



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

**Acoplamiento de Procesos Biológicos en un Reactor Híbrido Tipo Carrusel
para la Depuración de un Agua Residual Industrial**

Tesis para la obtención de grado de Doctor en Biotecnología

Presenta:

M. en BT. Oscar Velasco Garduño

Directora de Tesis:

Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz

UAM-I

Codirector de Tesis:

Dr. Ricardo Beristain Cardoso

UAM-L

Marzo de 2020



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00223

Matrícula: 2153805855

Acoplamiento de Procesos Biológicos en un Reactor Híbrido Tipo Carrusel para la Depuración de un Agua Residual Industrial

En la Ciudad de México, se presentaron a las 16:00 horas del día 20 del mes de marzo del año 2020 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. GEHOVANA GONZALEZ BLANCO
DR. CARLOS DAVID SILVA LUNA
DR. CELESTINO ODIN RODRIGUEZ NAVA
DRA. PATRICIA CASTILLA HERNANDEZ



OSCAR VELASCO GARDUÑO
ALUMNO

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN BIOTECNOLOGIA

DE: OSCAR VELASCO GARDUÑO

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

Aprobar

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

REVISÓ

MTRA. ROSALVA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SILVIA LUCÍA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

DRA. GEHOVANA GONZALEZ BLANCO

VOCAL

DR. CARLOS DAVID SILVA LUNA

VOCAL

DR. CELESTINO ODIN RODRIGUEZ NAVA

SECRETARIA

DRA. PATRICIA CASTILLA HERNANDEZ

El H. Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

“Acoplamiento de Procesos Biológicos en un Reactor Híbrido Tipo Carrusel para la Depuración de un Agua Residual Industrial”

Que presentó:

M. en BT. Oscar Velasco Garduño

Comité tutorial:

Dirección de tesis:

Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología

Dr. Ricardo Beristain Cardoso

Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Departamento de Recursos de la Tierra

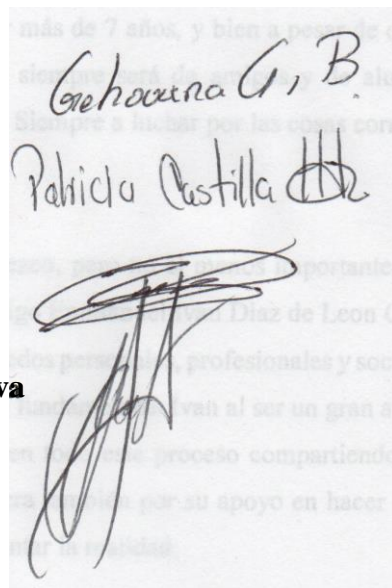
H. Jurado

Presidente: **Dra. Gehovana González Blanco**

Secretario: **Dra. Patricia castilla Hernández**

Vocales: **Dr. Carlos David Silva Luna**

Dr. Celestino Odín Rodríguez Nava



The image shows three handwritten signatures in black ink on a light background. The top signature reads 'Gehovana G. B.', the middle one reads 'Patricia Castilla', and the bottom one is a more complex, stylized signature.

Dedicatoria

Les dedico este trabajo que es el comienzo de mi carrera profesional como investigador y formador de nuevos investigadores a las personas que me han acompañado en este camino tanto en las buenas como en las malas. El primero y fundamental agradecimiento es para mis padres Monica Garduño Rodríguez y Oscar Velasco Piñón que me han apoyado y querido en este duro camino para cumplir mis metas y sueños, no sólo en estos 4 años, si bien en toda mi vida que a pesar de no conocer mi área han hecho lo imposible para entenderlo, también a mis hermanos Karina Itzel y Uriel Velasco Garduño por su apoyo incondicional y palabras de ánimo en los momentos en que pensaba no lograrlo a pesar de las diferencias y caminos que cada uno ha tomado; lo que se podría decir como conflictos de hermanos que nos han unido día a día.

Otra de las personas que me ha apoyado en esta trayectoria profesional desde que estudiaba la licenciatura es para al Dr. Ricardo Beristain Cardoso y la Dra. Gehovana González Blanco que me han apoyado y motivado a seguir mis sueños -no se me olvida el día que los conocí- los grandes consejos y claro los grandes regaños para que sea un profesionista que haga lo que le gusta y de la forma más correcta. Gracias por todo el apoyo no solo durante mis estudios de doctorado sino por más de 7 años, y bien a pesar de que la relación se vuelva de colegas y amigos, para mí siempre será de amigos y de alumno-profesor, porque al final sigo aprendiendo de ellos. Siempre a luchar por las cosas correctas con fundamentos y sin enojo.

La última persona a la cual también agradezco, pero no el menos importante, es a una persona muy especial en mi vida, mi mejor amigo Emmanuel Ivan Diaz de Leon Clara, una persona que me ha retado a luchar contra mis miedos personales, profesionales y sociales, me ha enseñado a pelear en lo correcto siempre con fundamentos. Ivan al ser un gran amigo y considerarlo como un hermano me ha apoyado en todo este proceso compartiendo mis frustraciones, alegrías y tristezas, que bien sino fuera también por su apoyo en hacer otras cosas para salir de la burbuja de conformidad y afrontar la realidad.

Todas las personas me han aportado experiencias y vivencias que me han forjado en lo que soy ahora. Por otro lado, algo que siempre estará presente en mi vida es una frase que podría resumir gran parte de mi vida:

“Tú eres el único obstáculo para cumplir tus metas y sueños; posees el potencial de hacer grandes cosas, pero eso depende de ti mismo si deseas luchar y sobresalir o ser una persona más de la sociedad que se conforma con lo que tiene”

Agradecimientos

No solo en mi vida está mi familia y mis grandes y mejores amigos. En este apartado le tengo que agradecer también a los nuevos amigos que he conocido en estos 4 años, un grupo de personas que por sus incongruencias y personalidades me han alegrado mis días más nublados, me han ayudado a saber expresarme con otras personas de la mejor manera y moderar mis tonos de voz y volumen que en lo personal son un gran problema para mí, sus observaciones al dar asesorías y clases de la manera más franca y honesta para que mejore poco a poco y consejos que, si bien, si hoy no los podría aplicar sé que los aplicaré en un futuro no muy lejano, por lo que mencionaré a estas personas sin un orden específico o de relevancia: Adriana, Byanca, Grecia, Yuri, Nuria, Guadalupe, Miguel, Ricardo, Gabriel, Luis e Isaías, Luis Coria, Moisés y Johann.

Y por último también le agradezco a la Dra. Concepcion Keiko Shirai Matsumoto quien fue mi directora de tesis de maestría, que fue el primer paso para esta carrera que estoy construyendo, que a pesar de haber dejado su equipo de trabajo me sigue considerando uno de ellos, siendo un apoyo referente a consejos y escuchar mis desahogos de las injusticias presentes en este camino y que hasta la fecha me sigue aportando para ser mejor día a día.

Si no luchamos por lo que queremos y explota nuestro potencial, dejaremos que las personas con el *síndrome de Procusto* cumplan sus objetivos de destruirnos y dañarnos, al vernos como una amenazada, pero la mejor manera de afrontarlo es demostrar que podemos sobresalir sobre toda adversidad.

Índice

	Pág.
Resumen	1
Summary	3
1. Introducción	6
1.1. Panorama general	6
1.2. Sistemas Biológicos en el tratamiento de aguas residuales	9
1.3. Reactores aerobios-anaerobios	15
1.4. Dinámica de Fluidos Computacional	17
1.5. Contaminantes Emergentes	19
Justificación	20
Objetivo General	20
Prefacio	21
2. Estudio hidrodinámico de un Biorreactor Híbrido Tipo Carrusel (BHTC)	22
2.1. Introducción	23
2.2. Materiales y Métodos	24
2.3. Resultados y discusión	26
2.4. Conclusiones	29
3. Depuración de un agua residual contaminada con amonio y materia orgánica empleando un Reactor Híbrido Tipo carrusel	30
3.1. Introducción	31
3.2. Materiales y Métodos	32
3.3. Resultados y discusión	35
3.4. Conclusiones	45

4. Influencia del metronidazol en la actividad de un lodo activado	46
4.1. Introducción	47
4.2. Materiales y Métodos	48
4.3. Resultados y discusión	50
4.4. Conclusiones	60
5. Conclusiones Generales	61
6. Referencias	63

Resumen

Las descargas de aguas residuales industriales de composición química compleja tienen gran relevancia a nivel mundial, por la presencia de materia orgánica, contaminantes emergentes y compuestos de nitrógeno. Debido a esto, cobra la necesidad y la urgencia de desarrollar sistemas de tratamiento que permitan que las descargas de aguas residuales no causen un deterioro en los cuerpos receptores de agua.

En este trabajo de tesis se propuso un reactor híbrido tipo carrusel para evaluar el acoplamiento de diferentes procesos biológicos en una sola unidad experimental con la finalidad de tratar un agua residual industrial de composición química compleja. El reactor híbrido consistió en un sistema multimodular con la siguiente configuración: módulo aerobio, módulo de sedimentación o clarificador, y dos módulos facultativo-anaerobio. El reactor carrusel construido de material acrílico de 21.5 L se diseñó con el software AutoCAD®. Se evaluó la Dinámica de Fluidos Computacional a diferentes tiempos de residencia hidráulica (4-24 h) considerando las condiciones operaciones del sistema con la finalidad de identificar comportamientos hidrodinámicos anómalos dentro del mismo. La principal conducta anómala identificada fue la presencia de recirculaciones internas en la interfase que conecta el módulo de lodos activados al clarificador secundario, dicho comportamiento anómalo se corrigió mediante la instalación de una propela.

Una vez realizadas las correcciones hidrodinámicas, el reactor híbrido se operó en continuo a un TRH de 1 día, utilizando agua sintética y agua residual industrial (influyente procedente de una planta de tratamiento del parque industrial Lerma, Edo. Méx). Empleando el agua sintética, la DQO y el amonio se eliminaron mediante nitrificación, actividad heterotrófica, metanogénesis y desnitrificación, con eficiencias cercanas al 95% para la DQO y del 50% para el amonio; teniendo como productos finales N₂ y CH₄. Mientras que, con el agua residual industrial, el amonio y la DQO se eliminaron mediante nitrificación parcial, actividad heterotrófica y desnitrificación, con una eficiencia de remoción para la DQO alrededor del 50%. El reactor híbrido permitió el acoplamiento de procesos biológicos para la eliminación de materia orgánica y amonio de un agua residual industrial con una eficiencia significativa, considerando la complejidad del agua y la posible presencia de compuestos

recalcitrantes. Se decidió utilizar una molécula modelo de la industria farmacéutica, para evaluar su efecto en la actividad de los lodos activados; por la disminución en la remoción de la DQO observada en el cultivo continuo.

La molécula seleccionada fue el “metronidazol”, considerando que es una de las sustancias activas usadas como medicamento de referencia y que se produce en la zona industrial de Lerma, además de estar en el cuadro básico de libre venta y de ser una molécula poco estudiada en un sistema de lodos activados. Se evaluaron 9 concentraciones iniciales de metronidazol (5-100 mg/L) utilizando un inóculo de $2,109.00 \pm 129$ mg SSV/L de lodos activados, en cultivos en lote. Los resultados experimentales mostraron que a una concentración de 5 mg/L de metronidazol, la velocidad específica de consumo de la DQO y amonio disminuyeron en 12.9% y 7%, respectivamente, con respecto al control, mientras que a 10 mg/L hubo una disminución de 16.6% en la remoción de la DQO y un 9.6% en la de amonio. En resumen, las eficiencias de remoción de la DQO y del amonio fueron a la baja debido al incremento de la concentración inicial del metronidazol. Respecto a la conducta cinética, las velocidades de producción de nitrato fueron disminuyendo, mientras que las velocidades de producción de nitrito fueron aumentando. Los resultados indicaron que el metronidazol tuvo un efecto negativo en el paso de la oxidación del nitrito aún en presencia de la materia orgánica. Finalmente, el lodo activado no fue capaz de biotransformar el metronidazol durante el periodo de incubación, no obstante, el compuesto azol sí modificó significativamente su conducta fisiológica.

Summary

Industrial wastewater discharges of complex chemical composition have great relevance worldwide, due to the presence of organic matter, emerging pollutants and nitrogen compounds. Because of this, it is necessary to develop new technologies that allow the pollutants removal from wastewater avoiding further deterioration of water quality.

In this work, hybrid carousel-type reactor was proposed to evaluate the coupling of biological processes in a single experimental unit in order to treat industrial wastewater with complex chemical composition. The hybrid reactor consisted of a multimodular system with the following configuration: aerobic module, clarifying module, and two anoxic-anaerobic modules. The carousel reactor constructed of 21.5L acrylic material was designed with AutoCAD® software. Computational Fluid Dynamics was evaluated at different HRT (4-24 h) considering the operating conditions of the system in order to identify anomalous hydrodynamic behaviors. The main anomalous behavior identified was the presence of internal recirculatory flows in the interface that links the activated sludge module to the clarifying module; this anomalous behavior was corrected by installing a propeller.

Once the hydrodynamic correction was made, hybrid reactor was operated at HRT of 1 day, using synthetic and industrial wastewater. When bioreactor was fed with synthetic wastewater, COD and ammonium were removed by nitrification, heterotrophic activity, methanogenesis, and denitrification, with removal efficiencies of 95% for COD and 50% for ammonium, having N₂ and CH₄ as end products. While, with industrial wastewater, ammonium and COD were removed by partial nitrification, heterotrophic activity and denitrification, with COD removal efficiencies around 50%. The hybrid reactor allowed the coupling of biological processes for removing organic matter and ammonium from industrial wastewater with significantly efficiency, considering the chemical complexity of the wastewater and presence of recalcitrant compounds. Therefore, it was decided to use a model molecule from the pharmaceutical industry, to evaluate its effect on the activity of activated sludge, due to the decrease in COD removal observed in continuous culture.

The selected molecule was "metronidazole", considering that it is one of the active substances used as a reference medicine, in addition to be produced in the industrial area of Lerma. On the other hand, there is little information in the literature about metronidazole removal by activated sludge system. Nine initial metronidazole concentrations (5-100 mg/L) were evaluated using an inoculum of $2,109.00 \pm 129$ mg SSV/L of the activated sludge, in batch cultures. The results showed that at initial concentration of 5 mg/L of metronidazole, the COD and ammonium specific consumption rates decreased by 12.9% and 7%, respectively, according to the control, while at 10 mg/L there was a 16.6% for COD and 9.6% for ammonium. To sum up, the COD and ammonium removal efficiencies were in decline due to the increment of initial metronidazole concentration. Regarding the kinetic behavior, the nitrate production rates were decreasing, whereas nitrite production rates were increasing. The experimental results suggested that metronidazole had a negative effect on the nitrite oxidation step even in the presence of organic matter. Finally, the activated sludge was not able to biotransform metronidazole in the incubation period; however, theazole compound significantly affected its physiology.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Panorama General

En las diferentes regiones del mundo, y particularmente en los países que están en desarrollo, las aguas residuales (AR) se descargan a los cuerpos de agua sin un adecuado tratamiento o son descargadas directamente sin ser tratadas. Los cuerpos receptores de estos contaminantes son ríos, lagos y mares; el agua al ser una molécula esencial en nuestro planeta, no sólo para el desarrollo de la vida, sino, para el crecimiento de todas las actividades humanas, es de suma importancia mantener y cuidar este valioso recurso. Las aguas residuales poseen diversos contaminantes en diferentes concentraciones, algunos altamente concentrados incluidos los compuestos de carbono y nitrógeno, que pueden deteriorar la calidad de los ambientes acuáticos dañando los ecosistemas que dependen de ellos y en el peor de los casos producir eutrofización (Zhao *et al.*, 2013; Diez-Montero *et al.*, 2016). Por esta razón, es relevante desarrollar nuevas tecnologías que permitan la mineralización completa o la biotransformación de compuestos tóxicos a compuestos más simples o menos dañinos que puedan biodegradarse o mineralizarse a CO₂ que puede ser usado por las plantas para su crecimiento y N₂ que es un elemento esencial de la atmosfera (Rücker *et al.*, 2018).

Dentro de las características que se deben de tomar en cuenta para lograr reducir el daño provocado en los cuerpos de agua, se han seleccionado una serie de procesos que son necesarios para el adecuado tratamiento de estas aguas residuales, los principales parámetros que se deben considerar son:

- Características del agua residual que se va a tratar en función de las concentraciones generales de sus contaminantes: DBO₅, pH, Nitrógeno total, turbidez, coliformes fecales, materia suspendida, metales pesados y/o productos tóxicos.
- Establecer los parámetros de calidad del efluente, que depende del tipo de descarga que se desea obtener y el lugar de descarga, que, para México está regulado por la

SEMARNAT. Las normas que establecen los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de las aguas residuales son: NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997.

- Costos de construcción, disponibilidad y tamaño del terreno para la implementación de una planta de tratamiento de aguas residuales de acuerdo con las características anteriormente mencionadas (evaluar la sustentabilidad de la planta y la capacidad mínima y máxima de operación, bajo pronósticos de crecimiento poblacional e industrial).

Bajo ciertos criterios las aguas residuales están divididas principalmente en aguas municipales e industriales; este último es un foco de alerta y de interés debido a la complejidad química generada por la presencia de una gran variedad de compuestos que dañan drásticamente los cuerpos de agua (Chan *et al.*, 2009). La agregación de aguas residuales de diferentes sectores industriales en un mismo cuerpo de agua (alimenticios, textiles, productos químicos, metalúrgicos, farmacéuticos, entre otros) han generado que sea complicado su tratamiento mediante procesos convencionales, convirtiéndose en un desafío.

No obstante, el incremento centralizado de la población y las industrias han permitido que por la falta y la demanda en la disposición de agua potable ocasione que se utilicen aguas tratadas para riego, que pueden contener algunos contaminantes, materia orgánica y microorganismos patógenos, que aparentemente no son un problema, pero al irse acumulando en los cuerpos de agua utilizados para riego de cultivos de consumo (humano y animal) llegan a alcanzar concentraciones tóxicas para los seres vivos (Ali, 2012).

Los sistemas de colección de las AR y la centralización o descentralización de los sistemas de tratamiento son asignados de tal forma que protejan al ser humano y su entorno. Un mal manejo puede generar efectos negativos como un desbalance en el agua de descarga hacia los cuerpos receptores provocando un desequilibrio en los regímenes ecológicos naturales (Mugan y Mihelcic, 2008). Para mitigar el daño a los cuerpos receptores de agua es necesario llevar a cabo un tratamiento, al menos preventivo, antes de realizar la descarga.

Una de las alternativas más usadas con alta eficiencia, bajo costo y amigable con el ambiente son los reactores biológicos. En general los sistemas aerobios son rápidos y de alta eficiencia para concentraciones bajas de materia biodegradable (300 a 700 mg/L) con la desventaja de que requieren grandes áreas de construcción y costos de mantenimiento elevados, en contraste, los procesos anaerobios que soportan cargas mayores de materia biodegradable (mayores a 4000 mg/L) requieren pequeñas áreas de construcción, bajos costos de mantenimiento pero con la desventaja de requerir tiempos más prolongados de operación y control de temperatura (Mugan y Mihelcic, 2008; Chan *et al.*, 2009).

El Estado de México incluye parte de tres regiones hidrológicas: Lerma-Santiago, Balsas y Pánuco. Esta situación ayuda a que las aguas superficiales en tránsito por el Estado se utilicen para satisfacer y desarrollar actividades productivas. La cuenca del Rio Lerma abarca 35 municipios, con una longitud de cauce de 177 km, con una población de 2 mil 300 millones de habitantes aproximadamente de los cuales el 8.05 % es población indígena, y el resto son áreas rurales y urbanas. El área urbana, presenta la zona industrial Lerma ubicada en el margen del Rio Lerma. El agua residual generada por 165 empresas del corredor es tratada por un sistema de lodos activados (Informe Diagnostico Ambiental, 2007; RECICLAGUA, 2020)

La mezcla de diferentes tipos de aguas residuales de los diversos sectores productivos (alimenticios, textiles, productos químicos, farmacéuticos, entre otros) ha complicado su saneamiento. Una de las alternativas para el tratamiento de las aguas residuales es la implementación de biorreactores combinados denominados "híbridos" como una tecnología eficiente (Zheng *et al.*, 2015). Hoy en día, no hay una definición clara para un reactor híbrido, sin embargo, se ha asociado con una configuración que conecta diferentes módulos (aerobio, anaerobio y/o anóxico) en la misma unidad de reacción y que permite el acoplamiento de diferentes procesos biológicos. Mientras que otros autores, lo relacionan a las configuraciones que permiten combinar biomasa libre y adherida, en la misma unidad de reacción (Chan *et al.*, 2009). Algunas de las ventajas de los reactores híbrido es la combinación de zonas anaerobias, aerobias y anóxicas, que permiten mejorar la eliminación de contaminantes y disminuir los costos de operación. El acoplamiento de procesos

biológicos en la misma unidad de reacción permite la biotransformación simultánea de materia orgánica y compuestos de nitrógeno, entre otros, disminuyendo así los contaminantes que dañan el medio ambiente y al ser humano (Chan *et al.*, 2009).

