



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULDADE DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA E ENXEÑERÍA QUÍMICA I

**ELIMINACIÓN BIOLÓGICA DE COMPUESTOS
ORGÁNICOS Y NITROGENADOS PRESENTES
EN LOS EFLUENTES DE UNA INDUSTRIA
PRODUCTORA DE RESINAS**

Memoria presentada por:
MARTA EIROA MARTÍNEZ
para optar al grado de Doctora
por la Universidad de A Coruña
A Coruña, mayo 2004



UNIVERSIDADE DA CORUÑA
FACULTADE DE CIENCIAS

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FÍSICA E ENXEÑERÍA QUÍMICA I**

Alejandro de la Sota, 1

15008 A Coruña

Teléfono 981 16 70 00

Fax 981 16 70 65

Manuel Esteban Sastre de Vicente, Director del Departamento de Química Física e Enxeñería Química I de la Universidad de A Coruña,

Certifica

Que la Licenciada en Ciencias Químicas **Marta Eiroa Martínez** ha realizado en este departamento, bajo la dirección de la Dra. María del Carmen Veiga Barbazán y del Dr. Christian Kennes, el trabajo titulado **Eliminación biológica de compuestos orgánicos y nitrogenados presentes en los efluentes de una industria productora de resinas**, que presenta para optar al grado de **Doctora en Química**.

Y para que así conste, expide y firma la presente en A Coruña, a 19 de mayo de 2004.

Manuel Esteban Sastre de Vicente



UNIVERSIDADE DA CORUÑA
FACULDADE DE CIENCIAS

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FÍSICA E ENXEÑERÍA QUÍMICA I**

Alejandro de la Sota, 1

15008 A Coruña

Teléfono 981 16 70 00

Fax 981 16 70 65

M^a Carmen Veiga Barbazán y **Christian Kennes**, Profesores Titulares del Departamento de Química Física e Enxeñería Química I de la Universidad de A Coruña,

Certifican

Que el trabajo titulado **Eliminación biológica de compuestos orgánicos y nitrogenados presentes en los efluentes de una industria productora de resinas** ha sido realizado por la Licenciada en Ciencias Químicas **Marta Eiroa Martínez** en el Departamento de Química Física e Enxeñería Química I, Área de Enxeñería Química, y que, como Directores del mismo, autorizan su presentación para optar al grado de **Doctora en Química**.

Y para que así conste, expiden y firman la presente en A Coruña, a 19 de mayo de 2004.

María del Carmen Veiga Barbazán

Christian Kennes

Esta Tesis fue defendida el día 19 de julio de 2004 ante el tribunal compuesto por:

Presidente: Manuel Poch Espallargas

Catedrático de Universidad. Universidad de Girona (España)

Vocal: Mark van Loosdrecht

Catedrático de Universidad. Universidad de Delft (Holanda)

Vocal: Maria Reis

Profesora Titular de Universidad. Universidad de Lisboa (Portugal)

Vocal: Hipólito García Posadas

Profesor Titular de Escuela Universitaria. Universidad de Cantabria (España)

Secretario: Alfredo Jácome Burgos

Profesor Titular de Universidad. Universidad de A Coruña (España)

Obteniendo la calificación de **sobresaliente cum laude**.

Agradecimientos

Me gustaría dedicar este trabajo a todas aquellas personas que lo han hecho posible y expresarles mi agradecimiento.

A M^a Carmen Veiga por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo y haberme permitido complementar mi formación, por su constante apoyo y por toda la confianza depositada en mí. A Christian Kennes por su colaboración científica y por su ayuda en la redacción de artículos.

Al Ministerio de Educación y Cultura por la concesión de la beca FPU que ha hecho posible mi dedicación exclusiva a la investigación.

A la Xunta de Galicia por la financiación del proyecto PR404E 2000/6-0 y a la CICYT por la financiación del proyecto REN2000-0218-P4-02, esenciales para la realización del presente trabajo.

Al Profesor Mark van Loosdrecht por haberme permitido realizar una estancia en la Universidad Tecnológica de Delft (Holanda).

A FORESA (Industrias Químicas del Noroeste S. A., Pontevedra) por su colaboración esencial para el desarrollo de esta investigación, especialmente a D. Sergio Blanco, a D. Jesús Gómez y a D. Aurelio Cobas. A María y a Miguel por el suministro de reactivos.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Enxeñería Química por haber compartido tantas horas de trabajo y haberlas hecho más agradables.

A los que ya se fueron: Marién, Jesús y Pablo D. (por su colaboración en los análisis), Ana, Sara y Verónica (compañeras de tesina), Regina, Natalia, Lourdes, Luis, Inés, Jorge G., Jorge M., Fátima, Pili, Chefa, Carmen Isabel.

A los que todavía siguen: Bea y Marta B. (compañeras de investigación), Pablo L. (por su ayuda técnica), Vicky y Elena (por aportar ánimos renovados), Óscar, Juan, Juanjo, Yaomin, Alberto, Isabel, Juan Carlos.

A Almudena por haber dedicado tanto tiempo a ayudarme y por todos los trabajos compartidos. A Ángela por su colaboración lingüística y por estar siempre dispuesta a echar una mano. A Belén por su inestimable ayuda analítica. A las tres por estar siempre ahí, por todas las reflexiones compartidas y por ser buenas amigas.

Agradecimientos

A mis padres por haberme ayudado siempre con todos los medios a su alcance y por su apoyo incondicional para seguir adelante. A mi hermana Cris por escucharme y entenderme en todo momento y por ser la alegría de la casa.

En especial, a Suso por estar a mi lado en los buenos y malos momentos, por sus ánimos para continuar, por su paciencia y su constante apoyo, por sus bromas y su buen humor, y por mucho más.

Índice

ÍNDICE

Objetivos y resumen	1
Objectives and summary	7
1. Introducción	13
1.1. Generación de efluentes en una industria productora de resinas	13
1.1.1. Producción de formaldehído	13
1.1.2. Producción de resinas	14
1.1.3. Caracterización físico-química de los efluentes	16
1.1.4. Planta de tratamiento de aguas residuales	17
1.2. Eliminación biológica de nitrógeno	20
1.2.1. Ciclo del nitrógeno	20
1.2.2. Procesos biológicos para la eliminación de nitrógeno	22
1.2.2.1. Proceso de nitrificación	22
1.2.2.2. Proceso de desnitrificación	30
1.2.3. Tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno	37
1.2.3.1. Unidades de nitrificación	37
1.2.3.2. Unidades de desnitrificación	42
1.2.4. Tratamiento integral de aguas residuales	43
1.3. Referencias	47
2. Materiales y métodos	55
2.1. Técnicas analíticas	55
2.1.1. Formaldehído	55
2.1.2. Metanol	56
2.1.3. Ácido fórmico	57
2.1.4. Fenol	59
2.1.5. Demanda química de oxígeno (DQO)	60
2.1.6. Carbono orgánico total (COT) y carbono inorgánico (CI)	60
2.1.7. Amonio	62
2.1.8. Nitrito y nitrato	64
2.1.9. Nitrógeno total Kjeldahl (NTK)	65

2.1.10. Composición del biogás.....	66
2.1.11. Sólidos en suspensión totales (SST) y volátiles (SSV)	67
2.1.12. pH	68
2.1.13. Oxígeno disuelto	68
2.1.14. Microscopía electrónica de barrido.....	68
2.2. Referencias.....	69
3. Biodegradación aerobia y efecto del formaldehído sobre el proceso de nitrificación	73
Resumen	73
3.1. Introducción	74
3.2. Objetivos	75
3.3. Materiales y métodos	76
3.3.1. Ensayos aerobios en discontinuo	76
3.3.2. Ensayos aerobios en un reactor de lodos activos.....	78
3.4. Resultados y discusión.....	81
3.4.1. Ensayos aerobios en discontinuo	81
3.4.1.1. Biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono	81
3.4.1.2. Biodegradación de formaldehído en presencia de metanol	84
3.4.1.3. Proceso de nitrificación en presencia de formaldehído	86
3.4.1.4. Proceso de nitrificación en presencia de formaldehído y metanol	89
3.4.2. Ensayos aerobios en un reactor de lodos activos.....	90
3.4.2.1. Biodegradación de formaldehído	93
3.4.2.2. Proceso de nitrificación en presencia de formaldehído	95
3.5. Conclusiones.....	97
3.6. Referencias.....	99

4. Biodegradación anóxica de formaldehído y metanol y efecto de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación	103
Resumen.....	103
4.1. Introducción.....	104
4.2. Objetivos.....	106
4.3. Materiales y métodos.....	106
4.3.1. Ensayos anóxicos en discontinuo	106
4.3.2. Ensayos anóxicos en continuo.....	108
4.4. Resultados y discusión	112
4.4.1. Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído.....	112
4.4.1.1. Biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono	113
4.4.1.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído	114
4.4.2. Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído y metanol	116
4.4.2.1. Biodegradación de formaldehído y metanol	116
4.4.2.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y metanol	122
4.4.3. Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído	122
4.4.3.1. Biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono	123
4.4.3.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído	126
4.4.4. Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído y metanol	130
4.4.4.1. Biodegradación de formaldehído y metanol	130
4.4.4.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y metanol	132
4.5. Conclusiones.....	136
4.6. Referencias	137

5. Biodegradación anóxica de formaldehído y fenol y efecto de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación.....	143
Resumen	143
5.1. Introducción	144
5.2. Objetivos	146
5.3. Materiales y métodos	147
5.3.1. Ensayos anóxicos en discontinuo	147
5.3.2. Ensayos anóxicos en continuo	148
5.4. Resultados y discusión.....	149
5.4.1. Ensayos anóxicos en discontinuo	149
5.4.1.1. Biodegradación de formaldehído	150
5.4.1.2. Biodegradación de fenol.....	150
5.4.1.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y fenol	152
5.4.2. Ensayos anóxicos en continuo	156
5.4.2.1. Biodegradación de formaldehído	157
5.4.2.2. Biodegradación de fenol.....	158
5.4.2.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y fenol	161
5.5. Conclusiones	166
5.6. Referencias.....	167
6. Biodegradación anóxica de formaldehído, hidrólisis de urea y proceso de desnitrificación en presencia de ambos compuestos.....	173
Resumen	173
6.1. Introducción	174
6.2. Objetivos	175
6.3. Materiales y métodos	176
6.3.1. Ensayos anóxicos en discontinuo	176
6.3.2. Ensayos anóxicos en continuo	176
6.4. Resultados y discusión.....	177
6.4.1. Ensayos anóxicos en discontinuo	177
6.4.1.1. Biodegradación de formaldehído	178
6.4.1.2. Hidrólisis de urea	178

6.4.1.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y urea	179
6.4.2. Ensayos anóxicos en continuo.....	181
6.4.2.1. Biodegradación de formaldehído	181
6.4.2.2. Hidrólisis de urea	183
6.4.2.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y urea	184
6.4.2.4. Granulación del lodo.....	188
6.5. Conclusiones.....	191
6.6. Referencias	192
7. Tratamiento biológico de aguas residuales de una industria productora de resinas y efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol.....	197
Resumen.....	197
7.1. Introducción.....	198
7.2. Objetivos.....	199
7.3. Materiales y métodos.....	200
7.4. Resultados y discusión	202
7.4.1. Agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico	202
7.4.1.1. Eliminación biológica de materia orgánica.....	203
7.4.1.2. Eliminación biológica de compuestos nitrogenados	206
7.4.2. Agua residual con baja concentración de materia orgánica y efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol	210
7.4.2.1. Eliminación biológica de materia orgánica.....	211
7.4.2.2. Eliminación biológica de compuestos nitrogenados	212
7.4.2.3. Efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol	216
7.5. Conclusiones.....	218
7.6. Referencias	219

Objetivos y resumen

OBJETIVOS Y RESUMEN

Las aguas residuales de las industrias productoras de formaldehído y resinas se caracterizan por poseer un elevado contenido en compuestos orgánicos y nitrogenados. Por tanto, el tratamiento biológico de dichas aguas requiere un proceso combinado de eliminación de carbono y nitrógeno. Este tratamiento biológico puede realizarse en un sistema pre-desnitrificante, el cual se emplea generalmente para tratar aguas residuales que contienen, además de compuestos nitrogenados, materia orgánica que puede ser usada como fuente de carbono para el proceso de desnitrificación. En el reactor anóxico tendría lugar la eliminación de los compuestos orgánicos, la hidrólisis de los compuestos nitrogenados y la desnitrificación del nitrato recirculado de la unidad aerobia. Mientras que en el reactor aerobio tendría lugar la nitrificación del amonio suministrado por la unidad anóxica y la biodegradación de los compuestos orgánicos que no hubiesen sido eliminados en dicha unidad.

La composición de las aguas residuales de las industrias productoras de resinas depende del proceso de fabricación que se esté llevando a cabo en cada momento. En general, la materia orgánica está presente fundamentalmente como formaldehído y los compuestos nitrogenados como urea; sin embargo, también se generan vertidos que contienen elevadas concentraciones de fenol. Además, cuando es necesario se añade metanol como fuente de carbono externa para el proceso de desnitrificación. Por tanto, resulta interesante analizar la eliminación biológica de todos estos compuestos y su influencia sobre los procesos de nitrificación y desnitrificación. Para ello, en los Capítulos 3, 4, 5 y 6 se estudian los distintos procesos utilizando agua sintética, mientras que en el Capítulo 7 se analizan empleando aguas residuales de una industria productora de formaldehído y resinas.

