

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA MAESTRIA EN INGENIERIA – INGENIÉRIA AMBIENTAL

Remoción de materia orgánica de aguas desflemadas en un sistema biológico de lecho empacado

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

PRESENTA: I. Q. FLOR ESPERANZA LÓPEZ AGUIRRE

TUTOR (ES) PRINCIPAL(ES) M. EN I. MA. RAFAELA GUTIÉRREZ LARA

MÉXICO, D. F. ENERO 2013

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Simón González Martínez

Secretario: Dr. Enrique César Váldez

Vocal: M.I. María Rafaela Gutiérrez Lara

1er Suplente: Dra. Petia Mijaylova Nacheva

2do. Suplente: Dr. Oscar González Barceló

Laboratorio 301, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM

TUTOR DE TESIS:

M. I. Ma. Rafaela Gutiérrez Lara

FIRMA





¿Qué es el hombre dentro de la naturaleza? Nada con respecto al infinito. Todo con respecto a la nada. Un intermedio entre la nada y el todo.

Blaise Pascal





AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a la División de Estudios de Posgrado de la Facultada de Ingeniería y a la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de conseguir mis estudios de maestría.

A la M. I. Ma. Rafaela Gutiérrez Lara, por la dirección y apoyo a la realización de este trabajo.

A la participación como miembros del jurado de la Dra. Petia Mijaylova Nacheva y los Doctores Simón González Martínez, Oscar González Barceló y Enrique César Valdez, por su valiosa colaboración en este trabajo.

Al Dr. Alfonso Durán Moreno por el apoyo brindado para conseguir el agua problema y los recursos para hacer la experimentación.

A la QFB Isabel Arce por todo su apoyo brindado a lo largo de toda la experimentación.

A Benjamín Ramírez y al Sr. Hilario por todas las veces que me ayudaron en el laboratorio.

A Ulises Rojas Zamora y Alfredo Medina por todas las veces que me ayudaron a cargar mis bidones al laboratorio.

A Eric Carrillo, Marcos Poblete, Luis Jorge Mota, Jessi Ceballos, Claudia Espinoza, Gonzalo López y a Paola Ivonne Ortiz por su ayuda durante la experimentación, muchas gracias.





DEDICATORIAS

A mis abuelos que en este momento se encuentran en un lugar mejor, gracias por todas sus enseñanzas y por seguir cuidándome donde estén.

A mí madre Leticia y a mí hermano Alberto, por ser la mejor familia que Dios me pudo brindar.

A mí tías Geny, Aracely, Rebeca y a mí tío Luis por ser un pilar en mí vida, por sus consejos y sus buenos deseos, los quiero mucho.

A todos mis primos y primas que hacen que esta vida sea increíble.

A Pao, Gaby y Romina por estar ahí siempre que las necesito.

A mis amigos de la maestría por todos los buenos momentos que pasamos juntos, los quiero mucho: Ulises, Candi, Alfredo, Julio, Nancy, Marisol, Rubí, Bety Casasola, Miriam, Raúl y Luis.

A la bandita del lab, Marcos, Eric, Mota, Gaby Mariscal, Jessi, Claus, Gonzalo, Nora, Benji, Lalo, Esme, gracias por hacer más ligera mí estadía en la maestría.

A Marco Rubio, por estar en cada momento a mí lado de este período, gracias por todo, sabes que te amo.





RESUMEN

En la actualidad la industria de la refinación genera diversos tipos de efluentes como son las aguas amargas y desflemadas, en las que encontramos contaminantes tales como compuestos fenólicos, azufrados, nitrogenados, entre otros, los cuales son perjudiciales para el ser humano y el ambiente. Por lo que se han generado diversas tecnologías para el tratamiento de éste tipo de efluentes, algunos ejemplos de éstas son los sistemas biológicos, en específico los de biopelícula adherida como los reactores biológicos de lecho empacado. Para dar solución a esta problemática se realizó este trabajo experimental para determinar la remoción de la materia orgánica presente en el agua desflemada mediante un reactor biológico aerobio de lecho empacado variando la carga orgánica.

El estudio se dividió en seis etapas. En la primera etapa se llevó acabo la aclimatación al agua desflemada por parte de los microorganismos por medio de la estrategia de las eficiencias fijas (Moreno, 2006) la cual consiste en aumentos puntuales en los volúmenes del agua problema en el influente. La aclimatación se realizó en un reactor discontinuo con un volumen de 3 litros, aireación constante, temperatura ambiente y pH 7.5 \pm 0.5.

Una vez aclimatados los microorganismos, siguió la segunda etapa en la cual se realizaron tres cinéticas de remoción para determinar si los mismos ya estaban aclimatados al agua problema. Los parámetros que se determinaron fueron la DQO, el COD y la concentración del fenol a lo largo del tiempo. Se obtuvieron remociones de más del 99 por ciento para el fenol, del 90 por ciento para DQO y del 88 por ciento para el COD.

Ya aclimatados los microorganismos se continuo con la tercera etapa en la que se inoculo el soporte en el reactor biológico aerobio de lecho empacado con un volumen de lodos de 1.5 L. La cuarta etapa consistió en aplicar la primera carga orgánica volumétrica 1.14 g/m³d. En la quinta etapa se incrementó la carga orgánica a 1.44 g/m³d. En la sexta y última etapa se aplicó una carga de 2.11 g/m³d.





Al aplicar la carga orgánica volumétrica de 1.14 g/m³d se obtuvieron remociones de más del 99% de fenol, disminuciones del 80% de la DQO y el COD. En el caso del nitrógeno amoniacal se obtuvieron concentraciones de 69 mg/L. Con la segunda carga orgánica de 1.4 g/m³d se obtuvieron remociones del 99% en el caso del fenol, disminuciones del 76% para la DQO y del 78% para el COD, así como 61 mg/L de nitrógeno amoniacal. Aplicando la tercera carga orgánica se obtuvieron remociones del 69% para la DQO y el COD, en el caso del nitrógeno amoniacal se obtuvieron del fenol, disminuciones del 99% en el caso del fenol, disminuciones del 69% para la DQO y el COD, en el caso del nitrógeno amoniacal se obtuvo una concentración de 64.4 mg/L.

Finalmente se observó que el sistema se comporta mejor a cargas orgánicas bajas que a altas, debido a que a menor carga orgánica volumétrica se tiene un tiempo de residencia hidráulico mayor, lo que permite que los microorganismos tengan más tiempo para remover la materia orgánica presente en las aguas desflemadas.





ABSTRAC

Actually refinery field generate several types of effluents like sour water and stripped sour water; that may content contaminants such as phenolic, sulfur and nitrogen compounds, which prove to be detrimental for the both, human being and environment. That is the main reason why there have been generated several technologies for effluent treatments, some examples are biological systems specifically fixed biofilm like packed bed reactor. To solve the problem, this experimental work has been made for the determination of organic matter present is stripped sour water treated in packed bed reactor, varying the organic charge.

This research was splitted in 6 stage. Firs, microorganisms were adapted to stripped sour water by fixed efficiency strategy (Moreno, 2006). Which consist in punctual increments of water sample volumes in influent, adaptation was made in a batch reactor, constant aeration, environment temperature and pH 7.5 \pm 0.5.

Once microorganisms get adapted second stage started, in this stage started, in this stage there were made three removal reaction kinetics to determined are COD, DOC and phenol concentration along time removal results were of 99% for phenol compounds, 90% for COD and 88% for DOC.

After know that microorganisms were adapted correctly third stage started where aerobic biological reactor was inoculated with a sludge volume of 1.5 liters. Fourth stage was in the application of first volumetric change 1.14 g/m³d, in fifth stage organic charge was increased to 1.44 g/m³d, final stage consisted in an organic charge of 2.1 g/m³d.

After apply volumetric organic charge of 1.14 removal results were of 99% of phenolic compounds and reduction of 80% of COD and DOC. For the specific case of ammonia nitrogen there was gotten a concentration of 69 ppm. For second organic charge of 1.4 there were obtained removal of 99% for phenolic compounds, and reductions of 76% of COD and 78% for DOC, plus 61 ppm of ammonia nitrogen, after third organic charge there were obtained removal of 99% for phenolic compounds, compounds, and 69% of COD and 69 of DOC, plus 64.4 ppm of ammonia nitrogen.





Finally it was observed that system behavior is proper under lower organic charges than in upper due to, that a lower volumetric charge, hydraulic residence time is bigger which leave organisms enough time to organic matter removal in stripped sour water.





ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRAC	8
ÍNDICE	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
CAPÍTULO 1	
1. PROBLEMATICA	
1.1 Justificación	
CAPÍTULO 2	
2. MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes	
2.2 Procesos biológicos	
2.2.3. Los microorganismos en los procesos biológicos	
2. 3. Cinética de las reacciones de oxidación	
2.4. Reactores Biológicos Aerobios de Lecho Empacado	
2.5. Soporte	
2.6. Biopelícula	
2.6.1. Etapas en el proceso de la formación de la biopelícula	
2.6.2. Composición microbiológica de la biopelícula	
2.6.3. Propiedades de la biopelícula	
2.7. Toxicidad del fenol y efectos en la salud humana	
2.7.1. Biodegradación de fenol	
2.8. Transformaciones del Nitrógeno	45
2.8.1 Nitrificación	
2.8. 2. Desnitrificación	
2.9. Transformaciones del Azufre	
CAPÍTULO 3	51
3. METODOLOGÍA	51
3.1 Caracterización del agua desflemada	





<i>3.2 Adaptación de los microorganismos a las aguas desflemadas en un reactor discontinuo</i>
3.2.1 Cinética de remoción
3.3. Caracterización del soporte 55
3.4. Montaje, inoculación, arranque y pruebas en el RBLE
3.4.1 Montaje del RBLE 56
3.4.2 Arranque, inoculación y pruebas en el RBLE
3.5 Cuantificación de la biomasa en el soporte 60
3.5 Operación del sistema a tres diferentes cargas orgánicas volumétricas (COV) 62
CAPITULO 4
4. RESULTADOS
4.1 Caracterización del agua desflemada 64
4.1.1 Decantación de aguas desflemadas65
<i>4.2 Adaptación de los microorganismos a las aguas desflemadas en un reactor discontinuo</i> 66
4.2.1 Cinética de remoción 69
4.2.1.1 Cinética de la remoción de fenol 69
4.2.1.2 Cinética de la disminución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)
4.2.1.3 Cinética de la disminución del Carbono Orgánico Disuelto (COD)
4.3. Caracterización del soporte77
<i>4.4 Arranque y Pruebas en el RBLE</i> 77
4.5. Cuantificación de la biomasa
4.5.1 Sólidos Suspendidos Totales
4.6. Evaluación del sistema aplicando tres diferentes cargas orgánicas volumétricas 82
4.6.1. Comportamiento del pH 82
4.6.2. Seguimiento de la concentración del fenol durante el experimento82
4.5.3. Comportamiento de la DQO83
4.5.4. Comportamiento del COD84
4.5.5. Comportamiento del nitrógeno86





4.5.6 Comportamiento del azufre a las tres diferentes cargas or	gánicas volumétricas
CAPITULO 5	
5. CONCLUSIONES	
REFERENCIAS	91
ANEXOS	99





ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2. 1. Ventajas y desventajas de los Reactores Biológicos Aerobios de Lecho Empacado 30
Tabla 2. 2. Características del soporte para una mejor adhesión
Tabla 2. 3 Valores de letalidad del fenol para diferentes tipos de organismos. 41
Tabla 3. 1. Parámetros fisicoquímicos utilizados en la caracterización del agua desflemada 52
Tabla 3. 2. Composición del medio mineral (Lazcano, 2004)
Tabla 3. 3 Características del soporte (Orantes, 2001).
Tabla 3. 4 Dimensiones del reactor 57
Tabla 3. 5 Dimensiones de la placa de acrílico57
Tabla 3. 7. Condiciones de operación del RBLE 60
Tabla 3. 8. Parámetros analizados en cada TRH62
Tabla 3. 9. Parámetros analizados en cada TRH63
Tabla 4. 1 Caracterización de las aguas desflemadas
Tabla 4. 2 Grasas y Aceites antes y después del proceso de decantación
Tabla 4. 3 . SST y SSV presentes en el reactor66
Tabla 4. 4. Concentraciones iniciales de los parámetros considerados en la cinética. 69
Tabla 4. 5. Constantes cinéticas de remoción de fenol. 71
Tabla 4. 6 Valores reportados para la constante de remoción de fenol
Tabla 4. 7. Constantes cinéticas de la disminución de la DQO.
Tabla 4. 8. Constantes cinéticas de la disminución del COD. 74
Tabla 4. 9. Constantes cinéticas obtenidas para el fenol, COD y DQO
Tabla 4. 10 Valores reportados para las constantes cinéticas para la DQO y el COD77
Tabla 4. 11 Características físicas del soporte78
Tabla 4. 12. Sólidos suspedidos totales a tres diferentes cargas orgánicas





ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2. 1. Diagrama de proceso para la obtención de aguas desflemadas (Manual de Operación
de la Sección de Aguas Amargas, 2005)22
Figura 2. 2 Linearización de datos experimentales para determinación de constantes
experimentales
Figura 2. 3. Formación de la biopelícula (Centro de Ingeniería de la biopelícula MSU-Bozeman) 36
Figura 2. 4 Representación de la biopelícula y transformación de la materia orgánica. (Welter <i>et</i>
<i>al.,</i> 2005)
Figura 2. 5. Ruta de degradación de compuestos aromáticos por vía catecol (Eweis et al, 1998)43
Figura 2. 6 Vías metabólicas para la degradación del fenol, (Barrios et al., 2006)
Figura 2. 7. Ciclo biológico del nitrógeno (Singleton, 2004)45
Figura 2. 8. Ciclo biológico del azufre (Roberson y Kuenen, 1992)
Figura 3. 1 Metodología propuesta
Figura 3. 2. Poliflex de 3/8" utilizado como soporte55
Figura 3. 3. Esquema de las placas de acrílico y del RBLE58
Figura 3. 4 Reactor biológico de lecho empacado en continuo59
Figura 4. 1 Sistema de decantación
Figura 4. 1 Sistema de decantación65 Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación67
Figura 4. 1 Sistema de decantación
Figura 4. 1 Sistema de decantación65Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación67Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas70Figura 4. 6 Linearización de la cinética de remoción para el fenol70Figura 4. 7 Seguimiento de la DQO en las corridas73Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO73Figura 4. 9 Linearización de la cinética de la disminución de DQO74
Figura 4. 1 Sistema de decantación65Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación67Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas70Figura 4. 6 Linearización de la cinética de remoción para el fenol.70Figura 4. 7 Seguimiento de las corridas73Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO74Figura 4. 9 Linearización de la cinética de la disminución de DQO74Figura 4. 10. Linearización de la cinética de de disminución del COD.75
Figura 4. 1 Sistema de decantación65Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación67Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas70Figura 4. 6 Linearización de la cinética de remoción para el fenol70Figura 4. 7 Seguimiento de la DQO en las corridas73Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO73Figura 4. 9 Linearización de la cinética de la disminución de DQO74Figura 4. 10. Linearización de las remoción de fenol ya la disminución de DQO y CDO76
Figura 4. 1 Sistema de decantación65Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación67Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas.70Figura 4. 6 Linearización de la cinética de remoción para el fenol.70Figura 4. 7 Seguimiento de la cinética de la disminución de DQO73Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO74Figura 4. 10. Linearización de la cinética de disminución del COD.75Figura 4. 11. Comparación de las remoción de fenol ya la disminución de DQO y CDO76Figura 4. 12 Estabilización del RBLE con agua desflemada.79
Figura 4. 1 Sistema de decantación65Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación67Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación68Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas70Figura 4. 6 Linearización de la cinética de remoción para el fenol.70Figura 4. 7 Seguimiento de la cinética de remoción para el fenol.73Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO73Figura 4. 9 Linearización de la cinética de la disminución de DQO74Figura 4. 10. Linearización de la cinética de disminución del COD.75Figura 4. 11. Comparación de las remoción de fenol ya la disminución de DQO y CDO76Figura 4. 12 Estabilización del RBLE con agua desflemada.79Figura 4. 13. Soporte a las tres COV.80
Figura 4. 1 Sistema de decantación 65 Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación 67 Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación 68 Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación 68 Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas 70 Figura 4. 6 Linearización de la cinética de remoción para el fenol. 70 Figura 4. 7 Seguimiento de la cinética de la disminución de DQO 73 Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO 74 Figura 4. 10. Linearización de la cinética de disminución del COD. 75 Figura 4. 11. Comparación de las remoción de fenol ya la disminución de DQO y CDO 76 Figura 4. 12 Estabilización del RBLE con agua desflemada. 79 Figura 4. 13. Soporte a las tres COV. 80 Figura 4. 14. Comportamiento de los SST a diferentes cargas orgánicas 81





Figura 4. 16. Comportamiento del fenol a diferentes Cargas Orgánicas	. 83
Figura 4. 17. Comportamiento de la DQO a tres diferentes Cargas Orgánicas Volumétricas	. 84
Figura 4. 18. Comportamiento del COD a tres diferentes Cargas Orgánicas Volumétricas	. 85
Figura 4. 19. Comportamiento del nitrógeno a tres diferentes cargas orgánicas volumétricas	. 86
Figura 4. 20. Comportamiento de los sulfatos a tres diferentes cargas orgánicas.	. 88
Figura 4. 21. Comportamiento de los sulfuros a diferentes cargas orgánicas.	. 89





CAPÍTULO 1

1. PROBLEMATICA

1.1 Justificación

En México, la industria de la refinación del petróleo y del gas natural es de gran importancia para el desarrollo del país, no sólo por los recursos naturales que aporta, sino por el porcentaje con el que contribuye al Producto Interno Bruto, ya que para este año se espera que sea de un 10% del total. PEMEX es de las pocas empresas petroleras del mundo que desarrolla toda la cadena productiva de la industria; desde la exploración, hasta la distribución y comercialización de productos finales. Pero a la par de la generación de los diferentes productos benéficos para el desarrollo del país, se da la formación de otro tipo de sustancias que son perjudiciales para el ambiente y los seres humanos como son los fenoles, hidrocarburos, compuestos nitrogenados y azufrados, entre otros, generándose diferentes emisiones de estos contaminantes, ya sea al agua, aire o suelo. Cabe mencionar, que en el caso específico de la contaminación del agua, PEMEX redujo en un 1.3% del consumo de agua cruda en el año 2011 respecto al año 2010, pero aun así se consumieron 14.8 millones de metros cúbicos/mes (Memoria de Labores-PEMEX, 2011) por lo que es necesario buscar diferentes soluciones para el tratamiento de aguas residuales de este tipo de industrias.

