

# Eliminación de nitrato, azufre y materia orgánica compleja mediante desnitrificación simultánea autótrofa y heterótrofa

Lorna Guerrero<sup>1</sup>, Juan Aguirre<sup>1</sup>, Andrea Barahona<sup>1</sup>, Cesar Huilínir<sup>2</sup>, Silvio Montalvo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile, [lorna.guerrero@usm.cl](mailto:lorna.guerrero@usm.cl)

<sup>2</sup> Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Santiago de Chile, Chile, [silvio.montalvo@usach.cl](mailto:silvio.montalvo@usach.cl)

---

**Resumen.** En esta investigación se realizó la operación de un reactor de manto de lodos híbrido (UASFB) de 1 L de volumen efectivo, el cual fue mantenido a 30°C, en donde se evaluó el proceso de desnitrificación autótrofa y heterótrofa simultánea. El objetivo central de la investigación es remover nitrato, tiosulfato y materia orgánica utilizando agua residual sintética. Primero se realizó el enriquecimiento de las bacterias autótrofas y heterótrofas por separado, a partir de un inóculo mixto. Luego se inoculó el reactor UASFB con 2 g/L de SSV a una razón de bacterias 1,5:1,0 (autótrofas:heterótrofas). El ril sintético se compuso de: Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>COOK, NaNO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl y una solución de micronutrientes. Durante la operación del reactor se varió la carga orgánica (VCO), carga nitrogenada (VCN) y carga azufrada (VCS). Se estudiaron dos condiciones de alimentación: I) relación carbono/nitrógeno (DQO/N) de 3.6 y VCS 0,75 kg S/m<sup>3</sup>/d; II) DQO/N de 5.8 y VCS de 0,25 kg S/m<sup>3</sup>/d. Los resultados muestran que existió coexistencia de bacterias autótrofas y heterótrofas, además bajo las condiciones de operación presentadas se obtuvo máximos de 99,5% para nitrato, 75,8% para materia orgánica y 32,5% para tiosulfato.

**Palabras Claves:** filtro anaerobio, desnitrificación autótrofa, desnitrificación heterótrofa, UASB

**Abstract.** In this investigation operation of a UASB-Anaerobic Filter Reactor (UASFB) of 1 L, maintained at 30°C, is evaluated in order to carry out the simultaneous autotrophic and heterotrophic denitrification process. The objective is to remove nitrate, thiosulfate and organic matter from synthetic wastewater. First, the heterotrophic and autotrophic populations were separately enriched, with specific cultures and subsequently the UASFB was inoculated with 2 g/L of VSS, in the following ratio 1.5:1,0 (autotrophs:heterotrophs). The influent is composed of: Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>COOK, NaNO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl and saline solution. The concentrations varied depending on the organic load ratio (OLR), nitrogen (NLR) and sulfur (SLR) applied. With regards to the feed, 2 conditions were analyzed and worked with: i) COD/N of 3.6 and SLR of 0.75 kg S/m<sup>3</sup>/d; ii) COD/N of 5.8 and SLR of 0.25 kg S/m<sup>3</sup>/d. The results show that the coexistence of autotrophic and heterotrophic denitrifying microorganisms was achieved. Under the last indicated operating conditions, the maximum removal obtained for nitrate was 99.5%, for organic matter it was 75.8% and for thiosulfate it was 32.5%.

**Keywords:** anaerobic Filter, Autotrophic Denitrification, Heterotrophic Denitrification, UASB

## 1. Introducción

Las aguas residuales producidas en industrias como la textil, procesamiento de alimentos y celulosa, son ricas en compuestos orgánicos, nitrogenados y azufrados. Por su altacarga orgánica, generalmente son tratadas en sistemas anaerobios, generándose altas concentraciones de compuestos reducidos de azufre, como el sulfuro y compuestos de nitrógeno como amonio (1). Además, el efluente del proceso anaerobio, en muchos casos, debe ser sometido a un tratamiento aerobio con el objeto de reducir la carga orgánica remanente a niveles permitidos por la legislación. El sulfuro además provoca efectos tóxicos sobre la actividad nitrificante en concentraciones superiores a 0,5 mg/L, favoreciendo el crecimiento de bacterias filamentosas y la ruptura de los flóculos microbianos, incrementándose los costos operacionales debido a la mayor demanda de oxígeno (2, 3).