1.2. Sistemas Biológicos en el tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales por vía biológica está dividido en 2 grupos, en función de la ausencia o presencia de oxígeno. El tratamiento anaerobio permite la remoción eficiente de compuestos orgánicos biodegradables que se encuentran en concentraciones mayores a 4000 mg DBO₅/L, teniendo como producto final biogás (CH₄ y CO₂). El proceso implica bajos costos de operación, áreas muy pequeñas para su construcción, pero requieren tiempos de residencia hidráulica (TRH) largos que pueden ser 0.5 a 2 días, y tiempos largos de arranque para la adaptación y formación de los gránulos que puede ser de 2 a 8 meses, que depende de las características iniciales del inóculo y las aguas residuales. En contraste, el tratamiento aerobio, presenta mejores eficiencias de remoción a concentraciones bajas de compuestos orgánicos biodegradables en comparación a los procesos anaerobios cuyo producto de la oxidación de la materia orgánica es el CO₂. El proceso convencional se puede operar a un TRH de 4 a 8 h, y un sistema completamente mezclado a un TRH de 3 a 5 h, alcanzando altas eficiencias de remoción de DBO₅ (Chan *et al.*, 2009; Metcalf & Eddy, 2014). Sin embargo, requiere áreas extensas para la construcción del sistema, el proceso es asimilativo, por lo que la generación de biomasa suele ser un problema, ya que implica un costo de tratamiento y disposición de los lodos, aunado a estos, los sistemas aerobios requieren altos costos de operación y mantenimiento debido al gasto energético para las bombas de aireación, purga y recirculación de los lodos.

1.2.1. Lodos activados

El sistema de lodos activados es un proceso aerobio donde puede coexistir la actividad heterotrófica y la actividad nitrificante, para la oxidación de la materia orgánica y biotransformación de los compuestos nitrogenados, respectivamente. En la actividad

heterotrófica la materia orgánica se oxida a CO₂, y la energía (ATP) liberada del catabolismo se emplea para la síntesis o crecimiento celular. La actividad heterotrófica depende de varios factores tales como: nutrientes, pH, temperatura y disponibilidad de oxígeno disuelto (Mayhew y Stephenson, 1997). El sistema de lodos activados puede operarse a TRH cortos, menor a 9 h, o en la modalidad de aireación extendida, donde el TRH es mayor a 12 h. En la modalidad de aireación extendida la producción de lodos es menor con respecto al sistema de lodos activados. Para que coexista la actividad heterotrófica y la nitrificación el TRH debe ser mayor a 9 h, ya que el tiempo de duplicación de las bacterias nitrificantes es un proceso lento (Metclaf & Eddy, 2014). Dentro de los parámetros requeridos para el diseño e implementación de estos sistemas es la relación sustrato/microorganismo (F/M), relación C/N, TRH, carga orgánica, edad de los lodos, recirculación de los lodos, entre otros. Aunado a esto es importante mencionar que se requiere de una concentración de oxígeno disuelto en un intervalo de 2 a 6 mg O₂/L (Von Sperling, 2007).

Uno de los principales problemas en el sistema de lodos activados o aireación extendida es la falta de granulación o floculación de los lodos, lo que dificulta su sedimentabilidad en el clarificador secundario, y por lo tanto su recirculación a la zona de reacción (Pipes, 1968). La falta de sedimentabilidad o flotación de los lodos se debe al fenómeno de bulking. El bulking puede ser del tipo viscoso o filamentoso, el primero es por formación de exopolímeros, mientras el segundo es por formación de bacterias filamentosas tales como: *Bacillus*, *Beggiatoa*, *Sphaerotilus natan*, entre otras (Eikelboom, 1974; Martins *et al.*, 2004). Los exopolímeros proveen defensa física y química que contribuyen a la retención y absorción de nutrientes, facilitando el metabolismo (Pacton *et al.*, 2007). Los factores que pueden afectar la generación del bulking son: alta relación F/M, bajas concentraciones de oxígeno disuelto, bajo pH, deficiencia de nutrientes, entre otros (Warnner y Grau, 1989).

1.2.2. Nitrificación/Desnitrificación

El nitrógeno es un elemento esencial para la vida, debido a que está implicado dentro de las estructuras de proteínas y ácidos nucleicos de todos los seres vivos, además que la molécula de N₂ es el gas mayoritario de la atmósfera correspondiente al 79% de su

composición (Bitton, 2005). El ciclo del nitrógeno es importante para el tratamiento de aguas residuales y está conformado principalmente por 6 rutas metabólicas (Figura 1).

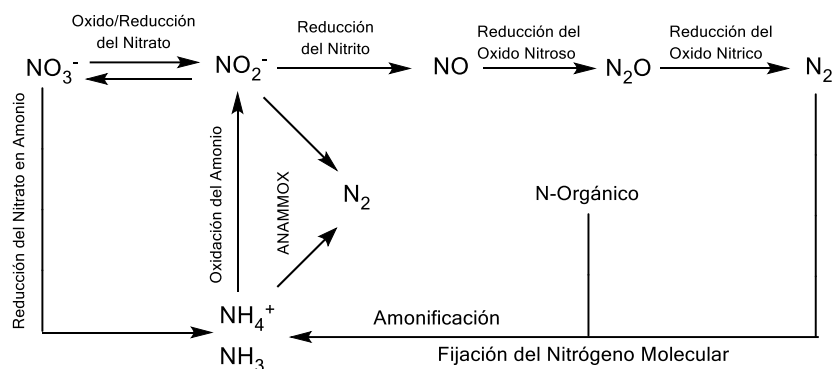
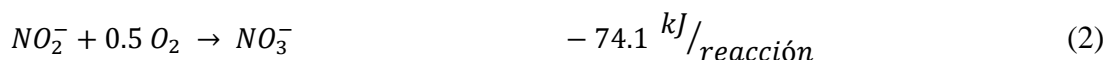
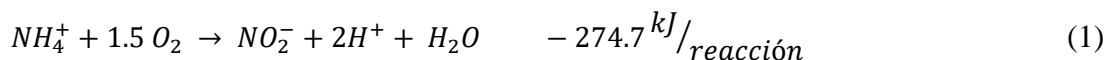


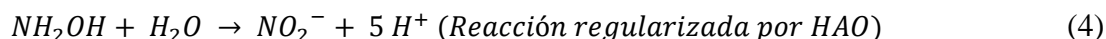
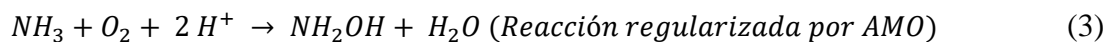
Figura 1. Ruta metabólica microbiana del nitrógeno (Beristain-Cardoso *et al.* 2009).

La oxido-reducción del amonio y el nitrito/nitrato juegan un papel importante para las bacterias desnitrificantes en condiciones anóxicas, cuyo principal producto es el N_2 que es liberado a la atmósfera, en caso contrario, la nitrificación es un proceso respiratorio aerobio que permite la oxidación de NH_4^+ a $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, llevado a cabo por 2 grupos de bacterias: las amonio oxidantes y las nitrito oxidantes pertenecientes a la familia *Nitrobacteraceae*. El proceso amonio oxidante es llevado a cabo por bacterias del género *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosococcus* y *Nitrosovibrio*, siendo las bacterias del género *Nitrosomonas* las más estudiadas. Para el proceso nitrito oxidante se encuentran los géneros *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* y *Nitrospira*, siendo el género *Nitrobacter* el más estudiado (Beristain-Cardoso *et al.*, 2009).

En el primer paso de la nitrificación el amonio se oxida a nitrito por las bacterias amonio oxidantes por acción de la enzima amonio monooxigenasa (AMO) (Reacción 1), que posteriormente pasa por la acción de los nitritos oxidantes a través de la enzima hidroxilamina oxidoreductasa (HAO), donde el nitrito se termina de oxidar a nitrato (Reacción 2).



El crecimiento de las bacterias amonio oxidantes es lento, debido a los bajos valores de la energía libre de Gibbs (ΔG°). El tiempo de crecimiento varía en un intervalo de 7 a 24 h. En las reacciones 3 y 4 se muestra el paso intermedio en la conversión de NH_3 a NO_2^- , reguladas por las enzimas AMO y HAO (Sharma y Ahlert, 1997).



La actividad nitrificante es alterada de forma negativa por la presencia de la materia orgánica, ya que afecta el crecimiento y disminuye la eficiencia de consumo y biotransformación del amonio. Es bien conocido la competencia entre los consorcios microbianos heterótrofos y autótrofos por el oxígeno y el amonio. No obstante, bajo ciertas condiciones de cultivo, se podría llevar a cabo la oxidación de la materia orgánica y la nitrificación (Texier y Gómez, 2002).

La desnitrificación es la reducción biológica de nitrato a N_2 . Esta se produce en condiciones anóxicas, en el cual el nitrito y nitrato actúan como aceptores inorgánicos finales de electrones, al no disponer de oxígeno, mientras que la materia orgánica actúa como el donador de electrones. La biotransformación del nitrato a nitrógeno molecular se muestra de forma resumida en la reacción 5. El proceso biológico puede ser llevado a cabo por bacterias tales como las quimio-organotróficas, lito-autótrofas, fototróficas y algunos hongos. El proceso de la desnitrificación involucra 4 pasos enzimáticos para la formación de los intermediarios: nitrito, óxido nítrico y óxido nitroso (Cuervo-López *et al.*, 1999).



El primer paso de la desnitrificación está regulado por la enzima nitrato-reductasa que es regulada por el ion molibdeno como cofactor, posteriormente el segundo paso enzimático es llevado a cabo por la nitrito-reductasa que permite reducir el nitrito a óxido nítrico que

requiere del *citocromo cd1* con un grupo Hemo como cofactor. El tercer paso es llevado a cabo por la óxido-nítrico-reductasa también conocida como *citocromo bc1*, de igual manera posee un grupo Hemo y un grupo no Hemo de hierro. El último paso está catalizado por la enzima óxido-nitroso-reductasa que contiene un núcleo de cobre para llevar a cabo la producción de nitrógeno molecular (Beristain-Cardoso *et al.*, 2009). Los factores que afectan la acumulación de intermediarios en la desnitrificación son: la concentración de oxígeno disuelto, la relación C/N y S/N, concentración de nitrito, sulfuro, pH, entre otros (Yenigün y Demirel, 2013).

1.2.3. Digestión anaerobia

Actualmente la digestión anaerobia es considerada una tecnología para tratar aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, y se ha aplicado a varios sectores tales como: agroindustrias, destilerías, textiles, del papel, químicas, refresqueras, entre otras (Donoso-Bravo *et al.*, 2009). La digestión anaerobia es considerada una tecnología factible debido a los siguientes beneficios: a) menor producción de lodos, b) bajos costos de operación, c) producción de biogás, y d) produce un agua residual tratada rica en nutrientes que podría emplearse para riego de cultivos (Terreros-Mecalco *et al.*, 2009). El biogás podría utilizarse para generar calor o transformarse en energía eléctrica y tener una PTAR autosuficiente; por lo que el biogás es una energía renovable limpia que promete ser un sustituto del uso de los combustibles fósiles (Krause *et al.*, 2008).

La digestión anaerobia es un proceso complejo que combina actividad enzimática extracelular y reacciones bioquímicas, y que se puede categorizar en *Hidrólisis*, *Acidogénesis*, *Acetogénesis* y *Metanogénesis*. La *Hidrólisis* es el primer paso de la transformación de cadenas largas de materia orgánica polimérica tales como lípidos, polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos en moléculas orgánicas solubles que pueden ser fermentadas (Gunaseelan, 1997). Algunas de las bacterias anaerobias que participan en esta etapa hidrolítica son: *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium* que interactúan con algunas bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*. Se conocen tres tipos de enzimas que son las endocelulasas, encargadas de romper los enlaces

1,4- β -glucosídicos internos del polímero para convertirlos en moléculas mas pequeñas; exocelulasas encargadas de romper los enlaces 1,4- β -glucosídicos de los polímeros reducidos por las endocelulasas obteniendo tetrámeros o dímeros y, por último, las celobiasas o β -glucosidasas las cuales hidrolizan las moléculas resultantes de la última hidrólisis en dos moléculas de glucosa (Corrales *et al.*, 2015).

En la *Acidogénesis* los productos de la hidrólisis son transformados en ácidos grasos volátiles (propiónico, butírico, valérico, caproico, heptanoico, etc.), CO₂, H₂ y etanol (Appels *et al.*, 2008). En esta etapa participan géneros microbianos tales como: *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Veillonella*, *Clostridium propionicum*, y *Clostridium*. El producto, etanol, es una característica de algunas especies del género *Clostridium*, además de una fracción de H₂ y CO₂ (Adekunle y Okolie, 2015). En la ruta *Acetogénica*, los ácidos grasos volátiles, así como también el etanol son transformados a acetato (Botheju & Bakke, 2011; Zhe *et al.*, 2018). La *Acetogénesis* se lleva acabo por dos mecanismos de reacción, *Acetogénesis* por hidrogenación y la *Acetogénesis* por deshidrogenación, y los géneros más sobresalientes son: *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium wooddi* (Evans *et al.*, 2019). En la última etapa de la digestión anaerobia, la producción de metano se produce por dos vías metanogénicas, *Metanogénesis Acetoclástica* (empleando el acetato) y la *Metanogénesis Hidrogenotrófica* (empleando el H₂) (Krause *et al.*, 2008). Alrededor del 65-70% del metano generado es a través de la vía *Metanogénica Acetoclástica* (Fukuzaki *et al.*, 1990). Se conocen aproximadamente 90 especies de metanogénicas distribuidas en 5 clases distintas: *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Methanomicrobiota*, *Methanopyri* y *Methanosarcinales* (Fazli *et al.*, 2013; Corrales *et al.*, 2015).

La digestión anaerobia es gobernada o controlada por la cinética del paso limitante, que es la metanogénesis, sin embargo, cuando se tratan aguas residuales con materia orgánica químicamente compleja, el paso *Hidrolítico* ahora es el paso limitante (Donoso-Bravo *et al.*, 2009). Cabe mencionar, que la temperatura también incrementa la velocidad de degradación de la materia orgánica pasando de condiciones psicrófilas a termófilas (Sanchez *et al.*, 2001).

1.3. Reactores Aerobios-Anaerobios

La combinación de sistemas de tratamiento, por ejemplo, la integración de un proceso anaerobio seguido de uno aerobio da como resultado una alta eficiencia de remoción de materia orgánica, a concentraciones de DQO elevadas. El exceso de lodos aerobios producidos puede ser digerido en tanques anaerobios que requieren una menor estabilidad con altos rendimientos de producción de biogás (Kassab *et al.*, 2010). Algunos tipos de sistemas anaerobios-aerobios aplicados en ciertas industrias se muestran en la siguiente tabla (Tabla 1).

Tabla 1. Sistemas anaerobio-aerobio para el tratamiento de aguas residuales municipales e industriales (adaptado de Chan *et al.*, 2009; Delafosse *et al.*, 2010).

Tipo	Tipo de Agua
UASB + CSTR	Industria textil de algodón
2 UASB + CSTR	Industria de alimentos
UASB + AS	Industria de papel
UASB + AFB	Síntesis de textiles
RBC + SBR	Industria de quesos
FFB + FFB	Agua de rastro
UBF + MBR	Aguas sintéticas
UASB + RBC	Agua doméstica
Biorreactor híbrido + AS	Lixiviados de aceites
Reactor de columna empacada + AS	Industria textil

Por sus siglas en inglés, UASB= Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente; CSTR= Reactor continuo de Tanque Agitado; AS=Reactor de Lodos Aireados; AFB=Cama Fija Aireada; RBC=Reactor de Tambor Rotatorio; SBR= Reactor Biológico Secuencial; UBF= Reactor de filtro de manto de flujo ascendente.

Los sistemas convencionales anaerobio-aerobio son reactores generalmente conectados en serie, en donde es característico tiempos de residencia hidráulico (TRH) largos, y bajas velocidades de cargas orgánicas (Chan *et al.*, 2009; Kassab *et al.*, 2010). Por lo que, las nuevas tecnologías han permitido diseñar biorreactores anaerobios-aerobios que pueden usar flujos elevados, como los biorreactores de lecho empacado y los biorreactores

de membrana (Figura 2) (Mugan y Mihelcic, 2008). El reactor tipo “carrusel” es un biorreactor híbrido utilizado principalmente para el acoplamiento de la nitrificación y la desnitrificación de forma simultánea (SND) para aguas residuales con alto contenido de nitrógeno, este sistema ha permitido tener eficiencias de remoción de nitrógeno de 60 al 70% (Liu *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2015).

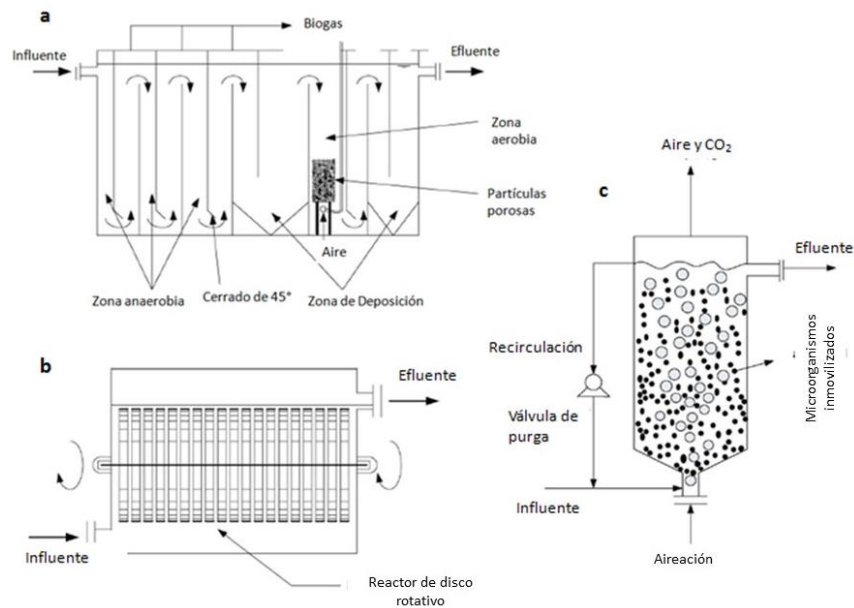


Figura 2. a) Reactor biológico anaerobio-aerobio; b) Reactor de tambor rotatorio; c) Reactor aerobio-anaerobio de columna (Chan *et al.*, 2009).

En los últimos años, el estudio de la combinación de los procesos anaerobios y aerobios en un reactor integrado y separado por un medio físico, para cada proceso, ha permitido la obtención de altas eficiencias de remoción de contaminantes, disminución en las áreas de operación, producción de biogás, así como la reducción en los costos de construcción y mantenimiento, por lo que los vuelven una opción prometedora para el tratamiento de las aguas residuales municipales e industriales (Chan *et al.*, 2009).

1.4. Dinámica de Fluidos Computacional

La dinámica de fluidos computacional (por sus siglas en inglés CFD) es una herramienta que usa métodos numéricos para el análisis y resolución del flujo de fluidos, el modelo de resolución de la dinámica consiste en crear pequeñas celdas de estudio para resolver una serie de ecuaciones matemáticas que contienen una variedad de modelos que expresan básicamente la conservación de masa, momentum y energía (Sharma *et al.*, 2011). La modelación de sistemas en la ingeniería mediante esta herramienta ha sido utilizada desde los años 70's, el papel que posee en las predicciones de ingeniería ha permitido ser utilizada como una herramienta complementaria para los diseños teóricos y las mediciones realizadas en modelos experimentales o en prototipos, e incluso predecir el comportamiento de un diseño o modelo que se pretende construir, permitiendo en muchos casos el ahorro de tiempo y de recursos al momento de la construcción física.

