investigación, ya que la superficie determinada por el equipo, incluye fracturas y microporos que son mucho más pequeños que el diámetro mínimo de las bacterias. Por tanto, es una superficie que no es totalmente colonizable por bacterias.

6.1.2 Fotografía con microscopía electrónica

A fin de obtener mayor información de la superficie colonizable por las bacterias se tomaron imágenes por medio de microscopio electrónico con el apoyo del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM.

Se tomaron aleatoriamente 3 partículas de tezontle de entre 2 y 3 mm de diámetro y se fijaron a los soportes metálicos con cinta de carbono, como se muestra en la figura 6.4. Posteriormente se mantuvieron las muestras en un desecador conectado a vacío por 24 horas.

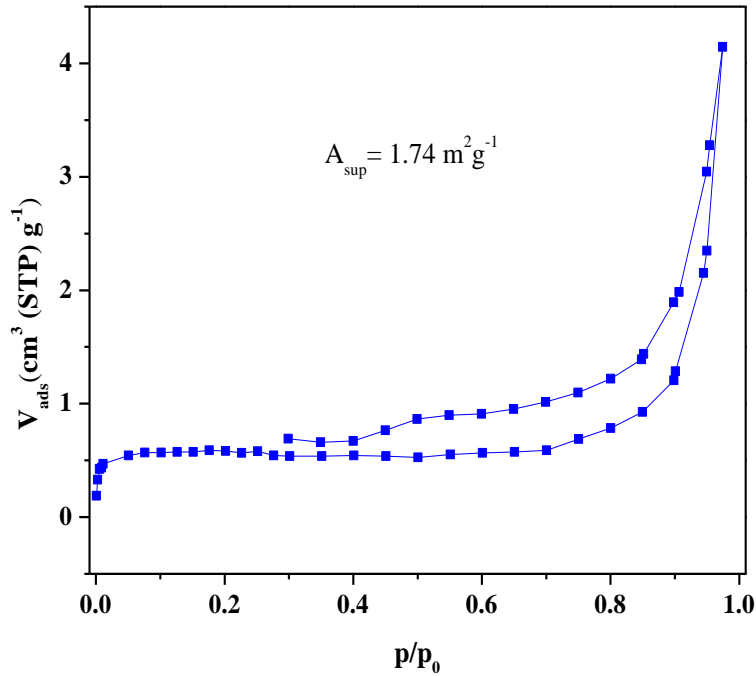


Figura 6.2. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno de una pieza de tezontle.

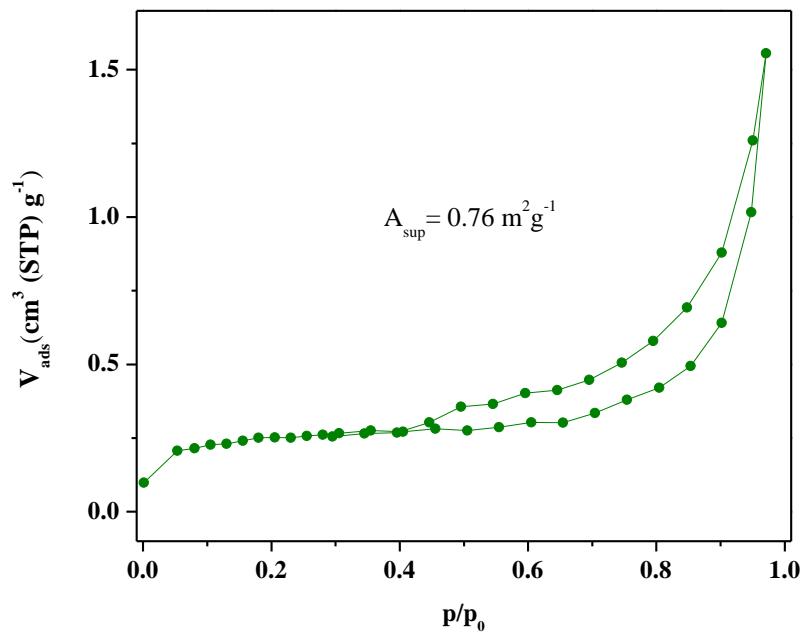


Figura 6.3. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno de varias piezas de tezontle.

El análisis se llevó a cabo en un microscopio electrónico marca JEOL, modelo JSM-7600F (Field Emission Scanning Electron Microscope) que se muestra en la figura 6.5, el cual está provisto de un sistema de detección de rayos X por energía dispersa (EDS), empleado para análisis de materiales. Para la muestra de tezontle se utilizaron ampliaciones de entre 500X y 3000X. Un ejemplo de ello es la figura 6.6 que muestra un poro de la superficie del tezontle



Figura 6.4. Colocación de muestras en soportes metálicos.



Figura 6.5. Microscopio electrónico de barrido.

De esta determinación se concluye que la superficie del tezontle está provista de gran variedad de tamaños de poro y alta rugosidad, haciéndolo un material altamente favorable para la colonización por bacterias.

6.1 Caracterización del colorante Azul Directo 2 (AD2)

Se tomó una muestra representativa de 100 mg de colorante "Azul Directo 2" y se diluyó en 500 mL de agua (concentración de 200 mg/L). Posteriormente se le realizaron determinaciones químicas en el laboratorio para verificar su aportación al influente, las cuales se detallan en la tabla 6.3.

Con ayuda del equipo de espectrofotometría se realizó el barrido de longitudes de onda del colorante a una concentración de 30 mg/L. En la figura 6.7, se aprecia la curva de las absorbancias para cada longitud de onda. El rango de luz visible está mostrado entre líneas rojas (380 y 780 nm). El punto de máxima absorbancia es 439.5 nm. Esta longitud de onda con

máxima absorbancia permite determinar la concentración de colorante en las muestras por medio del espectrofotómetro.

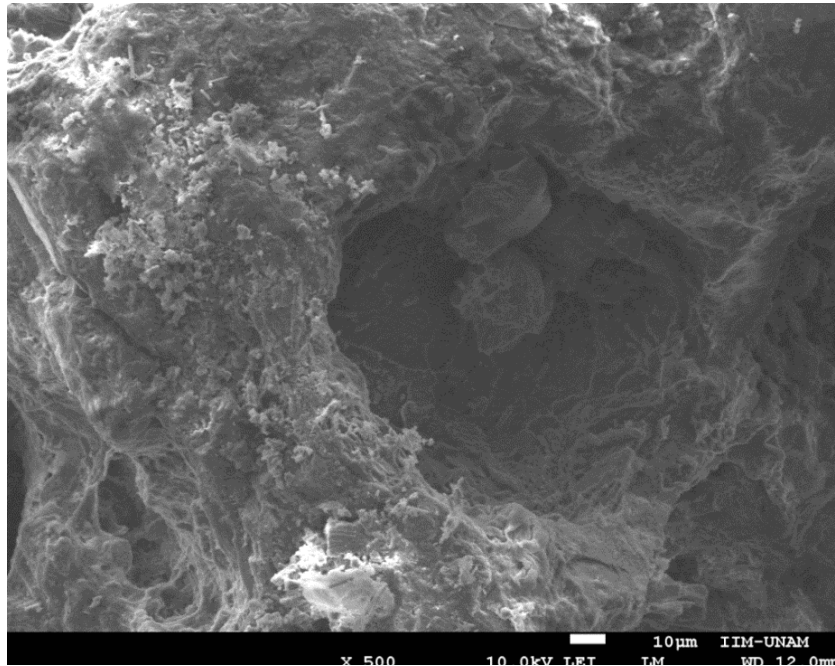


Figura 6.6. Poro de partícula de tezontle tomado por medio de microscopía electrónica de barrido, la escala se muestra en la figura.

Tabla 6.3. Características bioquímicas del colorante AD2 disuelto para resultar en una concentración de 200 mg/L.

Parámetro	Valor
pH	6.99
DQO	46 mg/L
N-NH ₄	2.1 mg/L
Nitrógeno Kjeldahl	0.72 mg/L

Para la determinación de la concentración de colorante se realizó su calibración por medio de espectrofotometría a diferentes concentraciones del colorante, obteniéndose la curva de absorbancias en la figura 6.8. La ecuación de la curva correspondiente y el valor de la correlación entre absorbancias se muestran también en la figura.

6.1 Etapa de arranque de la experimentación

Una vez que el reactor estuvo empacado con el medio de soporte (tezontle) se inundó el medio y se inoculó con lodos de la planta de tratamiento de la facultad de Ciencias Políticas de la UNAM. Se mantuvo así por 24 horas únicamente con el caudal de aire de 5 L/min con la finalidad de favorecer la colonización del medio de soporte.

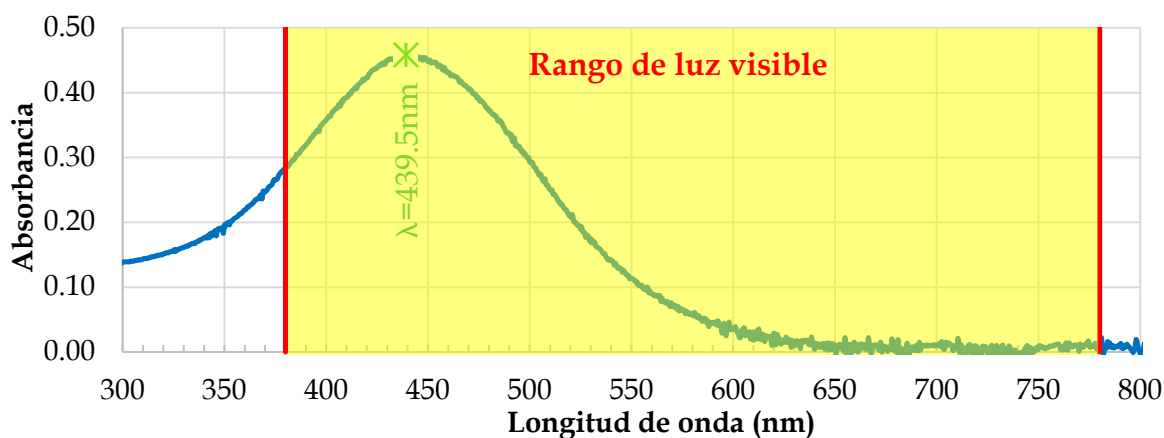


Figura 6.7. Absorbancias vs. longitud de onda del colorante "azul directo 2" con una concentración de 30 mg/L

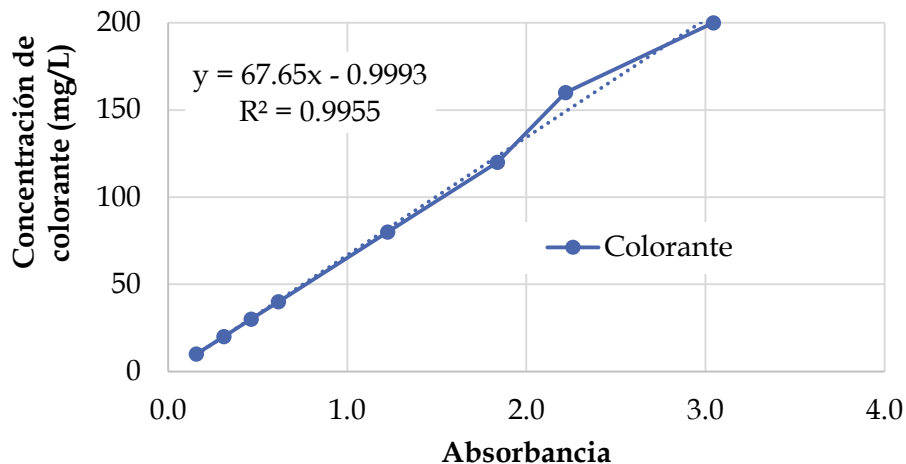


Figura 6.8. Concentración del colorante "Azul Directo 2" vs. absorbancia.

El periodo experimental comprendió de 195 días, de los cuales, los primeros 28 días correspondieron a la estabilización del filtro, que es el periodo en que los microorganismos colonizan la superficie del medio de soporte; durante este periodo el caudal de aire fue de 5 L/min.

La alimentación al reactor inició el 12 de agosto del 2016 con una carga orgánica superficial de 6 gDQO/m².d (1.75 kgDQO/m³.d) y un caudal de influente de agua sintética de 128.04 L/día. En esta etapa aún no se añadió el colorante. El sistema se mantuvo en estas condiciones por una semana. Durante este periodo no se realizó ninguna determinación ya que se consideró que la biomasa no estaría estabilizada y los datos de remoción de nutrientes podrían no reflejar información veraz.

A partir de la segunda semana se inició el monitoreo diario de la demanda química de oxígeno (DQO), oxígeno disuelto (OD) y temperatura. Dos veces por semana los parámetros de sólidos suspendidos totales (SST) y volátiles (SSV), nitrógeno amoniacal (NH₃), nitratos

(N-NO₃), fósforo de ortofosfatos (PO₄). Una vez por semana se realizó la determinación de nitrógeno Kjeldahl (NK).

Durante el proceso de estabilización la remoción de la DQO fue inestable. Se obtuvieron remociones fluctuantes entre 30% y 80% con aumentos y disminuciones frecuentes. Al término de la tercera semana, consorcios microbianos podían observarse en la superficie del medio de soporte como se muestra en la figura 6.9. A la izquierda, se aprecia una partícula de tezontle que aún no ha sido colonizada y a la derecha una partícula que presenta biopelícula. Esta situación se dio por el reemplazo de las partículas que se extraen para las determinaciones en laboratorio.



Figura 6.9. Medio de soporte (tezontle) sin y con biopelícula.

