UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Caracterización fisiológica y cinética en un reactor de lote secuenciado (SBR) de un lodo desnitrificante alimentado con ampicilina

T E S I S

Para obtener el grado de Maestría en Biotecnología

PRESENTA:

I.B.I. Yeny Ruth Banda Soriano

Directora de tesis:

Dra. Flor de María Cuervo López

Asesores:

Dra. Anne-Claire Texier

Dr. Sergio Martínez Hernández

Ciudad de México Septiembre 2018

La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con la referencia 001466.

Esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología Microbiana W-004 del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, gracias al apoyo otorgado por el Consejo Divisional de la DCBS de la UAM-I

Iztapalapa, CDMX. a 7 de Septimbre del 2018

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis

Caracterización fisiológica y cinética en un reactor de lote secuenciado (SBR) de un lodo desnitrificante alimentado con ampicilina

Que presentó

Yeny Ruth Banda Soriano

Comité tutorial

Directora de Tesis

Dra. Flor de María Cuervo López _____

Miembros del Jurado

Presidente Dra. Anne-Claire Texier _____

Secretario Dr. Sergio Martínez Hernández _____

Vocal Dr. Guillermo Quijano Govantes _____

Vocal Dra. Emir Martínez Gutiérrez _____

Agradecimientos.

Agradezco de todo corazón a las Dras. Flor de María Cuervo López y Anne-Claire Texier, por su asesoría, tiempo y motivación para realizar este trabajo, Ya que en este nuevo tema me enfrente a muchas dificultades y sin su ayuda y consejo hubiese sido imposible.

A los Dr. Felipe Martínez, por su tiempo y sus consejos en el manejo de equipos dentro del laboratorio y técnicas de laboratorio nuevas que aprendí en esta etapa, porque me demuestra que el conocimiento es infinito.

A los compañeros del W004, Miguel Jardines, Rubén, Eduardo, Daniel, Lynet, Pavel, David y Cinthya. Gracias por su compañía, ayuda y por hacer que los ratos en el laboratorio fueran más a menos.

A mis padres, hermanos y sobrinos, ya que fueron el impulso para seguir con cada meta que me propongo y darme siempre ánimos.

Dedicatorias.

Dedico este trabajo a toda mi familia en general, para ustedes es este trabajo, una meta más cumplida.

A Gerardo, que siempre estuviste ahí para mí, en todo y por todo gracias… Te amo.

何度だって　夢は壊れて
あふれ出した　涙で溺れ
それでも　消えない
それでも　聴こえる
Music got me dreaming

Tamura Meimi

輝いて 〜My dream goes on〜 2018

Índice

1. Resumen 1
2. Introducción 3
2.1 Contaminantes emergentes 5
2.2 Antibióticos y su impacto en el medio ambiente 6
2.3 Procesos biológicos asociados a la eliminación de nitrógeno 9
2.4 Desnitrificación 10
2.4.1 Microbiología de la desnitrificación 10
2.4.2 Bioquímica de la desnitrificación 12
2.4.3 Factores que afectan la desnitrificación 14
2.5 Reactores biológicos 17
2.5.1 Reactores de lote secuenciado SBR 18
2.6 Antecedentes. 19
2.6.1 Eliminación de antibióticos por procesos respiratorios. 19
2.6.2 Estudios biológicos realizados en reactores SBR 22
3. Justificación 23
4. Hipótesis 24
5. Objetivo General 24
5.1 Objetivos Particulares 24
6. Metodología 25
6.1 Fuente de inóculo y medio de cultivo 25
6.2 Ensayos en lote 26
6.3 Reactores de lote secuenciado (SBR) 27
6.4 Evaluación de los cultivos. 29
6.5 Métodos analíticos 31
6.5.1 Cuantificación de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) y nitrito ($N\text{-}NO_2^-$) por electroforesis capilar 31
6.5.2 Cuantificación de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) y nitrito ($N\text{-}NO_2^-$) mediante HPLC 32
6.5.3 Cuantificación de carbono total (CT), orgánico (CO) e inorgánico (CI) 33
6.5.4 Cuantificación de C-acetato 34

6.5.5 Cuantificación de gases 35
6.5.6 Cuantificación de C-ampicilina mediante HPLC 36
6.6 Cuantificación de sólidos suspendidos. 38
6.7 Determinación del índice volumétrico del lodo (IVL) modificado 39
7. Resultados y discusión 40
7.1 Fuente de inoculo 40
7.2 Ensayos en lote: Abióticos 40
7.3 Ensayos desnitrificantes en lote 43
7.4 Balance de materia 47
8. Resultados ensayos en reactores SBR 48
8.1 Ensayos abióticos 48
8.2 Evaluación de la desnitrificación con C-acetato en reactores SBR 49
8.3 Evaluación de la desnitrificación en un reactor SBR alimentado a largo plazo con acetato 55
8.4 Ensayos desnitrificantes en presencia de ampicilina 57
9. Conclusiones 64
10. Recomendaciones 65
11. Perspectivas 65
12. Referencias 66
13. Anexos 74

Índice de tablas

Tabla 1. Géneros de bacterias con capacidad desnitrificante (Extraída y modificada de Banda, 2016; Cervantes et al., 2017).....11
Tabla 2. Factores que afectan la desnitrificación (elaboración propia).....15
Tabla 3. Valores de las pendientes y CV calculados de las curvas de calibración de los diferentes compuestos.....37
Tabla 4. Valores de eficiencia de consumo (E) y rendimientos de formación de productos (Y) calculados con las diferentes concentraciones de ampicilina ensayadas en lote. 45
Tabla 5 Velocidades específicas (mg/g SSV h) obtenidas con las diferentes concentraciones de C-ampicilina ensayadas. 1. Resultados de este trabajo, 2. Resultados de Banda 2016 ...46
Tabla 6. Balance de materiales calculados para los compuestos carbonados y nitrogenados en los ensayos con diferentes concentraciones de C-Amp. 47
Tabla 7. Eficiencias de consumo (E) y rendimientos (Y) de formación de productos calculados a diferentes ciclos de operación. 52
Tabla 8. Balance de materiales de los compuestos carbonados y nitrogenados a diferentes concentraciones de C-acetato en el SBR 53
Tabla 9. Velocidades específicas desnitrificantes (mg/g SSV h) obtenidas con diferentes concentraciones de acetato en lo reactores SBR 55
Tabla 10. Valores de eficiencias (E) y rendimientos (Y) calculados a lo largo de los ciclos de operación con las diferentes concentraciones de ampicilina. 62
Tabla 11 Valores de velocidades específicas de consumo y producción en mg/g SSV h.....62

Índice de figuras

Figura 1. Anillo β-lactámico (Extraído de Queener & Neuss, 1982).....7
Figura 2. Estructura química de la ampicilina 8
Figura 3. Vía de la desnitrificación (Modificación Álvarez et al., 2014) 12
Figura 4. Reactor UASB a escala laboratorio y esquema. 17
Figura 5. Reactor SBR y sus etapas de operación 18
Figura 6. Reactores SBR en operación en presencia de C-acetato y C-ampicilina 27
Figura 7. Curvas de calibración de N-NO_3^- y N-NO_2^- obtenidas por electroforesis capilar. 31
Figura 8. Curvas de calibración de N-NO_3^- y N-NO_2^- obtenidas por HPLC 32
Figura 9. Curvas de calibración de TC e IC obtenidas por TOC. 33
Figura 10. Curva de calibración de C-acetato obtenidas por cromatografía de gases.....34
Figura 11. Curvas de calibración de CO_2 y N_2 obtenidas por cromatografía de gases. 35
Figura 12. Curva de calibración de C-ampicilina obtenida por HPLC.. 36
Figura 13. Ensayos abióticos en lote sin biomasa. 41
Figura 14. Ensayos abióticos con biomasa seca inactiva.. 42
Figura 15. Perfiles desnitrificantes obtenidos con diferentes concentraciones de ampicilina (mg-C/l) como donador de electrones.....43
Figura 16. Ensayos abióticos sin biomasa en reactor tipo SBR con C-Amp y N-NO_3^-, expuestos a luz y en ausencia de luz.....48
Figura 17. Ensayos con biomasa seca inactiva en reactor tipo SBR con C-Amp y N-NO_3^-.. .49
Figura 18. Perfiles desnitrificantes obtenidos con diferentes concentraciones de acetato (mg-C/l) como donador de electrones a lo largo de los ciclos de operación.. 51
Figura 19. Velocidades específicas de consumo y producción obtenidas en el SBR con las diferentes concentraciones ensayadas y ciclos de operación. 54
Figura 20. Perfil cinético de consumo y producción desnitrificantes con 105 mg-C/l de acetato en el ciclo 350. 56
Figura 21. Velocidades específicas después de los 200 ciclos de operación en el reactor SBR con acetato. 57
Figura 22. Perfiles desnitrificantes de consumo y producción después de 5 ciclos de operación en el SBR con 21 mg-C-ampicilina/l y 45 mg-C-ampicilina/l 58

Figura 23. Perfiles desnitrificantes de consumo y producción con 62 mg-C-ampicilina/l en el ciclo 250 y 254 de operación en el SBR. 59
Figura 24. Perfiles desnitrificantes de consumo y producción después de 5 ciclos de operación en el SBR con 85 mg-C-ampicilina/l y 103 mg-C-ampicilina/l. 61
Figura 25. Perfil cinético de consumo y producción desnitrificantes con C-ampicilina del ciclo 350 en el SBR.....63

1. Resumen

El presente trabajo contribuye al conocimiento del efecto de la ampicilina sobre la fisiología del proceso desnitrificante cuando éste es alimentado con el antibiótico como única fuente de electrones, así como los efectos provocados por la presencia de la ampicilina sobre la cinética del proceso desnitrificante. Para la realización de este trabajo se utilizó un lodo desnitrificante estabilizado en estado estacionario proveniente de un reactor UASB de 0.8 l alimentado en continuo con una velocidad de carga de 250 mg-C-acetato/l d, una relación carbono-nitrógeno (C/N) de 1.1 y un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 2 días.

El trabajo se realizó en tres etapas. En la primera, se realizó la evaluación cinética y metabólica de la desnitrificación utilizando diferentes concentraciones de ampicilina (5, 10, 15 y 20 mg-C/l) como única fuente de electrones en ensayos en lote durante 6 h. Los ensayos se realizaron en botellas serológicas de 160 ml a una relación C/N: 0.86. En la segunda etapa del trabajo, se instalaron dos reactores de lote secuenciado (SBR) a fin de evaluar el comportamiento cinético y fisiológico de la desnitrificación con diferentes concentraciones de acetato como donador de electrones (22, 41, 63, 83, 105 mg-C/l) y relación C/N estequiométrica de 0.86. Los ciclos de operación se establecieron de 12 horas distribuidos de la siguiente manera: llenado; 0.25 h, reacción; 11 h, sedimentado; 0.5 h y finalmente drenado; 0.25 h. Los reactores se operaron durante 35-39 ciclos con cada concentración y al alcanzar eficiencias de consumo mayores que 90% y que el coeficiente de variación de las velocidades específicas de consumo de sustratos y generación de productos fueran menores del 10%, se procedía a cambiar la concentración de alimentación. Finalmente, en la tercera etapa, uno de los dos reactores se mantuvo alimentado con 100 mg-C-acetato/l, mientras que el otro reactor se alimentó con 21, 45, 62, 85 y 103 mg-C/l de ampicilina como única fuente de electrones, a fin de evaluar el comportamiento cinético y fisiológico del proceso respiratorio. Para estos ensayos los ciclos de operación se mantuvieron en 12 horas distribuidos de la siguiente manera: llenado 0.25 h, reacción 6.5 h, sedimentado 5 h y 0.25 h de drenado. En esta etapa se operaron 25-30 ciclos con cada concentración y en 6 de ellos se dio seguimiento a los perfiles desnitrificantes para calcular las variables de respuesta. Para corroborar la completa mineralización con ampicilina a 105 mg-C/l, se realizó un ciclo más con 24 h de reacción.

En los ensayos en lote utilizando C-ampicilina como fuente de electrones se obtuvieron eficiencias de consumo de sustratos cercanas al 100% y rendimientos de formación de HCO_3^-, CO_2 y N_2 de 0.5±0.05, 0.49±0.04 y 0.99±0.04 respectivamente, lo que indicó que el proceso fue enteramente desasimilativo (Y_{BM} 0.001±0.000) y que, bajo las condiciones evaluadas, la ampicilina se mineralizó completamente sin formación de intermediaros carbonados y nitrogenados. En los reactores SBR alimentados con acetato, se observó que independientemente de la concentración de acetato evaluada, los lodos desnitrificantes llegaban a la adaptación y a la estabilidad del proceso respiratorio, puesto que se obtuvieron eficiencias de consumo de sustratos y rendimientos de formación de productos muy cercanos al 100% y 1 respectivamente, sin mostrar signos de perturbación a lo largo de los ciclos de operación. Un comportamiento similar se obtuvo cuando se alimentaron 21, 45 y 62 mg-C-ampicilina/l, ya que se calcularon eficiencias y rendimientos cercanos al 100% y 1 respectivamente. Cuando se evaluaron 85 y 103 mg-C-ampicilina/l, se observó una disminución en la concentración de biomasa en el reactor y se requirieron entre 8 y 10 horas de cultivo para llegar a la completa eliminación y mineralización de ampicilina. Cuando se utilizó ampicilina como única fuente de electrones, las velocidades del proceso desnitrificante fueron aproximadamente de un 50% menores a las obtenidas con acetato como donador de electrones. Sin embargo, el sistema de SBR podría resultar adecuado para tratar efluentes contaminados con ampicilina, ya que se obtuvieron eficiencias de eliminación del antibiótico y rendimientos desnitrificantes cercanos a 100% y 1 respectivamente.

2. Introducción

La problemática sobre la contaminación de recursos naturales como el agua, va creciendo día con día, lo cual va de la mano con la marginalización económica. Dependiendo de la zona, tanto el acceso a ésta como el tratamiento para su purificación será variable. Consecuentemente, habrá una mayor incidencia de enfermedades microbianas provenientes del agua por falta de tratamientos (Stetson et al., 2018).

En México se cuenta con solo el 0.1% de agua dulce disponible a nivel mundial. Se reciben aproximadamente 1,489 mil millones de metros cúbicos al año en forma de precipitación, de la cual el 22% escurre hacia ríos y arroyos y el 6% se infiltra al subsuelo para recargar acuíferos. Asimismo, está se distribuye en varios sectores poblacionales, donde el 68.23% es para uso agrícola, 14.52% es para uso público, 7.41% es para uso industrial, el 6.5% para usos múltiples y 2% para los demás usos (Visión general del agua en México, 2018). La cuestión es que, en las grandes ciudades, se requieren grandes cantidades de agua, tanto para uso habitacional como industrial y, por ende, se produce una cantidad considerable de aguas residuales tanto domésticas como industriales. Esto cual afecta negativamente a los sistemas de aguas frescas (Jujnosvky et al., 2017).

El CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) reportó en el 2014 que solo el 20% del agua residual es tratada, de igual manera, el SINA (Sistema de Información Nacional del Agua) reportó en los últimos años, que se recolectan 230.20 m^3/s de aguas residuales, de las cuales 211.90 m^3/s provienen de los alcantarillados y solo se tratan 105.90 m^3/s, esto es, cerca del 46%. Asimismo, solo se cuenta con 2337 plantas de tratamiento de aguas residuales municipales y 2639 de plantas para el tratamiento de aguas residuales industriales (Sistema Nacional del Agua, 2017). Esto es un tema delicado y no se puede pasar más por alto, ya que los contaminantes presentes en el agua representan un peligro tanto para el medio ambiente como para el ser humano.

Existe una gran variedad de contaminantes presentes en las aguas residuales, por ejemplo, compuestos nitrogenados como, nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nitroso (N_2O); provenientes de diversas industrias como la de alimentos, petroquímicas, etc. (Gerardi, 2002). Estos compuestos representan un riesgo no solo para el ser humano, ya que su ingesta puede causar metahemoglobinemia o cáncer, sino también para el ecosistema, puesto que altas cantidades

de nitrito y amonio pueden llegar a ser tóxicos para los peces (Fernández, 2005). De igual manera los antibióticos y otros fármacos incluyendo a sus precursores y productos de transformación, son usualmente descargados en los cuerpos de aguas y permanecen aún después de pasar por procesos de tratamiento de aguas residuales (Xia et al., 2012).

La demanda de la población por aguas limpias requiere tratamientos rápidos y eficaces que permitan cumplir los dos propósitos principales sobre el tratamiento, la sanitización y el reuso del recurso (Salgot et al., 2018), lo cual implica más costos sobre las plantas de tratamiento. Existen diferentes procesos para el tratamiento de aguas residuales, que pueden ser de tipo químico, fisicoquímico o biológico. Dependiendo de los contaminantes encontrados en las aguas residuales será el tratamiento a elegir (Visión general del agua en México, 2018). Por ejemplo, en Europa, en la década de los 50 se empezó a implementar la limpieza del agua utilizando procesos biológicos, hoy en día ya no es solo un paso de proceso biológico el que se utiliza, sino trenes de tratamiento biológico que implican el uso de fases anóxicas y anaerobias seguidas de nitrificación (Ternes & Joss, 2004).

Por lo tanto, con todo lo ya dicho, el agua es un recurso no renovable del cual no podemos disponer a grandes cantidades y debe ser cuidado como tal para que se pueda tener acceso a él sin dificultades.

2.1 Contaminantes emergentes

Los contaminantes orgánicos emergentes (EOCs, por sus siglas en inglés Emerging Organic Contaminants) se definen como contaminantes no regulados, pero que dependiendo de sus efectos potenciales en la salud pueden ser candidatos a regulación futura, y que generalmente se encuentran presentes en el medio en concentraciones traza (Meffe & Bustamante, 2014). Esta clase de contaminantes ha pasado inadvertida a lo largo de los años ya que su concentración en el ambiente es baja se encuentra en rangos típicos de concentración entre 0.02-100 µg/l (Xing et al., 2018), sin embargo, en la actualidad son un foco de atención, pues han sido detectados en diversos ambientes con una amplia distribución. Se ha reportado que algunos de estos EOCs funcionan como disruptores del sistema endócrino, causando problemas hormonales en la fauna acuática como infertilidad en peces hembras o feminización de los peces machos, entre otros efectos (Petrovic et al., 2004), por lo que su presencia en diversos cuerpos de agua puede tener efectos negativos sobre el medio ambiente.

Algunos de los EOCs son de origen químico, como es el caso de los productos de cuidado personal, farmacéuticos, antibióticos, aditivos industriales, tensoactivos entre otros. (Gil et al., 2012). Los productos farmacéuticos tienen una habitual presencia en los cuerpos de aguas, puesto que los desechos orgánicos tanto de humanos como de animales son una de las principales fuentes de introducción al ambiente. En un estudio reciente realizado en una planta de tratamiento de aguas residuales en España, mostró que los fármacos más frecuentemente encontrados son los antibióticos, seguidos por los analgésicos y finalmente por los β-bloqueadores (Martínez-Bueno et al., 2012). Los antibióticos son un caso común, ya que existen datos que indican que, del total del compuesto ingerido, cerca del 80% es desechado al ambiente aún en forma activa (Michael et al., 2014).

Una de las principales problemáticas donde la investigación ha puesto su atención, es en la manera de eliminar esta clase de contaminantes, pues se ha visto que los métodos convencionales de tratamiento de aguas residuales no son eficientes para este tipo de problema (Ternes & Joss, 2004).

2.2 Antibióticos y su impacto en el medio ambiente

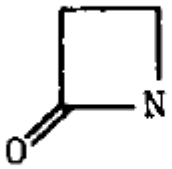
El término de antibiótico fue usado por primera vez por Selman Waksman en el año de 1941, donde se describe como una pequeña molécula producto de un microorganismo que puede jugar el rol antagonista sobre el crecimiento bacteriano (Clardy et al., 2009). La penicilina, descubierta en 1929, como el producto del hongo *Penicillium notatum,* fue uno de los primeros antibióticos empleado ampliamente en el campo de la medicina. Con el paso del tiempo y debido a la aparición de la resistencia bacteriana, los antibióticos fueron evolucionando, obteniéndose nuevos compuestos, procedentes de distintos microorganismos (bacterias y/o hongos) o de modificaciones químicas a las moléculas ya existentes, obteniéndose nuevas generaciones de antibióticos (Peláez, 2006).

Debido al crecimiento poblacional que se ha tenido en los últimos años, el uso de antibióticos tanto en la salud humana como en la veterinaria y agricultura, así como su desecho al ambiente ha ido en aumento. Una de las vías principales de descarga de antibióticos en las aguas residuales es la industria farmacéutica, seguida de hospitales, así como del sector doméstico (Xia et al., 2012), ya que después de su administración, éstos no son metabolizados completamente y son secretados, llegando a las aguas residuales. Dado que los antibióticos son parcialmente eliminados en las plantas de tratamiento (Mitchell et al., 2013), se mantienen en el ambiente, alcanzando concentraciones tales que pudieran provocar cambios en las funciones celulares o en los factores de transferencia de resistencia a antibióticos (Kümmerer, 2009). De hecho, la continua exposición de los microorganismos a los antibióticos asociado a la resistencia de antibióticos (Fischbach & Walsh, 2009), siendo una de las alertas más peligrosas que se ha presentado en los últimos años, puesto que entre el 5 y el 24% de los pacientes tratados con alguna enfermedad infecciosa sufren complicaciones, destacándose la sepsis grave como la causa más común de fallecimiento en pacientes críticos. Dichos decesos ocurren generalmente por la acción de bacterias resistentes a los antimicrobianos actuales (Montes de Oca & Martínez, 2016). Siendo esto un foco de atención dentro del campo de la investigación, ya que, es una situación que no se puede pasar más por alto.

Aunque los antibióticos han contribuido al aumento de la esperanza de vida, debido a la resistencia bacteriana, se requiere la producción de compuestos de nueva generación para el tratamiento de nuevas enfermedades (Santander, 2017). Asimismo, se requieren métodos que

garanticen la eliminación completa de antibióticos del ambiente para evitar la resistencia bacteriana.

Entre los antibióticos comúnmente encontrados en aguas residuales se reportan a los β-lactámicos, como la penicilina, los cuales han sido reportados en un rango de concentraciones superiores a los 48 ng/l (Shen et al., 2010). Están constituidos por un anillo β-lactámico también llamado penam, que es una estructura lactámica con un anillo heterocíclico que consiste en tres átomos de carbono y un átomo de nitrógeno (figura 1). Estos antibióticos tienen la capacidad de inhibir la síntesis de la pared bacteriana. La mayoría de los compuestos que poseen esta clase de anillos presentan actividad antimicrobiana. (Queener & Neuss, 1982).



(1)

Figura 1. Anillo β-lactámico (Extraído de Queener & Neuss, 1982)

La penicilina fue descubierta en septiembre de 1928 por Alexander Fleming en el departamento de inoculación en el hospital St. Mary en Londres, en platos de cultivos de *S.aureus*. El antibiótico fue usado por primera vez para tratamiento médico en 1948 (Hare, 1982; Raynor, 1997). El descubrimiento del ácido 6-aminopenicilánico (6APA), que es el núcleo de penicilina en los años 50, ha permitido desarrollar varios productos semisintéticos derivados de penicilina como es el caso de la ampicilina, amoxicilina y trimetropina (Elander, 2003).

La ampicilina (AMP), fue obtenida por condensación en los inicios de los años 60 por F.P. Doyle, J.H.C. Nayler y Harry Smith en los laboratorios Beecham (figura 2). Es un antibiótico de amplio espectro con actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas. Inhibe la síntesis de la pared celular, lo que lleva a la destrucción de la pared y lisis celular (Ampicilina, 2010). Es un antibiótico de origen semisintético capaz de unirse a proteínas específicas localizadas en la pared celular denominadas PBP (Penicillin Binding Protein), evitando la formación homogénea de la pared celular (Suarez & Gudiol, 2009).

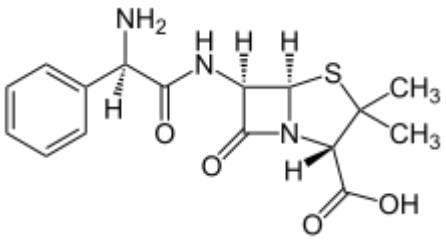


Figura 2. Estructura química de la ampicilina

2.3 Procesos biológicos asociados a la eliminación de nitrógeno

Hoy en día existen varios procesos biológicos que son utilizados para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con diversos compuestos y que resultan en altas eficiencias de remoción. A diferencia de los procesos químicos, físicos o fisicoquímicos, los procesos biológicos no generan más contaminantes, ya que son procesos amigables con el ambiente. A continuación, se describen ejemplos de procesos biológicos para la eliminación de compuestos nitrogenados de aguas residuales.