La importancia del uso de la modelación computacional está relacionada con el tipo de estudio a realizar, por ejemplo, en el diseño y construcción de reactores para procesos químicos o biológicos, es indispensable conocer el movimiento de los fluidos dentro del sistema para maximizar el rendimiento, disminuir el efecto negativo o daño en los microorganismos o células para la generación de un producto de interés, sin tener que construir físicamente los reactores a priori durante la etapa de diseño. El uso de la modelación computacional permite una retroalimentación entre el diseño geométrico y el comportamiento del fluido, de tal forma que se realicen de una forma eficiente las modificaciones geométricas para optimizar el movimiento de los flujos, obteniendo un mayor número de resultados posibles en menor tiempo y a bajos costos (Blazek, 2001; Anderson, 2001).

La dinámica computacional de fluidos es parte del fundamento de las tres leyes de conservación: continuidad, momentum y energía; fenómenos que pueden ser explicados en 2-D y 3-D, este último de mayor interés debido a que se observan las interacciones del entorno en todas las direcciones. Gracias a los modelos hidrodinámicos para explicar el comportamiento de los fluidos en la ingeniería química han permitido entender, modificar y

optimizar procesos químicos que a su vez son de configuración sencilla (por ejemplo, reactores de tanque agitado). Como herramienta ha permitido la integración de diversas técnicas para el mejoramiento de los diversos estudios, para la búsqueda de conocimientos que expliquen mejor los fenómenos de fluidos en las diversas áreas tales como la ingeniería, mecánica, oceanografía, termodinámica, etc. Desde la perspectiva el CFD tiene una participación que nos permite entender y explicar la teoría o la práctica, teniendo un sistema de 3 dimensiones (Figura 3) (Anderson, 1995).

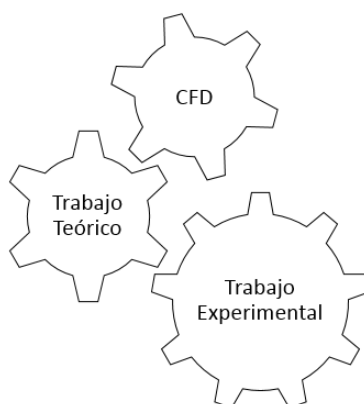


Figura 3. Sistema de interacción triple entre trabajo teórico, experimental y CFD.

La importancia del uso de la modelación computacional está relacionada con el tipo de estudio a realizar; por ejemplo, en el diseño y construcción de reactores para procesos químicos o biológicos, es de suma importancia conocer el movimiento de los fluidos dentro del sistema para maximizar el rendimiento; esto, sin tener que construir físicamente los reactores a priori durante la etapa de diseño para medir el movimiento de los fluidos (Anderson, 2001;Blazek, 2001).

Adicionalmente, este método de estudio complementa las mediciones dado que, sin resultados de las modelaciones computacionales sería necesario instrumentar y medir en varios puntos en un modelo físico durante la etapa de diseño. Con la modelación computacional sería necesario medir únicamente en puntos clave para validar los resultados de la modelación computacional, reduciendo considerablemente los tiempos y costos de instrumentación y medición.

1.5. Contaminantes Emergentes

1.5.1. Impacto y Origen de los Contaminantes Emergentes

El destino de los compuestos farmacéuticos en el medio ambiente se considera un riesgo potencial para los organismos acuáticos y para los seres humanos. Los compuestos farmacéuticos son considerados dentro de los contaminantes emergentes más importantes en la última década por su impacto ambiental (Ahmed *et al.*, 2017; Aboudalle *et al.*, 2018). En las aguas residuales farmacéuticas, la concentración de contaminantes emergentes es de casi 100 mg/L (Nasseh *et al.*, 2017). Estos se introducen en el medio ambiente principalmente a partir de las descargas de las Plantas de Tratamiento de las Aguas Residuales (PTAR) (Dorival-García *et al.*, 2013). Las PTAR que utilizan procesos biológicos se diseñaron para eliminar materia orgánica y nitrógeno, pero los contaminantes emergentes no pueden eliminarse por completo o no son modificados por estos procesos, teniendo concentraciones constantes en las descargas y cuerpos receptores de agua (Suárez *et al.*, 2010).

1.5.2. Metronidazol

El metronidazol (MDZ) es uno de los productos farmacéuticos más utilizados en todo el mundo, se encuentra entre los 100 medicamentos más recetados en los EE. UU., y uno de los 10 medicamentos más utilizados durante el embarazo; es un fármaco de medicación instantánea (Thapa *et al.*, 1998; Bendesky *et al.*, 2002). Se usa comúnmente en medicina humana y veterinaria con propiedades antiprotozoarias y antibacterianas (Ali *et al.*, 2019). El metronidazol se ha detectado en las PTAR a concentraciones desde nanogramos a miligramos por litro (Ahmadzadeh y Dolatabadi, 2018). El MDZ tiene una baja degradabilidad, por lo que esta propiedad química hace que su eliminación por sistemas biológicos convencionales sea muy difícil y, a veces, imposible (Nasseh *et al.*, 2017). Hasta la fecha, y de acuerdo con nuestro conocimiento, no hay evidencia de cómo el metronidazol influye en la actividad de los lodos activados en los procesos de tratamientos de aguas residuales.

JUSTIFICACIÓN

Las aguas residuales industriales, la falta de segregación, así como la normatividad vigente provoca que se siga descargando materia orgánica de difícil degradación. Por lo que los tratamientos convencionales no garantizan una calidad de agua óptima para la protección de los cuerpos receptores. Por lo que en este trabajo la estrategia fue utilizar los sistemas híbridos ya que permiten el acoplamiento de los procesos biológicos en la misma unidad experimental. Además, se utilizó como parámetro de control y evaluación, la DQO, ya que involucra tanto la materia orgánica biodegradable como la recalcitrante, y es un parámetro ya considerado en la adecuación (por aprobar) de las normatividades vigentes.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el acoplamiento de procesos biológicos en un “Reactor Híbrido tipo Carrusel” para la depuración de un agua residual industrial de composición química compleja, en régimen continuo.

PREFACIO

Los resultados obtenidos en este trabajo se presentan en tres capítulos; en el capítulo II se presenta el estudio hidrodinámico mediante Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) de el Bioactor Híbrido Tipo Carrusel (BHTC) con la aplicación de herramientas computacionales como el software FLOW-3D® como alternativa para evaluar la hidrodinámica del fluido en la detección de comportamientos anómalos en un sistema sin la necesidad de construirlo; en el capítulo III se muestra la operación y estabilización del reactor híbrido alimentado con agua sintética y con agua residual industrial a un TRH de 1 día, así como la actividad nitrificante en cada estado pseudo-estacionario. Y finalmente, en el capítulo IV, se discute el efecto de la concentración inicial del metronidazol en el comportamiento cinético y metabólico de la actividad nitrificante y heterotrófica de los lodos activados tomados del reactor híbrido, en cultivos lote.

CAPITULO II

Estudio Hidrodinámico de un Biorreactor Híbrido Tipo Carrusel (BHTC)

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento hidrodinámico en un reactor híbrido tipo carrusel. El modelo tridimensional del reactor se diseñó con el software AutoCAD® y la dinámica de fluidos computacional se estudió utilizando el software FLOW 3D®. Se evaluaron 6 tiempos de residencia hidráulicos (4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas). El tiempo de residencia hidráulico presentó un efecto negativo en el comportamiento hidrodinámico del reactor, ya que a los tiempos de residencia hidráulicos bajos se observaron canalizaciones en los módulos anóxicos/anaerobios. En todos los tiempos de residencia hidráulicos evaluados se observaron recirculaciones internas en la interfase lodos activados/clarificador secundario.

2.1. Introducción

Existen diferentes herramientas para evaluar el estudio hidrodinámico; el primero es el método de hidrodinámica clásica, que consiste en una evaluación por estímulo-respuesta mediante la implementación de un trazador soluble en agua, preferentemente con un elevado peso molecular, la respuesta es medida por un gradiente de concentraciones que son evaluados en la salida del sistema, por lo que genera un perfil lineal de análisis, estas mediciones pueden ser instantáneas o continuas dependientes de los tiempos de residencia hidráulica, para el estudio, los reactores requieren estar fabricados de materiales inertes que no interaccionen con los trazadores implementados y evitar mediciones erróneas generadas por la pérdida del trazador por efecto de la adsorción (Díaz *et al.*, 2014). Otra herramienta que ha surgido en recientes décadas para el diseño y evaluación preferentemente en la construcción de nuevos reactores es la dinámica de fluidos computacional (por sus siglas en inglés CFD) catalogada como un poderoso instrumento para evaluar los parámetros de operación, los diferentes comportamientos del fluido y de sus componentes a una escala global o local. Esta herramienta posee una mayor resolución de los resultados, permite integrar todos los elementos del sistema sean o no materiales inertes para dar una imagen más ideal al comportamiento esperado del reactor. Por ejemplo, Moulllec *et al.* (2010) estudiaron la comparación de diversas modificaciones de un reactor; los resultados obtenidos mostraron evidencia que la CFD permitió generar una predicción en cada modelo evaluado, dando pautas para modificarlos y adaptarlos sin la necesidad de construirlos físicamente, generando alternativas económicas de análisis y procesamiento de información para la toma de decisiones en función al mejor comportamiento deseado.

La implementación de la CFD en reactores biológicos ha tenido un crecimiento benéfico como herramienta de primera instancia para evaluar los comportamientos hidrodinámicos de los fluidos. McClure *et al.* (2016) caracterizaron un bioreactor de columna con el objetivo de evaluar y comparar la confiabilidad de la CFD, en su estudio, los autores fijaron 2 variables de respuesta; la primera fue la evaluación de la hidrodinámica del fluido en la fase estacionaria y la segunda evaluar el parámetro del $K_L a$. Los resultados obtenidos de las modelaciones les permitieron hacer una comparación con resultados experimentales

como pauta para demostrar que la CFD es una herramienta confiable para realizar estudios previos a la construcción de los biorreactores. Ebrahimifakhar *et al.* (2011) evaluaron por CFD el comportamiento hidrodinámico del fluido en un reactor aireado de columna en dos diferentes modificaciones realizadas de forma interna. Los modelos hidrodinámicos obtenidos les permitieron comparar y seleccionar la modificación que mejor cumplía con el comportamiento deseado sin la necesidad de haber construido de forma física ambos sistemas. Por otro lado, Wang *et al.* (2019) evaluó la producción de biohidrógeno en un sistema biológico, su estudio hidrodinámico les permitió observar las diferencias significativas en los diferentes tiempos de residencia hidráulica evaluados con sus respectivos comportamientos. El objetivo se centró en la interacción de los lodos activados, el líquido y el gas producido para un adecuado mezclado y flujo. Los autores observaron que esta triple interacción mejoraba el comportamiento hidrodinámico del líquido, y el gas generado mejoraba el mezclado interno del sistema siendo independientemente de los TRH evaluados. Finalmente, Delafosse *et al.* (2014) nombraron como “zonas locales” a todas aquellas regiones o zonas dentro del caso de estudio que son de mayor interés que permiten entender con claridad el comportamiento del fluido, al ser consideradas áreas o volúmenes que pueden describir el comportamiento general siendo estos puntos clave para la toma de decisiones y descripción de los fenómenos.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Estudio de la Dinámica de Fluidos Computacional del Bioreactor Híbrido tipo Carrusel (BHTC)

El bioreactor fue diseñado con el software AutoCAD® con las dimensiones de diseño: 0.203 x 0.56 x 0.299 m (ancho x largo x alto, respectivamente) (Figura 4). La dinámica de fluidos computacional se llevó a cabo utilizando el software comercial CFD, FLOW 3D®. Este programa emplea el método numérico de diferencias finitas (discretización de dominio y tiempo) para encontrar una solución aproximada.

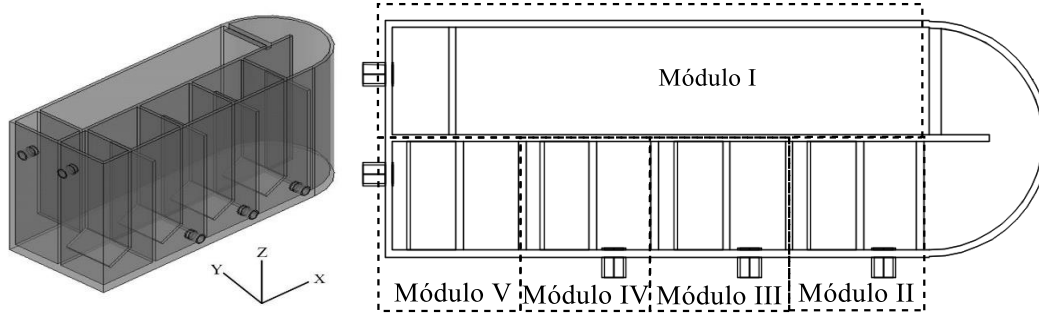


Figura 4. Biorreactor híbrido tipo “Carrusel”. Módulo I: Proceso aerobio (lodos activados); Módulo II: Clarificador secundario; Módulo III: Proceso de desnitrificación (facultativo); Módulo IV: Proceso anaerobio (metanogénesis); Módulo V: Adsorción fisicoquímica (módulo adicionado para la remoción de materia recalcitrante).

El método consiste en dividir el dominio en volúmenes de control y aproxima las ecuaciones a un conjunto de expresiones algebraicas a través de la discretización, para encontrar de forma iterativa una solución (Zuluaga *et al.*, 2015). La malla para este estudio hidrodinámico se realizó con 1 millón de celdas (tamaño promedio de 3 mm por lado de cada celda). El volumen de lodos biológicos en los módulos anaeróbicos se consideró solo el 30% del volumen operativo, con un valor de porosidad de 0.83 ± 0.014 . En el módulo de lodos activados, se asumió una distribución homogénea de la biomasa con porosidad nula. La ecuación de masa establece en general que el incremento de masa dentro de un fluido se debe al flujo neto de masa. La conservación de masa para la fase líquida se describe por:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \vec{v}) = 0 \quad (8)$$

La conservación del momento para la fase líquida se puede expresar como:

$$\rho \frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \rho (\vec{v} \cdot \nabla) \vec{v} = -\nabla p + \rho \vec{g} + \nabla \cdot \tau_{ij} \quad (9)$$

Esta ecuación describe la dirección del vector en tres dimensiones de una partícula o masa específica. Para describir el fenómeno de la turbulencia, se usó el modelo estándar del

Grupo Renormalizado (RNG) para describir las intensidades de la turbulencia del flujo (FLOW 3D®). El transporte de turbulencia y la viscosidad cinemática turbulenta dada por el software se describen por la siguiente ecuación:

$$v_T = CNU \frac{k_T^2}{\varepsilon_T} \quad (10)$$

Donde:

ρ = densidad, kg/m³

t = tiempo, s

k = coeficiente de conductividad térmica, J/(°K-m-s)

T = temperatura, °K

\vec{v} = velocidad, m/s

\vec{g} = aceleración gravitacional, 9.8 m/s²

p = presión, Pa

τ_{ij} = Reynolds, kg/ (m-s²)

v_T = viscosidad cinemática turbulenta, m²/s

k_T = energía cinemática turbulenta, J/kg

ε_T = energía de disipación turbulenta, J/kg

CNU = Coeficiente de evaluación de la viscosidad turbulenta, parámetro establecido de 0.09

2.3. Resultados y Discusión

2.3.1. Estudio Hidrodinámico del BHTC

En la Figura 5 se presentan los comportamientos hidrodinámicos en la fase estacionaria a los diferentes TRH evaluados (4, 8, 12, 16, 20 y 24 h). Para cada TRH se muestran las diferentes líneas de flujo que representan las magnitudes de velocidades correspondientes. La gama de colores de la escala de velocidades se refiere a la magnitud de la velocidad; el color azul es para las velocidades bajas o nulas, mientras que el color rojo se

refiere a las velocidades máximas. No obstante, McClure *et al.* (2016) menciona que las velocidades son dependientes para cada caso de estudio. Los resultados de la simulación indicaron que al disminuir el TRH la velocidad se incrementó generando comportamientos hidrodinámicos diferentes que son un reflejo de los flujos. Por ejemplo, los comportamientos del fluido no presentaron una diferencia en la zona aerobia, ya que está bien estudiado que las zonas con aireación proporcionan un adecuado mezclado para la transferencia de nutrientes hacia los microorganismos, es decir, un buen comportamiento hidrodinámico. No obstante, los comportamientos anómalos se presentaron en la zona de la interfase que conecta el módulo aerobio con el módulo del clarificador secundario, que es una zona de no mezclado. De acuerdo con Gelves *et al.* (2013), los comportamientos hidrodinámicos anómalos son considerados como un comportamiento no idealizado, debido a que no cumple con el comportamiento adecuado del biorreactor. Wang *et al.* (2009), Ebrahimifakhar *et al.* (2011) y Rathore *et al.* (2011) observaron que la variación de la magnitud en las velocidades es dependiente de la geometría del reactor y del caudal (TRH).

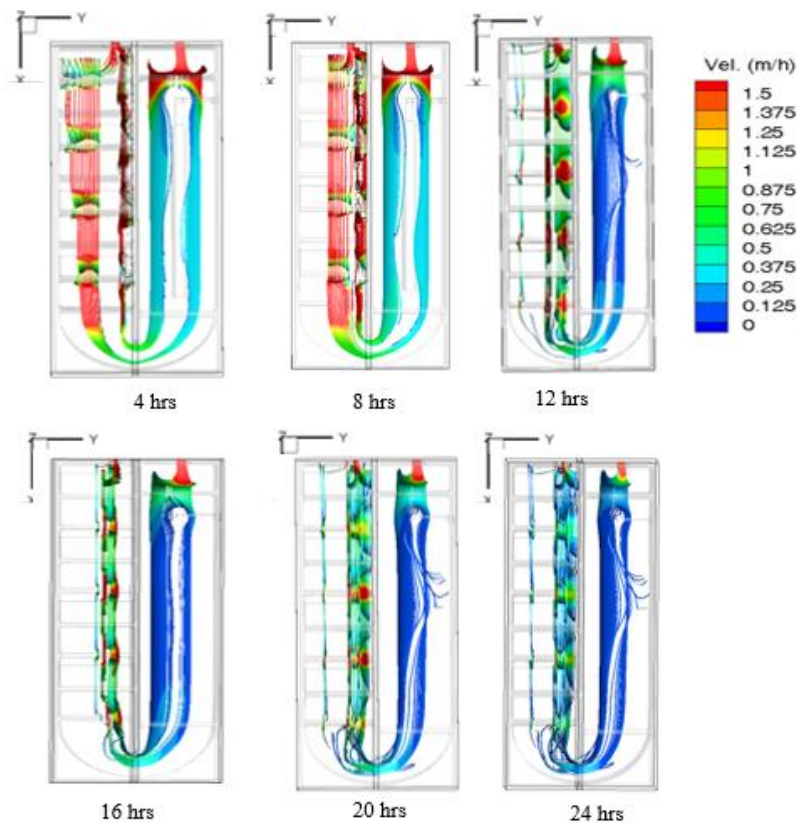


Figura 5. Vectores de dirección de líneas de flujo en el plano XY del reactor a diferentes TRH.

A los diferentes TRH evaluados se observó que la zona anómala que afectó la hidrodinámica del fluido se localizó en la zona curva del bioreactor (interfase), observándose una recirculación interna y generación de vórtices. Este comportamiento hidrodinámico anómalo se puede apreciar claramente en la Figura 6. El vortex que se genera en la parte inferior e incremento de la velocidad en la superficie tienen un efecto directo a la acción de la fuerza centrífuga generada por la curvatura, que es un cambio de ángulo y dirección dado por el diseño del reactor, tal como fue observado por Khalili-Garakani *et al.* (2011). Esta información es relevante, ya que al operar el bioreactor de forma continua habría una acumulación de lodos y contaminantes en esta zona, afectando la eficiencia global del sistema. Por otro lado, a la entrada del bioreactor se observaron altas velocidades, pero esto se debe a que la entrada es estrecha y la dirección del fluido cumple con la ley de la conservación de la materia. Dentro de los fenómenos de los comportamientos hidrodinámicos existe también que cuando hay un cambio de dirección, la suma de la interacción y la colisión de las partículas del fluido da como resultado un aumento o decremento en la velocidad de los vectores resultantes (Wang *et al.*, 2019). Estos cambios de velocidades se pueden apreciar claramente cuando el agua residual pasa de un módulo a otro (Figura 6); en los módulos facultativos/anaerobios. Una forma de corregir los problemas anómalos relacionados a la generación de vortex y canalizaciones en la superficie es mediante la adición de una propela, tal como fue reportado por Azargoshasb *et al.* (2016). Estos autores estudiaron la hidrodinámica de un reactor de tanque agitado utilizando propelas, observando que la velocidad del fluido aumentó ligeramente, no obstante, el mezclado y la distribución homogénea de las partículas se mejoró. Finalmente, las líneas de flujo permitieron obtener una visión más clara de la dirección de los vectores resultantes del movimiento del líquido en todo el sistema.