6.2 Monitoreo del filtro

El periodo de estabilización del sistema concluyó cuando las remociones de materia orgánica en el efluente presentaron una variación máxima del 10% durante 5 días consecutivos, cumpliéndose esta condición al día 28 después de inocular. A partir del día 29 se realizaron las determinaciones dos veces por semana. Posteriormente, el caudal de aire se disminuyó (de 5.0 a 2.0 L/min) cuando la biomasa adherida presentó estabilidad en la remoción de materia orgánica. El colorante se añadió al sistema cuando el flujo de aire fue de 2.0 L/min y la biomasa se consideró estable (día 96) a razón de 1.15 mL/min (ver cálculo en anexo 3) también suministrado por bomba peristáltica. A partir de esta etapa no se dejó de alimentar con el colorante. La incorporación del colorante desestabilizó la biomasa y el caudal se mantuvo en 2 L/min. Cuando volvió la estabilidad al sistema con el colorante incorporado se volvió a disminuir el flujo de aire, ahora a 1.0 L/min, posteriormente con 0.5 y finalmente con 0.0 L/min (ver figura 6.10).

6.2.1 Demanda química de oxígeno (DQO)

La aportación de DQO del agua residual sintética estuvo compuesta principalmente por la proteína vegetal hidrolizada y la maltodextrina. La remoción de la DQO responde a varios aspectos, principalmente a la concentración en el influente, el tiempo de retención hidráulica y la cantidad y tipo de microorganismos que participan en el sistema.

El comportamiento de la DQO puede observarse en la figura 6.10. Se muestra la DQO en influente, efluente (total y soluble) y el porcentaje de remoción. La carga orgánica superficial se mantuvo en 6 gDQO/m²·d (1.75 kgDQO/m³·d) durante toda la experimentación y la DQO en el efluente varió a lo largo de los 195 días de experimentación alcanzando una remoción máxima de 80 % (40 mgDQO/L) en la etapa de 2 L/min. Al momento de añadir el colorante (46 mgDQO/L) se ajustó la concentración de DQO en el influente y el caudal de agua a fin de mantenerla en 250 mgDQO/L y con un TRH de 2 horas. El ajuste se realizó disminuyendo proporcionalmente la cantidad de proteína vegetal de la solución alimentadora para que proporcionara 204 mgDQO/L y de esta manera mantener los 250 mgDQO/L. Los cálculos correspondientes a la concentración de la solución alimentadora se muestran en el anexo 1.

Durante los períodos con un suministro de aire de 5.0 y 2.0 L/min, sin adición de colorante, los valores de DQO en influente y efluente se mantuvieron estables, sin diferencias significativas. Al adicionar el colorante se observó una reducción significativa de la remoción de DQO tendiente a aumentar conforme pasa el tiempo sin llegar a los valores que tenía antes de la adición del colorante. Esta disminución en la remoción de materia orgánica puede ser consecuencia de la incorporación del colorante. Conforme la biopelícula se adapta a la nueva condición agresiva, las remociones aumentan paulatinamente.

La remoción de DQO disminuye hasta aproximadamente 45 % cuando se suspende completamente el suministro de aire. Se puede observar que la máxima remoción de DQO fue de 83 % con un flujo de aire de 2.0 L/min sin colorante azo. Para 1.0 L/min, la remoción de DQO alcanzada fue de 69 %. Finalmente, la remoción de DQO disminuyó hasta 46 % con el menor flujo de aire de 0.5 L/min y en presencia de colorante azo.

La presencia de turbiedad observada al suspender el suministro de aire (OD=0 mg/L) impidió realizar determinaciones fotométricas y los valores correspondientes al material orgánico y colorante no son confiables. La turbiedad presentada puede deberse al aumento de sustancias producto de fermentaciones por las bacterias facultativas en ausencia de oxígeno.

En las figuras 6.11 y 6.12 se muestran los perfiles de concentración de DQO total y DQO soluble respectivamente. Se aprecia la disminución de la materia orgánica conforme el flujo de agua residual avanza del nivel cero (influente) al 100 (efluente), a través del lecho filtrante. Las barras horizontales corresponden a las desviaciones estándar y las curvas corresponden a los valores promedio de, por lo menos, 5 determinaciones.

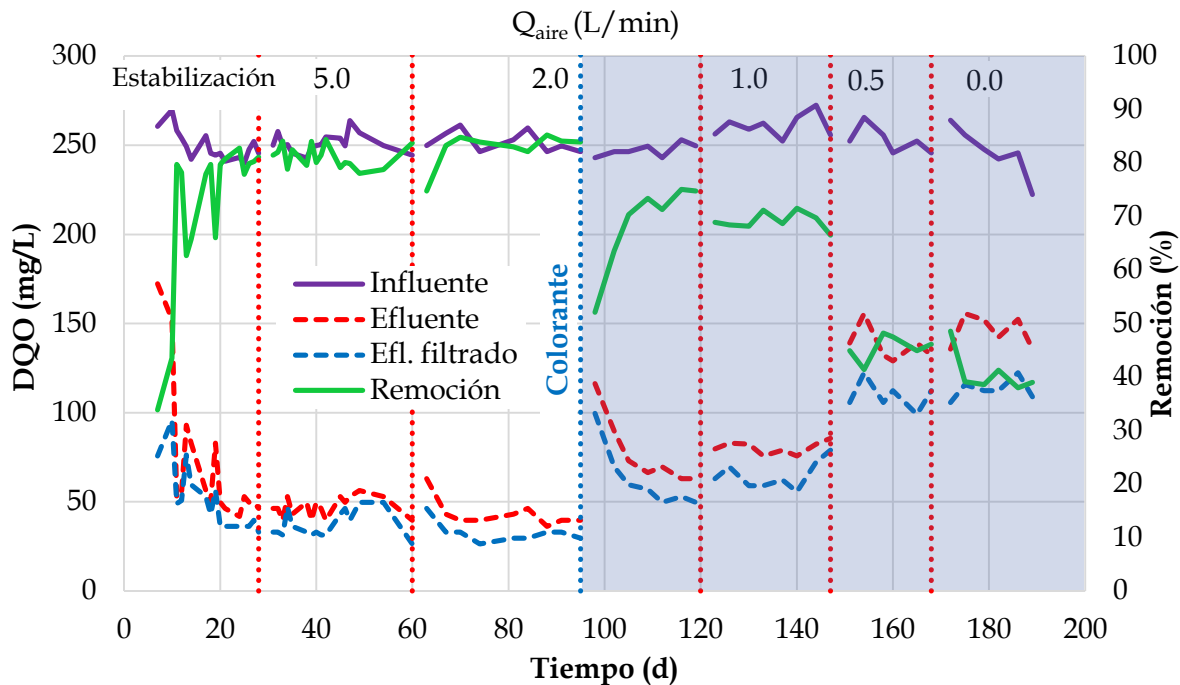


Figura 6.10. Demanda química de oxígeno en el tiempo

Adicionalmente, en las figuras 6.11 y 6.12, es particularmente notorio que en los primeros 20 cm del filtro la remoción de la materia orgánica se da de manera importante, especialmente cuando el flujo de aire es abundante. Esto se puede explicar debido a que la mayor cantidad de biomasa se concentra en este punto por ser la fuente de mayor concentración de nutrientes y oxígeno, dándose las condiciones más favorables para los microorganismos. Después de estos primeros 20 cm, la remoción de la materia orgánica tiende a una relativa uniformidad.

La DQO del efluente fue analizada también por medio de filtrado para separar los sólidos en suspensión ya que en el proceso se desprende biomasa y polvo de tezontle. Esto es debido a que la DQO total involucra la materia orgánica no disuelta que en éste caso, se puede deber a la presencia de los microorganismos.

6.2.2 Nitrógeno (N-NH₄ y N-NO₃)

La nitrificación es un proceso aerobio realizado por microorganismos litoautótrofos. El proceso respiratorio nitrificante se lleva a cabo en dos etapas: 1) oxidación del amonio a nitrito y 2) oxidación de nitrito a nitrato. La oxidación de amonio se realiza, principalmente, por bacterias de los géneros Nitrosomonas y Nitrosolobus. La oxidación del nitrito a nitrato la pueden realizar bacterias del género Nitrobacter y Nitrosococcus (Cervantes et al., 2000).

Los microorganismos autótrofos nitrificantes crecen relativamente más lento y son más sensibles a condiciones ambientales que los organismos heterótrofos. Estos factores ambientales pueden afectar el desarrollo de biopelículas nitrificantes en un BAF.

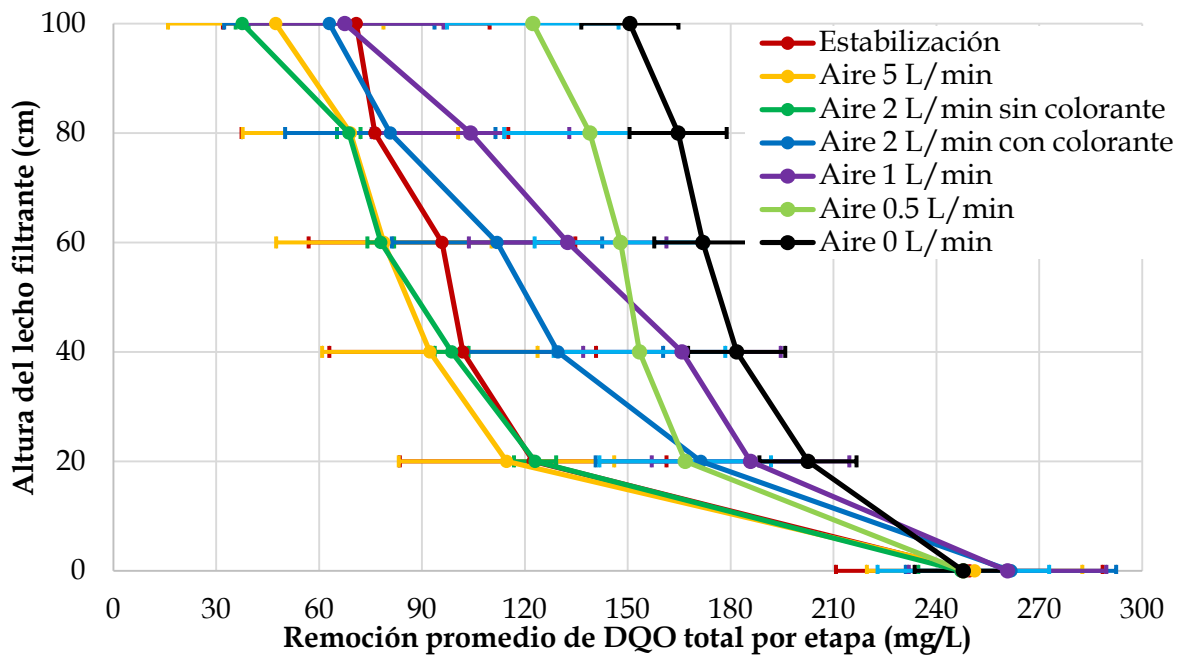


Figura 6.11. Perfiles de DQO total con respecto a la altura del filtro

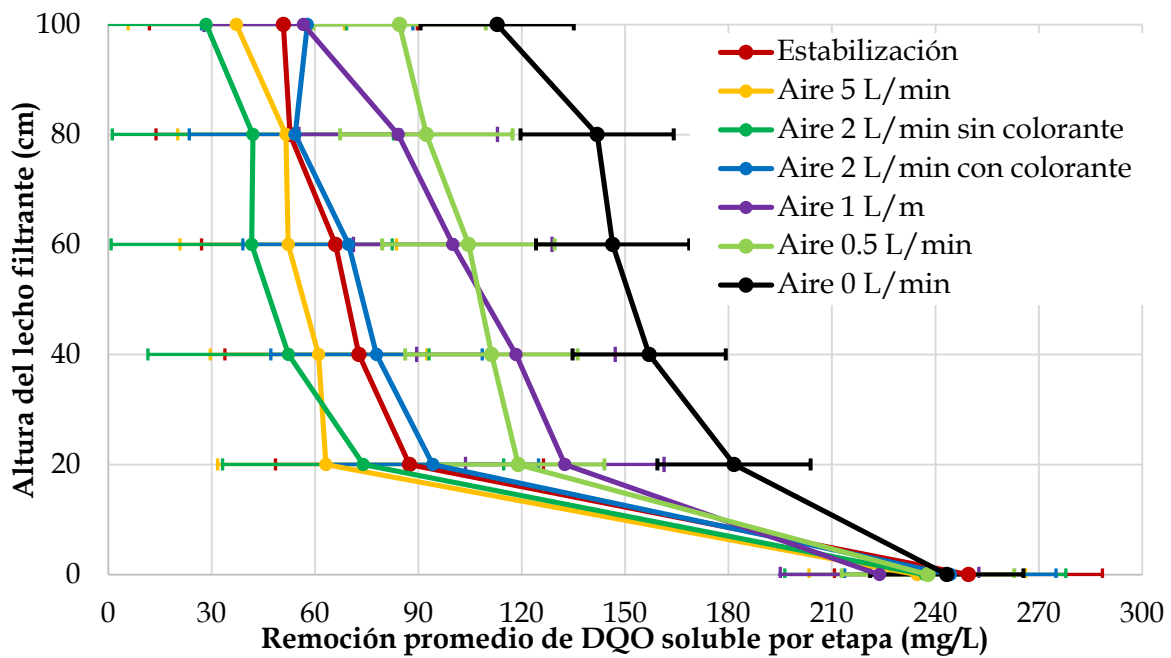


Figura 6.12. Perfil de DQO disuelta respecto a la altura del filtro

La hidráulica y el transporte (difusión) de nutrientes / sustrato dentro de la biopelícula, la configuración del reactor y la transferencia de masa aire - líquido tienen impacto en la nitrificación. Más allá de los factores físicos, la nitrificación es afectada por las concentraciones de nutrientes disueltos y sustrato, alcalinidad, pH, concentración de sustancias tóxicas y densidad y espesor de la biomasa (Ha, 2006).