En el Capítulo 1 se presenta una introducción que se centra principalmente en los efluentes generados por una industria productora de resinas y en la eliminación biológica de nitrógeno. Los materiales y métodos utilizados para la determinación de los distintos parámetros analizados durante la realización de este trabajo se describen en el Capítulo 2.

El Capítulo 3 se centra en el estudio de la eliminación simultánea de formaldehído y amonio en sistemas de lodos activos. En ensayos aerobios en discontinuo se analizó la biodegradación de formaldehído y su efecto sobre el

proceso de nitrificación, así como la influencia del metanol sobre ambos procesos. El formaldehído se degradó completamente a las concentraciones ensayadas tanto como única fuente de carbono como en presencia de metanol como cosustrato. A concentraciones elevadas el formaldehído causó inhibición del proceso de nitrificación. A continuación, se estudió la biodegradación de formaldehído y su efecto sobre el proceso de nitrificación en un reactor aerobio de lodos activos. Durante todo el período de operación se obtuvieron porcentajes de eliminación de formaldehído y amonio elevados, indicando que no hubo inhibición de la eliminación de amonio debida al formaldehído.

En el Capítulo 4 se analiza la biodegradación de formaldehído y metanol, así como el efecto de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. Con este fin se realizaron ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo con formaldehído como única fuente de carbono y con formaldehído y metanol. En los ensayos en discontinuo, el formaldehído se degradó completamente a las concentraciones ensayadas. Además, se comprobó que la eliminación de formaldehído daba lugar a la aparición en el medio de metanol y ácido fórmico. El proceso de desnitrificación resultó afectado por la concentración inicial de formaldehído, aumentando la acumulación de nitrito al aumentar dicha concentración. En el reactor en continuo con formaldehído, se alcanzaron eficacias de eliminación del compuesto y de desnitrificación elevadas para todas las velocidades de carga orgánica aplicadas. Cuando se alimentaron al reactor distintas proporciones de formaldehído y metanol, tuvo lugar la biodegradación de ambos compuestos. Sin embargo, cada aumento en la proporción de metanol provocó una disminución en el porcentaje de desnitrificación. Se observó que fue necesario un período de adaptación del medio al metanol, tras el cual se recuperó la eficacia de la desnitrificación.

En el Capítulo 5 se estudia la eliminación simultánea de formaldehído y fenol, así como la influencia de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. En ensayos anóxicos en discontinuo, se analizó la biodegradación de formaldehído en presencia de distintas concentraciones de fenol, obteniendo la misma velocidad inicial de eliminación para todos los experimentos. En cuanto al fenol, a concentraciones altas se observó inhibición en su biodegradación y en el proceso de desnitrificación. En un reactor anóxico en continuo, se obtuvieron eficacias de eliminación de formaldehído elevadas a

todas las velocidades de carga orgánica aplicadas. Sin embargo, a concentraciones altas de fenol, su eficacia de eliminación disminuyó y se observó inhibición del proceso de desnitrificación.

El principal objetivo del Capítulo 6 es el estudio de la biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y el proceso de desnitrificación en presencia de ambos compuestos. En ensayos anóxicos en discontinuo, la velocidad inicial de eliminación de formaldehído se mantuvo prácticamente constante, independientemente de la concentración inicial de urea. La urea se hidrolizó totalmente a amonio y tuvo lugar la desnitrificación completa en todos los casos. En un reactor anóxico en continuo, se obtuvieron porcentajes de eliminación de formaldehído y de hidrólisis de urea elevados a todas las velocidades de carga aplicadas. En cuanto al proceso de desnitrificación, se alcanzaron altos porcentajes y la composición del biogás indicó que en la misma unidad tuvieron lugar dos procesos simultáneos, desnitrificación y metanogénesis.

El propósito del Capítulo 7 es el análisis del tratamiento biológico de dos tipos de agua residual de una industria productora de formaldehído y resinas empleando un sistema pre-desnitrificante. Inicialmente, se estudió la eliminación de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico. Se obtuvieron altos porcentajes de eliminación de COT y NTK a las velocidades de carga orgánica y nitrogenada aplicadas. Posteriormente, se analizó la eliminación de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con baja concentración de materia orgánica y el efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol sobre dicha eliminación. Se alcanzó una eliminación media de COT similar al estudio con el agua residual anterior a la misma velocidad de carga orgánica. En cambio, la eliminación de NTK fue superior a la obtenida en el caso anterior debido a que dependió en menor medida de la eficacia de la hidrólisis del nitrógeno orgánico. Durante las sobrecargas se detectó fenol en el efluente del reactor anóxico pero la unidad se recuperó rápidamente al cesar las mismas. La eliminación global de COT permaneció invariable durante las sobrecargas con respecto al período anterior, excepto en la sobrecarga más elevada. Con respecto al NTK, su eliminación media tampoco resultó afectada por las sobrecargas de fenol.

Objectives and summary

OBJECTIVES AND SUMMARY

Wastewaters from formaldehyde and resin producing industries are characterized by the presence of high levels of organic and nitrogen compounds. Therefore, the biological treatment of these wastewaters requires a combined process of carbon and nitrogen removal. This biological treatment can be carried out in a pre-denitrification system, which is usually used to treat wastewaters with a high content of organic matter that can be used as carbon source for denitrification. Removal of organic compounds, hydrolysis of nitrogen compounds and denitrification of nitrate recirculated from the aerobic unit would take place in the anoxic reactor. While nitrification of ammonium provided by the anoxic unit and biodegradation of the organic compounds that would not have been removed in this unit would take place in the aerobic reactor.

The composition of wastewaters from resin producing industries is dependent on the manufacturing process that is being undertaken. In general, the organic matter is mainly present as formaldehyde and the nitrogen compounds as urea. However, effluents with high phenol concentrations are also generated when the manufacturing process is changed. Moreover, methanol is added as external carbon source for denitrification when it is necessary. Therefore, it is interesting to study the biological removal of these compounds and their influence on the nitrification and denitrification process. For this, in Chapters 3, 4, 5 and 6 the different processes are studied using synthetic wastewater, while they are analyzed using wastewaters from a formaldehyde and resin producing industry in Chapter 7.

Chapter 1 is an introduction which focuses on the effluents generated by a resin producing industry and on the biological nitrogen removal. The materials and methods for the determination of the different parameters measured during this work are described in Chapter 2.

Chapter 3 is focused on the study of the simultaneous removal of formaldehyde and ammonium in activated sludge systems. Formaldehyde biodegradation and its effect on the nitrification process were analyzed in aerobic batch assays. The influence of methanol on both processes was also evaluated. Formaldehyde was completely removed at all concentrations tested in assays with this compound as the single carbon source and in the presence of

methanol as co-substrate. Formaldehyde was inhibitory to the nitrification process at high initial concentrations. Afterwards, formaldehyde biodegradation and its effect on the nitrification process were studied in an activated sludge reactor. High formaldehyde and ammonium removal percentages were obtained during all the operation time, indicating that there was no inhibition of ammonium removal by formaldehyde.

In Chapter 4 formaldehyde and methanol biodegradation and the effect of both compounds on the denitrification process are analyzed. For this, anoxic assays were undertaken in batch and in a continuous reactor with formaldehyde as the single carbon source and with formaldehyde and methanol. In batch assays, formaldehyde was completely removed at all concentrations tested. Moreover, it has been found that formaldehyde biodegradation produced methanol and formic acid. The denitrification process was affected by the initial formaldehyde concentration, increasing the nitrite accumulation with the increase in this concentration. In the continuous reactor with formaldehyde, high removal efficiencies of this compound and high denitrification percentages were reached at all the applied organic loading rates. When the reactor was fed with different formaldehyde and methanol concentrations, both compounds were biodegraded. However, each increase in the methanol concentration in the influent caused a decrease in the denitrification percentage. It was observed that an adaptation period to methanol was necessary and afterwards, the denitrification efficiency was recovered.

In Chapter 5 the simultaneous removal of formaldehyde and phenol and the influence of both compounds on the denitrification process are studied. In anoxic batch assays, formaldehyde biodegradation in the presence of different phenol concentrations was analyzed, obtaining the same initial removal rate in all experiments. With regard to phenol, at high concentrations inhibition of both its biodegradation and the denitrification process was observed. In an anoxic continuous reactor, high formaldehyde removal efficiencies were obtained at all the applied organic loading rates. However, at high phenol concentrations, its removal efficiency decreased and inhibition of the denitrification process was observed.

The main purpose of Chapter 6 is to study the formaldehyde biodegradation, the urea hydrolysis and the denitrification process in the presence of both compounds. In anoxic batch assays, the initial formaldehyde

removal rate was almost constant and independent of the urea concentration. Urea was totally hydrolyzed to ammonium and complete denitrification took place in all cases. High percentages of formaldehyde removal and urea hydrolysis were obtained in an anoxic continuous reactor at all the applied loading rates. With regard to the denitrification process, high percentages were reached and the biogas composition indicated that denitrification and methanogenesis occurred simultaneously in the same unit.

The purpose of Chapter 7 is to analyze the biological treatment of two types of wastewater from a formaldehyde and resin producing industry in a pre-denitrification system. First, the removal of organic matter and nitrogen compounds was studied in a wastewater with high formaldehyde and formic acid concentrations. High percentages of TOC and TKN removal were obtained at the applied organic and nitrogen loading rates. Afterwards, the removal of organic matter and nitrogen compounds in a wastewater with low organic matter concentration and the effect of phenol overloads were analyzed. A TOC removal efficiency similar as in the study with the previous wastewater was reached at the same organic loading rate. However, the TKN removal was higher than in the previous case because it depended to a lesser extent on the hydrolysis of organic nitrogen. During overloads, phenol was detected in the effluent of the anoxic reactor but the system recovered fast after stopping the overloads. The total TOC removal remained unchanged during the overloads with regard to the previous period, except for the highest load. With regard to TKN, its mean removal was also not affected by the phenol overloads.

Capítulo 1. Introducción

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

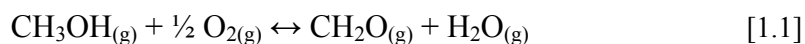
1.1. GENERACIÓN DE EFLUENTES EN UNA INDUSTRIA PRODUCTORA DE RESINAS

En una planta de fabricación de resinas la actividad se centra en la producción de formaldehído y distintos tipos de resinas (de fenol-formaldehído, urea-formaldehído, melamina-formaldehído...). Prácticamente todo el formaldehído producido se consume en la propia planta para la fabricación de las resinas.

1.1.1. Producción de formaldehído

El proceso de producción de formaldehído se basa en la oxidación catalítica de metanol. Dicho proceso consiste en hacer reaccionar una mezcla aire-vapor de metanol en presencia de un catalizador de óxidos metálicos (óxidos de hierro y molibdeno), a presión moderada, absorbiendo los productos de reacción sobre agua. De este modo, se obtiene una disolución acuosa de formaldehído con un porcentaje de metanol inferior al 1%, que será utilizada posteriormente en la fabricación de resinas.

La primera etapa del proceso consiste en la obtención de la mezcla aire-vapor de metanol en la proporción adecuada, para ello el metanol es pulverizado en el evaporador en el seno del aire a unos 100°C, produciéndose una evaporación súbita. La mezcla sale a una temperatura del orden de 100 - 120°C del evaporador y se introduce en un reactor multitubular de lecho fijo, cuyos tubos verticales están rellenos de catalizador. La temperatura óptima para la obtención de formaldehído se encuentra entre 320 y 350°C, temperatura que se alcanza haciendo circular aceite térmico por el exterior de los tubos. La mezcla aire-vapor de metanol, en contacto con el catalizador caliente, da lugar a la formación de formaldehído. El mecanismo de esta reacción es un proceso de oxidación en fase gas, como se indica en la Ecuación 1.1:



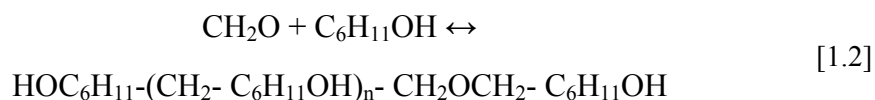
Los gases obtenidos pasan a un enfriador, que actúa como cambiador de calor residual, alcanzando una temperatura de unos 145°C. A la salida del enfriador, los gases pasan a una torre de absorción donde se hace fluir agua a contracorriente con los gases, obteniéndose una disolución de formaldehído con una concentración del 55% en peso.

1.1.2. Producción de resinas

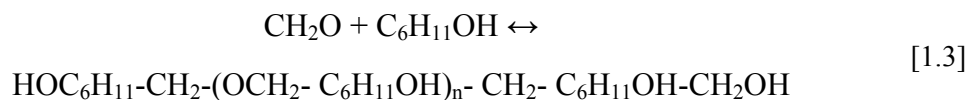
Los productos finales de la actividad de la planta son polímeros sintéticos a base de formaldehído, fenol, urea y melamina; entre los que destacan los de fenol-formaldehído, urea-formaldehído y melamina-formaldehído. La fabricación de las resinas de formaldehído se basa en reacciones de condensación que tienen lugar con los distintos compuestos (fenol, urea y melamina).