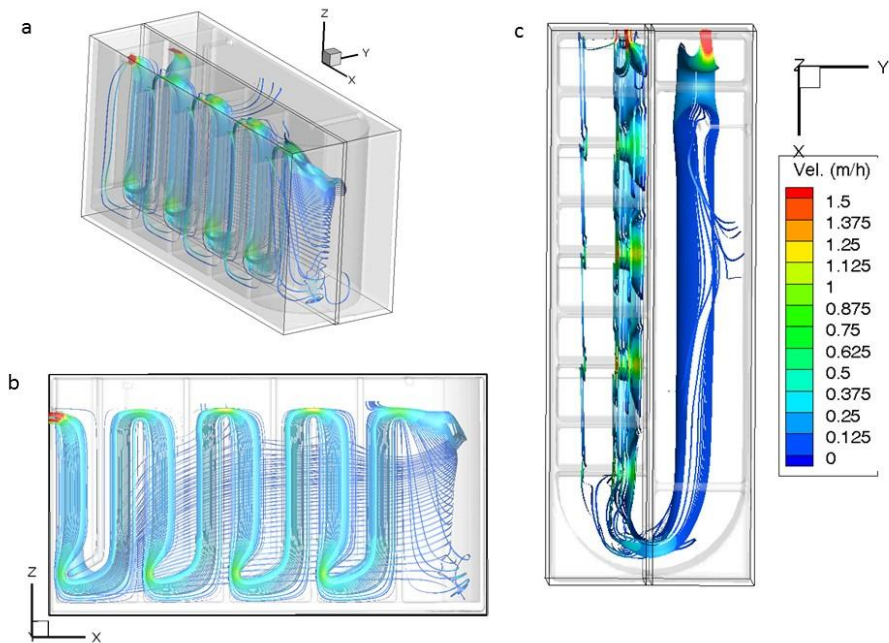


Figura 6. CFD del BHTC a un TRH de 24 horas. a) Plano tridimensional XYZ; b) Corte en un plano XZ; c) plano en XY (vista aérea).

2.4. Conclusiones

El estudio hidrodinámico del reactor híbrido por medio de la CFD permitió la identificación de comportamientos hidrodinámicos anómalos. El principal comportamiento anómalo observado fue la recirculación interna o vortex en la interfase que conecta la zona aerobia con el clarificador secundario.

CAPITULO III

Depuración de un agua residual contaminada con amonio y materia orgánica empleando un Reactor Híbrido Tipo carrusel

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia de un reactor híbrido tipo carrusel para la eliminación compuestos nitrogenados y carbonados de un agua residual sintética e industrial. El reactor híbrido está conformado por 4 módulos: módulo de lodos activados, módulo de sedimentación o clarificación y dos módulos facultativo-anaerobio. El reactor se operó con un volumen de operación de 21.5 L a un tiempo de residencia hidráulico de 24 horas. El reactor híbrido se alimentó con agua residual industrial, a dos velocidades de carga orgánica, 611 y 1025 mg DQO/L-d. En el estado estacionario se alcanzaron eficiencias de remoción de amonio de 60-80%, teniendo como producto principal, N_2 . El índice de biodegradabilidad del agua residual industrial fue de 0.5, por lo que, el biorreactor híbrido fue capaz de eliminar la materia orgánica biodegradable. Los estudios cinéticos mostraron que la presencia de compuestos tóxicos contenidos en el agua residual industrial inhibió fuertemente la nitrificación, particularmente la etapa nitrito oxidante. Finalmente, los resultados experimentales mostraron que el reactor híbrido permitió el acoplamiento de procesos biológicos para la remoción de materia orgánica y compuestos nitrogenados.

Los resultados de este capítulo se publicaron en la revista *International Journal of Environmental Science and Technology* con título "Simultaneous ammonia and organic matter removal from industrial wastewater in a continuous novel hybrid carousel bioreactor", 2019. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2017-z>

3.1. Introducción

En diversas partes del mundo, y en particular en los países en desarrollo, las aguas residuales son en la mayoría descargadas directamente en los cuerpos de agua tales como ríos, lagos y mares. El agua residual contiene una alta concentración de contaminantes, que incluye los compuestos de carbono y nitrógeno, que pueden deteriorar la calidad de los ambientes acuáticos y producir eutrofización (Zhao *et al.*, 2013). Por esta razón, es relevante el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan la mineralización o biotransformación de los contaminantes que puedan ser biodegradados fácilmente a N_2 y CO_2 , y estos productos no causarían un impacto negativo al medio ambiente (Rücker *et al.*, 2018).

El agua residual está clasificada en municipal e industrial; esta última es el foco de atención debido a su complejidad química (Chan *et al.*, 2009). La combinación de las aguas residuales de los diferentes sectores, tales como: alimentarias, textiles, químicas, entre otros, ha complicado su tratamiento, convirtiéndose en un desafío. Con el fin de tratar este tipo de aguas residuales, en los últimos años se ha empleado el uso de los biorreactores llamados “híbridos” que se han convertido en una tecnología alternativamente factible. No hay una definición clara para el reactor híbrido; sin embargo, los reactores híbridos se han asociado con la configuración de módulos diferentes en la misma unidad de reacción, y que permite el acoplamiento de diferentes procesos biológicos. Los reactores híbridos que combinan las condiciones anaerobias, aerobias y zonas anóxicas están mejorando la eliminación de los contaminantes, y la disminución de los costos operativos y de las áreas de construcción (Chan *et al.*, 2009).

El reactor tipo “carrusel” es un biorreactor híbrido utilizado con éxito para el acoplamiento de la nitrificación y la desnitrificación de forma simultánea (SND), con eficiencias de remoción de nitrógeno de 60 al 70% (Liu *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2015). Jianlong *et al.* (2000) desarrollaron un reactor híbrido de lodos activados, empleando biomasa suspendida y biomasa adherida en un material poroso para el tratamiento de aguas residuales domésticas, alcanzando eficiencias de remoción de la DQO mayores al 80%. Banu *et al.* (2006) trabajaron un bioreactor híbrido, que combina un sistema anaerobio y un lecho

de lodos de película fija alimentado de forma ascendente, alcanzando eficiencias de remoción de la DQO de 67-72%. Akizuki y Toda (2018) acoplaron la desnitrificación y la metanogénesis en la misma unidad de reacción, observando eficiencias de remoción de la DQO de 96%, y una eficiencia de remoción de nitrógeno de 64%, con una baja producción de metano. Pastorelli *et al.* (1999) mostraron que un reactor híbrido formado por un sistema de biopelícula y membrana (MBBR-MBR) permitió la eliminación simultánea de carbono orgánico y nutriente tales como el fósforo y nitrógeno (Pastorelli *et al.*, 1999). Yang *et al.* (2009) observaron que un reactor de biopelícula puede formar zonas aerobias, facultativas y anaerobias permitiendo el acoplamiento de la nitrificación y desnitrificación. Nasr *et al.* (2014) trabajaron un reactor híbrido de lotes (HSBR) para el tratamiento de aguas residuales de la industria láctea, observando altas eficiencias de remoción de la DQO y nitrógeno de 90%. Ahmad *et al.* (2010) operaron un biorreactor híbrido anaerobio-aerobio para la biodegradación del ácido amarillo-36 en las aguas residuales, observando la mineralización del colorante, a una velocidad de consumo máxima de 100 mg/L-d. Bajo este contexto se puede ver la eficacia y la flexibilidad de los biorreactores híbridos para el tratamiento de aguas residuales de composición química compleja.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Descripción y operación del Biorreactor Híbrido tipo “Carrusel”

El biorreactor Híbrido tipo “Carrusel” (BHTC) de material acrílico se operó con un volumen operacional de 21.5 L y un tiempo de residencia hidráulica (TRH) de 24 h (Figura 7). Se utilizaron difusores tipo barra para pecera en la parte baja del módulo de lodos activados para la aireación, permitiendo un adecuado mezclado del medio de cultivo o del agua residual. En la Figura 8 se describe de forma general el aporte de cada módulo en la biotransformación de los compuestos de nitrógeno y carbono, siendo los principales productos N_2 , CO_2 y CH_4 .

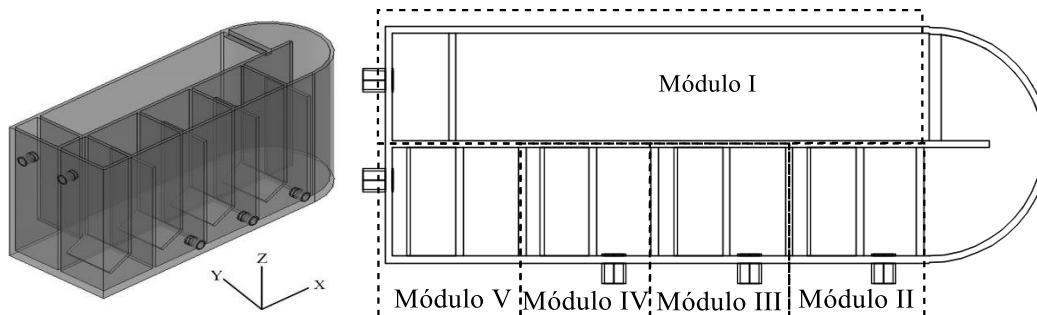


Figura 7. Biorreactor híbrido tipo “Carrusel”. Módulo I: Proceso aerobio (lodos activados); Módulo II: Clarificador secundario; Módulo III: Proceso de desnitrificación (facultativo); Módulo IV: Proceso anaerobio (metanogénesis); Módulo V: Adsorción fisicoquímica (módulo adicionado para la remoción de materia recalcitrante).

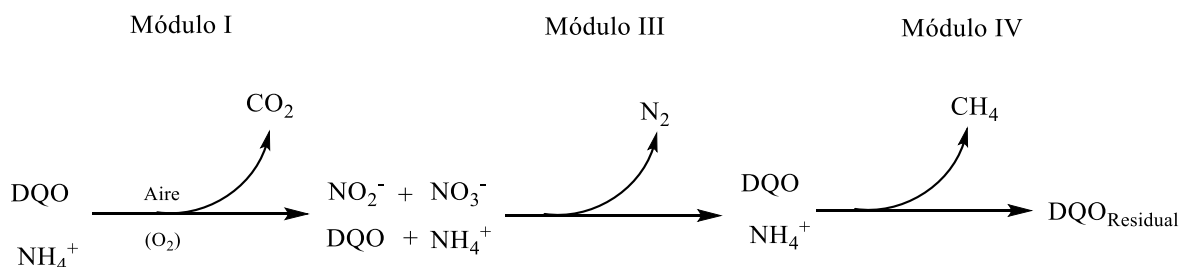


Figura 8. Mecanismos de biotransformación del nitrógeno y la DQO en el BHTC.

Inicialmente, el biorreactor se alimentó con agua sintética a una velocidad de carga de 1000 ± 50 mg DQO/L-d y 0.150 mg N-NH₄⁺/L-d en la Etapa I y 0.075 mg N-NH₄⁺/L-d para la Etapa II. La composición química del agua sintética fue la siguiente en (g/L): C₆H₁₂O₆ (1), N-NH₄⁺ (0.075), CaCl₂ (0.1), NaHCO₃ (1), KH₂PO₄ (0.35), K₂HPO₄ (0.27) y 0.5 mg/L de elementos traza (Pérez-González *et al.*, 2012). El agua residual industrial se colectó de una PTAR ubicada en el Estado de México, la cual está tratando una mezcla de aguas residuales industriales, de giros diferentes. Se evaluaron dos velocidades de carga orgánica empleando el agua residual industrial, 611 ± 53 mg DQO/L-d (Etapa III) y 1025 ± 67 mg DQO/L-d (Etapa IV). El BHTC se inoculó con lodos activados colectados de la PTAR (3000 mg SSV/L), y los módulos anaerobios se inocularon (con un tercio del volumen) con lodos colectados de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales instalada en la Compañía de Alimentos "La Costeña", México. En el influente, el pH se ajustó a 7.0 ± 0.2 , mientras que

en el efluente el pH fue de 7.38 ± 0.2 . La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo en un intervalo de 5.0 ± 0.3 mg/L.

3.2.2. Cultivos en lote: actividad nitrificante de los lodos activados

Los estudios cinéticos de la actividad nitrificante se realizaron en el módulo aerobio. La biomasa se tomó de cada estado pseudo-estacionario para los estudios en lote. La concentración inicial de materia orgánica fue de 1 g de DQO/L (glucosa) y/o 75 mg de N-NH₄⁺/L. El volumen de operación de los cultivos en lote fue de 12 L, y la concentración de SSV fue de 2.85 ± 0.51 g/L. El pH del medio líquido fue de 7.43 ± 0.2 . Los cultivos en lote se airearon continuamente para mantener una concentración de oxígeno disuelto de 6.5 ± 0.2 mg/L. Los cultivos en lote se llevaron a cabo por duplicado a una temperatura de 20 °C. La cinética de los lodos activados se evaluó a través de las siguientes variables de respuesta: eficiencias de remoción (($E_{\text{NH}_4^+}$ o E_{DQO} ; (mg de sustrato consumido/mg de sustrato inicial) \times 100)), rendimiento de producción de nitrato ($Y_{\text{NO}_3^-}$, mg de N-NO₃⁻ producido/mg de N-NH₄⁺ consumido), rendimiento de producción de nitrito ($Y_{\text{NO}_2^-}$, mg de N-NO₂⁻ producido/mg N-NH₄⁺ consumido), velocidad específica de consumo de N-NH₄⁺ ($q_{\text{NH}_4^+}$), velocidad específica de producción de N-NO₃⁻ ($q_{\text{NO}_3^-}$) y la velocidad específica de producción de N-NO₂⁻ ($q_{\text{NO}_2^-}$).

3.2.3. Métodos Analíticos

El amonio se analizó mediante un electrodo selectivo (HANNA HI 4101). La demanda química de oxígeno soluble (DQO_s) se determinó mediante el método de refluo cerrado (Pittwell 1983). El nitrito y el nitrato se analizaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) (PerkinElmer serie 200), utilizando una columna de intercambio iónico y un detector de UV a 214 nm. El N₂ y CH₄ se midieron por cromatografía de gases con un detector de conductividad térmica (GOW-MAC 580). Las temperaturas para la columna, el inyector y el detector fueron de 50, 100 y 110 °C, respectivamente. Se utilizó helio como gas acarreador a un caudal constante de 16 ml/min. La concentración de oxígeno disuelto se determinó mediante un electrodo selectivo (HANNA, HI 98186). Los sólidos

suspendidos volátiles (SSV) se determinaron de acuerdo con los métodos estándar para la examinación de agua y aguas residuales (APHA/AWWA/WEF 2005).

3.3. Resultados y Discusión

3.3.1. Operación del Biorreactor Híbrido

El biorreactor se operó por un período de 250 días en cuatro etapas (I, II, III y IV), de acuerdo con la Tabla 2. En la Etapa I (medio sintético), se alimentó con una carga orgánica de 1000 ± 50 mg de DQO/L-d y una carga de nitrógeno de 140 ± 50 mg de N-NH₄⁺/L-d. La relación DQO/N en esta etapa fue de 100/14 (≈ 7). En términos de eficiencia de remoción de la DQO_s, el estado pseudo-estacionario se alcanzó en el día 60 (Figura 9). La eficiencia de remoción de la DQO_s fue de $98 \pm 2\%$, de la cual una fracción de la DQO_s se eliminó en el módulo de lodos activados, mientras que la otra fracción se eliminó en los módulos facultativo/anaerobio. En el espacio de cabeza de los módulos anaerobios, se detectó N₂ y CH₄ durante el estado pseudo-estacionario; estos resultados experimentales indicaron que la desnitrificación y la metanogénesis se llevaron a cabo.

Tabla 2. Características del influente del BHTC operado en continuo.

Etapa	[DQO] (mg/L)	[N-NH ₄ ⁺] (mg/L)	Tipo de Agua
I	1000 ± 50	140 ± 50	Medio Sintético
II		70 ± 3	
III	611 ± 53	28 ± 12	Agua Industrial
IV	1025 ± 67	46 ± 9	

El biorreactor híbrido alcanzó una eficiencia de remoción de amonio de $50 \pm 7\%$, y en el efluente no se detectó ni nitrito ni nitrato. La eficiencia de remoción de amonio fue baja; esto podría deberse a la presencia de materia orgánica, inhibiendo el proceso biológico de la nitrificación. Por ejemplo, Hanaki *et al.* (1990) observó en un reactor nitrificante que el incremento de la DQO hasta 1000 mg/L disminuyó la oxidación de amonio a nitrito, aumentando la concentración de amonio residual.

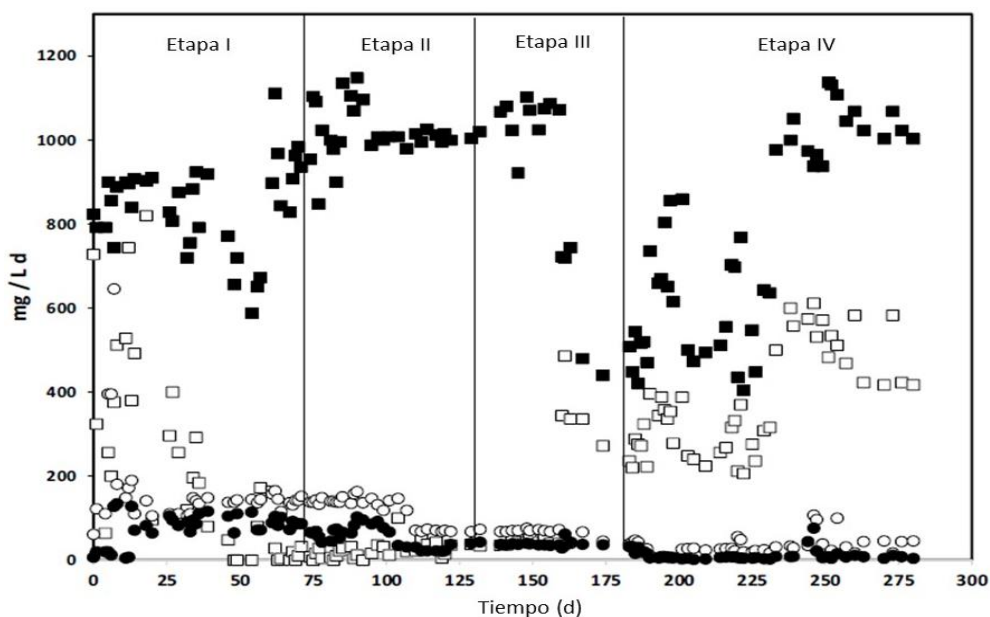


Figura 9. Perfiles de N-NH_4^+ y DQO en el reactor híbrido tipo carrusel en régimen continuo. DQO influente (■); DQO efluente (□); N-NH_4^+ influente (○); N-NH_4^+ efluente (●).

En el biorreactor se observó el fenómeno de bulking, y este comportamiento está asociado al crecimiento excesivo de bacterias filamentosas. El bulking de los lodos activados se ha convertido en un problema común en muchas plantas de tratamiento de aguas residuales, debido a la flotación de los lodos (Aonofriesei y Petrosanu, 2007). La formación óptima de los flóculos es esencial para el funcionamiento adecuado del clarificador secundario y la recirculación hacia el módulo de lodos activados (Wanner 1994). Varios factores que podrían estar provocando este fenómeno, son: la relación C/N, deficiencia de nutrientes, la relación F/M (sustrato/microorganismo), la concentración de oxígeno disponible, así como el diseño del difusor de aireación. Por ejemplo, Peng *et al.* (2003) observaron en un sistema de lodos activados que los lodos sedimentaron correctamente a una relación del influente DBO_5/N de $100/4$ (≈ 25); cuando la relación DBO_5/N fue de $100/3$ (≈ 33) el número de bacterias filamentosas comenzó a reducirse y simultáneamente se observó un crecimiento excesivo de *Zoogloea viscosa* y se produjo un aumento del volumen del lodo activado no filamentoso. Los autores observaron que a una relación de DBO_5/N de $100/2$ (≈ 50) disminuyó el crecimiento de microorganismos filamentosos, por lo que estas

investigaciones podrían estar indicando que el fenómeno de bulking puede controlarse limitando la fuente de nitrógeno.