El comportamiento de las concentraciones de nitrógeno amoniacal y de nitratos en influente y efluente durante los 195 días que duró la experimentación se muestra en la figura 6.13. El nitrógeno amoniacal en el efluente disminuye lentamente durante el periodo con 5 L/min de aire, lo cual indica que los procesos de nitrificación son lentos y requieren de semanas para adaptarse. Al disminuir el suministro de aire a 2 L/min la remoción de nitrógeno amoniacal es estable. Sin la adición de colorante, la remoción lograda de nitrógeno amoniacal fue del 79 % bajo un flujo de aire de 5.0 L/min, de 16 % bajo 2 L/min y, con colorante añadido, la remoción de amonio disminuyó junto con la concentración de oxígeno disuelto de 38 % a 8 %. Al adicionar el colorante la remoción de nitrógeno amoniacal disminuye drásticamente y la producción de nitrato también. Al disminuir más el suministro de aire, la remoción de nitrógeno amoniacal disminuye aún más a valores cercanos a cero. Al disminuir el suministro de aire a caudales de 0.5 y 0 L/min, la remoción de nitrógeno amoniacal es muy baja y se considera que la remoción se debe a procesos anabólicos. Lo que queda claro es que la presencia del colorante inhibe los procesos de nitrificación en el filtro.

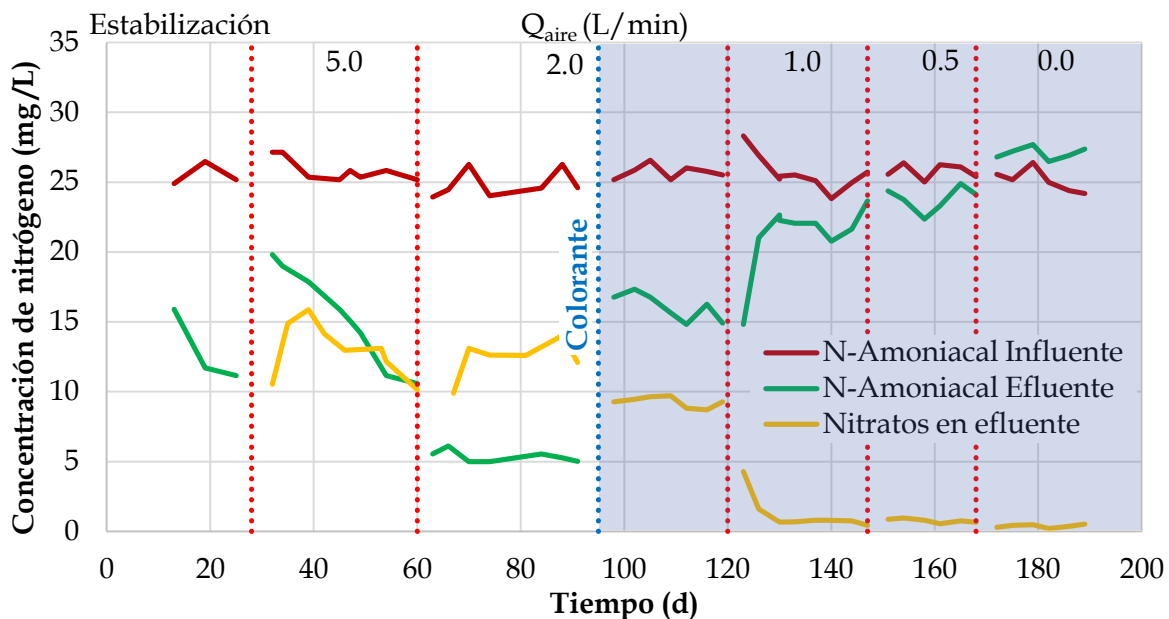


Figura 6.13. Evolución de la concentración de nitrógeno amoniacal y nitratos en el tiempo

En la figura 6.14 se muestran los perfiles de concentración promedio de nitrógeno amoniacal a lo largo del filtro experimental y en cada una de las etapas. El influente se mantuvo en una concentración de 25 mg/L, que corresponde a una concentración típica del agua residual urbana. Es evidente que la mayor remoción de nitrógeno amoniacal se da en la base del filtro, atendiendo a una mayor concentración de biomasa en este punto. Se observa que, de manera similar a la DQO, la concentración de nitrógeno amoniacal disminuye sensiblemente al disminuir el suministro de aire. A bajos caudales de aire la remoción de nitrógeno amoniacal es despreciable indicando que los procesos de nitrificación son afectados negativamente por la presencia de colorantes azo.

Cada curva en la figura 6.14 corresponde al promedio de 5 determinaciones y las barras horizontales representan la desviación estándar.

Adicionalmente, se realizaron determinaciones semanales de la concentración de nitrito en el reactor con la finalidad de conocer el comportamiento de la nitrificación en concentraciones bajas de oxígeno disuelto. La concentración de nitrito se mantuvo debajo de 0.2 mg/L en cualquier flujo de aire. Por tanto, se considera que expresar dicha información en las gráficas no es relevante para esta investigación.

Cuando se dejó de suministrar aire (condiciones anaerobias) el efluente del filtro presentó alta turbiedad y procesos de filtración, floculación o centrifugación de las muestras no fueron efectivos para reducir la turbiedad, considerándose una interferencia para las determinaciones fotométricas y los valores obtenidos no se consideran confiables.

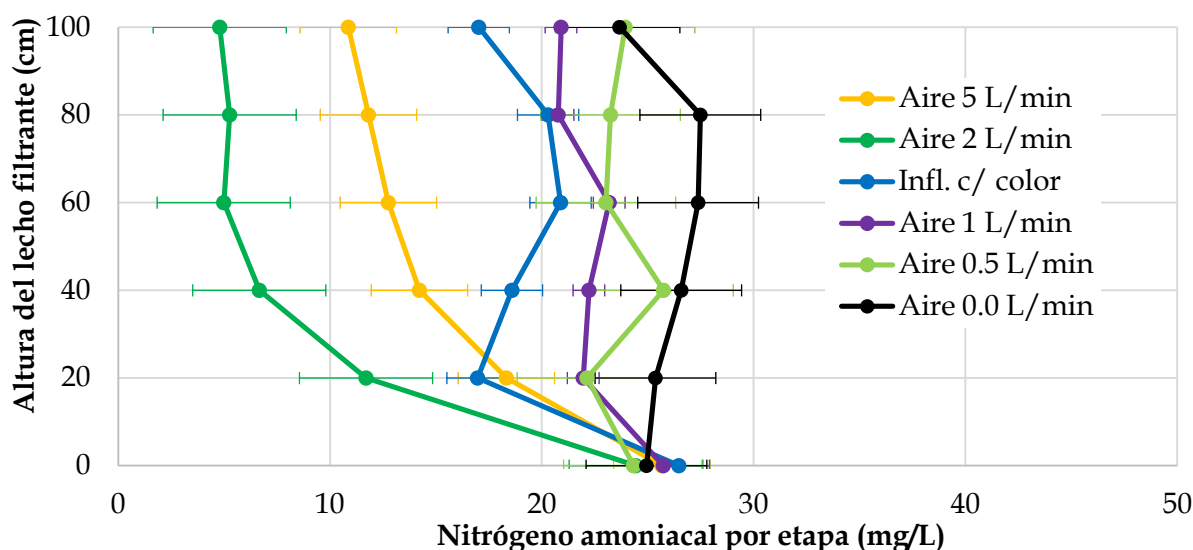


Figura 6.14. Concentración de nitrógeno amoniacal a lo largo del filtro

6.2.3 Sólidos suspendidos totales (SST)

Los sólidos suspendidos representan el material orgánico e inorgánico, no disuelto, en influente y efluente (Metcalf y Eddy, 2004). La cantidad de sólidos suspendidos está directamente relacionada con la concentración de materia orgánica en el influente y los procesos que se dan dentro del reactor (biológicos: crecimiento y desprendimiento de la biopelícula y físicos: las sustancias que son retenidas en el proceso de filtración mecánica y el desgaste del material).

En la fase de estabilización (no mostrada en las figuras) es donde se presentó la mayor variación de concentración, debido a que los microorganismos no habían generado una biopelícula suficientemente fuerte para que se mantuviera adherida a la superficie del material y se desprendía con facilidad, sumado a que el material de soporte estaba virgen y presentaba bordes y aristas anguladas que con el proceso de retrolavado y los impactos inerciales se fueron desprendiendo.

Con los perfiles de concentración, mostrados en la figura 6.15, se aprecia el comportamiento general de la biomasa y las partículas desprendidas del medio de soporte producto del

desgaste. De igual manera que para la remoción de materia orgánica y del nitrógeno amoniacal, existe un incremento considerable en la cantidad de sólidos suspendidos totales en los primeros 20 cm. Esto se debe a que la mayor cantidad de biomasa se concentra en el fondo del reactor donde está más próximo el suministro de nutrientes y de oxígeno dándose las condiciones más favorables para el desarrollo de los microorganismos (sólidos suspendidos volátiles o SSV). Adicionalmente, las partículas de tezontle que se desprenden por el retrolavado del día anterior y que no lograron salir, terminan en ésta zona aumentando los sólidos suspendidos fijos (SSF). De esta manera se comprueba que el reactor funciona no solo para remover materia orgánica, sino también partículas inorgánicas que quedan atrapadas en el medio poroso.

Cada curva en la figura 6.15 corresponde al promedio de 5 determinaciones y las barras horizontales representan la desviación estándar.

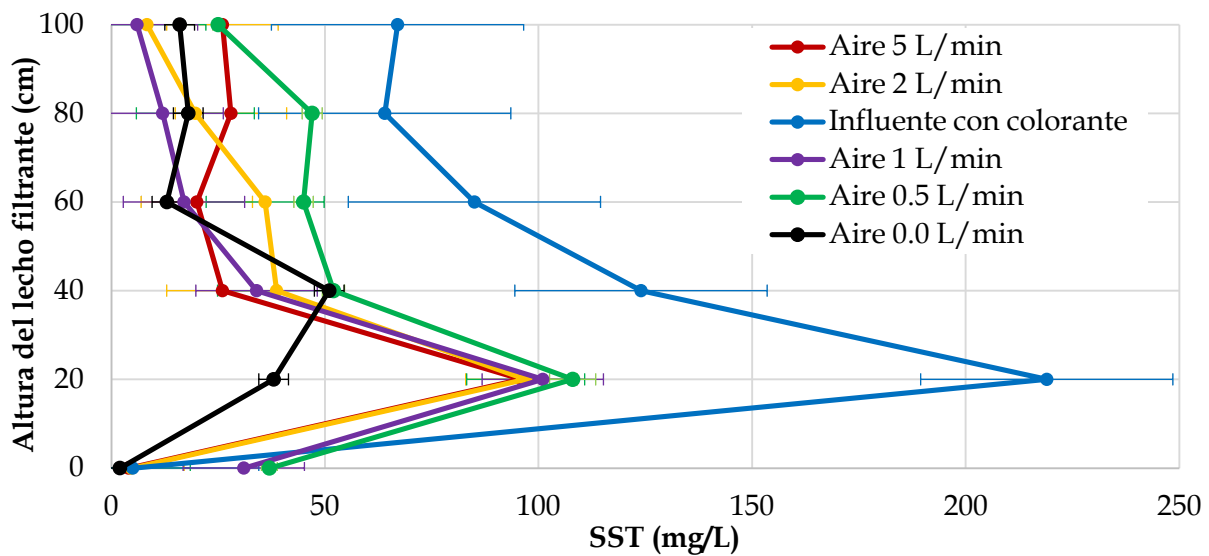


Figura 6.15. Sólidos suspendidos totales en el reactor

La producción de sólidos fue similar en los flujos de aire de 5 y 2 L/min sin colorante, y se mantuvo la mayor concentración en los primeros 20 cm (promedio de 90 mg/L) y en el resto del reactor la concentración fue disminuyendo. Al incorporar el colorante al sistema es evidente que la cantidad de sólidos aumentó drásticamente, propiciado seguramente por la toxicidad del colorante. Al disminuir progresivamente el flujo de aire a 1 y 0.5 L/min se disminuyó la variabilidad en la concentración de sólidos, respondiendo a la disminución de turbulencia generada por la aireación. Cuando el flujo de aire se suspendió, la mayor acumulación de sólidos se observa en los 40 cm y se mantuvo en promedio 25 mg/L desde los 60 cm al efluente.

6.2.4 Nitrógeno Kjeldahl (NK)

Analíticamente el nitrógeno orgánico y el amoniacal pueden ser determinados por el método Kjeldahl, el cual se aplica para la determinación del contenido de nitrógeno en sustancias orgánicas e inorgánicas. Este método es utilizado para determinar indirectamente la cantidad de biomasa en una muestra. Para la presente investigación se tomaron muestras del medio filtrante (tezontle) procedente del interior del reactor y del efluente, ambas muestras fueron tomadas durante el proceso de retrolavado. Para el caso del efluente, se tomó una muestra representativa del total del proceso de retrolavado y se centrifugó para hacer la determinación.

En la figura 6.16 se observa que la cantidad de biomasa (expresada como nitrógeno Kjeldahl) desarrollándose sobre el material filtrante tiende a aumentar conforme transcurre el tiempo, independientemente del suministro de aire, hasta llegar a valores máximos entre los días 95 y 120. Después de iniciar la adición del colorante, la cantidad de microorganismos comienza a disminuir lentamente, afectada por la disminución del suministro de aire.

Al suspenderse completamente el suministro de aire (condiciones anaerobias) la cantidad de biomasa adherida al material filtrante alcanza valores máximos ya que, ante la falta de turbulencia, la biomasa queda retenida en el interior del filtro.