Las resinas fenólicas derivadas del formaldehído son de gran interés industrial y se dividen en dos tipos: Novolak y Resole (Walker, 1964). La diferencia esencial entre los dos tipos de resinas estriba en la estructura del puente de unión: metilénico en las Novolak y oximetilénico en las Resole.

Las resinas Novolak se obtienen con relaciones molares fenol/formaldehído inferiores a la unidad (0.5 - 0.8), utilizando un catalizador ácido (Ecuación 1.2).



Las resinas Resole se consiguen con relaciones molares fenol/formaldehído superiores a la unidad (1.0 - 3.0), utilizando un catalizador básico (Ecuación 1.3).



Los productos obtenidos mediante la condensación del formaldehído con aminas, fundamentalmente urea y melamina, reciben el nombre genérico de resinas amínicas. La reacción de obtención de estas resinas transcurre en dos etapas (Walker, 1964), primero tiene lugar la hidroximetilación de la amina (Ecuación 1.4) y después se produce la condensación del producto obtenido con otra molécula de amina (Ecuación 1.5).



Como dichas reacciones son reversibles, en la solución acuosa habrá formaldehído en cantidades correspondientes al equilibrio alcanzado y a la temperatura a la que se lleva a cabo la reacción. Además, normalmente las resinas son preparadas manteniendo el formaldehído en exceso ya que se sugiere que protege y estabiliza estas dispersiones, lo que incrementa la cantidad de formaldehído residual obtenido.

Para el almacenamiento de las materias primas empleadas en la producción de resinas, tales como disolución acuosa de formaldehído, disolución acuosa de fenol, urea, melamina y metanol, se dispone de diferentes depósitos. Cada uno de ellos está conectado a su correspondiente grupo de electrobombas para suministrar dichos productos a la planta de fabricación. Del mismo modo, existen depósitos para almacenar las resinas producidas.

La fabricación de resinas se lleva a cabo en reactores conectados a pequeños recipientes dosificadores de los distintos aditivos, que operan en régimen discontinuo y están provistos de agitación, sistemas de refrigeración y sistemas de calentamiento. Las reacciones que tienen lugar dependen de la relación molar entre los reactivos, del pH del medio de reacción, de la temperatura y del tiempo de reacción; estos factores condicionan la velocidad de aumento del peso molecular de la resina. Los productos finales obtenidos son polímeros sintéticos, por lo que es fundamental llevar a cabo un control del peso molecular de los mismos (en función de la resina requerida) ya que sus propiedades (solubilidad, viscosidad...) varían a medida que va evolucionando la condensación.

1.1.3. Caracterización físico-química de los efluentes

Los efluentes generados en la producción de resinas proceden de distintos procesos de la planta. Los efluentes derivados de los procesos productivos provienen fundamentalmente de las operaciones de limpieza de elementos como reactores, tanques de almacenamiento, filtros de las torres de producción de formaldehído y filtros de los reactores. Otra fuente de vertido la constituyen los derrames producidos en el traspaso de las resinas desde los reactores a los tanques de almacenamiento y de estos a los camiones que distribuyen a otras fábricas las resinas. También pueden producirse fugas o derrames de resinas por la apertura o cierre defectuoso de las válvulas de paso.

Debido a los procesos llevados a cabo en la planta, los compuestos esperados en el agua residual van a ser formaldehído, fenol, urea y melamina, además de polímeros y prepolímeros de dichos compuestos. El efluente global generado por este tipo de plantas se caracteriza por presentar una DQO elevada (debida principalmente al formaldehído), valores relativamente altos de nitrógeno (procedente de la urea, la melamina y diversos copolímeros), y bajo contenido en fósforo y carbono inorgánico. Debido al elevado contenido en compuestos orgánicos y nitrogenados, el tratamiento de estas aguas requiere de la eliminación de ambos compuestos.

El presente trabajo forma parte de un proyecto de colaboración con una empresa de producción de formaldehído y resinas, FORESA, Industrias Químicas del Noroeste S. A. (Caldas de Reis, Pontevedra). Las principales características físico-químicas del efluente global de la planta de producción de resinas de dicha empresa se muestran en la Tabla 1.1. Los valores fueron obtenidos entre enero y septiembre de 2002. La recogida de aguas pluviales se realiza en la misma red de saneamiento que la recogida de aguas residuales industriales (cumpliéndose la normativa comunitaria a este respecto), y son tratadas conjuntamente en la estación depuradora de aguas residuales. Esto es importante tenerlo en cuenta, debido al efecto de dilución y a las posibles sobrecargas en determinadas épocas.

Tabla 1.1. Principales características físico-químicas del efluente global de la planta de producción de resinas.

Parámetro	Rango	Valor medio
Temperatura (°C)	15 - 32	23
pH	6.5 - 9.6	8.2
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	167 - 2000	718
Sólidos en suspensión (mg/L)	12 - 664	112
DQO (mg/L)	117 - 6851	1595
CH ₂ O (mg/L)	7 - 2711	240
NTK (mg/L)	56 - 1462	424
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	6 - 360	50
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0.1 - 31	3.7

1.1.4. Planta de tratamiento de aguas residuales

La planta de tratamiento de aguas residuales de la empresa de producción de resinas mencionada (FORESA) consta de un tratamiento primario (laminación, homogeneización, tamizado y ajuste de pH) y un tratamiento biológico de lodos activos de tipo aireación prolongada, con una cámara anóxica previa (Figura 1.1).

El efluente global de la planta se recoge en la balsa de laminación en la que sedimentan por gravedad los sólidos más pesados presentes en el agua. Contigua a esta balsa existe una balsa de seguridad destinada al almacenamiento de vertidos accidentales o sobrecargas pluviales.

A continuación el agua es bombeada hacia el tanque de homogeneización, donde la agitación se produce debido al aporte de aire por su parte inferior, mediante una bomba de caudal regulable. Tras el mezclado, el agua residual es impulsada por una bomba sumergible hacia un tamiz, con el fin de eliminar los sólidos de menor tamaño.

El tratamiento biológico requiere que el influente tenga un pH adecuado por lo que, tras pasar por el tamiz, el agua llega a un depósito debidamente agitado donde se ajusta el pH mediante la adición de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Como el vertido es deficitario en fósforo, se dosifica este nutriente en el tanque de corrección de pH para alcanzar la cantidad requerida para el tratamiento biológico.

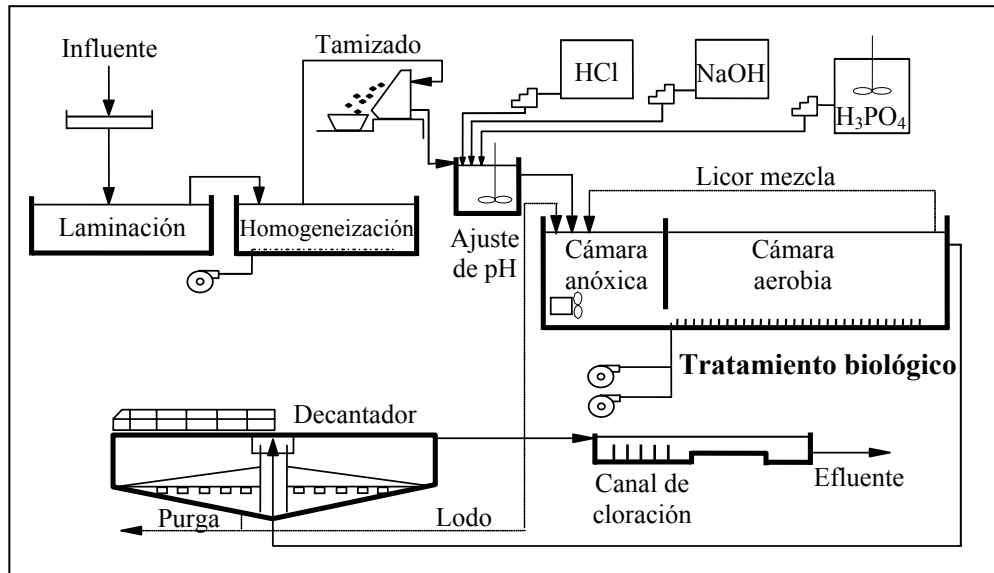


Figura 1.1. Esquema de la planta de tratamiento de aguas residuales.

El tratamiento biológico consiste en un proceso de lodos activos de aireación prolongada, donde se produce la nitrificación, con una cámara anóxica previa, donde tiene lugar la eliminación de materia orgánica y la desnitrificación. El aporte de oxígeno a la zona aerobia se realiza mediante soplantes, sobre las que actúa una sonda medidora de oxígeno disuelto para mantener la concentración del mismo. La recirculación del licor mezcla de la zona aerobia, donde ha tenido lugar la nitrificación, a la zona anóxica se realiza para proporcionar los iones nitrito y nitrato necesarios en el proceso de desnitrificación.

El agua abandona el reactor biológico por rebose, pasando al decantador secundario, donde se separa del lodo. Con el fin de mantener constante la concentración de biomasa en el reactor, se recircula parte del lodo desde el fondo del decantador al reactor. Los fangos decantados pasan a un depósito donde se realiza la purga de lodos y el agua tratada sale del decantador por rebose.

Finalmente, el agua pasa al canal de cloración donde se dosifica hipoclorito de sodio. A la salida de este canal, una conducción dirige el agua a un extremo de la balsa de almacenamiento. En el otro extremo de la balsa se realiza la captación del agua mediante bombas, para enviarla a los depósitos de reutilización. El agua almacenada en estos depósitos es reutilizada en servicios generales de la planta, principalmente en la refrigeración. El excedente de agua de la balsa de almacenamiento se vierte al río Umia.

Tabla 1.2. Valores límite de vertido exigidos por el Real Decreto 849/1986.

Parámetro	Valor límite
pH	5.5 - 9.5
Sólidos en suspensión (mg/L)	80
DQO (mg/L)	160
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	15
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	10
CH ₂ O (mg/L)	1
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	10

El objetivo de la planta de tratamiento de aguas residuales es adecuar las características del vertido final a los requerimientos de la normativa vigente. En términos generales, los valores límite de vertido exigidos vienen dados por el uso al que se vaya a destinar el agua del cauce receptor. En el caso de esta planta, el vertido final se realiza al río Umia, declarado como zona especialmente sensible debido a que en su cauce se realizan captaciones

de agua destinada a la potabilización para su consumo. Los valores límite de vertido exigidos se recogen en el Real Decreto 849/1986 que desarrolla la Ley de Aguas (Ley 29/1985). De acuerdo con este Real Decreto, la planta deberá cumplir los valores límite presentados en la Tabla 1.2.

1.2. ELIMINACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

Existen muchas instalaciones que generan aguas residuales de alta carga orgánica constituida por compuestos de carbono y nitrógeno, por lo que es necesario disponer de una tecnología capaz de eliminar tanto los compuestos carbonados como los nitrogenados de las mismas.

1.2.1. Ciclo del nitrógeno

Existe un problema de contaminación causado por la presencia de diversos compuestos de nitrógeno (compuestos proteicos, amonio, nitrito, nitrato...) en las aguas. Las principales fuentes de estos compuestos son los fertilizantes tanto naturales como artificiales y las aguas residuales tanto industriales como urbanas. Las aguas cargadas con compuestos de nitrógeno son vertidas a los ríos y a los lagos y originan múltiples problemas:

- La presencia de nitrato origina problemas de eutrofización que consisten en una propagación de algas y formas superiores de vida y producen efectos indeseables en el equilibrio del ecosistema y en la calidad de las aguas. Asimismo su presencia produce enfermedades como la metahemoglobinemia en bebés y favorece la formación de nitrosaminas, compuestos cancerígenos.

- Las formas reducidas del nitrógeno provocan un descenso en la concentración de oxígeno disuelto en las aguas debido a su oxidación a nitrato por los microorganismos.

- El nitrógeno en forma de amonio se encuentra en equilibrio con el amoníaco de modo que si aumentan la temperatura y el pH, aumenta la concentración de amoníaco afectando negativamente a los peces y a otros seres vivos. Además, la presencia de amonio en aguas que se van a

potabilizar implica un aporte adicional de cloro para su desinfección, pudiéndose formar cloraminas, compuestos tóxicos para los seres vivos.

- Cuando tiene lugar la desnitrificación incompleta se forma óxido nitroso (N_2O) que pasa a la fase gas, contribuyendo al efecto invernadero.

Las relaciones existentes entre las diferentes formas en que se encuentra el nitrógeno en la naturaleza se representan en el ciclo del nitrógeno (Figura 1.2). De forma natural este ciclo estaría en equilibrio, pero debido principalmente a las actividades antropogénicas puede tener lugar la acumulación de determinados compuestos, rompiéndose así el equilibrio.