Por lo tanto, en la Etapa II, la velocidad de carga de nitrógeno del medio sintético se disminuyó, siendo de 70 ± 3 mg de N-NH_4^+ /L-d. La velocidad de carga orgánica fue de 1032 ± 43 mg DQO/L-d, con una relación DQO/N de 14. El incremento de la relación DQO/N redujo el volumen de lodos filamentosos, mejorando la sedimentación de este. No obstante, las eficiencias globales de eliminación de nitrógeno y materia orgánica no cambiaron significativamente con respecto a la primera etapa. La eficiencia de remoción de amonio fue de $52 \pm 5\%$, mientras que la eficiencia de remoción de DQO fue de $96 \pm 2\%$. En esta etapa tampoco se detectó nitrito ni nitrato en el efluente. En los módulos facultativo/anaerobio se cuantificaron la producción de N_2 y CH_4 de forma continua, siendo 20 ± 2 mg N_2 /L-d y 6 ± 1.5 mg CH_4 /L-d, respectivamente. La baja producción de metano indicó que la mayor parte de la materia orgánica biodegradable se eliminó a través de la actividad heterótrofa en el módulo de los lodos activados, mientras que la otra fracción orgánica se mineralizó mediante el proceso de desnitrificación. A continuación, se presenta el balance global de nitrógeno:

$$[70 \pm 2 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{inf}} = [20 \pm 2 \text{ mg N}_2/\text{L-d}] + [33 \pm 7 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{ef}}$$

Aproximadamente el 54% del consumo de amonio se usó para la producción de N_2 en los módulos facultativo/anaerobio, lo que indicó que el otro 46% podría haberse utilizado para las vías del anabolismo, por ejemplo, para el crecimiento celular y/o producción de sustancias exopoliméricas. La producción de exopolímeros vinculada a la actividad de lodos activados es inevitable. Por ejemplo, Sponza (2003) observó en un sistema de lodos activados que la proteína fue la sustancia exopolimérica que predominó, seguida de los polisacáridos y el ácido desoxirribonucleico (ADN).

En la Etapa III, el biorreactor se alimentó con el agua residual industrial a una velocidad de carga orgánica y nitrogenada de 611 ± 35 mg DQO/L-d y 28 ± 12 mg N-NH_4^+ /L-d, respectivamente, bajo una relación DQO/N de 21. En el estado pseudo-estacionario, la eficiencia de remoción de DQO fue de $51 \pm 2\%$, y la eficiencia de remoción de amonio fue

de $81 \pm 8\%$. El índice de biodegradabilidad (DBO_5/DQO) de esta agua residual industrial fue de 0.5; esto indicaría que aproximadamente el 50% de la DQO podría eliminarse mediante un proceso biológico, es decir, es biodegradable. De acuerdo con este índice de biodegradabilidad, el BHTC logró eliminar los compuestos orgánicos biodegradables. El otro 50% de la DQO que no se eliminó podría considerarse no biodegradable, y corresponde a compuestos recalcitrantes que deben eliminarse mediante procesos fisicoquímicos o electroquímicos. A continuación, se presenta el balance de nitrógeno en el módulo de los lodos activados:

$$[28.5 \pm 13 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{inf}} + [10 \pm 7 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L-d}]_{\text{inf}} \\ = [9.5 \pm 7 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L-d}]_{\text{ef}} + [6 \pm 3 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{ef}} + [23.5 \pm 5 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L-d}]_{\text{ef}}$$

El balance de nitrógeno indicó que el amonio consumido fue parcialmente oxidado hasta nitrito. Esto significa que el paso de oxidación de nitrito a nitrato podría haberse inhibido. En el presente trabajo, las aguas residuales industriales suministradas al biorreactor híbrido son químicamente complejas, por lo que es posible encontrar materia orgánica con un alto grado de toxicidad. Por ejemplo, Pérez-Alfaro *et al.* (2013) estudiaron el efecto del 2-clorofenol en el proceso biológico de la nitrificación; los autores observaron que este compuesto fenólico inhibió la etapa de oxidación del nitrito. Con respecto a la materia orgánica en el módulo de lodos activados, la eficiencia de eliminación de la DQO fue de 35%, lo que indicó que en este módulo se llevaron a cabo dos procesos biológicos: nitrificación parcial y actividad heterótrofa. A continuación, se presenta el balance de nitrógeno en los módulos facultativo/anaerobio:

$$[9.5 \pm 7 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L-d}]_{\text{inf}} + [6 \pm 3 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{inf}} + [23.5 \pm 5 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L-d}]_{\text{inf}} \\ = [8.5 \pm 4 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{ef}} + [20 \pm 3 \text{ mg N}_2/\text{L-d}]_{\text{ef}}$$

El balance de nitrógeno mostró que se alimentaron 39 mg de $N_{\text{Total}}/\text{L-d}$ a los módulos facultativo/anaerobio, y en el efluente se recuperaron 28.5 mg de $N_{\text{Total}}/\text{L-d}$, por lo cual 27% del nitrógeno no recuperado en el efluente podría haber sido utilizado en las vías anabólicas. El balance de nitrógeno también mostró que la reducción de nitrito y nitrato se acopló a la

oxidación de la DQOs, teniendo como producto final, N₂. La eficiencia global de la remoción de la DQO fue de 51%; el 35% se eliminó en el módulo de los lodos activados, mientras que el otro 16% se oxidó en el módulo facultativo. Además, no se detectó metano, lo que sugiere que el nitrito u otro compuesto químico podrían haber inhibido la metanogénesis. Por ejemplo, Klüber y Conrad (1998) observaron que la adición de nitrito en los cultivos metanogénicos no cambió el potencial redox, sin embargo, sí inhibió completamente la producción de metano.

En la Etapa IV, el BHTC se alimentó con agua residual industrial a una carga orgánica de 1025 ± 67 mg DQO/L-d y 46 ± 9 mg de N-NH₄⁺/L-d, con una relación DQO/N de 22. En el estado pseudo-estacionario, la eficiencia de remoción de DQOs fue de 53 ± 6%. No obstante, la eficiencia de remoción de amonio disminuyó, siendo de 60 ± 7%. En esta etapa, también se eliminaron los compuestos orgánicos biodegradables. A continuación, se presenta el balance de nitrógeno en el módulo de lodos activados:

$$[46 \pm 9 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{inf}} + [19 \pm 7 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L-d}]_{\text{inf}} \\ = [20 \pm 3 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L-d}]_{\text{ef}} + [10 \pm 3 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{ef}} + [35 \pm 5 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L-d}]_{\text{ef}}$$

El balance de nitrógeno indicó que el 97% del amonio consumido fue parcialmente oxidado hasta nitrito. El incremento de la carga de DQO aumentó la nitrificación parcial. En este módulo, la eficiencia de remoción de DQO a través de la actividad heterotrófica fue de 35%. Estos resultados experimentales indicaron que la nitrificación parcial y la actividad heterotrófica en el módulo de los lodos activados se llevaron a cabo. A continuación, se presenta el balance de nitrógeno en los módulos facultativo/anaerobio:

$$[20 \pm 3 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L-d}]_{\text{inf}} + [10 \pm 3 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{inf}} + [41 \pm 5 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L-d}]_{\text{inf}} \\ = [13 \pm 4 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L-d}]_{\text{ef}} + [43 \pm 3 \text{ mg N}_2/\text{L-d}]_{\text{ef}}$$

El balance de masa señaló que la reducción de nitrato y nitrito se acopló a la disminución de DQO, produciendo N₂ como producto final. La eficiencia global de eliminación de DQO fue de 53%; el 35% se eliminó en el módulo de los lodos activados,

mientras que el 17.65% restante se oxidó en el módulo facultativo. En esta última etapa, se observó un comportamiento similar a la Etapa III, donde tampoco se detectó metano. Estos resultados experimentales indicaron que el nitrito u otro compuesto químico podría haber inhibido el proceso biológico de la metanogénesis.

3.3.2. Actividades nitrificantes en cultivos lote

La actividad nitrificante de los lodos activados se evaluó en cada estado pseudo-estacionario. Los cultivos en lote se evaluaron en medio mineral en presencia de amonio, y amonio + DQO. La muestra de biomasa se tomó de las etapas II, III y IV; la biomasa tomada de la Etapa II se utilizó para evaluar la actividad nitrificante con agua sintética, en presencia de amonio (S-II (N)), y amonio más DQO (S-II (N + C)). Por otro lado, la muestra del lodo activado tomada de las Etapas III y IV se usó para evaluar la actividad nitrificante con agua sintética en presencia de amonio (S-III o S-IV (N)) y amonio con DQO (S-III o S-IV (N + C)).

El perfil de consumo de amonio y producción de nitrato/nitrito se presenta en la Figura 9. Los cultivos en lote (S-II (N)) mostraron un perfil de consumo de amonio durante todo el período de incubación (Figura 10). La eficiencia de consumo de amonio fue de 91%, con un rendimiento de nitrificación de 0.79 ± 0.02 (Tabla 3). El nitrito es un compuesto intermediario en la ruta bioquímica nitrificante, y se produjo desde el inicio, alcanzando un rendimiento de 0.21 ± 0.01 . El amonio se consumió a una velocidad específica de 84 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mientras que el nitrato se produjo a una velocidad de 88 mg N-NO₃⁻/g SSV-d. En los cultivos en lote alimentados con amonio + DQO (S-II (N + C)), la eficiencia de consumo y el rendimiento de la nitrificación disminuyeron; los valores obtenidos fueron de 76% y 0.62 ± 0.02 , respectivamente. El nitrito también se produjo desde el inicio, pero en este caso, el rendimiento de nitrito aumentó hasta 0.38 ± 0.01 . La velocidad específica de consumo de amonio fue de 72 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mientras que el nitrato se produjo a una velocidad de 75 mg N-NO₃⁻/g SSV-d.

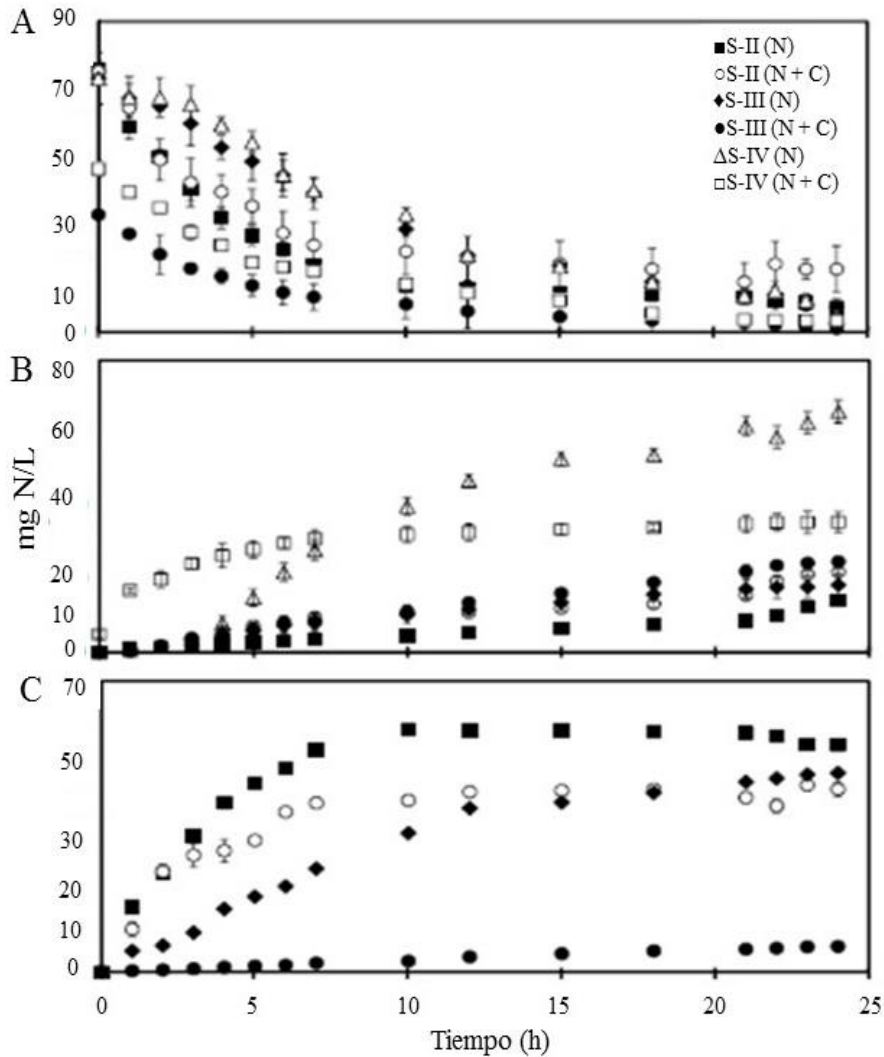


Figura 10. Perfil de consumo de A) $N-NH_4^+$, B) $N-NO_3^-$, C) $N-NO_2^-$ en cultivos lote.

La presencia de materia orgánica afectó la cinética y el metabolismo de la nitrificación, ya que las velocidades específicas de amonio y nitrato, así como el rendimiento de nitrificación disminuyeron con respecto a los cultivos en lote en S-II (N) (Tabla 3). Es bien sabido que, en sistemas biológicos alimentados con amonio y materia orgánica, que los heterótrofos y nitrificadores pueden competir por la fuente oxidante (oxígeno), afectando en algunos casos el catabolismo o anabolismo del proceso de nitrificación (Hanaki *et al.*, 1990). En el presente trabajo, tanto el metabolismo como la cinética nitrificante se vieron afectados por la presencia de materia orgánica, lo que sugiere un fenómeno de inhibición. Otro factor importante que se debe de considerar es que los lodos originales se tomaron de una Planta de

Tratamiento de Aguas Residuales Industriales, la cual estaba operando a un TRH corto de 4 h. Por ejemplo, Metcalf y Eddy (2014) indican que el TRH adecuado para llevar a cabo la nitrificación y la actividad heterotrófica debe ser superior a 9 h; esto se debe a que el crecimiento de las bacterias nitrificantes es muy lento en comparación con las bacterias heterótrofas. El tiempo de duplicación para diferentes especies de *Nitrobacter* son prolongados y varían entre 10 y 140 h (Bock *et al.*, 1991). Por lo tanto, a un TRH de 4 h, las condiciones hidráulicas son desfavorables para el crecimiento nitrificante. En este contexto, teniendo en cuenta el comportamiento fisiológico observado en las actividades de nitrificación, podría estar justificando la baja eficiencia de eliminación de amonio en el módulo de los lodos activados en el biorreactor.

En los cultivos lote [S-III (N)], el amonio se oxidó a nitrito y nitrato, con una eficiencia de consumo de 90%. Los rendimientos de nitrato y nitrito fueron de 0.72 ± 0.03 y 0.30 ± 0.01 , respectivamente. El amonio se consumió a una velocidad específica de 41 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mientras que la velocidad de producción de nitrato fue de 31 mg N-NO₃⁻/g SSV-d (Figura 11). El metabolismo nitrificante no se vio significativamente afectado con respecto al cultivo S-II (N), ya que el principal producto final fue el nitrito (Tabla 3). No obstante, la cinética nitrificante se vio afectada significativamente, ya que la velocidad específica de consumo de amonio y la velocidad de producción específica de nitrato disminuyeron alrededor de 50 y 64%, respectivamente, con respecto a los cultivos de S-II (N).

Este comportamiento metabólico y cinético sugirió que los lodos en contacto con las aguas residuales industriales provocaron un cierto daño o cambios estructurales en las bacterias nitrificantes. El agua residual industrial que se empleó en el presente trabajo es químicamente compleja, ya que es una mezcla de efluentes de varias industrias (alimentos, química, farmacéutica, textil, etc.). Por ejemplo, se sabe que el fenol daña la membrana celular, sin embargo, hay informes de microorganismos que han desarrollado mecanismos para consumir altas concentraciones de fenol, modificando la rigidez de la membrana celular (Van Schie y Young, 2000). Por otro lado, Kim *et al.* (2008) trabajó con aguas residuales de refrescos, siendo uno de los efluentes industriales más tóxicos; si bien, si el proceso de lodos

activados se ha aclimatado para tratar este tipo de aguas residuales, los efectos inhibitorios graves de este tipo de aguas en diversas ocasiones han alterado la actividad nitrificante.

Tabla 3. Parámetros metabólicos y cinéticos de los cultivos nitrificantes

Etapa	E% NH ₄ ⁺	YNO ₃ ⁻	YNO ₂ ⁻	qNH ₄ ⁺	qNO ₃ ⁻	qNO ₂ ⁻
S-II (N)	91 ± 3	0.79 ± 0.02	0.21 ± 0.01	84 ± 4.5	88 ± 3.5	4 ± 0.5
S-II (N+C)	76 ± 3	0.69 ± 0.02	0.38 ± 0.01	72 ± 3	75 ± 2	6.7 ± 1.1
S-III (N)	90 ± 4	0.72 ± 0.03	0.30 ± 0.01	41 ± 5	31 ± 4	6.4 ± 1.3
S-III (N+C)	97 ± 3.5	0.19 ± 0.01	0.75 ± 0.01	31 ± 2	2.6 ± 0.02	8.7 ± 2
S-IV (N)	95 ± 3	0.00 ± 0.00	0.95 ± 0.02	41 ± 3.5	0.00 ± 0.00	40 ± 2
S-IV (N+C)	95 ± 3.7	0.00 ± 0.00	0.91 ± 0.03	37 ± 2	0.00 ± 0.00	45 ± 5.2

En los cultivos en lote de la actividad nitrificante con fuente de carbono (S-III (N + C)) (Figura 11), el amonio se consumió durante todo el período de incubación, alcanzándose una eficiencia de remoción de 97%. La producción de nitrato fue baja, con un rendimiento de 0.19 ± 0.01. En estas condiciones ambientales, el nitrito fue el principal producto final, con un rendimiento de 0.75 ± 0.01. La velocidad específica de consumo de amonio fue de 31 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mientras que la velocidad de producción de nitrato fue de 8.7 mg N-NO₃⁻/g SSV d (Figura 11). En este estudio, la eliminación de amonio fue mayor; sin embargo, el producto principal fue nitrito en lugar de nitrato. Los resultados experimentales sugirieron que la presencia de compuestos tóxicos en el agua residual industrial inhibió el paso de la oxidación de nitrito a nitrato. Estos resultados concordaron con los resultados observados en el biorreactor híbrido, en modo continuo, donde se produjo una nitrificación parcial en el módulo de los lodos activados, siendo el nitrito el principal producto final de la nitrificación.

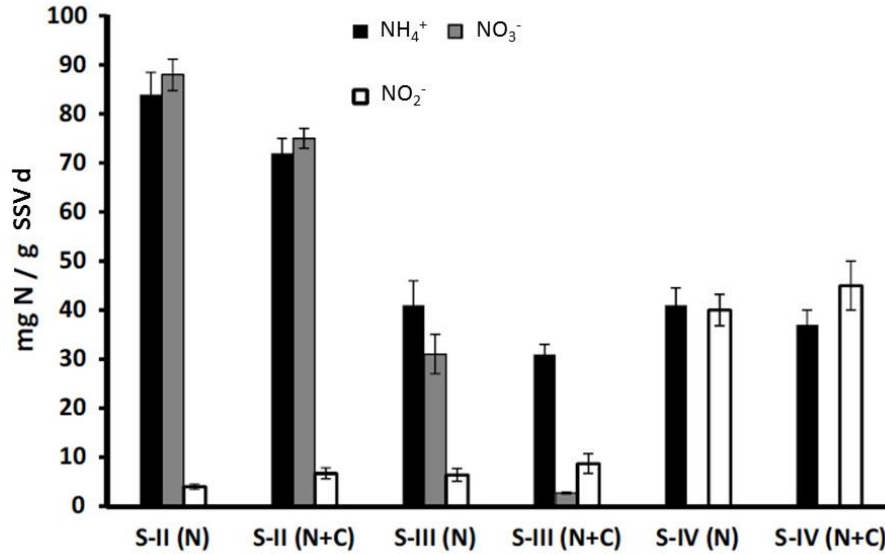


Figura 11. Actividad Nitrificante de los lodos activados.