También en la figura 6.16 se observa que la cantidad de lodos producidos en un día permanece relativamente constante hasta el día en el que se inicia la adición del colorante. Después aumenta la producción de biomasa que sale con el efluente debido a los efectos inhibidores que causa el colorante. Al suspenderse el suministro de aire (condiciones anaerobias) la cantidad de biomasa que sale del reactor es elevada debido al desprendimiento de la biomasa adherida causada por el cambio radical en las condiciones.

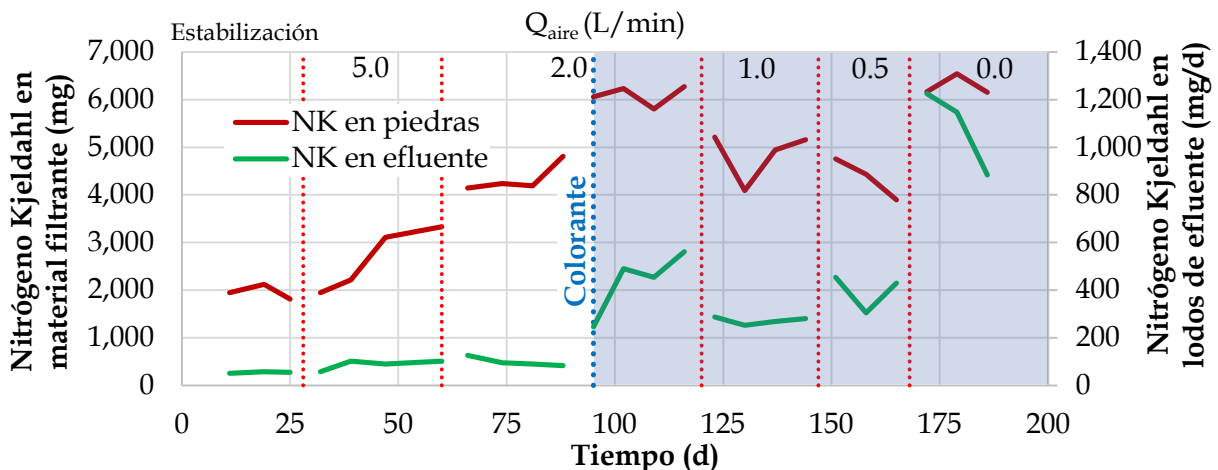


Figura 6.16. Nitrógeno Kjeldahl en la biopelícula adherida al material filtrante y lodos de retrolavado en el interior del filtro.

El tiempo de retención celular se puede determinar por medio de un balance de nitrógeno orgánico en el filtro, tomando en cuenta la biomasa en las piedras de tezontle, en el efluente y en el agua de retrolavado, como se expresa en la ecuación 6.1.

Ecuación 6.1

$$TRC (d) = \frac{NK_{biopelícula}}{NK^{retrolavado}/d + NK^{efluente}/d}$$

En la figura 6.17, que se desprende de la ecuación 6.1, se aprecia que el tiempo de retención celular disminuyó consecuentemente con la disminución de la concentración de OD: sin adición de colorante el valor promedio se situó entre 4.5 y 5.0 d y, con adición de colorante, los valores pasaron de 3.5 d con 2 L/min de aire a 2.5 d con 0.5 L/min de aire. Esto significa que, al dosificar el colorante, la producción de biomasa aumentó significativamente y/o la masa de microorganismos adheridos al material de soporte disminuyó significativamente. Los cálculos correspondientes se presentan en el anexo 3.

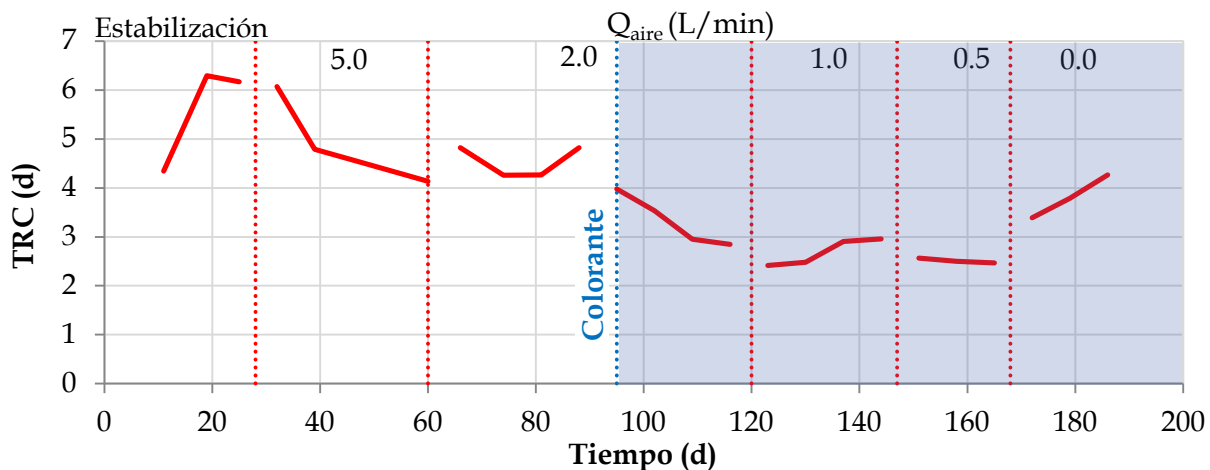


Figura 6.17. Tiempo de retención celular (TRC) a lo largo del periodo experimental.

En la etapa de 2 L/min se observa que la disminución del TRC se debe a la presencia de colorante porque las otras condiciones de carga orgánica y suministro de aire se mantienen. Se puede explicar dicha disminución por un desprendimiento masivo de la biopelícula y/o un incremento rápido en la población de los microorganismos como respuesta a las condiciones inhibitorias generadas por el colorante.

El TRC sin aire aumenta porque los microorganismos, bajo condiciones anaerobias, se reproducen más lentamente que bajo condiciones aerobias o microaerobias; esto se ve claramente en la remoción de DQO al disminuir el espesor de la biopelícula y, por lo tanto, su actividad y los microorganismos en suspensión permanecen poco tiempo en el sistema.

Cobos Becerra (2013), reporta un TRC de 6.3 días, trabajando con carga orgánica de 2.9 kgDQO/m³·d y 5.8 días para una carga orgánica de 3.2 kgDQO/m³·d, para un filtro biológico aerado empacado con partículas con un área superficial específica de 1952 m²/m³ y

retrolavados diarios. Metcalf y Eddy (2003) reportan entre 1 y 2 días de TRC para la remoción de materia orgánica en el agua residual y, para la nitrificación completa, 3 a 18 días. Lee et al., (2006) reporta un TRC de 6.2 días para un BAF con carga orgánica de 1.9 kgDQO/m³·d y área superficial específica de 1300 m²/m³.

En esta investigación, se reportan valores entre 4.5 y 5.0 días sin colorante y entre 2.5 y 3.5 días con colorante. Para el caso sin colorante los valores obtenidos coinciden con la bibliografía. Sin embargo, el TRC disminuyó considerablemente en presencia del colorante. Es importante señalar que no solamente el colorante pudo afectar el TRC del sistema, sino que también la disminución del oxígeno disuelto cambiando la composición de la biopelícula.

6.2.5 Fósforo de ortofosfatos (PO₄)

En la figura 6.18, puede verse que la remoción de fósforo es limitada. Las remociones obtenidas en las etapas sin colorante (5 y 2 L/min) fueron entre el 15 y 40 %, presentando una mayor variabilidad en las remociones cuando la aireación fue mayor. Al incluir el colorante, se aprecia un ligero incremento en la remoción y que encuentra un máximo para el flujo de 1 L/min. La reducción del fósforo en el reactor, para un flujo de 0.5 L/min, prácticamente es nula. Cuando se corta el suministro de aire, aparentemente los niveles de fósforo aumentan drásticamente. Sin embargo, la turbiedad impidió realizar determinaciones fotométricas y las determinaciones de fósforo no se consideran confiables. Esta turbiedad puede deberse al aumento de sustancias producto de fermentaciones generadas por las bacterias facultativas ante la ausencia de oxígeno.

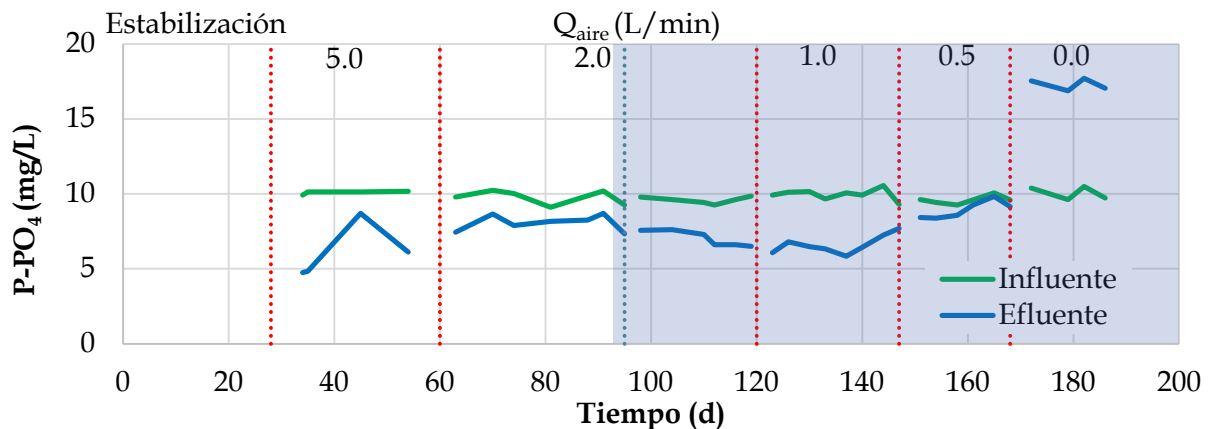


Figura 6.18. Concentración de ortofosfatos en el sistema

A lo largo de las etapas de experimentación, se observa una disminución en la concentración de fósforo, que se debe a la captura de fósforo por las bacterias que lo utilizan para funciones anabólicas. No se percibe el comportamiento habitual de bacterias acumuladoras de fosfatos y por lo tanto se supone que fue utilizado como nutriente para crecimiento celular únicamente.

Cuando se dejó de suministrar aire (condiciones anaerobias) el efluente del filtro presentó alta turbiedad y procesos de filtración, floculación o centrifugación de las muestras no fueron efectivas para reducir la turbiedad, considerándose una interferencia.

6.2.6 Oxígeno disuelto (O.D.) y temperatura

La concentración de oxígeno disuelto está en función de la temperatura, la presión atmosférica y la salinidad del agua. La saturación de oxígeno en agua limpia en la Ciudad de México (elevación: 2,250 m.s.n.m) a 21 °C, es de 6.78 mg/L. Se estima que para mantener un sistema en condiciones aerobias la concentración de oxígeno disuelto debe superar los 2 mg/L y para que se den los procesos de nitrificación debe exceder los 3 mg/L (Rayan et al., 2012; Rayan 2010).

La temperatura es un parámetro importante en los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales. Cada cambio o variación en la temperatura del agua, repercute de manera directa en las reacciones bioquímicas, la tasa de crecimiento microbiana, la difusión de nutrientes y en la solubilidad del oxígeno.

En la figura 6.19 se presenta el registro de la temperatura y el oxígeno disuelto a lo largo del periodo experimental. En la etapa de estabilización y la de 5 L/min de aire, el registro de oxígeno disuelto se mantuvo entre 6.5 y 7.5 mg/L. Para la etapa de 2 L/min (con y sin colorante añadido), el oxígeno disuelto se situó en un rango entre 3 y 4.0 mg/L; en la etapa de 1 L/min, la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo entre 0.5 y 1.5 mg/L y cuando el flujo de aire fue de 0.5 L/min la concentración en el efluente prácticamente fue 0 mg/L.

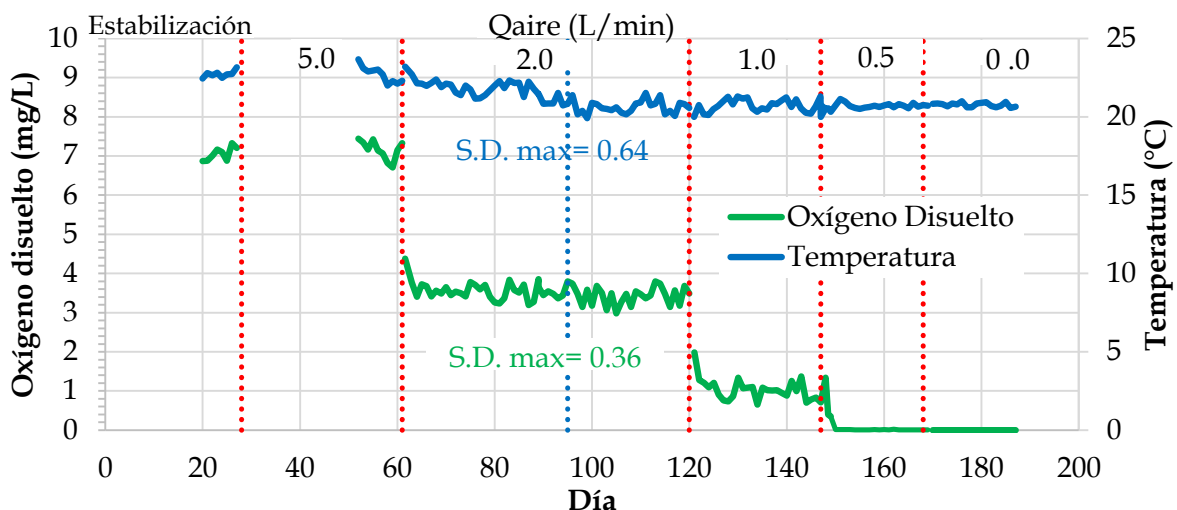


Figura 6.19. Comportamiento del oxígeno disuelto

Parte fundamental de esta investigación es el controlar la concentración de oxígeno disuelto en el sistema, para esto, se colocó un electrodo de oxígeno disuelto en la parte superior del reactor, justo antes del efluente.