Además, el efluente del sistema aerobio debe ser sometido a una desnitrificación para eliminar los compuestos de nitrógeno producidos ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ). La desnitrificación heterótrofa es el proceso convencional para la eliminación de éstos, en la cual también se reduce materia orgánica por la alta relación C/N requerida para llevarlo a cabo. Por otro lado, en la desnitrificación autótrofa se logra eliminar, además el azufre, ya que se utiliza en sus formas reducidas ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{S}_0$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ) como dador de electrones. Por ello, resulta de interés estudiar si es posible la coexistencia de microorganismos heterótrofos y autótrofos para la eliminación conjunta de materia orgánica, nitrógeno y azufre.

El objetivo principal de este trabajo es el desarrollo de una tecnología integrada, con elevada eficiencia, para la remoción de compuestos de nitrógeno y azufre en presencia de materia orgánica compleja.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Enriquecimiento de microorganismos desnitrificantes heterótrofos

La experiencia se realizó en un reactor de 2,2 L, operado a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , el proceso de desnitrificación heterótrofa se realiza vía nitrito. El reactor utilizado es un UASB híbrido (anillos raschig sustituyen las campanas de separación de fases) UASFB. El inóculo utilizado provino de un reactor UASB utilizado para la remoción de materia orgánica de aguas de tabacalera

La composición del agua sintética se muestra en la Tabla 1. Los parámetros de control realizados tres veces a la semana eran: sólidos suspendidos totales y volátiles (SST y SSV), nitrato, nitrito y DQO.

Las condiciones de operación, manteniendo la relación C/N de 5.5 (4), fueron:

- Primera etapa: VCO de 1 kg DQO/ $\text{m}^3/\text{d}$  y VCN de 0,045 kg N- $\text{NO}_2^-/\text{m}^3/\text{d}$ .
- Segunda etapa: VCO de 3 kg DQO/ $\text{m}^3/\text{d}$  y VCN de 0,134 kg N- $\text{NO}_2^-/\text{m}^3/\text{d}$ .

Tabla 1. Composición del agua sintética para el enriquecimiento de microorganismos heterótrofos.

Compuesto	Unidad	Primera etapa	Segunda etapa	Solución micronutrientes	
				Compuesto	Concentración
$\text{CH}_3\text{COOK}$	g/L	63,8	51,0	EDTA, g/L	0,15
$\text{NaNO}_2$	g/L	14,0	11,2	HCl, mL/L	1,0
Extracto de levadura	g/L	2,0	1,6	$\text{FeSO}_4$ , g/L	2,0
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	g/L	10,0	8,0	HBr, $\mu\text{L}/\text{L}$	70
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	g/L	31,6	25,3	$\text{ZnCl}_2$ , g/L	0,05
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	g/L	25,0	20,0	$\text{MgCl}_2$ , g/L	0,05
Solución micronutrientes	mL/L	13,5	10,8		

### 2.2 Enriquecimiento de microorganismos desnitrificantes autótrofos

Se operaron dos reactores, con volumen efectivo de 1,5 L, agitados a 150 rpm y mantenidos a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  (ver Figura 1). Uno de ellos fue inoculado con un lodo proveniente de una laguna anaerobia que trata de purines de cerdo y el otro con lodos de un SBR (*Sequencing Batch Reactor*) utilizado en la nitrificación-desnitrificación heterótrofa de una industria de levaduras.