En los cultivos en lote (S-IV (N)), el amonio se oxidó a nitrito, principalmente, con una eficiencia de consumo de 95%, y no se detectó nitrato (Tabla 3). Al final de los cultivos en lote, el rendimiento de nitrito fue de 0.95 ± 0.02 , lo que indicó que el amonio consumido se oxidó solamente a nitrito. El amonio se consumió a la velocidad específica de 41 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mientras que el nitrito se produjo a 40 mg N-NO₂⁻/g SSV-d (Figura 11, Tabla 3). Estos resultados experimentales mostraron que el incremento de la carga orgánica alimentada al biorreactor híbrido aumentó el daño en el lodo activado, ya que la cinética y el metabolismo de la actividad nitrificante se alteraron, ya que no se produjo nitrato. Por otro lado, en los cultivos en lote (S-IV (N + C)), la eliminación de amonio fue de 95%, siendo el principal producto final el nitrito, con un rendimiento de 0.91 ± 0.03 . El consumo de amonio y las velocidades específicas de producción de nitrito fueron similares a los cultivos en lote de (S-IV (N)). Estos estudios cinéticos mostraron claramente que la alta concentración de materia orgánica y la complejidad química del agua residual industrial evaluadas en el presente trabajo inhibieron fuertemente el paso de la oxidación de nitrito a nitrato.

3.4. Conclusiones

El reactor híbrido tipo carrusel mostró la capacidad potencial de acoplar procesos biológicos para la eliminación simultánea de materia orgánica y amonio. La biodegradación de la DQO y amonio se produjo en múltiples pasos, dependiendo de las condiciones ambientales proporcionadas en cada módulo. La composición química compleja de las aguas residuales influyó en los procesos biológicos involucrados; por ejemplo, con agua residual sintética, se eliminaron el amonio y la DQO mediante nitrificación, actividad heterotrófica, desnitrificación y metanogénesis; sin embargo, con el agua residual industrial, el amonio y la DQO se eliminaron mediante nitrificación parcial, actividad heterotrófica y desnitrificación. Finalmente, el uso de un reactor híbrido multi-modular podría ser una tecnología factible para el tratamiento de aguas residuales industriales de composición química compleja.

CAPITULO IV

Influencia del metronidazol en la actividad de un lodo activado

RESUMEN

El objetivo se centró en cómo influye el metronidazol en la cinética y comportamiento metabólico de la nitrificación y la actividad heterotrófica de un lodo activado, en cultivos lote. Se evaluaron ocho concentraciones de metronidazol en el intervalo de 5 a 100 mg/L, en presencia de $2,109 \pm 129$ mg SSV/L. El incremento de la concentración inicial de metronidazol causó una disminución en las eficiencias de eliminación de DQO y de amonio, los rendimientos de producción de nitrato, así como en las velocidades específicas de consumo del sustrato. El metronidazol (MDZ) presentó un mayor impacto sobre la actividad heterotrófica con respecto a la actividad nitrificante; además, presentó también un mayor efecto inhibitorio sobre la oxidación de nitrito con respecto a la oxidación del amonio. El lodo activado no presentó capacidad metabólica para biotransformar el metronidazol, sin embargo, el compuesto azol sí afectó significativamente la fisiología de esta. El perfil cinético se ajustó al modelo de inhibición del tipo no-competitivo ($q_{\max} = 120$ mg N-NH₄⁺ consumido/g SSV-d, y $K_i = 41.5$ mg MDZ/L), y la concentración de metronidazol inicial que inhibió el 50% de la actividad nitrificante (IC₅₀) fue de 43 mg MDZ/L.

Los resultados de este capítulo se publicaron en la revista *Environmental Technology* con título "Influence of metronidazole on activated sludge activity", 2020. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1714746>

4.1. Introducción

El destino de los compuestos farmacéuticos en los cuerpos receptores de agua se considera un riesgo potencial para los organismos acuáticos y al ser humano. Los compuestos farmacéuticos se consideran como uno de los contaminantes emergentes más importantes en la última década (Ahmed *et al.*, 2017; Aboudalle *et al.*, 2018). En las aguas residuales farmacéuticas, la concentración detectada de compuestos emergentes es de aproximadamente 100 mg/L (Nasseh *et al.*, 2016). Estos contaminantes emergentes se introducen al medio ambiente principalmente a través de las descargas de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs). Las PTARs que usan procesos biológicos han sido diseñados para eliminar la materia orgánica biodegradable y compuestos de nitrógeno, pero los contaminantes emergentes no se pueden eliminar por completo, debido a las características recalcitrantes (Suarez *et al.*, 2010).

El metronidazol es uno de los fármacos más utilizados en el mundo, está dentro de los 100 fármacos más recetados en los Estados Unidos, y es uno de los 10 fármacos más usados durante el periodo de embarazo (Thapa *et al.*, 1998; Bendesky *et al.*, 2002). El metronidazol se usa comúnmente en medicina humana y veterinaria con propiedades antibacteriana y antiparasitaria (Ali *et al.*, 2019). El metronidazol se ha detectado en PTARs a concentraciones de nanogramos a miligramos por litro (Ahmadzadeh *et al.*, 2018). Por ejemplo, niveles tan altos como 34 mg/L de metronidazol se detectaron en el efluente de la PTAR de una empresa de fabricación de productos farmacéuticos en Lagos, Nigeria (Yakubu *et al.*, 2017). El metronidazol tiene una baja degradabilidad debido a la estructura química, por lo que su propiedad química hace que su eliminación por sistemas biológicos convencionales sea muy difícil y a veces imposible (Nasseh *et al.*, 2016). En la literatura hay información acerca de la eliminación del metronidazol por tratamientos fisicoquímicos y avanzados tales como: carbón activado, Fenton-reacción, electrocoagulación y oxidación electroquímica. Por ejemplo, las eficiencias de eliminación alcanzadas por tratamientos avanzados son mayores al 78% (Aboudalle *et al.*, 2018; Ahmadzadeh *et al.*, 2018; Çalişkan *et al.*, 2010; Shemer *et al.*, 2006). La degradación del metronidazol por procesos biológicos aerobios en el tratamiento de aguas es aún escasa en la literatura (Krzeminski *et al.*, 2019).

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Cultivos en lote

Los cultivos en lote se realizaron en matraces Erlenmeyer de 500 ml con un volumen operacional de 400 ml. El medio mineral que se empleó fue el siguiente: 500 mg de DQO-glucosa/L, 50 mg N-NH₄⁺/L, 270 mg KH₂PO₄/L, 350 mg K₂HPO₄/L, 1 000 mg de NaHCO₃/L y 0.5 ml/L de una solución de elementos traza (Velasco-Garduño *et al.*, 2018). Los cultivos de sorción se realizaron usando lodos esterilizados, y se probaron las ocho concentraciones de metronidazol (5-100 mg/L). Los cultivos en lote se inocularon con 2,109 ± 129 mg SSV/L de lodos activados tomados de una planta de tratamiento de aguas residuales industriales con una actividad nitrificante inicial de 72 ± 5 mg N-NH₄⁺/g SSV-d. El pH de los cultivos en lote se amortiguó a 7.01 ± 0.02, debido a la presencia del bicarbonato de sodio, el cual fue verificado por mediciones de pH al final del tiempo de reacción (10 h de período de incubación). Los cultivos en lote se airearon continuamente con el fin de proporcionar y mantener la concentración de oxígeno disuelto a 6.3 ± 0.4 mg/L. Los cultivos en lote se llevaron a cabo por duplicado a una temperatura de 20 ± 2 °C.

Los cultivos nitrificantes (solamente amonio) y cultivos nitrificantes/heterotrófico (amonio + DQO) sin metronidazol, se llevaron a cabo como los cultivos control. Las concentraciones iniciales de amonio y DQO fueron de 50 mg N/L y 500 mg/L, respectivamente. Las variables de respuesta para evaluar el proceso biológico fueron: 1) Las velocidades específicas (q ; mg sustrato consumido o producto/g SSV-d), las cuales se calcularon usando el modelo de Gompertz (Origen 8.0, OriginLab, Inc. ®) (González-Blanco *et al.*, 2012), con coeficientes de determinación (R^2) mayores que 0.97 para todas las velocidades específicas calculadas, 2) eficiencias de eliminación [(((sustrato inicial - sustrato final) / sustrato inicial)) X 100%], y 3) los rendimientos de producto (mg N-NO₃⁻ o N-NO₂⁻ producido/mg N-NH₄⁺ consumido).

La concentración de metronidazol que causa una disminución del 50% en la actividad nitrificante en comparación con un control sin inhibición se estableció como el IC₅₀. Este

valor se calculó por interpolación en el gráfico de la inhibición nitrificante observada (%) versus concentración del inhibidor (Ecuación 11). El perfil se ajustó a un modelo polinomial (grado 2) con coeficiente de determinación (R^2) de 0.99. El modelo de inhibición no competitiva linealizado se usó para calcular la constante de inhibición (k_i), véase la ecuación 12 (Segel, 1993).

$$SAC(\%) = \frac{SAC_i}{SAC_0} * 100 \quad (11)$$

Donde; SAC (%) es el porcentaje de actividad inhibida, SAC_i es la actividad en presencia de MDZ, y SAC_0 es el control de actividad en ausencia de MDZ.

$$q'_{max} = q_{max} \frac{K_i}{K_i + C_i} \quad (12)$$

Donde;

q_{max} velocidad máxima de consumo de amonio

q'_{max} velocidad específica ($\frac{mg\ N-NH_4^+ \text{ consumido}}{g\ SSV-d}$) en presencia del inhibidor

C_i concentración del inhibidor (mg MDZ/L)

K_i constante de inhibición (mg MDZ/L)

4.2.2. Métodos Analíticos

El amonio se analizó mediante un electrodo selectivo (HANNA HI 4101). La demanda química de oxígeno soluble (DQO_s) se determinó mediante el método de reflujo cerrado (Pittwell, 1983). El nitrito y el nitrato se analizaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) (PerkinElmer serie 200), utilizando una columna de intercambio iónico y un detector de UV a 214 nm, utilizando la columna IC-Pak Anion HC, 4.6 x 150 mm. La concentración de oxígeno disuelto se determinó mediante un electrodo selectivo (HANNA, HI 98186). Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determinaron de acuerdo con los métodos estándar para la examinación de agua y aguas residuales

(APHA/AWWA/WEF 2005). El metronidazol se determinó mediante espectrofotometría UV-VIS a 319 nm (HANNA 500).

4.3. Resultados y Discusión

4.3.1. Cultivos control

Inicialmente, las pruebas de sorción se realizaron utilizando lodos previamente esterilizados con la finalidad de evaluar la capacidad del lodo activado para adsorber metronidazol. Al final del período de incubación de todos los cultivos en lote, aproximadamente el 98% del metronidazol se recuperó en el medio líquido, lo que sugirió que el fenómeno de sorción fue mínimo.

Los cultivos nitrificantes y los cultivos nitrificantes/heterotrófico sin metronidazol se llevaron a cabo como los cultivos control. En la Figura 12-A se muestra el perfil de los compuestos de nitrógeno de la nitrificación, donde se observó una eficiencia de eliminación de amonio de $80 \pm 2.8\%$, con una velocidad específica de 118 ± 5 mg N-NH₄⁺ consumido/g SSV-d. El nitrato fue el producto final, con un rendimiento de 0.80 ± 0.13 mg N-NO₃⁻/mg N-NH₄⁺ consumido (Tabla 4). El resto del nitrógeno de amonio consumido se recuperó como nitrito, con rendimiento de 0.22 ± 0.01 mg N-NO₂⁻/mg N-NH₄⁺ consumido. En la Tabla 4, se puede observar que el nitrógeno de amonio consumido se recuperó completamente como nitrógeno de nitrato y nitrito en función de los valores de rendimiento, lo que sugiere que el amonio se eliminó mediante el proceso biológico. Por lo tanto, estos resultados descartan la pérdida de nitrógeno en forma de amoniaco por arrastre (stripping).

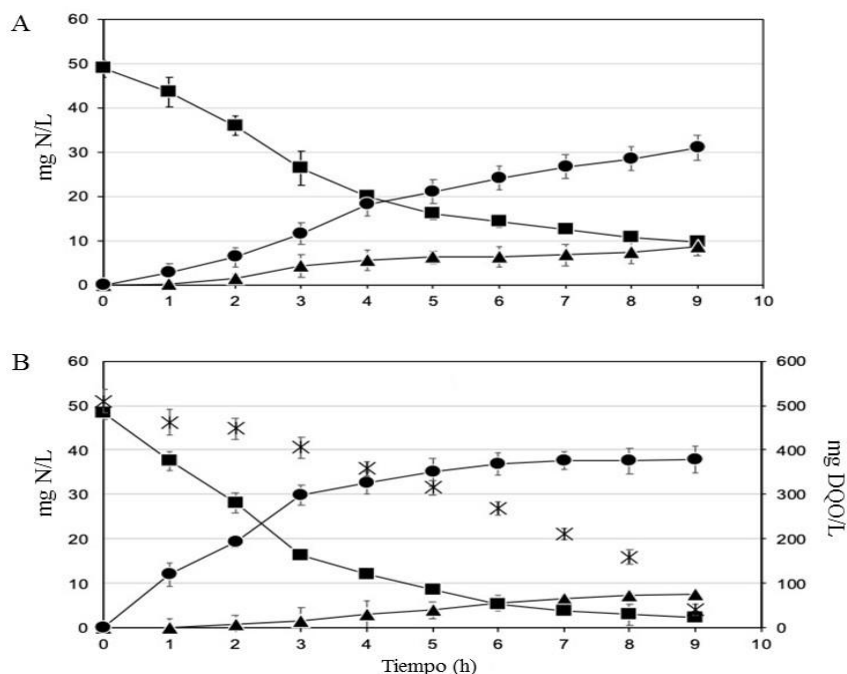


Figura 12. Perfil de los cultivos control: A) nitrificante y B) nitrificante/heterotrófico. (■) Amonio, (●) Nitrato, (▲) Nitrito, (×) DQO.

Tabla 4. Eficiencias de eliminación (%) y rendimientos de producción en los cultivos nitrificantes en presencia de metronidazol.

MDZ (mg/L)	N-NH ₄ ⁺ (%)	Y N-NO ₃ ⁻	Y N-NO ₂ ⁻
0	80 ± 9.8	0.80 ± 0.13	0.22 ± 0.01
5	78 ± 7.5	0.26 ± 0.07	0.84 ± 0.07
10	74 ± 6.5	0.13 ± 0.07	0.84 ± 0.04
15	74 ± 7.2	0.12 ± 0.07	0.87 ± 0.06
20	72 ± 8.9	0.06 ± 0.04	0.93 ± 0.03
40	66 ± 5.1	0.00 ± 0.00	0.99 ± 0.01
60	57 ± 5.6	0.00 ± 0.00	0.99 ± 0.01
80	53 ± 5.5	0.00 ± 0.00	0.98 ± 0.01
100	48 ± 9.1	0.00 ± 0.00	0.98 ± 0.01

En la Figura 12-B se puede observar que la DQO se consumió desde el principio, con una eficiencia de eliminación de 92 ± 1.43% (Tabla 5). La materia orgánica se consumió a una velocidad específica de 535 ± 33.3 mg DQO/g SSV-d. El amonio se consumió en 95 ±

0.01%, con una velocidad específica de consumo de 115 ± 0.9 mg N-NH₄⁺/g SSV-d. El nitrato fue el producto final, con un rendimiento de 0.83 ± 0.01 mg N-NO₃⁻/mg N-NH₄⁺ consumido. La velocidad específica de producción de nitrato fue 2.7 veces más rápida con respecto al control nitrificante, siendo de 111 ± 5.7 mg N-NO₃⁻/g SSV-d (Tabla 5). Las bacterias nitrificantes y heterotróficas pueden coexistir y mantener altas eficiencias de eliminación de contaminantes, pero depende de las condiciones ambientales impuestas como la relación DQO/N, concentración de oxígeno disuelto, presencia de inhibidores, entre otros. Por ejemplo, Fajri *et al.* (2018) mostró que una alta aireación mejoró la eliminación simultánea de amonio y DQO, e incrementó la producción de nitrato. Las bacterias nitrificantes y heterotróficas también pueden coexistir en las mismas condiciones de cultivo, incluso cuando no se suministra la materia orgánica. Por ejemplo, algunas bacterias nitrificantes son capaces de producir productos microbianos orgánicos solubles, que favorecen la proliferación del crecimiento heterotrófico (Rittmann *et al.*, 1994; Kindaichi *et al.*, 2004).

Tabla 5. Eficiencias de remoción del amonio y DQO, y los rendimientos de producción en los cultivos nitrificantes/heterotróficos en presencia de metronidazol

MDZ (mg/L)	E.R. DQO (%)	E. R. N-NH ₄ ⁺ (%)	Y N-NO ₃ ⁻	Y N-NO ₂ ⁻
0	92 ± 1.43	95 ± 0.01	0.83 ± 0.01	0.17 ± 0.01
5	85 ± 1.15	94 ± 0.17	0.75 ± 0.01	0.25 ± 0.01
10	83 ± 0.32	93 ± 0.20	0.74 ± 0.01	0.23 ± 0.01
15	77 ± 0.65	86 ± 3.04	0.72 ± 0.06	0.26 ± 0.03
20	73 ± 0.14	81 ± 1.03	0.55 ± 0.06	0.31 ± 0.01
40	68 ± 2.03	76 ± 4.67	0.00 ± 0.00	0.38 ± 0.06
60	49 ± 0.68	74 ± 2.82	0.00 ± 0.00	0.43 ± 0.02
80	47 ± 2.33	68 ± 1.78	0.00 ± 0.00	0.46 ± 0.02
100	33 ± 0.99	64 ± 0.98	0.00 ± 0.00	0.55 0.01

4.3.2. Efecto del metronidazol en la actividad nitrificante

La Figura 13 muestra los perfiles de las eficiencias de eliminación de amonio y los rendimientos de producto en presencia de 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80 y 100 mg/L de metronidazol. Al final de los cultivos en lote, el metronidazol en el medio líquido fue de 97%, lo que sugiere que el lodo activado no fue capaz de biotransformar el compuesto azol en el período de incubación evaluado. A una concentración de 5 mg/L de metronidazol, la eficiencia de eliminación de amonio no cambió significativamente en relación con el control nitrificante (Tabla 6). El metabolismo de la nitrificación cambió, ya que se observó una disminución en el rendimiento de nitrato, siendo de 0.26 ± 0.07 mg N-NO₃⁻/mg N-NH₄⁺ consumido, mientras que el rendimiento de nitrito aumentó a 0.84 ± 0.07 mg N-NO₂⁻/mg NH₄⁺ consumido.

En el estudio con 10 mg de MDZ/L, la eliminación de amonio fue de $74 \pm 1.5\%$ que representó una disminución del 7.5% con respecto al control nitrificante. El rendimiento de nitrato disminuyó a 0.13 ± 0.07 mg N-NO₃⁻/mg N-NH₄⁺ consumido, que representó una disminución del 84% con respecto al control. No obstante, el rendimiento de nitrito no cambió significativamente, siendo de 0.84 ± 0.04 mg N-NO₂⁻/mg N-NH₄⁺ consumido. En resumen, las eficiencias de eliminación de amonio y los rendimientos de nitrato disminuyeron, la producción de nitrito aumentó, conforme se incrementó la concentración inicial del metronidazol. Por otro lado, el metabolismo de la nitrificación se vio afectado fuertemente después de la concentración inicial de 40 mg MDZ/L, ya que la producción de nitrato cesó completamente.