El proceso de lodos activados es un tratamiento aerobio que consiste en la oxidación de la materia orgánica a dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), mientras que la eliminación de amonio (NH_4^+) es orientada al crecimiento de biomasa. Este proceso se ha adaptado mundialmente como un proceso secundario para el tratamiento biológico de aguas residuales de tipo domésticas (Bitton, 2005). La nitrificación es un proceso biológico realizado por un grupo de organismos autótrofos que, en un medio aerobio, biotransforma el amoniaco (NH_3) a nitrato pasando por nitrito (NO_2^-) como intermediario. El proceso se realiza en dos pasos, amonio oxidación ($NH_3 \rightarrow NO_2^-$) y posteriormente se lleva a cabo la nitrito oxidación ($NO_2^- \rightarrow NO_3^-$) (Gerardi, 2002). Este proceso es muy importante dentro del ciclo del nitrógeno y requiere diferentes condiciones tales como la disponibilidad de oxígeno para llevarse a cabo en el suelo, arroyos, lagos y plantas biológicas de tratamiento de aguas residuales (Henze et al., 1997). La remoción biológica de fósforo es otra alternativa viable que propone la eliminación de compuestos fosfatados, materia orgánica, así como la eliminación de los compuestos nitrogenados bajo condiciones anaerobias y aerobias (Muñoz & González, 1996; Henze et al., 1997; Bitton, 2005).

En la actualidad, para la remoción de nitrógeno del agua residual se usa la nitrificación y desnitrificación acopladas, pues resultan ser procesos respiratorios estables y de bajo costo, además permiten obtener altas eficiencias de remoción (Cervantes et al., 2016).

2.4 Desnitrificación

El término fue usado por primera vez en 1886 en Francia (Gerardi, 2002). La desnitrificación se describe como la respiración anóxica de algunos microorganismos (anaerobios facultativos), en el cual se reduce el nitrato (NO_3^-) a nitrógeno molecular (N_2). Es una vía desasimilativa que requiere de una fuente de electrones para llevar a cabo la reducción de NO_3^- (Gerardi, 2002, Ferguson, 1998).

Es posible utilizar compuestos orgánicos como etanol, acetato, glucosa, etc. o inorgánicos como el hidrógeno, compuestos sulfurados o metano como donadores de electrones, por lo tanto, organismos tanto litótrofos como organótrofos podrán estar involucrados en el proceso desnitrificante dependiendo de su habilidad para usar compuestos orgánicos o inorgánicos como fuente de electrones (Martínez et al., 2017). Consecuentemente, una ventaja de la desnitrificación organótrofa es su capacidad para eliminar simultáneamente materia carbonada y nitrogenada. En este sentido, Peña-Calva et al., (2004) demuestran que por medio de la vía desnitrificante se puede eliminar compuestos carbonados aromáticos como tolueno, benceno y xileno.

2.4.1 Microbiología de la desnitrificación

La desnitrificación está ampliamente extendida en los dominios de bacteria y archea. Se dice que la abundancia de poblaciones dominantes varía significativamente entre una planta de tratamiento y otra, dependiendo de las características del influente, configuración del tratamiento y condiciones de operación (Lu et al., 2014). Aunque varios grupos de organismos son capaces de realizar la desnitrificación (tabla 1), no todos ellos poseen la capacidad de realizarla de manera completa, por lo cual pueden ser subdivididos en cuatro grupos: desnitrificantes completos (reducen NO_3^- a N_2), exclusivos de la nitrato reducción (reducen NO_3^- a NO_2^-), desnitrificantes incompletos (reducen nitrato o nitrito a intermediarios de la vía desnitrificante), reductores del nitrito incompletos (reducen el nitrito a intermediarios de la vía desnitrificante) (Gerardi, 2002; Lu et al., 2014). La mayoría de los organismos desnitrificantes reducen los iones nitrato hasta nitrógeno molecular sin la acumulación de productos intermedios. Sin embargo, los que la realizan parcialmente, carecen de alguna enzima clave, lo cual lleva a la acumulación de productos intermedios, por lo que también se dice que estos microorganismos no pueden llamarse desnitrificantes verdaderos (Gerardi, 2002).

Tabla 1. Géneros de bacterias con capacidad desnitrificante (Extraída y modificada de Banda, 2016; Cervantes et al., 2017)

Género	Morfología	Características fisiológicas
Rhodopseudomonas	Diplococo	Fototrofo *
Rhodobacter	Bacilo	
Alcaligenes	Bacilo	Organótrofos Aerobios
Arthrobacter	Coco	
Chromobacter	Coco	
Flavobacterium	Bacilo	
Pseudomonas	Bacilo	
Corynebacterium	Bacilo	Organótrofos Anaerobios facultativos
Enterobacter	Bacilo	
Escherichia	Bacilo	
Halomonas	Bacilo	
Moraxella	Diplococo	
Propionibacterium	Bacilo	
Acetobacter	*Bacilo*	Organótrofos Fermentativos
Azospirillum	Espiroqueta	
Bacillus	Bacilo	
Wolinella	Bacilo	
Agrobacterium	Bacilo	Organótrofos Fijadores de N_2
Pseudomonas	Bacilo	
Rhizobium	Bacilo	
Rhodopseudomonas	Diplococo	
Xanthomonas	Bacilo	Organótrofos Fito patógeno
Achromobacter	Bacilo	Organótrofos Patógenos
Acinetobacter	Diplococo	
Enterobacter	Bacilo	
Kingella	Diplococo	
Neisseria	Coco	
Spirillum	Espiroqueta	
Wolinella	Bacilo	
Alcaligenes	Bacilo	Autótrofos Utilizadores de H_2
Paracoccus	Coco	
Pseudomonas	Bacilo	
Thiobacillus	Bacilo	Autótrofos Utilizadores de S_2
Thiomicrospira	Espiroqueta	
Thiospaera	Bacilo	
Nitrosomonas	Bacilo	Autótrofos Utilizadores de NH_4
Halobacterium	Diplococo	Quimio heterótrofa **

*Obtienen energía de fotones

** Obtienen energía de la oxidación de la fuente de electrones

2.4.2 Bioquímica de la desnitrificación

La desnitrificación se describe en la ecuación 1 (Cervantes et al., 2016)

$$2\ NO_3^- + 10\ e^- + 12H^+ \rightarrow N_2 + 6\ H_2O \qquad \text{Ecuación (1)}$$

Este proceso respiratorio toma lugar bajo condiciones anóxicas y se requiere de cuatro enzimas para producir tres intermediarios obligatorios antes de la producción del producto final (Shapleing, 2013). En la figura 3 se muestra la vía metabólica de la desnitrificación. Se ha descrito este proceso como una organización modular en la que cada reacción bioquímica es catalizada por una enzima reductasa específica (Martínez et al., 2017).

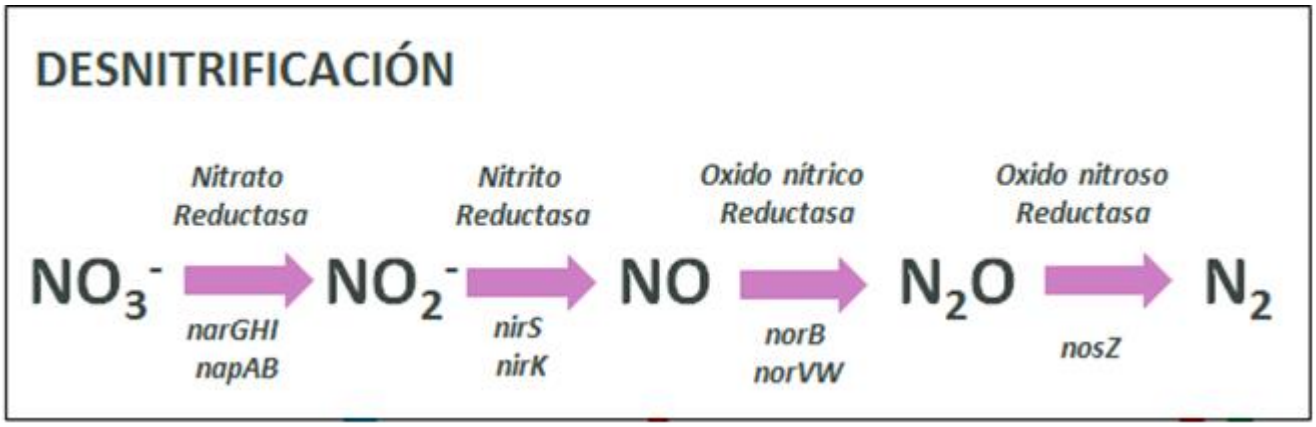


Figura 3. Vía de la desnitrificación (Modificación Álvarez et al., 2014)

Etapa 1: Reducción de nitrato a nitrito

La reducción de nitrato a nitrito se describe en la ecuación 2 (Martínez et al., 2017):

$$NO_3^- + UQH_2 \rightarrow NO_2^- + UQ + H_2O \qquad \text{Ecuación (2)}$$

Este proceso se lleva a cabo en el espacio periplásmico y membrana celular, el ubiquinol es reducido a ubiquinona. Se han identificado cuatro clases de nitrato reductasas, dos de ellas son enzimas respiratorias, una de ellas ésta acoplada a la membrana y la otra está localizada en el espacio periplásmico (Knowles, 1982; Cuervo-López et al., 2009). La actividad de esta enzima se ve inhibida por amoniaco, azida, tiocianato, cianuro, cloranfenicol, dinitrofenol y nigericina (Cuervo-López, 2003).

Etapa 2: Reducción de nitrito a óxido nítrico

La reducción de nitrito a óxido nítrico se describe en las ecuaciones 3 ó 4 (Martínez et al., 2017):

$$NO_2^- + Cu^{1+} + 2H^+ \rightarrow NO + H_2O + Cu^{2+} \qquad \text{Ecuación (3)}$$

$$NO_2^- + c^{2+} + 2H^+ \rightarrow NO + H_2O + c^{3+} \qquad \text{Ecuación (4)}$$

La posterior reducción del nitrito a óxido nítrico se lleva a cabo por la enzima nitrito reductasa (Nir) que está ubicada en el periplasma. La actividad del cobre como grupo prostético es inhibida por la acción quelante del dietilditiocarbamato. La actividad de la enzima nitrito reductasa puede ser inhibida por su propio producto, el óxido nítrico (Cuervo-López et al., 2009).

Etapa 3: Óxido nítrico a óxido nitroso

La reducción de óxido nítrico a óxido nitroso se describe en la ecuación 5 (Martínez et al., 2017):

$$2NO + 2c^{2+} + 2H^+ \rightarrow N_2O + H_2O + 2c^{3+} \quad (5)$$

Luego, el óxido nítrico es reducido por la enzima óxido nítrico reductasa (Nor) a óxido nitroso, la cual está localizada en la membrana. El óxido nítrico (NO) es un compuesto muy tóxico para bacterias, hongos, parásitos y virus. Su actividad puede disminuir por algunos detergentes como tritón X-100, el largo de la cadena de los ácidos grasos volátiles afecta el grado de inhibición, azida, cianuro, cloranfenicol, nitrito y óxido nítrico inhiben la reducción de NO y la nigericina causa acumulación de NO (Cuervo-López et al., 2009).

Etapa 4: Óxido nitroso a nitrógeno molecular

La reducción de óxido nitroso a nitrógeno molecular se describe en la ecuación 6 (Martínez et al., 2017):

$$N_2O + 2c^{2+} + 2H^+ \rightarrow N_2 + H_2O + 2c^{3+} \qquad \text{Ecuación (6)}$$

El óxido nitroso, es un gas de efecto invernadero responsable del calentamiento global con un potencial 300 veces mayor que el CO_2, el cual juega un rol importante en el cambio climático

y en la disminución de la capa de ozono, donde las principales fuentes de emisión de N_2O son emisiones industriales, liberación de nitrógeno reactivo (todas las formas de nitrógeno excepto N_2), además del ciclo natural del N, el cual por actividades humanas ha sido roto, estimulando los procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación intensificando la producción de este gas (Frutos et al., 2018), por ultimo este es reducido a nitrógeno molecular mediante la acción de la enzima óxido nitroso reductasa (Nos), es una enzima soluble localizada en el periplasma. La actividad de la enzima puede ser inhibida por acetileno, aunque es sabido que esta reacción es reversible, otros inhibidores pueden ser azida, tiocianato, cianuro formando un ligando con el cobre (Cuervo-López, 2003.) De igual manera, se presenta una inhibición de la óxido nitroso reductasa ante la presencia de S^{2-} en concentraciones de 8 µM/g a 0.3 mM/g (Knowles, 1982).

2.4.3 Factores que afectan la desnitrificación

Las variables como temperatura, pH, así como el tipo de fuente de carbono y la relación carbono-nitrógeno, afectan de manera positiva o negativa la desnitrificación. En la tabla 2 se describen algunos de los factores ambientales que inhiben o controlan la desnitrificación.

Tabla 2. Factores que afectan la desnitrificación (elaboración propia)

Factor	Condiciones óptimas para la desnitrificación	Observaciones	Referencias
Oxígeno	Sin presencia de oxígeno	La inhibición por oxígeno es más notable en el primer paso de la desnitrificación, concentraciones mayores a 9 mg/l. La actividad se puede recuperar después de 40 min a 3 h en ausencia de oxígeno	(Knowles, 1982; Cuervo-López et al., 2009; Figueroa-González et al., 2016)
Óxidos de nitrógeno	Sin generación de óxidos de nitrógeno como intermediarios de la desnitrificación	La acumulación de nitrito inhibe la óxido nitroso reductasa promoviendo una desnitrificación incompleta	(Knowles, 1982).
Temperatura	T (°C) 5-35	Tiene efecto sobre la velocidad de consumo de sustratos y de crecimiento	(Cuervo-López et al.; 2009)
pH	pH 6-9	Con pH menores a 5 se acumula óxido nítrico y la óxido nitroso reductasa es inhibida	(Knowles, 1982; Cuervo-López et al.; 2009)
Relación C/N	C/N<estequiométrica: Desnitrificación incompleta C/N estequiométrica: Desnitrificación completa C/N> estequiométrica: Desnitrificación y fuente de electrones residual, posible presencia de metanogénesis	Este factor puede orientar la desnitrificación y promover la acumulación de intermediarios	(Martínez, 2017; Cuervo-López et al., 2009).

Aunado a lo anterior, la desnitrificación puede ser descrita en términos de velocidades, ya sean de consumo de sustratos nitrogenados o velocidades de formación de productos propios de la desnitrificación. Dependiendo de la fuente donadora de electrones, concentración de sustratos, tamaño del inóculo, uso de cultivos axénicos o de consorcios microbianos entre otros factores más, se pueden obtener diferentes velocidades. Acorde a la literatura, se han obtenido mayores velocidades con procesos organótrofos (Cervantes et al., 2017), siendo esta una variable importante a considerar antes de montar algún reactor biológico.

2.5 Reactores biológicos

Existen varios sistemas o reactores para llevar a cabo el tratamiento de aguas residuales. Su diseño y configuración dependerá en gran medida del proceso a realizar, de si serán sistemas cerrados o semiabiertos, continuos o semicontinuos. A continuación, se mencionan algunos tipos de reactores.

MBR (Membrane Biological Reactor), es un sistema extensamente usado para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico, este proceso se asemeja mucho al proceso de lodos activados, pero la diferencia radica en la forma de separar los sólidos, que en este tipo de reactores es por membranas de filtración (Mittal, 2011).

UASB (figura 4) (Por sus siglas en inglés: Upflow Anaerobic Sludge Blanket), son reactores continuos, de forma tubular y flujo ascendente, que se usan para realizar procesos anaerobios y promover la formación de gránulos de los consorcios microbianos. Al menos 1.200 plantas a escala industrial se han registrado en el mundo para el tratamiento de efluentes industriales. El abanico de usos de esta tecnología es muy amplio, ya que el tratamiento anaerobio de aguas residuales no se limita únicamente a la degradación en aguas residuales de contaminación orgánica (Seghezzo et al., 1998; Banda, 2016)

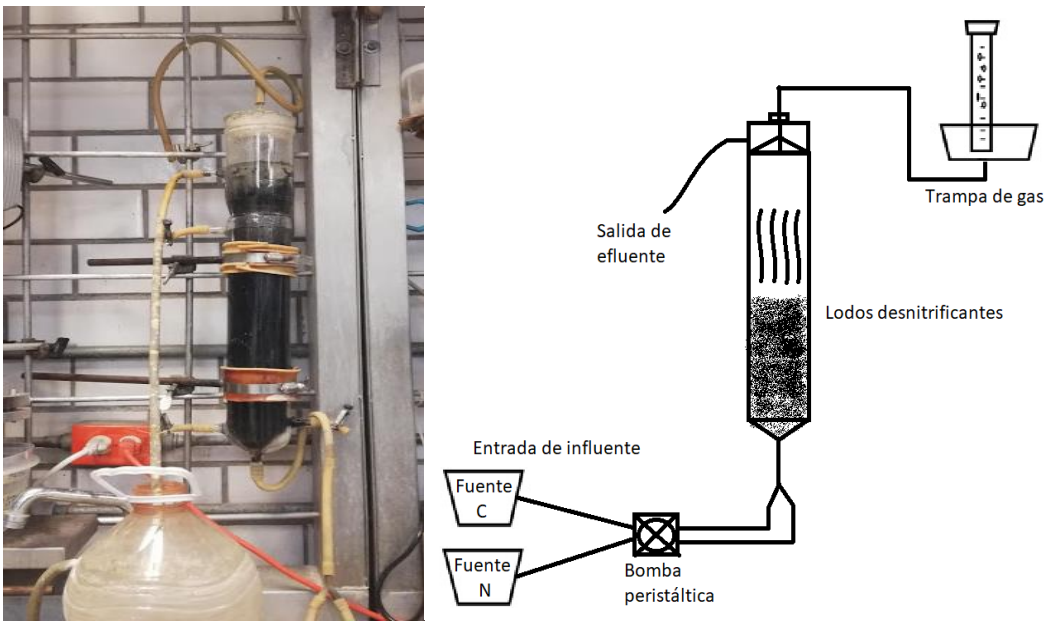


Figura 4. Reactor UASB a escala laboratorio y esquema.

2.5.1 Reactores de lote secuenciado SBR

Los reactores de lote secuenciado (SBR) por sus siglas en inglés (Sequencing Batch Reactor), son sistemas cerrados operados en lote de forma cíclica (figura 5) que cuentan con cuatro etapas: 1) Llenado. Su propósito es adicionar el sustrato o el agua residual al reactor. 2) Reacción. En esta etapa se completa la reacción que fue iniciada durante la etapa de llenado. 3) Sedimentado. Se separa la biomasa de las aguas residuales, y 4) Vaciado. En esta última etapa se retira el sobrenadante que se formó durante la etapa de sedimentación, el cual representa las aguas tratadas (Moreno & Buitrón, 2004). Estos sistemas son ventajosos ya que permiten la adaptación de microorganismos a influentes con elevado contenido de compuestos inhibitorios o tóxicos como fenol, *o*-cresol, *m*-cresol, *p*-cresol o 2-clorofenol, entre otros (Berinstain-Montiel et al., 2015). Asimismo, permiten llevar a cabo estudios cinéticos, pues se ha reportado que el uso de estos sistemas mejora la capacidad metabólica de los microorganismos presentes en el sistema, es decir, las velocidades de consumo del contaminante aumentan y/o se mejora la capacidad de los consorcios microbianos para consumir contaminantes, así como alcanzar altas eficiencias de eliminación de los nutrientes incorporados (Silva et al., 2014).

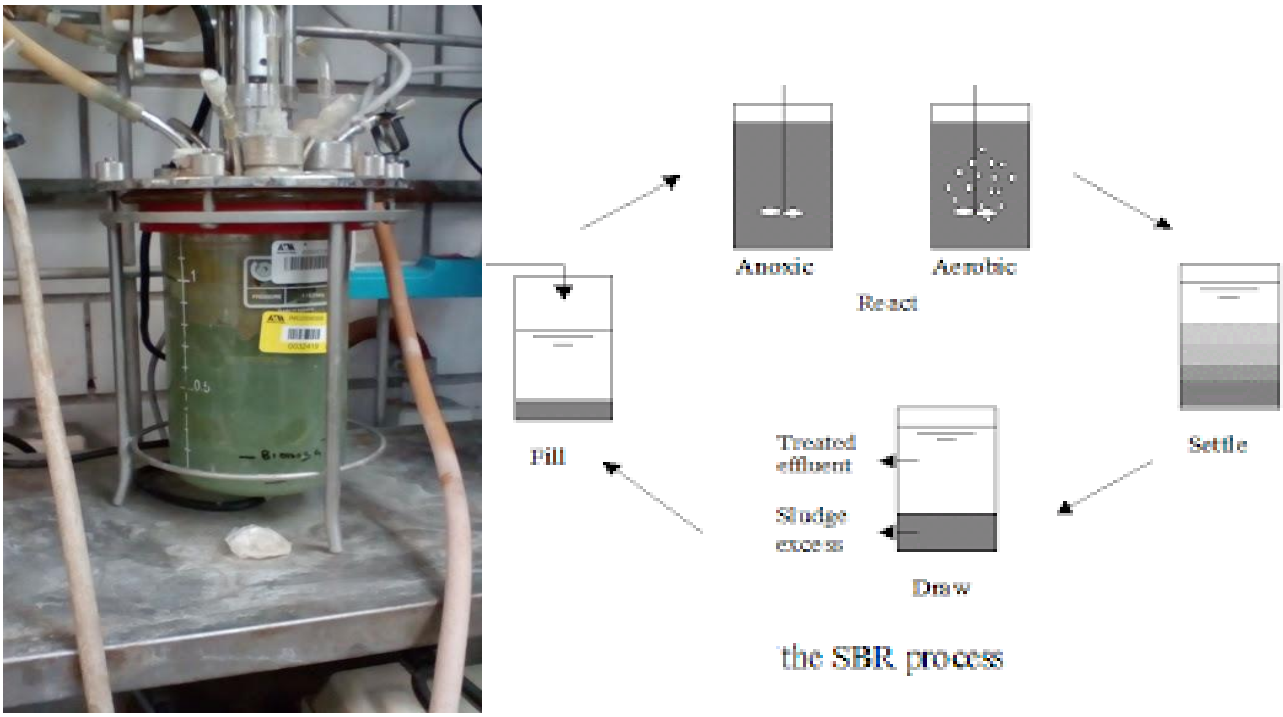


Figura 5. Reactor SBR y sus etapas de operación

2.6 Antecedentes.

2.6.1 Eliminación de antibióticos por procesos respiratorios.

Generalmente se han usado tratamientos fisicoquímicos para eliminar antibióticos de las aguas residuales y aunque los métodos biológicos podrían ser buenas alternativas para su eliminación, su uso ha sido poco estudiado. Resulta necesario entonces, buscar otras alternativas biológicas, como la desnitrificación, para la eliminación de estos compuestos de las aguas residuales.

Se han utilizado procesos biológicos aireados, anaerobios y anóxicos con la finalidad de evaluar la degradación de antibióticos. Por ejemplo, Dorival-García et al. (2013) realizaron experimentos en lote bajo condiciones anóxicas (desnitrificantes) y nitrificantes para degradar y/o eliminar antibióticos de la clase de quinolonas (Solución stock 500 µg/l de cada antibiótico). Observaron que bajo las diferentes condiciones redox: nitrificante, anóxica, nitrificante con inhibidor (allylthiourea) y aerobia, la adsorción de quinolonas en los lodos fue el proceso de eliminación mayoritario, puesto que registraron porcentajes de adsorción desde el 50 hasta el 80%, mientras que la eliminación de los antibióticos asociada a la actividad biológica fue mucho menor, puesto que encontraron porcentajes de biodegradación entre 2-60%. Debido a que los porcentajes de remoción biológica de antibióticos son bajos, los autores recomiendan que el uso de los tratamientos biológicos no es suficiente. Sin embargo, en este estudio los autores se limitaron a mostrar el consumo biológico de los compuestos sin determinar los productos asociados a las condiciones probadas, además de que la información acerca del comportamiento cinético bajo las diferentes condiciones redox es limitada.