El reactor de enriquecimiento fue operado *fed batch* (5) durante 90 días, con ciclos consecutivos cada 6 días en un comienzo y luego cada 3 días, donde se descargaba 1 L de efluente y se cargaba igual cantidad de medio de cultivo. Los parámetros de control

realizados a la muestra obtenida cada vez eran: SST y SSV, nitrato, nitrito, sulfato y tiosulfato. El medio de cultivo utilizado se indica en la Tabla 2, operando el reactor bajo condiciones limitadas por nitrato. La razón estequiométrica de S-S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>-</sup> sobre N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (S/N) es de 2,85.

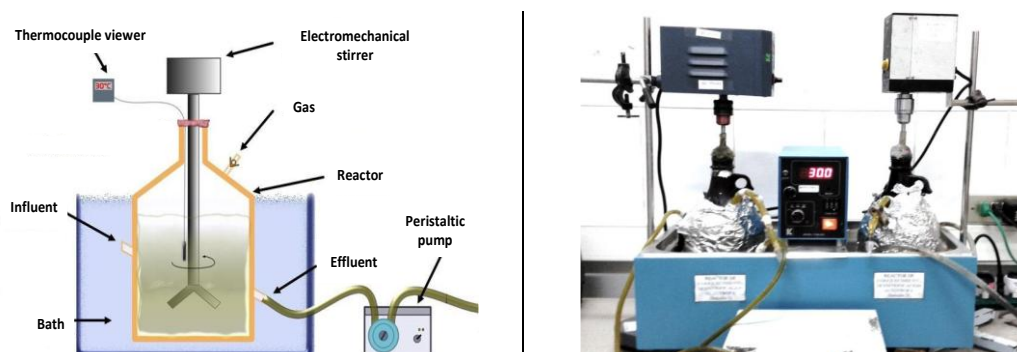


Figura 1. Diagrama y fotografía de los reactores de enriquecimiento en bacterias desnitrificantes autótrofas.

Tabla 2. Medio de cultivo utilizado en el enriquecimiento de bacterias desnitrificantes autótrofas.

Compuesto	Cantidad [g/L]	Solución de micronutrientes			
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	5,0	Compuesto	[g/L]	Compuesto	[g/L]
NaNO <sub>3</sub>	1,2	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,73	CuCO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,25
NaHCO <sub>3</sub>	1,5	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	30,0	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,25
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5	ZnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,0	NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,25
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,3	CaCO <sub>3</sub>	2,0	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,50
NH <sub>4</sub> Cl	0,1	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,5	HCl (32%)	50,0
Solución micronutrientes mL/L	1,0				

### 2.3 Desnitrificación autótrofa y heterótrofa simultánea

Una vez enriquecidos los inóculos autótrofo y heterótrofo, se realiza la puesta en marcha de un reactor UASFB, de 1 L, operado a 30 ±1 °C. Se definieron velocidades de carga (VCO, VCN y VCS) que fueron modificadas en base a lo observado. Las velocidades iniciales fueron 0,62 kg DQO/m<sup>3</sup>/d, 0,28 kg N/m<sup>3</sup>/d y 0,75 kg S/m<sup>3</sup>/d.

El inóculo utilizado correspondió a la mezcla de ambos enriquecimientos, a una concentración de 2 g SSV/L, en relación autotrófo:heterótrofo de 1,5:1,0.

Tabla 3. Composición del agua sintética en reactor simultáneo.