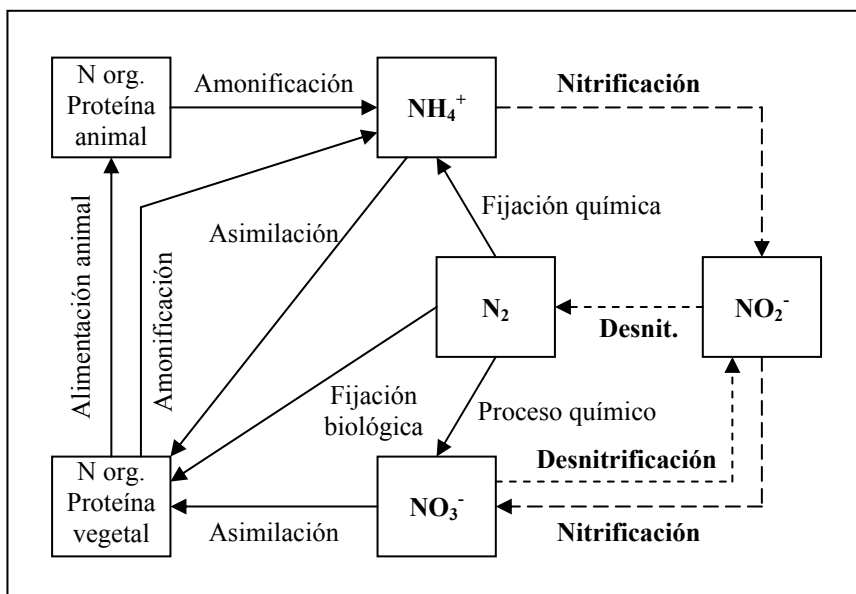


Figura 1.2. Ciclo del nitrógeno.

Las principales transformaciones biológicas que tienen lugar son nitrificación, desnitrificación, fijación, asimilación y amonificación, realizadas cada una de ellas por un tipo de microorganismos. En el proceso de nitrificación el amonio es oxidado a nitrito o nitrato por microorganismos autótrofos o heterótrofos. En ausencia de oxígeno disuelto se produce la

desnitrificación, el nitrato es usado como aceptor de electrones por muchas bacterias heterótrofas, es reducido a nitrito y posteriormente a nitrógeno molecular. La fijación del nitrógeno atmosférico es llevada a cabo por bacterias especializadas que lo transforman en amoníaco, necesario para el crecimiento. La mayoría de los microorganismos asimilan nitrógeno en forma de amonio para la síntesis de nuevos microorganismos. Algunas bacterias son capaces de asimilar nitrógeno en forma de nitrato después de que se haya consumido el amonio. Las bacterias amonificantes constituyen un grupo de bacterias muy heterogéneo que llevan a cabo la ruptura de los compuestos orgánicos de nitrógeno, liberando amonio.

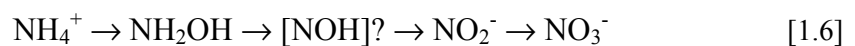
Existen varios métodos para llevar a cabo la eliminación de los compuestos de nitrógeno de las aguas residuales, dichos métodos se pueden dividir en físico-químicos y biológicos. Nos vamos a centrar en los procesos biológicos para la eliminación de nitrógeno.

1.2.2. Procesos biológicos para la eliminación de nitrógeno

La eliminación biológica de nitrógeno comprende dos procesos secuenciales, uno de nitrificación (oxidación del amonio a nitrato) y otro de desnitrificación (reducción del nitrato a nitrógeno molecular).

1.2.2.1. Proceso de nitrificación

La nitrificación es un proceso biológico que consiste en la oxidación del amonio a nitrato, con formación de nitrito como intermedio principal. La oxidación del amonio a nitrito se lleva a cabo en varias etapas sin que hasta ahora se conozca la naturaleza del compuesto intermedio entre la hidroxilamina y el nitrito (Henze *y col.*, 1996). En cambio, la oxidación del nitrito a nitrato tiene lugar en un solo paso. Las reacciones secuenciales implicadas en el proceso de nitrificación se presentan en la Ecuación 1.6.

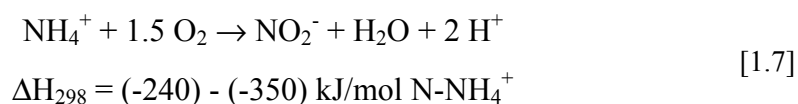


Microbiología de la nitrificación

Los microorganismos implicados en el proceso de nitrificación se pueden dividir en dos grupos, los nitrificantes autótrofos y los heterótrofos. Las bacterias autótrofas obtienen su energía para el crecimiento de la oxidación de compuestos inorgánicos, mientras que las heterótrofas la obtienen de la oxidación de la materia orgánica. Existen algunas bacterias heterótrofas y hongos que son capaces de producir nitrito y/o nitrato, pero en general producen niveles bajos de estos compuestos y frecuentemente utilizan nitrógeno orgánico en lugar de amonio (Watson y *col.*, 1989). En ambientes naturales, tales como los sistemas de depuración de aguas residuales, las bacterias autótrofas son las responsables de la producción de grandes cantidades de nitrito y nitrato. Todos los microorganismos nitrificantes autótrofos conocidos son bacterias Gram negativas y comprenden dos grupos: las bacterias amonio-oxidantes y las nitrito-oxidantes. No se conoce ningún quimiolitotrófico que realice la oxidación completa de amonio a nitrato, por tanto la nitrificación es el resultado de una acción secuencial de estos dos grupos de microorganismos.

Existen cinco géneros de **bacterias amonio-oxidantes** taxonómicamente bien clasificados, en la Tabla 1.3 se presentan dichos géneros y sus principales características. Las *Nitrosomonas* son las más frecuentes en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Son bacterias quimiolitotróficas que emplean la oxidación del amonio a nitrito para obtener la energía necesaria para el crecimiento y utilizan el dióxido de carbono como fuente de carbono.

La Ecuación 1.7 describe el paso de amonio a nitrito (nitritificación).



En paralelo tiene lugar una asimilación de carbono inorgánico para síntesis de biomasa bacteriana. Incorporando el crecimiento de *Nitrosomonas* y asumiendo una productividad de 0.15 g SSV/g N-NH₄⁺ oxidado, obtenemos la expresión que se indica en la Ecuación 1.8.

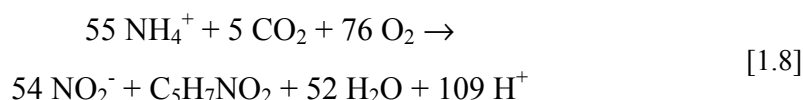
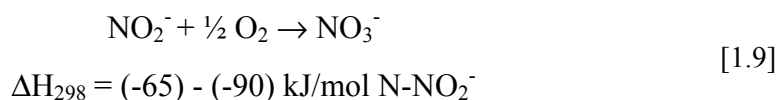


Tabla 1.3. Géneros de bacterias amonio-oxidantes y sus principales características.

Género	pH	T (°C)	Hábitat
<i>Nitrosomonas</i>	7.5 - 8.0	5 - 30	Aguas residuales, suelos, agua dulce, agua marina
<i>Nitrosococcus</i>	6.0 - 8.0	5 - 30	Agua marina
<i>Nitrospira</i>	7.0 - 8.0	20 - 35	Suelos ácidos
<i>Nitrosolobus</i>	7.0 - 8.0	20 - 35	Suelos
<i>Nitrosovibrio</i>	7.0 - 8.0	25 - 30	Suelos

En cuanto a las *bacterias nitrito-oxidantes*, se conocen cuatro géneros que aparecen en la Tabla 1.4 junto con sus principales características. Las *Nitrobacter* son las más estudiadas en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Son bacterias autolitotróficas que obtienen la energía necesaria para el crecimiento de la oxidación del nitrito a nitrato y su principal fuente de carbono es el dióxido de carbono. Algunas cepas de *Nitrobacter* son capaces de crecer heterotróficamente utilizando compuestos orgánicos como fuente de carbono, aunque este crecimiento es más lento (Watson y col., 1989). Recientemente, algunos investigadores han confirmado la presencia de un gran número de bacterias *Nitrospira* en lodos utilizados para el tratamiento de aguas residuales (Burrell y col., 1999).

El nitrito es oxidado a nitrato (nitrificación) según la reacción que se indica en la Ecuación 1.9.



En la Ecuación 1.10 se representa el paso de nitrito a nitrato combinado con la asimilación de carbono, asumiendo una productividad de 0.02 g SSV/g N-NO₂⁻ oxidado, en esta reacción se considera la necesidad de amonio para la biosíntesis.

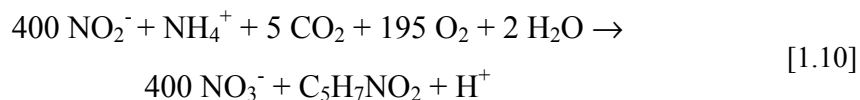


Tabla 1.4. Géneros de bacterias nitrito-oxidantes y sus principales características.

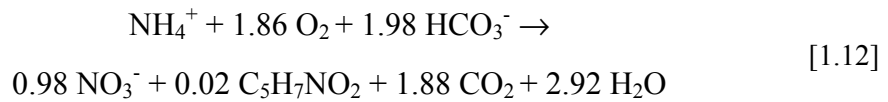
Género	pH	T (°C)	Hábitat
<i>Nitrobacter</i>	6.5 - 8.5	5 - 37	Aguas residuales, suelos, agua dulce, agua marina
<i>Nitrospina</i>	7.0 - 8.0	20 - 30	Agua marina
<i>Nitrococcus</i>	6.8 - 8.0	15 - 30	Agua marina
<i>Nitrospira</i>	7.6 - 8.0	20 - 30	Suelos oceánicos

Teniendo en cuenta las Ecuaciones 1.8 y 1.10, un sencillo cálculo estequiométrico permite deducir que la oxidación de 1 kg de N-NH₄⁺ produce 150 g de biomasa amonio-oxidante y 20 g de biomasa nitrito-oxidante, al mismo tiempo que se requieren 4.3 kg de oxígeno. Además se consumen aproximadamente 7.1 kg de alcalinidad como CaCO₃ para la oxidación de 1 kg de N-NH₄⁺. Por tanto, se puede concluir que la nitrificación se caracteriza por una baja producción de biomasa, un elevado consumo de oxígeno y un descenso del pH si el medio no está tamponado.

Existe un equilibrio entre el bicarbonato en disolución y el dióxido de carbono: los protones producidos durante la nitrificación son neutralizados por el bicarbonato presente en el agua según la Ecuación 1.11.



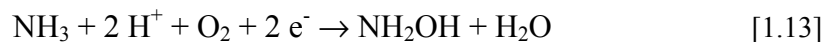
Combinando las Ecuaciones 1.8 y 1.10 y empleando dicho equilibrio carbónico, se obtiene la expresión global del proceso de nitrificación (Ecuación 1.12).



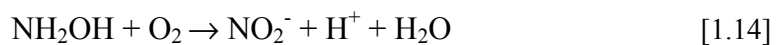
Bioquímica de la nitrificación

A nivel bioquímico, el proceso de oxidación de amonio a nitrito es complejo, existen varias reacciones intermedias y enzimas implicadas en el proceso. El crecimiento de las bacterias amonio-oxidantes está termodinámicamente limitado y su lenta velocidad de crecimiento es el principal problema de la nitrificación en las plantas de tratamiento biológico de aguas residuales.

El primer paso de la nitrificación consiste en la conversión del amonio a hidroxilamina (Ecuación 1.13), esta reacción es endotérmica y se lleva a cabo a través de la enzima amonio monooxigenasa, asociada a las proteínas de la membrana.

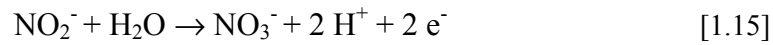


A continuación la hidroxilamina es oxidada a nitrito a través de un intermedio que todavía no se conoce (Ecuación 1.14). Esta oxidación está catalizada por la enzima hidroxilamina oxidoreductasa. El oxígeno molecular en esta reacción parece ser parcialmente incorporado al nitrito formado y parcialmente usado como aceptor de electrones. En esta etapa de la oxidación de amonio se produce la mayor liberación de energía.



En contraste con la complejidad de la nitrificación, la oxidación de nitrito a nitrato es un proceso enzimático sencillo y directo (Ecuación 1.15). Aunque las bacterias nitrito-oxidantes son estrictamente aerobias, el oxígeno empleado para la oxidación proviene del agua. Termodinámicamente, la

energía producida en esta oxidación es baja, lo cual influye en el bajo crecimiento de las bacterias nitrito-oxidantes.



Cinética de la nitrificación

El crecimiento de los microorganismos nitrificantes se puede describir según la ecuación de Monod, incluyendo un coeficiente de decaimiento bacteriano (Ecuación 1.16).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{(S + K_s)} - K_d \quad [1.16]$$

donde: μ = velocidad de crecimiento de microorganismos (d^{-1})

μ_{\max} = velocidad máxima de crecimiento de microorganismos (d^{-1})

S = concentración de sustrato (mg/L)

K_s = constante de afinidad (mg/L)

K_d = constante de decaimiento (d^{-1})

La velocidad máxima de crecimiento de las *Nitrobacter* es considerablemente mayor que la de las *Nitrosomonas* y los valores de la constante de afinidad para ambas bacterias son inferiores a 1 mg N/L a temperaturas inferiores a 20°C. Estos dos factores llevan a que el nitrito no se suela acumular en grandes cantidades durante los procesos de tratamiento biológico de las aguas residuales.