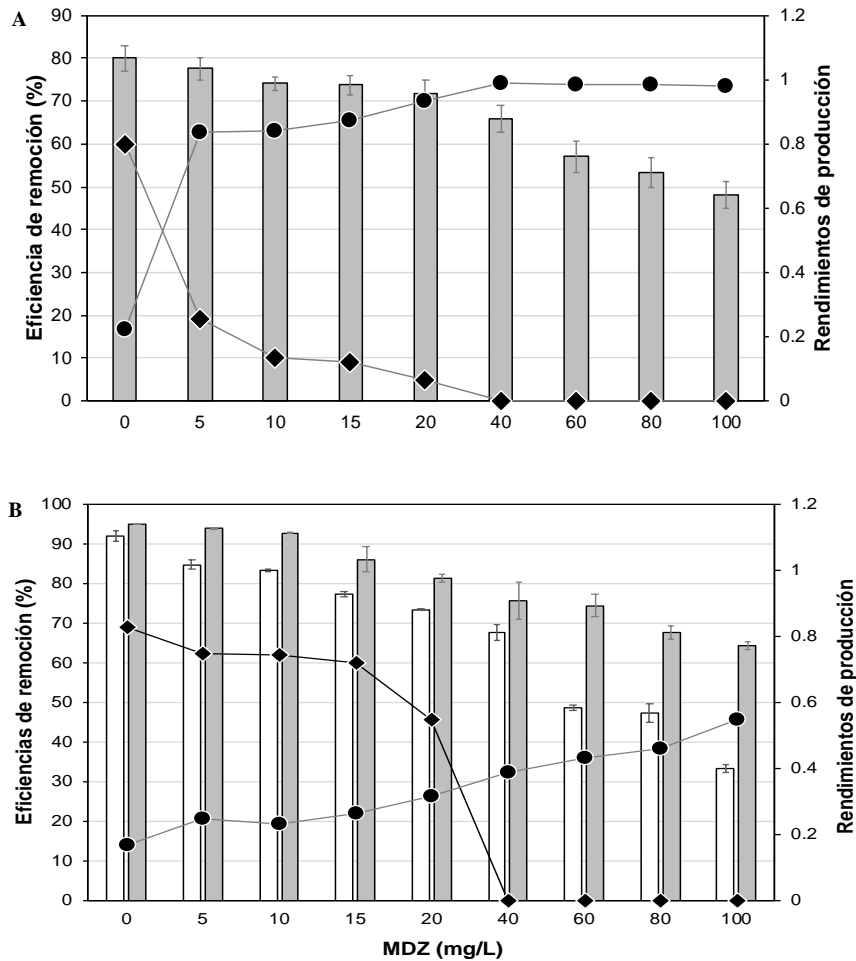


Figura 13. Perfiles de las eficiencias de consumo de amonio y DQO, así como de los rendimientos de producción en el cultivo nitrificante (**A**) y nitrificante/heterotrófico (**B**), en presencia del metronidazol. (■) remoción de amonio, (□) remoción de la DQO, (●) rendimiento de nitrito, y (◆) rendimiento de nitrato.

Respecto a la cinética de la nitrificación, el proceso biológico se vio afectado de manera significativa a la segunda concentración evaluada, que fue de 10 mg MDZ/L (Figura 14A; Tabla 6). A esta concentración de metronidazol, las velocidades específicas de consumo de amonio y la producción de nitrito no cambiaron significativamente con respecto al control. No obstante, la velocidad específica de producción de nitrato se vio afectada significativamente, ya que disminuyó en un 73% con respecto al control, siendo de 11 ± 4.1 mg N-NO₃⁻/g SSV-d (Tabla 6). La tendencia en las velocidades específicas de producción de nitrato fue a la baja, lo que sugiere una fuerte inhibición en la enzima nitrito óxido-reductasa

(Figura 14-A). El efecto inhibitor de metronidazol fue más pronunciado en la oxidación de nitrito que la oxidación de amonio. Por ejemplo, el metronidazol requiere cruzar la pared celular como un requisito previo para su activación química; además de que requiere bajos potenciales con el fin de ser reducido, alrededor de - 450 mV (Dokianakis *et al.*, 2004). Una vez que el metronidazol está dentro de la célula, se reduce rápidamente en un radical libre nitroso; en este estado químico es altamente tóxico y puede dañar la molécula de ADN de la bacteria anaerobia (Kurian *et al.*, 2018). Por otro lado, los bajos potenciales no se encuentran en condiciones aerobias, por lo tanto, los potenciales redox con valores positivos están evitando la reducción de metronidazol, y por lo tanto su alta toxicidad. Sin embargo, las bacterias aerobias como un mecanismo de resistencia podrían modificar la permeabilidad de la membrana para evitar la absorción de los compuestos nitroimidazoles, sino que también impide la absorción de otras moléculas esenciales que son muy importantes para la vida celular (Edwards, 1980).

Tabla 6. Velocidades específicas de la actividad nitrificante en presencia del metronidazol

MDZ (mg/L)	q N-NH ₄ ⁺	q N-NO ₃ ⁻	q N-NO ₂ ⁻
0	118 ± 10	41 ± 14	26 ± 8.7
5	110 ± 06	38 ± 12	23 ± 10
10	100 ± 10	11 ± 4.1	25 ± 12.3
15	94 ± 13.2	9 ± 5.7	35 ± 9.0
20	84 ± 9.6	4 ± 1.5	49 ± 11
40	57 ± 6.4	0.00 ± 0.00	57 ± 5.9
60	49 ± 6.8	0.00 ± 0.00	49 ± 7.0
80	42 ± 0.2	0.00 ± 0.00	42 ± 2.0
100	48 ± 16.6	0.00 ± 0.00	46 ± 14.2

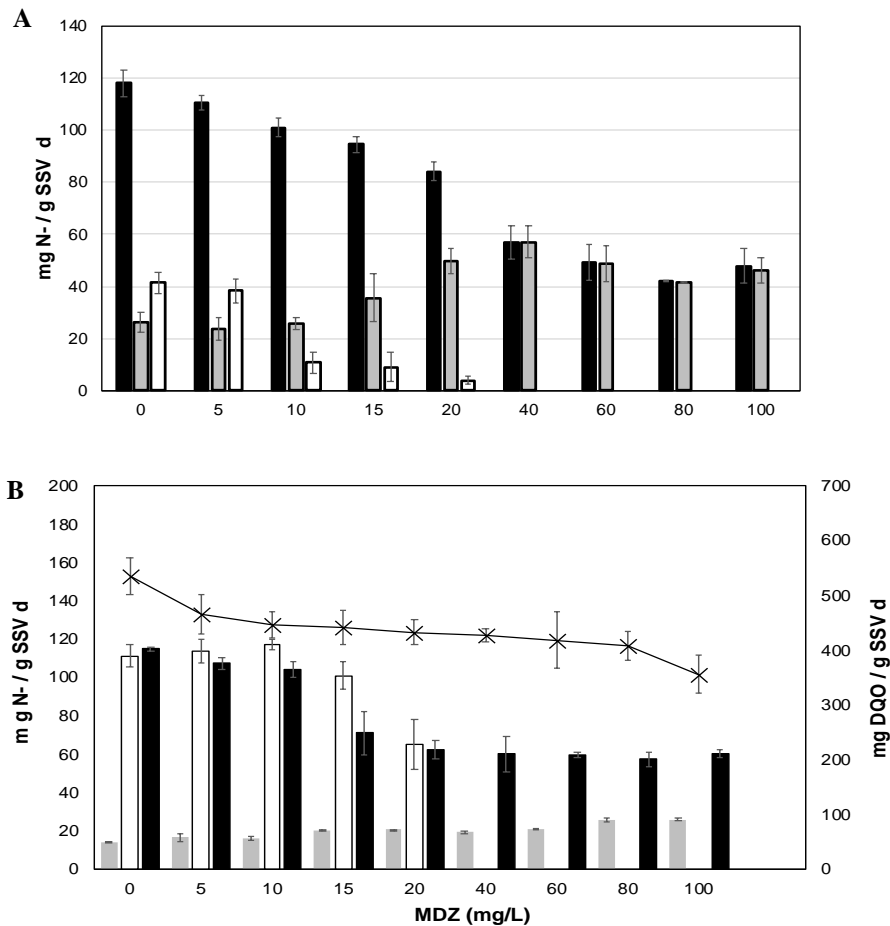


Figura 14. A) Cinética de la actividad nitrificante en presencia de metronidazol. **B)** Cinética de la actividad nitrificante/heterotrófica en presencia de metronidazol. (■) velocidad de consume de amonio, (▣) velocidad especifica de producción de nitrito, (□) velocidad especifica de producción de nitrato, (×) velocidad de consumo de la DQO.

El modelo de inhibición no competitivo se ajustó bien a los datos experimentales, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.99. El q_{max} obtenido fue de 120 mg N-NH₄⁺ consumido/g SSV-d, mientras que la constante de inhibición (K_i) fue de 41.5 mg MDZ/L. En literatura es escasa la información acerca de las constantes de inhibición de los contaminantes emergentes. Por ejemplo, Dokianakis *et al.* (2004) evaluaron siete productos farmacéuticos sobre la actividad nitrato de oxidante, con valores de K_i para ofloxacina, sulfametoxazol y triclosan de 12, 13.8 y 0.045 mg/L, respectivamente, siendo el triclosan el inhibidor más fuerte. Por otra parte, los otros contaminantes, tales como el propranolol, diclofenaco,

carbamazepina y clofibrato causaron una inhibición de menor grado. La oxidación de nitrito, el segundo paso de la nitrificación es muy sensible y su inhibición también ha sido reportado por la presencia de otro tipo de contaminantes. Por ejemplo, el sulfuro y la anilina se han reportado como inhibidores fuertes en el proceso de nitrificación, dando valores de K_i para la oxidación de amonio de 2.54 y 3.3 mg/L, respectivamente (Khin *et al.*, 2002; Bejarano-Ortiz *et al.*, 2013). Para el cálculo de la IC_{50} , los datos experimentales se ajustaron a un modelo polinomial de grado 2 ($R^2 = 0.99$) [Figura 14]. El valor de IC_{50} calculado fue de 43 mg MDZ/L. El valor de K_i obtenido a partir del modelo de inhibición no competitivo fue de 41.5 mg MDZ/L, que fue muy cercano al IC_{50} .

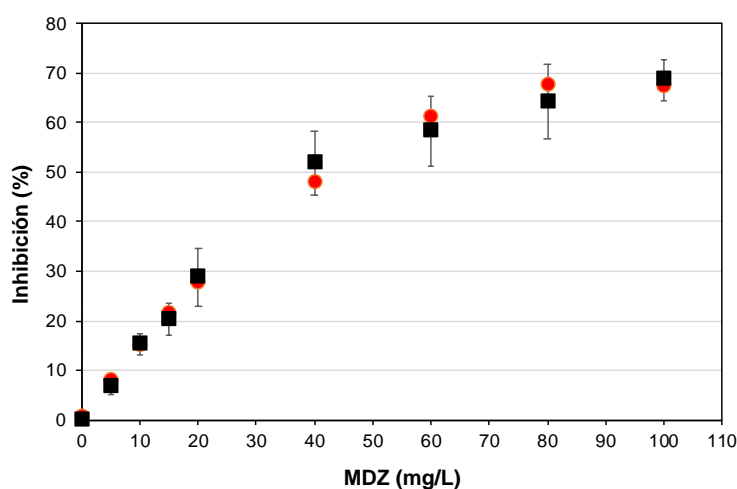


Figura 14. Perfil del porcentaje de inhibición de la actividad nitrificante. (■) datos experimentales (●) ajuste del modelo polinomial.

4.3.3. Efecto del metronidazol en el cultivo nitrificante/heterotrófico

En plantas de tratamiento de aguas residuales que usan sistemas de lodos activados o aireación extendida, la nitrificación y la actividad heterotrófica son necesarias para la degradación del amonio y la materia orgánica. Por esta razón, se evaluó la influencia del metronidazol en ambas actividades. La Figura 13B muestra el perfil de la DQO y las eficiencias de eliminación de amonio, así como los rendimientos de producto. En el estudio con 5 mg de MDZ/L, la eficiencia de eliminación de la DQO disminuyó con respecto al control nitrificante/heterotrófico, mientras que la eficiencia de eliminación de amonio no cambió significativamente (Tabla 5). El rendimiento de producción de nitrato también

disminuyó, siendo de 0.75 ± 0.01 mg N-NO₃⁻/mg N-NH₄⁺ consumido. El nitrito se acumuló con un rendimiento de 0.25 ± 0.01 mg N-NO₂⁻/mg N-NH₄⁺ consumido. A 10 mg de MDZ/L evaluado, la eficiencia de eliminación de DQO fue de $83 \pm 0.32\%$, mostrando una disminución de 9.8% con respecto al control. En el caso del amonio, éste se eliminó en un $93 \pm 0.20\%$, mostrando una ligera disminución de 2.1% con respecto al control. Los resultados experimentales indicaron que la eliminación de la DQO se vio más afectada con respecto a la eliminación de amonio, bajo estas condiciones de cultivo. En contraste, se observó un comportamiento opuesto para el perfil del nitrito, logrando un incremento y alcanzando un rendimiento de 0.55 ± 0.01 mg N-NO₂⁻/mg N-NH₄⁺ consumido (Tabla 5).

Tabla 9. Resultados cinéticos de los cultivos nitrificante/heterotrófico en presencia de metronidazol.

MDZ (mg/L)	q COD	q NH ₄ ⁺	q NO ₃ ⁻	q NO ₂ ⁻
0	535 ± 33.4	115 ± 0.9	111 ± 5.7	14 ± 0.3
5	466 ± 35.50	107 ± 3.0	114 ± 6.1	17 ± 2.0
10	446 ± 24.7	104 ± 4.0	117 ± 2.9	16 ± 1.0
15	442 ± 31.5	71 ± 11.7	101 ± 7.1	20 ± 0.2
20	432 ± 22.90	62 ± 5.1	65 ± 13.2	21 ± 0.1
40	427 ± 11.34	60 ± 9.3	0.00 ± 0.00	19 ± 0.7
60	418 ± 51.7	60 ± 1.3	0.00 ± 0.00	21 ± 0.3
80	408 ± 27.0	57 ± 3.8	0.00 ± 0.00	26 ± 1.0
100	356 ± 35.4	60 ± 2.0	0.00 ± 0.00	26 ± 0.8

La cinética de la nitrificación y la actividad heterotrófica se vieron afectadas negativamente por la presencia del metronidazol (Figura 14-B). Por ejemplo, a 5 mg de MDZ/L la DQO se oxidó a una velocidad específica de 466 ± 35.4 mg MDZ/g SSV-d, y el amonio se consumió a una velocidad específica de 107 ± 3.0 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mostrando una disminución de 12.9% y 7%, respectivamente, con respecto al control (Tabla 9). A 10 mg de MDZ/L, la DQO se consumió a una velocidad específica de 446 ± 14.7 mg/g SSV-d, y el amonio se consumió a una velocidad específica de 104 ± 4.0 mg N-NH₄⁺/g SSV-d, mostrando una disminución de 16.6% y 9.6% respectivamente, con respecto al control. En resumen, las eficiencias de eliminación de la DQO y del amonio fueron en declive conforme

se incrementó la concentración inicial del metronidazol. En cuanto al comportamiento cinético, las velocidades de producción de nitrato fueron disminuyendo mientras que las velocidades de producción de nitrito fueron aumentando. Los resultados experimentales sugirieron nuevamente que el metronidazol tuvo un efecto negativo en la etapa de oxidación de nitrito, incluso en presencia de materia orgánica.

La ruta bioquímica de la nitrificación requiere necesariamente de un control enzimático para completar la ruta. El primer paso de la nitrificación es catalizado por la enzima amonio monooxigenasa (AMO), la enzima monooxigenasa posee cobre que permite la oxidación del amonio a nitrito a través de hidroxilamina (NH_2OH). La AMO también es capaz de oxidar parcialmente un amplio grupo de compuestos orgánicos, tales como alquenos, metanol, hidrocarburos halogenados y compuestos aromáticos (Lancaster *et al.*, 2018). El último paso de la nitrificación es la oxidación del nitrito (NO_2^-) a nitrato (NO_3^-) llevado a cabo por las bacterias nitrito oxidantes (NOB) que dependen de la enzima nitrito oxidorreductasa (NORe). La NORe constituye del 10 a 30% de la proteína total en la membrana celular (Lancaster *et al.*, 2018). Por ejemplo, se observó en las bacterias *Nitrobacter hamburgensis* tres enzimas principales con pesos másicos de 116, 65 y 32 kDa. La subunidad 116 kDa contiene un cofactor de molibdeno, que actúa en el sitio de unión con el sustrato para activar la enzima (Lücker *et al.*, 2010). Los cofactores (iones metálicos) o elementos traza son esenciales para la activación de las enzimas con el fin de llevar a cabo con éxito la vía bioquímica de la nitrificación. Ali *et al.* (2019) observaron que el metronidazol tiene el potencial para quelar diferentes metales, tales como el manganeso, hierro, cobalto, níquel, cobre, mercurio y cadmio. Por lo tanto, si los iones metálicos están siendo quelados esto evitaría su incorporación en la célula, generando que la vía bioquímica se detenga en algún punto de la ruta. En el presente trabajo, todos los cultivos en lotes mostraron más del 97% de la concentración del metronidazol en el medio líquido, durante todo el tiempo de reacción. Estos resultados experimentales sugieren que el metronidazol no cruzó la pared celular, pero algunas interacciones con la membrana celular o con los metales podrían estar ocurriendo. La oxidación de nitrito fue el paso bioquímico más afectado por el metronidazol; este paso bioquímico es catalizado por la NORe que depende de molibdeno.

Posiblemente la presencia del metronidazol queló el molibdeno, y de esta forma se afectó la actividad de la NOB.

Finalmente, el lodo activado no fue capaz de biotransformar el metronidazol en el período de incubación evaluado, sin embargo, el compuesto azol afectó significativamente la fisiología de esta. Los productos farmacéuticos son a menudo contaminantes muy persistentes a la biodegradación y su presencia en el agua residual cruda puede influir en el rendimiento de los procesos biológicos de la PTAR, como es el caso de la nitrificación (Dokianakis *et al.* 2004). Aunado a esto, hoy en día, se ha reportado que la presencia de compuestos antimicrobianos en las plantas de tratamiento aumenta significativamente los genes de resistencia de los microorganismos implicados en el tratamiento biológico, por lo que si las plantas depuradoras de aguas residuales no están funcionando correctamente van a actuar como lanzadores en la diseminación de bacterias resistentes en el medio ambiente, que podrían provocar diversos riesgos de carácter desconocido (Ju *et al.*, 2019).

4.4. Conclusiones

El metronidazol influyó en el comportamiento cinético y metabólico de la nitrificación y la actividad heterotrófica de los lodos activados. Durante el período de incubación, la degradación del compuesto emergente no se observó, sin embargo, sí inhibió las actividades biológicas, siendo más afectado el proceso heterotrófico con respecto al nitrificante. El paso bioquímico más afectado por metronidazol fue la actividad nitrificante, precisamente, la oxidación del nitrito, generando la acumulación de este. Por último, el perfil de la nitrificación expuesto a metronidazol se ajustó bien al modelo de inhibición no competitiva.

5. Conclusiones Generales

La Dinámica Computacional de Fluidos permitió la identificación de comportamientos anómalos dentro del reactor híbrido carrusel. El tiempo de residencia hidráulico presentó un efecto negativo en el comportamiento hidrodinámico del reactor, ya que a los tiempos de residencia hidráulicos bajos se observaron canalizaciones en los módulos anóxicos/anaerobios, mientras que a todos los tiempos de residencia hidráulicos evaluados se observaron recirculaciones internas en la interfase lodos activados/clarificador secundario. Las recirculaciones internas en la interfase lodos activados/clarificador secundario, se corrigieron mediante la instalación de una propela.

El reactor híbrido carrusel mostró la capacidad para el acoplamiento de varios procesos biológicos para la eliminación simultánea de materia orgánica y amonio. Al alimentarse con agua sintética, el amonio y la DQO se eliminaron mediante nitrificación, actividad heterotrófica, desnitrificación y metanogénesis; mientras, que, al ser alimentado con un agua residual industrial, el amonio y la DQO se eliminaron mediante nitrificación parcial, actividad heterotrófica y desnitrificación. El agua residual industrial inhibió la actividad metanogénica. Finalmente, el uso de un reactor híbrido multimodular podría ser una tecnología factible para el tratamiento de aguas residuales industriales de composición química compleja.

El metronidazol, contaminante emergente, influyó negativamente en la cinética y el metabolismo de las actividades nitrificantes y heterotróficas de un lodo activado, en cultivos lote. El incremento de la concentración de metronidazol disminuyó las eficiencias de eliminación de amonio y DQO, así como la producción de nitrato. Las velocidades específicas de consumo de amonio y DQO, así como las velocidades de producción específica de nitrato disminuyeron significativamente. El metronidazol afectó fuertemente la etapa de la oxidación del nitrito, ya que el incremento de la concentración inicial de metronidazol fue concomitante con el incremento de nitrito. El perfil nitrificante se ajustó al modelo de inhibición no competitiva, obteniéndose los siguientes parámetros cinéticos: q_{\max}

de 120 mg de N-NH₄⁺ consumido/g VSS-d, K_i de 41.5 mg MDZ/L, y un IC₅₀ de 43 mg MDZ/L.