Compuesto	Unidad	Primera etapa	Segunda etapa	Solución micronutrientes [g/L]	
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	g/L	1,78	1,19	Compuesto	Composición
NaNO <sub>3</sub>	1g/L	1,06	1,06	ZnSO <sub>4</sub>	15,65
CH <sub>3</sub> COOK	g/L	0,634	1,02	CaCl <sub>2</sub>	22,0
NaHCO <sub>3</sub>	g/L	3,0	3,00	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	20,24
NH <sub>4</sub> Cl	g/L	0,056	0,056	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	4,40
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	g/L	0,07	0,07	CuSO <sub>4</sub>	4,0
Solución micronutrientes mL/L	mL/L	5	5	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	6,44

Como sustrato se utilizó agua sintética cuya composición se muestra en la Tabla 3. La relación DQO/N utilizada en la primera etapa fue de 3,6 y de 5,8 para la segunda, mientras que las VCS fueron de 0,75 y 0,25 kg S/m<sup>3</sup>/d, respectivamente. En cuanto a los parámetros de control y operación con sus puntos de muestreo se encuentran en la Tabla 4. La frecuencia de medición de éstos fue 3 veces por semana.

Tabla 4. Parámetros de control del reactor simultáneo y frecuencia de mediciones.

Puntos muestreo	Parámetro	Método	Referencia
Afluente y Efluente	DQO	Oxidación por dicromato	(6)
	pH	pHmetro	
	Tiosulfato	Yodometría	(6)
	Sulfato*	Espectrofotometría	(7)
	Nitrito	Colorimetría	(6)
	Nitrato	Colorimetría	(6)
	Nitrógeno Amoniacal	Colorimetría	(6)

\*Sulfato es medido sólo en efluente

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Enriquecimiento microorganismos heterótrofos

El pH se mantuvo en un rango de  $7,5 \pm 0,1$ . El porcentaje de degradación promedio de materia orgánica fue de 99,3%. Para los compuestos nitrogenados (ver Figura 2), en la primera etapa se observa una alta concentración de nitrito, que disminuye en el tiempo, lo que sugiere que una fracción del nitrito contenido en el afluente se transforma en nitrato. El amonio en el efluente puede tener su procedencia en el inóculo, producto del proceso de degradación de los microorganismos muertos, en el cual se genera  $\text{NH}_4^+$ . Los porcentajes de degradación para el nitrito y nitrato fueron de 99,9% y 40,4% respectivamente.

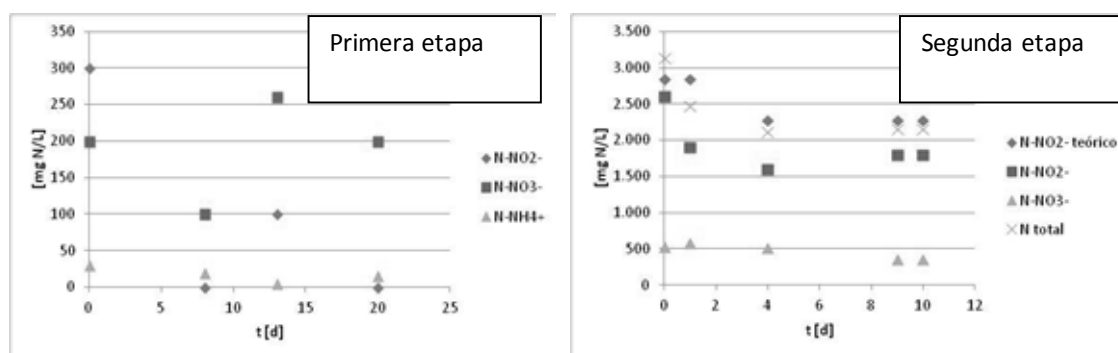


Figura 2. Comportamiento de los compuestos nitrogenados en el efluente del reactor híbrido UASFB durante el enriquecimiento de microorganismos heterótrofos.

#### 3.2 Enriquecimiento de microorganismos autótrofos

El crecimiento microbiano (medido como SSV) obtenido del reactor cuyo inóculo fueron lodos de un sistema anaerobio que trata purines de cerdos, se muestra en la Figura 3.