La concentración de oxígeno disuelto tiene un efecto marcado en el crecimiento de las bacterias nitrificantes así como en el proceso de nitrificación. La ecuación de Monod puede ser utilizada para estudiar dicho efecto, considerando el oxígeno como sustrato limitante (Ecuación 1.17).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_{O_2}}{(S_{O_2} + K_{O_2})} \quad [1.17]$$

donde: μ = velocidad de crecimiento de microorganismos (d^{-1})

μ_{\max} = velocidad máxima de crecimiento de microorganismos (d^{-1})

S_{O_2} = concentración de oxígeno disuelto (mg/L)

K_{O_2} = constante de afinidad para el oxígeno (mg/L)

Los valores de la constante de afinidad para el oxígeno mencionados en la literatura se encuentran entre 0.15 y 2 mg O_2 /L. Esta diferencia puede deberse a que la concentración de oxígeno disuelto en la disolución no se corresponde necesariamente con la concentración en el interior del flóculo microbiano, donde se lleva a cabo la reacción química. La máxima velocidad de crecimiento de las bacterias nitrificantes se observa para valores de aproximadamente 7 mg O_2 /L. Esta velocidad disminuye bastante para concentraciones menores de 0.5 mg O_2 /L y se hace cero para valores inferiores a 0.2 mg O_2 /L.

Algunos autores (Hanaki *y col.*, 1990) afirman que la limitación de oxígeno inhibe fuertemente la oxidación de nitrito a nitrato, mientras que la oxidación de amonio a nitrito no se ve afectada por una baja concentración de oxígeno disuelto, dando lugar a la acumulación de nitrito.

Concentración de sustratos

Las bacterias *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* son sensibles a la concentración de sus propios sustratos, amonio y nitrito. En realidad, el sustrato lo componen las formas no ionizadas, amoníaco y ácido nitroso, ya que se necesita menos energía para su transporte dentro de la célula en comparación al transporte de las moléculas ionizadas. El control del pH es esencial para mantener las concentraciones de amoníaco libre y ácido nitroso sin disociar en niveles que no sean inhibitorios.

La presencia de amoníaco libre inhibe las bacterias *Nitrosomonas* a concentraciones de 10 a 150 mg/L y las *Nitrobacter* a concentraciones de 0.1

a 1.0 mg/L (Anthonisen y col., 1976). Este es el motivo por el cual frecuentemente se produce acumulación de nitrito en el medio. A pesar de esta inhibición, en procesos de lodos activos se han conseguido conversiones elevadas de amonio a nitrato a velocidades de carga de amonio altas, hasta 7.7 g N-NH₄⁺/L·d (Campos y col., 1999).

La concentración de amonio influye también en la cinética del proceso de nitrificación: a bajas concentraciones la velocidad de nitrificación responde a una cinética de primer orden; cuando la concentración se encuentra entre 1 y 4 mg N-NH₄⁺/L la nitrificación sigue una cinética de orden ½; y a concentraciones de amonio mayores la cinética es de orden cero, siendo la velocidad de nitrificación independiente de la concentración de amonio (Çeçen y Gönenç, 1994).

pH

El efecto del pH sobre la nitrificación se puede desglosar en tres aspectos: activación-desactivación de las bacterias, nutricional ligado a la alcalinidad del medio y de inhibición por sustancias cuya concentración dependa del pH.

El valor óptimo de pH se encuentra entre 7.5 y 8.5 tanto para las bacterias *Nitrosomonas* como para las *Nitrobacter*, pero se puede trabajar en un intervalo de pH mayor. Debe tenerse en cuenta que, debido a la influencia de la nitrificación, el valor del pH en el interior de los flóculos será previsiblemente más bajo que el observado en la fase líquida. Además, el efecto del pH es mayor a menores temperaturas.

Temperatura

La temperatura es un parámetro que afecta directamente a la actividad de los microorganismos nitrificantes, encontrándose su valor óptimo entre 30 y 35°C. Dichos microorganismos son muy sensibles a cambios bruscos de temperatura, de modo que precisan de un tiempo de aclimatación para alcanzar las condiciones estables. En general, la velocidad de crecimiento de las bacterias nitrificantes aumenta exponencialmente con

la temperatura desde los 5 hasta los 30°C. Entre los 30 y 35°C el crecimiento es máximo y no varía con la temperatura, desde los 35 o 40°C comienza a disminuir, no habiéndose detectado actividad nitrificante a temperaturas mayores de 60°C.

Tóxicos e inhibidores

Las bacterias nitrificantes son sensibles a la acción de multitud de sustancias inhibitoras que actúan, bien interfiriendo en el metabolismo general de la célula o bien reduciendo la velocidad de formación de los intermedios. El efecto tóxico puede ser parcial, con lo que los microorganismos nitrificantes continúan creciendo y oxidando amonio pero a menor velocidad; o ser tan elevado como para provocar la muerte de los microorganismos y detener la actividad hasta que cese la inhibición.

Los metales pesados (Cu, Ni, Cr, Zn...) inhiben la nitrificación, observándose que las bacterias de los sistemas de tratamiento de lodos activos son capaces de resistir mayores concentraciones de los mismos que los cultivos puros. Esto puede deberse a la gran diferencia que existe en la actividad de los iones metálicos en el lodo y en la fase líquida (Henze y *col.*, 1996).

Algunos compuestos orgánicos también poseen un efecto inhibitorio sobre el proceso de nitrificación. Entre otros, se encuentran compuestos alifáticos como cloroformo y dicloroetano; compuestos aromáticos como clorobenceno, nitrobenzono, fenol y anilina; sulfuros, cianuros, etc. Por ejemplo, la tiourea y la hidrazina inhiben las oxidaciones del amonio a hidroxilamina y de esta a nitrito.

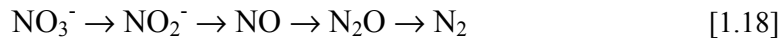
1.2.2.2. Proceso de desnitrificación

La desnitrificación es un proceso biológico que consiste en la reducción del nitrato a nitrógeno molecular en condiciones anaerobias. El nitrato funciona como el último aceptor de electrones en la cadena respiratoria sustituyendo a la molécula de oxígeno. El proceso de desnitrificación también se conoce como reducción disimilatoria, para

distinguirlo de la reducción asimilatoria en la que el nitrito y el nitrato son reducidos a amonio, el cual es empleado por los microorganismos para su crecimiento.

Para que tenga lugar el proceso de desnitrificación es necesaria la presencia de una fuente de carbono orgánico que funcione como donador de electrones. Por tanto, la desnitrificación ofrece un mecanismo para eliminar el nitrógeno y los compuestos orgánicos. Diversos autores estudiaron el efecto de la relación C/N (Tseng *y col.*, 1998) y de los diferentes sustratos (Tam *y col.*, 1992; Akunna *y col.*, 1993) sobre la desnitrificación.

Las reacciones secuenciales implicadas en la desnitrificación se indican en la Ecuación 1.18.

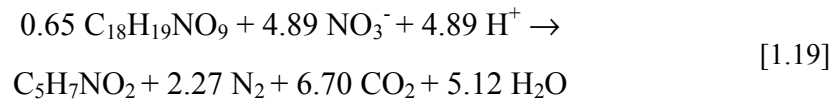


Dependiendo de la naturaleza del agua residual el crecimiento de la biomasa desnitrificante puede realizarse a partir de nitrato o de amonio, habiéndose encontrado que la presencia de este último favorece dicho crecimiento y por tanto, la actividad desnitrificante. Esto es debido, probablemente, a que la presencia de amonio hace innecesaria la reducción asimilatoria del nitrato, que tiene lugar cuando únicamente se emplea este como fuente de nitrógeno.

Microbiología de la desnitrificación

Los microorganismos desnitrificantes son bacterias aerobias facultativas capaces de utilizar los aniones de nitrógeno como compuestos aceptores de electrones en ausencia de oxígeno. La mayor parte de las bacterias desnitrificantes son heterótrofas, pero algunas crecen autótrofamente utilizando hidrógeno o compuestos de azufre como donadores de electrones (Knowles, 1982; Mateju *y col.*, 1992). Las *Pseudomonas* son las bacterias desnitrificantes más activas en los medios naturales pero en la desnitrificación intervienen también otros géneros de bacterias como son: *Acinetobacter*, *Paracoccus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus*, *Bacillus*, *Hyphomicrobium*...

Si suponemos que se emplea materia orgánica presente en el agua residual ($C_{18}H_{19}NO_9$) como fuente de carbono y tenemos en cuenta la síntesis celular, la estequiometría para la desnitrificación viene dada por la Ecuación 1.19.



Asumiendo que toda la energía se usa para el crecimiento, la relación máxima de conversión de sustrato para este proceso es de 0.44 g biomasa/g materia orgánica consumida. Esta relación se eleva a 0.47 g biomasa/g materia orgánica consumida en el caso de que la biomasa asimile amonio para el crecimiento. La relación C/N estequiométrica es de 1.28, aunque en la práctica es necesaria una relación C/N superior a 2.39 debido a la demanda de carbono adicional para la síntesis celular.

El proceso de desnitrificación origina un aumento en la alcalinidad del medio. Por 1 kg de $N-NO_3^-$ reducido a nitrógeno molecular se producen 3.57 kg de alcalinidad como $CaCO_3$. Si se emplea amonio como fuente de nitrógeno se reduce la producción de alcalinidad en un equivalente por mol de amonio asimilado.

En el proceso de desnitrificación existe la posibilidad de acumulación de intermedios debido al sustrato empleado, a las condiciones de operación o a la presencia de sustancias tóxicas. La acumulación de nitrito en el sistema puede ser debida a la represión de la síntesis de la enzima nitrito-reductasa y a la selección y enriquecimiento de los microorganismos capaces de reducir nitrato. Por tanto, con el fin de obtener nitrógeno molecular como producto final del proceso de desnitrificación, es necesario controlar el oxígeno disuelto, la fuente de carbono orgánico, la concentración de nitrato, la relación C/N, el pH, la temperatura y la posible presencia de tóxicos.

Bioquímica de la desnitrificación

El proceso de desnitrificación tiene lugar en una serie de etapas (Ecuación 1.18) catalizadas por diversas enzimas. La reducción de nitrato a nitrito está catalizada por la enzima nitrato-reductasa, asociada a la membrana celular. El factor clave para la inducción de la síntesis de dicha enzima es la ausencia de oxígeno molecular, dándose la máxima producción normalmente en presencia de nitrato. La reducción de nitrito a óxido nítrico se realiza a través de la enzima nitrito-reductasa y el paso de óxido nítrico a óxido nitroso por la enzima óxido nítrico-reductasa. Por último, la enzima óxido nitroso-reductasa lleva a cabo la reducción de óxido nitroso a nitrógeno gas.

Cinética de la desnitrificación

Para describir la cinética de las transformaciones microbianas normalmente se usan las expresiones de Monod teniendo en cuenta ambos sustratos, pero en el caso de la desnitrificación, si el sustrato no es el limitante se puede asimilar a una ecuación de orden cero (Gamo y col., 1996) (Ecuación 1.20).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_{\text{NO}_3^-}}{(S_{\text{NO}_3^-} + K_{\text{NO}_3^-})} \quad [1.20]$$

donde: μ = velocidad de crecimiento de microorganismos (d^{-1})

μ_{\max} = velocidad máxima de crecimiento de microorganismos (d^{-1})

$S_{\text{NO}_3^-}$ = concentración de nitrato (mg/L)

$K_{\text{NO}_3^-}$ = constante de afinidad para el nitrato (mg/L)

Si se usa una fuente de carbono externa, por ejemplo, ácido acético o metanol, es posible que se pueda prevenir la limitación de sustrato. En caso de haber materia orgánica en el agua residual será ésta la que limite la velocidad de eliminación del nitrato. Las constantes de afinidad para el nitrato son muy bajas, de manera que la desnitrificación se considera, en general, independiente de la concentración de nitrato.

Factores que afectan a la desnitrificación

Oxígeno disuelto

La oxidación de la materia orgánica con oxígeno está más favorecida energéticamente que si se lleva a cabo por los compuestos oxidados del nitrógeno. La presencia de este compuesto en el medio inhibe el proceso de desnitrificación, debido a que el oxígeno compite con el nitrato y nitrito como último aceptor de electrones en el metabolismo energético de las células.

Existen discrepancias en cuanto a la mínima concentración de oxígeno que permite la desnitrificación. Algunos autores han establecido que generalmente a una concentración superior a 0.1 mg O₂/L existe inhibición del proceso de desnitrificación (Lie y Welander, 1994). Sin embargo, investigaciones recientes muestran la existencia de especies capaces de llevar a cabo el proceso de desnitrificación en condiciones aerobias (Hwang y Hanaki, 2000; Pai *y col.*, 1999). Oh y Silverstein (1999) observaron desnitrificación a concentraciones de hasta 5.6 mg O₂/L pero sólo al 4% de la velocidad alcanzada en condiciones anóxicas. Kornaros y Lyberatos (1998) descubrieron que la reducción partiendo de nitrato resulta menos sensible a la presencia de oxígeno que si partimos de otras especies más reducidas. La diversidad de los resultados obtenidos en los estudios al respecto puede deberse a que, como se ha indicado anteriormente, la medida del oxígeno disuelto en la fase líquida no coincide con su concentración en el interior de los flóculos, la cual depende en gran medida del tamaño y del grado de compactación de los mismos.

Fuente de carbono y relación DQO/N

La disponibilidad de electrones en los compuestos orgánicos empleados como fuente de carbono es uno de los factores más importantes que rigen la actividad de las bacterias heterótrofas desnitrificantes. Las fuentes de carbono que se han propuesto para llevar a cabo la desnitrificación son muy variadas: metanol, etanol, glucosa, ácido acético, acetona, materia orgánica del agua residual... Nyberg *y col.* (1996) llevaron a cabo estudios de desnitrificación en una planta de lodos activos empleando

metanol y etanol como fuentes externas de carbono y obtuvieron unas velocidades de desnitrificación de 0.07 y 0.24 g N/g SSV·d, respectivamente.