Durante el proceso de refinación del petróleo se da la formación de diferentes compuestos, entre ellos se tienen los compuestos fenólicos, nitrógeno en sus diferentes formas, entre otros. Un ejemplo de las aguas contaminadas con estas sustancias son las conocidas como aguas amargas. Dichas aguas son tratadas en la planta de tratamiento de aguas amargas, la cual tiene como función principal la remoción de ácido sulfhídrico (H₂S) y de amonio (NH₃), mediante agotamiento, utilizando vapor de baja presión mediante un rehervidor tipo termosifón como medio de calentamiento del agua amarga, que proviene de la recolección de las plantas antes mencionadas, donde se obtienen como productos gas ácido





amoniacal por el domo o zona de rectificación y aguas desflemadas en los fondos o zona de agotamiento (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005). Estas aguas contienen alta cantidad de compuestos fenólicos y otras sustancias las cuales son muy perjudiciales para el ambiente.

Se han propuesto diferentes métodos para el tratamiento de las aguas residuales industriales, como por ejemplo los procesos de oxidación avanzada (oxidación catalítica, Fentón, fotoquímico, entre otros), la oxidación química no catalítica (O₂, O₃, aire), fisicoquímicos (coagulación, adsorción), físicos (filtración, microfiltración), biológicos (aerobios y anaerobios) (Khan et al., 2009. Hai et al., 2007). Los procesos biológicos son comúnmente utilizados para el tratamiento de aguas residuales, ya que en muchos de los casos se ha podido llegar a la mineralización (formación de dióxido de carbono y agua) y los sistemas biológicos pueden ser diseñados de manera óptima para hacer frente a las aguas residuales según sus especificaciones (Sipma et al., 2010). La gran mayoría de las aguas residuales industriales se pueden degradar por medio del empleo de microorganismos. Sin embargo existen más de 70,000 compuestos químicos orgánicos sintéticos (compuestos xenobioticos), muchos de los cuales son muy difíciles de degradar por procesos biológicos. Generalmente, cuando alguno de estos compuestos se encuentran en una agua residual industrial, el tratamiento biológico presenta problemas debido a la poca biodegradabilidad y los efectos tóxicos que estos pueden tener sobre la biomasa (y en general sobre los seres vivos). Sin embargo, en la mayoría de los casos, los compuestos orgánicos pueden ser biodegradables pero la degradación es muy lenta, y son requeridas condiciones ambientales muy específicas (pH, potencial redox, temperatura, etc.). La posibilidad de que un compuesto tóxico se degradado depende principalmente de la presencia de un microorganismo especial especializado y de la aclimatación (Aelion et al., 1989).

 En la actualidad existen diferentes tipos de reactores para realizar los procesos biológicos, como los de biomasa en suspensión conocidos como lodos activados, los de lecho fijo (RBLF), cuando la biomasa se encuentra adherida a un soporte fijo; y cuando la biopelícula está adherida a un soporte que se





encuentra en movimiento, estos últimos son nombrados reactores biológicos de lecho móvil (RBLM) (Metcalf y Eddy, 2003).

Los reactores de biopelícula adherida presentan ciertas ventajas sobre los otros sistemas de tratamiento, como menor volumen, tiempos de retención hidráulicos pequeños, menor cantidad de lodos generados respecto a lodos activados convencionales, entre otras (Adav *et al.*, 2008). La biopelícula está constituida por comunidades bacterianas englobadas en una matriz de exopolisacáridos producida por bacterias adheridas a una superficie, la cual debe ser inerte, para que no genere productos indeseables (Costerton, 1999).

Los soportes deben de tener ciertas características para que la biopelícula se adhiera a este y se tenga mayor cantidad de microorganismos en el medio, con la finalidad de obtener remociones más altas. El soporte debe cumplir con lo siguiente: no reaccionar con el medio en el que se encuentre, ser de baja densidad, tener facilidad de transporte, entre otras. Por lo que, es importante seleccionar al soporte adecuado para poder mejorar el rendimiento del sistema que se esté manejando.

En el caso específico del fenol, este pertenece a los compuestos aromáticos, su estructura general es de un anillo bencénico, el cual le da una mayor estabilidad y reactividad química, se puede obtener de los compuestos: hidroperóxido de cumeno, ácido benzoico y cloro benceno (Barrios *et al.*, 2006). El fenol también se conoce como: ácido carbólico, ácido fenólico o alcohol fenílico. Los compuestos fenólicos tienen alta toxicidad a bajas concentraciones, es por ello que es considerado un compuesto prioritario para diferentes organismos como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidad de América (EPA) (dos Santos *et al.*, 2009; Borghei y Hosseini, 2004), y la Comunidad Europea (CE). Es por esta razón, que se deben implementar tecnologías para eliminar este tipo de compuestos contenidos en las aguas residuales, lo anterior con la finalidad de evitar lo más posible el uso de agua de pozo.

En el presente trabajo, se propone un tratamiento de aguas residuales desflemadas, mediante un reactor biológico de lecho empacado.





1.2 OBJETIVOS

• Objetivo general

Establecer las mejores condiciones de operación para la remoción de la materia orgánica de las aguas desflemadas por medio de un Reactor Biológico de Lecho Empacado (RBLE).

• Objetivos particulares

- Acondicionar un consorcio mixto de microorganismos para la remoción de contaminantes presentes en el agua desflemada.
- > Inocular el soporte plástico con microorganismos en el RBLE.

1.3 ALCANCES

- Montaje y operación de un reactor de lecho empacado (RBLE) a nivel laboratorio para el tratamiento de aguas desflemadas provenientes de una refinería.
- Aplicar tres diferentes cargas orgánicas volumétricas para la remoción de materia orgánica





CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la actualidad, uno de los retos a los que se enfrenta la humanidad es seguir viviendo en un ambiente sano, sin dañar el mismo, el cual es importante para sobrevivir en este planeta. En el caso específico del agua, esta se encuentra distribuida en una manera desigual. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), de la cantidad total de agua presente en la Tierra, 97.5% es agua salada, la cual no se puede utilizar a menos que se le aplique un tratamiento. El otro 2.5 % es generalmente agua dulce, pero la mayor parte (70%) se encuentra como hielo polar y en los glaciares, el resto se encuentra como humedad del suelo o en los acuíferos subterráneos. En general, el agua dulce que está disponible para su uso es aproximadamente del 1% o el 0.007% del total del agua en la Tierra. Una de las prioridades de los seres humanos es la búsqueda de agua limpia, fresca y potable. Hoy por hoy, lo anterior es muy complicado, debido a la alta demanda de agua por parte de las industrias, así como los métodos modernos de actividades agrícolas y domésticas; lo que provoca que se generen altos volúmenes de agua residual, conteniendo grandes cantidades de contaminantes que son perjudiciales tanto para la vida humana, como la animal (Gupta et al., 2009). Según el Informe de Desarrollo de la Organización de las Naciones Unidas, unos 2 millones de toneladas de desechos son arrojados diariamente dentro de los cuerpos receptores, incluyendo residuos industriales, químicos, humanos y desechos agrícolas (fertilizantes, pesticidas y plaguicidas) (ONU, 2003). Dentro de los desechos petroquímicos se tienen los compuestos fenólicos, los cuales son altamente perjudiciales para el ambiente (Banerjee y Ghoshal, 2011).

Un ejemplo de aguas de refinería que contengan estos compuestos, son las aguas que se generan mediante la eliminación de los compuestos que dan el carácter amargo al gas y al petróleo, el ácido sulfhídrico y el amoniaco, dichos efluentes son conocidos con el nombre de aguas amargas. Este tipo de aguas provienen de un proceso donde se separan los dos contaminantes antes mencionados de los





hidrocarburos. Además, contienen fenoles, restos de hidrocarburos y compuestos de azufre de bajo peso molecular.

Las aguas amargas son generadas cuando el vapor absorbe fracciones de hidrocarburos durante la destilación, en la regeneración de catalizador o cuando el vapor absorbe ácido sulfhídrico durante el proceso de hidrotratamiento. También pueden ser generadas por la adición de agua a los procesos de absorción de amoniaco. Los compuestos fenólicos son generados debido a las reacciones entre el vapor y los compuestos cíclicos de los hidrocarburos (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005).

El proceso de desorción de aguas amargas está constituido principalmente de un tanque acumulador de aguas amargas donde se remueven los hidrocarburos aceitosos. Esta separación se lleva a cabo mediante la diferencia de densidades que permite que se forme una interfase aceite-agua, donde la fase pesada son los aceites. En el tanque acumulador se tienen dos mamparas delimitadas por tres cámaras en donde se realizan tres actividades principales:

- Cámara 1: Sección de Separación Agua-Aceite
- Cámara 2: Sección de Aceite Separada
- Cámara 3: Sección de Agua Amarga

Las aguas amargas procedentes de la cámara 3, libres de aceite, son enviadas al precalentador de carga/fondos de agotamiento, donde es precalentada en contracorriente con agua desflemada que sale de los fondos de la sección agotadora, hasta una temperatura de 100°C para, posteriormente, es alimentada al agotador de agua amarga y fluye hacia el fondo de la torre (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005).

El agua amarga que sale del precalentador de carga/fondos del agotador es alimentada al agotador de agua amarga, para mantener los niveles de concentración de los componentes H_2S y NH_3 . Las variables que se deben





controlar en el agotador son la presión de operación y las temperaturas de domos y de fondos (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005).

El reflujo del agotador de agua amarga se lleva acabo utilizando un sistema de recirculación, con la finalidad de mantener en el domo la menor cantidad de humedad en el gas ácido. La salida de los fondos del agotador pasara por la coraza del precalentador de Carga/Fondos. Finalmente, el agua desflemada se integra en el cabezal de agua desflemada y se enviara como corriente de rechazo a las desaladoras de crudo y/o se enviará a tratamiento en la planta de tratamiento primario de efluentes de la refinería en estudio (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005).

El agua desflemada procedente del fondo agotador se hace pasar a través del enfriador de fondos del agotador a contracorriente con agua de enfriamiento para, de esta forma, reducir la temperatura del agua de 68 a 40°C. En la Figura 2.1 se muestra el diagrama de proceso para la obtención de aguas desflemadas (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005).



Figura 2. 1. Diagrama de proceso para la obtención de aguas desflemadas (Manual de Operación de la Sección de Aguas Amargas, 2005)

Se han diseñado diferentes tipos de tecnologías para el tratamiento de este tipo de aguas residuales, como los procesos físicos, químicos, la combinación de ambos (fisicoquímicos) y los procesos biológicos (Moussavi *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2009).





Estos últimos son utilizados en la actualidad para el tratamiento de aguas residuales, buscando que los procesos biológicos ocupen poco espacio, sean fáciles de operar y los costos sean bajos, tanto en su inversión como en su explotación. Atendiendo a lo anterior, se han desarrollado diferentes tecnologías, como los reactores biológicos de lecho empacado (RBLE) y de lecho móvil (RBLM).

2.2 Procesos biológicos

Los métodos físicos, químicos y biológicos son usados para remover compuestos aromáticos de las aguas residuales industriales. Los procesos físicos y químicos no son recomendables en el caso de la remoción de fenol debido a que no lo remueven completamente y forman intermediarios que son más perjudiciales que los compuestos originales; además de que son tratamientos altamente costosos (Khan *et al.*, 2009; Vidya *et al.*, 2007).

Los tratamientos biológicos son procesos que se prefieren utilizar para el control de la contaminación durante los tratamientos de aguas residuales, debido a que en muchos de los casos llegan a destruir eficazmente los contaminantes de una manera ambientalmente benigna y rentable (Moussavi *et al.*, 2009). Dentro de los procesos biológicos se busca reducir principalmente la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). En los estos procesos los microorganismos utilizan la materia orgánica carbonosa coloidal y disuelta para transformarla en diferentes gases o tejido celular (Metcalf y Eddy, 2003).

 Los microorganismos toman del medio las macromoléculas para poder desarrollarse, degradándolas a sustancias más sencillas, para poder acumular energía, a esto se le conoce como catabolismo. La energía obtenida como adedosina trifosfato (ATP), después es utilizada en el anabolismo, es en este proceso donde los microorganismos sintetizan los componentes celulares necesarios para su crecimiento a partir de los productos intermediarios generados en el catabolismo, utilizando la energía previamente acumulada. El metabolismo es el resultado colectivo de las reacciones catabólicas y anabólicas (Lehninger, 2009).





2.2.1. Biodegradación de compuestos tóxicos por microorganismos

La biodegradación es un proceso, en el cual, los microorganismos tienen la capacidad de utilizar parcial o completamente estos compuestos, como fuente de carbono y energía, degradándolos hasta dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O) logrando la mineralización. La mineralización de un compuesto implica su alteración estructural y la formación de intermediarios metabólicos que pueden servir de elementos estructurales de la célula o de combustible al oxidarse Existen tres tipos de biodegradación:

- Biodegradación primaria: Implica la transformación mínima de un compuesto, obteniendo pequeñas alteraciones en la estructura química del compuesto dando como resultado productos de bajo peso molecular.
- Biodegradación aceptable: Se remueven ciertas propiedades no deseadas del compuesto tales como toxicidad y espumosidad.
- Biodegradación final: El compuesto orgánico es totalmente utilizado por los microorganismos, dando como resultado dióxido de carbono, agua, sales minerales y compuestos inorgánicos; también se conoce como biodegradación última o mineralización.

Este proceso se realiza por medio de enzimas y mecanismos a nivel de membrana que permite la entrada de nutrientes y dependen de varios factores como las características del contaminante, su concentración, los microorganismos presentes, las condiciones geoquímicas y ambientales, entre otras (Ekpo y Udofia, 2008; USEPA 2003).

Entre los microorganismos capaces de crecer a expensas de compuestos aromáticos como fuente de carbono y energía se encuentran muchas bacterias aerobias y anaerobias, algunas levaduras y hongos. Todos estos compuestos asimilan dichos compuestos a través de vías catabólicas que convergen en las rutas centrales del metabolismo.





Los hidrocarburos son un grupo de compuestos abundante y algunos de estos son altamente tóxicos. Se ha demostrado la eficiencia de bacterias del género de las *Pseudomonas*, en la degradación de este tipo de compuestos, generando, por ejemplo, el ácido penoxybenzoico en suelos (Whiteley y Bayley, 2000).

2.2.2 Factores que afectan la biodegradación de la materia orgánica

Existen diferentes factores que afectan la biodegradación de la materia orgánica, a continuación se mencionan algunos de ellos:

• pH

Afecta a los microorganismos y sus enzimas, influyendo tanto en la disociación como en la solubilidad de diversas moléculas y en la disponibilidad de nutrientes (Hambrick *et al.,* 1980). El intervalo más aceptable para el desarrollo de la mayoría de las bacterias heterótrofas y hongos es de entre 6.5 y 8.5 (Eweis *et al.,* 1998 Razo). Luo *et al,* 2005, indican que en el caso especial del fenol, el rango de pH para la degradación óptima es entre 6.0-8.0, así lo presentan los estudios realizados por Shawabkeha, *et al.,* (2007) quienes demostraron que microorganismos como *Klebsiella oxytoca* pueden degradar el fenol en un amplio rango de pH (de 4.0-8.0) siendo el valor óptimo de 6.8.

• Temperatura

Es un factor que afecta el crecimiento, la supervivencia y la actividad metabólica de los microorganismos (Metcalf y Eddy, 2003; Lehninger, 2009), así mismo influye en los cambios estructurales y químicos de los hidrocarburos. La biodegradación por vía aerobia de estos compuestos se da en un rango entre 20-30 °C, si es menor a 20°C, la degradación disminuye, pero si la temperatura aumenta a más de 30°C sin pasar los 40°C, aumenta (Lehninger, 2009). Para el fenol la temperatura óptima que favorece la biodegradación de este compuesto es de 30°C; ya que a ésta temperatura la penetración del fenol hacia la célula es más eficiente (El-Naas *et al.*, 2009).





• Nutrientes

La importancia de los nutrientes recae en el hecho de que son indispensables para el desarrollo y supervivencia de los microorganismos, además de que se hacen necesarios para llevar a cabo procesos de biosíntesis y otras funciones celulares. Aunque cada organismo necesita diferentes nutrientes, en todos los casos se requieren macronutrientes en grandes cantidades (nitrógeno y fósforo), y otros llamados micronutrientes (Ca²⁺,Mg²⁺, Na⁺, K⁺,S²⁻), los cuales se proveen en menor cantidad y en algunas ocasiones sólo son trazas (Madigan *et al.*, 2003; Pardo *et al.*, 2004).

Los nutrientes se asimilan en estados elementales, presentes en el ambiente y por lo tanto, la cantidad presente de estos y el estado de los mismos, son importantes para llevar a cabo un proceso de biodegradación (Metcalf y Eddy, 2003; Schlegel, *1997*).

2.2.3. Los microorganismos en los procesos biológicos

Los procesos biológicos están básicamente relacionados con la utilización de microorganismos y de sus enzimas para el tratamiento de aguas residuales donde la materia orgánica es empleada como fuente de desarrollo (energía y nutrimento) (Cheremisinoff, 1996; Lehninger, 2009).

Las poblaciones microbianas por lo regular son un conglomerado de diferentes géneros y especies de bacterias, hongos y protozoarios.

Con base en la estructura y función de la célula los microorganismos son comúnmente clasificados como: eucariontes, procariontes (Gerardi, 2006; Bitton, 1994). El grupo procarionte es de primera importancia en el tratamiento biológico y son generalmente referidos a una simple bacteria. El grupo eucarionte incluye: plantas, animales y protistas. Los eucariontes más importantes en el tratamiento biológico incluye: son hongos, protozoos, rotíferos y algas (Lehninger *et al.*, 2005).

La bacteria es el organismo procarionte celularmente hablando. Su modo de reproducción más usual es la fisión binaria, una forma de reproducción asexual.





Existen diferentes tipos de bacterias, clasificándolas por medio de su forma, se dividen en tres tipos: esférica, cilíndrica y helicoidal (Schlegel, 1997).

Los protozoarios son células simples. La mayoría de los protozoarios son heterótrofos aerobios, aunque también hay anaerobios. Las bacterias son su alimento, así obtienen energía. Los protozoarios actúan como limpiadores de los efluentes biológicos porque consumen bacterias y materia orgánica particulada. Los rotíferos son aeróbicos, heterótrofos y animales multicelulares. Su nombre se deriva de que tienen cilios rotatorios, los cuales usan para moverse y capturar alimento. Los rotíferos son muy efectivos para consumir bacterias dispersas y floculadas y pequeñas partículas de materia orgánica. Su presencia en el efluente de un tratamiento biológico indica una alta eficiencia en el proceso aerobio biológico para el tratamiento de aguas residuales (Gerardi, 2006).

2. 3. Cinética de las reacciones de oxidación

La cinética química estudia la velocidad a la que se producen las reacciones, es decir, el modo en el que la concentración de algunas especies moleculares varía en función del tiempo. La manera en que las velocidades de reacción cambian en función del tiempo y cómo estas velocidades varían según las concentraciones de reactivos, depende el mecanismo de reacción (Chang, 2005).