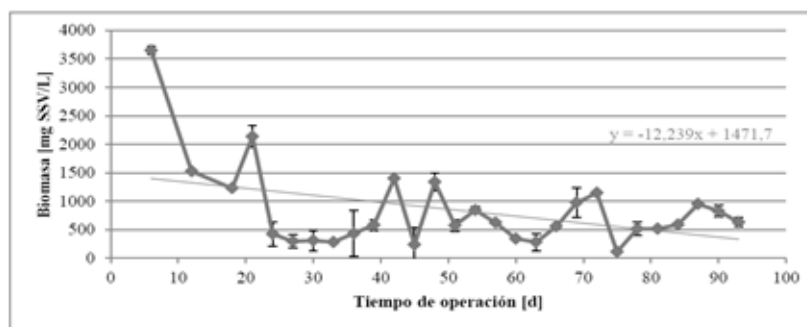


Figura 3. Sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el reactor desnitrificante autótrofo.

Al contrastar estos resultados con los obtenidos por Fajardo (5), se observa que pese a que el inóculo inicial tenía una mayor concentración de sólidos suspendidos, el comportamiento de los SSV es similar, obteniendo una disminución en un mismo periodo de tiempo, más evidente en este estudio, ya que mientras en su experimento obtuvo un decrecimiento que llegó al final de la operación a alrededor de un 40% de la biomasa inicial, acá se alcanzó un valor menor al 25%. Finalmente la concentración de SSV varió entre 300 y 1400 mg/L de SSV.

El comportamiento es concordante, se debe considerar que el inóculo contenía una cierta variedad de especies microbianas adaptadas al medio del que provenían (un biodigestor anaerobio), condiciones diferentes a las que fueron expuestas en el reactor de enriquecimiento. Sin embargo, se obtuvo mayor enriquecimiento con este inóculo que con el reactor inoculado con lodos de SBR, en donde la disminución llegó a menos de un 15% de los SSV iniciales.

Por lo anterior, los siguientes resultados corresponden al reactor inoculado con los lodos del biodigestor anaerobio. En cuanto a la eliminación de compuestos nitrogenados, en la Figura 4 se muestra la variación de éstos en el efluente. Como se observa, se logra eliminar todo el nitrito y el nitrato, salvo en un comienzo donde hay acumulación, pero luego la remoción es estable del 99,9%, valor esperable ya que es el compuesto limitante.

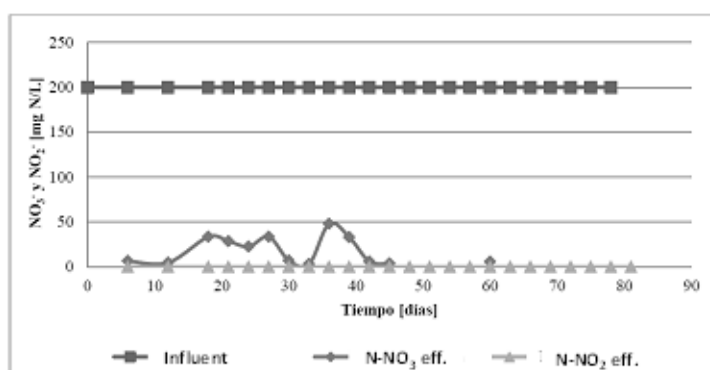


Figura 4. Concentración de nitrato y nitrito en el efluente del reactor de enriquecimiento autótrofo.

La reacción que se lleva a cabo en el proceso utiliza tiosulfato como donador de electrones, por tanto, para que se produzca la reducción del nitrato, el tiosulfato debe consumirse y el sulfato producirse (Figura 5). En este caso, dado los resultados mostrados en la Figura 4, era esperable una mayor reducción de tiosulfato, ya que se logra los primeros días un promedio de 66,8% y después del día 30, un 53,3%, valor bajo ya que a partir de día 43 se obtiene una eliminación total del nitrato. Se debe considerar que el tiosulfato fue agregado con un 12% en exceso, por consecuente se obtiene una baja

reducción de tiosulfato. La producción de sulfato en cambio, está acorde con lo esperado por la estequiometría del proceso.