Con la finalidad de reducir el impacto de la temperatura en el sistema, se colocó un calentador de agua para el influente y mantener constante la temperatura del agua. La temperatura del agua en el contenedor es de 25°C.

6.2.7 Comportamiento hidráulico del sistema

El comportamiento hidráulico del sistema está determinado por el paso del agua residual a través del lecho filtrante, ya sea circulando de manera uniforme a lo largo del reactor (flujo pistón), mezclándose inmediatamente al entrar en el sistema (mezcla completa) o una mezcla de ambos. Con aireación las burbujas de aire provocan mezcla y dispersión del líquido favoreciendo el comportamiento de mezcla completa (Fatitah y Donelli, 2008).

Por medio de pruebas de trazado se puede conocer el comportamiento hidráulico en el sistema. Varios son los aspectos que tienen influencia en este comportamiento, entre los que destacan: el tamaño y forma de las partículas del lecho filtrante, el tiempo de retención hidráulica, la intensidad de la aireación y el desgaste de las partículas del filtro.

Como parte del proceso de experimentación se realizaron pruebas de trazado a fin de conocer la hidráulica y tener más herramientas para entender los procesos de degradación dentro del reactor.

Se colocó un electrodo de conductividad en el efluente para medir la concentración del trazador (cloruro de sodio, 50 mg/L). La figura 6.20 muestra las curvas de concentración de NaCl contra el tiempo bajo diferentes caudales de aire. Se observa que a mayor caudal, el comportamiento tiende a mezcla completa y al disminuir tiende a flujo pistón.

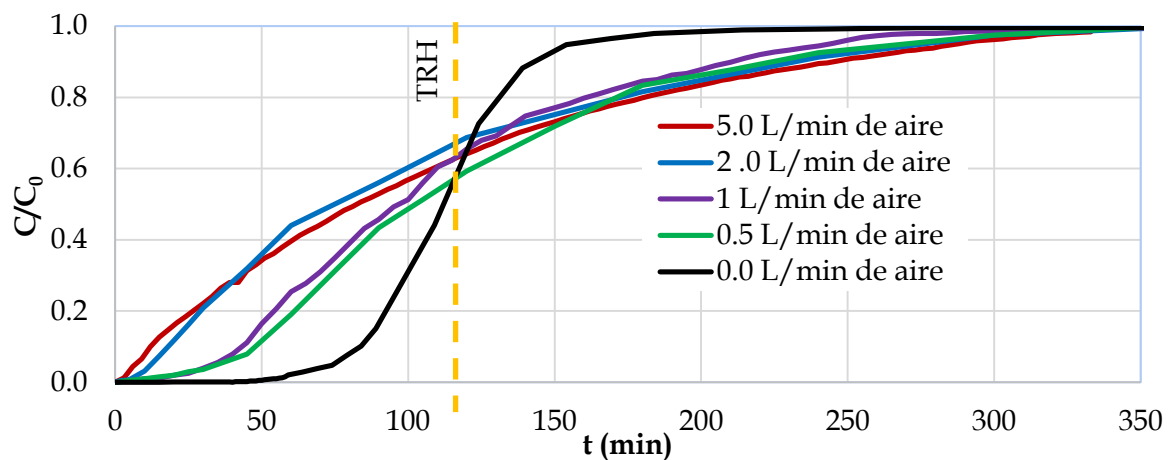


Figura 6.20. Curvas de concentración de NaCl en el efluente del filtro contra tiempo.

Las curvas correspondientes a 5 y 2 L/min de aire coinciden con el comportamiento de un reactor completamente mezclado ya que cruzan la línea del TRH cuando C/C_0 tiene un valor entre 0.63 y 0.65 (Smith, 1981). La curva correspondiente a la operación del filtro sin aire tiende a un comportamiento de reactor tubular con una desviación de la idealidad de aproximadamente el 40 % de su volumen o 40 % del TRH. Las curvas de 1.0 y 0.5 L/min de

aire presentan un comportamiento intermedio predominantemente de reactor completamente mezclado.

De la figura 6.20, adicionalmente se puede concluir que entre mayor sea el flujo de aire en el sistema, más rápidamente se registra el trazador en el efluente y con mayor concentración.

Las curvas de trazado fueron analizadas por medio del modelo matemático para reactores no ideales de Wolf y Resnick (Levenspiel, 2002; Wolf y Resnick, 1963).

En las figuras 6.21 a 6.25, se representan gráficamente la concentración del trazador respecto al tiempo de retención hidráulico (t/t_0), para cada uno de los caudales de aire con los que se trabajó: 5, 2, 1, 0.5, 0 L/min. En las figuras, la línea continua representa los valores experimentales y la línea discontinua el ajuste con el modelo de Wolf y Resnick. Claramente, ambas curvas se aproximan entre sí, por lo tanto, se puede considerar que la información que arroja el modelo es válida.

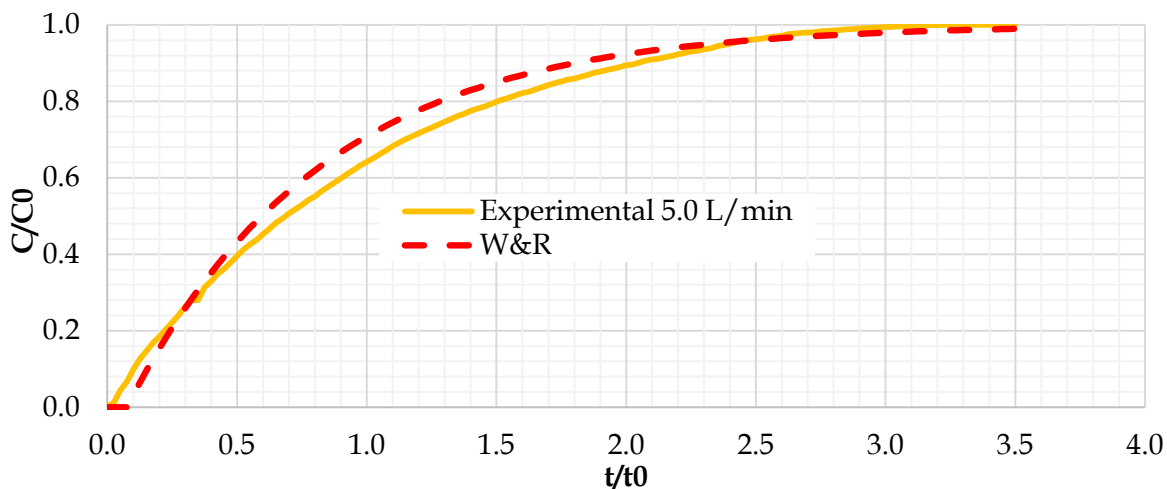


Figura 6.21. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick (W&R) y en laboratorio, caudal de 5 L/min.

Del modelo de Wolf & Resnick aplicado a cada caudal de aire, se desprenden los porcentajes de cada tipo de flujo y son expresados en la tabla 6.4. En la tabla se aprecia claramente que, al disminuir el flujo de aire en cada una de las etapas, disminuye también el volumen muerto, disminuye el volumen de mezcla completa y aumenta el volumen de flujo pistón, coincidiendo con la bibliografía (Fatitah y Donelli, 2008).

El volumen muerto se identifica como el volumen que no participa activamente en proceso y queda dentro del reactor por tiempo indeterminado. Al disminuir el caudal de aire disminuye el volumen muerto y el volumen de mezcla completa, y al mismo tiempo aumenta el volumen de flujo pistón.

Se calculó el volumen de aire que se encuentra en el reactor causado por las burbujas de aire de la aireación. Se repitió este proceso 3 veces para cada caudal de aire. Para lograr esto se suspendió el suministro del influente con aeración durante 10 minutos. Después se suspendió la aeración y se reinició (sin aeración) la alimentación del influente. Sabiendo el tiempo que

tarda en salir nuevamente efluente, multiplicado por el caudal de alimentación es el volumen desplazado por burbujas de aire.

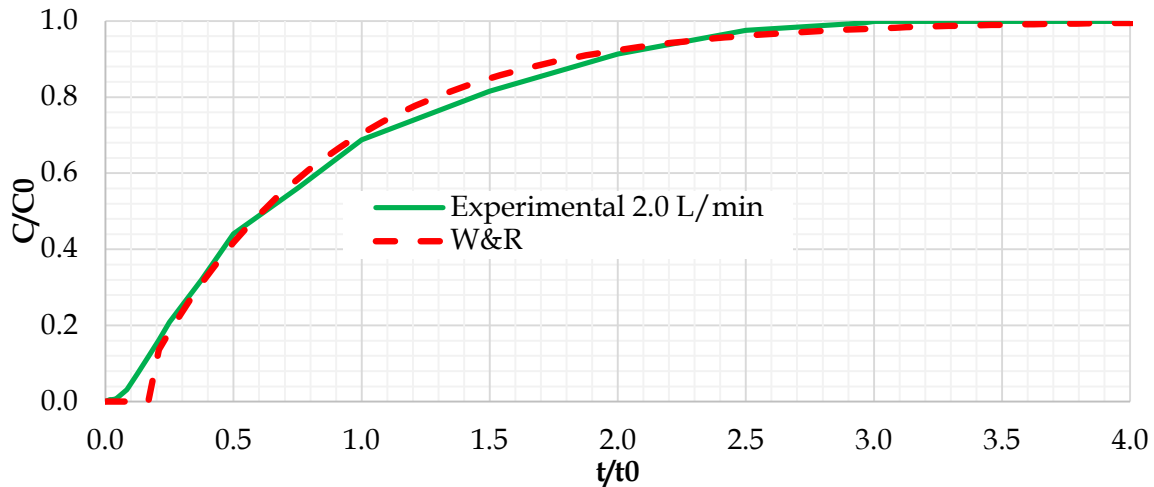


Figura 6.22. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 2 L/min.

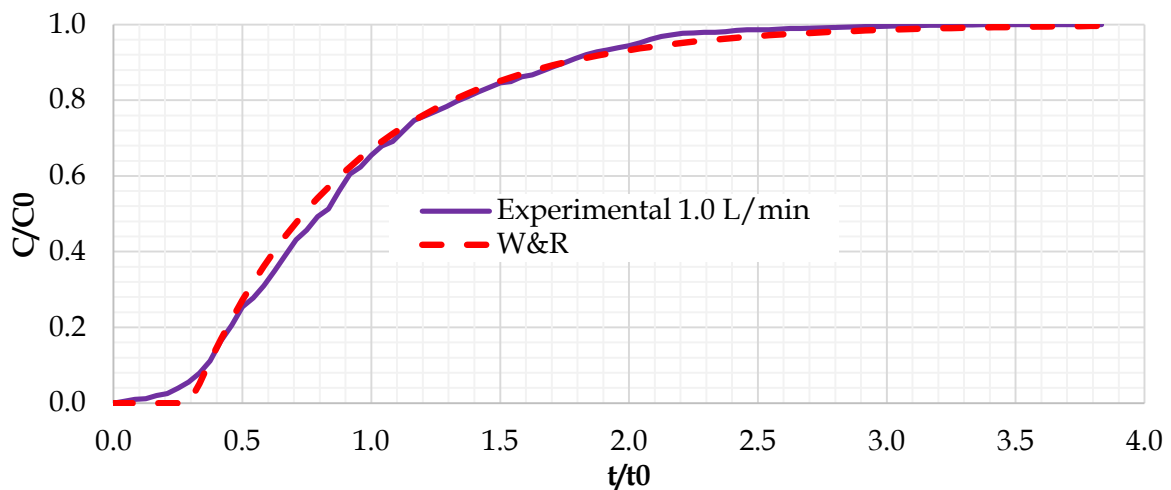


Figura 6.23. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 1 L/min.

Tabla 6.4. Comportamiento de los volúmenes en el reactor para cada caudal de aire.

Q_{aire} (L/min)	5.0	2.0	1.0	0.5	0.0
Volumen muerto	17%	16%	7%	5%	3%
Volumen de mezcla completa	75%	74%	63%	57%	17%
Volumen de flujo pistón	8%	10%	30%	38%	80%

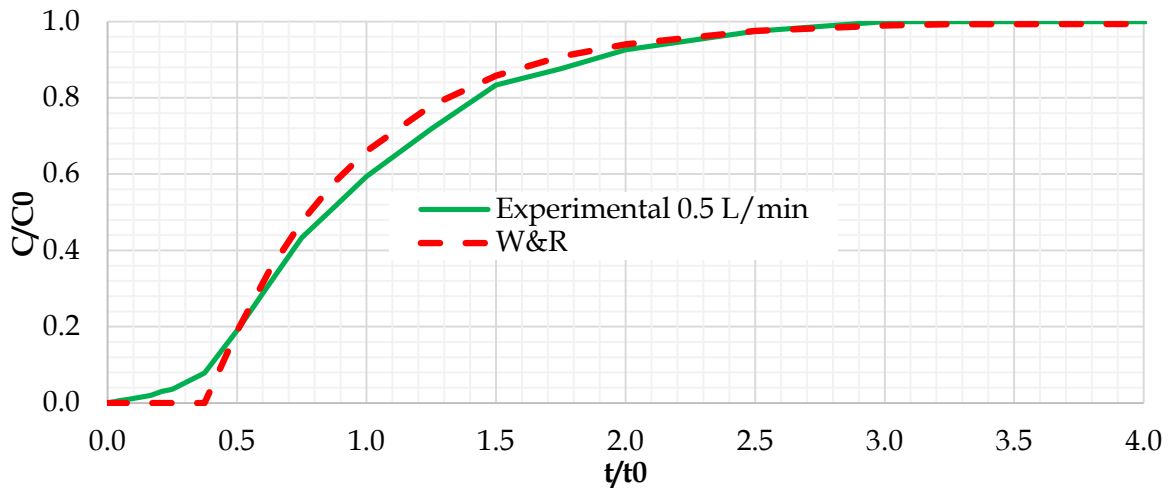


Figura 6.24. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 0.5 L/min.