Mitchell et al. (2013) realizaron un experimento en lote con antibióticos usados en la medicina veterinaria, como la sulfametazina, ampicilina, florfenicol y tilosina en un rango de concentraciones de 0.001, 0.01, 0.1, 0.5 y 1.0 mM para cada antibiótico, a fin de evaluar su degradación mediante digestión anaerobia y la producción de biogás. Los autores encontraron que la mayoría de estos antibióticos no se absorbe en el cuerpo del animal y se desechan al ambiente por medio de residuos biológicos, generalmente a través del estiércol. Asimismo, reportan que, en el caso de la ampicilina, se logra un 100% de biodegradación después de los 10 días en todas las concentraciones evaluadas, pero a concentraciones mayores de 100 mg/l cuantificaron una disminución del 5% sobre la máxima cantidad de biogás generado en 40

días, así como la formación de un intermediario carbonado no identificado. Cabe resaltar que los autores no muestran datos cinéticos sobre el consumo del antibiótico o formación del biogás que indiquen la presencia de procesos inhibitorios.

Zhang & de los Reyes III. (2012) realizaron un estudio en el que observan el efecto de la adición de penicilina en un sistema de lodos activados con actividad nitrificante. Los autores encontraron que el crecimiento de los microorganismos nitrificantes se inhibía entre 8-64% cuando éstos fueron expuestos a la penicilina por un largo periodo. Los autores no muestran datos sobre la biodegradación del antibiótico y no se logra saber con exactitud cuál fue el destino de la penicilina, es decir, si el lodo nitrificante la utilizó como fuente de carbono y/o reactor energía, si el antibiótico fue mineralizado, si la penicilina fue sorbida por el lodo nitrificante o cuánta de ella quedó presente en el efluente. Además, no existen datos cinéticos de velocidad de consumo de amonio y formación de nitrato que indiquen que la inhibición sobre la velocidad de crecimiento bacteriano estuviese asociado a la exposición del antibiótico.

Labinghisa & Rollon. (2014) realizaron un experimento en lote, en un MBR (Membrane Biological Reactor) adicionado con ampicilina y utilizando diferentes membranas como difluoruro de polivinilideno (PVDF), polietersulfona (PES) y nilón. El antibiótico fue adicionado en concentraciones que iban desde 1 µg/l hasta 100 µg/l. Los autores observaron que por efecto biológico de la nitrificación se degradaba entre un 78 y 87% del antibiótico, mientras que por efectos de la formación de una torta de lodos en las membranas PVDF, PES y nilón, se degradaba entre un 32, 47 y 54% de la ampicilina respectivamente. Sin embargo, no es claramente establecido que la eliminación de ampicilina estuviese asociada con el proceso biológico, en este caso, la nitrificación, puesto que no se determinaron los productos formados ni se mencionan datos acerca de la formación de intermediarios procedentes de la ampicilina.

Suarez et al. (2010) realizaron un experimento en el cual, bajo condiciones nitrificantes y desnitrificantes, logran la biodegradación de varios antibióticos y productos de cuidado personal que se llegan a encontrar en aguas residuales. Los autores reportan remociones de estos compuestos desde el 6 hasta el 99% bajo condiciones nitrificantes y del 1 hasta el 85% bajo condiciones desnitrificantes. Sin embargo, sólo se limitan a indicar la desaparición de los compuestos contaminantes sin mostrar información sobre el destino de éstos, si se formaron o no intermediarios y no indican los productos generados. No se sabe con claridad cuáles son los productos formados después del proceso de eliminación, si hubo un efecto sobre el

metabolismo de los lodos depuradores o si la eliminación de antibióticos estuvo asociada a algún proceso respiratorio.

Islas-García et al. (2017) realizó bajo condiciones desnitrificantes, un experimento en lote utilizando 100 mg-C-acetato/l 10 mg-C-amp/l y 114 mg-N-nitrato/l. Se observó el 100% de biodegradación de los compuestos carbonados además que se reportaron rendimientos de formación de HCO_3^- y N_2 entre 0.91 y 0.98 respectivamente durante 12 h de cultivo. Se encontró que, en comparación con el uso de acetato como único donador de electrones, la utilización de C-ampicilina y C-acetato en el mismo medio, resultó en una disminución del 65 y 84% en las velocidades de consumo de acetato y nitrato respectivamente, asimismo se observó una disminución del 97% en las velocidades de producción de HCO_3^- y N_2 con respecto a las obtenidas con acetato como único donador de electrones. Además, el trabajo no mostró formación de intermediarios cuando se alimentó con ambas fuentes carbonadas. Por lo que fue posible concluir que, bajo las condiciones experimentales desnitrificantes establecidas, la ampicilina podía usarse en un proceso desnitrificante.

Por otro lado, Banda, (2016) realizó bajo condiciones desnitrificantes, un experimento en lote utilizando diferentes concentraciones de ampicilina (20, 40, 60, 80 y 100 mg-C/l) como única fuente de electrones. Se observó que con una C/N estequiométrica, se obtuvo el 100% de biodegradación del antibiótico, además que se reportaron rendimientos de formación de HCO_3^-, CO_2, y N_2 entre 0.6, 0.3 y 0.8 respectivamente. Los resultados mostraron que, en comparación con el uso de acetato como donador de electrones, la utilización de C-ampicilina como único donador de electrones resultó en una disminución en las velocidades de consumo y producción entre un 60 y 80% respecto a las obtenidas con acetato. Asimismo, el trabajo mostró que cuando la ampicilina estaba presente como único donador de electrones, se observó la formación de dos intermediarios carbonados no identificados y la formación de N_2O. Asimismo, la autora reportó que la formación de intermediarios carbonados aumentó conforme aumentaba la concentración de ampicilina. Sin embargo, fue posible concluir que, bajo las condiciones experimentales desnitrificantes establecidas, la ampicilina podía usarse como única fuente de electrones.

2.6.2 Estudios biológicos realizados en reactores SBR

Los sistemas SBR son ampliamente usados en el tratamiento de aguas residuales (Silva et al., 2014), pues tienen diversas ventajas. Por ejemplo, se indica que su uso propicia la adaptación de microorganismos a influentes con contenido de contaminantes inhibitorios y/o tóxicos (Moreno & Buitrón, 2004) o recalcitrantes. En este sentido, Hernández, (2005), utilizó un SBR bajo condiciones desnitrificantes alimentado con tolueno como fuente de electrones, en el cual observó hasta un 66% de biodegradación de este compuesto a lo largo de los ciclos de operación. También se dice que, debido a la forma de operación de estos reactores, es posible realizar la evaluación cinética de los procesos respiratorios y de los cambios poblacionales a lo largo de los ciclos (Beristain-Montiel et al., 2015; Martínez, 2015). A este respecto, existen trabajos donde se ha evaluado en reactores SBR el comportamiento cinético de la nitrificación en presencia de diferentes compuestos aromáticos como el *p*-cresol (Silva, 2010) y mezclas de *o*-cresol, *m*-cresol y *p*-cresol (Salas et al., 2017). En ambos trabajos se observó que cuando se agregaban estos compuestos se inhibía la velocidad nitrificante, aunque a lo largo de los ciclos de operación, las velocidades del proceso mejoraron. Particularmente, en el trabajo de Silva et al. (2014), se observó la formación de dos intermediarios y que conforme transcurrieron los ciclos de operación, se alcanzó el 100% de biodegradación tanto del compuesto inhibitorio como de los intermediarios formados. Un efecto similar lo observó Martínez, (2015), usando 2-clorofenol (2-CF) bajo condiciones nitrificantes en un reactor de lote secuenciado, al determinar que la amonio oxidación y nitrito oxidación del proceso respiratorio se afectaban cuando agregaba 2-CF. Sin embargo, el autor indica que, a lo largo de los ciclos de operación, fue posible observar que los efectos inhibitorios provocados por el 2-CF disminuían y que las velocidades de consumo de amonio y producción de nitrato aumentaban, para finalmente indicar que fue posible alcanzar eficiencias de consumo de amonio de 100% y rendimientos de formación de nitrato de 94%.

Todo lo anterior sugiere que el uso de reactores SBR podría ser una herramienta útil para el estudio de la eliminación de antibióticos por desnitrificación, sin embargo, la información en la literatura sobre el comportamiento cinético y fisiológico del proceso desnitrificante en diferentes sistemas, cuando la ampicilina es usada como única fuente de electrones es limitada, por lo tanto, es necesario tener más información al respecto.

3. Justificación

Existen varias alternativas para eliminar antibióticos de las aguas residuales, como son los métodos físicos, fisicoquímicos y biológicos. Se han hecho estudios en lote sobre la eliminación de antibióticos con tratamientos biológicos como lodos activados, digestión anaerobia, desnitrificación o bajo condiciones nitrificantes, pero la información sobre estudios de eliminación de antibióticos en reactores biológicos es limitada. La desnitrificación puede ser aplicada para la eliminación de compuestos carbonados y nitrogenados, sin embargo, la información sobre la eliminación de ampicilina, su mineralización y comportamiento cinético del proceso respiratorio, cuando ésta se encuentra como única fuente de electrones no es suficiente, por lo cual, se requiere generar información.

El uso de sistemas como los reactores de lote secuenciado para el tratamiento de aguas residuales es una opción atractiva, ya que permite la mejora cinética de los procesos, sin embargo, en la literatura no hay suficiente información sobre la utilización de estos sistemas empleando ampicilina como única fuente de electrones durante el proceso desnitrificante, por lo que es necesario generar información al respecto que posteriormente pueda ser aplicada.

4. Hipótesis

En un reactor de lote secuenciado será posible mejorar a lo largo de los ciclos de operación, la capacidad cinética y fisiológica de un lodo desnitrificante expuesto a diferentes concentraciones de ampicilina.

5. Objetivo General

Evaluar la capacidad cinética y fisiológica de un lodo desnitrificante para consumir y mineralizar ampicilina en un reactor de lotes secuenciados.

5.1 Objetivos Particulares

- Evaluar en cultivos en lote, el comportamiento cinético y fisiológico del proceso desnitrificante en presencia de ampicilina como única fuente de electrones.
- Evaluar en un reactor de lotes secuenciados alimentados con ampicilina como única fuente de electrones, el comportamiento cinético y fisiológico de la desnitrificación a lo largo de los ciclos de operación.

6. Metodología

El presente trabajo se dividió en tres partes, una primera en la que con un reactor alimentado en continuo se obtuvo un inóculo desnitrificante; una segunda donde se evaluó en ensayos en lote, adicionados, el comportamiento cinético y fisiológico de los lodos depuradores utilizando ampicilina como única fuente de electrones; y una tercera, en donde se evaluó en dos reactores SBR la capacidad cinética y fisiológica de un lodo desnitrificante para utilizar acetato o ampicilina como única fuente de electrones. A continuación, se desglosan cada una de estas partes.

6.1 Fuente de inóculo y medio de cultivo

Se utilizó un reactor de cama de lodos con flujo ascendente (Por sus siglas en inglés, UASB: upflow anaerobic sludge blanket) de 0.8 l de capacidad para obtener la fuente de inóculo. El reactor se inoculó con 12.87 mg SSV/l de lodo anaerobio proveniente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Se mantuvo alimentado en continuo con una velocidad de carga de 250 mg-C-acetato/l d y 207 mg-N-NO_3^-/l d considerando una relación C/N de 1.1, a una temperatura constante de 30°C y con un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 2 días hasta alcanzar el régimen desnitrificante en estado estacionario.

Para evitar la contaminación del medio y formación de precipitados, el medio se suministró de manera separada (fuente de carbono y fuente de nitrógeno), la composición del medio de cultivo de alimentación para el reactor UASB fue la siguiente:

- Fuente carbonada (mg/l): 1000 de KH_2PO_4, 50 de $Na_2MoO_4H_2O$, 300 de $CaCl_2$ $2H_2O$, 200 de $MgSO_4$ $7H_2O$ y 1000 de CH_3COONa $3H_20$
- Fuente nitrogenada (mg/l): 100 de $FeCl_3$ $6H_2O$, 20 de $CuSO_4$ $5H_2O$ y 909 de $NaNO_3$.

6.2 Ensayos en lote

Ensayos con ampicilina. Se evaluó en ensayos en lote el proceso desnitrificante utilizando diferentes concentraciones de C-ampicilina (C-Amp) como única fuente de electrones, mg-C/l: 5, 10, 15 y 20 a una relación C/N estequiométrica de 0.86. Fueron llevados a cabo en botellas serológicas de 120 ml con un volumen de trabajo de 96 ml e inoculadas con 1 g SSV/l proveniente del reactor UASB ya estabilizado. Se adicionó medio mineral y nitrato. Posteriormente éstas fueron selladas con tapas de goma y con contratapas de aluminio. Se establecieron condiciones anóxicas en las botellas mediante el reemplazo del oxígeno presente en el espacio de cabeza con una corriente de helio. Luego éstas fueron incubadas en un shaker (RIOSSA E-51) a 30°C y agitadas a 200 rpm por aproximadamente 6 horas. Bajo estas condiciones se tomaron alícuotas a diferentes tiempos para cuantificar el consumo de los sustratos (N-nitrato y C-ampicilina) y la formación de productos (bicarbonato, nitrógeno molecular, nitrito, etc.) a fin de obtener el perfil del comportamiento cinético y fisiológico del proceso desnitrificante.

Ensayos abióticos Para evaluar la posible pérdida de ampicilina por reacción química o fotoquímica, se llevaron a cabo ensayos abióticos durante 24 h en botellas serológicas de 120 ml, adicionadas con 96 ml de medio mineral, 20.25±4.69 mg-C-Amp/l y la correspondiente concentración de $N\text{-}NO_3^-$/l, considerando una relación C/N estequiométrica de 0.86 y en ausencia de biomasa desnitrificante. Adicionalmente se realizaron ensayos similares pero inoculados con biomasa inactiva (1 g SSV/l secada en un horno a 100°C durante 48 h) y 20.25±4.69 mg-C-Amp/l para evaluar la posible pérdida de AMP por adsorción durante 8 h. Al igual que los ensayos anteriores las botellas fueron selladas con tapas de goma y con contratapas de aluminio y se mantuvieron incubadas en un shaker (RIOSSA E-51) a 30°C en agitación a 200 rpm. La concentración de ampicilina se determinó a lo largo del tiempo para conocer la pérdida del compuesto por reacción química o adsorción.

Medio de cultivo. La composición del medio mineral utilizado en los ensayos en lote fue la siguiente (mg/l): 270 de KH_2PO_4, 720 de K_2HPO_4, 30 $MgSO_4$ $7H_2O$. Se adicionaron los siguientes elementos traza: 70 de $FeCl_3$ $6H_2O$ y 7.5 de $CuSO_4$ $5H_2O$, 1 de Na_2MoO_4 H_2O, 7 de $CaCl_2$ $2H_2O$ y 5 de $MnCl_2$ (Banda, 2016). Las fuentes de nitrógeno y carbono fueron

proporcionadas por nitrato de sodio (5.81, 11.62, 17.44 y 23.25 mg-N/l) y ampicilina (5, 10, 15 y 20 mg-C/l) respectivamente.

6.3 Reactores de lote secuenciado (SBR)

Figura 6. Reactores SBR en operación en presencia de C-acetato y C-ampicilina, reactor de la derecha alimentado con acetato y reactor de la izquierda alimentado con ampicilina

6.3.1 Operación de reactores SBR

Para evaluar el comportamiento cinético y fisiológico del proceso desnitrificante, se usaron dos reactores de lote secuenciado (SBR1 y SBR2 ambos de la marca Applikon), con un volumen nominal de 1.2 l y un volumen de operación de 1 l alimentados mediante bombas peristálticas (Masterflex). Se utilizaron temporizadores automáticos de la marca Sper Scientific para el encendido y apagado de las bombas. Ambos reactores fueron inoculados con 2 g SSV/l provenientes del reactor UASB, se mantuvieron bajo una agitación constante de 200 rpm y a temperatura ambiente (21°C).

Esta parte de la experimentación se realizó en dos etapas. En una primera se realizó en ambos reactores, la evaluación del proceso desnitrificante usando diferentes concentraciones de acetato (22, 41, 63, 85 y 105 mg-C/l, C/N estequiométrica de 1.1) como fuente de electrones. La segunda etapa consistió en alimentar el reactor SBR1 con diferentes concentraciones de ampicilina (21, 45, 62, 85 y 103 mg-C/l, C/N estequiométrica de 0.86) como única fuente de electrones, mientras que el reactor SBR2 se mantuvo alimentado con 100 mg-C-acetato/l.

6.3.2. Evaluación de la desnitrificación con C-acetato en reactores SBR

Los reactores se mantuvieron operando con acetato (pH 7.7±0.3), durante aproximadamente 38 ciclos con cada una de las concentraciones y 6 de ellos se evaluaron para obtener los perfiles del comportamiento cinético. Cuando se alcanzaban eficiencias de consumo mayores que 90% y un coeficiente de variación de las velocidades específicas de consumo de sustratos y generación de productos menores del 10%, se procedía a cambiar la concentración de alimentación. Los ciclos de operación fueron de 12 h distribuidos de la siguiente forma: llenado 0.25 h; reacción 11 h; sedimentación 0.5 h; y finalmente drenado 0.25 h. Bajo estas condiciones los reactores se operaron durante 200 ciclos.

6.3.3. Evaluación de la desnitrificación con C-ampicilina en reactores SBR

Al igual que la primera etapa, los reactores se operaron con cada concentración de ampicilina entre 20 y 30 ciclos y se evaluaron cinéticamente 6 de ellos. Para este estudio, y con las concentraciones de 21, 45 y 62 mg-C-Amp/l los ciclos fueron de 12 h con la siguiente distribución: llenado 0.25 h; reacción 11 h; sedimentado 0.5 h y drenado 0.25 h. Con las concentraciones de 85 y 103 mg-C-Amp/l el tiempo de reacción fue de 6.5 h y sedimentación de 5 h y, manteniendo los demás igual. Bajo estas condiciones los reactores se operaron durante 150 ciclos.

6.3.4. Medio de cultivo. Para evitar la contaminación del medio y formación de precipitados, el medio se suministró a los reactores de manera separada (fuente de carbono y fuente de nitrógeno) con la siguiente composición (Hernández, 2005):

- Fuente de carbono (mg/l): 2000 de KH_2PO_4, 400 de $MgSO_4$ $7H_2O$, 120 de $Na_2MoO_4H_2O$ y 600 de $CaCl_2$ $2H_2O$.
- Fuente de nitrógeno (mg/l): 100 de $FeCl_3$ $6H_2O$ y 60 de $CuSO_4$ $5H_2O$

Las diferentes fuentes carbonadas y nitrogenadas fueron suministradas por ampicilina, acetato y nitrato de sodio respectivamente.

6.3.5. Ensayos abióticos. Para evaluar la posible pérdida de ampicilina por reacción química o fotoquímica, se llevaron a cabo ensayos en los reactores SBR con el medio mineral previamente descrito, 20.25±4.69 mg-C-Amp/l y la correspondiente concentración de 24.8±2.98 mg N-NO_3^-/l considerando a una relación C/N estequiométrica de 0.86 y en ausencia de biomasa desnitrificante. Asimismo, se realizaron ensayos similares durante 8 h con 20.25±4.69 mg-C-Amp/l, pero inoculados con biomasa inactiva (2 g SSV/l secada en un horno a 100°C durante 48 h) para evaluar la posible pérdida de AMP por adsorción. Los reactores se mantuvieron a temperatura ambiente y agitación constante de 200 rpm. La concentración de ampicilina se determinó a lo largo del tiempo para conocer la pérdida del compuesto por reacción química o asorción.

6.4 Evaluación de los cultivos.

El comportamiento fisiológico del proceso desnitrificante fue evaluado mediante el cálculo de la eficiencia de consumo de sustratos (E): N-nitrato, C-acetato y C-ampicilina; los rendimientos de formación de productos (Y): nitrógeno molecular, bicarbonato y CO_2; mientras que el comportamiento cinético del proceso se evaluó a través de las velocidades específicas de consumo de sustratos (q): nitrato, acetato y ampicilina, así como de formación de productos: nitrógeno molecular y bicarbonato.

El cálculo de las eficiencias de consumo de C-acetato (C-Ace), C-Amp y N-nitrato se realizó como se muestran las ecuaciones 8.1, 8.2 y 8.3:

$$\mathbf{E_{C-Ace}} = \left(\frac{(\mathbf{mg\ C - Ace}_{\mathbf{entrada}}) - (\mathbf{mg\ C - Ace}_{\mathbf{salida}})}{\mathbf{mg\ C - Ace}_{\mathbf{entrada}}}\right) * \mathbf{100\ Ecuación\ (8.1)}$$

$$\mathbf{E_{NO_3}} = \left(\frac{(\mathbf{mg\ N - NO_{3\ entrada}^-}) - (\mathbf{mg\ N - NO_{3\ salida}^-})}{\mathbf{mg\ N - NO_{3\ entrada}}}\right) * \mathbf{100\ Ecuación\ (8.2)}$$

$$\mathbf{E_{AMP}} = \left(\frac{(\mathbf{mg\ C - AMP_{entrada}}) - (\mathbf{mg - C - AMP_{salida}})}{\mathbf{mg\ C - AMP_{entrada}}}\right) * \mathbf{100\ Ecuación\ (8.3)}$$

El cálculo de los rendimientos para bicarbonato y nitrógeno molecular se realizó como indican las ecuaciones 9.1 y 9.2:

$$\mathbf{Y_{N_2}} = \frac{\mathbf{mg\ N_2\ producidos}}{\mathbf{mg\ N - NO_{3\ consumidos}}} \qquad \mathbf{Ecuación (9.1)}$$

$$\mathbf{Y_{HCO_3}} = \frac{\mathbf{mg\ HCO_3^-\ producidos}}{\mathbf{mg\ C - AMP_{consumidos}}} \qquad \mathbf{Ecuación\ (9.2)}$$

El cálculo de las velocidades volumétricas (Qs) de consumo de C-acetato, N-nitrato y C-Amp, así como de producción de C-bicarbonato y nitrógeno molecular, fue realizado mediante la obtención de la pendiente durante la fase lineal del perfil de consumo o producción. Las velocidades específicas (q_s) se obtuvieron al dividir el valor respectivo de Qs entre la concentración de biomasa presente en el reactor, de acuerdo con las ecuaciones 10.1 y 10.2.

$$\mathbf{q_s} = \frac{\mathbf{ds}}{\mathbf{dt}} * \frac{\mathbf{1}}{\mathbf{X}} \quad \mathbf{Ecuación (10.1)}$$

$$\mathbf{q_s} = \frac{\mathbf{Qs}}{\mathbf{X}}\ \mathbf{Ecuación (10.2)}$$

Donde:

Qs: la velocidad volumétrica (mg/l t)

qs: La velocidad específica (mg/mg SSV t)

X: Biomasa presente en los cultivos (mg SSV/l)

Los ensayos en lote y los realizados en el SBR alimentados con acetato se realizaron por duplicado.

6.5 Métodos analíticos

A continuación, se desglosan cada uno de los métodos utilizados y se muestran ejemplos de las curvas de calibración obtenidas.

6.5.1 Cuantificación de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) y nitrito ($N\text{-}NO_2^-$) por electroforesis capilar

El N-nitrato y N-nitrito se cuantificó mediante una electroforesis capilar, empleando un analizador de iones (CIA 4000, Waters). El aparato consta de un capilar de sílice fundida de 60 cm de longitud y 70 µ de diámetro interno, al cual se le aplica una corriente de 35 mA y un voltaje de 20 KV. Como sistema de detección se utilizó una lámpara de luz ultravioleta con una longitud de onda fija de 214 nm. Se utilizó una solución de 0.01 M adicionada de 5 ml de OFM Anion-BT (waters) como electrolito para generar el campo magnético. Para realizar el análisis de las muestras, se depositaron 0.5 ml de muestra previamente filtrada por una membrana de nylon de 13 mm de diámetro y tamaño de poro de 0.2 µm.

En la figura 7, se presenta un ejemplo de las curvas estándar de calibración de N-nitrato y N-nitrito (CIA).