### 3.3 Desnitrificación autótrofa y heterótrofa simultánea

La experiencia se encuentra dividida en dos etapas. Éstas se indican en la Tabla 5. La degradación de la materia orgánica alcanzó un máximo de 75,8%, con las condiciones de operación de la segunda etapa. En la Figura 6 se aprecia que la DQO del afluente se encuentra relativamente constante y que con la estabilización del sistema aumenta la remoción de materia orgánica.

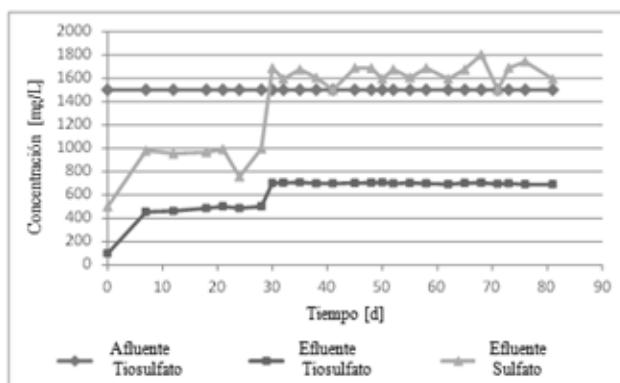


Figure 5. Concentración de sulfato en el efluente del reactor de enriquecimiento autótrofo.

Tabla 5. Velocidades de carga alimentadas en las dos etapas del reactor desnitrificante autótrofo-heterótrofo.

Velocidad de Carga	Unidad	1 <sup>st</sup> Etapa	2 <sup>nd</sup> Etapa
VCS	kg S/m <sup>3</sup> /d	0,75	0,5
VCO	kg DQO/m <sup>3</sup> /d	0,62	1,0
VCN	kg N-NO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> /d	0,28	0,28

En cuanto a la degradación de nitrato, el promedio fue de 80,4%, alcanzando un máximo de 99,5% (ver Figura 7).

Los compuestos de azufre presentan la problemática que son el sustrato de los microorganismos autótrofos, quienes no tienen la misma capacidad de adaptabilidad que sus pares heterótrofos, lo que también se comprobó durante el enriquecimiento de estos microorganismos, ya que el consumo de tiosulfato fue menor de lo esperado. Respecto a este último compuesto, en la Figura 8 se observa que los valores experimentales se alejan del valor teórico, y no presentan una variación significativa con el cambio de condiciones (de VCS de 0,75 a 0,50 kgS/m<sup>3</sup>/d). Se observa que la reducción de tiosulfato alcanza un valor máximo de 32,5% en la segunda etapa, valor menor que el alcanzado en la etapa de enriquecimiento de microorganismos autótrofos (53,3%). Se ha mencionado que la presencia de sulfuros provoca la inhibición de la desnitrificación a bajas concentraciones (0,5 mgS<sub>2</sub><sup>-</sup>/L, (8)), compuesto que podría haber estado presente en el medio. Sin embargo, el bajo consumo de tiosulfato no se presentó en los trabajos de Chen *et al.* (9) y Reyes-Ávila *et al.* (10), los que trabajaron con un EGSB (*Expanded Granular Sludge Blanket*) y un CSTR (*Continuous Stirred Tank Reactor*), respectivamente. Como se puede ver en la tabla 6, lograron remociones cercanas al máximo.