Para la determinación de las constantes cinéticas se relaciona la tendencia de decaimiento exponencial de las concentraciones obtenidas en las pruebas con el modelo correspondiente a reacciones de primer orden, ecuación 2.1.

$$C_f = C_i * e^{(-k*t)}$$
 Ecuación 2.1

Donde C_i es la concentración inicial al tiempo cero, C_f es la concentración final, t el tiempo de experimentación y k la constante cinética. Linealizando la ecuación 2.1 queda representada por la ecuación 3.2

$$ln(C_f) = -k * t + ln(C_i) \qquad Ecuación 2.2$$





Graficando la ecuación 2.2, se obtienen los valores de las constantes cinéticas k, ya que está representada por la pendiente m. El signo negativo indica una disminución del parámetro de estudio (Figura 2.2).





2.4. Reactores Biológicos Aerobios de Lecho Empacado

Los reactores de biopelícula adherida son utilizados para el tratamiento de aguas residuales ya que resisten las altas cargas orgánicas presentes en este tipo de aguas (Sudipta, 2010). Existen diferentes tipos de reactores de biopelícula adherida, como los reactores biológicos fluidificados, los biodiscos, los filtros percoladores, reactores biológicos de lecho sumergido, los reactores biológicos de lecho móvil y de lecho empacado (RBLE). En estos se tiene como finalidad la estabilización de materia orgánica, por medio de los microorganismos. Los RBLE, son empacados con un soporte inerte que pueden ser: plásticos, materiales porosos como la cerámica y el vidrio, espuma de poliuretano, matrices de gel como el alcohol polivinilico (PVA), entre otros (Saucedo *et al.,* 2002.; Hsien y Lin, 2005., Jerábková et al., 1999.).

En los reactores biológicos de lecho empacado, las posibilidades del flujo habituales son de manera ascendente o descendente a través del lecho en una sola vez o recirculando el flujo, a cocorriente o contracorriente con el aire (Gómez *et al.,* 2009).





Al irse formando la biopelícula en el soporte, se reducen los espacios libres en el reactor, por lo que aumenta la resistencia al flujo del agua, lo que causa una pérdida de presión en el sistema. Por lo anterior es necesario realizar periódicamente retrolavados en algunos de los reactores biológicos de lecho empacado. Esta operación se puede evitar, si el soporte con el que se trabaja tiene un diámetro mayor a 1.5 cm, aunque como desventaja se tiene la pérdida de superficie de contacto y concentración de biomasa adherida al medio de soporte (Díaz *et al.*, 2003).

El crecimiento de los microorganismos en el soporte, propicia las condiciones aerobias en la superficie de la misma, ya que están en contacto directo con el oxígeno disuelto de la fase líquida, mientras que los que están en la parte interna se encuentran en condiciones anaerobias. Cuando se requiere la eliminación de nitrógeno, una ventaja de los procesos de biopelícula adherida sobre los procesos de lodos en suspensión, es que en los primeros la estructura de la biopelícula, (zona aerobia y otra anaerobia), satisface las necesidades metabólicas de la nitrificación-desnitrificación, mientras que en los segundos sólo se puede nitrificar (Rouse *et al.*, 2007).

El hecho de que en la biopelícula exista una zona en condiciones anaerobias, propicia que ésta pierda adherencia con el soporte y se desprenda, manteniendo de esta forma una regulación automática de la biomasa en función de la carga del contaminante; los sólidos desprendidos son los lodos en exceso que hay que extraer del sistema, por lo que ya no es necesaria una recirculación de estos al reactor (Larrea *et al.,* 2004; Adav *et al.,* 2008; Pozo, 2009; Orantes, 2001).

Los requerimientos de oxígeno y nutrientes son similares a otros procesos biológicos de biomasa en suspensión, los costos de operación de un proceso de empacado son similares a los de lodos activados (Larrea *et al.,* 2004). El ahorro de la reducción de volumen tanto del reactor como del sistema de separación de sólidos y en el sistema de aireación, se compensan con el gasto en el soporte plástico haciendo que los costos también sean similares (Larrea *et al.,* 2004). Se recomienda, que la concentración mínima de oxígeno disuelto (OD) entre 3 a 4 mg





O₂/L para RBLE que operen a altas cargas orgánicas, debido a que el OD se necesita difundir en la biopelícula, por lo tanto se considera un factor limitante en la eficiencia de la operación (Rusten *et al.*, 2006). Las ventajas y desventajas de un sistema biológico de lecho empacado se citan en la Tabla 2. 2 (Hansler, 2008; Adav *et al.*, 2008; Rouse *et al.*, 2007; Rusten *et al.*, 2006; Vanhooren *et al.*, 2002; Dulkadiroglu *et al.*, 2005; Orantes, 2001;Tziotzios *et al.*, 2007).

VENTAJAS	DESVENTAJAS
 Reducción en el tamaño del reactor biológico, debida al empleo del soporte, ya que este proporciona una superficie elevada específica para el crecimiento de la biopelícula. Reducción en el tamaño del sistema de separación de sólidos, puesto que hay una menor concentración de sólidos en suspensión en el reactor Operación del proceso a cargas orgánicas elevadas. Tiempos de retención hidráulicos cortos (4-8 horas) respecto a un tratamiento de lodos activados. Resistencia a choques de altas cargas orgánicas. Proceso menos sensible a variaciones de pH, limitación temporal de nutrientes y a cambios de temperatura. Sistema de fácil implantación especialmente en el rediseño de instalaciones ya existentes. 	 Limitación de difusión de los sustratos y el oxígeno a través de biopelícula, que se vuelve más crítica con el aumento del espesor de la misma. Altos costos operativos asociados con el proceso de aireación. Posible saturación del medio de soporte (dependiendo de la configuración). Caída de presión en el sistema, por la saturación del soporte.

Tabla 2. 1. Ventajas y desventajas de los RBALE.

Este tipo de procesos puede aplicarse tanto en plantas de tratamiento para la biodegradación de materia orgánica, así como la eliminación de nutrientes en aguas residuales urbanas e industriales (Hansler, 2008; Rouse *et al.,* 2007; Larrea, 2004; Pozo, 2009).





2.5. Soporte

El soporte debe asegurar ante todo una retención satisfactoria de microorganismos. Debe ser inerte al ataque de los microorganismos y suficientemente estable para no liberar compuestos capaces de interferir en el agua a tratar. Debe tener una buena resistencia mecánica a la abrasión y una porosidad suficiente para limitar la pérdida de biopelícula por condiciones adversas (choques de carga, cambios de temperatura y pH, entre otros). Los soportes pueden ser materiales naturales como el tezontle o de materiales plásticos como el polietileno, resinas, hule espuma, etcétera (Saucedo *et al*, 2008; Zheng *et al*, 2009; Borghei *et al*, 2004; Wang *et al*, 2009.). Una ventaja de la utilización de soportes plásticos, es que estos permiten conocer con más exactitud el área superficial que se está manejando respecto a los soportes naturales, lo que permite tener una aproximación más exacta de la cantidad de biomasa presente en el reactor biológico de lecho empacado.

Los procesos de biopelícula adherida se caracterizan por la agrupación de bacterias en forma de biopelícula en el soporte contenido en el reactor, es por tanto importante un soporte de elevada superficie específica y de este modo conseguir reducir el volumen del reactor biológico (Larrea *et al,* 2004; Pozo, 2009).

Parámetro	Característica
Carga electrostática del soporte	Debe ser positiva debido a la carga negativa de los microorganismos, y así se puedan atraer mutuamente.
Afinidad por el agua	Esta debe ser baja, para que atraiga eficazmente a los microorganismos formadores de biopelícula.
Porosidad	Los poros deben de ser profundos, debido a esto los microorganismos entran brindándole una mayor estabilidad a la biopelícula.

Tabla 2. 2. Características del soporte para una mejor adhesión (Milla, 2005, Iwai y Kitao, 1994).

Para la elección de los soportes plásticos se debe considerar la geometría y superficie específica de los mismos. Diferentes autores han reportado soportes de





plástico con configuraciones variadas usados en Reactores Biológicos de Lecho Móvil (RBLM) para el tratamiento de aguas residuales estatales como industriales. Wang *et al.*, (2009) utilizaron un soporte de polietileno llamado Bioflow 9® con un área específica de 530 m²/m³ y una densidad de 0.94 g/cm³ de Raushert Co (Wang *et al.*, 2009); en este estudio se lograron remociones de un 86.3% para la demanda química de oxígeno (DQO). Para la reducción del perclorato, obteniendo una reducción completa del mismo a cloruro en un tiempo de contacto de ocho horas se utilizó un soporte de polipropileno en forma de anillos, con un área específica de 354 m²/m³; de Jaeger Products, Inc., Houston Tx (Choi y Silverstein, 2007). Dupla *et al.*, (2006) realizaron una comparación de diferentes soportes en función de su densidad, forma y superficie, para lograr la desnitrificación de aguas saladas a diferentes condiciones de operación, seleccionando el soporte 1A-Cascasde y TriPack; ya que ambas compañías mostraron un nivel de rendimiento similar en términos de la capacidad de desnitrificación resultante.

2.6. Biopelícula

El término biopelícula, hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran en un exopolímero de glicocálix (75%) y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, ya sean animadas e inanimadas (Betancourt *et al.*, 2004; Eighmy *et al.*, 1983). El exopolímero que es producido por los mismos microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos. La estructura de la biopelícula es morfológica y fisiológicamente distinta a la de las bacterias libres, además de que es muy dinámica, ya que su composición y características cambian con el tiempo (Welter *et al.*, 2005; Davies *al.*, 1998). 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 microcolonias contienen canales por los que circulan los nutrientes, metabolitos, y señales químicas que las células secretan en respuesta al aumento de la densidad poblacional y que interfieren en el desarrollo de la biopelícula (Faleiro, 2010).





Actualmente, es bien conocido el sistema de comunicación entre las bacterias por medio de secreción de pequeñas moléculas difusibles. Varios estudios recientes indican que la formación de biopelícula es regulada por la expresión de genes dependientes de la densidad poblacional y controlados por señalización célula a célula en un mecanismo denominado "*quorum sensing*" o "*autoinducción*" (Faleiro, 2010).

En nuestros días el término *autoinducción* se usa para describir el fenómeno en el cual la acumulación de moléculas señales permite a una célula individual percibir el número de bacterias (densidad celular) que tiene a su alrededor por la detección y reacción con estos compuestos, esto es suficiente para que las bacterias inicien la expresión coordinada de genes específicos, lo que implica un cambio en su comportamiento hacia una fase multicelular. Esto ocurre bajo condiciones apropiadas y cuando están en un número que supera un nivel crítico. Este fenómeno también se conoce como comunicación célula-célula y autoinducción (Fuqua y Greenberg, 2002).

Los cambios en el comportamiento resultan en la activación de genes específicos en respuesta a la señal. El propósito del cambio es que la población de bacterias pueda cooperar para explotar el ambiente de formas que no pueden hacer las células individuales (Fuqua y Greenberg, 2002).

En los ambientes naturales existen muchas bacterias que vivien juntas y utilizan varias clases de moléculas señales. Como emplean diferentes lenguajes no necesariamente pueden interactuar con otras bacterias.

Existen dos grandes grupos de señalización por *autoinducción*: la intraespecífica y la interespecífica. Dentro de las señales especie específicas en las bacterias Gram negativas predominan las acilhomoserín lactonas (AHLs) y en las Gram positivas este mecanismo es mayormente mediado por pequeños péptidos (March and Bentley, 2004).

La "*autoinducción*" regula varias funciones tan diversas como la movilidad, expresión de factores de virulencia, esporulación, producción de antibióticos,





intercambio de material genético, además del desarrollo de la biopelícula (Faleiro, 2010).

Aunque la composición de la biopelícula es variable en función del sistema en estudio, en general, el componente mayoritario de la misma es el agua, que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas, la matriz de la biopelícula es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos (Sutherland, 2005). En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas así como diversos productos procedentes de la lisis de las bacterias (Branda *et al.*, 2005).

Se han realizado estudios, utilizando microscopia confocal la cual ha demostrado que la arquitectura de la matriz de la biopelícula no es sólida y presenta canales que permiten el flujo de agua, nutriente y oxígeno incluso hasta las zonas más profundas (Costerton *et al.,* 1994). La existencia de estos canales no evita que dentro de la biopelícula se encuentren diferentes ambientes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Por esta razón, se presentan colonias mixtas de microorganismos, los cuales pueden ser aerobios y anaerobios, esto va a depender del grosor de la biopelícula y el tiempo que el soporte esté sumergido en el medio donde toma el alimento y la fuente de energía (Kim *et al.,* 2010).

2.6.1. Etapas en el proceso de la formación de la biopelícula

La formación de la biopelícula se puede describir en tres etapas:

 Adherencia sobre la superficie. Esta etapa parece estar influenciada por la movilidad de las células. Aunque la movilidad ayuda al proceso no parece ser un requisito esencial, ya que muchas bacterias Gram positivas inmóviles como estafilococos, estrepiticos, entre otros son capaces de formar una biopelícula (Cucarella *et al.*, 2001; Toledo *et al.*, 2001). Los microorganismos, al estar en contacto directo con el agua, toman los elementos necesarios para su desarrollo, los cuales son metabolizados por





difusión molecular. Las fuerzas que reinan son las atracciones electrostáticas y las fuerzas de Van der Walls (Wieasmann, 2007).

- 2. Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de la unión, formando una microcolonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de las colonias en las placas de agar. Esto se debe a que cuando las células están en contacto con el oxígeno y el sustrato, son capaces de crecer a su nivel máximo (Welter *et al.*, 2005).
- 3. Finalmente, algunas bacterias de la matriz de la biopelícula se liberan de la misma para poder colonizar nuevas superficies, además se da la producción de material extracelular lo que facilita la fijación de los microorganismos; cerrando el proceso de desarrollo de formación de la biopelícula. En esta etapa el crecimiento de la biopelícula está en función de la tasa de crecimiento, de la estabilidad de la misma, del contacto con el agua que fluye y de la disponibilidad de nutrientes (Wieasmann, 2007; Faleiro, 2010). Inicialmente se pensó que ese proceso de dispersión, era pasivo y dependiente de las fuerzas de arrastre del medio, pero estudios recientes sugieren que es un proceso activo y estrictamente regulado por las células adheridas (Faleiro, 2010). En la Figura 2.3 se puede observar el esquema de cómo se realiza el crecimiento de la biopelícula.

Así mismo, las condiciones ambientales interfieren en la dispersión de la biopelícula donde se incluyen la disponibilidad de nutrientes, niveles de oxígeno, pH y presencia de determinados compuestos químicos (Goller y Romeo, 2008).

Por medio de los fenómenos de transporte de difusión y convección los nutrientes son transportados a través de la biopelícula. En la biopelícula hay canales por los que corre el oxígeno a través de las capas de la misma, conforme aumenta el grosor de la ésta el oxígeno no se puede difundir hasta las zonas más profundas, por lo que se generas zonas anaerobias. En la Figura 2.4 se muestra una representación de la de biomasa en el soporte (Welter *et al.*, 2005).







Biopelícula Figura 2. 3. Formación de la biopelícula (Centro de Ingeniería de la biopelícula MSU-Bozeman)





2.6.2. Composición microbiológica de la biopelícula

La variedad y la composición de la población microbiana depende de varios factores, como por ejemplo: la carga hidráulica, la carga orgánica, la disponibilidad de oxígeno, sustrato, en qué punto se encuentra el agua residual en el reactor.




Otros parámetros ambientales que contribuyen al desarrollo adecuado de la experimentación, son la temperatura, el pH y la concentración de nutrientes (Metcalf y Eddy, 2003).

En las etapas iniciales de la formación de la biopelícula se desarrollan poblaciones filamentosas, en etapas subsiguientes crecen poblaciones de mayor evolución, incluyendo bacterias nitrificantes junto a protozoarios, rotíferos y otros predadores que se vuelven dominantes.

Cuando el influente tiene una alta carga orgánica, la proporción entre las bacterias gram positivas y gram negativas es muy similar, sin embargo cuando la carga orgánica decrece las bacterias dominantes son menos diversas y predominan las gram negativas. Esto es atribuible a que las bacterias gram positivas no pueden competir con las gram negativas cuando el sustrato orgánico es limitado (Welter, 2005).

En resumen, la sucesión de microorganismos evoluciona de zooflagelados y amebas pequeñas a ciliados bacteriófagos capaces de nadar libremente y luego a ciliados carnívoros, rotíferos y amebas de mayor tamaño (Welter, 2005).

Algunas de las cepas microbianas que han sido reportadas como adecuadas para la degradación del fenol son: *A. eutrophus, B. stearothermophilus, S. setonni, T. cutaneum, Pseudomonas putida, Pseudomonas pictorum, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas cepacia, arthrobacter, Candida tropicales, Pseudomona aerogenosa, Bacillus bevis, Nocardia hydrocarbonoxydans, entre otras, (Vidya et al., 2007).*

2.6.3. Propiedades de la biopelícula

Las propiedades físicas de la biopelícula son factores importantes, que están relacionadas con crecimiento, la forma y la estabilidad mecánica de la misma. Por lo anterior, es necesario conocer dichas propiedades, para que el funcionamiento del reactor sea el más adecuado.





Las propiedades físicas que más repercuten en el crecimiento y cinética de degradación son:

 El espesor. El control del espesor de la biopelícula es muy difícil de lograr, debido al tipo de flujo con el que se esté trabajando (laminar o turbulento). Siendo el espesor un parámetro importante para la optimización de los sistemas de reactores de biomasa adherida (Lazarova y Manem, 1994; Nikov *et al.*, 1999).

Se ha visto que una biopelícula delgada ofrece más ventajas en el tratamiento de aguas residuales, ya que se da mejor el intercambio de nutrientes y de materia orgánica entre el medio y la biopelícula (Lazarova y Manem, 1994). Por otro lado, si se tienen biopelículas con mayor profundidad, se puede llevar a cabo el metabolismo aerobio como el anaerobio a la par, lo que haría más eficiente el proceso. Generalmente, el espesor de las biopelículas puede variar de algunos micrones a más de 1mm (Tyagi y Vemdum, 1990).

• Densidad. Esta depende de la densidad de las células, los exopolímeros, el sustrato, la cantidad de agua y los productos residuales.

Se ha observado, que al analizar estructuras en secciones horizontales, se tiene mayor densidad en las zonas profundas. También, se observó que a cargas orgánicas bajas la densidad de la biopelícula aumenta. La densidad de la biopelícula puede variar entre 30 a 100 mg/cm³ (Tyagi y Vembu, 1990).

 Geometría. Anteriormente se pensaba que las biopelículas eran estructuras planas, homogéneas e independientes del ambiente complejo y dinámico en el cual crecen. Pero, recientemente se ha observado que son matrices poliméricas y tienen en su estructura una heterogeneidad (Kim *et al*, 2010).

Las biopelículas están formadas por una red de biomasa filamentosa, que a menudo presenta forma de panal, misma que ayuda al transporte de masa y que además la vuelve más resistente a las fuerzas cortantes ocasionadas por el flujo de agua (Rodríguez y Bishop, 2007).





La estructura que tenga la biopelícula influye en los mecanismos y la velocidad de transporte de la biopelícula. En cinéticas limitadas por la concentración de sustrato, en algunos casos, se forman biopelículas lisas, en las que decrece la rugosidad después de cubrirse la superficie del medio de soporte (Picioreanu *et al.,* 2000).