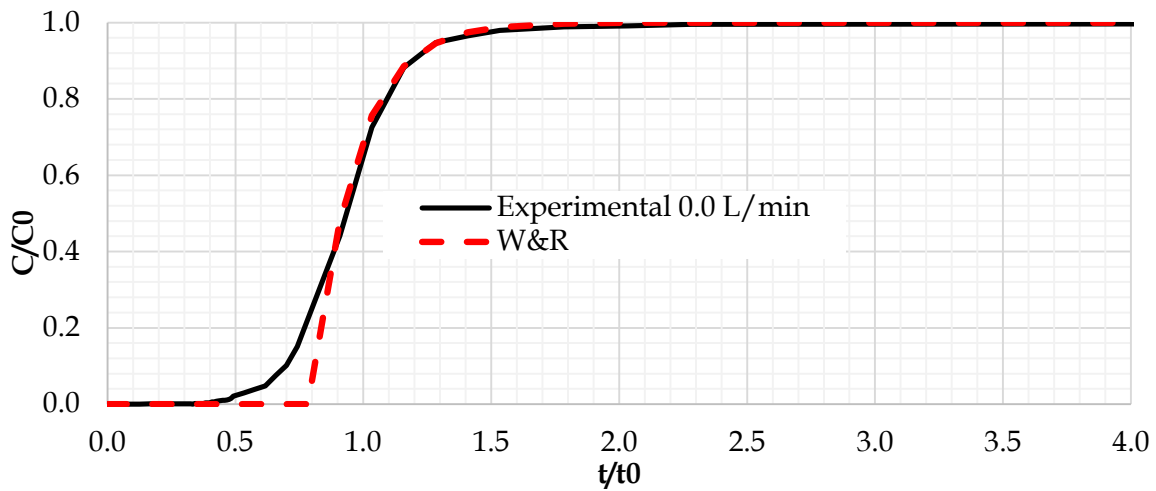


Figura 6.25. Curvas generadas por el modelo de Wolf & Resnick y en laboratorio, caudal de 0.0 L/min.

La tabla 6.5 muestra el porcentaje de volumen desplazado dentro del filtro a diferentes caudales de aire.

Tabla 6.5. Volúmenes que ocupa el aire en el reactor.

Q_{aire}	Volumen en el reactor
L/min	%
5.00	45.2
2.00	7.2
1.00	1.8
0.50	0.5
0.00	0.0

Comparando las tablas 6.4 y 6.5 se puede apreciar que una parte importante de los volúmenes muertos en el reactor son causados por el volumen que ocupan las burbujas. A mayores caudales de observan mayores volúmenes muertos.

6.2.8 Remoción del colorante

En la figura 6.26 se muestra que el colorante se incorporó al influente cuando la biopelícula presentó estabilidad al caudal de aire de 2 L/min (día 95). Después de añadir el colorante aumenta la remoción al 45 %, disminuyendo unos días más tarde hasta estabilizarse entre 28 y 30 %. Dicha remoción alta puede corresponder a un proceso de adsorción en la biopelícula que no necesariamente es atribuible a remoción biológica. La eliminación del colorante aumentó con la disminución del oxígeno disuelto y la eliminación máxima del color (40 %) se logró con 0.5 L/min de aire y una concentración de oxígeno disuelto no detectable. Como se ha mencionado anteriormente, en condiciones anaerobias la información obtenida no se considera confiable.

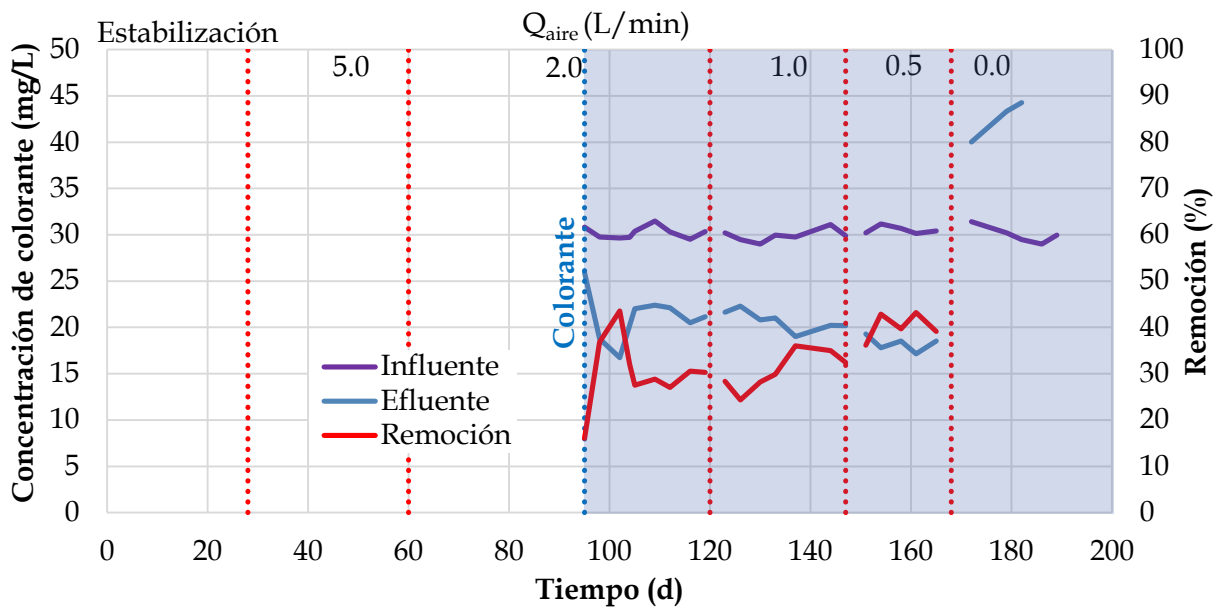


Figura 6.26. Concentración de colorante en el periodo experimental.

Al dosificarse el colorante aumentan los SST en el efluente de manera importante (ver figura 6.15) y, al disminuir el caudal de aire, los SST en el efluente disminuyen paulatinamente, comprobando la toxicidad del colorante.

La remoción de colorante aumentó al disminuir el suministro de aire hasta que las condiciones anaerobias (potencial Redox mucho menor que cero) provocaron turbiedad que no permitió la determinación fotométrica del colorante. De acuerdo con la literatura (van der Zee y Villaverde, 2005), la mejor remoción de colorante se alcanza bajo condiciones anaerobias. Al disminuir la concentración de OD mejora la remoción porque el espesor de la zona aerobia de la biopelícula disminuye, por lo que los microorganismos en la zona anaerobia (fondo de los poros del tezontle) obtienen mayor acceso a los nutrientes y al colorante.

6.3 Resumen de resultados

En la presente investigación se evaluó el comportamiento de la biomasa en un filtro biológico aerado a escala laboratorio, en torno a la remoción del colorante azo Azul Directo 2. El filtro empacado con tezontle se operó bajo diferentes caudales de aire manteniendo una carga orgánica constante de 6 gDQO/m²·d (1.75 kgDQO/m³·d) durante todo el periodo experimental y una misma concentración de colorante (30 mg/L) a partir del día 95. La tabla 7.1 muestra, de manera resumida, las características operacionales y las tasas de remoción de DQO, nitrógeno amoniacal, fósforo de ortofosfatos y color, así como el TRC y el potencial redox para cada concentración de oxígeno disuelto.

Se estima que los subproductos generados por la ruptura del enlace azo fueron mineralizados en la zona aerobia de la biopelícula, sin embargo, no fue posible cuantificarlos. Estos mecanismos se encuentran ampliamente comentados en el trabajo de Cobos-Becerra (2013).

Tabla 6.6. Tabla resumen.

	Q _{aire} (L/min)	OD (mg/L)	Remociones				TRC (d)	Poten. Redox (mV)
			DQO (%)	N-NH ₄ (%)	P-PO ₄ (%)	Colorante (%)		
Sin colorante	5.0	6.5-7.5	81	42	40	-	5.0	-
	2.0	3.0-4.5	83	79	17	-	4.5	123
Con colorante	2.0	3.0-4.2	69	41	23	30	3.5	97
	1.0	0.6-1.5	69	13	36	31	3.0	54
	0.5	0.0-0.5	46	8	7	40	2.5	-31
	0.0	0	44	ND	ND	ND	3.5	-439

ND: No Disponible, TRC: Tiempo de Retención Celular

7. CONCLUSIONES

Se confirma la hipótesis de la investigación, ya que la remoción de colorante aumenta de 30 a 40 % al disminuir el flujo de aire de 2.0 a 0.5 L/min, lo que comprueba que el colorante se puede degradar a pesar del suministro de aire y se deduce (con base en las remociones) la existencia de regiones anaerobias en la biopelícula capaz de romper los dobles enlaces de la unión azo del colorante. Cabe mencionar que la máxima remoción de colorante (cuando el flujo de aire de 0.5 L/min) se observa bajo condiciones micro-aerobias indicando que el oxígeno suministrado fue consumido con una rapidez superior al suministro.

La adición de colorante afecta negativamente la remoción de DQO, que bajó de 83 % a 69 %, cuando el flujo de aire fue de 2 L/min y comprueba la toxicidad del colorante.

La remoción de nitrógeno amoniacal disminuye al disminuir la concentración de oxígeno disuelto e incrementa ligeramente cuando el colorante se añade por primera vez. Continúa disminuyendo junto con la concentración de oxígeno disuelto hasta valores despreciables cuando el suministro de aire se reduce a 0.5 L/min. De acuerdo con la bibliografía, los procesos de nitrificación fueron nulos al suspender completamente el suministro de aire.

Al adicionar el colorante la remoción de DQO alcanza un valor máximo de 69 % con flujo de aire de 2 y 1 L/min, bajó a 46 % con flujo de aire de 0.5 L/min y llegó a un mínimo en 0.0 L/min de aireación.

La máxima remoción de DQO y de N-NH₄ se dio con un flujo de aire de 2 L/min sin adición de colorante. Las remociones más bajas se dieron con la más baja aireación de 0.5 L/min (OD no detectable).

Se comprobó que el comportamiento hidráulico del reactor cambia paulatinamente de completamente mezclado a flujo pistón con la disminución del flujo de aire. Al aumentar el flujo de aire en el sistema, se propicia una mayor turbulencia y aumenta el volumen muerto.

El tiempo de retención celular (TRC) varía desde 5.0 días con la máxima aeración de 5.0 L/min de aire y disminuye paulatinamente con la reducción del caudal de aire hasta 2.5 d con un caudal de aire de 0.5 L/min. Bajo condiciones anaerobias el tiempo de retención celular fue de 3.5 d.

El potencial redox disminuyó conjuntamente con la concentración de oxígeno disuelto, desde 123 mV con 5 L/min de aire hasta -439 mV sin suministro de aire indicando claros procesos anaerobios en el reactor.

No se observa una tendencia clara de la remoción de fosfatos con respecto al caudal de aire. Los valores fluctúan entre 7 y 40 % cuando el reactor se alimentó con el máximo caudal de aire y cuando se suspendió completamente la aireación.

Para la degradación del agua residual con colorante, los resultados muestran que una cantidad baja de oxígeno favorece el proceso.

8. REFERENCIAS

- AKITA K., YOSHIDA F. 1973. Gas holdup and volumetric mass transfer coefficient in bubble columns. *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development*, 12 (1): 76-80.
- AOI, Y., MIYOSHI, T., OKAMOTO, T., TSUNEDA, S., HIRATA, A., KITAYAMA, A., y NAGAMUNE, T. (2000). Microbial ecology of nitrifying bacteria in wastewater treatment process examined by fluorescence in situ hybridization. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90(3), 234-240.
- ÁLVAREZ, A., (2006). Filtración combinada anaerobia para el tratamiento de aguas residuales municipales. Tesis de Licenciatura, *Instituto de Ingeniería, UNAM*.
- BANDALA, E.R., PELAEZ, M.A., GARCIA-LOPEZ, A.J., SALGADO, M. MOELLER, G. (2008). Photocatalytic decolorization of synthetic and real textile wastewater containing benzidine-based azo dyes. *Chemical Engineering Processes* 47(2): 169-176.
- BLENKINSOPP, S. A., y COSTERTON, J. W. (1991). Understanding bacterial biofilms. *Trends in Biotechnology*, 9(1), 138-143.
- BOLLER, M., GUJER, W., TSUCHI, M. (1994). Parameters affecting nitrifying biofilm reactors. *Water Science and Technology*. 29(10-11): 1-11.
- BRAME, J., y GRIGGS, C. (2016). Surface Area Analysis Using the Brunauer-Emmett-Teller (BET) Method: Standard Operating Procedure Series: SOP-C (No. ERDC/EL-SR-16-3). *US Army Engineer Research and Development Center-Environmental Laboratory Vicksburg United States*.
- CASSIDY, M. B., LEE, H., y TREVORS, J. T. (1996). Environmental applications of immobilized microbial cells: a review. *Journal of Industrial Microbiology*, 16(2), 79-101.
- CARRAND, G., CAPON, B., RASCONI, A., y BRENNER, R. (1990). Elimination of carbonaceous and nitrogenous pollutants by a twin-stage fixed growth process. *Water Science and Technology*, 22(1-2), 261-272.