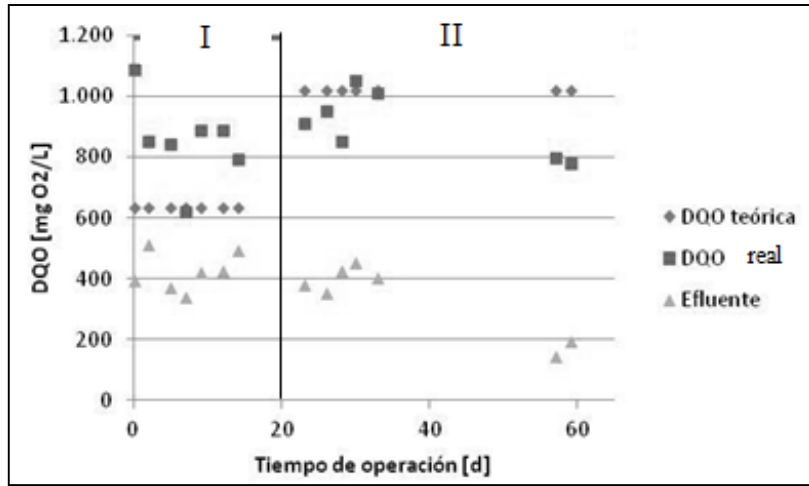


Figura 6. Comportamiento de la carga orgánica en reactor UASFB en la desnitrificación simultánea, en las primera (I) y segunda (II) etapas.

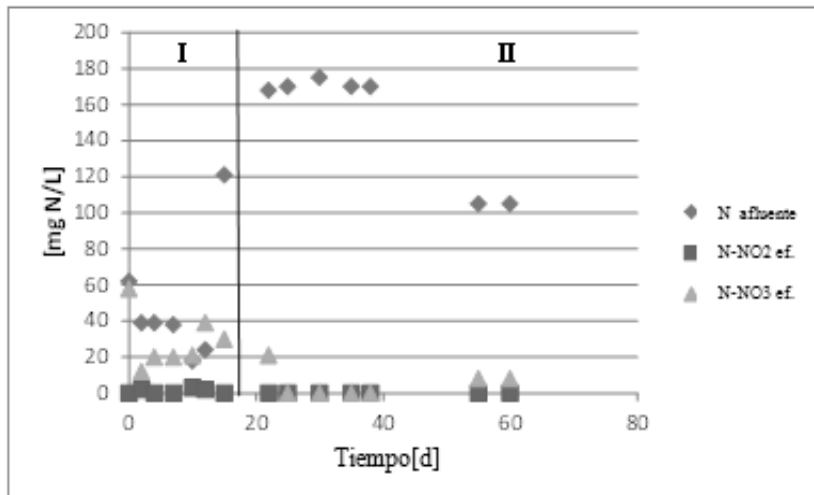


Figura 7. Comportamiento de compuestos nitrogenados en las primera (I) y segunda (II) etapas en el reactor UASFB en la desnitrificación simultánea.

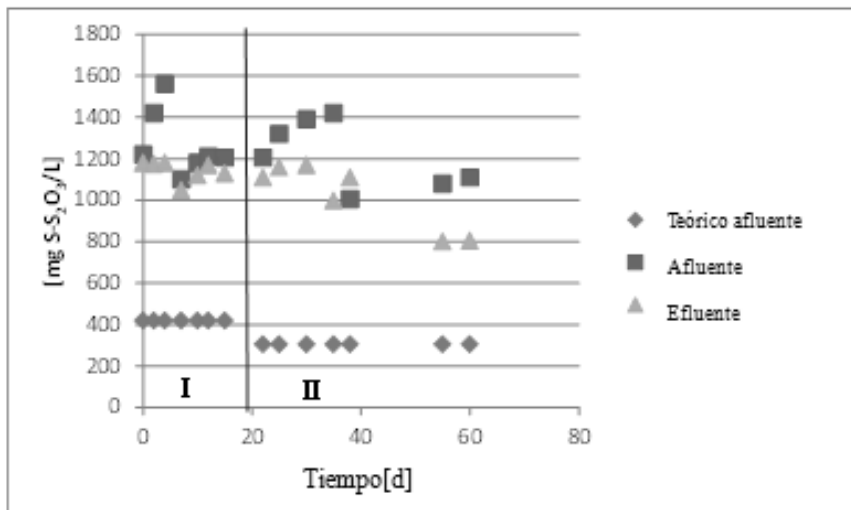


Figura 8. Comportamiento de tiosulfato durante las etapas I y II en el reactor UASFB en la desnitrificación simultánea.