Ahora bien, cuando la cantidad de sustrato es suficiente, las bacterias crecen en colonias circulares y la biomasa se expande en todas direcciones. Conforme crece la biopelícula pueden ocurrir dos cosas: si el sustrato no está limitado, las colonias crecerán hasta formar una biopelícula continua, pero si hay carencia de sustrato, el crecimiento de la biopelícula será preferencialmente perpendicular a la superficie del medio de soporte (Picioreanu *et al.,* 2000).

El espesor de la biopelícula depende en gran medida de la disponibilidad de alimento. A este factor se le conoce como carga orgánica y representa la cantidad de alimento, expresada en gramos de material biodegradable, como demanda bioquímica de oxígeno (DBO) o como demanda química de oxígeno (DQO), que se pone a disposición de los microorganismos desarrollada en un metro cuadrado de biopelícula por día. La carga orgánica manera en que se calcula utilizando la ecuación 2.10 (Metcalf y Eddy, 2003):

$$Carga \ orgánica = \frac{Q * S_0}{A_B}$$
 2.10

Donde:

Q= Caudal de agua residual, m³/d S_o= DBO o DQO en la entrada del reactor, g/ m³ A_B= Área superficial de la biopelícula expuesta al crecimiento, m²

Es importante hacer notar que la inmensa mayoría de las bacterias presentes en las biopelículas son heterótrofas y que las bacterias nitrificantes, al ser incapaces de formar biopelículas, se desarrollan y viven dentro de la matriz gelatinosa formada por las bacterias heterótrofas (Evans, 2000). Esto tiene ventajas para las nitrificantes ya que son protegidas y se encuentran dentro de la fuente productora de amonio. La carga orgánica no solamente determina el espesor sino también el





tiempo de retención celular o tiempo de regeneración de la biopelícula. Al aumentar la carga orgánica, los microorganismos se reproducen con mayor rapidez, como lo describe la ecuación de Stover-Kincannon (Hooshyari *et al.*, 2009). Los nutrientes penetran la biopelícula por la parte externa y se difunden hacia el interior con una rapidez que dependerá de los gradientes de concentración entre el interior y el exterior y de la rapidez con la que son consumidos por las diferentes microcapas de bacterias (Lewandowski *et al*, 1994).

Porosidad. Se han analizado secciones verticales de biopelícula, y observado claramente que existen canales de agua que conectan la parte profunda con la fase líquida. A lo largo del tiempo, la biopelícula se vuelve más densa y algunos espacios intersticiales se van llenando, sin embargo siguen existiendo, aberturas hasta el fondo de la misma. Lo anterior, es una de las causas de la formación de dos áreas en la biopelícula, zona aerobia y anaerobia (Evans, 2000).

La porosidad varía de 84-93% en las capas superficiales, y de 67-68% en las capas más profundas de la biopelícula. (Bishop, 1997).

2.7. Toxicidad del fenol y efectos en la salud humana

El fenol puede afectar ecosistemas acuáticos o terrestres debido a su toxicidad y reactividad, por ejemplo este compuesto es letal para los peces a concentraciones de 5-25 mg/L (Contreras *et al*, 2008), lo anterior debido a que el fenol es soluble en agua y puede generar reacciones de condensación y polimerización con un amplio número de compuestos (Roy y Popelier, 2008). La Tabla 2.4 muestra los valores de letalidad del fenol para diferentes tipos de organismos, por lo anterior, se han realizado estudios ecotoxicológicos por parte de diferentes organismos, lo cual ha generado un gran interés en el cuidado para el manejo de este compuesto (USEPA, 2000; Canadian Environmental Protection ACT, 2000, IPCS, 1994; EPA, 2000; Rodríguez y Torres 2001).

En los últimos tiempos, el hombre se ha expuesto con más frecuencia al fenol, ya que está presente en la atmósfera, en donde los niveles ambientales calculados





por la organización Mundial de la Salud son de aproximadamente 1 μ g/m³ (IPC, 1994). Esto provoca que el fenol figure como una sustancia peligrosa para la salud humana, porque es absorbido fácilmente por la piel afectando a órganos como el hígado, riñones, pulmones y mucosa gastrointestinal, donde se desarrollan diferentes patologías, entre las que se encuentran la acidosis metabólica, anorexia, hiperventilación, insuficiencia renal aguda, afecciones al sistema nervioso central, el estado de coma, hasta provocar la muerte, (USEPA, 2000; Agarry *et al.,* 2008).

Tabla 2. 3 Valores de letalidad del fenol para diferentes tipos de organismos (Neuhauser *et al, 1986*; IPCS,1994; EPA, 2000; Rodríguez y Torres, 2001).

Organismo	Ecosistema	Letalidad	Tiempo
Lactuca savita, (lechuga).	Terrestre	¹ 79 mg/kg	5 d
Daphnia Magna, (pulgas de agua).	Acuático	¹ 12 mg/kg	24 h
Eudrilus eugeniae, (lombriz).	Acuático	¹ 188 mg/kg	14 d
Carassius auratus, (pez rojo).	Acuático	² 46 mg/kg	24 h
Humanos	Terrestre	DL_{50} =14-930 mg de fenol/kg de peso	24h

2.7.1. Biodegradación de fenol

Para degradar compuestos aromáticos existen varios mecanismos, como el transporte en la membrana citoplasmática, hidroxilación y escisión del anillo (esto se da por medio de transformaciones metabólicas) (Madigan *et al.*, 2004; Sylvia, 2005). Los aromáticos se oxidan mediante dioxigenesas a cisdihidrodioles, que son inestables y se convierten en catecoles, (Atlas y Bartha, 2005).

La biodegradación de una molécula aromática se lleva a cabo en dos pasos: la activación del anillo y el rompimiento del mismo (Atlas y Bartha, 2005). En la activación ocurre la incorporación del oxígeno molecular al anillo, esto se conoce como dihidroxilación del núcleo aromático y lo llevan a cabo enzimas conocidas

¹ CL₅₀: Concentración letal 50. Es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. El valor de la CL50 se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen de aire normal (miligramos por litro, mg/L).

² DL₅₀: Dosis letal 50 Dosis individual de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal.





como oxigenasas. Las monoxigenasas, características de hongos y otras eucariotas, catalizan la incorporación de un solo átomo de oxígeno para formar un epóxido que puede hidratarse para dar un transdihidrodiol. Las dioxigenasas, en un sólo paso forman un dihidrodiol. Los hidrodioles después se oxidan a derivados dihidroxilados, como los catecoles, que son los precursores del rompimiento del anillo. El catecol puede ser oxidado ya sea por la vía orto para dar el ácido mucónico, o la vía meta que va a dar el semialdehído 2-hidroximucónico, (Eweis, *et al.*, 1998). La Figura 2.5, muestra la vía metabólica de compuestos aromáticos vía catecol.

En el caso específico del fenol, para la escisión del anillo aromático, existen dos mecanismos que dependen de la posición de los grupos fenilo. El primer mecanismo, es la escisión *orto* o ruta del β -cetoadipato, la cual sucede en los carbonos que tienen el grupo OH (intradiol) en la posición 1-2 en el catecol y 3-4, en el caso del ácido protocatéquico. Se producen diferentes reacciones oxigenolícas, tanto para el catecol como para el ácido protocatequico, hasta obtener un intermediario común llamado γ -cetodipatoenol- lactona, que se transforma a β -cetoadipato. Finalmente, este genera como productos succionato y acetil coenzima A (CoA), que entran al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Figura 2.7) (Barrios *et al*, 2006).

El segundo mecanismo es la escisión *meta*, dicha ruptura se lleva a cabo en el carbono portador del ión hidroxilo OH⁻¹ y el carbono adyacente (extradiol) para el catecol, este mecanismo se muestra en la Figura 2.6. La ruptura se realiza en los carbonos 2-3, mientras que para el ácido en los carbonos 4-5 (Suárez, 1993). En esta ruta, el catecol y el ácido protocatéquico, se desarrollan de manera independiente y no convergen en ningún intermediario. Los productos de este tipo de escisión meta son el acetaldehído y el piruvato, donde el último compuesto es un precursor clave en ciclo de los ácidos tricarboxílicos. El intermediario más frecuente en la degradación de fenol es el catecol, el cual sufre reacciones de dihidroxilación generando la apertura del anillo aromático, permitiendo de esta manera que sea degradado por alguno de los dos mecanismos mencionados con anterioridad, (Barrios *et al*, 2006).





Figura 2. 5. Ruta de degradación de compuestos aromáticos por vía catecol (Eweis et al, 1998)







Figura 2. 6 Vías metabólicas para la degradación del fenol, (Barrios et al., 2006)





2.8. Transformaciones del Nitrógeno

El nitrógeno es considerado como uno de los principales contaminantes en las aguas residuales porque favorece la eutrofización de los cuerpos receptores de agua. El nitrógeno se puede presentar típicamente en forma de amonio, compuestos orgánicos solubles, materia orgánica en suspensión. Al descargar agua con amonio en un cuerpo receptor se propicia su oxidación a nitritos y nitratos, los cuales son tóxicos para la fauna acuática. El proceso genera un consumo de oxígeno que puede reducir de forma importante la concentración de oxígeno disuelto en las aguas, siendo otra causa de muerte de los animales acuáticos (Sedlak, 1991; Garzón y González, 1996). En la Figura 2.7 se muestra el ciclo del nitrógeno durante el proceso de oxidación.



Figura 2. 7. Ciclo biológico del nitrógeno (Singleton, 2004)





Una parte del nitrógeno de las aguas residuales es removido por el crecimiento neto bacteriano, dicho proceso se denomina asimilación. Si se considera que el nitrógeno constituye cerca del 12.5% de la masa de células microbianas, se tiene que la eliminación de nitrógeno es principalmente por asimilación. La rapidez de transformación del nitrógeno amoniacal en un sistema biológico se puede modelar con la ecuación 2.11.

$$\frac{d(N_{NH_4})}{dt} = 0.125 \ \frac{d(d_v)}{dt} = 0.125 * \left(Y - \frac{X_d * K_d}{F_{/M}}\right)$$
2.11

Donde:

 $N-NH_4 = concentración de nitrógeno amoniacal$ t = tiempo $<math>X_v$ =cantidad de biomasa en el reactor (como SSVLM) Y= coeficiente de rendimiento X_d = fracción biodegradable de los SSVLM K_d = constante de decaimiento endógeno F/M= relación de alimento a microorganismos

Dado que el coeficiente de rendimiento Y no suele ser mayor que 0.6 g SSV/g DQO, la relación teórica máxima de amoniaco removido por asimilación a la DBO eliminada debe ser 0.125(0.6-0)=0.075 Kg/m³d. En la práctica, no se logra más de un 5-6% de eliminación de nitrógeno por asimilación respecto a la eliminación de DBO del agua residual cruda (Sedlak, 1991).

Otra parte del nitrógeno es removido mediante los procesos de nitrificación y desnitrificación, siendo estos los de mayor interés en el tratamiento de aguas residuales debido a que la remoción alcanzada es mucho mayor que aquella debida al crecimiento, ya que es posible separarla fácilmente del agua tratada dado que el N₂ o el N₂O, principales productos posibles de la desnitrificación son gases (Zeng *et al.,* 2004a), la proporción del N₂O, dependerá del grado de desnitrificación que se logre.





2.8.1 Nitrificación

La nitrificación es la oxidación biológica del nitrógeno en forma de amonio hasta nitratos, pasando por nitritos como producto intermediario. Esta oxidación la realizan bacterias autótrofas, primordialmente aerobias (ó también pueden ser facultativas) quimiolitótrofas. Las más importantes son de los géneros *Nitrosomonas y Nitrobacter,* que son aerobias pero pueden sobrevivir a condiciones anóxicas por periodos prolongados. Las primeras oxidan el amonio a nitrito y las segundas, de nitrito a nitrato (Sedlak, 1991).

Algunos factores que afectan la nitrificación son:

- Oxígeno disuelto: Randall et al. (1992) cita que cuando la concentración de oxígeno disuelto es inferior a 0.3 mg/L, la nitrificación no se lleva a cabo y que la rapidez de nitrificación se hace independiente cuando la concentración de oxígeno disuelto es superior a 1 mg/L. Para garantizar que la nitrificación se lleve a cabo sin restricciones se recomienda que la concentración de oxígeno disuelto sea superior a 3 mg/L.
- Valor de pH. Las Nitrosomonas y Nitrobacter prefieren condiciones ligeramente alcalinas y se inhiben a valores de pH inferiores a 6 y superiores a 9.5 en presencia de amonio. Esto se explica ya que a valores de pH ligeramente alcalinos desplazan el equilibrio de amoniaco a amonio, la cual es la molécula que oxida Nitrosomonas (Surampalli *et al.,* 1997).
- Temperatura. La temperatura de nitrificación usualmente se reporta en un intervalo de 4 a 50°C con un óptimo de 30 a 36°C (Gerardi, 2006).
- 4. Tiempo de retención celular. El tiempo de retención celular aparente refleja solamente el tiempo de retención de las células que proliferan sobre la capa superficial de la biopelícula pueden permanecer por un tiempo mucho más largo. Esto beneficia a los microorganismos con tasa de crecimiento más bajos como es el caso de las bacterias nitrificantes.





 Tóxicos. La actividad de las bacterias nitrificantes puede ser inhibida por sustancias tóxicas, dependiendo de la concentración de la sustancia y del tiempo de exposición.

2.8.2. Desnitrificación

Cuando se tiene condiciones anóxicas (ausencia de oxígeno molecular disuelto), ciertas bacterias pueden utilizar el oxígeno de los nitratos y nitritos como receptor de electrones y crecer en cantidad suficiente. En este caso, se efectúa el proceso de la desnitrificación, donde el nitrógeno en forma de nitratos y nitritos es reducido a óxido nítrico, óxido nitroso y, finalmente, a nitrógeno molecular (Metcalf y Eddy, 2003) (reacción 2.1)

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$
 Reacción 2.1

En un primer paso un grupo de bacterias reduce el nitrato a nitrito a través de la vía de la reducción catabólica. La reducción de nitrato a otros subproductos la realiza otro grupo de microorganismos: los principales productos son N₂ y N₂O. Las bacterias que tienen la capacidad de desnitrificar son heterótrofas y utilizan el oxígeno de los nitritos y nitratos como receptor de electrones y como parte integral de la cadena respiratoria (Helmer y Kunst, 1997). Entre estas las *Acinebacter, Alcaligenes, Pseudomonas, Achromobacter*, entre otras (Metcalf y Eddy, 2003).

La desnitrificación ocurre en un intervalo de temperatura de entre 10 a 30 °C, el intervalo óptimo de pH es de 6.5 a 8 se sabe que la desnitrificación se reduce cuando se tienen valores menores que 6 y mayores que 9. La concentración de oxígeno disuelto superior a 1 mg/L también inhibe la desnitrificación (Surampalli *et al.,* 1997). Un parámetro clave en la desnitrificación es la relación C/N, esta debe tener una relación como mínimo de 3 gDQO/gN-NO₃ para garantizar una buena desnitrificación en reactores anóxicos.

2.9. Transformaciones del Azufre

Los compuestos azufrados generalmente contienen al elemento en tres estados de oxidación: sulfuros (S^{2-}), sulfatos (SO_4^{-}), y azufre elemental (S°). El azufre en estado 2^{-} es un componente integral de las proteínas. Muchos microorganismos





son capaces de reducir los sulfatos a sulfuros bajo condiciones aerobias (reducción asimiladora de sulfatos) y anaerobias (reducción desasimilatoria de sulfatos). El azufre contenido en las biomoléculas regresa al ciclo inmediatamente de su liberación en forma de H₂S. Este sulfuro de hidrógeno formado por ambos procesos reacciona, en parte, con algunos metales del medio para formar minerales azufrados. Otra parte del azufre, regresa a sulfato bajo condiciones aerobias mediante la oxidación de H₂S mediada por microorganismos capaces de utilizar tal compuesto como fuente de energía durante el crecimiento y reproducción (Chapelle, 1993), como se puede observar en la Figura 2.8.



Figura 2. 8. Ciclo biológico del azufre (Roberson y Kuenen, 1992).

Los principales microorganismos que oxidan el sulfuro son los *T. thioxidans, T. thioparus, y T. denitrificans.* Estas bacterias son Gram negativas, no esporuladas, algunos son móviles por flagelo polar y soportan pH bajos.





La oxidación del azufre se realiza generalmente en dos etapas. Bioquímicamente, los compuestos de azufre reducidos se convierten en sulfito (SO₃⁻²) que a su vez son transformados, a sulfato por la enzima sulfito oxidasa. Algunos organismos, realizan la misma oxidación utilizando un sistema inverso de APS reductasa (Adenosina 5-fosfosulfatasa), por ejemplo, las bacterias reductoras de sulfato. En todos los casos, la energía liberada se transfiere a la cadena de transporte de electrones para la producción de ATP y NADH (nicotinamida adenina dinucleótida). Además de la oxidación aerobia del azufre, algunos organismos (por ejemplo, Thiobacillus denitrificans) utilizando el nitrato como receptos terminal de electrones, por lo que crecen en ausencia de oxígeno molecular.





CAPÍTULO 3

3. METODOLOGÍA

La Figura 3.1 muestra la metodología para el presente proyecto. Dicha metodología se realizó en 4 etapas, las cuales fueron: muestreo y caracterización de las aguas desflemadas, adaptación del sistema microbiano, caracterización del soporte así como montaje del reactor y por ultimo pruebas de degradación en el RBLE bajo diferentes cargas orgánicas.



Figura 3. 1 Metodología propuesta.





3.1 Caracterización del agua desflemada

El muestreo de agua desflemada se realizó de la torre agotadora de la Refinería "Ing. Antonio M. Amor" de Salamanca Gto. La muestra fue preservada a la temperatura de 4 °C en un cuarto frío. En la Tabla 3.1 se enlistan los parámetros físicoquímicos que se analizaron para determinar las características del agua real, para ello se tomó como base a la normatividad vigente mexicana, así como los diferentes equipos utilizados para realizar las determinaciones de los mismos.