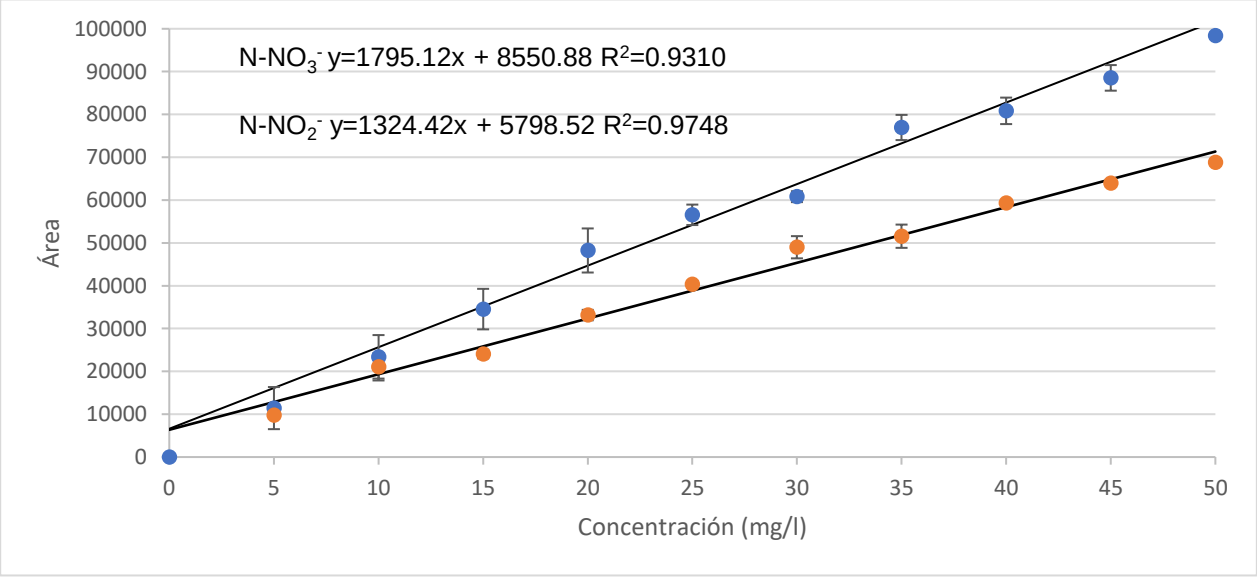


Figura 7. Curvas de calibración de $N\text{-}NO_3^-$ y $N\text{-}NO_2^-$ obtenidas por electroforesis capilar. La línea continua representa la curva ajustada y los círculos los datos experimentales. El $N\text{-}NO_3^-$ color azul y $N\text{-}NO_2^-$ naranja.

6.5.2 Cuantificación de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) y nitrito ($N\text{-}NO_2^-$) mediante HPLC

El análisis de N-nitrato y N-nitrito también se llevó a cabo por medio de un HPLC (Perkin Elmer Series 200) con un detector UV a una longitud de onda de 214 nm, un flujo isocrático de 2ml/min. Se utilizó una columna aniónica IC-Pak A de la marca Waters que consta de dimensiones 4.6x50 mm, tamaño de partícula 10 µm y capacidad de 30±3 µeq/ml y además de una fase móvil de 860 ml de agua, 120 ml de acetonitrilo, 20 ml de butanol, y 20 ml de concentrado borato-gluconato (solución de 146 g de gluconato de sodio, 18 g de ácido bórico, 25 g de tetra borato decahidratado de sodio y 250 ml de glicerol aforado en un litro de agua). Se inyectó un volumen de 20 ml.

Esta técnica permitió medir la cantidad de N-nitrato y N-nitrito consumida por los lodos desnitrificantes. En la figura 8, se puede observar un ejemplo de la curva estándar de calibración para N-nitrato y N-nitrito.

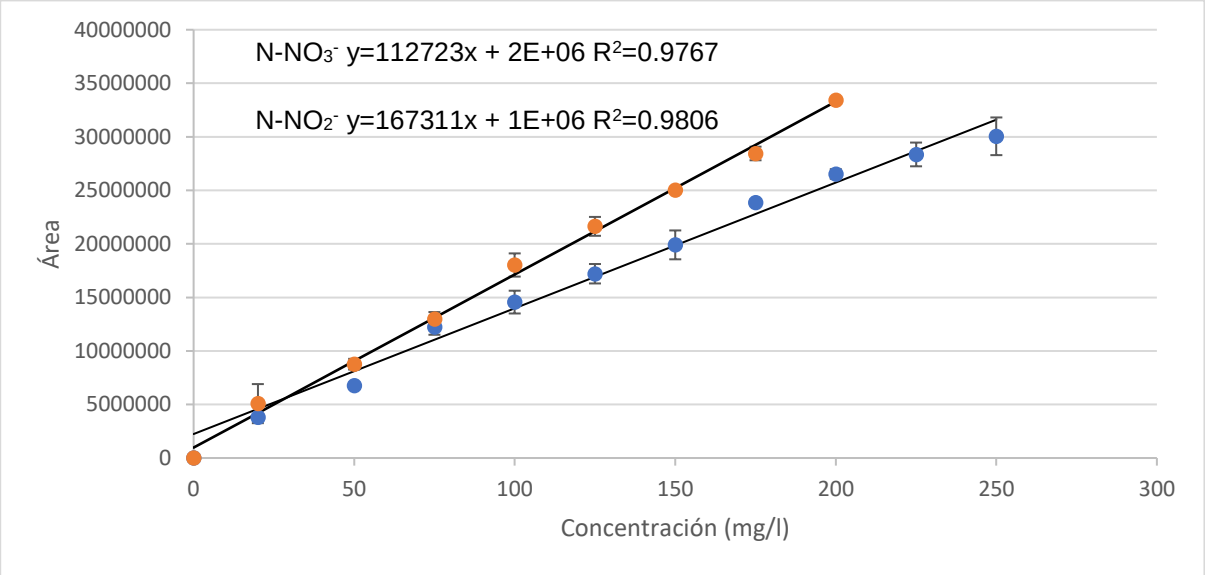


Figura 8. Curvas de calibración de $N\text{-}NO_3^-$ y $N\text{-}NO_2^-$ obtenidas por HPLC. La línea continua representa la curva ajustada y los círculos los datos experimentales. El $N\text{-}NO_2^-$ en color naranja y $N\text{-}NO_3^-$ azul.

6.5.3 Cuantificación de carbono total (CT), orgánico (CO) e inorgánico (CI)

La cuantificación de carbono orgánico e inorgánico se realizó por un analizador de carbono orgánico total modelo TOC- 5000 (Shimadzu). El equipo analiza por separado el carbono total y el inorgánico. El sistema cuenta con un inyector que toma la muestra y la envía por medio de una corriente de aire de alta pureza, a un tubo de combustión que tiene una temperatura de 680º C. En el tubo de combustión el carbono es oxidado a CO_2 y transportado a un vaso de reacción de carbono inorgánico. Posteriormente es secado y enfriado por medio de un deshumificador, para finalmente ser pasado a una celda donde es detectado mediante un analizador de infrarrojo. El CO_2 cuantificado genera como señal un pico, cuya área es calculada por un procesador de datos. El área obtenida es proporcional a la concentración de carbono en la muestra y es calculada con base a una curva de calibración previamente elaborada.

Esta técnica permitió medir la cantidad de carbono inorgánico (HCO_3^-) formado por los lodos desnitrificantes y carbono total de las muestras de los ensayos realizados, obteniéndose por diferencias de ambas variables el total de carbono orgánico. En la figura 9, se pueden observar ejemplos de las curvas estándar de calibración para Carbono total (TC) y Carbono Inorgánico (IC).

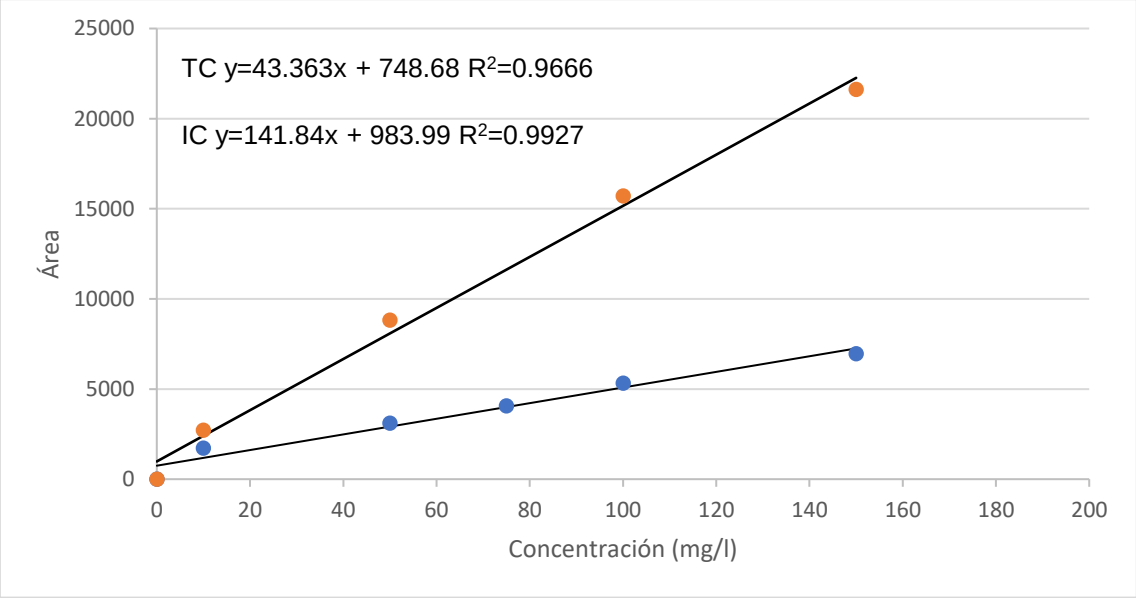


Figura 9. Curvas de calibración de TC e IC obtenidas por TOC. La línea continua representa la curva ajustada y los círculos los datos experimentales. El IC en color azul y TC naranja.

6.5.4 Cuantificación de C-acetato

El acetato se cuantificó mediante un cromatógrafo de gases Varian Star 3400, con detector de ionización de flama (FID). El equipo utiliza una columna de acero inoxidable de 1.2 m de longitud y 1/8" de diámetro interno, empacada con Porapaq Q malla 80-100. El gas acarreador fue nitrógeno con un flujo de 30 ml/min. Para la medición de acetato, se utiliza 1 ml de muestra previamente filtrada con una membrana de nylon de 0.45 µm de tamaño de poro, a la cual se le adiciona 0.1 ml de HCl 3 N con el fin de acidificarla y tener el ácido acético sin disociar. Se inyecta al cromatógrafo 3 µl de muestra con una jeringa de 10 µl.

Esta técnica permitió medir la cantidad de acetato consumido por los lodos desnitrificantes en los ensayos realizados. En la figura 10, se presenta uno de los ejemplos de las curvas estándar de calibración de acetato.

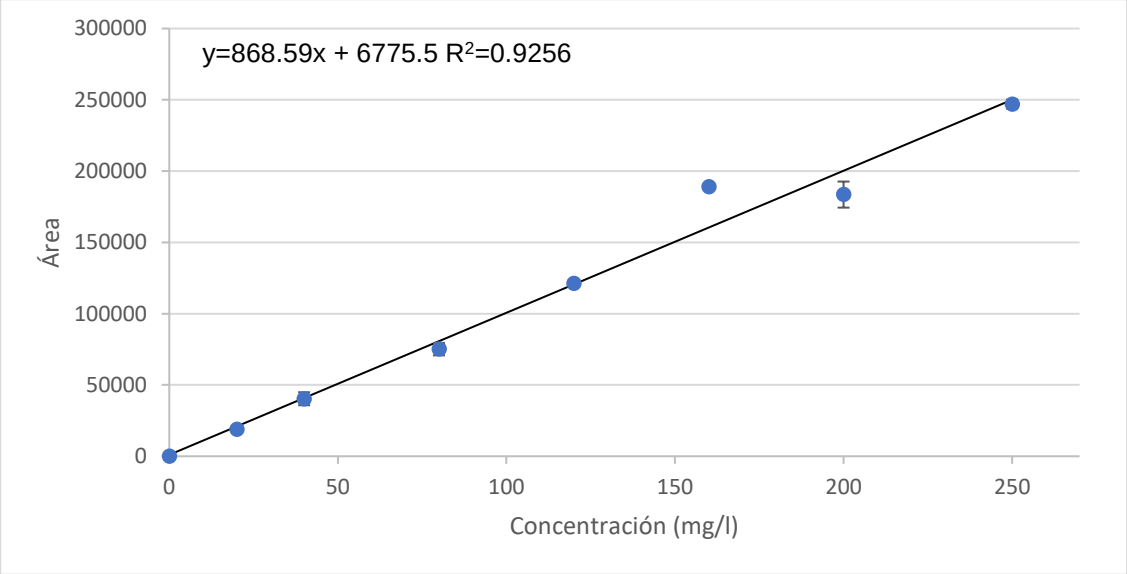


Figura 10. Curva de calibración de C-acetato obtenidas por cromatografía de gases. La línea continua representa la curva ajustada y los círculos los datos experimentales. El C-acetato en color azul.

6.5.5 Cuantificación de gases

El nitrógeno molecular, metano, bióxido de carbono y óxido nitroso presentes en el gas generado en cada uno de los ensayos se cuantificaron en una sola corrida mediante un cromatógrafo de gases Varian Star 3300. Se utiliza un detector de conductividad térmica (TCD) y una columna empacada con Porapaq Q malla 80-100. El gas acarreador fue helio con un flujo de 16 ml/min. La calibración del cromatógrafo se hizo con una mezcla de nitrógeno molecular (60%), bióxido de carbono (15%), metano (15%) y óxido nitroso (10%). El volumen de inyección fue de 0.05 ml, el volumen del gas generado fue ajustado a condiciones estándar de temperatura y presión.

Esta técnica permitió medir la fracción de especies obtenidas en los gases generados por los lodos desnitrificantes en los ensayos realizados. En la figura 11, se pueden observar ejemplos de las curvas estándar de calibración para N_2 y CO_2.

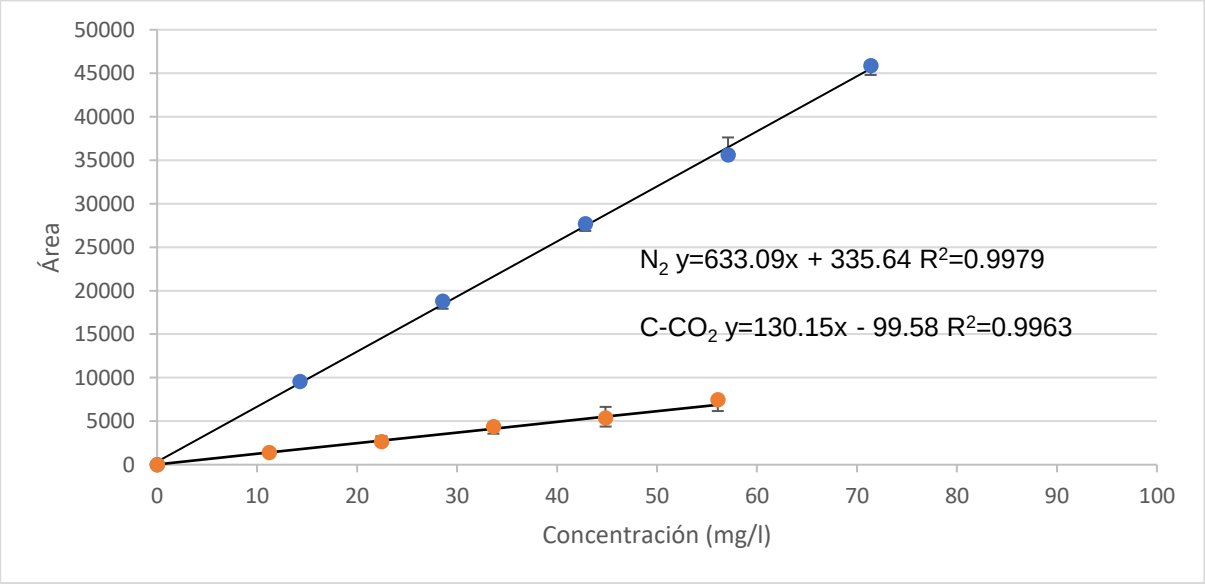


Figura 11. Curvas de calibración de CO_2 y N_2 obtenidas por cromatografía de gases. La línea continua representa la curva ajustada y los círculos los datos experimentales. El CO_2 en color naranja y N_2 azul.

6.5.6 Cuantificación de C-ampicilina mediante HPLC

El análisis de C-ampicilina se llevó a cabo por medio de un HPLC (Perkin Elmer Series 200) con un detector UV a una longitud de onda de 230 nm, un flujo isocrático de 1 ml/min. Se utilizó una columna X-Terra C-18 y una fase móvil de 809 ml de agua, 100 ml de acetonitrilo, 80 ml de metanol, 10 ml de buffer de fosfatos y 1 ml de ácido acético 1M. Se inyectó un volumen de 20 ml.

Esta técnica permitió cuantificar la cantidad de C-ampicilina consumida por los lodos desnitrificantes. En la figura 12, se puede observar un ejemplo de la curva estándar de calibración para C-ampicilina.

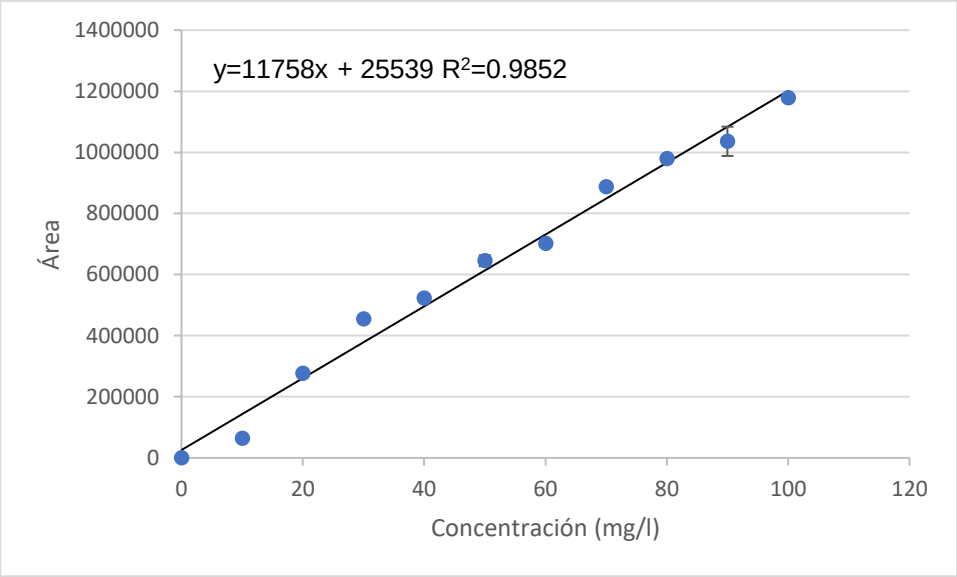


Figura 12. Curva de calibración de C-ampicilina obtenida por HPLC. La línea continua representa la curva ajustada y los círculos los datos experimentales. El C-Amp en color gris.

En la tabla 3 se muestran los valores promedio de la pendiente del modelo lineal ajustado, los coeficientes de variación (CV) y los coeficientes de determinación (R^2) calculados a partir de la curva estándar para cada compuesto medido.

Tabla 3. Valores de las pendientes y CV calculados de las curvas de calibración de los diferentes compuestos

	Pendiente	C.V	R^2
C-Amp	11758.41±.00	3.80	0.98±0.0
C-acetato	868.59±2.06	2.42	0.92±0.02
$N\text{-}NO_2^-$	1324.42±10.97	0.82	0.97±0.01
$N\text{-}NO_3^-$	1795.12±50.63	2.82	0.93±0.02
$N\text{-}NO_2^-$ (HPLC)	112723.04±4335.39	3.84	0.97±0.01
$N\text{-}NO_3^-$ (HPLC)	167310.53±10474.93	6.26	0.98±0.01
TC	43.36±0.60	1.47	0.96±0.0
IC	141.83±0.0	2.15	0.99±0.0
CO_2	130.15±1.91	1.46	0.98±0.0
N_2	633.09±6.52	1.02	0.99±0.0

Estos resultados indican que todos los métodos se comportan de manera lineal, que los modelos obtenidos se pueden utilizar para calcular las concentraciones de las muestras problemas, además de que, por su alto coeficiente de determinación y mínimo coeficiente de variación, los resultados obtenidos serán confiables y reproducibles.

6.6 Cuantificación de sólidos suspendidos.

Se realizó de acuerdo con los métodos APHA 1989. Se utilizaron 10 ml de lodos. Los sólidos suspendidos totales (SST), se cuantifican por medio del secado de la muestra por más de una hora a 110°C. Para obtener los sólidos suspendidos fijos (SSF), los sólidos resultantes del secado se calcinan durante 1h a 550 °C. Los cuales se obtienen de acuerdo a las siguientes ecuaciones (11, 12).

$$\mathbf{SST}\left(\frac{\mathbf{g}}{\mathbf{L}}\right) = \frac{(\mathbf{A}-\mathbf{B}) * \mathbf{1000}}{\mathbf{Vol.muestra}} \qquad \mathbf{Ecuación\ (11)}$$

Donde

A= peso de la muestra en g

B=peso del crisol en g

$$\mathbf{SSF}\left(\frac{\mathbf{g}}{\mathbf{L}}\right) = \frac{(\mathbf{A}-\mathbf{B}) * \mathbf{1000}}{\mathbf{Vol.muestra}} \qquad \mathbf{Ecuación\ (12)}$$

Donde

A= peso calcinado de la muestra en g

B=peso del crisol en g

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se obtuvieron por la diferencia de sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos fijos (SSF), como se muestra en la siguiente ecuación.

$$\mathbf{SSV} = \mathbf{SST} - \mathbf{SSF} \qquad \mathbf{Ecuación\ (13)}$$

6.7 Determinación del índice volumétrico del lodo (IVL) modificado

El IVL se define como el volumen en mililitros ocupado por un gramo de lodo en suspensión durante 30 minutos de sedimentación. Este parámetro es usualmente utilizado para determinar las características de sedimentabilidad del lodo. La experiencia de utilización de este método ha mostrado que puede ser útil como un proceso de rutina y de comparación de la sedimentabilidad entre diferentes lodos, siempre que en todos los casos se siga el mismo procedimiento. En este trabajo se realizó una modificación del método estándar, la cual consistió en emplear un volumen de 100 ml del lodo en suspensión y un cono de Imhoff en lugar de un cilindro graduado (Martínez-Orta, 2004). El IVL se calculó utilizando la ecuación 14.

$$\mathbf{IVL}\left(\frac{\mathbf{ml}}{\mathbf{g}}\right) = \frac{\mathbf{SV_{30}}}{\mathbf{VM} * \mathbf{SST}} \qquad \textbf{Ecuación (14)}$$

Donde:

SV_{30} (ml) = Volumen del lodo sedimentado en 30 minutos

VM (l) = Volumen de muestra

SST (g/l) = Sólidos suspendidos totales

7. Resultados y discusión

7.1 Fuente de inoculo

El inoculo usado para los ensayos en lote y ensayos en los reactores SBR fue obtenido de un reactor UASB con un volumen de trabajo de 0.8 l que se mantuvo operando bajo las condiciones descritas previamente en la sección de Metodología durante 10 meses a temperatura ambiente (21°C) y un TRH de 2 d. Bajo estas condiciones de operación, se encontró que las velocidades de descarga de nitrato y acetato fueron muy cercanas a cero por lo que el consumo de ambos compuestos a lo largo del tiempo fue alto. De hecho, después de 15 días, el lodo logró obtener una eficiencia de consumo de N-Nitrato (E_{NO3}) y de C-acetato (E_{ACE}) del 95.31±7.52 y 99.54±2.30% respectivamente. Los sustratos consumidos fueron transformados mayoritariamente a nitrógeno molecular y bicarbonato, con una formación de biomasa mínima, como lo muestran los valores de rendimiento de Y_{HCO3^-}, y Y_{N2} muy cercanos a 1. Así, que se puede concluir que el lodo desnitrificante fue fisiológicamente estabilizado. El inóculo obtenido del reactor UASB fue centrifugado y lavado tres veces con una solución de NaCl (9 g/L) antes de ser usado en los ensayos en lote y los reactores SBR.

7.2 Ensayos en lote: Abióticos

Para evaluar las posibles pérdidas de C-Amp y N- NO_3^- por reacción química o fotoquímica, se realizaron ensayos en botellas serológicas de 120 ml, con medio de cultivo mineral, 20.25± mg-C-Amp/l y la concentración de nitrato correspondiente a una C/N estequiométrica de 0.86 durante 24 h, sin biomasa y en ausencia de luz. Los resultados indican que a las 24 h de cultivo el porcentaje de variación de los sustratos es del 1.13 y 6.25% para las fuentes de N y C respectivamente, permaneciendo en el medio el 99 y 94% de nitrato y ampicilina respectivamente (figura 13). Estos resultados coinciden con los reportados por Elmolla et al. (2010), quienes con antibióticos betalactámicos, particularmente ampicilina (aproximadamente 57.69 mg-C-ampicilina/l), encontraron en reactores agitados pérdidas del 3.8% por acción fotolítica. Los autores mencionan que la degradación del antibiótico fue debida a la hidrólisis mediada por un ataque nucleofílico al anillo β-lactámico, seguido de la apertura de éste.