Bilanovic *y col.* (1999) para la eliminación de grandes concentraciones de nitrato utilizaron como fuentes de carbono metano, acetato y el efluente de digestores anaerobios, alcanzando velocidades de eliminación de 0.49 g N/g SSV·d. Cuervo *y col.* (1999) realizaron ensayos de desnitrificación, en reactores UASB, empleando acetato, lactato y glucosa como fuentes de carbono. Estos autores no encontraron influencia alguna de la fuente de carbono sobre la eficacia de desnitrificación pero sí sobre la velocidad de desnitrificación que fue menor para el lactato (0.5 g N/L·d) que para la glucosa (2 g N/L·d).

Para llevar a cabo la desnitrificación es necesario trabajar con una relación DQO/N-NO₃⁻ suficientemente alta como para que no se presente limitación de carbono. El valor teórico de esta relación es de 2.86 pero en la práctica se requieren relaciones superiores, ya que parte de la materia orgánica es utilizada por los microorganismos en la síntesis celular. En la bibliografía se encuentra un amplio rango de valores para la relación DQO/N-NO₃⁻ óptima, desde 3.5 (Hanaki *y col.*, 1992) hasta 8.86 (Akunna *y col.*, 1992).

Nutrientes

Las necesidades de nutrientes para las bacterias desnitrificantes son similares a las de los organismos heterótrofos aerobios. Los elementos necesarios para la síntesis celular son: C, H, N, P y S, y en menor proporción algunos elementos como: K, Mg, Ca y Fe, y en cantidades traza: Mn, Zn, Cu, Co y Mo. Los microorganismos prefieren el amonio al nitrato como fuente de nitrógeno para la asimilación (Henze *y col.*, 1996). La relación favorable C/N/P/S es de aproximadamente 100/20/4/1.

pH

Los valores óptimos de pH se encuentran entre 7 y 8, aunque el proceso de desnitrificación puede tener lugar a valores de pH comprendidos

entre 4 y 11 (Knowles, 1982). Si el pH es inferior a 7 aparece óxido nitroso y a pH 4 se convierte en el producto mayoritario. Esto se debe a que a medida que desciende el pH, las enzimas encargadas de la reducción del óxido nitroso a nitrógeno molecular se ven inhibidas. Un pH superior a 7.3 conlleva que el producto final sea nitrógeno molecular, pero un pH superior a 9 supone que el amonio presente en el medio se presente como amoníaco.

Para mantener el pH en el intervalo adecuado podría emplearse una disolución tampón, siempre y cuando no afecte al proceso de desnitrificación.

Temperatura

La dependencia del proceso de desnitrificación de la temperatura es elevada, el rango óptimo se encuentra entre 60 y 75°C (Knowles, 1982). A temperaturas superiores la velocidad de desnitrificación desciende rápidamente. A temperaturas entre 0 y 5°C la desnitrificación es muy baja aunque detectable y se va duplicando cada 10°C.

En algunos casos se ha detectado un efecto sinérgico de la temperatura y la concentración de oxígeno sobre la desnitrificación, ya que a mayor temperatura la solubilidad del oxígeno es menor, lo que incrementa la velocidad del proceso.

Tóxicos e inhibidores

El proceso de desnitrificación es susceptible de ser inhibido por varios compuestos. Entre ellos se pueden destacar el amoníaco y el ácido nitroso libre, por lo que es necesario controlar el pH. Otros inhibidores son los compuestos de azufre, que estimulan la reducción del nitrato a amonio; y el acetileno, que impide la reducción del óxido nitroso a nitrógeno molecular.

1.2.3. Tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno

A continuación se resumen las principales tecnologías disponibles para llevar a cabo los procesos biológicos de eliminación de nitrógeno de las aguas residuales. Estas tecnologías se clasifican en sistemas con biomasa en suspensión y sistemas con biomasa adherida a un soporte móvil o fijo (Tabla 1.5).

Tabla 1.5. Equipos empleados para los procesos de nitrificación y desnitrificación.

Equipos	Nitrificación	Desnitrificación
Biomasa en suspensión	Lodos activos	Contacto anóxico Reactores UASB
Biomasa adherida	Filtros percoladores Filtros sumergidos Biodiscos Lecho fluidizado Reactores airlift	Filtros anóxicos Lecho fluidizado

1.2.3.1. Unidades de nitrificación

Procesos con biomasa en suspensión

Unidades de lodos activos

Los procesos biológicos tradicionalmente empleados para la eliminación de los compuestos de carbono y nitrógeno en las aguas residuales han consistido en reactores de lodos activos. El sistema de lodos activos consta generalmente de un tanque aireado y un decantador (Figura 1.3). El agua residual se introduce en el tanque aireado donde se pone en contacto con la biomasa aerobia que se mantiene en suspensión, para que tenga lugar la oxidación de la materia orgánica y nitrogenada. El ambiente aerobio en el reactor se consigue mediante el uso de difusores o aireadores mecánicos que a su vez, sirven para mantener el lodo en suspensión. La

mezcla agua tratada-biomasa pasa del tanque aireado al decantador, encargado de separar el agua del lodo; este último se recircula de nuevo al tanque con el fin de retener en su interior la mayor cantidad de biomasa activa posible. Parte de la biomasa se suele purgar del sistema, convirtiéndose su tratamiento en uno de los inconvenientes de este proceso.

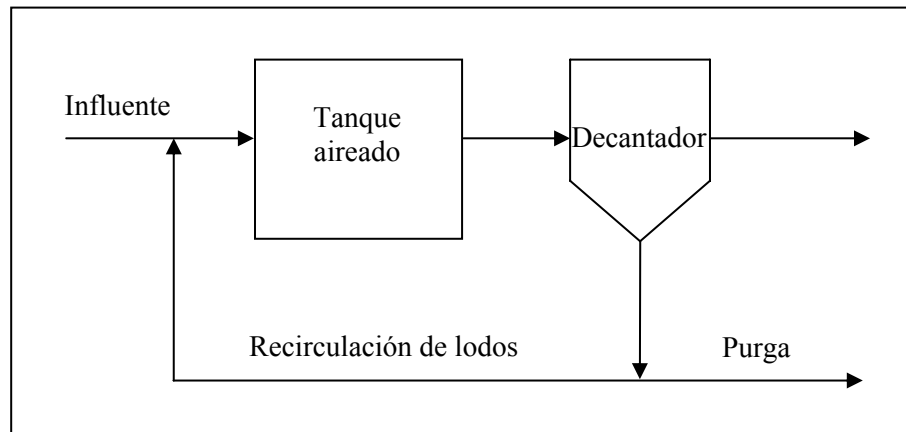


Figura 1.3. Esquema de un sistema de lodos activos.

Rotaetxe (1996) comprobó que las condiciones de sedimentabilidad del lodo están condicionadas por el desarrollo excesivo o no de bacterias filamentosas, llegándose a producir espumas en los clarificadores. Realizando diferentes estudios llegó a la conclusión de que el crecimiento de las bacterias filamentosas es siempre mayor en condiciones adversas. Las condiciones de baja temperatura, falta de agitación, concentración mínima de nutrientes o pH ligeramente básicos, presentan velocidades de crecimiento de las bacterias filamentosas superiores a las de otras bacterias del lodo. La concentración de oxígeno disuelto también influye en las propiedades de sedimentación del lodo: concentraciones inferiores a 2 mg O₂/L producen mayor turbidez en el efluente. La razón de este deterioro en las propiedades de sedimentación parece ser también el crecimiento excesivo de bacterias filamentosas y la formación de flóculos porosos (Wilén y Balmér, 1999).

Pese a ser una tecnología ampliamente extendida en el tratamiento de aguas residuales, el proceso de lodos activos presenta una serie de inconvenientes. Entre ellos se encuentran: altas necesidades de espacio, elevada producción de lodos y su tratamiento posterior, elevados consumos de energía para la aireación, problemas de flotación de los lodos...

En la bibliografía sobre sistemas de lodos activos se encuentran valores dispares para las actividades nitrificantes ya que éstas dependen de las condiciones de trabajo, de la presencia de bacterias heterótrofas en el medio, de la relación de recirculación, del tipo de aireación... En general, en estos sistemas el factor limitante de la eliminación de nitrógeno es la pequeña cantidad de biomasa contenida en el tanque aireado, entre 3 y 5 g SSV/L. La cantidad de bacterias nitrificantes en el lodo dependerá de su velocidad específica de crecimiento y de la velocidad con la cual el lodo abandona el sistema a través del efluente y de la purga. Cuanto menor sea el contenido en materia orgánica del influente mayor será la fracción de lodo que corresponde a biomasa nitrificante.

Para el tratamiento de aguas residuales urbanas medias (500 mg DQO/L y 40 mg N/L), la velocidad de nitrificación no suele ser mayor de 0.2 g N-NH₄⁺/L·d (Méndez *y col.*, 1996). Mosquera (1998) en un reactor nitrificante de lodos activos consigue eliminaciones de hasta 1.6 g N-NH₄⁺/L·d con eficacias entre el 73 y el 97%. Existen referencias de concentraciones de biomasa de hasta 14 g SSV/L (Campos, 1995) con velocidades de eliminación de nitrógeno de 7.7 g N-NH₄⁺/L·d.

La necesidad de reactores de lodos activos de volúmenes elevados se debe a la baja concentración de biomasa y a la baja velocidad de carga que se puede alcanzar. Con el objetivo de aumentar la concentración de microorganismos y la velocidad de carga en el sistema se han desarrollado los sistemas con biomasa adherida.

Procesos con biomasa adherida

Estos procesos se basan en que los microorganismos se adhieren a un soporte móvil o fijo, formando lo que se conoce como biopelícula, así se favorece la permanencia de la biomasa en el reactor. La inmovilización de

las bacterias en biopelículas puede tener lugar espontáneamente o usando técnicas de inmovilización artificial. En estos sistemas de biopelícula la concentración microbiana suele estar comprendida entre 20 y 30 g SSV/L. Por ello, la nitrificación no se encuentra limitada por la cantidad de biomasa sino por la transferencia de oxígeno entre el agua residual y la biopelícula, encontrándose una relación entre la eficacia de dicha transferencia y la superficie específica del soporte. Dentro de las tecnologías de biomasa adherida existentes se encuentran los filtros percoladores, los filtros sumergidos, los biodiscos rotatorios, los reactores de lecho fluidizado y los reactores airlift.

Filtros percoladores o biofiltros

Este sistema consiste en un lecho de soporte, contenido normalmente en una estructura cilíndrica abierta a la atmósfera, sobre el cual cae el agua residual distribuida uniformemente. En un principio se empleaban piedras como soporte, material con baja superficie específica, actualmente se utilizan soportes plásticos con una mayor superficie específica y menor densidad. Sobre el lecho de soporte se desarrolla adherida la biomasa que emplea la materia nitrogenada y carbonada contenida en el agua residual. El agua fluye por gravedad y es recogida en un sistema de drenaje situado en la parte inferior del filtro. Normalmente, el aire entra por la parte inferior del filtro y circula en dirección ascendente entre los huecos existentes en el material de soporte.

Con este proceso se pueden obtener velocidades de nitrificación entre 0.22 y 0.36 g N-NH₄⁺/L·d (Andersson *y col.*, 1994).

Filtros sumergidos

Los filtros sumergidos son una modificación de los biofiltros, en los que el lecho se encuentra sumergido continuamente en el agua residual. Estos sistemas pueden operar en corriente directa o en contracorriente.

En la bibliografía se encuentran velocidades de eliminación de nitrógeno que oscilan entre 0.35 y 1.5 g N-NH₄⁺/L·d (Çeçen y Gönenç, 1994; Fernández-Polanco *y col.*, 1994).

Biodiscos

Los biodiscos consisten en una serie de discos de poliestireno o cloruro de vinilo, situados sobre un eje horizontal rotatorio y parcialmente sumergidos en el agua residual. La biomasa se adhiere sobre estos discos formando la biopelícula. La rotación de los discos favorece la transferencia del oxígeno y del sustrato y mantiene la biomasa en condiciones aerobias con un bajo consumo energético.

La velocidad de carga nitrogenada que se suele alcanzar en estos sistemas es de 0.98 a 1.96 g N-NH₄⁺/L·d.

Reactores de lecho fluidizado

El reactor de lecho fluidizado consta de una torre que contiene arena o algún otro tipo de soporte de pequeño tamaño, sobre el que se forma la biopelícula. El agua pasa a través del lecho en dirección ascendente, a una velocidad suficiente para provocar la fluidización del mismo. En este sistema se ayuda a la fluidización de las partículas recirculando el efluente. La ventaja de este proceso radica en el pequeño requerimiento de espacio para su colocación, además de eliminarse la necesidad de un sistema de clarificación secundario.

Las velocidades de nitrificación encontradas en la bibliografía para reactores de lecho fluidizado van de 1 a 2.6 g N-NH₄⁺/L·d. Cheng y Chen (1994) encontraron una eficacia del 96% trabajando con un reactor de este tipo a una velocidad de carga nitrogenada de 2.0 g N-NH₄⁺/L·d.