Parámetros	Método	Método Normatividad	
рН	Potenciométrico	NMX-AA-008-SCFI- 2001	Potenciómetro Corning
Temperatura	Directo	NMX-AA-007-SCFI- 2000	Termómetro de mercurio
Turbiodad	Nofolomótrico	NMX-AA-038-SCFI-	Turbidimetro HANNA
Turbieudu	Nereloffletrico	2001	instruments
Fenoles	Espectrofotocolorimátrico	NMX-AA-050-SCFI-	Espectrofotómetro Varian
T CHOICS	Espectiolotocolorimetrico	2001	50 Scan UV- Visible
Demanda Bioquímca	Método Winkler	NMX-AA-028-SCFI-	
de Oxígeno (DBO)	modificado por Azida	2001	
Demanda Química de	Oxidación ácido cromo-	NMX-AA-030-SCFI-	Digestor de fluio cerrado
O ₂ (DQO)	sulfúrico	2001	
Carbono Orgánico Disueltos (COD)	Oxidación térmica		Analizador TOC-V CSN Shimadzu
NTK	Titulométrico Kjeldahl		BÜCHI
Nitrógeno orgánico	Titulométrico Kjeldahl	NMX-AA-026-SCFI- 2001	Büchi Digestion Unit K.435 Büchi Scrubber B-414
Nitrógeno amoniacal N-NH4 ⁺	Titulométrico Kjeldahl		Büchi Distillation Unit K.350
Nitratos (NO ₃ ⁻)	os (NO ₃ ⁻) Espectrofotocolorimétrico NMX-		Espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20
Sulfuros (S ²⁻)	Iodométrico	NMX-AA-084-SCFI- 1982	
Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	Espectrofotocolorimétrico	NMX-AA-075-SCFI- 1981	Espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20
Grasas y aceites	Destilación	NMX-AA-005-SCFI- 1980	Equipo Soxhtlet
Hidrocarburos	IR o destilación		IR
Conductividad	Conductimétricos	NMX-AA-093-SCFI- 2000	Conductímetro Conductronic PC18
Sílice	Espectrofotocolorimétrico	Método ASTM D859/88	Espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20
Alcalinidad	Potenciométrico y titulométrico	NMX-AA-036-SCFI- 2001	Potenciómetro Corning

Tabla 3. 1. Parámetros fisicoquímicos utilizados en la caracterización del agua desflemada.





3.2 Adaptación de los microorganismos a las aguas desflemadas en un reactor discontinuo

Se llevó acabo la adaptación de un consorcio de microorganismos a las aguas desflemadas con la finalidad que estos pudieran degradar la materia orgánica contenida en el tipo de agua en estudio.

La primera etapa consistió en obtener biomasa del tanque de aireación de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del Cerro de la Estrella. La adaptación de los microorganismos se realizó en un reactor discontinuo con un volumen de 3 L, el cual se mantuvo bajo aireación constante, adicionando macronutrientes, como nitrógeno, fosforo, así como micronutrientes (hierro, magnesio y calcio), con la finalidad de garantizar la reproducción de la biomasa. La cantidad de agua desflemada se fue aumentando según una remoción de un 80% de la DQO de la concentración inicial, a razón de un 25% de agua desflemada. Lo anterior por un periodo de 40 días

Para la aclimatación de los microorganismos se utilizó la estrategia de tiempos de reacción variables y eficiencias fijas (Moreno, 2006). El procedimiento se realizó como se explica a continuación:

La concentración de la biomasa contenida en el reactor discontinuo, en un inicio fue de 2500 mg/L, agregando una solución diluida de agua contaminada (2.5:100) y una solución con nutrientes; siendo agregados 10 mL de solución A, 1mL de B, C y 0.1 mL D, lo anterior con la finalidad de que los microorganismos satisfagan sus funciones vitales.

Diariamente y por un periodo de 10 días se tomaron muestras hasta obtener la disminución establecida de DQO, para después suspender la aireación y dejar sedimentar los lodos con la finalidad de remover el sobrenadante y adicionar nuevamente una nueva solución. En la Tabla 3.2 se cita la composición del medio mineral que se agregó al reactor por lotes (Lazcano, 2004).





Se considero que la biomasa estaba aclimatada una vez que se llego a una remoción de más del 80% de la DQO cuando se alimentó a los microorganismos con el 100% de agua desflemada.

Solución	Compuesto	Conc. mg/L
	Fosfato monobásico de potasio (K ₂ PO ₄)	0.85
А	Fosfato dibásico de potasio (K ₂ HPO ₄)	2.175
	Fosfato dibásico de sodio (Na ₂ HPO ₄ *H ₂ O)	3.34
В	Cloruro de calcio (CaCl ₂)	0.275
С	Sulfato de magnesio (MgSO ₄ *7H ₂ O)	0.225
D	Cloruro férrico (FeCl ₃ *6H ₂ O)	0.0025

Tabla 3. 2. Composición del medio mineral (Lazcano, 2004)

A la par se determinó el Carbono Orgánico Disuelto, así como la concentración de fenol a la entrada y salida del RBLE, con el fin de observar cómo se comportaba la materia orgánica a lo largo de la aclimatación.

3.2.1 Cinética de remoción

Para tener la certeza de que los microorganismos ya estaban adaptados al agua desflemada, se realizaron tres perfiles de concentración de la materia orgánica removida.

Los perfiles se realizaron en el reactor por lotes de 3 L, con un volumen de 2 L de agua desflemada, 1 L de biomasa y los nutrientes. Se utilizó un sistema de difusión de aire suministrado por la bomba el cual era de 7.5 mL/min y agitación para un buen mezclado, lo anterior con la finalidad de evitar zonas anaerobias, así como para evitar la falta de oxígeno disuelto en el sistema. Durante los experimentos realizados se determinó la concentración de fenol, la DQO y el COD, así como los SST durante un periodo de 2, 4 y 8 horas, el seguimiento de los parámetros para cada prueba experimental se realizó por diferentes periodos de tiempo, hasta garantizar que esta podría ser representativa para establecer la cinética de remoción.





3.3. Caracterización del soporte

El soporte plástico con el que se realizó el trabajo experimental propuesto fue Poliflex de 3/8" (Figura 3.2), debido a que se observó en trabajos citados en literatura este presentaba buena adherencia por parte de los microorganismos, además de que es fácil de adquirir (Orantes, 2001).



Figura 3. 2. Poliflex de 3/8" utilizado como soporte

En la Tabla 3.3 se mencionan las características del soporte (Orantes, 2001).

Tabla 3. 3 Características del soporte (Orantes, 2001).
--	-----------------

Material	Polietileno
Densidad	0.94 g/cm ³
Diámetro nominal	3/8 pulgada
Diámetro interior	1.10 cm
Diámetro exterior	1.56 cm
Longitud	1.20 cm
Ancho interior de las corrugaciones	0.16 cm
Ancho exterior de las corrugaciones	0.20 cm
Espesor del corrugado	0.23 cm
Espesor de pared	0.03 cm
Área de la partícula	0.00196 m ²

Con base a la literatura se realizo la determinación de las características físicas del empaque (Treybal, 1996):





- a) Número de piezas por m³. Se llenó con el empaque una probeta hasta un volumen determinado y se contaron los empaques contenidos en dicho volumen.
- b) Porcentaje de huecos. Con la misma probeta ya con el empaque, se agregó un volumen agua igual al volumen ocupado por los empaques, para después medir el volumen que marcaba la probeta con el aguay empaque. El agua ocupó el volumen libre de los huecos del empaque, por lo tanto, obteniendo la relación correspondiente, se determinó el porciento de huecos.
- c) Densidad aparente y densidad real. Una vez llena la probeta, se determinó la masa. Con el peso de empaque por unidad de volumen y el porciento de huecos se obtuvieron las densidades.
- d) Área específica. Por último se midió cuidadosamente con un calibrador Vernier las dimensiones necesarias para calcular el área de una pieza de empaque y se multiplicó éste valor por el número de piezas contenidas en un m³.

3.4. Montaje, inoculación, arranque y pruebas en el RBLE

3.4.1 Montaje del RBLE

El reactor biológico de lecho empacado fue construido de acrílico. Para establecer las dimensiones se propuso un diámetro 14.2 cm y un volumen de 8 L, obteniendo así la altura del reactor que fue de 50.5 cm. Una vez determinado el volumen total del reactor se calculó el volumen del lecho considerando el porciento de huecos y la densidad real y aparente del soporte. Por otro lado, se contempló que el reactor tendría dos placas de acrílico entre las cuales se encontraría el soporte plástico, la de la parte inferior a 7.5 cm de altura desde el fondo del reactor, mientras que la otra placa se encontraba a la misma distancia pero de la parte superior del reactor. Con la finalidad de garantizar una buena aireación, a cada placa se le hicieron perforaciones; para lo cual primero se calculó el diámetro de las placas así como el diámetro de cada una de las perforaciones, para esto se utilizó la herramienta de Excel, Solver, y así obtener el número de perforaciones requeridas en las placa (Anexo 1). En la Tabla 3.4 y 3.5 se muestran las dimensiones del reactor obtenidas





para el diseño del reactor así como el número de perforaciones de las placas del reactor, respectivamente. Para el cálculo del número de perforaciones, primero se propuso un diámetro de 2 centímetros, para después sacar el área e iterar igualando el área total de la placa con el área de todas las perforaciones (Anexo 1), dichos resultados se muestran en la Tabla 3.5.

	Volumen				
	Reactor	Lecho			
Diámetro interno [cm]	14.2	14.2			
Radio [cm]	7.1	7.1			
Altura [cm]	50.52	18.94			
Vol. [L] total	8.0	3.00			
Vol [L] _{real}		2.61			

Tabla 3. 4 Dimensiones del reactor

Tabla 3. 5 Dimensiones de la placa de acrílico

No de perforaciones por placa					
Área de la placa(cm ²)	158.37				
Diámetro por perforación (cm)	2				
Radio (cm)	1				
Área (cm²)	3.1416				
Perforaciones	50.41				

Una vez construido el reactor, se procedió a montar el RBLE. Primero se colocó la instalación de línea de aire al reactor, la cual estuvo regulada utilizando un medidor de flujo de marca Cole-Palmer, lo anterior con la finalidad de tener la seguridad de que en el RBLE se tenía una concentración de oxígeno disuelto mayor a 2 mg/L. El aire que pasa a través de las perforaciones se calculó dividendo el flujo de éste entre el número de perforaciones, por ejemplo 7.5 mL/min entre 50 perforaciones, siendo el flujo de aire por perforaciones de 0.15 mL/min.

Se utilizaron bombas peristálticas de velocidad variable para alimentar el reactor (Figura 3.3). El reactor fue operado a contracorriente, introduciendo por la parte inferior el flujo de alimentación y por la parte superior el efluente. Para la aireación se utilizó un difusor, el cual se instaló por la parte inferior del reactor. El aire se





suministró mediante la línea de aire del laboratorio utilizando un medidor de flujo marca COLE-PALMER de acero inoxidable para establecer flujos de 5 mL/min a 65 mL/min.



Figura 3. 3. Esquema de las placas de acrílico y del RBLE.





Una vez construido el reactor, se procedió a montar el RBLE. Primero se colocó la instalación de línea de aire al reactor, la cual estuvo regulada utilizando un medidor de flujo de marca Cole-Palmer, lo anterior con la finalidad de tener la seguridad de que en el RBLE se tenía una concentración de oxígeno disuelto mayor a 2 mg/L (Figura 3.4).



Figura 3. 4 Reactor biológico de lecho empacado en continuo.

3.4.2 Arranque, inoculación y pruebas en el RBLE

Una vez montado el reactor se colocó el soporte dentro del mismo, para después inocularlo con 1.5 L de lodos ya aclimatados anteriormente.

La alimentación del reactor se realizó de manera discontinua utilizando agua desflemada, siguiendo la estrategia de eficiencias fijas debido a que en esta parte de la experimentación se comenzó a trabajar con agua del lote 3, por lo que el





sistema se desestabilizo y se tuvo que volver a aclimatar a los microorganismos. Diariamente se monitorearon la DQO, el COD y fenoles, hasta que se observó el crecimiento de la biopelícula sobre el soporte. Las condiciones bajo las que se operó el reactor se muestran en la Tabla 3.6.

Parámetro	Condición
Temperatura [°C]	Temperatura ambiente
pH [unidades de pH]	6-8
Oxígeno disuelto [mg/L]	>2

Tabla 3. 6. Condiciones de operación del RBLE

3.5 Cuantificación de la biomasa en el soporte

Con la finalidad de conocer la cantidad de biomasa en el reactor, esta se puede determinar en términos de masa seca. La principal desventaja del empleo de estos parámetros para caracterizar la biopelícula es que la masa seca incluye no sólo a los microrganismos vivos, sino también a la biomasa inerte, exopolímeros y materia orgánica absorbida sobre la superficie de la misma biopelícula. Sin embargo, por cuestiones prácticas y para tener una idea de la cantidad de "biomasa" desarrollada sobre los medios de soporte, se realizó la estimación de la cantidad de biomasa adherida con este método. Se calcula un error aproximado del 6% (Lazarova y Manem, 1995).

lwai y Kitao (1994) consideran preferentemente la porción de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en la determinación de la biomasa. Sin embargo, Kayser (1971) demostró que no existe una relación lineal entre la parte activa del contenido de biomasa seca y la carga orgánica (Abwassertechnik, 1985). Por lo que no existe alguna diferencia significativa entre utilizar la porción de sólidos volátiles o la porción de sólidos totales (ST). Lo anterior ha generado una corriente alemana que se aplica en Europa en la que el diseño de sistemas con biomasa en suspensión se realiza bajo el criterio de la carga orgánica considerando la porción de sólidos totales (Abwassertechnik, 1985).





Bajo este mismo criterio, la determinación de biomasa medida como masa seca se realiza considerando la porción de sólidos totales (Broch-Due *et al.,* 1994; Bonomo *et a.l,* 2000a, b; Comett-Ambriz *et al.,* 2003; Passinetti y Emondi, 2003). A continuación se resume el procedimiento realizado para determinar la biomasa en el reactor biológico de lecho empacado:

Se colectan tres medios de soporte con biomasa. Con ayuda de una solución de NaOH al 0.01% se desprende la biomasa adherida al material de soporte raspando con una aguja de disección. El material se filtra para la determinación de ST (Valdivia, 2005).

La masa seca total del sistema resulta de la relación promedio obtenida en la cuantificación de la masa seca de las muestras de soportes con biomasa y el área total expuesta en el reactor (Ecuación 3.3).

En base a este resultado se determinó el tiempo de retención celular mediante la Ecuación 3.4 (Metcalf y Eddy, 2003):

$$TRC = \frac{V * X}{Q * SST}$$
 Ecuación 3.4

Donde:

TRC: Tiempo de Retención Celular

V: Volumen del reactor

X: Concentración de la biomasa en el reactor

SST: Sólidos suspendidos totales en el efluente

Q: Caudal





3.5 Operación del sistema a tres diferentes cargas orgánicas volumétricas (COV)

Para la operación del sistema del reactor biológico se propusieron tres diferentes tiempos de residencia hidráulicos, para así determinar el flujo para cada tiempo establecido. La ecuación 3.5 muestra cómo se determinó el θ_{RH} :

 $\theta_{RH} = \frac{V}{Q}$ Ecuación 3.5

V: Volumen útil del reactor Q: Caudal

Despejando la ecuación 3.5, se obtiene:

$$Q = \frac{V}{\theta_{RH}}$$
 Ecuación 3.6

Una vez determinado el flujo se calcularon las tres cargas orgánicas volumétricas, como se explica a continuación (Ecuación 3.7):

$$COV = \frac{S * Q}{V} \qquad Ecuación 3.7$$

Se determinó operar el RBLE a tres diferentes tiempos de residencia hidráulica (TRH), para así poder determinar las tres diferentes cargas orgánicas volumétricas con las que se iba a trabajar. El sistema se operó por un periodo de 15 días para cada tiempo establecido y otros 15 días más con la finalidad de tener estabilizado el sistema biológico entre cada TRH. Las condiciones establecidas para operar el sistema se muestra en Tabla 3.7.

Tabla	3. 7.	Parámetros	analizados	en	cada	TRH
	••••		ananzaaoo	····		

Fase	TRH (h)	V (L)	Q (m³/d)	DQO [g/m³]	C.O.V. [g/d*m ³]	Días de operación
1	12	4.5	0.009	0.572	1.14	1-15
2	9	4.5	0.0122	0.528	1.41	15-30
3	6	4.5	0.018	0.528	2.1	30-45





Cabe mencionar que para el periodo de la experimentación correspondiente a la COV 1 se utilizó el agua desflemada del lote 3 y la COV 2 y 3 se utilizó el lote 4 del agua desflemada.

Para determinar la eficiencia de remoción de contaminantes se tomaron muestras a la entrada y a la salida del reactor analizando los parámetros que se muestran en la Tabla 3.8.

C.O.V	Fenol	COD	DQO	nH	NH4 ⁻	Sulfatos	Sulfuros
[g/d*m ³]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]		[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]
1.14							
1.44	Diario				Cada tercer día		
2.11							

Tabla 3. 8. Parámetros analizados en cada TRH





CAPITULO 4

4. RESULTADOS

En el presente capítulo se describen los resultados obtenidos de la caracterización del agua desflemada, así como los de cada una de las etapas involucradas de la experimentación.

4.1 Caracterización del agua desflemada

Debido a que durante la realización experimental se tuvo que ir en varias ocasiones a la refinería "Ing. Antonio M. Amor" por muestras de agua desflemada a las cuales se realizo su caracterización, dichos resultados se muestran en la Tabla 4.1.

Parámetros	Agua desflemada 1	Agua desflemada 2	Agua desflemada 3	Agua desflemada 4	Unidad
Ph	10	10	9	9	Unidad de pH
Temperatura	46	50	90	120	°C
Turbiedad	557	51	12.1	50	NTU
Fenoles	180	60	210	200	mg/L
DBO ₅	357	80	100	236	mg/L
DQO	1431	334	572	528	mg/L
COD	418	139	437	465	mg/L
NTK	364	146	150	160	mg/L
Nitrógeno orgánico	43	93	69	78	mg/L
Nitrógeno amoniacal	321	53	81	82	mg/L
Nitratos		mg/L			
Sulfuros	344	ND	26	8	mg/L
Sulfatos	690	210	1280	753	mg/L
Grasas y aceites	5000	1000	200	1400	mg/L
Conductividad	382	250	526	292	mg/L
Sílice	29	135	61	95	mgSiO ₂ /L
Alcalinidad total	1200	250	220	125	mg/L
SST	4510	45	76	68	mg/L
SSV	4170	41	60	63	mg/L

Tabla 4. 1 Caracterización de las aguas desflemadas





A partir de la caracterización se observó que el efluente no tiene la calidad necesaria para el reúso dentro de los procesos de las Refinerías (ANEXO 2), por lo se requiere de un tratamiento para la reducción de estos contaminantes.

Calculando la relación entre la DBO₅/DQO se obtuvo el valor de 0.25, lo que según Metcalf y Eddy (2003) indica que el efluente es difícilmente biodegradable, por lo que fue necesario tener un periodo de adaptación de los microorganismos para degradar los contaminantes presentes en este tipo de efluente.

4.1.1 Decantación de aguas desflemadas

Debido al alto contenido de grasas y aceites obtenidos en las muestras se decidió realizar un proceso de decantación, con la finalidad disminuir su concentración por diferencia de densidades. La separación se realizó por lotes y el tiempo de residencia hidráulica fue de 24 horas por lote. El sistema que se utilizó se muestra en la Figura 4.1. Una vez decantada el agua desflemada, se procedió a mezclarla con diferentes volúmenes de agua fresca para la aclimatación de los microorganismos.