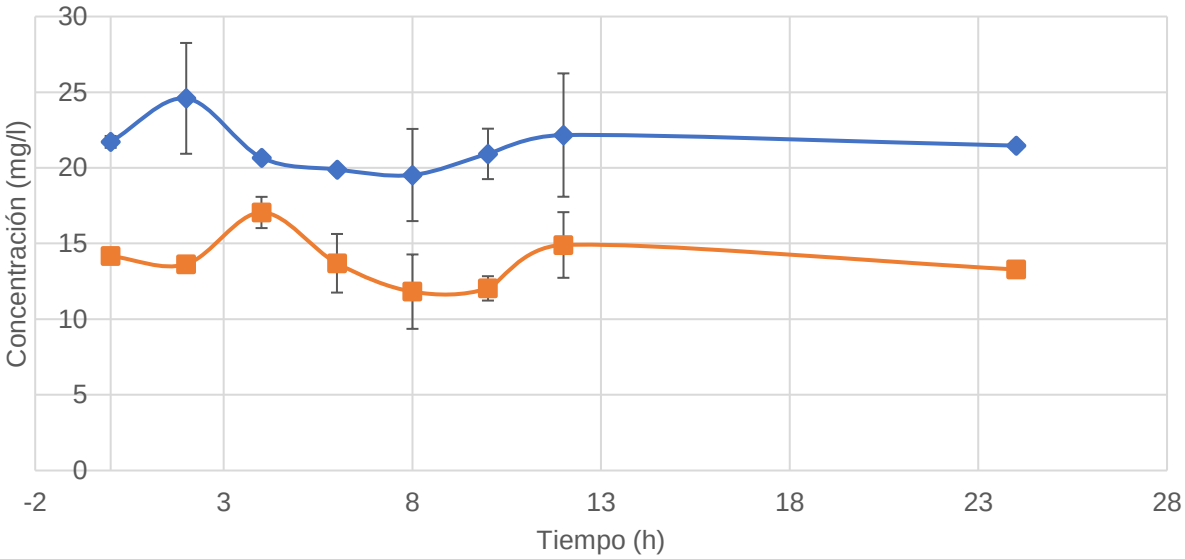


Figura 13. Ensayos abióticos en lote sin biomasa. El N-NO_3^- en color azul y C-Amp naranja.

De igual manera se realizaron ensayos con biomasa desnitrificante seca inactiva para evaluar la adsorción de C-Amp y N-NO_3^- en los lodos en ausencia de luz. Se utilizó 1 g SSV/l de biomasa seca inactiva en botellas serológicas de 120 ml adicionadas con medio de cultivo, una concentración de 25 mg-C-Amp/l y la concentración de nitrato requerida considerando una C/N estequiométrica de 0.86. En la figura 14 se observa que en las primeras tres horas se presenta una adsorción de C-Amp en el lodo de aproximadamente un 8%. A lo largo de las 8 h del ensayo se observa un descenso lento en la concentración de C-Amp, de forma que al final del experimento se obtuvo un porcentaje de adsorción de C-Amp en el lodo desnitrificante del 21.91±4.13%., mientras que para el caso de nitrato se mantuvo constante durante todo el tiempo de experimentación, permaneciendo el 90% del sustrato, sin mostrar signos de adsorción y/o consumo significativos.

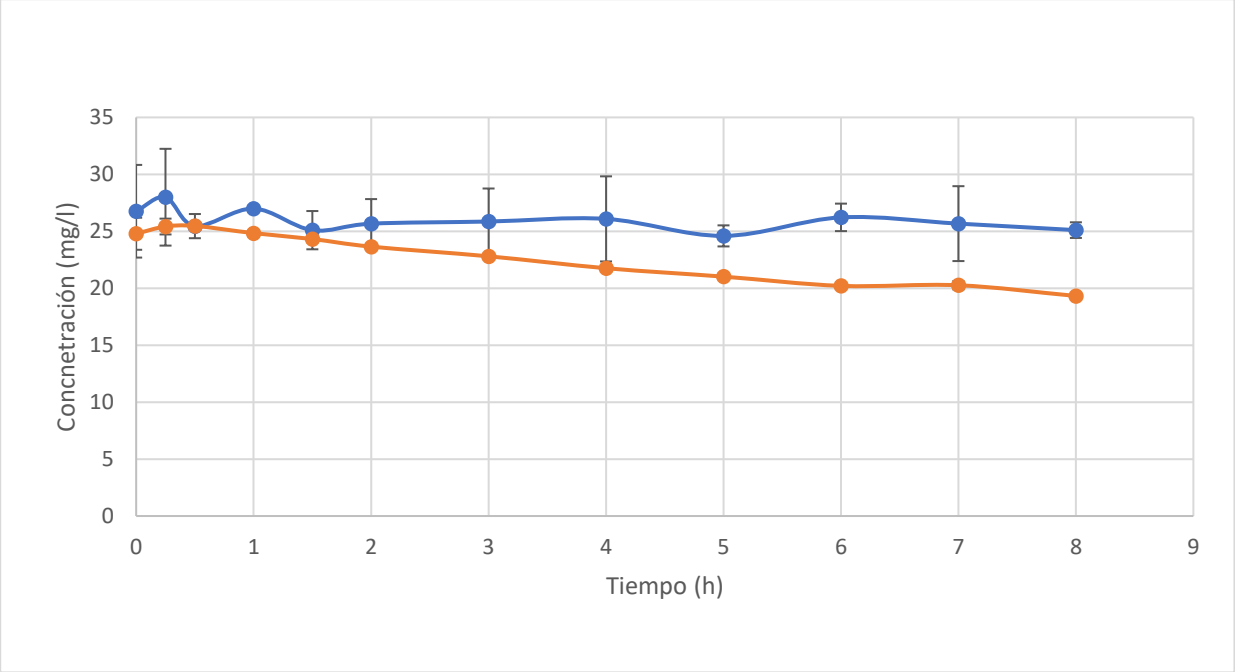


Figura 14. Ensayos abióticos con biomasa seca inactiva. El $N\text{-}NO_3^-$ en color azul y C-Amp naranja.

Bajo las condiciones reportadas por Banda (2016) en un ensayo con 100 mg-C-Amp/l en presencia de 1 g SSV/l de biomasa desnitrificante esterilizada durante 48 h, se reportaron porcentajes de adsorción del 12% del antibiótico. En el caso de Islas-García et al. (2017), el porcentaje de adsorción en un ensayo realizado durante 360 h utilizando biomasa esterilizada (0.5 g SSV/l) y una concentración de ampicilina de 14 mg-C-Amp/l fue del 5%. Esto indica que los porcentajes de adsorción reportados en la literatura son menores que los determinados en este trabajo. Este fenómeno de mayor sorción podría ser explicado por el método utilizado para inactivar la biomasa desnitrificante, que en este trabajo fue mediante secado, mientras que los de la literatura fue por esterilización. Es posible que, en comparación con los lodos sometidos a una esterilización, al exponer los lodos que fueron sometidos a secado al medio con ampicilina, éstos se rehidraten rápidamente, promoviendo en mayor medida la sorción de todos los nutrientes presentes, entre ellos la ampicilina.

Cabe mencionar que, durante las primeras tres horas de cultivo al evaluar perdidas por fotolisis o adsorción, estos no son procesos involucrados en la eliminación de ampicilina, por lo que no hay perdidas a considerar por estos fenómenos fisicoquímicos, cuando se evalué en los ensayos con biomasa activa

7.3 Ensayos desnitrificantes en lote

Se realizaron ensayos en lote con 5, 10, 15 y 20 mg-C-Amp/l como única fuente donadora de electrones y N-NO_3^- como aceptor, durante 6 horas de cultivo y con una relación C/N de 0.86.

En la figura 15A se observa el perfil desnitrificante cuando se adicionaron 5 mg-C-Amp/l. El consumo total de las fuentes carbonada y nitrogenada se obtuvo durante la primera hora de cultivo, dando como resultado un proceso desnitrificante completo, ya que la ampicilina se oxidó a HCO_3^- y CO_2, mientras que el NO_3^- se redujo hasta N_2 sin observarse formación de intermediarios carbonados o nitrogenados. Es importante mencionar que, bajo las condiciones experimentales establecidas, y de acuerdo con los ensayos abióticos, la adsorción de C-Amp en los lodos fue mínima, por lo que es posible atribuir la desaparición del antibiótico a la actividad biológica de los lodos desnitrificantes.

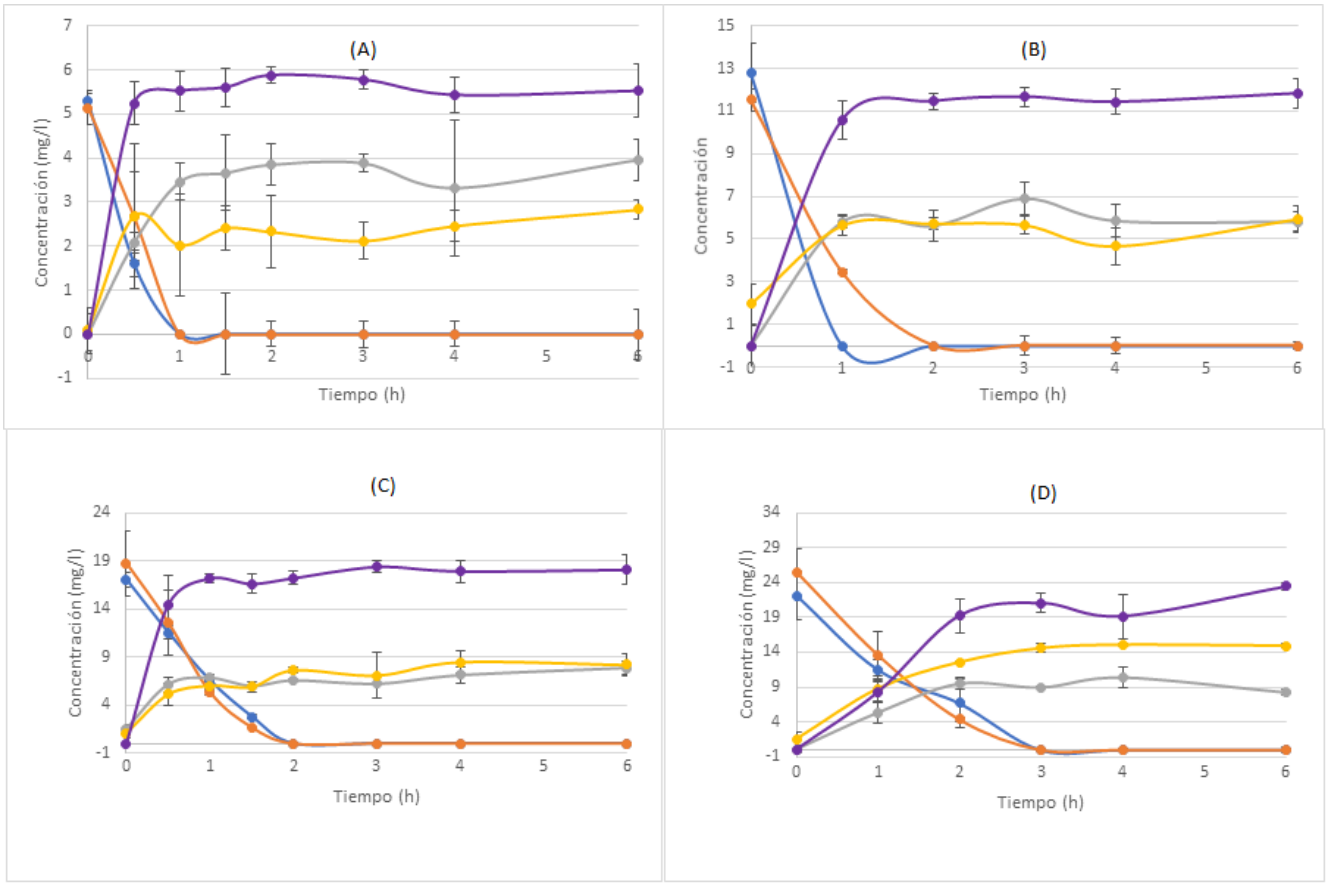


Figura 15. Perfiles desnitrificantes obtenidos con diferentes concentraciones de ampicilina (mg-C/l) como donador de electrones. (A): 5; (B): 10; (C): 15; (D): 20, realizados en ensayos en lote, en color azul, C-Amp naranja, C-HCO_3^- gris, C-CO_2 amarillo y N_2 púrpura.

Para el ensayo con la concentración de 10 mg-C-Amp/l se observó un comportamiento similar, puesto que se requirieron entre 1 y 2 horas de cultivo para llegar al consumo total del antibiótico, así como a su completa mineralización sin observar la formación de intermediarios carbonados (figura 15B), asimismo, se obtuvo una completa eliminación de nitrato y su reducción a N_2.

Un mayor tiempo de reacción de aproximadamente 3 horas de cultivo fue necesario en los ensayos adicionados con 15 y 20 mg-C-Amp/l para llevar a cabo el consumo total del antibiótico y su completa mineralización, además es importante mencionar que, en estos ensayos, a pesar de utilizarse concentraciones más altas de C-Amp, tampoco se detectó la formación de intermediarios carbonados o nitrogenados (figura 15C y 15D).

En todos los casos, tanto la ampicilina como el nitrato se consumieron completamente, resultando en eficiencias de consumo del 100% (tabla 4). Con base en los resultados obtenidos en los ensayos abióticos, es posible demostrar que en las primeras 3 h de cultivo, más del 90% de la desaparición de los sustratos fue debida a la actividad biológica, es decir, que los lodos desnitrificantes, consumieron los sustratos. Bajo estas condiciones, los rendimientos de producción de bicarbonato y dióxido de carbono (Y_{HCO3^-}, Y_{CO2}) y el rendimiento desnitrificante (Y_{N2}) fueron muy cercanos a 1, lo que indica que la ampicilina consumida se mineralizó y que el nitrato consumido se redujo a N_2. Asimismo, los rendimientos de biomasa fueron menores de 0.001, lo que demuestra que el proceso desnitrificante fue desasimilativo, es decir, que el crecimiento de biomasa fue mínimo y el C-Amp se utilizó principalmente como fuente donadora de electrones. Los resultados encontrados en el presente trabajo coinciden con los reportados en la literatura en los que se utilizan lodos desnitrificantes y diversos contaminantes recalcitrantes como donadores de electrones para la reducción de nitrato. Ejemplos de estos son el de Martínez-Gutiérrez et al. (2014) usando 2-clorofenol (2-CF) y Peña-Calva et al. (2004) usando benceno, tolueno y xileno. En ambos trabajos se obtuvo la mineralización de los contaminantes hasta HCO_3^-, lo cual demuestra que los lodos desnitrificantes son capaces de usar contaminantes recalcitrantes, así como ampicilina como donadores de electrones para realizar el proceso respiratorio, asimismo Mitchell et al. (2013) observaron que el consumo de ampicilina se obtuvo después de 10 días, siendo que la ampicilina es una molécula de consumo lento. Es importante recalcar que los resultados del presente trabajo se obtuvieron con lodos desnitrificantes sin exposición previa a la ampicilina, por lo que no fue necesario un periodo de

adaptación para que, en tan solo tres horas de cultivo, los lodos lograran utilizar al antibiótico como único donador de electrones y mineralizarlo completamente hasta HCO_3^- y CO_2 sin la generación de intermediarios.

Tabla 4. Valores de eficiencia de consumo (E) y rendimientos de formación de productos (Y) calculados con las diferentes concentraciones de ampicilina ensayadas en lote.

RELACIÓN C/N=0.86

CONC. (mg-C/l)	E C-Amp (%)	E N-NO_3^- (%)	Y HCO_3^-	Y CO_2	Y N_2
5	100±0	100±0	0.67±0.06	0.44±0.05	1.08±0.03
10	100±0	100±0	0.47±0.03	0.44±0.04	0.99±0.04
15	100±0	100±0	0.45±0.08	0.47±0.06	1.02±0.02
20	100±0	100±0	0.42±0.04	0.62±0.02	0.88±0.09

En todos los casos, Y_{BM} son menores que 0.001 y 0.0001 para C y N respectivamente.

En cuanto al comportamiento cinético del proceso, en la tabla 5 se muestran los valores obtenidos de las velocidades específicas de consumo de C-Amp y N-nitrato, así como de producción de C-bicarbonato, C-CO_2 y nitrógeno molecular en los diferentes ensayos. Asimismo, se incluyen las velocidades específicas del proceso desnitrificante cuando se utilizaron 20 mg-C-acetato/l como donador de electrones (Banda, 2016). Se puede observar que la qAcetato es tres veces mayor que la qAmp y que el valor de la qNO_3^- disminuye casi a la mitad cuando el antibiótico se utiliza como fuente reductora, sin embargo, tanto la velocidad de producción de bicarbonato como la de formación de N_2, son muy semejantes entre sí, lo que sugiere que cuando se utiliza ampicilina como única fuente de electrones, la primera etapa del proceso desnitrificante es tres veces más lenta. En la literatura se muestra que las fuentes de carbono simples como el acetato y metanol, entre otras, se degradan con mayor rapidez (Tam et al., 1992; Tiedje et al., 2002). En el caso de biodegradación de contaminantes aromáticos, Martínez-Gutiérrez, (2013) indica que en ensayos desnitrificantes en lote inoculados con 0.5 g SSV/l y adicionados con 22 mg/l de 2-CF como única fuente de electrones y una C/N estequiométrica de 1, se obtuvo una velocidad de consumo de 2-CF de 0.27±0.06 mg/g SSV d. Comparando esta velocidad de consumo con la obtenida en el actual trabajo, se observa que un proceso desnitrificante alimentado con ampicilina como única fuente de electrones, es casi 450 veces más rápido que cuando se usa un compuesto aromático-clorado como el 2-CF como donador de electrones. Estos resultados indican que, aunque los lodos desnitrificantes son capaces de utilizar distintos tipos de contaminantes como fuente de electrones, así como de consumirlos y mineralizarlos eficientemente, se obtendrán diferentes

comportamientos cinéticos. Este comportamiento podría estar asociado con la estructura química del donador de electrones.

Tabla 5 Velocidades específicas (mg/g SSV h) obtenidas con las diferentes concentraciones de C-ampicilina ensayadas. 1. Resultados de este trabajo, 2. Resultados de Banda 2016

Conc. (mg-C/l)	**q_{AMP} (mg/g SSV h)**	**q_{NO3^-} (mg/g SSV h)**	**q_{HCO3^-} (mg/g SSV h)**	**q_{CO2} (mg/g SSV h)**	**q_{N2} (mg/g SSV h)**	
5	4.35±0.14	4.23±0.30	2.84±0.34	1.66±0.09	4.54±0.03	1
10	5.39±0.05	4.86±0.22	2.37±0.29	1.58±0.09	4.83±0.16	
15	4.61±0.06	7.64±0.51	4.18±0.06	3.89±0.05	8.31±0.08	
20	5.07±0.14	7.02±0.12	3.89±0.03	4.50±0.30	7.88±0.18	
Conc. (mg-C/l)	**$q_{Acetato}$** (mg/g SSV h)	**q_{NO3^-}** (mg/g SSV h)	**q_{HCO3^-}** (mg/g SSV h)	**q_{CO2}** (mg/g SSV h)	**q_{N2}** (mg/g SSV h)	
20	15.04±7.76	11.01±0.08	3.83±0.33	-	5.93±1.44	2

7.4 Balance de materia

Finalmente, el balance de materiales (en mg/l) realizado a las 6 horas de cultivo (ecuaciones 14 y 15), permitió constatar que el N-nitrato y el C-ampicilina fueron transformados a nitrógeno molecular, bicarbonato, dióxido de carbono y biomasa sin la formación de intermediarios carbonados o nitrogenados. Asimismo, indica que el porcentaje de recuperación de los sustratos alimentados fue mayor que 90% (tabla 6), lo cual se debe principalmente al uso de sistemas cerrados.

$$N\text{-}NO_3^-{}_E = N\text{-}NO_3^-{}_S + N\text{-}BM_S + N_2 \qquad \text{Ecuación (14)}$$

$$C\text{-}Amp_E = C\text{-}Amp_S + C\text{-}HCO_3^-{}_S + C\text{-}BM_S + C\text{-}CO_{2\,S} \qquad \text{Ecuación (15)}$$

Donde:

Subíndice E corresponde al valor de entrada

Subíndice S corresponde al valor de salida

Cabe mencionar que con base en estos resultados, fue que se establecieron los tiempos de operación en los reactores SBR, quedando de la siguiente forma: llenado de 0.25 h, reacción de 11 h, sedimentación de 0.5 h y vaciado de 0.25 h; mientras que las concentraciones de acetato y ampicilina a evaluar se fijaron en 20, 40, 60, 80 y 100 mg-C/l.

Tabla 6. Balance de materiales calculados para los compuestos carbonados y nitrogenados en los ensayos con diferentes concentraciones de C-Amp.

Balance de carbono					
Conc. Inicial de C-Amp (mg/l)	C-AMP E* (mg/l)	C-AMP S* (mg/l)	C-HCO_3^- S** (mg/l)	C-CO_2S** (mg/l)	C-BM S** (mg/l)
5	5.28±0.17	0	3.95±0.46	2.82±0.22	0.00375
10	12.78±1.39	0	6.09±0.44	6.24±0.31	0.00875
15	17.04±0.77	0	7.89±0.75	7.09±2.40	0.01875
20	22.11±3.53	0	10.16±1.91	15.03±0.15	0.0225
	Balance de nitrógeno				
Conc. Inicial de N-NO_3^- (mg/l)	N-NO_3^- E* (mg/l)	N-NO_3^- S** (mg/l)	N_2 S** (mg/l)		N-BM S** (mg/l)
5	5.14±0.37	0	5.51±0.60		0.0006
10	11.53±0.52	0	11.79±0.04		0.0014
15	18.73±1.30	0	18.38±0.62		0.003
20	25.49±3.37	0	19.16±3.17		0.0036

*E= Entrada, **S= Salida

8. Resultados ensayos en reactores SBR

8.1 Ensayos abióticos

Al igual que en los ensayos en lote, también se evaluaron en los reactores SBR las posibles pérdidas de ampicilina por fotólisis, reacción química y/o adsorción.

En la figura 16 se muestra el comportamiento de la ampicilina (23.32 mg-C/l) y nitrato (20.53 mg-N /l) en los ensayos realizados en ausencia de biomasa, donde uno de los reactores estuvo expuesto a luz blanca, mientras que el otro reactor se mantuvo en ausencia de luz. En los ensayos donde el reactor se mantuvo en condiciones de ausencia de luz, tanto la concentración de ampicilina como la de nitrato se mantuvo con variaciones menores al 4.3 y 6.3% respectivamente durante las 10 horas de experimentación.

En el reactor expuesto a una intensidad de luz blanca de 5.4 Lx durante 10 horas de cultivo, se encontró que, durante las primeras tres horas del experimento, la fotolisis de ampicilina y nitrato representó un 4 y 2.24% respectivamente, posteriormente, a las 10 horas del ensayo, este valor aumentó a 23.40 y 3.4% respectivamente. Los resultados durante las primeras tres horas son comparables con los obtenidos por Priya et al. (2016), quienes reportan pérdidas menores de 2% cuando expusieron ampicilina y oxitetraciclina a una intensidad de luz solar de $35x10^3$±100 Lx durante 60 y 120 min.

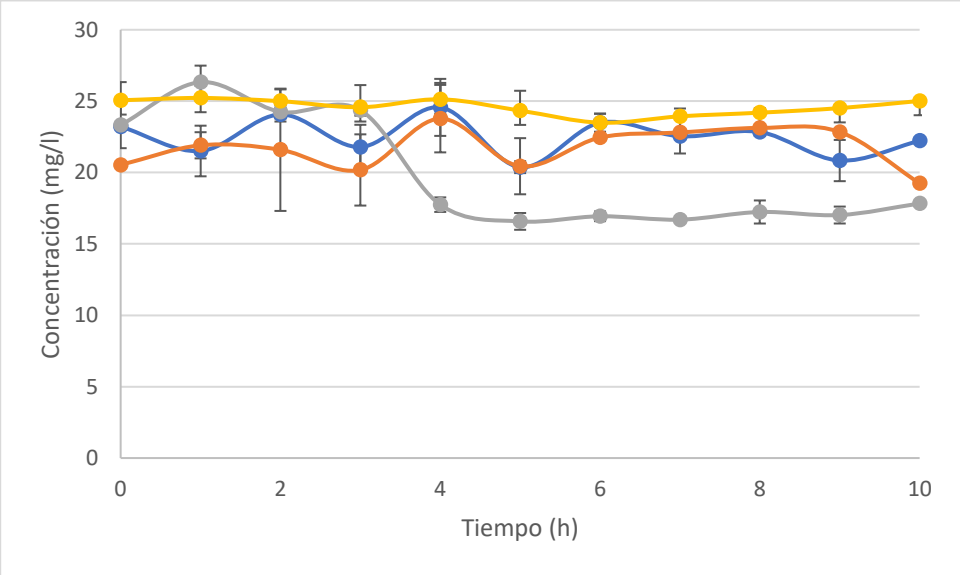


Figura 16. Ensayos abióticos sin biomasa en reactor tipo SBR con C-Amp y N-NO_3^-, expuestos a luz y en ausencia de luz. El N-NO_3^- sin luz en color azul, C-Amp sin luz naranja, C-Amp con luz gris, N-NO_3^- con luz amarillo.