- ÇEÇEN, F., GONENÇ, I.E. (1994). Nitrogen removal characteristics of nitrification and denitrification filters. *Water Science and Technology*. 29(10-11): 409-416.
- CERVANTES, F., DOS SANTOS, A., BISSCHOPS, A. (2007). Advanced biological treatment processes for industrial wastewaters. Closing process water cycles and product recovery in textile industry: perspective for biological treatment. *IWA Publishing*, London, UK.
- CHANG, J. S., CHOU, C., LIN, Y. G., LIN, P. J., HO, J. Y., HU, TL. (2001). Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by pseudomonas Luteola. *Water Research*. 35(12): 2841-2850.
- CHANG, J. S., y KUO, T. S. (2000). Kinetics of bacterial decolorization of azo dye with escherichia coli NO3. *Bioresource Technology*, 75(2), 107-111.
- CHEN, S, LING., J, BLANCHETON, J-P. (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering* 34(3): 179-197.
- COATES, D. F. (1973). *Fundamentos de mecánica de rocas*. Litoprint.
- COBOS-BECERRA, Y-L. (2013). Filtración biológica de aguas residuales conteniendo colorantes azo. Tesis doctoral. *Universidad Nacional Autónoma de México*.
- COHEN Y., (2001). Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology*. 77, 257-274.
- DEBARBADILLO, C., ROGALLA, F., TARALLO, S., y BOLTZ, J. P. (2010). Factors affecting the design and operation of biologically active filters. *Proceedings of the Water Environment Federation*, 2010 (7), 567-596.
- DECKWER W. D., SCHUMPE A. (1993). Improved Tools for bubble column reactor design and scale-up. *Chemical Engineering Process*. 48 (5): 889-911.
- DE FEO, G. (2007). Carbon and nitrogen removal from low-strength domestic wastewater with a two-stage submerged biological filter. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 42(5), 641-647.
- DOS SANTOS, A.B., CERVANTES, F.J., VAN LIER, J.B. (2007). Review paper on current technologies for decolorization of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technology* 98(12): 2369-2385.
- ELMITWALLI, T.A., VAN DUN, M., BRUNING, H., ZEEMAN, G., LETTINGA, G. (2000). The role of filter media in removing suspended and colloidal particles in an anaerobic reactor treating domestic sewage. *Bioresource Technology*. 72(3): 235-242.
- FARABEGOLI, G., CARUCCI, A., GANDOLFO, G., ROLLE, E., VIOTTI, P. (2003). Experimental study on carbon removal in biological aerated filters. *Water Science and Technology*. 48(11-12):235-42.
- FARABEGOLI, G., CHIAVOLA, A., y ROLLE, E. (2009). The biological aerated filter (BAF) as alternative treatment for domestic sewage. Optimization of plant performance. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1), 1126-1132.
- FENG, Y., YU, Y., DUAN, Q., TAN, J., y ZHAO, C. (2010). The characteristic research of ammonium removal in grain-slag biological aerated filter (BAF). *Desalination*, 263(1), 146-150.
- FITZPATRICK C.S.B. (1998). Media properties and their effect on filter performance and backwashing. *Water Science and Technology*. 38(6): 105-111.
- FLEMMING, H.C., WINGENDER (2001). Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs) Part L Structural and ecological aspects. *Water Science Technology*, 43(6): 1-8

- FLORES-COTERA L., GARCÍA-SALAS S. (2005). Gas holdup, foaming and oxygen transfer in a jet loop bioreactor with artificial foaming media and yeast culture. *Journal of Biotechnology*. 116(4): 387-396.
- GALACTION A., CASCAVAL D., ONISCU C., TURNEA M. (2004). Prediction of oxygen mass transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeasts and fungus broths. *Biochemical Engineering Journal*. 20(1): 85-94.
- GARCÍA-OCHOA F., GÓMEZ E., SANTOS V., MERCHUK J. (2010). Oxygen uptake rate in microbial processes: An overview. *Biochemical Engineering Journal*. 49(3):289-307.
- GARCÍA-OCHOA F., GÓMEZ E. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances*. 27(2): 153-176.
- GIESEKE, A., PURKHOLD, U., WAGNER, M., AMANN, R., y SCHRAMM, A. (2001). Community structure and activity dynamics of nitrifying bacteria in a phosphate-removing biofilm. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(3), 1351-1362.
- GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ L.V., ESCAMILLA-SILVA EM. Reactive red azo dye degradation in a UASB bioreactor: mechanism and kinetics. *Engineering in Life Sciences* 2009; 9:311-6.
- GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S. MILLÁN, T. GONZÁLEZ-BARCELÓ, Ó. (2007). Biological aerated filtration of municipal wastewater using a low-cost filtration media. *Water Science and Technology*. 55(7): 255-262.
- GONZÁLEZ-MARTINEZ, S., y WILDERER, P. A. (1991). Phosphate removal in a biofilm reactor. *Water Science and Technology*, 23(7-9), 1405-1415.
- HA, J. (2006). Nitrogen and phosphorus removal in biological aerated filters (BAFs).
- HAN, D. W., YUN, H. J., y KIM, D. J. (2001). Autotrophic nitrification and denitrification characteristics of an upflow biological aerated filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76(11), 1112-1116.
- HASAN H., ABDULLAH S., KAMARUDIN S. Y KOFLI N., (2009). A review on the design criteria of biological aerated filter for COD, ammonia and manganese removal in drinking water treatment, *The Institution of Engineers, Malaysia*. 70 (4), pp. 25- 33.
- HART, F. L., y GUPTA, S. K. (1978). Hydraulic analysis of model treatment units. *Journal of the Environmental Engineering Division*, 104(4), 785-798.
- HOSSEINI KOUPAIE, E., ALAVI MOGHADDAM, M.R., HASHEMI S.H. (2013). Evaluation of integrated anaerobic/ aerobic fixed-bed sequencing batch biofilm reactor for decolorization and biodegradation of azo dye Acid Red 18: Comparison of using two types of packing media. *Bioresource Technology*. 127, 415-421.
- HUMBY, M.S., FITZPATRICK, C.B.S. (1996). Attrition of granular filter media during backwashing with combined air and water. *Water Research*. 30(2): 291-294.
- IPCC (2005), Intergovernmental Panel on Climate Change. Good practice guidance for land use, land-use change and forestry. *World Meteorological Organization (WMO), United Nations Environmental Program UNEP*.
- IWAI, S., KITAO, T. (1994). Wastewater treatment with microbial films. *Techonomic Publishing Co., EEUU*.
- JADHAV S.U, JADHAV M.U, KAGALKAR A.N, GOVINDWAR S.P. (2008) Decolorization of Brilliant Blue G dye mediated by degradation of the microbial consortium of *Galactomyces geotrichum* and *Bacillus* sp. *J. Chin Institute of Chemistry Eng*; 39:563-70.
- JIANG, H., BISHOP, P.L. (1994). Aerobic biodegradation of azo dyes in biofilms. *Water Science and Technology*. 29(10-11): 525-530.

- KOLOT, F. B. (1988). *Immobilized microbial systems*. RE Krieger Pub. Co.
- KOREN, D. W., GOULD, W. D., Y BEDARD, P. (2000). Biological removal of ammonia and nitrate from simulated mine and mill effluents. *Hydrometallurgy*, 56(2), 127-144.
- LAZAROVA V. y MANEN J. (1994). Advances in biofilm aerobic reactors ensuring effective biofilm activity control. *Water Science and Technology*. 29(10-11): 319-327.
- LESSARD, P., y BIHAN, Y. L. (2003). Fixed film processes. *The handbook of water and wastewater microbiology* (Eds.: D. Mara and N. Horan). Academic Press, USA, 317-336.
- MANN A., MENDOZA-ESPINOSA L., STEPHENSON T. (1998). A comparison of floating and sunken media biological aerated filters for nitrification. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 72(3): 273-279.
- MARMOLEJO S., (1986). Tratamiento de aguas de desecho de la industria del nixtamal en un reactor anaerobio empacado, Tesis de maestría, Instituto de Ingeniería, UNAM.
- MARTINS, S. C. S., MARTINS, C. M., FIÚZA, L. M. C. G., y SANTAELLA, S. T. (2013). Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater. *African Journal of Biotechnology*, 12(28).
- MELÓ L. F., VIEIRA M. J. (1999). Physical stability and biological activity of biofilms under turbulent flow and low substrate concentration. *Bioprocess Engineering*, 20, 363-368.
- MENDOZA-ESPINOZA L., STEPHENSON T. (1999). A review of biological aerated filters (BAFs) for wastewater treatment. *Environmental Engineering Science*. 16(3): 201-216.
- MILLÁN SALAZAR T., (2005). Filtración biológica aerada de aguas residuales en un lecho profundo, Tesis de maestría, Instituto de Ingeniería, UNAM.
- CENTER FOR BIOFILM ENGINEERING, Montana State University, Webpage, 2016. <http://www.biofilm.montana.edu/node/2390>
- MOORE R., QUARMBY J., STEPHENSON T., (2001). The effects of media size on the performance of biological aerated filters. *Water Research*. 35(10): 2514-2522.
- MORAVEJI M.K., MOHSENZADEH E., FAKHARI M. E., DAVARNEJAD R. (2012). Effects of surface active agents on hydrodynamics and mass transfer characteristics in a split-cylinder airlift bioreactor with packed bed. *Chemical Engineering Research and Design*. 90(7): 899-905.
- MOOSVI S., KHER X., MADAMWAR D., (2007) Isolation, characterization and decolorization of textile dyes by a mixed bacterial consortium JW-2. *Dyes Pigments* 74:723-9.
- MUÑOZ, A., Y GONZÁLEZ, S. (2009). REMOCIÓN BIOLÓGICA DE FÓSFORO: CONDICIONES DE OPERACIÓN. Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México DF.
- NICOLELLA, C., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., y HEIJNEN, J. J. (1999). Identification of mass transfer parameters in three-phase biofilm reactors. *Chemical Engineering Science*, 54(15), 3143-3152.
- NICOLELLA, C., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN J.J. (2000). Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *J. Biotechnology*, 80, 1-33.
- NIKAKHTARI H., HILL G. (2005). Hydrodynamic and oxygen mass transfer in an external loop airlift bioreactor with a packed bed. *Biochemical Engineering Journal*. 27(2): 138-145.
- NOTERMANS S., DORMANS J.A.M.A., y MEAD G.C. (1991). Contribution of surface attachment to the establishment of microorganisms in food processing plants: A review. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, Vol. 5, Iss. 1-2.

- OJEDA, R.L., BUITRON, M.G. (2001). Selección del medio de soporte para un reactor SBR anaerobio/aerobio. *Memorias IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*. 10 al 14 septiembre, Veracruz, Ver., México.
- OKABE, S., KURODA H., WATANABE Y. (1998). Significance of biofilm structure on transport of inert particulates into biofilms. *Wat. Sci. Tech.* 38-8/9, 163-170.
- OSORIO, F., HONTORIA, E. (2001). Optimization of bed material height in a submerged biological aerated filter. *Journal of Environmental Engineering*. 127(11): 974-978.
- OSORIO F. Y HONTORIA E., (2006). Study of the influence of backwashing intensity in biofilm systems to determine the captured solids removal for modeling purposes, *Environmental Engineering Science*, 23, (5), 780-787.
- OUYANG, C.F., CHIOU, R.J., LIN, C.T. (2000). The characteristics of nitrogen removal by the biofilter system. *Water Science and Technology*. 42(12): 137-147.
- PANSWAD, T., TECHOVANICH, A., ANOTAI, J. (2001). Comparison of dye wastewater treatment by normal and anoxic + anaerobic/aerobic SBR activated sludge processes. *Water Science and Technology*. 43(2): 355-362.
- PEARCE, C.L, LLOYD, J.R., GUTHRIE, J.T. (2003). The removal of color from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. *Dyes and Pigments*. 58(3): 179-196.
- PIÑA MONDRAGÓN S. (2007). Decoloración biológica del colorante azul directo 2 en un filtro anaerobio/aerobio, Tesis de maestría, *Instituto de Ingeniería, UNAM*.
- PONCIN J., LE CLOIREC C. Y MARTIN G. (1984) Etude cinétique de la chloration de la méthylamine par l'hypochlorite de sodium en milieu aqueux dilué kinetic studies on the chlorination of methylamine by sodium hypochlorite in dilute aqueous medium, *Environmental Technology Letters*, 5:1-11, 263-274
- PUJOL R., HAMON M., KANDEL X., LEMMEL H., (1994). Biofilters: Flexible, reliable biological reactors. *Water Science and Technology*. 29(10-11): 33-38.
- QIU, L., y MA, J. (2005). A novel approach to remove nitrogen in a biological aerobic filter (BAF). *Environmental Technology*, 26(8), 923-930.
- QIU, L., MA, J., y ZHANG, L. (2007). Characteristics and utilization of biologically aerated filter backwashed sludge. *Desalination*, 208(1-3), 73-80.
- QURESHI, F. M., BADAR, U., y AHMED, N. (2001). Biosorption of copper by a bacterial biofilm on a flexible polyvinyl chloride conduit. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 4349-4352.
- RAMÍREZ OYANGUREN, P., y ALEJANO MONGE, L. R. (2004). *Mecánica de rocas: Fundamentos e ingeniería de taludes* (No. 727). Red DESIR.
- RAMALHO P.A., SCHOLZE H., CARDOSO M.H., RAMALHO M.T., OLIVEIRA-CAMPOS A.M. (2002). Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by *Candida zeylanoides*. *Enzyme MicrobTechnology*; 31:848-54.
- RIJNAARTS, H. H., NORDE, W., LYKLEMA, J., y ZEHNDER, A. J. (1999). DLVO and steric contributions to bacterial deposition in media of different ionic strengths. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14(1), 179-195.
- ROGALLA F., BADARD M., HANSEN F. y DANSHOLM P., (1992). Upscaling a compact nitrogen removal process. *Water Science and Technology*. 26(5-6): 1067-1076.
- SANTEGOEDS, C. M., MUYZER, G., y DE BEER, D. (1998). Biofilm dynamics studied with microsensors and molecular techniques. *Water Science and Technology*, 37(4-5), 125-129.