Reactores airlift

El reactor airlift es una alternativa al reactor de lecho fluidizado que aumenta el rendimiento de este. El sistema consta de dos partes, un reactor

airlift en la parte inferior y un separador de fases (biomasa, efluente y gas) en la parte superior. Está provisto de un tubo interno por el que se introduce una corriente de aire que entra al sistema por la parte inferior del mismo, provocando el arrastre del líquido y la fluidización de las partículas de soporte y biomasa.

Se han encontrado para este sistema velocidades de nitrificación de hasta 5 g N-NH₄⁺/L·d en sistemas de laboratorio (Garrido, 1996).

1.2.3.2. Unidades de desnitrificación

Las unidades de desnitrificación suelen derivarse de sistemas desarrollados para el tratamiento anaerobio de las aguas residuales.

Procesos con biomasa en suspensión

Reactores de contacto anóxico

El reactor de contacto anóxico se basa en una distribución adecuada del influente así como en una buena agitación para facilitar el contacto. A la salida del reactor es necesario que el efluente pase a un decantador para separar el agua tratada del lodo, recirculándose este último al reactor para evitar el lavado de la biomasa. Dicho decantador debe ser eficaz ya que la generación de nitrógeno gaseoso en el proceso de desnitrificación interfiere en la buena sedimentación del lodo.

Reactores tipo UASB

Los reactores tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) son adecuados siempre y cuando se logre obtener un lodo granular fácilmente retenible en el reactor y de alta eficacia desnitrificante. La obtención del lodo granular con buenas características de sedimentación depende de una serie de condiciones físicas y químicas, así como de la existencia de condiciones hidráulicas adecuadas.

El reactor UASB consta de una zona de reacción biológica y de un sistema de separación sólido-líquido-gas. En la zona de reacción el agua

residual fluye en sentido ascendente a través del lodo granular y tiene lugar la conversión de la materia nitrogenada y carbonada. El sistema de separación, situado en la parte superior del reactor, impide el lavado de la biomasa.

Procesos con biomasa adherida

Filtros anóxicos

En el filtro anóxico los microorganismos se adhieren, formando una biopelícula, sobre un soporte de material inerte que puede estar distribuido al azar o de forma ordenada. Las principales desventajas de este sistema son la existencia de canales preferenciales al flujo del agua residual y la presencia de problemas de atascamiento.

Reactores de lecho fluidizado

En los reactores de lecho fluidizado la biomasa se adhiere a un soporte de pequeño tamaño y de baja densidad. El medio es fluidizado por la alta velocidad ascensional del flujo combinado del influente y la recirculación. Las ventajas que ofrecen estos sistemas son numerosas, se alcanza una elevada concentración de biomasa en el reactor, no se producen obstrucciones ni caminos preferenciales...

1.2.4. Tratamiento integral de aguas residuales

Debido a que la eliminación biológica de nitrógeno tiene lugar en dos etapas: nitrificación y desnitrificación, las tecnologías de tratamiento integral de las aguas se fundamentan en crear distintas condiciones de operación para propiciar el desarrollo de los dos tipos de microorganismos: nitrificantes y desnitrificantes. Existen diferentes configuraciones para conseguir dichas condiciones: emplear sistemas mixtos (tratamiento químico y biológico), llevar a cabo más de un proceso en una misma unidad alternando las condiciones de operación aerobias y anóxicas, y utilizar distintos sistemas de tratamiento biológico dispuestos en serie (procesos combinados). La

elección de un sistema u otro dependerá de las condiciones del agua residual a tratar y del coste.

Uno de los sistemas mixtos empleados para la eliminación conjunta de materia orgánica y nutrientes combina la precipitación química con la depuración biológica. Nyberg *y col.* (1992) llevaron a cabo estudios en una planta de tratamiento de aguas residuales que constaba de un tratamiento primario con precipitación química y un tratamiento biológico formado por un sistema SBR (Sequential Batch Reactor). En el período en el cual utilizaron materia orgánica presente en el agua residual como fuente de carbono, obtuvieron una eliminación de nitrógeno en torno al 15%. Con la adición de metanol como fuente de carbono externa y tras un período de adaptación de un mes, consiguieron una eliminación de nitrógeno alrededor del 90%.

Fernández-Peteiro *y col.* (2003) estudiaron un sistema de tratamiento de efluentes procedentes de la producción de tableros de fibra a escala industrial, basado en un tratamiento físico-químico primario seguido de un tratamiento anaerobio. Estos efluentes se caracterizan por un bajo contenido en nitrógeno y un alto contenido en materia orgánica (hasta 40 g DQO/L), por lo que resulta apropiado su tratamiento anaerobio. Alcanzaron eliminaciones de un 95% de DQO y entre un 40 y un 50% de sólidos en suspensión.

También existe la posibilidad de llevar a cabo más de un proceso en una misma unidad cambiando las condiciones de operación, como ejemplo tenemos la combinación de la nitrificación con la desnitrificación en los sistemas SBR. Con estos sistemas se pueden obtener elevadas eficacias de eliminación de carbono orgánico y nitrógeno con un reactor de pequeño volumen y un bajo consumo de energía.

En la actualidad existen distintas plantas de tratamiento biológico de aguas residuales en las que unidades nitrificantes se acoplan a unidades desnitrificantes para llevar a cabo la eliminación tanto de la materia orgánica como nitrogenada. Este tipo de sistemas combinados pueden operar de dos modos diferentes, denominados pre-desnitrificación y post-desnitrificación, cuya diferencia estriba en el orden en el que se disponen las unidades aerobia y anóxica.

Los *sistemas pre-desnitrificantes* se utilizan generalmente cuando el agua residual, además de compuestos nitrogenados, contiene materia orgánica susceptible de ser empleada como fuente de carbono en la desnitrificación, reduciendo los gastos que supone la utilización de una fuente de carbono externa. Estos sistemas son recomendables cuando se tratan aguas residuales con alto contenido en amonio y en materia orgánica. La primera unidad es la unidad desnitrificante cuyo efluente coincide con la entrada de la unidad nitrificante. Para que tenga lugar la desnitrificación es necesario recircular parte del efluente final a la primera unidad, incorporando a la misma el nitrato producido en la unidad nitrificante.

Los *sistemas post-desnitrificantes* requieren la utilización de una fuente de carbono externa para llevar a cabo la desnitrificación. Suelen emplearse cuando el agua residual posee alto contenido en nitrógeno y es deficitaria en carbono orgánico susceptible de ser empleado en la desnitrificación, lo que implica la utilización de una fuente de carbono externa en la unidad de desnitrificación originando un incremento en el coste de depuración. En estos sistemas se sitúa en primer lugar la unidad nitrificante, de forma que el nitrato producido en la misma pasa directamente a la unidad desnitrificante, en la cual se añade la fuente de carbono externa para llevar a cabo la desnitrificación.

Purtschert *y col.* (1996) estudiaron la desnitrificación en una planta de tratamiento de aguas residuales con una relación DQO/N baja. El sistema constaba de dos líneas de agua con pre-desnitrificación, empleando en una de ellas metanol como fuente de carbono externa. El período de adaptación al metanol fue de unos días, alcanzándose porcentajes de desnitrificación de un 55% en la línea con adición de metanol, frente al 35% obtenido en la línea sin metanol.

Lee y Park (1998) investigaron el tratamiento de aguas residuales de una planta de coque con un alto contenido en amonio y compuestos como fenol y cianuro. Para ello acoplaron a un sistema post-desnitrificante una unidad aerobia de eliminación de carbono al comienzo de la línea de agua. De este modo evitaron el desarrollo de bacterias heterótrofas en la unidad nitrificante, debido a la presencia de materia orgánica, además de los efectos tóxicos de la misma sobre la biomasa nitrificante. Obtuvieron eliminaciones

superiores al 95% de DQO y amonio, empleando acetato sódico como fuente de carbono externa.

Ilies y Mavinic (2001) estudiaron el tratamiento de los lixiviados de un vertedero en fase metanogénica, empleando un sistema de pre- y post-desnitrificación en el que se alternaban unidades anóxicas y aerobias. Los lixiviados se caracterizaban por su alto contenido en amonio y baja concentración de materia orgánica. Obtuvieron la eliminación completa de hasta 2200 mg N-NH₄⁺/L con una eficacia del 90%, empleando metanol como fuente de carbono externa.

En la actualidad se están estudiando sistemas de eliminación biológica del nitrógeno de las aguas por nitrificación-desnitrificación vía nitrito. En estos sistemas se intentan conseguir las condiciones necesarias para oxidar el amonio a nitrito y después llevar a cabo el proceso de desnitrificación (Hyungseok *y col.*, 1999). De este modo se requiere menor cantidad de carbono ya que en la desnitrificación del nitrito se consume menos que en el caso del nitrato y además se disminuyen las necesidades de aireación. El principal parámetro que influye en la inhibición de la formación de nitrato parece ser la concentración de amoníaco libre (Abeling y Seyfried, 1992; Balmelle *y col.*, 1992) ya que las bacterias *Nitrobacter* son más sensibles a este compuesto que las *Nitrosomonas*.

En la Figura 1.4 se representa un proceso combinado de pre-desnitrificación que es el usado en la planta de tratamiento de aguas residuales de la empresa productora de formaldehído y resinas mencionada anteriormente (Cantó *y col.*, 1998). En este sistema, el agua residual bruta entra en la zona anóxica donde se pone en contacto con la biomasa. A continuación se encuentra la zona aerobia, en la que tiene lugar la oxidación del nitrógeno en forma de amonio a nitrato. Parte del efluente de esta zona aireada se recircula a la zona anóxica (no aireada), así la biomasa se ve obligada a emplear el nitrato como aceptor de electrones, oxidando la materia orgánica y reduciendo dicho compuesto a nitrógeno gas. Por tanto, en estas plantas de tratamiento integral el proceso de desnitrificación permite un ahorro de oxígeno en la zona aerobia al ser oxidada la materia orgánica con el nitrato. Además se evita la necesidad de emplear fuentes suplementarias de carbono para la reducción del nitrógeno y se recupera

parte de la alcalinidad consumida en el proceso de nitrificación. También se mejora este último proceso al ser menor la cantidad de materia orgánica que entra al reactor aerobio.

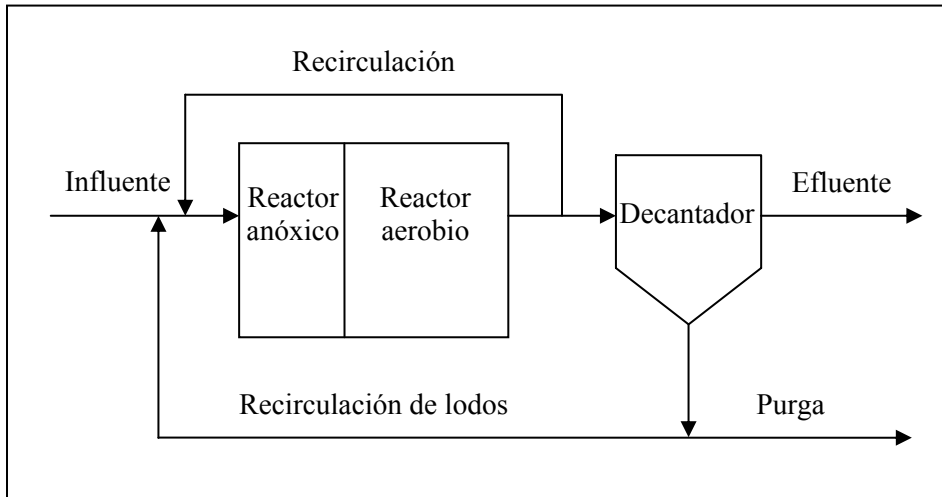


Figura 1.4. Esquema de un sistema combinado de nitrificación-desnitrificación.

1.3. REFERENCIAS

- Abeling U., Seyfried C. F. **1992** Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater-nitrogen removal via nitrite. *Water Sci. Technol.* **26** (5/6), 1007-1015.
- Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R. **1992** Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO_x⁻ ratio. *Environ. Technol.* **13**, 825-836.
- Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R. **1993** Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Water Res.* **27** (8), 1303-1312.

- Andersson B., Asprengen H., Parker D. S., Lutz M. P. **1994** High rate nitrifying trickling filters. *Water Sci. Technol.* **29** (10/11), 47-52.
- Anthonisen A. C., Loehr B. C., Prakasam T. B. S., Srinath E. G. **1976** Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed.* **48** (5), 835-852.
- Balmelle B., Nguyen K. M., Capdeville B., Cornier J. C., Deguin A. **1992** Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification. *Water Sci. Technol.* **26** (5/6), 1017-1025.
- Bilanovic D., Battistoni P., Cecchi F., Pavan P., Mata-Álvarez J. **1999** Denitrification under high nitrate concentration and alternating anoxic conditions. *Water Res.* **33** (15), 3311-3320.
- Burrell P., Keller J., Blackall L. L. **1999** Characterisation of the bacterial consortium involved in nitrite oxidation in activated sludge. *Water Sci. Technol.* **39** (6), 45-52.
- Campos J. L. **1995** Estudios de nitrificación en continuo: efectos da carga nitrogenada e da presenza de antibióticos. Tesis de Licenciatura, Universidad de Santiago de Compostela.
- Campos J. L., Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **1999** Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit. *Bioresource Technol.* **68**, 141-148.
- Cantó M., Gómez J., Kennes C., Veiga M. C. **1998** Integrated anoxic-aerobic treatment of wastewaters from a synthetic resin producing factory. *European Conference on New Advances in Biological Nitrogen and Phosphorus Removal for Municipal or Industrial Wastewaters*, Narbonne, France, pp. 289-292.
- Çeçen F., Gönenç I. E. **1994** Nitrogen removal characteristics of nitrification and denitrification filters. *Water Sci. Technol.* **29** (10/11), 409-416.
- Cheng S., Chen W. **1994** Organic carbon supplement influencing performance of biological nitrification in a fluidized bed reactor. *Water Sci. Technol.* **30** (11), 131-142.