En los ensayos donde se utilizó biomasa seca inactiva, se presentó una adsorción de C-Amp en el lodo de aproximadamente un 22.96% en las primeras tres horas, mientras que al final de las 10 h del ensayo, el porcentaje de adsorción de C-Amp y N-NO_3^- en el lodo desnitrificante fue del 32.40%±2.24 y 17.25±5.07 respectivamente, sin presentar evidencias de desorción durante el tiempo de experimentación (figura 17). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ramírez-Muñoz (2018) con biomasa nitrificante en ausencia de oxígeno, quien reporta que, durante 24 h, el 39.7% de la eliminación de ampicilina (25 mg/l) fue por adsorción en la biomasa. La adsorción de ampicilina en los lodos cuantificada en el presente trabajo es menor a la reportada por Dorival-García et al. (2013) quienes, al realizar experimentos bajo condiciones desnitrificantes, aerobias y nitrificantes, reportan entre un 50 y 80% de adsorción de quinolonas. Asimismo, Li & Zhang (2010) observaron en ensayos en lotes con aguas residuales dulces y saladas, una adsorción de ampicilina en los lodos depuradores del 38 y 57% para aguas saladas y dulces, respectivamente.

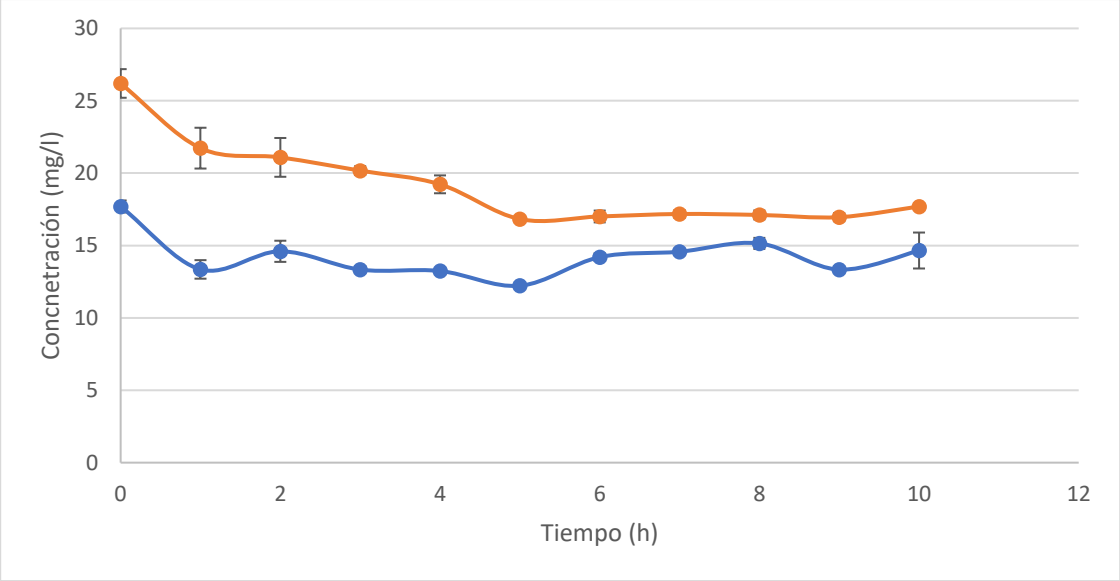


Figura 17. Ensayos con biomasa seca inactiva en reactor tipo SBR con C-Amp y N-NO_3^-. El N-NO_3^- en color azul y C-Amp naranja.

8.2 Evaluación de la desnitrificación con C-acetato en reactores SBR

Se procedió a evaluar el proceso desnitrificante en dos reactores SBR de 1.2 l alimentados con diferentes concentraciones de C-acetato (mg/l): 22, 41, 63, 85, 105. En las figuras 20A-20E se muestran a manera de ejemplo, los perfiles de consumo y producción desnitrificante

promedio de ambos reactores obtenidos con cada concentración de acetato ensayada y correspondiente al primer ciclo de operación con cada concentración de acetato.

Se encontró que en el primer ciclo de operación adicionado con 22 mg-C-acetato/l, éste fue consumido y mineralizado a bicarbonato, mientras que el nitrato fue reducido a nitrógeno molecular (figura 18A). Este comportamiento se mantuvo en los siguientes 6 ciclos que se evaluaron (ciclos del 1-6). En el ciclo de operación 39, se incrementó la concentración de acetato a 41 mg-C/l, encontrándose que el consumo total de ambos sustratos, tanto el carbonado como el nitrogenado, se realizó en menos de una hora de cultivo (figura 18B). Asimismo, su respectiva conversión a bicarbonato y N_2 se presentó en este intervalo de tiempo. Los resultados obtenidos indicaron que en todos los casos ensayados e independientemente de la concentración de acetato adicionada, el proceso biológico se llevó a cabo en menos de una hora, tiempo en el cual, el acetato fue oxidado a bicarbonato y el nitrato reducido a N_2 (figura 18C-E), indicando que el lodo desnitrificante presentó una actividad alta.

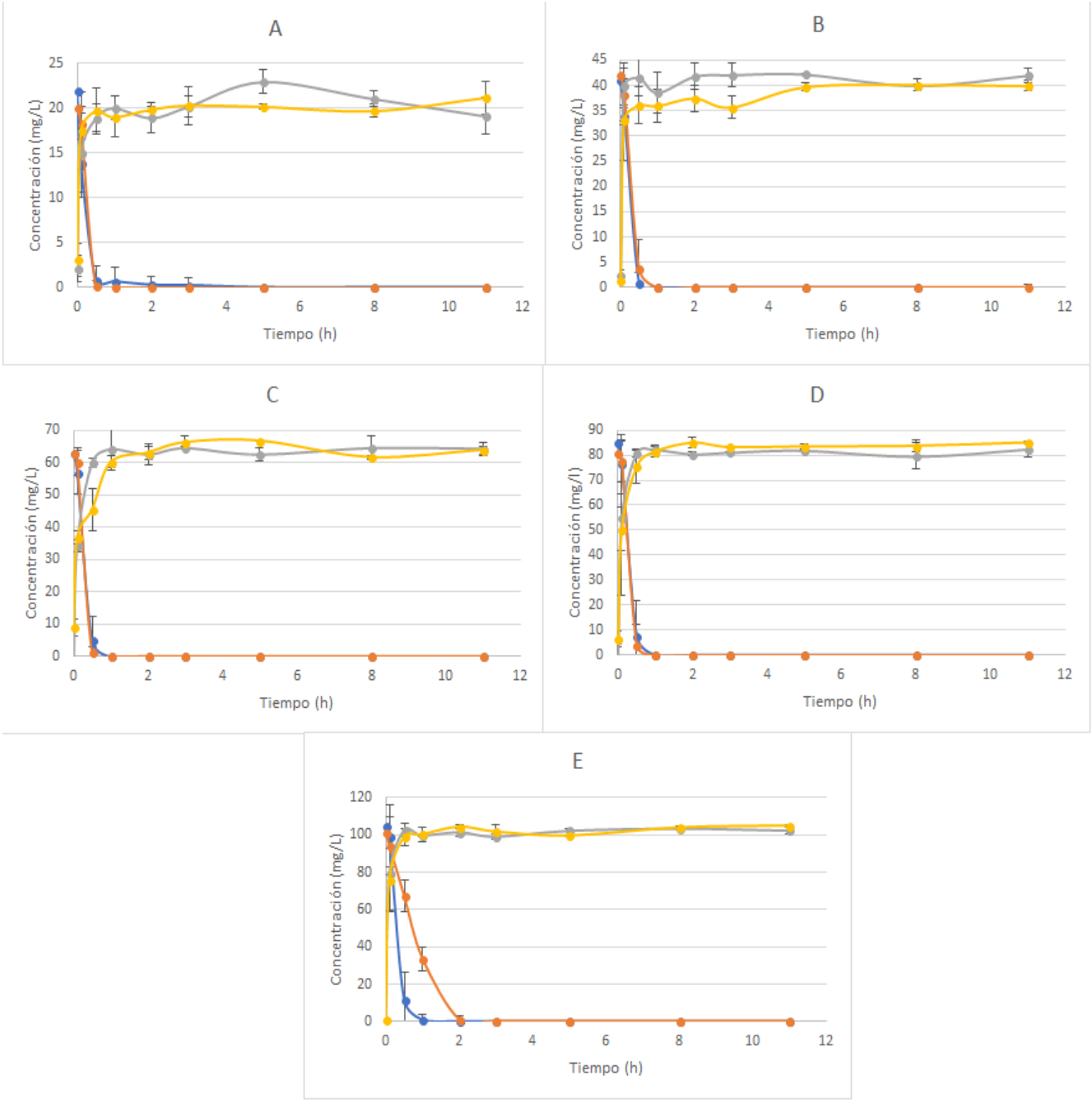


Figura 18. Perfiles desnitrificantes obtenidos con diferentes concentraciones de acetato (mg-C/l) como donador de electrones a lo largo de los ciclos de operación. (A): 22, ciclo 1; (B): 41, ciclo 39; (C): 63, ciclo 77; (D): 85, ciclo 115; (E): 105, ciclo 153 de operación en el SBR. El N-NO_3^- en color naranja, C-Ace azul, C-HCO_3^- gris y N_2 amarillo.

Las eficiencias de consumo de C-acetato (E_{Ace}) y N-NO_3^- (E_{NO3^-}) así como los rendimientos de producción de HCO_3^- (Y_{HCO3^-}) y N_2 (Y_{N2}) calculados con todas las concentraciones ensayadas y a lo largo de los ciclos evaluados se muestran en la tabla 7. Se puede observar que las E_{Ace} y E_{NO3^-} fueron iguales al 100% y los Y_{HCO3^-} y Y_{N2} muy cercanos a 1, lo que indica que, bajo las condiciones experimentales establecidas, el proceso respiratorio se llevó a cabo de manera completa y sin la formación de intermediarios de la desnitrificación, puesto que el acetato se mineralizó completamente y el nitrato se redujo a nitrógeno molecular. Asimismo, es posible afirmar que, independientemente de la concentración de acetato alimentada a los reactores SBR, no se encontraron diferencias significativas en el comportamiento fisiológico del lodo desnitrificante en ambos reactores. Todo esto indica que el proceso respiratorio se mantuvo estable, es decir que bajo las condiciones experimentales establecidas, fue posible obtener un lodo desnitrificante altamente eficaz y estable. Estos resultados pueden ser atribuidos a la utilización de reactores operados de manera secuencial. De hecho, en la literatura se dice que una de las principales ventajas del uso de los sistemas SBR, es promover altas eficiencias de consumo de distintos contaminantes (Carucci et al., 1999; Silva et al., 2014; Flores-Reyes, 2015).

Tabla 7. Eficiencias de consumo (E) y rendimientos (Y) de formación de productos calculados a diferentes ciclos de operación.

# Ciclo/Concentración (mg/l)	E Ace (%)	E NO_3^- (%)	Y HCO_3^-	Y N_2
1-6 (22)	100	100	0.95 ± 0.03	1.05 ± 0.09
39-44 (41)	100	100	1.02 ± 0.03	0.95 ± 0.02
77-82 (63)	100	100	1.02 ± 0.19	0.97 ± 0.05
115-120 (85)	100	100	0.93 ± 0.06	1.03 ± 0.06
153-158 (105)	100	100	0.97 ± 0.01	1.02 ± 0.01

El balance de materia de ambos sustratos (tabla 8), indica que los porcentajes de recuperación fueron cercanos al 100%, corroborando que ambos sustratos se consumieron totalmente y que no hubo formación de intermediarios carbonados o nitrogenados. Asimismo, dado que el rendimiento de producción de biomasa fue constante y pequeño, es posible decir que en todos los casos se obtuvo un proceso desnitrificante desasimilativo. Este comportamiento puede ser atribuido a la relación C/N estequiométrica establecida, pues se sabe que uno de los

principales factores para el control de la desnitrificación es la relación C/N. En este sentido, un valor de C/N menor al estequiométrico podría resultar en una desnitrificación incompleta, mientras que una relación C/N mayor a la estequiométrica, implicaría acumulación de sustratos e inclusive la presencia de metanogénesis (Martínez, 2017; Cuervo-López et al., 2009). Finalmente, dado que se trabajó con sistemas en lote cerrados, no se presentó pérdida de sustratos.

Tabla 8. Balance de materiales de los compuestos carbonados y nitrogenados a diferentes concentraciones de C-acetato en el SBR

Conc. (mg-C/l)	C-Ace E* (mg/l)	C-Ace S** (mg/l)	C-HCO_3^- S** (mg/l)	C-BM S** (mg/l)
22	22	0	21.08±0.83	0.006±0.001
41	41	0	41.00±1.37	0.003±0.000
63	63	0	63.00±1.22	0.002±0.000
85	85	0	79.51±5.27	0.001±0.002
105	105	0	102.33±1.57	0.001±0.001
Conc. (mg-N/l)	**N-NO_3^- E* (mg/l)**	**N-NO_3^- S** (mg/l)**	**N_2 S** (mg/l)**	**N-BM S** (mg/l)**
20	20	0	20.00±1.83	0.001±0.000
42	42	0	40.13±1.24	0.000±0.001
63	63	0	61.61±3.68	0.000±0.000
81	81	0	81.00±2.62	0.000±0.000
100	101	0	101.00±0.83	0.001±0.000

*E= Entrada, **S= Salida

La figura 21 muestra las velocidades específicas de consumo de sustratos y formación de productos calculados con las diferentes concentraciones de acetato y a lo largo de los ciclos de operación en ambos reactores SBR.

Durante la experimentación con 22 mg-C/l (figura 19A), se registró al final del sexto ciclo de operación un aumento del 12% en la qAcetato con respecto al primer ensayo. Un comportamiento similar se encontró con 41 mg-C/l, donde se obtuvo un aumento del 58% con respecto a la velocidad calculada con la concentración anterior y transcurso de los ciclos de operación. De igual manera, se registraron incrementos de 39, 26 y 21% en las qAcetato cuando a lo largo de los ciclos de operación, se aumentó la concentración de acetato a 63, 85 y 105 mg-C/l respectivamente. Comportamientos similares se observaron en la velocidad de consumo de N-NO_3^- y formación de HCO_3^- y N_2 (figuras 19 B, C y D).

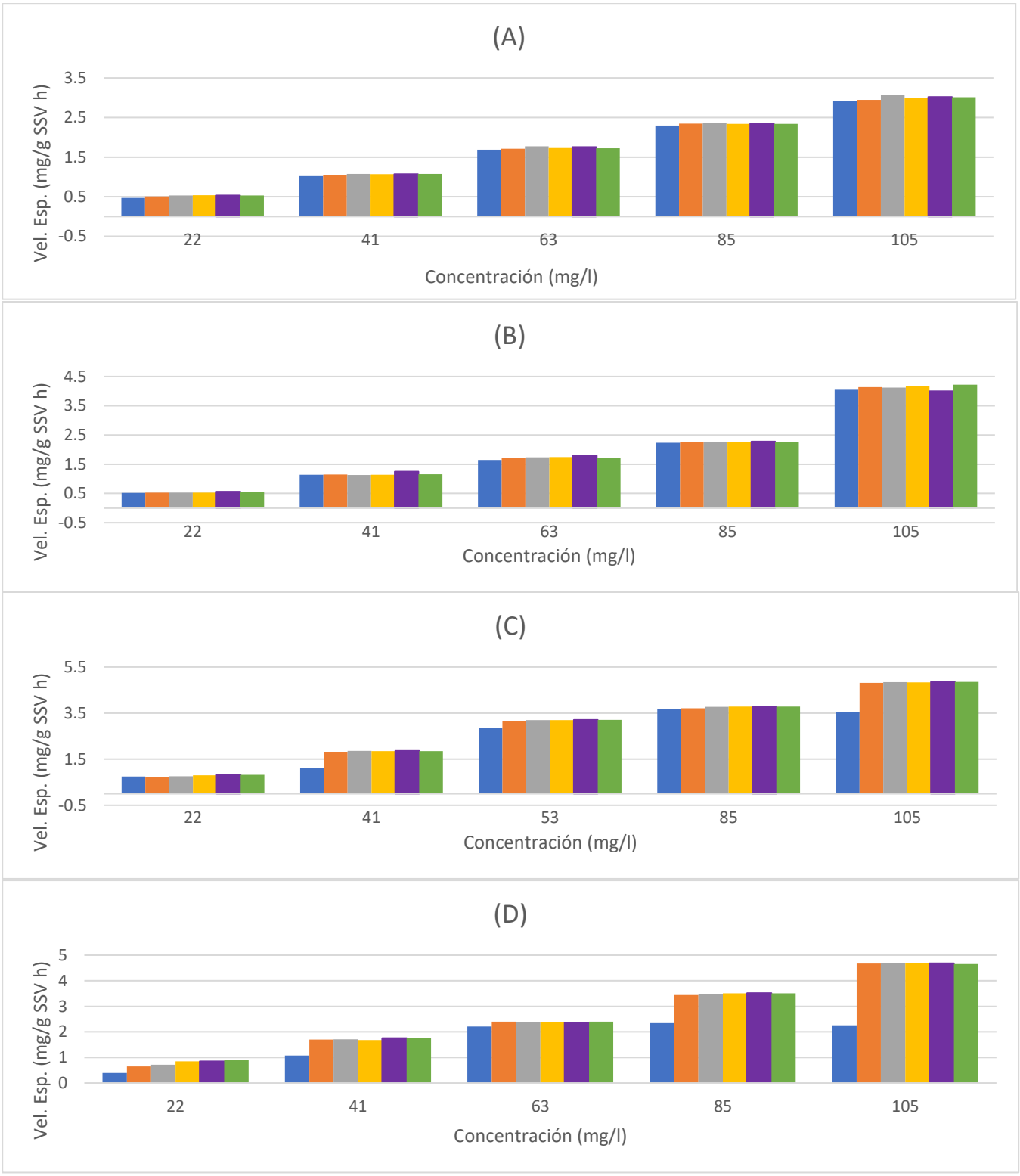


Figura 19. Velocidades específicas de consumo y producción obtenidas en el SBR con las diferentes concentraciones ensayadas y ciclos de operación. Velocidades específicas de consumo de acetato (A); velocidades específicas de consumo de nitrato (B); velocidades específicas de formación de HCO_3^- (C) y velocidades específicas de formación de N_2 (D). Cada color representa un ciclo de operación: 1er ciclo en azul, 2do ciclo naranja, 3er ciclo gris, 4to ciclo amarillo, 5to ciclo púrpura y 6to ciclo verde.

En la tabla 9 se muestran los promedios de las velocidades específicas obtenidas, así como sus desviaciones estándar. En todos los casos, los coeficientes de variación fueron menores al 10% lo que indica que independientemente de la concentración de acetato utilizada, se obtuvo un proceso cinéticamente adaptado. El tiempo de para llevar a cabo la completa desnitrificación con 20 mg-C/l obtenido es mucho más corto siendo que el proceso le llevo a cabo en dos horas de cultivo que las reportadas lote por Banda, (2016), quien utilizando concentraciones de acetato similares a las de este trabajo encuentra que el proceso desnitrificante ocurrió con mayor lentitud. Considerando que en el presente trabajo la concentración de biomasa se mantuvo constante a lo largo de la experimentación, el aumento en las velocidades específicas se puede atribuir a una mejora en la actividad enzimática del consorcio microbiano debida al modo de operación de los sistemas SBR, como se sugiere en algunos trabajos (Hernández, 2005; Martínez, 2015)

Tabla 9. Velocidades específicas desnitrificantes (mg/g SSV h) obtenidas con diferentes concentraciones de acetato en lo reactores SBR

Conc. (mg/l)	q_{ACE}	q_{NO3^-}	q_{HCO3^-}	q_{N2}
22	0.51±0.02	0.53±0.01	0.78±0.03	0.72±0.03
41	1.05±0.01	1.16±0.02	1.72±0.03	1.61±0.06
63	1.73±0.04	1.73±0.01	3.13±0.08	2.35±0.14
85	2.34±0.05	2.25±0.01	3.74±0.11	3.29±0.09
105	2.99±0.05	4.11±0.14	4.61±0.14	4.26±0.08

8.3 Evaluación de la desnitrificación en un reactor SBR alimentado a largo plazo con acetato

Mientras que uno de los reactores se comenzó a alimentar con ampicilina (SBR1), el segundo reactor (SBR2) se mantuvo alimentado con 100 mg-C-acetato/l, desde el ciclo 158 y hasta el ciclo 350. A partir del ciclo 286, el SBR2 se operó con un tiempo de reacción de 6.5 h, observando la completa mineralización de acetato en 5 h, por lo que se evaluó el comportamiento fisiológico y cinético a lo largo de los ciclos de operación. En la figura 20 se muestra el perfil desnitrificante en el ciclo 350, donde se observa que se requieren de 6 h de cultivo para lograr el consumo total de acetato y nitrato, así como su respectiva mineralización y reducción a HCO_3^- y N_2. Estos resultados indican que después de 150 ciclos de operación, el proceso desnitrificante se volvió más lento. Sin embargo, tanto las E_{Ace} y E_{NO3^-} como los

Y_{HCO3^-} y Y_{N2} se mantuvieron cercanos al 100% y a 1 respectivamente, indicando que el proceso respiratorio se mantuvo operando de manera completa y sin la formación de intermediarios.

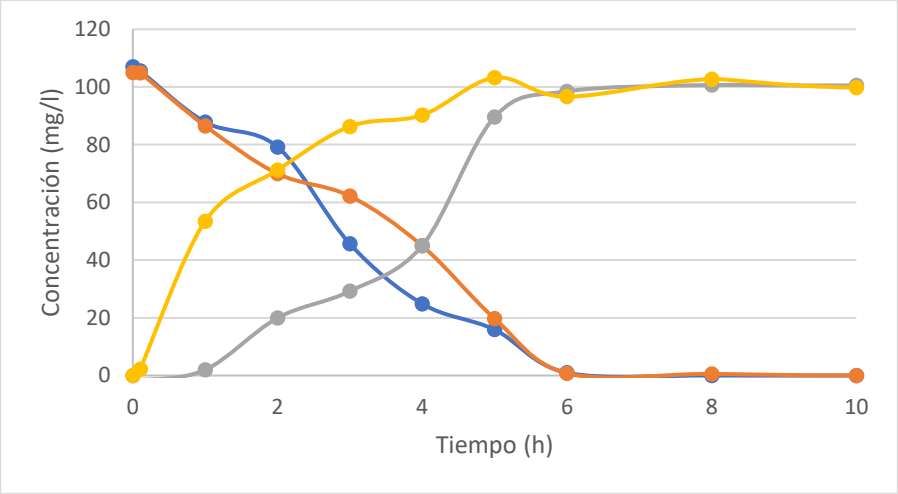


Figura 20. Perfil cinético de consumo y producción desnitrificantes con 105 mg-C/l de acetato en el ciclo 350. El N-NO_3^- en color naranja, C-acetato azul, C-HCO_3^- gris -, N_2 amarillo.

Asimismo, las velocidades específicas calculadas indicaron que del ciclo 158 al 201 se registró un aumento del 500% en la qAcetato, mientras que para el ciclo 350 esta velocidad disminuyó en un 60% (figura 21). Un comportamiento similar se presentó para el resto de las q, puesto que en la $qNO3^-$ se calculó un aumento del 100% con respecto al ciclo 158 y una disminución del 48% para el ciclo 350. En cuanto a las $qHCO_3^-$ y qN2, se obtuvo un aumento de 200% con respecto a las velocidades calculadas en el ciclo 158, aunque para el ciclo 350, ambas velocidades disminuyeron un 89 y 75% respectivamente. Es notorio que las velocidades que tuvieron mayor disminución fueron las correspondientes a la generación de los productos de la desnitrificación. Bajo estas condiciones, se calculó un tiempo de residencia celular de 5.6 días. Dado que a lo largo de la experimentación se mantuvo una C/N estequiométrica y un metabolismo desasimilativo, es probable que el lodo desnitrificante no pueda renovarse, por lo que la disminución de las velocidades del proceso desnitrificante podría ser atribuido al envejecimiento de los lodos. A este respecto, Strous et al. (1998) y Texier et al. (2004), encontraron que en reactores SBR operados a largo plazo, las velocidades específicas pueden decaer a lo largo de los ciclos de operación debido a procesos de envejecimiento de los lodos.