- SARATALE R.G., SARATALE G.D., CHANG J.S. y GOVINDWAR S.P. (2009). Enhanced decolorization and biodegradation of textile azo dye Scarlet R by using developed microbial consortium-GR. *Bioresource Technology*; 100:2493-500.
- SARATALE R.G., SARATALE G.D., CHANG J.S. y GOVINDWAR S.P. (2010). Decolorization and biodegradation of reactive dyes and dye wastewater by a developed bacterial consortium. *Biodegradation*, 21:999-1015.
- SARATALE R.G., SARATALE G.D., CHANG J.S., y GOVINDWAR S.P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. *Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineering*. 42(1): 138-157.
- SCHRAMM A., LARSEN L. H., REVSBECH N. P., RAMSING N. B., AMANN R., y SCHLEIFER K. H. (1996). Structure and function of a nitrifying biofilm as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(12), 4641-4647.
- SEKOULOV, I. Y OLES, T., (1993). Multiple uses of filter units in wastewater treatment. Proceeding of Euro. Water filtration Congress: Ostend, March 1993, pp. 2109-2120.
- SENTHILNATHAN, P. R., y GANCZARCZYK, J. J. (1990). Application of biomass carriers in activated sludge process. *Wastewater Treatment by Immobilized Cells*, 103-141.
- SHEPHERD, R. G. (1989). Correlations of permeability and grain size. *Groundwater*, 27(5), 633.
- SHIONO, K., y TEIXEIRA, E. C. (2000). Turbulent characteristics in a baffled contact tank. *Journal of Hydraulic Research*, 38(6), 403-416.
- SIMPSON, D. R. (2008). Biofilm processes in biologically active carbon water purification. *Water Research*, 42(12), 2839-2848.
- SHOW K.Y. y TAY J.H. (1999). Influence of support media on biomass growth and retention in anaerobic filters. *Water Research*. 33(6): 1471-1481.
- SOLIS M., SOLIS A., PEREZ H., MANJARREZ N. y FLORES M., (2012). Microbial decolouration of azo dyes: a review. *Process Biochemistry*. 42(12): 1723-1748.
- STAGG, K. G., ZIENKIEWICZ, O. C., y ORTÍZ, J. M. R. (1970). *Mecánica de rocas en la ingeniería práctica*. Blumé.
- STENSEL, H. D., y REIBER, S. (1983). Industrial wastewater treatment with a new biological fixed-film system. *Environmental Progress*, 2(2), 110-115.
- STOODLEY P., LEWANDOWSKI Z., BOYLE J. D., LAPPIN-SCOTT H. (1999). Structural deformations of bacterial biofilms caused by short-term fluctuations in fluid shear: An in situ investigation of biofilm rheology. *Biotechnology Bioengineering*, 65-1, 83-92.
- TAMPION, J. y TAMPION, M. D. (1987). *Immobilized cells: principles and applications* (Vol. 5). Cambridge University Press.
- TEIXEIRA, E. C., RAUEN, W. B., FONSECA, I., y FIGUEIREDO, I. (2016). Experimental testing of water disinfection models under varying hydraulic and kinetic conditions. *Water Environment Research*, 88(6), 521-530.
- TERAI, H., y MORI, T. (1975). Studies on phosphorylation coupled with denitrification and aerobic respiration in *Pseudomonas denitrificans*. *Journal of Plant Research*, 88(3), 231-244.
- TIZPA, P., CHENARI, R. J., FARD, M. K., y MACHADO, S. L. (2015). ANN prediction of some geotechnical properties of soil from their index parameters. *Arabian Journal of Geosciences*, 8(5), 2911

- THOMAS, A. (2015). Comparison of Biological Aerated Filter (BAF) performance using two granular sunken media at low organic and hydraulic loadings (Doctoral dissertation, Virginia Tech).
- VADILLO-RODRIGUEZ, V., BUSSCHER, H. J., VAN DER MEI, H. C., DE VRIES, J., y NORDE, W. (2005). Role of lactobacillus cell surface hydrophobicity as probed by AFM in adhesion to surfaces at low and high ionic strength. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 41(1), 33-41.
- VALDIVIA SOTO, C. A., (2005). Tratamiento de aguas residuales municipales utilizando tres diferentes medios de soporte en lechos empacados, Tesis de doctorado, Instituto de Ingeniería, UNAM.
- VALDIVIA SOTO, C.A. (1998). Filtración combinada en lechos de tezontle para el tratamiento de aguas residuales. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- VAN DEN BERG, L., y KENNEDY, K. J. (1981). Support materials for stationary fixed film reactors for high-rate methanogenic fermentations. *Biotech. Letters*, 3(4), 165-170.
- VAN DER ZEE, F. P., y VILLAVERDE, S. (2005). Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes – a short review of bioreactor studies. *Water research*, 39(8), 1425-1440.
- VARGAS, T. P., CASTELLANOS, R. J. Z., MUÑOZ-RAMOS, J. J., SÁNCHEZ, G. P.; TIJERINA, CH. L; LÓPEZ, R. R. M.; MARTÍNEZ, S. C. Y OJODEAGUA, A. J. L. (2008). Efecto del tamaño de partícula sobre algunas propiedades físicas del tezontle de Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México*. 34(3):323-331.
- WILLMOTT N.J., (1997) The use of bacteria-polymer composites for the removal of colour from reactive dye effluents. PhD thesis, UK: University of Leeds.
- WIMPENNY, J., MANZ, W., y SZEWZYK, U. (2000). Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(5), 661-671.
- WU J., KIM K.S., SUNG N.C., KIM C.H., LEE Y.C., (2009). Isolation and characterization of *Shewanella oneidensis* WL-7 capable of decolorizing azo dye Reactive Black 5. *Journal of General Applied Microbiology*, 55:51-5.
- WUHRMANN, K., MECHSNER, K. L., y KAPPELER, T. H. (1980). Investigation on rate – Determining factors in the microbial reduction of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 9(4), 325-338.
- YANG Q., LI C., LI H., LI Y., YU N., (2009) Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. *Biochemical Engineering Journal*; 43:225-30.
- YEMENDZHIEV H., ALEXIEVA Z., KRASTANOV A., (2009) Decolorization of synthetic dye Reactive Blue 4 by mycelial culture of white-rot fungi *Trametes versicolor* 1. *Biotechnol Biotec Eq*; 23:1337-9.
- YOO, E. S., LIBRA, J., y ADRIAN, L. (2001). Mechanism of decolorization of azo dyes in anaerobic mixed culture. *Journal of Environmental Engineering*, 127(9), 844-849.
- ZHANG, T. C., FU, Y. C., y BISHOP, P. L. (1994). Competition in biofilms. *Water Science and Technology*, 29(10-11), 263-270.
- ZHANG, S. B., QIU, L. P., y LI, H. L. (2011). Study on nitrite accumulation in biological aerated filter treating municipal wastewater. In *Applied Mechanics and Materials* (Vol. 90, pp. 2960-2964). Trans Tech Publications.
- ZOLLINGER, H. (1987) *Color Chemistry Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*, VCH Publishers, New York pp. 92-102.

9. ANEXOS

9.1 Anexo 1. Cálculo del agua residual

Relación de concentración del ARS VS DQO diaria deseada para influente			
Carga orgánica superficial necesaria	6.00	gDQO/m²*d	
Concentración necesaria	3,556.58	mgDQO/L	
Compuesto	Cantidad (mg/L)	Concentración (mg/L)	
Maltodextrina	1,651.58	1,065.54	mgDQO/L
Proteína vegetal hidrolizada	4,826.41	2,491.05	mgDQO/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	720.00	154.29	como N
K ₂ HPO ₄	336.00	80.00	como P
MgSO ₄ .7H ₂ O	162.50	0.00	
FeSO ₄ .7H ₂ O	130.00	0.00	
NaHCO ₃	2,100.00	480.00	como CaCO ₃
Solución de micronutrientes (1 ml/L)	B, Zn, Cu, Mn, Mo, Co, Al, Ni (0.5 g/L) <i>Kim et al. 2007, Tay et al. 2001</i>		
		Ya con colorante	
Compuesto		20.00	Vol bidón
Maltodextrina		33.03	g/20L
Proteína vegetal hidrolizada		96.53	g/20L
(NH ₄) ₂ SO ₄		14.40	g/20L
K ₂ HPO ₄		6.72	g/20L
MgSO ₄ .7H ₂ O		3.25	g/20L
FeSO ₄ .7H ₂ O		2.60	g/20L
NaHCO ₃		42.00	g/20L
Solución de micronutrientes (1 ml/L)			

9.2 Anexo 2. Cálculo de caudales de alimentación

Bombeando (5 min cada 15 min)				
	Q		C	
Bidón	18.75	mL/min	3,556.58	mg/L
Agua	82.67	mL/min	0.00	mg/L
Total	101.42	mL/min	657.55	mg/L
Sin bombear (10 min cada 15 min)				
	Q		C	
Bidón	0.00	mL/min	3,556.58	mg/L
Agua	82.67	mL/min	0.00	mg/L
Total	82.67	mL/min	0.00	mg/L
	Q		C	
15 min	1,333.74	mL	219.18	mg/L
hora	5,334.97	mL/h	219.18	mg/L
día	128,039.32	mL/d	219.18	mg/L
	128.04	L/d	219.18	mg/L
2 días	256.08	L/2d	219.18	mg/L

9.3 Anexo 3. Cálculo del influente del colorante

Cantidad de colorante		
Concentración	30.000	mg/L
Q diario=	128.039	L/día
Vol de Bidón=	5.000	L
Tiempo de bidón=	3.000	días
Cant Colorante en Bidón	11.524	g/3días
Cant Colorante en Bidón	2.305	g/L
Colorante por día=	3,841.180	mg/día
	3.841	g/día
T de stock colorante	78.101	días
Q de Bomba =	1.667	L/día
	1.157	mL/min
Q agua limpia =	82.666	mL/min
Q A. Limpia nuevo =	81.509	mL/min
	117.37	L/día

9.4 Anexo 4. Cálculo del TRC

$$TRC (d) = \frac{NK_{biopelícula}}{NK_{retrolavado}/d + NK_{efluente}/d}$$

Día	Fecha	Q RL (L)	NK (mg NK/L)			NK (mg NK/día)			TRC (d)	TRH (h)
			Retrolavado	Efluente	Piedras	Retrolavado	Efluente	Piedras		
0	12/ago	Aireación de 5 L/min y sin colorante								
11	23/ago	15.00	26.51	1.00	106.84	397.60	73.17	1,948.93	4.14	3.5
19	31/ago	19.25	14.51	1.00	116.42	279.38	73.17	2,123.66	6.02	3.5
25	06/sep	16.30	14.70	1.00	99.47	239.61	73.17	1,814.52	5.80	3.5
		Aireación de 2 L/min y sin colorante			305.53	73.17	1,962.37	5.32		
32	13/sep	17.35	15.17	1.00	106.84	263.14	73.17	1,948.93	5.80	3.5
39	20/sep	15.00	24.08	1.00	121.58	361.20	128.04	2,217.75	4.53	2.0
47	28/sep	8.50	70.09	1.00	170.58	595.79	128.04	3,111.58	4.30	2.0
60	11/oct	16.00	44.05	1.00	182.74	704.85	128.04	3,333.36	4.00	2.0
		Aireación de 2 L/min y con colorante			481.25	114.32	2,652.91	4.66		
66	17/oct	11.00	66.78	1.00	227.31	734.58	128.04	4,146.55	4.81	2.0
74	25/oct	14.50	62.02	1.00	232.47	899.29	128.04	4,240.63	4.13	2.0
81	01/nov	12.00	74.48	1.00	229.89	893.76	128.04	4,193.59	4.10	2.0
88	08/nov	13.50	67.76	1.00	263.79	914.76	128.04	4,811.88	4.61	2.0
		Aireación de 2 L/min y con colorante			860.60	128.04	4,348.16	4.41		
95	15/nov	17.60	72.66	1.91	332.31	1,278.81	244.97	6,061.90	3.98	2.0
102	22/nov	15.00	85.07	3.83	341.89	1,276.10	489.95	6,236.64	3.53	2.0
109	29/nov	19.00	79.75	3.55	318.31	1,515.31	454.10	5,806.52	2.95	2.0
116	06/dic	16.00	102.76	4.39	344.10	1,644.16	561.65	6,276.96	2.85	2.0
		Aireación de 1 L/min y con colorante			1,428.60	437.67	6,095.50	3.33		
123	13/dic	16.00	116.90	2.24	285.89	1,870.40	286.80	5,215.11	2.42	2.0
130	20/dic	16.50	84.75	1.97	224.19	1,398.32	251.84	4,089.56	2.48	2.0
137	27/dic	17.00	84.37	2.10	271.16	1,434.35	268.87	4,946.29	2.90	2.0
144	03/ene	17.00	86.10	2.19	282.95	1,463.70	280.82	5,161.35	2.96	2.0
		Aireación de 0.5 L/min y con colorante			1,541.69	272.08	4,853.08	2.69		
151	10/ene	17.00	82.27	3.55	260.84	1,398.65	454.10	4,758.12	2.57	2.0
158	17/ene	17.00	86.52	2.38	243.16	1,470.84	304.72	4,435.53	2.50	2.0
165	24/ene	17.00	67.67	3.36	213.68	1,150.33	430.20	3,897.89	2.47	2.0
		Aireación de 0.0 L/min y con colorante								
172	31/ene	17.50	34.07	9.57	338.21	596.17	1,224.90	6,169.43	3.39	2.0
179	07/feb	17.50	33.13	8.96	358.84	579.83	1,147.22	6,545.78	3.79	2.0
186	14/feb	17.50	31.97	6.91	337.47	559.42	884.31	6,155.99	4.26	2.0