Tabla 6. Comparación de resultados obtenidos en reactores con desnitrificación simultánea autótrofo y heterótrofo.

Parámetro	Reactor		
	UASBF	EGSB	CSTR
HRT [h]	14,7	11,2	48
NLR [kgN/m <sup>3</sup> /d]	0,28	1,45	0,209
SLR [kgS/m <sup>3</sup> /d]	0,50	3,00	0,294
OLR [kgCOD/m <sup>3</sup> /d]	1,00	2,77	0,303
Maximun removal N	99,5	99,0	90,0
Maximun removal S	32,5	100	99,0
Maximum removal COD	76,0	90,0	69,0

#### 4. Conclusiones

Se logra una elevada concentración de microorganismos desnitrificantes heterótrofos en la etapa de enriquecimiento, con elevadas remociones: de nitrito cercana al 100% y de materia orgánica sobre el 99%. Estos resultados permitieron obtener una biomasa acondicionada, que sirvió de inóculo para el proceso de desnitrificación autótrofa y heterótrofa simultánea.

La eficiencia de remoción de nitrato en el reactor UASFB alcanzó un máximo de 85,3%, con un promedio de 65,8% en la primera etapa. Sin embargo, al aumentar la biomasa y la relación DQO/N y bajar la VCS (de 0,75 a 0,50 kgS/m<sup>3</sup>/d), la eficiencia de remoción de nitrato en el reactor llegó a 99,5%.

La eliminación máxima de materia orgánica medida como DQO fue de un 75,8%, lo que indica el relativo buen funcionamiento de los microorganismos heterótrofos.

#### Agradecimientos

El presente estudio fue financiado por el Proyecto FONDECYT 1130108, del Gobierno de Chile.

#### Referencias

1. Tandukar M., Pavlostathis S., Cervantes F. (2009) Autotrophic denitrification for the removal of nitrogen and sulphur compounds contaminants from wastewaters. *Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution*, 12:319-365.
2. Vannini C., Munz G., Mori G., Lubello C., Verni F., Petroni G. (2008) Sulphide oxidation to elemental sulphur in a membrane bioreactor: Performance and characterization of the selected microbial sulphur-oxidizing community. *Systematic and Applied Microbiology*, 31:461-473.
3. Mahmood Q., Zheng P., Cai J., Wu D., Hu B., Li J. (2007) Anoxic sulfide biooxidation using nitrite as electron acceptor. *Journal of Hazardous Materials*, 147:249-256.
4. Vásquez M. (2010) Desnitrificación vía nitrito en un reactor UASB utilizando zeolita chilena. *Master Thesis of Chemical Engineering*, Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.
5. Fajardo, M. (2011) Autotrophic denitrification for treatment of wastewater with high concentration of sulphur and nitrogen compounds. *Ph.D. Thesis*, Universidad de Santiago de Compostela, España.



6. APHA (2005) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th. Ed American Public Health Organization, Washington, DC, USA.
7. Severiche C., González H. (2012) Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. *Ing. USB Med*, 3(2), 6-11.
8. Aguirre J. (2014) Diseño y puesta en marcha de un reactor UASB híbrido para la desnitrificación simultánea autótrofa y heterotrófa. *Master Thesis of Environmental Engineering*, Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.
9. Chen C., Ren N., Wang A., Yu Z., Lee D. (2008) Simultaneous biological removal of sulfur, nitrogen and carbon using EGSB reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, 78:1057-1063.
10. Reyes-Avila J., Razo-Flores E., Gomez J. (2004) Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, 38:3313-3321.