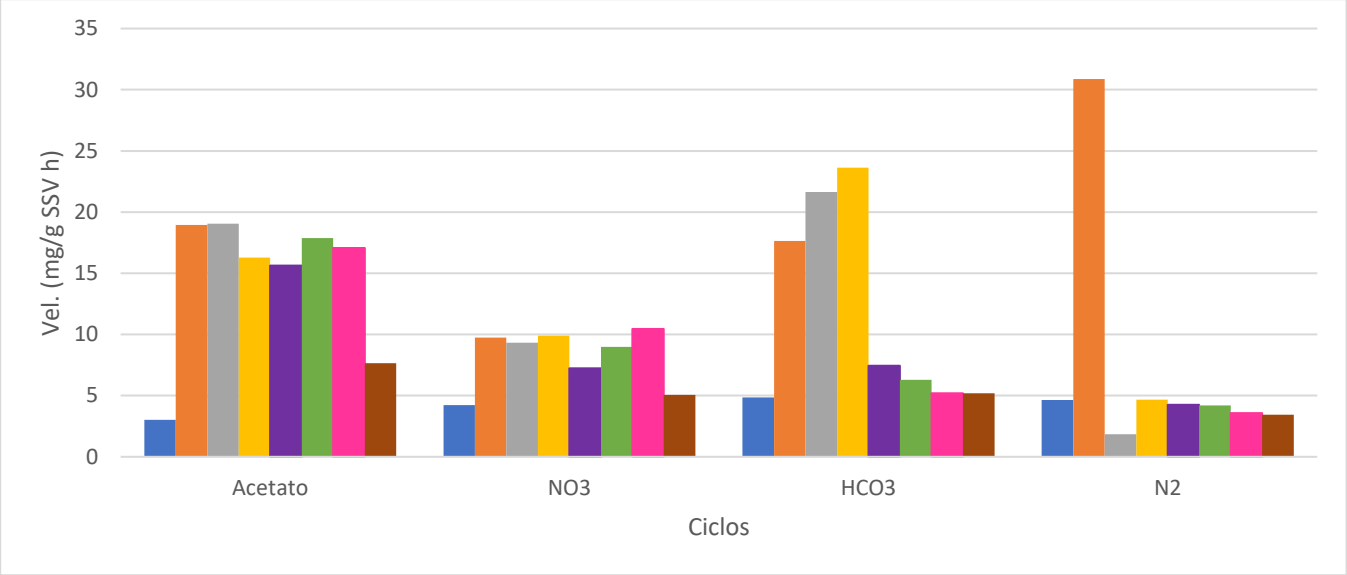


Figura 21. Velocidades específicas después de los 200 ciclos de operación en el reactor SBR con acetato. En color azul ciclo 158, naranja ciclo 201, gris ciclo 206, amarillo ciclo 222, púrpura ciclo 251, verde ciclo 286, rosa ciclo 326 y café ciclo 350.

8.4 Ensayos desnitrificantes en presencia de ampicilina

Se procedió a evaluar en el reactor SBR1, la desnitrificación utilizando ampicilina (21, 45, 62, 85 y 103 mg-C/l) como única fuente de electrones.

En la figura 22 (A y B), se muestra un ejemplo de los perfiles obtenidos después de cinco ciclos de operación con 21 y 45 mg-C-Amp/l respectivamente. Se observó un consumo total de ampicilina durante las primeras 2 horas de cultivo así como su mineralización a HCO_3^- y CO_2, todo esto asociado al consumo de NO_3^- y su reducción a N_2. Es importante resaltar que, bajo las condiciones experimentales establecidas, no hubo formación de intermediarios carbonados ni nitrogenados. Estos resultados contrastan con los reportados por Banda, (2016) quien en ensayos desnitrificantes en lote adicionados con 20 y 40 mg-C-ampicilina/l como única fuente de electrones, encuentra que se requieren de aproximadamente 5.5 h para consumir completamente el antibiótico. Aunado a esto, la autora indica que el 80% del N-NO_3^- se redujo a N_2 y un 20% se convirtió a N_2O, mientras que aproximadamente el 5% de la ampicilina no se mineralizó puesto que se registró la formación de dos intermediarios carbonados. Por otro lado, se ha encontrado que en reactores SBR desnitrificantes adicionados con 500 mg-C-acetato/l y 40 mg-C-ampicilina/l, aunque no se detecta la formación de intermediarios carbonados o nitrogenados, se requieren 49 h de cultivo para consumir completamente el antibiótico (Islas-

García, 2017). Todo esto indica que, bajo las condiciones establecidas en el presente trabajo, el proceso desnitrificante utilizando ampicilina como única fuente de electrones se llevó a cabo en menor tiempo, lo cual puede ser atribuido al periodo previo de estabilización realizado en el SBR alimentado con C-acetato.

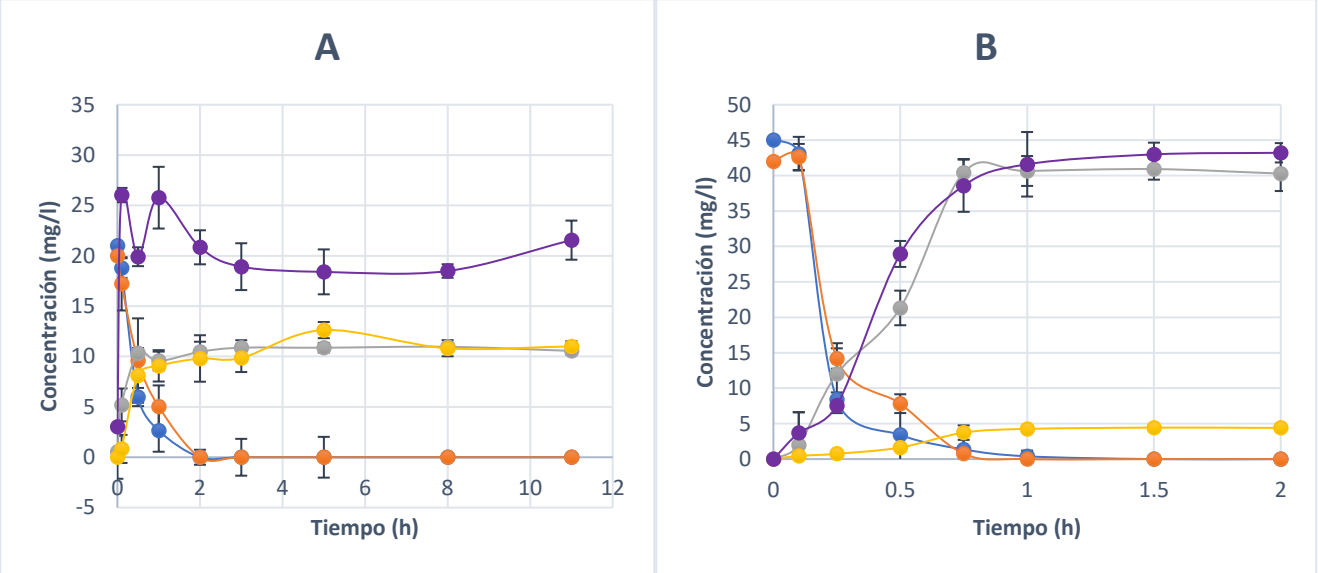


Figura 22. Perfiles desnitrificantes de consumo y producción después de 5 ciclos de operación en el SBR con 21 mg-C-ampicilina/l, ciclo 205(A) y 45 mg-C-ampicilina/l, ciclo 226(B). El C-Amp en azul, N-NO_3^- naranja, C-HCO_3^- gris, C-CO_2 amarillo y N_2 púrpura.

Cuando se adicionó en el ciclo 250 por primera vez 62 mg-C-Amp/l, se requirieron 3 y 5 horas de cultivo para consumir completamente tanto a la ampicilina como al nitrato alimentados. Durante este mismo tiempo el antibiótico se mineralizó a HCO_3^- y CO_2, así como el NO_3^- se redujo a N_2 (figura 23A). Cinco ciclos de operación después (ciclo 254), la completa eliminación de ampicilina y nitrato, así como su respectiva mineralización y reducción a N_2, se dio en solo dos horas de cultivo (figura 23B).

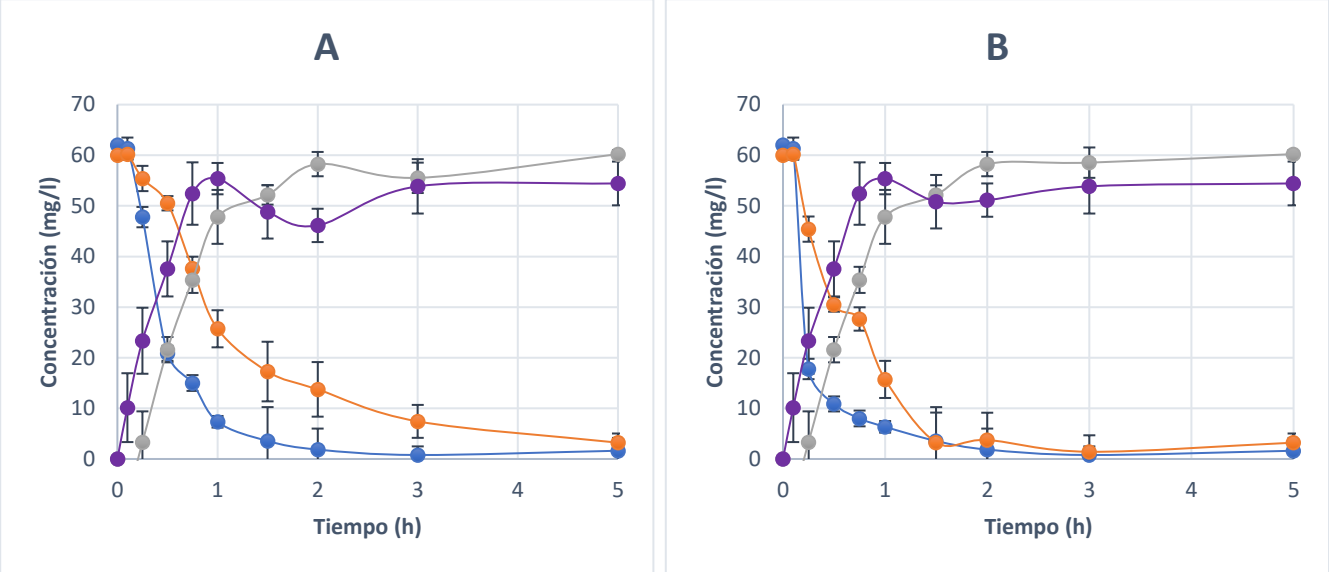


Figura 23. Perfiles desnitrificantes de consumo y producción con 62 mg-C-ampicilina/l en el ciclo 250 (A) y 254 (B) de operación en el SBR. El C-Amp en azul, N-NO_3^- naranja, C-HCO_3^- gris y N_2 púrpura.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo pueden ser atribuidos a la previa adaptación y estabilización alcanzada por los lodos desnitrificantes cuando se alimentaron con acetato como única fuente de electrones, así como a la mejora en la actividad enzimática del proceso respiratorio cuando se alimentó únicamente con ampicilina. Todo esto asociado al modo de operación de los sistemas SBR, ya que se ha documentado que el uso de reactores SBR mejora las eficiencias de consumo de contaminantes y acorta el tiempo requerido para su eliminación (Wisaam et al., 2007). Resultados semejantes se han encontrado en un reactor SBR anaerobio alimentado con 2-clorofenol, en el cual, se lograron eficiencias de consumo del contaminante y su conversión a metano en tiempos cada vez menores a lo largo de los ciclos de operación (Beristain-Montiel et al., 2012). Estos resultados sugieren que los sistemas SBR desnitrificantes podrían ser una alternativa para la degradación y mineralización de hasta 120 mg-C-ampicilina/l d.

Es importante recordar que por lo general, en los reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales, los microorganismos se encuentran agregados en conglomerados denominados flóculos o pellets (Dolfing, 1986; Schmidt & Ahring, 1995; Cuervo-López, 2003). Asimismo, es sustancial mencionar que en el presente trabajo, a lo largo de los ciclos de operación con 62 mg-C-ampicilina/l, hubo un cambio en la coloración de los lodos desnitrificantes, que pasaron de ser en un principio de color café a amarillentos. Aunado a ésto, hubo una modificación en la estructura de éstos, puesto que se observó una disgregación

de los gránulos desnitrificantes, resultando a simple vista, en gránulos de mucho menor tamaño. También hubo un cambio en la sedimentabilidad de los lodos, puesto que el tiempo de sedimentación de 0.5 h previamente establecido para las evaluaciones con acetato y las primeras 3 concentraciones de ampicilina (21, 45 y 62 mg-C-Amp/l), no fue suficiente, dando como resultado una pérdida de 0.25 g SSV/l en el efluente. El índice volumétrico de lodos (IVL) ha sido utilizado como un indicador de la capacidad de sedimentación de los lodos depuradores en sistemas de tratamiento de aguas residuales (Pipes, 1978). Varios autores indican que cuando el valor del IVL es menor a 100 ml/g, el lodo tiene una buena capacidad de sedimentación, mientras que valores mayores a 150 ml/g sugieren una menor capacidad de sedimentación (Dick & Vesilind,1969; Foster, 1985; Godwin & Foster, 1985; Cuervo-López et al., 1999). El valor del IVL de los lodos desnitrificantes alimentados con 62 mg-C-ampicilina/l fue de 205.12 ml/g, lo que indica que los lodos presentaron una pérdida significativa en su capacidad de sedimentación, por lo que fueron drenados junto con el efluente. Considerando que un cambio en la composición de las aguas residuales afecta la composición y estructura de los lodos (Wingender & Flemming, 1999; Martínez et al., 2000; López Barrera et al., 2006; Sheng et al., 2010), la pérdida de sedimentación de los lodos observada en el presente trabajo podría ser atribuida a su exposición al antibiótico. De hecho, la constante exposición de los lodos desnitrificantes al antibiótico pudo haber repercutido en la composición de las sustancias exopoliméricas (SEP) que forman parte de los gránulos y consorcios microbianos. A este respecto, se sabe que entre las principales funciones de las SEP (principalmente los polisacáridos y proteínas), están la de brindar protección a los consorcios microbianos y contribuir a la formación de aglomerados estables con una buena capacidad de sedimentación (Li & Ganczarczyk, 1989; Panton et al., 2007; Moore et al., 2014). De esta forma, la exposición a la ampicilina pudo haber afectado la composición de las SEP que conforman los lodos desnitrificantes, por ende, propiciar cambios en la agregación de los gránulos que resultaron en una menor capacidad de sedimentación de la biomasa y por tanto, en pérdidas de biomasa por lavado del reactor SBR.

Debido a todo esto, en los ensayos realizados con 80 y 100 mg-C-Amp/l, se modificó la distribución de los ciclos de operación, quedando de la siguiente manera: ciclos de 12 horas con: llenado, 0.25 h; reacción, 6.5 h; sedimentado 5.5 h y drenado, 0.25 h. Sin embargo, se observó que el tiempo de reacción no fue suficiente, puesto que no hubo un consumo completo de sustratos ni conversión a sus respectivos productos (figura 224). De hecho, bajo estas

condiciones se calcularon E_{AMP} de 30% y 70% respectivamente (tabla 13), así como pérdidas de más del 50% de SSV debido a problemas hidráulicos, resultando en una concentración de biomasa presente en el reactor SBR de aproximadamente 0.81 g de SSV/l. De hecho, esta baja en la concentración celular, pudo ser una de las causas por las cuales el proceso no se realizara completamente como en los casos anteriores. Sin embargo, cabe resaltar que no se observó la formación de intermediarios nitrogenados ni de intermediarios procedentes de la ampicilina y que aunque los sustratos no se consumieron totalmente, la capacidad metabólica de los lodos desnitrificantes permaneció intacta, puesto que la mineralización y reducción de los sustratos consumidos se mantuvo alta (con Y_{HCO3^-} y Y_{N2} cercanos a 1).

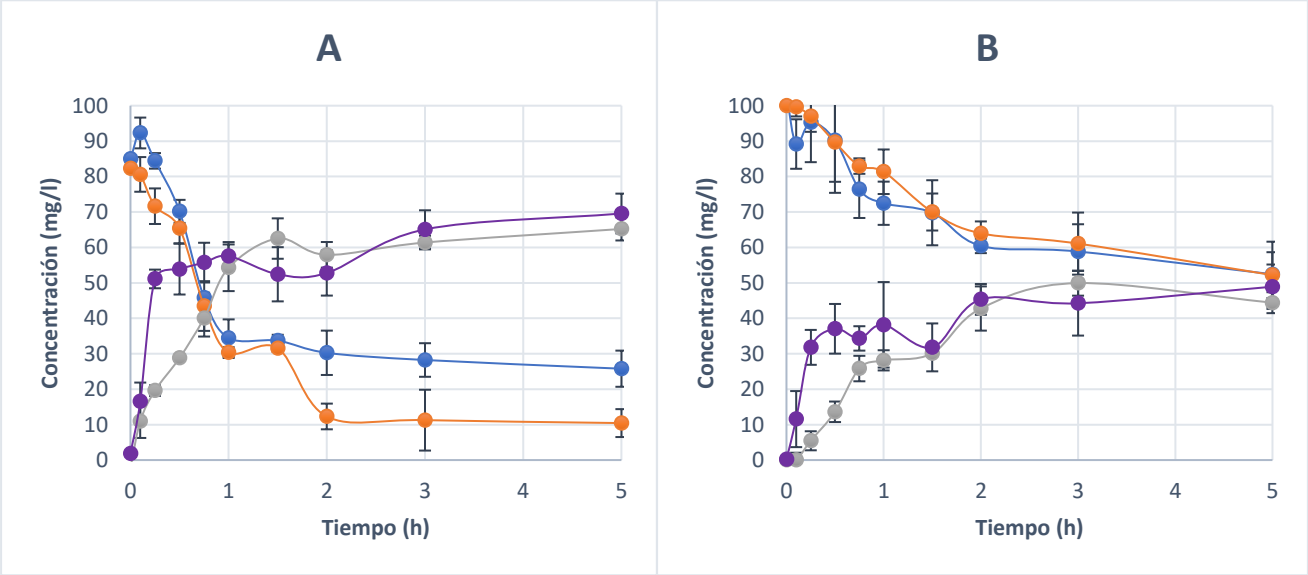


Figura 24. Perfiles desnitrificantes de consumo y producción después de 5 ciclos de operación en el SBR con 85 mg-C-ampicilina/l, ciclo 291(A) y 103 mg-C-ampicilina/l, ciclo 331(B). En color C-Amp azul, N-NO_3^- naranja, C-HCO_3^- gris y N_2 púrpura.

Un resumen de las E_{AMP} y E_{NO3^-}, así como de los Y_{HCO3^-} y Y_{N2} obtenidos durante la experimentación con ampicilina, indica que la utilización de hasta 62 mg-C-Amp/l como única fuente de electrones, permite mantener un proceso desnitrificante estable, eficiente y completo, al igual que cuando se usa C-acetato como donador de electrones (tabla 10).

Tabla 10. Valores de eficiencias (E) y rendimientos (Y) calculados a lo largo de los ciclos de operación con las diferentes concentraciones de ampicilina.

# Ciclo/concentración (mg/l)	E C-Amp (%)	E N-NO_3^- (%)	Y HCO_3^-	Y CO_2	Y N_2
201-206 (21)	100±0	100±0	0.50± 0.01	0.52± 0.02	1.07± 0.09
225-225 (45)	100±0	100±0	0.89± 0.05	0.11± 0.01	1.02± 0.03
250-255 (62)	97.37±5.49	94.63±1.56	0.99± 0.01	-	0.95± 0.07
286-291 (85)	69.70±6.00	69.11±4.78	1.03± 0.05	-	1.04± 0.26
326-331 (103)	30.25±2.33	37.24±6.49	1.00± 0.09	-	1.04± 0.11
350 (103)	100±0	100±0	0.96±0.00	-	0.95±0.02

En cuanto al comportamiento cinético del lodo, se observó que, al igual en los ensayos en lote, la qAMP fue menor a la velocidad específica observada cuando se utilizó acetato, de hecho, en el ciclo 201 la qAMP fue casi 20 veces menor que la qAcetato (tabla 11) indicando que el proceso desnitrificante es mucho más lento cuando se usa ampicilina como única fuente de electrones (tabla 11).

Asimismo, en la tabla 11, se observa que, con las concentraciones de 21, 45 y 62 mg-C-ampicilina/l las velocidades específicas calculadas el coeficiente de variación de las qAMP, qNO_3^-, $qHCO_3^-$, qCO_2 y qN_2 es menor al 10%, por lo que se puede decir que se alcanzó una estabilidad en el proceso respiratorio. Sin embargo, esto no fue posible lograrlo cuando la concentración de ampicilina se aumentó a 85 y 103 mg-C-ampicilina/l.

Tabla 11 Valores de velocidades específicas de consumo y producción en mg/g SSV h

Conc. (mg/l)	q_{AMP} (mg/g SSV h)	q_{NO3}^- (mg/g SSV h)	q_{HCO3}^- (mg/g SSV h)	q_{CO2} (mg/g SSV h)	q_{N2} (mg/g SSV h)
21	0.56±0.05	0.62±0.01	0.94±0.02	0.45±0.07	0.63±0.07
45	9.90±0.05	10.14±0.12	8.45±0.26	1.03±0.06	9.67±0.39
62	4.50±0.10	6.06±0.09	6.29±0.06	-	4.49±0.67
85	12.98±2.69	13.63±0.83	14.99±0.15	-	5.76±0.39
103	6.23±0.92	9.41±0.68	7.26±0.40	-	2.92±0.68
Ciclo 350, 103	13.90±0.27	12.61±0.01	14.40±0.26	-	13.36±0.47

Debido a que con 6.5 h de reacción se observó un proceso desnitrificante incompleto, se alargó la fase de reacción a 24 h. Bajo estas condiciones, se encontró que el consumo de C-ampicilina y N-nitrato se llevó a cabo en 10 h de cultivo, tiempo durante el cual la ampicilina se mineralizó a HCO_3^- y el NO_3^- se redujo a N_2 sin la formación de intermediarios carbonados o nitrogenados (figura 25). Asimismo, se logró una recuperación de las qAMP, qNO_3^-, $qHCO_3^-$ y qN_2 (tabla 11).

Islas-García (2017) estableció un proceso desnitrificante con ampicilina y acetato 100 y 440 mg-C/l respectivamente, en un reactor SBR, donde encontró que qNO_3^-, $qHCO_3^-$ y qN_2 fueron de dos a tres veces mayores que las calculadas en el presente trabajo, sin embargo, las qAMP fueron tres veces menores a las calculadas en este trabajo, puesto que se requirieron más de 49 h para consumir el antibiótico. Esto indica que a pesar de la presencia de acetato, la velocidad del proceso respiratorio adicionado con ampicilina sigue siendo lento. Es interesante notar que cuando la ampicilina se utiliza como único donador de electrones, el proceso desnitrificante se lleva a cabo con mayor rapidez que cuando el antibiótico está en mezcla con otro compuesto.

Como evidencian los datos mostrados en el presente trabajo, se requieren de tiempos de reacción mayores de 10 h para lograr el consumo total y la completa mineralización de la ampicilina como única fuente de electrones, aunado a un tiempo largo de sedimentación en el reactor a fin de evitar el lavado de biomasa. Finalmente, cabe destacar que hasta el momento, esta es la primera ocasión en la que, utilizando sistemas SBR, se reporta el comportamiento fisiológico y cinético de un lodo desnitrificante cuando se utiliza ampicilina como única fuente de electrones.