Figura 4. 1 Sistema de decantación

Cabe mencionar que la apariencia del agua desflemada recolectada en refinería presentaba una coloración café. Una vez decantada el efluente no presentó





coloración y a simple vista se observó que la cantidad de grasas y aceites disminuyó considerablemente.

Los resultados de la separación de grasas y aceites se presentan en la Tabla 4.2. Se obtuvieron remociones mayores al 90% en los diferentes lotes de agua desflemada.

No Loto	Grasas y Aceites		Remoción	
NO. LOLE	Antes	Después	%	
1	5000	56	98.9	
2	1000	70	93.0	
3	200	19	90.5	
4	1400	113	91.9	
5	2000	70	96.5	

Tabla 4. 2 Grasas y Aceites antes y después del proceso de decantación

4.2 Adaptación de los microorganismos a las aguas desflemadas en un reactor discontinuo

Las concentraciones al inicio y al final de la aclimatación de los parámetros considerados para conocer la cantidad de biomasa presente en el reactor (Tabla 4.3):

Parámetro	Iniciales mg/L	Finales mg/L
SST	2500	2479
SSV	3224	3209

Tabla 4. 3 . SST y SSV presentes en el reactor

Se puede observar que el pH de los diferentes lotes de agua tenía valores en el rango 9-10, por lo que se requirió la neutralización con ácido fosfórico al 30%, antes de realizar la alimentación a los reactores. Se utilizó este ácido debido a que no reacciona con el fenol, mientras que el ácido clorhídrico reacciona con este último formando clorofenoles, los cuales son cancerígenos para el ser humano; por otro lado con el ácido nítrico se genera o-nitrofenol y p-nitrofenol, los cuales son nocivos para la salud.





Durante el proceso de adaptación del consorcio microbiano se realizó el seguimiento de los parámetros tales como demanda guímica de oxígeno (DQO) y carbón orgánico disuelto (COD). En la Figura 4.2 se observa, que a menor volumen de agua desflemada contenida en el influente, los microorganismos tardaron más tiempo en remover la materia orgánica contenida como DQO, iniciando con una concentración de 357 mg/L hasta un valor de 40 mg/L por un periodo de 10 días. Después de 35 días de adaptación los microorganismos lograron degradar la DQO desde una concentración inicial de 1431 mg/L hasta una final de 68 mg/L tan solo en 7 días. De lo anterior se puede suponer que los microorganismos tienen un periodo de adaptación en el cual debían generar las enzimas necesarias para transformar la materia orgánica hasta que lograran adaptarse al tipo de agua alimentada. En la Figura 4.2 se observa que al ir aumentando el volumen de agua desflemada en el reactor discontinuo, el tiempo de adaptación para remover la materia orgánica fue disminuyendo, lo que se puede atribuir al desarrollo de las enzimas necesarias para remover los contaminantes presentes. Por lo que los microorganismos removían lentamente los contaminantes presentes en el agua.



Figura 4. 2. Disminución de la DQO a lo largo de la aclimatación





Otros parámetros monitoreados durante la adaptación del sistema, a lo largo de los 40 días fueron fenol y COD. En la Figura 4.3 se observa que el COD sigue el mismo comportamiento que la DQO, lo que confirma que los microorganismos a lo largo del tiempo fueron desarrollando las enzimas necesarias para degradar la materia orgánica, lográndose al final del periodo obtener una concentración final de 15 mg/L de 420 mg/L.



Figura 4. 3. Disminución del COD a lo largo de la aclimatación



Figura 4. 4. Disminución del fenol a lo largo de la aclimatación





Para el caso del fenol, como se observa en la Figura 4.4 se observa que se alcanzan concentraciones menores a 1 mg/L, sin importar la concentración en el influente, lo que indica que este compuesto es fácilmente biodegradable.

4.2.1 Cinética de remoción

Una vez que se determinó que los microorganismos ya removían eficientemente COD, DQO y fenol, se procedió a realizar tres análisis cinéticos de remoción a diferentes concentraciones de materia orgánica, para constatar que efectivamente los microorganismos estaban adaptados al agua problema. Las determinaciones se realizaron en un reactor discontinuo con un volumen de 3L. En la Tabla 4.4 se muestran las concentraciones iniciales de la materia orgánica y los sólidos suspendidos totales en el licor mezclado (SSTLM).

Denémentar	Concentración			
Parametro	1a cinética	2a cinética	3a cinética	
DQO [mg O ₂ /L]	161	320	450	
COD [mg C/L]	133	280	425	
Fenol [mg _{Fenol} /L]	91	150	200	
SSTLM [mg/L]	1046	812	1567	
Temperatura [°C]	24.3	25.5	24	

Tabla 4. 4. Concentraciones iniciales de los parámetros considerados en la cinética.

4.2.1.1 Cinética de la remoción de fenol

En la Figura 4.5, se muestra el comportamiento obtenido sobre la disminución de la concentración del fenol a lo largo de las pruebas realizadas. Como se puede observar, para la primera corrida a una concentración inicial de 90 mg_{Fenol}/L, en los primeros 15 minutos el consumo de fenol se lleva a cabo rápidamente obteniéndose al final una remoción de fenol del 99%. La misma tendencia se tiene para las otras dos cinéticas realizadas obteniéndose al final remociones de hasta un 99% para un tiempo de entre 2 y hasta 6 h dependiendo de la concentración inicial del contaminante. A pesar que se aumenta la cantidad de fenol inicial se concluye que el consorcio microbiano utilizado está adaptado al tipo de agua residual real utilizada. Se observa que para los tres casos de la cinética durante la





primera hora se llega a remover más de la mitad de la concentración inicial del fenol.



Figura 4. 5 Seguimiento de las concentraciones del fenol en las pruebas

Aplicando la ecuación 3.2 citada en el capítulo 3.2.1 se obtiene la linearización de las curvas obtenidas de la concentración de fenol con respecto al tiempo (Figura 4.6). Cabe mencionar que las constantes cinéticas presentadas en este trabajo experimental se obtuvieron a temperatura ambiente 18 ± 2 °C.



Figura 4. 6 Linearización de la remoción para el fenol.





El signo negativo de la pendiente connota una disminución de la especie considerada, en este caso del fenol. En la Tabla 4.5 se presentan las tres constantes cinéticas de rapidez obtenidas.

Corrida	C ₀ fenol (mg _{Fenol} /L)	Constante cinética <i>k</i> [s ⁻¹]
1	91	8.5X10 ⁻²
2	150	1.7X10 ⁻²
3	200	1.0X10 ⁻²

Tabla 4. 5. Constantes cinéticas de remoción de fenol

Se aprecia que con una concentración inicial de fenol de 91 mg_{Fenol}/L se tiene una constante cinética mayor que a 150 mg_{Fenol}/L y a 200 mg_{Fenol}/L. Lo anterior se atribuye al hecho de que a mayores concentraciones los microorganismos tardan más en remover el contaminante. Por otro se tiene que la concentración máxima de fenol que puede ser degrada sin inhibición por parte de los microorganismos es de 150 mg/L, otra razón por la cual las constantes cinéticas a 150 mg_{Fenol}/L y a 200 mg_{Fenol}/L sean menores respecto a la de 91 mg_{Fenol}/L.

En la Tabla 4.6 se pueden observar las constantes cinéticas obtenidas por diferentes autores. Comparando las constantes cinéticas obtenidas en el presente trabajo con las reportadas, las primeras son mayores respecto a las encontradas en la literatura. Por ejemplo Ayodele *et al* (2012), para un proceso de electro-Fenton, a una temperatura de 30 °C y tres concentración iniciales de fenol de 50, 100 y 200 mg/L, obteniendo una constante cinética de 8.5×10^{-03} , 6.5×10^{-03} y 5.3×10^{-03} s⁻¹ respectivamente, mientras que las contantes obtenidas en el presente trabajo para una concentración inicial de fenol de 91, 150 y 200 mg/L fueron de 8.5×10^{-02} , 1.7×10^{-02} y 1.0 $\times 10^{-02}$ s⁻¹, siendo mayores estas últimas, lo que indica que la rapidez de remoción de fenol es mayor con el sistema biológico de estudio respecto a los reportados en la literatura a condiciones similares.





Contaminante	Constante cinética de remoción [1/s]	Influente	Sistema utilizado	Autor
Fenol	Ti/IrO2 $1.17X10^{-04}$ Pt $1.83X10^{-04}$ Ta/β-PbO2 $6.11X10^{-04}$	Agua sintética con 0.105 M de fenol T= 86 °C	Electrolisis galvanostatica	Tahar <i>et al,</i> 2009
	3X10 ⁻⁰⁴	Agua sintética con 500 mg/L de fenol T=25 °C	Reactor electroquímico	Wang <i>et al,</i> 2006
	C ₁ = 50 mg/L k ₁ =8.5X10 ⁻⁰³ C ₂ = 100 mg/L k ₂ =6.5X10 ⁻⁰³ C ₃ = 200 mg/L k ₃ =5.3X10 ⁻⁰³	Agua sintética a tres diferentes concentraciones de fenol: C ₁ = 50 mg/L C ₂ = 100 mg/L C ₃ = 200 mg/L T=30 °C±2	Foto-Fenton	Ayodele <i>et</i> <i>al,</i> 2012

Tabla 4. 6 Valores reportados para la constante de remoción de fenol

4.2.1.2 Cinética de la disminución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

En la Figura 4.7 se observa la disminución de la DQO a lo largo del tiempo. Para este parámetro, en la primera corrida a una DQO inicial de 161 mgO₂/L, se llega a 20 mgO₂/L en un periodo de 2 horas. En la segunda corrida se obtiene una DQO final de 35 mgO₂/L en un periodo de 4 horas a una DQO inicial de 320 mgO₂/L. Por último, comenzando con una DQO de 450 mgO₂/L se obtienen 30 mgO₂/L de DQO a las 10 horas. En los tres casos se observa que la DQO inicial disminuye a más de la mitad en la mitad del tiempo de cada corrida, lo cual es coherente, debido a que los microorganismos tienden a degradar la materia orgánica más fácilmente biodegradable, en este caso el fenol; ya que conforme este va disminuyendo también disminuye la DQO, lo que se ve reflejado en la disminución de la concentración del fenol (Figura 4.5) y del oxígeno necesario para oxidar la materia presente en el agua problema.




Las constantes cinéticas de rapidez para la DQO, obtenidas de la linearización de los datos, se muestran en la Tabla 4.7 y la Figura 4.8.

Corrida	C ₀ DQO (mgO ₂ /L)	Constante cinética <i>k</i> [s ⁻¹]
1	160	2.2X10 ⁻²
2	320	9.7X10 ⁻³
3	450	4.8X10 ⁻³

Tabla 4. 7. Constantes cinéticas de la disminución de la DQO.



Figura 4. 8 Linearización de la cinética de la disminución de DQO





En el caso de la demanda química de oxígeno; vuelve a suceder lo mismo que en el caso de la remoción del fenol, se obtiene una constante cinética de rapidez mayor a concentraciones bajas que concentraciones mayores. Lo que concuerda con la literatura.

4.2.1.3 Cinética de la disminución del Carbono Orgánico Disuelto (COD)

El caso de la disminución del COD (Figura 4.9), en la primera corrida, se puede observar que se presenta una concentración de 95 mg/L de carbono orgánico disuelto en los primeros 15 minutos a una concentración inicial de 133 mgC/L de COD, una concentración final de 24 mgC/L en un periodo de 2 horas. En la segunda corrida se obtiene una concentración final de 30 mg/L a las 4 horas de iniciada la corrida a una concentración inicial de 278 mgC/L. Mientras que para la tercera corrida se obtiene una concentración final de 40 mgC/L de una concentración inicial de 425 mgC/L en un lapso de 10 horas. El comportamiento es similar al del fenol y la DQO.



Figura 4. 9 Linearización de la cinética de la disminución de DQO

En la Figura 4.10 y en la Tabla 4.8, se puede observar la linearización de los datos obtenidos:

Tabla 4. 8. Constantes cinéticas de la disminución del COD.





Corrida	C ₀ COD (mgC/L)	Constante cinética <i>k</i> [s ⁻¹]
1	133	2.4X10 ⁻²
2	278	9.2X10 ⁻³
3	425	4.9X10 ⁻³



Figura 4. 10. Linearización de la corrida de disminución del COD.

Ahora bien, comparando los resultados del COD con el fenol, se observa que este último proporciona la mitad y en el último caso sólo 1/3 del carbono orgánico disuelto presente (Tabla 4.10). En el caso de la DQO se ve que hubo errores experimentales al momento de la determinación, lo que provocó que no se lograra oxidar toda la materia orgánica.

En la Tabla 4.9 se pueden observar las constantes cinéticas de los tres parámetros, siendo la constante para el fenol la más alta, indicando que este contaminante se remueve más rápidamente, debido a que los microorganismos remueven lo más fácilmente biodegradable. Lo anterior se atribuye al hecho de que los fenoles son uno de los compuestos principales en las aguas residuales de las refinerías y tienen una relación directa con la DQO, ya que por cada miligramo de fenol consumido se consumen 2.4 mg de DQO. Por lo que las constantes cinéticas de DQO y COD siempre van a ser más bajas respecto a la constante del fenol, ya que se está trabajando con un agua real, la cual no sólo contiene fenol como materia orgánica, sino otras sustancias las cuales también son detectadas por ambas





determinaciones. Lo anterior indica que los datos obtenidos están apegados a la teoría.

Corrida	Constante cinética <i>k</i> [s ⁻¹]			
	Fenol	DQO	COD	
1	8.5X10 ⁻²	2.2X10 ⁻²	2.4X10 ⁻²	
2	1.7X10 ⁻²	9.7X10 ⁻³	9.2X10 ⁻³	
3	1.0X10 ⁻²	4.8X10 ⁻³	4.9X10 ⁻³	

Tabla 4. 9. Constantes cinéticas obtenidas para el fenol, COD y DQO.

La remoción del fenol fue superior al 95%, mientras que la disminución para el DQO y el COD fue del 90% y del 85% respectivamente, para las tres corridas experimentales. En la Figura 4.11 se representan las remociones para el fenol, así como la disminución para el COD y DQO. En la Tabla 4.10, se muestran valores reportados en la literatura para las constantes de remoción de los parámetros analizados.



Figura 4. 11. Comparación de la remoción de fenol y la disminución de DQO y CDO





Contaminante	Constante cinética de remoción [1/s]	Influente	Sistema utilizado	Autor	
DQO	5.78E-05	Agua residual doméstica T=25 °C	Lodos activados	Metcalf & Eddy, 2003	
	5.66E-05	Agua sintética con 50 mg/L de fenol T=24°C	Oxidación anódica	Lánez 2010	
	1.66E-05	Agua sintética con 50 mg/L de fenol T=24°C	Fotoelectrocátalisis		
	3.98X10 ⁻³	Efluentes de fabricas de papel con 3.19 mg/L	Método electroquímico (celda con tres fases)	Kula et al, 2012	
	29.1 X10-5	Aguas amargas con 200 mg/L con 30 mg/L fenol	Sistema de carbón activado asistido biológicamente	Hernández, 2010	
Carbón orgánico	5.87X10 ⁻⁵	Aguas amargas con 200 mg/L COD	Sistema de carbón activado asistido biológicamente	Hernández, 2010	
	1.30E-03	Agua amarga con 370	Oxidación Fenton		
	7.50E-04	mg/L con COD	Oxidación Foto-Fenton		

Tabla 4. 10 Valores reportados para las constantes cinéticas para la DQO y el COD

López (2010) reporta una constante cinética igual a $1.66 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ para la disminución de la DQO a una concentración inicial de 50 mg/L de fenol, mientras que la obtenida en este trabajo a una DQO inicial de 320 mg/L es de $8.5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. En el caso de la disminución del COD la constante obtenida en este trabajo a una concentración de 278 mg/L fue de 9.2×10^{-3} y la obtenida por Coelho y colaboradores en el 2006, para un agua amarga, a una concentración inicial de 370 mg/L, por medio de oxidación Fenton, fue de $1.30 \times 10^{-03} \text{ s}^{-1}$.

4.3. Caracterización del soporte

Al soporte se le determinaron diferentes características físicas, las cuáles se presentan en la Tabla 4.11.





Características físicas			
No de piezas por m ³	3200000		
Porosidad aparente[%]	87		
Densidad real [g/L]	941		
Área específica [m ² /m ³]	627.2		

Tabla 4. 11 Características físicas del soporte

Como se puede observar el soporte cuenta con una gran área específica, cumpliéndose así una de las características para elegir un empaque para este tipo de procesos.

4.4. Arranque y pruebas en el RBLE

Una vez montado el reactor biológico de lecho empacado, se comenzó con las pruebas en el mismo el día 3 de octubre del año 2011 con agua desflemada del lote 3, por lo cual se requirió un nuevo periodo de aclimatación en el RBLE. Lo primero que se hizo fue colocar medio litro de lodos del reactor discontinuo en el reactor biológico de lecho empacado mezclándola con 25% de agua desflemada y 75% de agua fresca. El reactor se alimentó de forma discontinua aumentando el volumen de agua desflemada cada vez que se obtenía una remoción mayor del 80% de la DQO hasta que se alimentó el RBLE con el 100% de agua desflemada.

En la Figura 4.12 se observa el aumento de la remoción del contaminante a lo largo de la estabilización del reactor. Como se puede observar a bajos volúmenes de agua desflemada la disminución del contaminante fue más lenta además de que en un principio la disminución del contaminante era baja debido a que la formación de la biopelícula sobre el soporte apenas iniciaba, mientras que a mayor cantidad de agua desflemada la remoción fue más rápida y los microorganismos comenzaron a remover concentraciones más altas de DQO, lo anterior se supone debido a que la biopelícula de microorganismos estaba aumentado, lo que le da mayor estabilidad a la misma y por lo tanto los microorganismos resisten cargas orgánicas más elevadas.



400





Figura 4. 12 Estabilización del RBLE con agua desflemada.

4.5. Cuantificación de la biomasa

Durante el período experimental, se realizó la cuantificación de la biomasa a cada carga orgánica volumétrica (COV) de acuerdo al procedimiento descrito en el apartado 3.5 de la metodología. Para la primera carga orgánica volumétrica se obtuvo una concentración de biomasa en el reactor de 13 gST/L y un tiempo de residencia celular (TRC) de 34 días. Para la segunda COV se obtuvo una concentración de biomasa en el reactor de 15 g/L y un TRC de 30 días. Mientras que para la última carga orgánica se obtuvo una concentración de biomasa en el reactor de 16.31 g/L y un TRC de 27 días (ANEXO 3), esta variación de la biomasa adherida al soporte se observa en la Figura 4.13. Lo anterior se atribuye al hecho de que a la primera carga orgánica volumétrica el crecimiento de la biopelícula apenas se comenzaba, por lo cual había poco desprendimiento de la misma Conforme fue aumentando la carga orgánica volumétrica la profundidad de la biopelícula también fue aumentando, por lo que la cantidad de biomasa en el reactor ya era mayor (Figura 4.13).