6. Referencias

Aboudalle A., Djelal H., Fourcade F., Domergue L., Assadi A.A., Lendormi T., Taha S., Amrane A. (2018). Metronidazole removal by means of a combined system coupling an electro-Fenton process and a conventional biological treatment: By-products monitoring and performance enhancement, *J Hazard Mater.* 359: 85–95.

Adekunle, K. and Okolie, J. (2015) A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Advances in Biosci and Biotech.* 6: 205-212.

Ahmad R., Mondal PK., Usmani SQ. (2010). Hybrid UASFB-aerobic biorreactor for biodegradation of acid yellow-36 in wastewater. *Bioresour Technol.* 101: 3787–3790.

Ahmadzadeh S., Dolatabadi M. (2018). Electrochemical treatment of pharmaceutical wastewater through electrosynthesis of iron hydroxides for practical removal of metronidazole. *Chemosphere.* 212: 533–539.

Ahmed M.B., Zhou J.L., Ngo H.H., Guo W., Thomaidis N.S., Xu J. (2017). Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review. *J. Hazard. Mater.* 323: 274–298.

Akizuki S, Toda T. (2018). An anaerobic-aerobic sequential batch process with simultaneous methanogenesis and short-cut denitrification for the treatment of marine biofouling. *Waste Manag.* 74: 168–176.

Ali A.E., Elasala G.S., Ibrahim R.S. (2019). Synthesis, characterization spectral, thermal analysis and biological activity studies of metronidazole complexes, *J. Mol. Struct.* 1176: 673–684.

Ali I. (2012). New Generation Adsorbents for Water Treatment. *Chem Rev.* 112: 5073–5091.

Anderson Jr. J.D. (1995). *PART I. Basic Thoughts and Equations. Computational Fluids Dynamics, the Basics with Applications*. McGrall-Hill. 3 (12): 20-21.

Aonofriesei F., Petrosanu M. (2007). Activated sludge bulking episodes and dominant filamentous bacteria at wastewater treatment plant Constanța Sud (Romania). *Proc Rom Acad Ser B*. 9: 83–87.

APHA, AWWA and WEF (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Alexandria Banu JR, Kaliappan S, Beck D (2006) Treatment of sago wastewater using hybrid anaerobic reactor. *Water Qual Res J*. 41: 56–62.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., and Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog Energ Combust*. 34 (6): 755-781.

Azargoshasb H., Mohammad M. S., Jamialahmadi O., Abbas S. S., Babak M. S. (2016). Experiments and three-phase computational fluids dynamic (CFD) simulation coupled with population balance equations of a stirred tank biorreactor for high cell density cultivation. *The Canadian J Chem Eng*. 94: 20-32.

Banu J. R., Kaliappan S., Beck D. (2006). Treatment of Sago Wastewater Using Hybrid Anaerobic Reactor. *Water Qual. Res. J*. 41 (1): 56–62.

Bejarano-Ortiz D.I., Thalasso F., Cuervo-López F.M., Texier A.C. (2013). Inhibitory effect of sulfide on the nitrifying respiratory process. *J Chem Technol Biotechnol*. 88: 344–1349.

Bendesky A., Menéndez D., Ostrosky-Wegman P. (2002). Is metronidazole carcinogenic? *Mutat. Res. - Rev Mutat. Res*. 511: 133–144.

Beristain-Cardoso R., Texier A. C., Razo-Flores E., Méndez-Pampín R., Gómez J. 2009. Biotransformation of aromatic compounds from wastewater containing N and/or S, by nitrification/denitrification: a review. *Reviews Env Sci Biotech.* 8: 325-342.

Bitton, G. (2005). *Wastewater Microbiology*. 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken.

Blazek J. (2001). *Chapter I, Introduction. Computational Fluid Dynamics: Principles and Applications*. ELSEVIER. 1 (4): 34

Bock E., Koops HP., Harms H., Ahlers B. (1991). In variations in autotrophic life. In: Barton JM (ed) *The biochemistry of nitrifying organisms*. Academic Press, San Diego. 171–200.

Botheju D. and Bakke R. (2011). Oxygen effects in anaerobic digestion-a review. *Open Waste Manag J.* 4: 1-19

Çalışkan E., Göktürk S. (2010). Adsorption characteristics of sulfamethoxazole and metronidazole on activated carbon. *Sep Sci Technol.* 45: 244–255.

Chan YJ, Chong MF, Law CL, Hassell DG. (2009). A review on anaerobic– aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chem Eng J.* 155: 1–18.

Chianeh F.N., Parsa J.B. (2016). Electrochemical degradation of metronidazole from aqueous solutions using stainless steel anode coated with SnO₂ nanoparticles: Experimental design, *Rev Mex Urol.* 76: 424–432.

Corrales L., Antolinez D. M., Bohórquez J. A., Corredor A. M. (2015). Anaerobic bacteria: processes they perform and their contribution to life sustainability on the planet. *Nova, Bogotá.* 13 (24): 55-81.

Cuervo-López F., Martínez F., Gutiérrez-Rojas M., Loyola R.A., Gómez J. (1999). Effect of nitrogen loading rates and carbon source on denitrification sludge settles ability in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Water Sci Technol.* 40: 123-30.

Delafosse A., Collignon M. L., Calvo S., Delvigne F., Crine M., Thonart P. y Toye D. (2014). CFD-based compartment model for description of mixing in biorreactors. *Chem Eng Sci.* 106: 76-85.

Díaz-Marrero M. A., Dueñas-Moreno J., Cabrera-Díaz A. (2014). Estudio hidrodinámico de reactores empacados de flujo ascendente (REFA). *Ing Hidrául Ambient.* 35 (3): 101-108.

Díez-Montero R., De Florio L., González-Viar M., Herrero M., Tejero I. (2016). Performance evaluation of a novel anaerobic-anoxic sludge blanket reactor for biological nutrient removal treating municipal wastewater. *Biores Tech.* 209: 195-204.

Dokianakis SN, Kornaros ME, Lyberatos G. (2004). On the effect of pharmaceuticals on bacterial nitrite oxidation. *Water Sci. Technol.* 50: 341–346.

Donoso-Bravo, A., Retamal, C., Carballa, M., Ruiz-Filippi, G., and Chamy, R. (2009). Influence of temperature on the hydrolysis, acidogenesis and methanogenesis in mesophilic anaerobic digestion: parameter identification and modeling application. *Water Sci Technol.* 60 (1): 9-17.

Dorival-García N., Zafra-Gómez A., Navalón A., González-López J., Hontoria E., Vílchez J.L. (2013). Removal and degradation characteristics of quinolone antibiotics in laboratory-scale activated sludge reactors under aerobic, nitrifying and anoxic conditions, *J Environ Manage.* 120: 75–83.

Ebrahimifakhar M., Mohsenzadeh E., Moradi S., Moraveji M., Salami M. (2011). CFD simulation of the hydrodynamics in an internal air-lift reactor with two different configurations. *Chem Sci Eng.* 5 (4): 455-462.

Edwards D.I. (1980). Mechanisms of selective toxicity of metronidazole and other nitroimidazole drugs, *Sex. Transm Infect.* 56: 285–290.

Eikelboom, D. H. (1975). Filamentous organisms observed in activated sludge. *Water Res.* 9 (4): 365–388.

Evans, P. N., Boyd, J. A., Leu, A. O., Woodcroft, B. J., Parks, D. H., Hugenholtz, P., Tyson, G. W. (2019). An evolving view of methane metabolism in the Archaea. *Nature Rev Microbiol.* 17: 219–232

Fajri J.A., Fujisawa T., Trianda Y., Ishiguro Y., Cui G., Li F., Yamada T. (2018). Effect of Aeration Rates on Removals of Organic Carbon and Nitrogen in Small Onsite Wastewater Treatment System (Johkasou), In *MATEC Web of Conferences.* 147: 04008.

Fazli P., Man C. M., Md Shad U. K., Idris A. (2013). Characteristics of Methanogens and Methanotrophs in Rice Fields: A Review. *Asia-Pacific J. Mol Biol Biotechnol.* 21 (1): 3-17.

Fukuzaki, S., Nishio, N., Nagai, S. (1990). Kinetics of the methanogenic fermentation of acetate. *Appl Environ Microbiol.* 56 (10): 3158-3163.

Gelves R., Benavides A., Quintero J.C. (2013). Predicción del comportamiento hidrodinámico en el escalamiento de un reactor de tanque agitado para procesos aerobios, mediante CFD. *Rev Chil Ing.* 21 (3): 437-361.

González-Blanco G., Beristain-Cardoso R., Cuervo-López F., Cervantes F., Gómez J. (2012). Simultaneous oxidation of ammonium and p-cresol linked to nitrite reduction by denitrifying sludge. *Bioresour. Technol.* 103: 48–55.

Gunaseelan V. N. (1997). Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review. *Biomass Bioenerg.* 13: 83–114.

Hanaki K, Wantawin C, Ohgaki S (1990) Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in a suspended-growth reactor. *Water Res.* 24:289–296.

Informe. Diagnóstico Ambiental del Estado de México por Regiones Hidrográficas.
Documento en línea:
https://sma.edomex.gob.mx/sites/sma.edomex.gob.mx/files/files/sma_pdf_da_em_2007.pdf
Visitado el 13 de marzo de 2020

Jianlong W, Hanchang S, Yi Q (2000) Wastewater treatment in a hybrid biological reactor (HBR): effect of organic loading rates. *Process Biochem.* 36: 297–303.

Ju F., Beck K., Yin X., Maccagnan A., McArdell C.S., Singer H.P., Johnson D.R., Zhang T., Bürgmann H. (2019). Wastewater treatment plant, resistors are shaped by bacterial composition, genetic exchange, and upregulated expression in the effluent microbiomes, *ISME J.* 13:346.

Kassab G., Halalsheh M., Klapwijk A., Fayyad M. y van Lier J. B. (2010). Sequential anaerobic-aerobic treatment for domestic wastewater – A review. *Biores Technol.* 101: 3299-3310.

Khalili-Garakani A., Mehrnia M. R., Mostoufi N., Sarrafzadeh. M. H. (2011). Analyze and control fouling in an airlift membrane bioreactor: CFD simulation and experimental studies. *Process Biochem* 46:1138–1145.

Khin T., Gheewala S.H., Annachatre A.P. (2002). Modeling of nitrification inhibition with aniline in suspended-growth processes, *Water Environ. Res.* 74: 531–540.

Kim YM, Park D, Lee DS, Park JM (2008) Inhibitory effects of toxic compounds on nitrification process for cokes wastewater treatment. *J Hazard Mater.* 152: 915–921.

Kindaichi T., Ito T., Okabe S. (2004). Ecophysiological interaction between nitrifying bacteria and heterotrophic bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by microautoradiography-fluorescence in situ hybridization, *Appl Environ Microbiol.* 70: 1641–1650.

Klüber HD, Conrad R. (1998). Effects of nitrate, nitrite, NO and N₂O on methanogenesis and other redox processes in anoxic rice field soil. *FEMS Microbiol Ecol.* 25: 301–318.

Krause, L., Diaz, N. N., Edwards, R. A., Gartemann, K. H., Krömeke, H., Neuweger, H., Szczepanowski, R. (2008). Taxonomic composition and gene content of a methane-producing microbial community isolated from a biogas reactor. *J Biotechnol.* 136 (1-2): 91-101.

Krzeminski P, Tomei MC, Karaolia P, Langenhoff A, Almeida CMR, Felis E, Gritten F, Andersen HR., Fernandes T, Manaia LR., Fatta-Kassinos D. (2019). Performance of secondary wastewater treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern implicated in crop uptake and antibiotic resistance spread: A review. *Sci Total Environ.* 648: 1052-1081.

Kurian M., Ganapathy D., Jain A.R. (2018). Recent advances of metronidazole-A review, *Drug. Invent. Today.* 10: 3536–3541.

Lancaster K.M., Caranto J.D., Majer S.H., Smith M.A. (2018). Alternative bioenergy: updates to and challenges in nitrification. *Metalloenzymology. Joule.* 2: 421–441.

Liu Y, Shi H, Xia L, Shi H, Shen T, Wang Z, Wang Y (2010) Study of operational conditions of simultaneous nitrification and denitrification in a Carrousel oxidation ditch for domestic wastewater treatment. *Bioresour Technol.* 101:901–906.

Lücker S., Wagner M., Maixner F., Pelletier E., Koch H., Vacherie B., Rattei T., Damsté J.S.S., Spieck E., Le Paslier D., Daims H. (2010). A *Nitrospira* metagenome illuminates the

physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria, *Proc Natl Acad Sci*. 107: 13479–13484.

Martins M.P., Pagillac K., Heijnen J., Van Loosdrecht C.M. (2004). Critical review Filamentous bulking sludge—a critical review. *Water Res*. 38: 793–817.

Mayhew M. and Stephenson T. (1997). Low Biomass Yield Activated Sludge: A Review. *Environ Tech*. 18 (9): 883-892

McClure D. D., Kavanagh J. M., Fletcher D. F., Barton G. W. (2016). Characterizing bubble column bioreactor performance using computational fluids dynamics. *Chem Eng Sci*. 144: 58-74.

Metcalf E, Eddy M. (2014). *Wastewater engineering: treatment and resource recovery*. McGraw-Hill, New York.

Mugan H. E, Mihelcic J. R. (2008). Sustainability of wastewater treatment technologies. *J Environ Manage*. 88: 437-447.

Nasr M, Elreedy A, Abdel-Kader A, Elbarki W, Moustafa M. (2014). Environmental consideration of dairy wastewater treatment using hybrid sequencing batch reactor. *Sustain Environ Res*. 24 (6): 449–456.

Nasseh I., Khodadadi M., Khosravi R., Beirami A., Nasseh N. (2017). Metronidazole removal methods from aquatic media: A systematic review. *Ann Mil Health Sci Res*. 14: 1–8.

Pacton, M., Fiet, N., & Gorin, G. E. (2007). Bacterial Activity and Preservation of Sedimentary Organic Matter: The Role of Exopolymeric Substances. *Geomicrobiol J*. 24 (7-8): 571–581.

Pastorelli G., Canziani R., Pedrazz L., Rozzi A. (1999). Phosphorus and nitrogen removal in moving-bed sequencing batch biofilm reactors. *Water Sci. Technol.* 40: 169–176.

Peng Y, Gao C, Wang S, Ozaki M, Takigawa A (2003) Non-filamentous sludge bulking caused by a deficiency of nitrogen in industrial wastewater treatment. *Water Sci Technol.* 47: 289–295.

Pérez-Alfaro JE., Buitrón G., Gomez J., Texier AC., Cuervo-López F. M. (2013). Kinetic and physiological evaluation of ammonium and nitrite oxidation processes in presence of 2-chlorophenol. *Appl Biochem Biotechnol.* 169: 990–1000.

Pérez-González D., Gómez J., Beristain-Cardoso R. (2012). Biological removal of p-cresol, phenol, p-hydroxybenzoate and ammonium using a nitrifying continuous-flow reactor. *Bioresour Technol.* 120: 194–198.

Pittwell L (1983) Standard COD. *Chem Br.* 19: 907.

Pipes, W. O. (1968). Bulking of Activated Sludge. *Advances in Appl Microbiol.* 185–234.

Rathore A. S., Sharma C., Persad A. (2011). Use of Computational Fluid Dynamics as a Tool for Establishing Process Design Space for Mixing in a Biorreactor *Biotechnol Prog.* 28 (2): 382-391.

RECICLAGUA. Visita de la página: <http://reciclagua.edomex.gob.mx>, visto el 13 de marzo de 2020.

Rittmann B.E., Regan J.M., Stahl D.A. (1994). Nitrification as a source of soluble organic substrate in biological treatment, *Water Sci Technol.* 30: 1–8.

Rücker C, Mahmoud WM, Schwartz D, Kümmerer K. (2018). Biodegradation tests of mercaptocarboxylic acids, their esters, related divalent sulfur compounds and mercaptans. *Environ Sci Pollut Res.* 25: 18393–18411.

Sanchez, E., Borja, R., Weiland, P., Travieso, L., Martín, A. (2001). Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of piggery waste in a tropical climate. *Process Biochem*, 37 (5): 483-489.

Segel I.H. (1993). *Enzyme kinetics: behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems*, New Ed edition, Wiley-Interscience.

Sharma B., Ahlert R.C. (1997). Nitrification and nitrogen removal. *Water Research.* 11 (10): 897-925

Sharma C., Malhotra D., Rathore A. S. (2011). Review of computational fluids dynamics applications in biotechnology processes. *Biotechnol Prog.* 27 (6): 1497-1510.

Shemer H., Kunukcu Y.K., Linden K.G. (2006). Degradation of the pharmaceutical Metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere* 63: 269–276.

Sponza DT. (2003). Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme Microb Technol.* 32: 375–385.

Suarez S., Lema J.M., Omil F. (2010). Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions, *Water Res.* 44: 3214–3224.

Terreros-Mecalco, J., Olmos-Dichara, A., Noyola-Robles, A., Ramírez-Vives, F., Monroy-Hermosillo, O. (2009). Digestión anaerobia de lodo primario y secundario en dos reactores UASB en serie. *Rev Mex Ing Quim.* 8 (2): 153-16

Texier A. C., Gómez J. (2002). Tolerance of nitrifying sludge to p-cresol. *Biotechnol Lett.* 24: 321-324.

Thapa P.B., Whitlock J.A., Brockman-Worell K.G., Gideon P., Mitchel Jr. E.F., Roberson P., Pais R., Ray W.A. (1998). Prenatal exposure to metronidazole and risk of childhood cancer, *Cancer.* 83: 1461–1468.

Van Schie PM, Young L.Y. (2000). Biodegradation of phenol: mechanisms and applications. *Bioremediat J.* 4: 1–18.

Velasco-Garduño O, Mendoza-Reséndiz A, Fajardo-Ortiz C, Beristain-Cardoso R. (2018). Simultaneous ammonia and organic matter removal from industrial wastewater in a continuous novel hybrid carousel bioreactor. *Int J Environ Sci Technol.* 16: 3429–3436

Von Sperling. (2007). *Activated Sludge and Aerobic Biofilm reactors, Volume Five.* Brazil, IWA Publishing.

Wang X., Dong J., Zhang G., Fu Q., Li H., Han Y., Tu J. (2019). The primary pseudo-shock pattern of steam ejector and its influence on pumping efficiency based on CFD approach. *Energy.* 167 (15): 224-234.

Wanner, J., & Grau, P. (1989). Identification of filamentous microorganisms from activated sludge: A compromise between wishes, needs and possibilities. *Water Res.* 23 (7): 883–891.

Wanner J. (1994). *Activated sludge: bulking and foaming control.* CRC Press, Boca Raton.

Yakubu O. H. (2017). Pharmaceutical wastewater effluent-Source of contaminants of emerging concern phytotoxicity of metronidazole to soybean (*Glycine max*). *Toxics.* 2: 5-2

Yang S, Yang F, Fu Z, Lei R (2009) Comparison between a moving bed membrane biorreactor and a conventional membrane biorreactor on organic carbon and nitrogen removal. *Bioresour Technol.* 100: 2369–2374.

Yenigün O., Demirel B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Proc Biochem.* 48 (5-6): 901-911.

Zhao YJ, Cheng P, Pei X, Zhang H, Yan C, Wang SB. (2013). Performance of hybrid vertical up- and downflow subsurface flow constructed wetlands in treating synthetic high-strength wastewater. *Environ Sci Pollut Res.* 20: 4886–4894.

Zhe L, Nana S, Taiwo A, William B. W. (2018). Methanogenesis. *Curr Biol.* 28 (13): 727-732.

Zheng M, Tian Y, Liu T, Ma T, Li L, Ahma M, Chen Q, Ni J. (2015). Minimization of nitrous oxide emission in a pilot-scale oxidation ditch: generation, partial variation and microbial interpretation. *Bioresour Technol.* 179: 510–517.

Zulueaga C. L., Naranjo N. L., Svojitka J., Wintgens T., Rodriguez M., Ratkovich N. (2015). CFD Simulation of an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) to treat industrial wastewater. *Rev Ing.* 23-29.