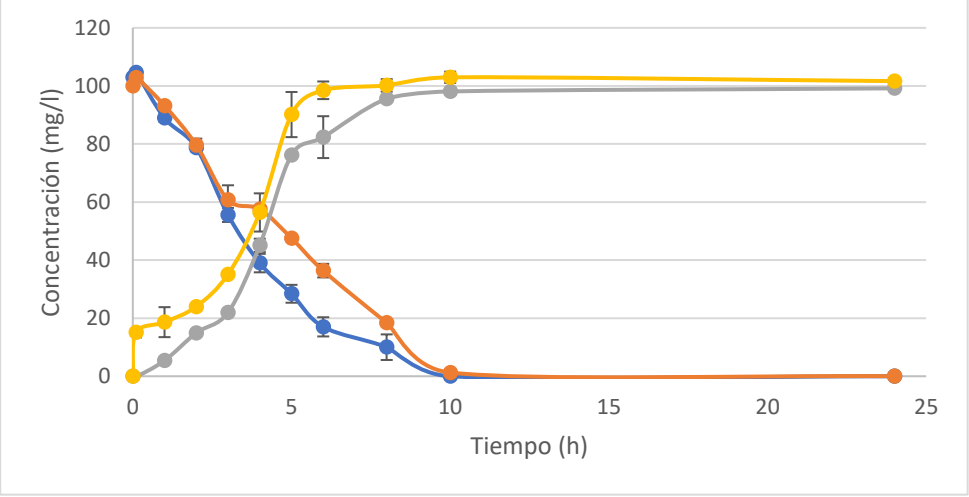


Figura 25. Perfil cinético de consumo y producción desnitrificantes con C-ampicilina del ciclo 350 en el SBR. El N-NO_3^- en color naranja, C-Amp azul, C-HCO_3^- gris y N_2 amarillo.

9. Conclusiones

Los perfiles cinéticos realizados en lote con 5, 10, 15 y 20 mg-C-ampicilina/l mostraron que este antibiótico puede ser usado eficientemente como única fuente de electrones en procesos de óxido-reducción desnitrificantes, ya que puede mineralizarse con valores de Y_{HCO3^-} y Y_{CO2} muy cercanos a 1 sin la formación de intermediarios carbonados o nitrogenados.

En los reactores SBR alimentados con C-acetato:

- Se alcanzaron eficiencias de consumo y rendimientos de producción cercanos de 100% y 1 respectivamente.
- Después de 6 meses de operación del reactor SBR con 105 mg-C-acetato/l, las velocidades específicas de consumo y producción disminuyeron entre un 48-89%, probablemente debido al envejecimiento de los lodos desnitrificantes.

En los reactores SBR alimentados con C-ampicilina:

- Es posible utilizar de forma eficiente, hasta 62 mg-C-Amp/l como única fuente de electrones para la reducción de nitrato sin la formación de intermediarios carbonados o nitrogenados. Bajo estas condiciones es posible mineralizar hasta 120 mg-C-ampicilina/l d.
- La continua exposición de los lodos a la ampicilina provocó cambios en su coloración, agregación y estructura, resultando en disgregación, disminución en su capacidad de sedimentabilidad y pérdida de biomasa.
- Bajo condiciones desnitrificantes, fue posible mineralizar completamente hasta 100 mg-C-ampicilina/l y reducir totalmente el nitrato a nitrógeno molecular en 10 horas de reacción. Sin embargo, a fin de evitar pérdidas de biomasa de los reactores SBR, se requiere tiempos de sedimentación de hasta 5 horas.

10. Recomendaciones

Cuando se use ampicilina como única fuente de electrones, es recomendable operar los reactores SBR en ausencia de luz ya que las pérdidas del antibiótico por fotólisis pueden ascender hasta un 23%. Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el presente trabajo y a fin de evitar problemas de operación en los reactores SBR, es recomendable operar los reactores desnitricantes con concentraciones menores a 60 mg-C-Amp/l.

11. Perspectivas

Con los resultados obtenidos a lo largo de este trabajo experimental, es posible proponer la realización de las siguientes actividades:

Evaluar mediante técnicas de biología molecular la dinámica poblacional de los reactores SBR alimentados con acetato y ampicilina, así como su relación con su comportamiento respiratorio.

Conocer el efecto de la ampicilina sobre las sustancias exopoliméricas de un lodo desnitrificante, para así resolver problemas de operación de un reactor SBR alimentado con ampicilina como única fuente de electrones.

Evaluar la capacidad de los lodos desnitrificantes previamente expuestos a ampicilina, para mineralizar otros antibióticos como única fuente de electrones, así como identificar los efectos de éstos sobre el comportamiento fisiológico y cinético del proceso respiratorio.

Analizar e identificar por medio de técnicas de metagenómica los genes involucrados en el consumo y mineralización de la ampicilina bajo condiciones desnitrificantes.

12. Referencias

- Álvarez L.; Bricio C.; Blesa A.; Hidalgo A.; Berenguer J. (2014) Transferable Denitrification Capability of *Thermus thermophiles*. *Applied and Environmental Microbiology*. 80(1): 19-28.
- *Ampicilina* (17/12/2010). Recuperado el 24 de junio del 2015 de http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a052.htm.
- APHA (1985). *Standard methods for examination of water and wastewater.* 16th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- Banda Soriano Y. R., (2016). *Biodegradación de ampicilina: caracterización cinética y fisiológica.* Tesis de Especialidad en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Beristain-Montiel L., Gómez J., Monroy O., Cuervo-López F. M., Ramírez-Vives F. (2012) Biodegradation of 2-chlorophenol (2CP) in an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). *Water Science and Technology.* 65(10): 1721-1728.
- Beristain-Montiel L., Martínez-Hernández S., Cuervo-López F. M., Ramírez-Vives F. (2015) Dynamics of a microbial community exposed to several concentrations of 2-chrolophenol in an anaerobic sequencing batch reactor. *Enviromental Technology.* 36(14): 1779-1784.
- Bitton G. (2005) Activated sludge process. In Mitchell, R. (ed), *Wastewater Microbiology* John Wiley and Sons Inc. New York, USA. pp. 147-166.
- Carucci A., Chiavola A., Majone M., Rolle E. (1999) Treatment of tannery wastewater in a sequencing batch reactor. *Water Science and Technology.* Vol. 40 Issue 1 pp 253-259.
- Cervantes F. J., Cuervo López F. Gómez Hernández J. (2016) Fundamentals of the Biological Processes for Nitrogen Removal In. Val del Río C. A., Campos G. J. L. & Mosquera C.A (Eds). *Technologies for the Treatment and Recovery of Nutrients from Industrial Wastewater*. IGI Global. Pennsylvania, USA. 5 pp 112-146.
- Clardy J., Fishbach M. A., Currie C. R. (2009) Primer The natural history of antibiotics. *Current Biology.* 19(11): 437-441.
- CONACyT. 02/02/15 http://www.conacyt.mx/agencia/index.php/planeta/129-en-mexico-solo-el-20-de-las-aguas-residuales-son-tratadas.

- Cuervo López, F. M. (2003). *Estudio biológico-fisicoquímico de un lodo desnitrificante alimentado con diferentes fuentes de electrones*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Cuervo-López F. M., Martinez F., Gutiérrez-Rojas M., Noyola R. A., Gómez J. (1999) Effect of Nitrogen Loading Rate and Carbon Source on Denitrification and Sludge Settleability in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. *Water Science & Technology*. 40(8): 123-130.
- Cuervo-López F. M.; Martínez Hernández S.; Texier A. -C.; Gómez J. (2009) *Principles of denitrifying processes* En Francisco J. Cervantes (Ed.) *Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution* Cap. 3 (pp.41-66). London.
- Dick R. I., Vesilind P. A. (1969) The Sludge Volume Index: What Is It? *Water Pollution Control Federation.* 41(7): 1285-1291.
- Dolfing J. (1986) Granulation in UASB reactors. *Water Science & Technology.* 18(12): 15-25.
- Dorival-García N.; Zafra-Gómez A.; Navalón A.; González-López J.; Hontoria E.; Vílchez J. L. (2013) Removal and degradation characterictics under aerobic, nitrifying and anoxic conditions. *Journal of Enviromental Management* 120: 75-83.
- Elander R. P. (2003) Industrial production of b-lactam antibiotics*. Applied Microbiology and Biotechnology.* 61: 385-392.
- Elmolla E. S., Chaudhuri M. (2010) Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *Journal of Hazardous Materials.* 173: 445-449.
- Ferguson S. J. (1998) Nitrogen cycle enzymology*. Current opinion in Chemical Biology* 2(2): 182-193.
- Fernández R. N. (2005) *Estudio de la concentración de nitratos, nitritos y amonio en el agua de consumo del partido de moreno – provincia de buenos aires.* Tesis de Ingenieria. Universidad de Flores, Argentina.
- Figueroa-González I., Quijano G., Laguna I., Muñoz R., García-Encina P. A. (2016) A fundamental study on biological removal of N_2O in the presence of oxygen. *Chemosphere.* 158: 9-16
- Fischbach M. A., Walsh C. T. (2009) Antibiotics for emerging pathogens. *Science Translation Medicine.* 325: 1089-1093.

- Flores-Reyes J. C. (2015) *Evaluación de la nitrificación en un reactor SBR en presencia de 2-clorofenol y una alta concentración de amonio.* Tesis de Especialización. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México.
- Forster C. F. (1985) Factors involved in the settlement of activated sludge-II. The binding of polyvalent metals. *Water Research.* 19: 1265-1271.
- Frutos O. D., Quijano G., Aizpuru A., Muñoz R. (2018) A state-of-the-art review on nitrous oxide control from waste treatment and industrial sources. *Biotechnology Advances*. 36: 1025-1037
- Gerardi M. H. (2002). *Nitrification and Denitrification in activated sludge process*. John Wiley and Sons.
- Gil M. J., Soto A. M., Usma J. I., Gutiérrez O.D. (2012) Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + Limpia.* 7(2): 52-73.
- Goodwing J. A. S. & Forster C. F. (1985) A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settlement characteristics. *Water Research* 19: 527-533.
- Hare R. S., Miller G. H., Naples L., Sabatelli F., Loebenberg D., Waitz J. A. (1982) Sch 29482, a new penem antibiotic: evaluation of in-vitro activity and effect of test conditions. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 9(1): 7-16.
- Henze, M. (1997). Trends in advanced wastewater treatment. *Water Science Technology.* 35(10): 1-4.
- Hernández Rodríguez L., (2005)*. Estudio el proceso respiratorio y estructura de un lodo desnitrificante en presencia de acetato y tolueno en un SBR.* Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Islas-García I. (2017) *Mineralización de ampicilina bajo condiciones desnitrificantes en un reactor de lotes secuenciados (SBR).* Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Islas-García I., Romo-Gómez C., Cuervo-López F. M. (2017) Ampicillin Mineralization by Denitrifying Process: Kinetic and Metabolic Effects. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 183: 1049-1061.
- Jujnosvky J., Ramos A., Caro-Correro A., Mazari-Hiriart M., Maass M., Almeida-Leñero L. (2017) Water assessment in a peri-urban watershed in Mexico City: A focus on an ecosystem services approach. *Ecosystem Services.* 24: 91-100.

- Knowles R. (1982) Denitrification. *Microbiological Reviews* 46(1): 43-70.
- Kümmerer K., (2009). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Parte II. *Chemosphere*. 75(4): 435-441.
- Labinghisa R. S., Rollon A. P., (2014). Ampicillin removal by polyvinylidene difluoride (PVDF), polyethersulfone (PES) and nylon for membrane bioreactor application. *International Journal of Innovation and Technology*. 5(2): 105-110.
- Li B. and Zhang T. (2010) Biodegradation and Adsorption of Antibiotics in the Activated Sludge Process. *Enviromental Science & Technology* 44(9): 3468-3473.
- Li D., Ganczarcczyk J. J. (1989) Structure of Activated Sludge Flocs. *Biotechnology and Bioengineering.* 35: 57-65.
- López Barrera J. A., Peña-Calva A., Gómez J. Cuervo-López F. M (2006) Determination of Denitrifying Sludge Settleability using Contact Angle Measurements. *Environmental Technology*. 27: 1241-1247.
- Lu H., Chandran K., Stensel D. (2014) Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. *Water Research.* 64: 237-254.
- Martínez E., Texier A. C., Cuervo-López F. M., Gomez J. (2017) Denitrification in the Presence of Chlorophenols: Progress and Prospects. En Zhu I. (Ed), *Nitrification and Denitrification.* London, UK.5. Pp. 75-92.
- Martínez F., Favela-Torres E., Gomez J. (2000) Oscillation of exopolymeric composition and sludge volume index in nitrifying flocs. *Applied Biochemical and Biotechnology.* 87(3): 177-188.
- Martínez Gutiérrez, E. (2013). *Estudio fisiológico de la oxidación del 2-Clorofenol por un lodo desnitrificante.* Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Martínez Jardines M. A, (2015). *Evaluación de la inhibición de la nitrificación en presencia de 2-clorofenol y la dinámica poblacional del consorcio nitrificante.* Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Martínez-Bueno M. J., Gómez M. J., Herrera S., Hernando M. D., Agüera A., Fernandez-Alba A. R. (2012) Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: Two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution.* 164: 267-273.

- Martínez-Gutiérrez E.; Texier A. C.; Cuervo-López F. M.; Gómez J. (2014) Consumption of 2-Chlorophenol Using Anaerobic Sludge: Physiological and Kinetic Analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 174(6): 2171-2180.
- Martínez-Orta F. (2004) *Sedimentabilidad de un lodo nitrificante en dos tipos de reactores y en presencia de materia orgánica.* Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México.
- Meffe R. & de Bustamante I. (2014) Review. Emerging organic contaminants in surface water and groundwater: A first overview of the situation in Italy. *Science of the total environment.* 481: 280-295.
- Michael, I., Rizzo, L., McArdell, C. S., Manaia, C. M., Merlin, C., Schwartz, T., Fatta-Kassinos, D. (2014). Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. *Water Research*. 43(3): 957-995
- Mitchell S. M.; Ullman J. L, Teel A. L., Watts R. J., Frear C. (2013) The effects of the antibiotics ampicillin, florfenicol, sulfamethazine, and tylosin on biogas production and their degradation efficiency during anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 149: 244-252.
- Mittal A. (2011) Biological wastewater treatment. *Water today.* Pp 32-44.
- Montes de Oca J. L., Martínez A., (2016). Repercusión social y económica del uso y abuso de los antimicrobianos, Múnich, GRIN Publishing.
- More T. T., Yadav J. S. S., Yan S., Tyagi R. D., Surampalli R. Y. (2014) Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications. *Journal of Environmental Management.* 144: 1-25.
- Moreno G., & Buitrón G. (2004) Influence of the origin of the inoculum and the acclimation strategy on the degradation of 4-chlorophenol. *Bioresource Technology.* 94: 215-218.
- Muñoz A., Gonzalez S. (1996). Effects of population displacements on biological phosphorus removal in a Biofilm. *Water Science Technology.* 34(1-2): 303-313.
- Pacton M., Fiet N., Gorin G. E. (2007) Bacterial Activity and Preservation of Sedimentary Organic Matter: The Role of Exopolymeric Substances. *Geomicrobiology Journal*. 24: 571-581.
- Peláez F. (2006) The historical delivery of antibiotics from microbial natural products. Can history repeat? *Biochemical Pharmacology.* 71(7): 981-980.

- Peña-Calva A.; Olmos-Dichara A.; Viniegra-Gonzalez G.; Cuervo-López F. M. and Gomez J. (2004) Denitrification in Presence of Benzene, Toluene and m-Xylene Kinetics, Mass Balance and Yields. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 119(3): 195-208.
- Petrovic M., Eljarrat E., López de Alda M. J., Barceló D. (2004) Endocrine disrupting compounds and other emerging contaminants in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 378: 549-562.
- Pipes W. O. (1978) Microbiology of activated sluge bulking. *Advances in Applies Microbiology* 24: 85-127.
- Priya B., Shandilya P., Raizada P., Thakur P., Singh N., Singh P. (2016). Photocatalytic mineralization and degradation kinetics of ampicillin and oxytetracycline antibiotics using graphene sand composite and chitosan supported BiOCl. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.* 423: 400-413.
- Queener S. W., Neuss N. (1982) The Biosynthesis of β-Lactam Antibiotics. En *Chemistry and Biology of β-Lactam Antibiotics.* Morin R., Gorman M. (Ed). Academic Press. New York. London. 1. pp 2-81.
- Ramirez-Muñoz J. J. (2018) *Capacidad de un consorcio nitrificante para biotransformar la ampicilina. .* Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México.
- Raynor B. D. (1997) Penicillin and Ampicillin*. Infectious Diseases update*. 4(4): 147-152.
- Salas-Cortes J. A., Cuervo-Lopez F. M., Texier A. C. (2017) Simultaneous oxidation of ammonium and cresol isomers in a sequencing batch reactor: physiological and kinetic study. *Environmental Science and Pollution Research.*24(33): 25667-25675.
- Salgot M., Folch M. (2018) Wastewater treatment and water reuse. *Current Opinion in Environmental Science & Health.* 2: 64-74.
- Santander G. (2017) *Desarrollo de un sistema para el mejoramiento genético de streptomyces sp.* Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México.
- Schmidt J. E., Ahring B. K. (1995) Granular Sludge Formation in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. *Biotechnology and Bioengineering.* 49: 229-246.
- Seghezzo L., Zeeman G., van Lier J. B., Hamelers H. V. M., Lettinga G. (1998) A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource*

Technology. 65: 175-190.

- Shapleing J. P. (2013) Denitrifying prokaryotes. En Rosenberg E., DeLong E. F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The prokaryotes.* Berlin, Germany 10 pp 405-425.
- Shen L., Liu Y., Xu H. L. (2010) Treatment of ampicillin-loaded wastewater by combined adsorption and biodegradation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 85:814-820
- Sheng S. P., Yu H. Q., Li X. Y. (2010) Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances.* 28(6): 882-894.
- Silva C. D., Berinstain-Montiel L., Cuervo-Lopez F. M., Texier A. C. (2014) *p*-Cresol mineralization and bacterial population dynamics in a nitrifying sequential batch reactor. *Journal of Environmental science.* 26: 1885-1893.
- Silva Luna C. D., (2010). *Estudio fisiológico de la nitrificación y oxidación del p-cresol en un consorcio nitrificante.* Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- *Sistema de Información Nacional del Agua*. Recuperado el 21 de junio del 2015 https://www.gob.mx/conagua/es/acciones-y-programas/sistema-nacional-de-informacion-del-agua-sina#documentos
- Stetson Rowles L., Alcalde R., Bogolasky F., Kum S., Diaz-Arriaga F. A., Ayres C., Mikelonis M. Toledo-Flores L. J., Gutierrez M. G. A., Perez-Flores M. E., Lawler F., Ward P. M., Lopez-Cruz J. Y., Saleh N.B. (2018) Perceived versus actual water quality: Community studies in rural Oaxaca, Mexico. *Science of Total Environment.* 622-623: 626-634.
- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G., and Jetten, M.S.M. (1998). The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of lowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 50: 589–596.
- Suárez & Gudiol (2009) Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 27(2): 116-129.
- Suárez S.; Lema J. M.; Omil F. (2010) Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research.*44: 3214-3224.

- Tam N. F. Y., Wong Y. S., Leung G. (1992) Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process. *Water Research.* 26(9): 1229-1236.
- Ternes T. A., Joss A., Siegrist H., (2004) Peer reviewed: scrutinizing pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment. *American Chemical Society Enviromental Science & Technology.* 393A: 393-399.
- Texier A. C., Gomez J. (2004) Settleability and kinetics of a nitrifying sludge in a sequencing batch reactor. *Canadian Journal Microbiology.* 50: 943-949.
- Tiedje, J. M., T. V. Tsoi, K. D. Pennel, L. D. Hansen, A. Wani, J. L. M. Rodrigues, Y. Hrywna, and D. P. Howell. (2002). Enhancing PCB bioremediation, In *Bioremediation of recalcitrant compounds.* J. W. Talley (ed.) CRC Press, Boca Raton. pp 147–214.
- *Visión general del agua en México*. Recuperado el 20 de mayo del 2018 https://agua.org.mx/cuanta-agua-tiene-mexico/.
- Wingender J. & Flemming H. C. (1999) Autoaggregation in flocs and biofilms. *Biotechnology*. Vol. 8 J. Winter (ed.) pp 63-86.
- Wisaam S A.., He Q., Wei W. Q. (2007) Review on Sequencing Batch Reactors. *Pakistan Journal of Nutrition.* 6(1): 11-19.
- Xia, S., Jia, R., Feng, F., Xie, K., Li, H., Jing, D., & Xu, X. (2012). Effect of solids retention time on antibiotics removal performance and microbial communities in an A/O-MBR process. *Bioresource Technology*. 106: 36-43.
- Xing Y., Yu Y., Men Y. (2018) Emerging investigators series: ocurrence and fate of emerging organic contaminants in wastewater treatment plant with enhanced nitrification step. *Environmental Science Water Research & Technology.*
- Zhang S.; de los Reyes F. L. (2012) Effect of penicillin on Nitrite-Oxidizing Bacteria in Activated Sludge. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 166: 1983-1990.

13. Anexos

Anovas realizados en los datos de los ensayos en lote

Anova para eficiencias de consumo de acetato y nitrato en ensayos en lote

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Efic_Con_Amp	Inter-grupos	.000	3	.000	.	.
	Intra-grupos	.000	4	.000		
	Total	.000	7			
Efic_Con_Nit	Inter-grupos	.000	3	.000	.	.
	Intra-grupos	.000	4	.000		
	Total	.000	7			

Anova para rendimientos de formación HCO_3^-, N_2 y CO_2 en ensayos en lote

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Rend_HCO3	Inter-grupos	.234	3	.078	7.970	.003
	Intra-grupos	.118	12	.010		
	Total	.352	15			
Rend_CO2	Inter-grupos	.148	3	.049	12.063	.001
	Intra-grupos	.049	12	.004		
	Total	.197	15			
Rend_N2	Inter-grupos	.084	3	.028	2.460	.113
	Intra-grupos	.137	12	.011		
	Total	.221	15			

Rend_HCO3

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp1	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
15 mgC/l	4	.4600	
20 mgC/l	4	.4700	
10 mgC/l	4	.4750	
5 mgC/l	4		.7475
Sig.		.996	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

Rend_CO2

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp1	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
10 mgC/l	4	.4075	
15 mgC/l	4	.4775	
5 mgC/l	4	.5300	
20 mgC/l	4		.6700
Sig.		.078	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

Rend_N2

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp1	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
20 mgC/l	4	.8450
15 mgC/l	4	.9625
10 mgC/l	4	1.0175
5 mgC/l	4	1.0275
Sig.		.127

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

Anova para velocidades específicas de consumo y formación en ensayos en lote

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
qAmp	Inter-grupos	1.290	3	.430	3.958	.109
	Intra-grupos	.435	4	.109		
	Total	1.725	7			
qNO3	Inter-grupos	16.341	3	5.447	12.915	.016
	Intra-grupos	1.687	4	.422		
	Total	18.027	7			
qHCO3	Inter-grupos	4.423	3	1.474	9.278	.028
	Intra-grupos	.636	4	.159		
	Total	5.059	7			
qCO2	Inter-grupos	12.404	3	4.135	24.950	.005
	Intra-grupos	.663	4	.166		
	Total	13.066	7			
qN2	Inter-grupos	23.495	3	7.832	20.292	.007
	Intra-grupos	1.544	4	.386		
	Total	25.039	7			

qAmp

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
5 mgC/l	2	4.3500
15 mgC/l	2	4.6150
20 mgC/l	2	5.0700
10 mgC/l	2	5.3900
Sig.		.108

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2.000.

qNO3

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
5 mgC/l	2	4.2250		
10 mgC/l	2	4.8650	4.8650	
20 mgC/l	2		7.0200	7.0200
15 mgC/l	2			7.6450
Sig.		.766	.094	.777

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2.000.

qHCO3

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
10 mgC/l	2	2.3650	
5 mgC/l	2	2.8350	2.8350
20 mgC/l	2	3.8900	3.8900
15 mgC/l	2		4.1800
Sig.		.061	.089

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2.000.

qCO2

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
10 mgC/l	2	1.6000		
5 mgC/l	2	2.2700	2.2700	
15 mgC/l	2		3.8900	3.8900
20 mgC/l	2			4.7250
Sig.		.450	.054	.306

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2.000.

qN2

HSD de Tukey[a]

Conc_Amp	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
5 mgC/l	2	4.5400	
10 mgC/l	2	4.8300	
20 mgC/l	2		7.8750
15 mgC/l	2		8.3100
Sig.		.963	.892

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2.000.

Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00257
Matrícula: 2163805536

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y CINÉTICA EN UN REACTOR DE LOTE SECUENCIADO (SBR) DE UN LODO DESNITRIFICANTE ALIMENTADO CON AMPICILINA

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 7 del mes de septiembre del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. ANNE CLAIRE TEXIER
DR. GUILLERMO QUIJANO GOVANTES
DRA. EMIR MARTINEZ GUTIERREZ
DR. SERGIO MARTINEZ HERNANDEZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGIA

DE: YENY RUTH BANDA SORIANO

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

YENY RUTH BANDA SORIANO
ALUMNA

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

Teaix.

DRA. ANNE CLAIRE TEXIER

VOCAL

DR. GUILLERMO QUIJANO GOVANTES

VOCAL

DRA. EMIR MARTINEZ GUTIERREZ

SECRETARIO

DR. SERGIO MARTINEZ HERNANDEZ