Figura 4. 13. Soporte a las tres COV

4.5.1 Sólidos Suspendidos Totales

Una de las ventajas de estos sistemas es la baja producción de lodos (Adav, et al, 2008). Como se puede observar en la Figura 4.14 la concentración de sólidos suspendidos totales es mayor en el efluente al aumentar la carga orgánica volumétrica. A la COV de 1.14 g/m³d se observa una cantidad promedio de SST de 135 mg/L, lo anterior debido a que en ese periodo de tiempo la cantidad de biomasa en el reactor era baja. Para la COV igual a 1.41 g/m³d se obtuvieron 166 mg/L de SST y para la última CO de 2.1 g/m³d los sólidos fueron de 201 mg/L. Lo anterior se atribuye a que conforme aumenta la cantidad de materia orgánica en el sistema también aumenta la cantidad de microorganismos, por lo que aumenta el grosor de la biopelícula adherida al soporte, lo que impide que los nutrientes





lleguen al fondo de la misma, lo que provoca que los microorganismos comiencen a utilizar el ácido poli-β-hidroxi-butírico (PHB) como reserva, ya que además de ser un adherente que permite que los microrganismos se adhieran al soporte (Schlegel, 1997), también es utilizado por las bacterias como reserva de alimento; ya que lo almacenan intracelularmente, lo que conlleva a que la biopelícula pierda adherencia al soporte y se dé el desprendimiento de la misma, obteniendo más cantidad de sólidos suspendidos totales en el efluente. Cabe mencionar que este parámetro se media cada tercer día, tal como se observa en la Figura 4.14.



Figura 4. 14. Comportamiento de los SST a diferentes cargas orgánicas

En la Tabla 4.14 se observa la concentración promedio de los sólidos suspendidos totales en el influente y el efluente del reactor.

Q [L/h]	TRH [h]	C.O.V [g/m ³ d]	SST _{Influente} [mg/L]	SST _{Efluente} [mg/L]
0.375	12	1.144	76	134.45
0.5	9	1.408	68	166
0.75	6	2.112	68	201

Tabla 4. 12. Sólidos suspedidos totales a tres diferentes cargas orgánicas





4.6. Evaluación del sistema aplicando tres diferentes cargas orgánicas volumétricas

4.6.1. Comportamiento del pH

Durante la operación del sistema fue muy importante medir el pH del sistema. Se observan ligeras variaciones para las tres cargas orgánicas volumetrías utilizadas que se muestran en la Figura 4.15, donde la variación del valor de pH fue de entre 6.9 a 7.3. Diferentes autores mencionan que el rango de pH para remover el fenol puede oscilar de 6.5 a 8 siendo el más óptimo 6.8 (El-Naas *et al*, 2009; Mordocco *et al*, 1999).



Figura 4. 15. Comportamiento del pH a diferentes cargas orgánicas

4.6.2. Seguimiento de la concentración del fenol durante el experimento

En la Figura 4.16 se observa como el fenol fue removido por los microorganismos aplicando las diferentes cargas orgánicas volumétricas establecidas. Las concentraciones finales fueron menores a 1 mg/L, sin importar la carga orgánica





utilizada. Lo anterior se atribuye al hecho de que el fenol es un compuesto que puede ser fácilmente biodegradable por los microorganismos. Se observa que las remociones alcanzadas para las tres diferentes cargas orgánicas fueron superiores del 95%.



Figura 4. 16. Comportamiento del fenol a diferentes Cargas Orgánicas.

4.5.3. Comportamiento de la DQO

En la Figura 4.17 se observa el comportamiento de la DQO a las tres cargas orgánicas. En el transcurso del tiempo durante la primera etapa con una COV=1.14 g/m³d, se obtuvieron concentraciones de DQO de 100 mg/L, y las remociones fueron aumentando hasta alcanzar un 80% de remoción el día 15 después del arranque en el RBLE.

Durante la segunda etapa de la experimentación se aplicó una COV de1.4 g/m³d y un tiempo de residencia hidráulico de 9 horas. La DQO del efluente tuvo un promedio de 168.3 mg/L. Con respecto a la disminución se obtuvo un promedio del 65% obteniendo una mayor disminución el día 30. En el caso de la tercera etapa se





aplicó una COV de 2.1 g/m³d y un tiempo de residencia hidráulico de 6 horas. En esta fase se obtuvo un promedio de 182 mg/L de fue de obteniendo disminuciones de hasta un 70% de la DQO inicial. Lo anterior se debe a que conforme disminuye el tiempo de residencia hidráulico disminuye la eficiencia para remover la materia orgánica en el sistema.



Figura 4. 17. Comportamiento de la DQO a tres diferentes Cargas Orgánicas Volumétricas.

Considerando que la concentración inicial de fenol estaba entre 200 y 210 mg/L se puede decir que este contribuye con 3/4 de la materia orgánica oxidable. La diferencia se puede atribuir a la presencia de otras sustancias como son los compuestos refractarios solubles y las Grasas y los Aceites, que aunque estas últimas disminuyeron considerablemente su concentración por medio de la decantación, aún se cuenta con una cantidad considerable la cual da respuesta a la DQO.

4.5.4. Comportamiento del COD

En la Figura 4.18 se observa que el comportamiento del COD en cada una de las fases experimentales. Se observa que para la primera carga orgánica volumétrica





de 1.14 g/m³d se obtiene una concentración final 92 mg/L, para la segunda carga orgánica volumétrica de 1.4 g/m³d la concentración final fue de 110 mg/L y para la última carga orgánica volumétrica de 2.1 g/m³d se obtiene una concentración final de 140 mg/L. Obteniéndose disminuciones del 80, 76 y 70% respectivamente. Lo que se atribuye a la misma razón de porque no disminuye la DQO, ya que a menor TRH menor es la capacidad de los microrganismos de eliminar la materia orgánica presente en el agua problema.

Otra razón que se puede considerar para justificar el comportamiento antes mencionado son los compuestos refractarios solubles y los compuestos generados en la degradación del fenol los cuales pueden ser detectados en la medición del COD, un ejemplo de estos compuestos son los ácidos tricarboxílicos.



Figura 4. 18. Comportamiento del COD a tres diferentes Cargas Orgánicas Volumétricas.





4.5.5. Comportamiento del nitrógeno

El nitrógeno durante las pruebas realizadas se determinó como nitrógeno total kjeldahl (NTK), nitrógeno amoniacal y nitrógeno orgánico. También se determinaron nitritos y nitratos, pero en ambos las concentraciones tanto en el influente como en el efluente eran menores de 1 mg/L, por lo que se consideraron valores despreciables. En la Figura 4.19 se observa el comportamiento del nitrógeno contenido durante las pruebas realizadas. Las determinaciones de nitrógeno se realizaron cada tercer día, como se mencionó en la metodología.





En la Figura 4.19, se observa como el Nitrógeno Total Kjenldahl disminuye y aumenta, lo que se atribuye tanto a la disminución y aumento de la concentración del nitrógeno amoniacal y del nitrógeno orgánico.

En el caso del nitrógeno amoniacal, decrece en un porcentaje de 13% (de 81.4 a 70 mg/L) para la primera carga orgánica. En la segunda COV se observó una disminución del 18% de 82 a 67 mg/L y en la última carga orgánica se observa una





remoción del 23% de 82 a 64 mg/L. La disminución obtenida puede atribuirse a efectos de adsorción de las moléculas con compuestos nitrogenados a los medios de soporte con biopelícula. Se tienen reportes similares de este fenómeno para SBBR con Kaldnes (Gieseke *et al.*, 1999, 2002) y para lodos activados (Nielsen, 1996) en donde la adsorción de amonio a los flóculos o medios con biopelícula puede explicar la reducción inicial de amonio sin la producción simultánea de nitrito y nitrato en el seno del líquido.

Por otro lado se tiene que una parte del nitrógeno amoniacal presente en las aguas residuales es removido por el crecimiento neto bacteriano, dicho proceso se denomina asimilación. En la práctica, no se logra más de un 5-6% de eliminación de nitrógeno por asimilación respecto a la eliminación de DBO del agua residual (Sedlak, 1991).

Se considera que el nitrógeno orgánico se transforma en amonio, lo que conlleva a que al principio de cada fase experimental aumente a nitrógeno amoniacal y disminuya el nitrógeno orgánico como se observa en la Figura 4.19. Para la primera carga orgánica volumétrica se obtiene una remoción del 71% (de 69 a 20 mg/L). En el caso de la segunda COV se obtiene un decremento del 50% (de 78 a 38.4 mg/L). Para la última carga orgánica volumétrica se obtiene un decremento del 50% (de 78 a 38.4 mg/L). Para la última carga orgánica volumétrica se obtiene un decremento del 60% (de 78 a 31 mg/L). Como el nitrógeno amoniacal disminuye a lo largo de las tres fases experimentales se observa un ligero aumento en la concentración del nitrógeno orgánico.

4.5.6 Comportamiento del azufre a las tres diferentes cargas orgánicas volumétricas

4.5.6.1 Sulfatos

En la Figura 4.20 se observa como la concentración de sulfatos a lo largo de las tres cargas orgánicas utilizadas no cambian en el influente y el efluente, lo anterior se atribuye a que en el sistema no se tienen las condiciones propicias para reducir los sulfatos a sulfuros, ya que se está trabajando bajo condiciones aerobias.







Figura 4. 20. Comportamiento de los sulfatos a tres diferentes cargas orgánicas.

4.5.6.2 Sulfuros

Con relación a la cantidad de sulfuros contenidos en el agua desflemada, en la Figura 4.21, se observa que la concentración de los sulfuros disminuye aproximadamente

La remoción obtenida de este parámetro, se puede deber a que el sulfuro disuelto se encuentra en su forma sin ionizar (H_2S) y como HS^- . Como el valor del pK_a del equilibrio ácido-base es aproximadamente 7, pequeñas variaciones en el rango de pH entre 6 a 8 puede afectar significativamente la concentración del H_2S libre (sin ionizar). A pH's neutros el sulfuro de hidrógeno libre cuenta como el 50% del sulfuro disuelto total, mientras que a pH=8 solo representa alrededor del 10% (Lens & Hulshoff Pol. 2000). Por lo que el 50% de la remoción de sulfuros se debe a su volatilización como H_2S . al 50% con respecto a la concentración inicial.







Figura 4. 21. Comportamiento de los sulfuros a diferentes cargas orgánicas.





CAPITULO 5

5. CONCLUSIONES

- Con base en la caracterización se observó que el agua a tratar es poco biodegradable ya que se calculó una relación DBO/DQO de 0.25.
- La aclimatación de los microorganismos al agua desflemada fue relativamente rápida. Se obtuvieron disminuciones de más del 80% de DQO. Lo anterior se logró controlando la relación de nutrientes alimentados, el valor de pH entre 6.5-7.5 y la alimentación de un agua real de manera paulatina.
- Se observó que el sistema propuesto se ajusta a la teoría de las reacciones de orden cero con base en los datos cinéticos obtenidos.
- Se logró la Inoculación del soporte plástico con microorganismos en el RBLE. obteniéndose 13 gST/L a una carga orgánica volumétrica de 1.14 g/m³*d, 15 gST/L a una carga orgánica volumétrica de 1.41 g/m³*d y 16.1 gST/L a carga orgánica volumétrica de 2.1 g/m³*d.
- Se observó que las mejores condiciones de operación fueron a un tiempo de residencia hidráulico de 12 horas y una carga orgánica volumétrica de 1.14 g/m³*d, obteniéndose remociones de más del 99% de fenol y disminuciones del 80% de COD y DQO. Llegando a una concentración final menor a 1mg/L de fenol, 113 mg O₂/L para el DQO y de 92 mg/L para el COD. Por lo que a cargas orgánicas bajas la disminución de la materia orgánica es mayor que a cargas orgánicas altas.





REFERENCIAS

Abwassertechnik (19). Abwassertechnischen Vereinigung e.V. Biologische Chemische und weitergehende Abwasserreinigung. Tercera edición. Wilhelm Ernst & Sons. Berlín, RFA, 279-284.

Adav, S., Lee, D., Show, K., Tay, J.(2008). Aerobic granular sludge: Recent advances. *Biotechnology Advances*. 26, 411-423.

Aelion C., Dobbins D. y Pfaender F. (1989). Adaptation of aquifer microbial communities to the biodegradation of xenobiotic compounds: influence substrate concentration and preexposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 8, 75-86

Agarry S., Durojaiye R., Yusuf R. y Aremu M. (2008). Biodegradation of phenol in refinery wastewater by pure cultures of Pseudomonas aeruginosa NCIB 950 and Pseudomonas fluorescence NCIB 3756. *International Journal of Environment and Pollution*. 32, 3-11.

Atlas R. y Bartha, R. (2005). Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. 5th edición. Pearson Educacion, S.A. España. 620 pp.

Ayodele O., Lim J. y Hameed.B. (2012). Degradation of phenol in photo-Fenton process by phosphoric acid modified kaolin supported ferric-oxalate catalyts: Optimization and kinetic modeling. *Chemical Engineering Journal.* 197, 181-192.

Barrios A., Barbot E., Marrot B., Moulin P.y Roche, R. (2006). Deradation of synthetic phenol-containin wastewater by MBR. *Jounal of Membrane Science*. 281, 288-296.

Benmoussa H., Martin G., Tonnard F., Richard Y.y Leprience A. (1986). Inhibition study of the nitrification by organic compounds. *Water Research*. 20, 1465-1470.

Banerjee A. y Ghoshal A. (2011). Phenol degradation performance by isolated *Bacillus cereus* immobilized in alginate. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 65, 1052-1060.

Betancourth, M., Boreto, J., Rivera, S. (2004). Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Revista Colombia Médica*. 35, 34-39.

Biopelícula.<u>http://books.google.com.mx/books?id=tcwKhFBpmT4C&pg=PA41</u> <u>&dq=biopelicula+propiedades+fisicas&hl=es&ei=tyjbTLjrMcqs8Aao4KSLCQ&sa=X</u> <u>&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCsQ6AEwAA#v=onepage&q&f=fals</u> <u>e</u>. 6 de noviembre del 2010.

Bishop, P. (1997). Biofilm structure and kinetics. Water Science and Technology. 36, 287-294.

Bitton G. (1994). Wastewater Microbiology. 1ª edición. Ed. Wiley-Liss.

Bonomo, L., Pastorelli, G., Quinto, E., Rinaldi, G. (2000b). Tertiary nitrification in pure oxygen moving bed biofilm reactors. *Water. Science. Technology.* 41(4-5), 361-368.

Borghei, S. and Hosseini, S. (2004). The treatment of phenolic wastewater using a moving bed biofilm reactor. *Process Biochemistry*. 39, 1177-1181.





Branda S., Vik A., Friedman L. y Kolter R. (2005). Biofilms: matrix revisited. *Trends in Microbiology*. 13, 20-26.

Broch-Due A., Andersen R. y Kristoffersen, O. (1994). Pilot plant experience with an aerobic moving bed biofilm reactor for treatment of NSSC wastewater. *Water Science and Technology*. 29(5-6), 283-294.

Chang R. (2005). Química. 7a Edición. Edit. Mc Graw Hill. México.

Cheremisinoff N. (1996). Biotechnology for waste and wastewater treatment. 1^a Edition, Noyes Publications.

Chapelle F. (1993). Ground-water microbiology and geochemistry. 1^a Edición. Edit. Wiley-Liss. USA.

Choi H. y Silvertein J. (2007). Effluent Recirculation to Improve Perchorate. *Biotechnology and Bioengineering*. 98, 132-140.

Christensen G., Simpson W., Younger J., Baddour L., Barret F., Melton D. y Beachey, E. (1985). *Journal of Clinical Microbiology.* 22, 996-1006.

Contreras E., Albertario M. Bertola N. y Zaritzky N. Modellin phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques. *Journal Hazardous Materials.* 158,366-374.

Comett-Ambriz I., González-Martínez S. y Wilderer P. (2003). Comparison of the performance of MBBR and SBR systems for the treatment of anaerobic reactor treating biowaste effluents. *Water. Science. Technology*. 47(12), 155-161.

Costerton J. Philip S. y Geenber, E. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*. 284, 1318-1322.

Cucarella C., Solano C., Valle J., Amorena B., Lasa I. y Penades, J. (2001). Bap, Staphylococcus aureus surface protein involved in biofilm formation. *Journal Bacteriology*. 183, 2888-2896.

Davies D., Parsek M., Person J., Iglewski B. y Costerton J. (1998). The involvement of Cell-to-Cell Signals in the Development of a Bacterial Biofilm. *Science*. 280, 295-298.

Díaz M. (2003). Filtros biológicos sumergidos y aereados. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*. XXIV, 42-47.

dosSantos V. De Souza A. Telles D. y Matos M. (2009). Phenol degradation by Aurebasidiumpullulans FE13 isolated from industrial effluents. *Journal of Hazardous.* 161, 7.

Dulkadiroglu H., Cokgor E., Artan N. y Orhon D. (2005). The effect of temperatura and sludge age on COD removal and nitrification in a moving bed sequencing batch biofilm reactor. *Water. Science. Technology*. 51, 95-103.

Dupla M., Comeau Y., Parent S., Villemur R. y Jolicoeur, M. (2006). Design optimization of a self-cleaning moving-bed bioreactor for seawater denitrification. *Water Research*. 40, 249-258.





Eighmy T., Maratea D. y Bishop L. (1983). Electron microscopic examination of wastewater biofilm formation and structural components. *Applied and Environmental Microbiology.* 45, 1921-1931.

El-Naas M., Al-Muhtaseb S. y Makhlouf S. (2009). Biodegradaton of phenol by *Pseudomonas putidaimmobilized* in polyvinyl alcohol (PVA) gel. *Journal of Hazardous Materials*. 164, 720-725.

Ekpo M. y Udofia U. (2008). Rate of biodegradation of crude oil by microorganisms isolated from oil sludge environment. *African Journal of Biotechnology*. 7, 4495-4499.

Evans L. (2000). Biofilms: recent advances in their study and control. Harwood Academic Publishers. Amsterdam.

Eweis J., Ergas S., Chang D y Schroeder E. (1998). Biorremediation principles. McGraw-Hill, Boston.

Faleiro P. (2010). Formación de biopelículas por "Escherichia Coli" y su correlación con factores de virulencia: Prevención y Actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a biopelículas. *Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.* Madrid, España.

Fuqua C. y Greenberg E. P. (2002). Listening in on bacteria: Acyl-homoserine lactone signalling. *Molecular Cell Biology.* 3: 685-695.

Garzon Z., González M. (1996). Biological phosphate and nitrogen removal in a biofilm sequencing batch reactor. *Water. Science. Technology.* IAWQ, 34 (1-2). 293-301.

Gerardi H. (2006). Wastewater Bacteria. 1ª Edición. Ed. Wiley-Interscience.

Gieseke A., Arnz P., Amann R. y Schramm A. (2002). Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: insights from reactor- and microescale investigations. *Water Research*. 36. 501-509.

Goller C., y Romeo T. (2008). Environmental Influences on Biofilm Development. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 322, 37-67.

Gupta V., Carrott P. y Ribeiro M. (2009).Low- Cost Adsorbents: Growing Approach to Wastewater Treatment- a Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 35, 783-842.

Hai F., Yamamoto K. y Fukushi K. (2009). Sistemas de tratamiento hibrido para aguas residuales con colorantes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 315-377 pp.

Hambrick G., DeLaune R. yPatrick W. (1980). Effect of Estuarine Sediment pH and Oxidation-Reduction Potential of Microbial Hydrocarbon Degradation. 365-369 pp.

Hansler, S. (2008). Conceptual Level Design for MBBR Option. Excellence in Environmental Consulting Services.

Helmer C. y Kunst S. (1997). Simultaneous nitrification/denitrification in an aerobic biofilm system. Second International conference on Microorganisms in





Activated Sludge and Biofilm Process. *Ed. O. Jenkins, S.W. Hermanowics*. Berkeley, California, EEUUA.

Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Mundial del Agua UNESCO. 2003. Agua para la gente agua para la vida.

Hernández G. (2010). Aplicación de un sistema de carbón activado asistido biológicamente para la depuración de agua amargas pretratadas en un proceso de desorción. *Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.* México D.F.

Hooshyary B., Azimi A. y Mehrdadi N. (2009). Kinetic analysis of enhanced biological phosphorus removal in a hybrid integrated fixed film activated sludge process. International Journal of Environmental Science and Technology. 6(1). 149-158.

Hsien y Lin. (2005). Biodegradation of phenolic wastewater in a fixed biofilm reactor (2005). Biochemical Engineering Journal V.27 pp. 95-103.

Jerábková H., Králová B., Josef N. Biofilm of *Pseudomonas* C12B on glass support as catalytic agent for continuous SDC removal (1999). International Biodeterioration & Biodegradation 44, 233-241.

Iwai S. y Kitao T. (1996). Wastewater treatment with microbial films. Technomic *Publishing Company, Inc.* EEUUA, 184.

Über Kayser R. (1971). Beitrag Berechnung des zur Überschußschlammanfalles beim Belebungsverfahren. Zeitschrift Österreichische 73-78. En Abwassertechnick Abwasserrundschau 16, Folge 5, (1985)Abwassertechnischen Vereinigung e.V. Biologisch-chemische und weitergehende Abwasserreinigung. Tercera edición. Wilhelm Ernst & Sons. Berlín, RFA. 279-284.

Khan F., Zain M. y Qamar S. (2009). Biodegradation of phenol by aerobic granulation technology. *Water Science & Technology*. **59** (2), 273-279.

Kim J., Choi H. y Pachepsky Y. (2010). Biofilm morphology as related to the porous media clogging. *Water Research*. 44, 1193-1201.

Kula I., Karaoglu M. y Ugurlu M. (2006). Experimental Investigation of Chemical Oxygen Demand, Lignin and Phenol Removal from Paper Mill Effluents Using Three-Phase Three Dimensional Electrode Reactor. *Polish Journal of Environmental Studies*. **15**(4). 647-654.

Kumaran P. y Parachuri Y. (1997). Kinetics of phenol biotransformation. *Water Research*. 31, 11-12.

Larrea L., Zalakain G. y Abad A. (2004). Ventajas y aplicaciones de la tecnología de lecho móvil en aguas residuales urbanas e industriales. *Tecnología del agua*. 255. 30-38

Lazarova V. y Manem, J. (1994). Advances in biofilms aerobic reactors ensuring effective biofilm activity control. *Water. Science. Technology*. 29 (10/11), 319-327.





Lehninger A. L., Nelson D.L. y Cox M.M., 2005. Lehninger principles of biochemistry. W.H. Freeman.

Lens P., Hulshoff y Pol L. (2000). Environmental Technologies to treat Sulfur Pollution. First edition. IWA Publishing.

Lewandowski Z., Stoodley P., Altobello S. y Fukushima E. (1994). Hydrodynamics and kinetics in biofilm systems – Recent advances and new problems. *Water Science and Technology*. 29, 223-229.

López O. (2010). Tratamiento de fenol utilizando celdas eletroquímicas funcionando con los principios de oxidación anódica, electrogeneración del reactivo de fenton y fotocatálisis. *Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.* D.F.

Luo Q., Zhang X., Wang H. y Qian Y. (2005). The use of non-uniform electrokinetics to enhance in situ bioremediation of phenol-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 121, 187-194.

Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. (2003). Biología de los microorganismos. 10th Edición. Prentice Hall. Madrid-España. 130-140, 151, 357-630 pp.

Manual de operación de la Sección de Aguas Amargas (2005). PEMEX, Refinación. México.

March J. C. y Bentley W. E. (2004). Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology* 15, 495-502.

Mc. Carthy M. (2001) Breaking up the bacterial happy home. Lancet. 2032-2003 pp.

Mkandawire, M., Föster, J., Fiedler, D., Böttecher, H., Pompe, W. (2009). Spectrophotometric verification of biodegradation of phenol in a flow dynamics biocers-based bioreactor system. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 89, 529-541.

Metcalf y Eddy. (2003). Wastewater Engineering. Treatment and Reuse. Fourth Edition. Mc. Graw Hill.

Moussavi G. Mahmoudi M. y Barikbin B. (2009). Biological removal of phenol from strong wastewaters using a novel MSBR. *Water Research*. 43, 7.

Memoria de Labores, 2001. PEMEX, México

Mordocco A., Kuek C. y Roger J. (1999). Continuous degradation of phenol at low concentration using immobilized *Pseudomonas putida*. *Enzyme and Microbial Technology*. **25**(6), 530-536.

Moreno I. (2006). Biodegradación optima de compuestos fenólicos en un reactor discontinuo secuencial. *Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México*. D.F.

Nikov I., Nikolov V y Dimitrov D. (1999). Biodegradation of aniline using light carriers whit optimized surface in TPIFB. *Bioprocess Bioengineering.* 21, 547-552

Nicolella C., van Loosdrecht M. y Heijnen, J. (2000). Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology*. 80,1-33.





Nielsen H. (1996). Adsortion of ammonium to activated sludge. *Water Research.* **30** (3). 762-764.

Orantes J. (2001). Reactor de lecho móvil para tratar aguas residuales usando un nuevo material de soporte. *Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México*. D.F.

Pardo, J., Perdomo, M., Benavidez, J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal.*

Pasinetti E. y Emondi V. (2003). Moving bed biofilm reactor: A novel methodological approach for biomass and population dynamic assessment from several pilot and full scale reactors. En 5th Biofilm System Conference IWA. Ciudad del Cabo, Sudáfrica.

PEMEX, (2011). Memorias de Labores. 152 pp.

Picioreanu C., van Loosdrecht M. y Heijnen J. (2000). Effect of diffusive and convective substrate transport on biofilm structure formation: a two-dimensional modeling study. *Biotechnology Bioengineering.* **59** (3), 302-309.

Pozo G. (2009). Optimización de la operación de un reactor aerobico de biopelícula bacteriana inmovilizada: incidencia de los nutrientes en la biosíntesis de polihidroxialcanoato (PHA) como producto del tratamiento de efluentes de celulosa Kraft. Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, Chile.

Razo, D. (2003). Biorremediación de suelos contaminados con fenol. *Tesis de Licenciatura. Universidad de las Américas de Puebla. Escuela de Ciencias. Departamento de Química y Biología.* México, Puebla. 3-29 pp.

Roberson, L, A. y Keunen J.G. (1992). The colorless sulfur bacteria. En: The prokariotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications, (Barlows, A., Truper, H.G., Dworking, M. Harder, W., Schliefer, H.K., eds.) Segunda edición. Springer Verlag, New York. 1. 385-413 pp.

Rodríguez S. y Bishop, P. (2007). Three- Dimensional Quantification of Soil Biofilms Using Image Analysis. *Environmental Engineering Science*. 24, 96-105.

Rouse J., Strazar M., Levstek, M. (2007). A Pilot-plan study of moving-bed biofilm reactor system using PVA gel as a biocarrier for removals of organic carbón and nitrogen. *Water Science Technology*. 55,135-141

Roy K. y Popelier P. (2008). Exploring predictive QSAR models for hepatocyte toxicity of phenols using QTMS descriptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 18. 2604-2609.

Rusten B., Eikebrokk B., Ulgenes Y. y Lygren E. (2006). Desing and operations of kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural enginnering*. 34, 322-331.





Saucedo R., Mavaréz G., Bautistas R. y Manzanares L., (2008). Materiales de soporte para el crecimiento de biopelícula en un reactor de lecho fluidificado. *Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable. Artículo Arbitrario.* **2**(2), 118-130.

Shawabkeha R., Khleifat K., Al-Majali I. y Tarawneh K. (2007). Rate of biodegradation of phenol by *Klebsiella oxytoca* in minimal medium and nutrient broth conditions. *Bioremediation Journal.* **11**(1) 13-19.

Schlegel H. (1997). Microbiología general. 7a Edición. Editorial Omega.

Sedlak R. (1991). Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater. Principles and practice, 2nd edition, Lewis publishers, USA.

Singleton P. (2004). Bacterias en Biología, Biotecnología y Medicina. 5^a edición. Ed. Acriba.

Sipma J., Osuna M., Emanuelsson M. y Castro P. (2010). Biotretament of Industrial Wastewater under Trasient-State Conditions: Process Stability with Fluctuations of Organic Load, Substrates, Toxicants, and Environmental Parameters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 35, 148-196.

Stoodley, P., de Beer, D., Lewandowski, Z (1994). Liquid Flow in Biofilm System. *Applied and Environmental Microbiology*. 60, 2711-2716.

Suárez M. (1993). Degradación de los ácidos 3 y 4-hidroxibenzoico en *Klebsiella pneumoniae*: purificación, caracterización y propiedades de las hidroxilasas. *Tesis de Doctorado. Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Puras.* Madrid, España.

Sudipta D. y Somanth M. (2010). Kinetics Studies for an aerobic packed bed biofilm reactor for treatment of organic wastewater with and whithout phenol. *Journal Water Resource and Protection*. 2, 731-738.

Surampalli Y., Tyagi D., Scheible O. y Heidman A. (1997). Nitrification, denitrification, and phosphorus removal in sequential batch reactor. *Bioresource Technology*. 67. 151-157.

Sutherland I. (2009). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology. V. 147.pp. 3-9.

Tahar N. y Savall A. (2009). Electrochemical removal of phenol in alkaline solution. Contribution of the anodic polymerization on different electrode materials. *Electrochimica Acta*. 54. 4809-4816.

Valdivia C. (2005). Tratamiento de aguas residuales municipales utilizando tres diferentes medios de soporte en lechos empacados. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Treybal R. (1996). Operaciones de transferencia de masa. 2ª Edición. Edit. McGraw Hill Intermanericana. México.

Tyagi R. y Vembu K. (1990) Wastewater treatment by immobilized cells. *CRC Press, Inc.* USA.





Vanhooren H., Yuan Z. y Vanrolleghem P. (2002). Benchmarking nitrogen removal suspended-carrier biofilm systems using dynamic simulation. *Water Science. Technology.* 46, 327-332.

Vidya, K., Kalifathulla, I., Srinkethan, G. (2007). Performance of pulsed plate bioreactor for degradation of phenol. *Journal of Hazardous Material*. 140, 346-352.

Wang L., Fu J., Qiao Q. y Zhao Y. (2006). Kinetic modeling of electrochemical degradation of phenol in a three-dimension electrode process. *Journal of Hazardous Materials*. 144, 118-125.

Wang S, Chandrasekhara R., Qiu R. y Moletta R. (2009). Performance and kinetic evaluation of anaerobic moving bed biofilm reactor of treating milk permeate from dairy industry. Bioresource Technology. **100** (23), 5641-5647.

Welter A., Romero J., Grumelli Y., Sánchez J. y Ascar G. (2005). La biopelícula en los procesos RBC. *Universidad Catolica de Córdoba, Facultad de Ingeniería.* Córdoba, Argentina.

Whiteley A. y Bayley M.(2000). Bacterial Community Structure and Physyological State within an Industrial Phenol Bioremediation System. *Applied and Environmental Microbiology*.**66** (6).2400-2407.

Zeng,R., Yuan, Z., Keller, J. (2004a). Improved understanding of the interactions and complexities of biological nitrogen and phosphorus removal processes. *Environmental. Science. Biotechnology*. 62, 265-272.

Zheng C., Zhou J., Qu B., Wang J., Lu H. y Zhao, H., (2009). Aerobic degradation of nitrobenzene by immobilization of *Rhodotorula mucilaginosa* in polyurethane foam. *Journal of Hazardous Materials*. 168, 298-303.





ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para las dimensiones del reactor

Para el cálculo de las dimensiones del reactor, se utilizó la siguiente ecuación:

 $V_{reactor} = r_{interno}^2 * \pi * h_{reactor}$

Dónde:

 $V_{reactor} = volumen \, del \, reactor$ $h_{reactor} = altura \, del \, reactor$ $r_{interno} = radio \, interno \, del \, reactor$

Despejando la altura obtenemos que:

$$h_{reactor} = \frac{V}{r^2 * \pi}$$

Calculando:

$$h_{reactor} = \frac{8E^{-3} m^3}{(0.071^2 m^2 * \pi)}$$

$$h_{reactor} = 0.505 m = 50.5 cm$$

Para el cálculo de la altura del lecho, se realizó lo mismo.

$$h_{lecho} = \frac{V_{lecho}}{r_{interno}^2 * \pi}$$

Dónde:

 $V_{lecho} = Volumen \, del \, lecho$ $r_{interno} = radio \, interno \, del \, reactor$ $h_{lecho} = altura \, del \, lecho$

Calculando:

 $h_{reactor} = \frac{3E^{-3} m^3}{(0.071^2 m^2 * \pi)}$

 $h_{reactor} = 0.1894 m = 18.94 cm$





Una vez calculada la altura, se procedió a determinar el núm3ero de perforaciones en la placa de acrílico. Primero se calculó el área de la placa.

 $a_{placa} = \pi * r_{placa}^2$

Donde:

 $a_{placa} = {
m á} rea \, de \, la \, placa$ $r_{placa} = radio \, de \, la \, placa$ $a_{placa} = \pi * 7.1 \, cm$ $a_{placa} = 158.4 \, cm^2$

Considerando el diámetro de 2 cm radio sería de 1 cm, y se determinó el área:

 $a_{perforación} = \pi * r_{perforación}$

 $a_{perforación} = \pi * 1 cm$

 $a_{perforación} = 3.1416 \ cm^2$

Aplicando la herramienta de Excel, Solver, para saber el número de perforaciones para cubrir el área total de la placa.





Anexo 2. Calidad del agua requerida en diferentes usos y servicios de las Refinerías

PARAMÉTROS	AGUA A TORRES ENFRIAMIENTO	AGUA CONTRA INCENDIO	AGUA A CALDERAS
SiO ₂ ppm	12	16	4
Fenoles ppm	0	0.005	_
N-NH₃ ppm	0.038	0.05	-
Coliformes fecales col/1 OOml	0	0	_
Conductividad eléctrica mmhos/cm	384	512	500/ 2000
S.A.A.M. ppm	0	0.5-3	-
D.B.O. tot. Ppm	=<11	=<15	-
D.Q.O. tot. Ppm	=<75	=<100	—
Grasas y aceites ppm	=<7.5	=<10	_
рН	7	6-9	10.3
Plomo ppm	0.04	0.046	_
Cromo ppm	—	RAS<6	_
Sulfuros ppm	0.48	0.5-1	-
Fosfatos ppm	0.75	1	0
Temperatura °C	20	25	95
PARÁMETRO PPM COMO CaCO ₃	AGUA A TORRES ENFRIAMIENTO	AGUA CONTRA INCENDIO	AGUA A CALDERAS
Dureza de calcio.	35	35	0
Dureza de magnesio	55	70	0
Bicarbonatos	0	0	0
Carbonatos	0	15	0
Cloruros ppm	70	91	0
Sulfatos ppm	102	136	0
Dureza total	90	105	0
Alcalinidad total	35	50	5-10
Sólidos totales disueltos STD ppm	300	394	2-8
Sólidos suspendidos totales SST ppm	=<20	=<30	_

Tabla A. 1 Calidad del agua requerida para calderas

NOTA: El agua de lavado de reactores y lavado de pisos debe tener la misma calidad que el agua de torres de enfriamiento.

La calidad del agua para la preparación de soluciones químicas debe tener la misma calidad que el agua de calderas o calidad de agua de po



Anexo 3. Determinación de la biomasa en el reactor biológico de lecho empacado

Para la determinación de la biomasa presente en el reactor biológico de lecho empacado lo primero que se hizo fue colectar tres medios de soporte con biomasa, después se desprendió la biomasa adherida al material en un volumen de 15 mL de sosa. En un crisol, previamente puesto a peso constante (G₁), se colocó la biomasa recolectada de los tres soportes y se llevó a sequedad en la estufa a 103°C -105°C. Después se enfrió en el desecador hasta temperatura ambiente y se determinó su peso hasta alcanzar peso constante. Este valor se registró como G₂. Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

Con los pesos obtenidos se calcularon los ST (Ecuación A.1):

$$\frac{G_2 - G_1(g)}{\text{área de la partícula } (m^2)} = ST \qquad Ecuación A.1$$

Luego se determino la masa seca que había en el sistema (Ecuación A.2)::

$$ST\left(\frac{g}{m^{2}}\right)*$$
área total expuesta (m²) = masa seca total (g) Ecuación A.2

Para determinar la concentración en el reactor la masa seca total se dividió y entre el volumen real del reactor (Ecuación A.3):

 $\frac{masa\ seca\ total\ (g)}{volumen\ real\ del\ reator(L)} = Concentración\ de\ la\ biomasa\ (^g/_L) \quad Ecuación\ A.3$

Una vez determinada la concentración de biomasa en el reactor, se determinó el TRC, con la ecuación A.4:

$$TRC = \frac{V(L) * X(g/L)}{Q(L/d) * SST(g/L)}$$
 Ecuación A. 4





A continuación se muestra como ejemplo de lo anterior los cálculos realizados para obtener el TRC para el caso de la primera carga orgánica:

Datos:

$$G_1 = 20.1998 (g)$$

 $G_2 = 20.2317 (g)$
Área de la partícula = 20.36 (m²)
Área total expuesta: 1.88 (m²)
Volumeno real del reactor: 2.6 (L)
 $Q = L/d$
 $SST = 0.13 (g/L)$

Cálculos

$$\frac{20.2317 - 20.1998(g)}{0.00196(m^2)} = 20.36 \left(\frac{g}{m^2}\right)$$

$$ST = 20.36 \left(\frac{g}{m^2}\right)$$

20.36
$$\binom{g}{m^2} * 1.88(m^2) = 38.3 g$$

masa seca total = 38.3 g

$$\frac{38.3 (g)}{2.6 (L)} = 12.77 (g/L)$$

$$X = 12.77 (g/L)$$

$$\frac{2.6 (L) * 12.77(g/L)}{9(L/d) * 0.13 (g/L)} = 29.12$$
$$TRC = 29$$