- Cuervo F. M., Martínez F., Gutiérrez-Rojas M., Noyola R. A., Gómez J. **1999** Effect of nitrogen loading rate and carbon source on denitrification and sludge settleability in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Water Sci. Technol.* **40** (8), 123-130.
- Fernández-Peteiro A., Omil F., Lema J. M. **2003** Tratamiento de los efluentes de producción de tableros de fibra. *Ingeniería Química*, Enero, 68-78.
- Fernández-Polanco F., Villaverde S., García P. A. **1994** Temperature effect on nitrifying bacteria activity in biofilters: activation and free ammonia inhibition. *Water Sci. Technol.* **30** (11), 121-130.
- Gamo E., Alonso V., Martín A., Borja R. **1996** Eliminación biológica de nitrógeno en aguas residuales. *Ingeniería Química*, Septiembre, 333-341.
- Garrido J. M. **1996** Nitrificación e desnitrificación de aguas residuales con concentraciones elevadas de formaldehído e urea. Tesis de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela.
- Hanaki K., Wantawin C., Ohgaki S. **1990** Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Water Res.* **24** (3), 297-302.
- Hanaki K., Hong Z., Matsuo T. **1992** Production of nitrous oxide gas during denitrification of wastewater. *Water Sci. Technol.* **26** (5/6), 1027-1036.
- Henze M., Harremoës P., Jansen J. C., Arvin E. **1996** Basic biological processes. *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes*, 2nd Ed., Springer-Verlag, Berlin.
- Hwang S., Hanaki K. **2000** Effects of oxygen concentration and moisture content of refuse on nitrification, denitrification and nitrous oxide production. *Bioresource Technol.* **71**, 159-165.
- Hyungseok Y., Kyu-Hong A., Hyung-Jib L., Kwang-Hwan L., Youn-Jung K., Kyung-Guen S. **1999** Nitrogen removal from synthetic wastewater

- by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. *Water Res.* **33** (1), 145-154.
- Ilies P., Mavinic S. **2001** A pre- and post- denitrification system treating a very high ammonia landfill leachate: effects of pH change on process performance. *Environ. Technol.* **22**, 289-300.
- Knowles R. **1982** Denitrification. *Microbiol. Reviews* **46** (1), 43-60.
- Kornaros M., Lyberatos G. **1998** Kinetic modelling of *Pseudomonas Denitrificans* growth and denitrification under aerobic, anoxic and transient operating conditions. *Water Res.* **32** (6), 1912-1922.
- Lee M. W., Park J. M. **1998** Biological nitrogen removal from coke plant wastewater with external carbon addition. *Water Environ. Res.* **70** (5), 1090-1095.
- Lie E., Welander T. **1994** Influence of dissolved oxygen and oxidation-reduction potential on the denitrification rate of activated sludge. *Water Sci. Technol.* **30** (6), 91-100.
- Mateju V., Cizinska S., Krejci J., Janoch T. **1992** Biological water denitrification - A review. *Enzyme Microbiol. Technol.* **14**, 170-183.
- Méndez R., Sánchez M., Garrido J. M., Lema J. M. **1996** Evaluación de tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno. *Comunicaciones del III Congreso Ibérico de Biotecnología*, Valladolid, España, pp. 39-44.
- Mosquera A. **1998** Eliminación biológica de carbono y nitrógeno de efluentes de la industria conservera de productos marinos. Tesis de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela.
- Nyberg U., Aspegren H., Andersson B., Jansen J. C., Villadsen I. S. **1992** Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. *Water Sci. Technol.* **26** (5/6), 1077-1086.

- Nyberg U., Andersson B., Aspegren H. **1996** Long-term experiences with external carbon sources for nitrogen removal. *Water Sci. Technol.* **33** (12), 109-116.
- Oh J., Silverstein J. **1999** Oxygen inhibition of activated sludge denitrification. *Water Res.* **33** (8), 1925-1937.
- Pai S., Chong N., Chen C. **1999** Potential applications of aerobic denitrifying bacteria as bioagents in wastewater treatment. *Bioresource Technol.* **68**, 179-185.
- Purtschert I., Siegrist H., Gujer W. **1996** Enhanced denitrification with methanol at WWTP Zürich-Werdhölzli. *Water Sci. Technol.* **33** (12), 117-126.
- Rotaetxe J. **1996** Los lodos activados en el control de una planta de tratamiento de aguas residuales. *Ingeniería Química*, Noviembre, 127-133.
- Tam N. F. Y., Wong Y. S., Leung G. **1992** Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process. *Water Res.* **26** (9), 1229-1236.
- Tseng C., Potter T. G., Koopman B. **1998** Effect of influent chemical oxygen demand to nitrogen ratio on a partial nitrification/complete denitrification process. *Water Res.* **32** (1), 165-173.
- Walker J. F. **1964** Formaldehyde. *American Chemical Society Monograph Series*, 3rd Ed., Reinhold Publishing Corporation, New York, Amsterdam, London.
- Watson S. W., Bock E., Harms H., Koops H. P., Hooper A. B. **1989** Nitrifying bacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 8th Ed., Vol. 3, Williams and Wilkins (Eds.).
- Wilén B., Balmér P. **1999** The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.* **33** (2), 391-400.

Capítulo 2. Materiales y métodos

Capítulo 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. TÉCNICAS ANALÍTICAS

En este apartado se describen las técnicas analíticas utilizadas para la determinación de los distintos parámetros analizados durante la realización de este trabajo.

En los casos en los que se hayan empleado rectas de calibrado para la determinación cuantitativa, se presenta una de las obtenidas como significativa del grupo de rectas de calibrado elaboradas durante todo el estudio. El análisis de los datos se lleva a cabo usando el método de mínimos cuadrados.

2.1.1. Formaldehído

El formaldehído se determina espectrofotométricamente mediante un método basado en la reacción de Hantzsch (Nash, 1953), en el que la solución acuosa de formaldehído reacciona con acetilacetona e iones amonio para formar diacetilhidrolutidina, compuesto coloreado cuyo máximo de absorción se encuentra a 412 nm.

Siguiendo este método, a un volumen determinado de la solución de formaldehído se le añade igual volumen de las disoluciones de acetilacetona (3.9 g/L) y acetato de amonio (200 g/L). Esta mezcla se introduce en un frasco tapado dentro de un baño de agua termostatzado a 40°C durante 15 minutos, formándose una solución amarilla que se deja enfriar durante una hora, protegida de la luz. Al cabo de este tiempo, se determina la absorbancia a 412 nm usando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11 UV/Vis y una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Todos los análisis se llevan a cabo por duplicado y para cada grupo de medidas se prepara un blanco con agua destilada.

En la Figura 2.1 se presenta un calibrado típico para la determinación de formaldehído.

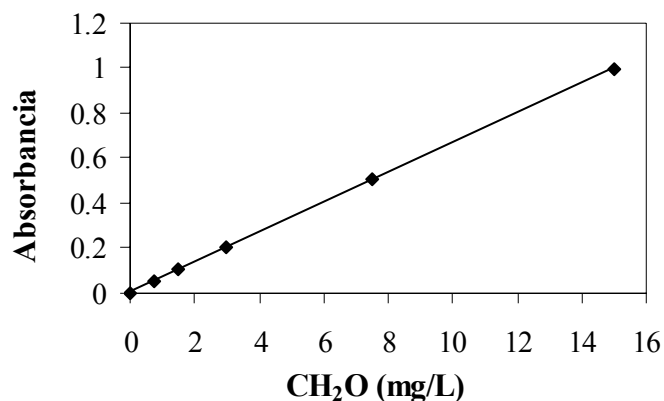


Figura 2.1. Calibrado de formaldehído ($A = 0.0664 [CH_2O] + 0.0052$).

2.1.2. Metanol

El metanol se analiza por cromatografía de gases (CG). Esta técnica se basa en la inyección de la muestra vaporizada en el inicio de la columna. La muestra es transportada a lo largo de la columna impulsada por una fase móvil gaseosa inerte. Los componentes de dicha muestra se separan debido a las diferencias en su perfil de partición entre la fase estacionaria y la fase móvil (Walter, 1997).

Para el análisis de metanol se emplea un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 Serie II con un detector de ionización de llama (FID). Se usa una columna de 30 m de longitud y de 0.25 mm de diámetro interno, con un relleno de Nukol de 0.25 μ m de grosor. Como gas portador se utiliza nitrógeno con un caudal de 1.5 mL/min. La inyección se realiza con un inyector automático Hewlett Packard 7673 y el volumen de muestra inyectado es de 1 μ L. Las temperaturas del inyector y del detector se fijan en 250 y 270°C, respectivamente. Se establece un programa de temperaturas para el horno, comenzando en 90°C y aumentando 3°C/min hasta alcanzar los 100°C.

En las Figuras 2.2 y 2.3 se representan calibrados típicos para el análisis de metanol para concentraciones comprendidas entre 5 y 1000 mg CH₃OH/L.

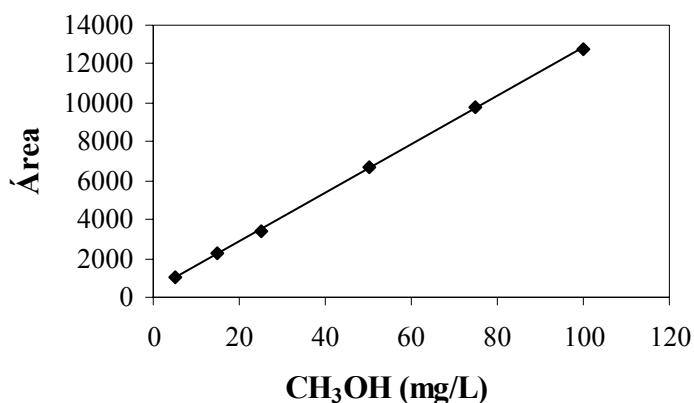


Figura 2.2. Calibrado de metanol para concentraciones comprendidas entre 5 y 100 mg CH₃OH/L ($A = 124.70 [CH_3OH] + 357.65$).

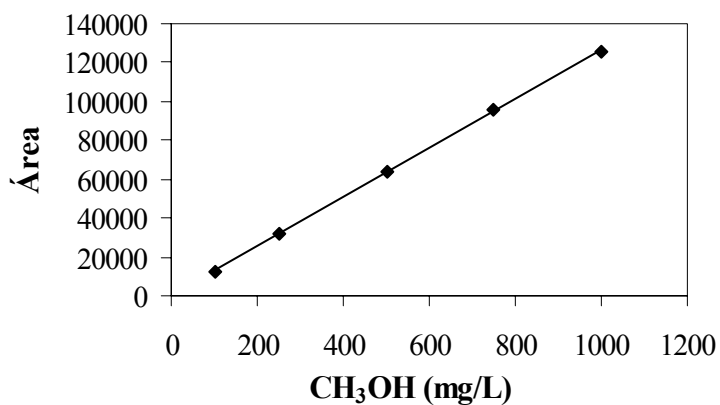


Figura 2.3. Calibrado de metanol para concentraciones comprendidas entre 100 y 1000 mg CH₃OH/L ($A = 125.59 [CH_3OH] + 607.91$).

2.1.3. Ácido fórmico

El ácido fórmico se determina por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Esta técnica se basa en una separación física de los componentes de una muestra en dos fases, una móvil y otra estacionaria fijada sobre un soporte. La fase móvil va solubilizando a los componentes, de modo que estos son eluidos a distintos tiempos en función de la fuerza

con la que sean retenidos por la fase estacionaria y su grado de solubilidad en la fase móvil (Hanai, 1999).

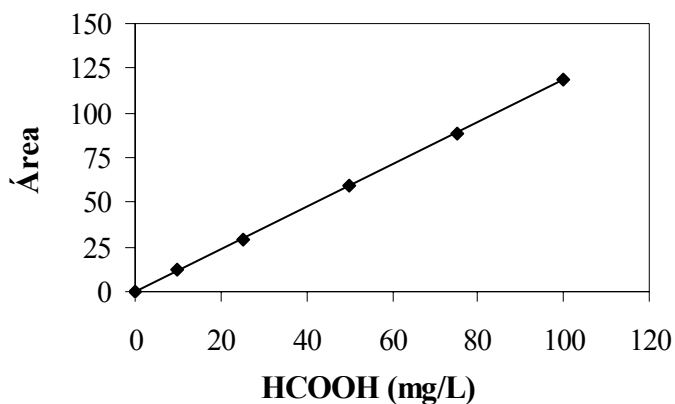


Figura 2.4. Calibrado de ácido fórmico para concentraciones comprendidas entre 5 y 100 mg HCOOH/L ($A = 1.1821 [HCOOH] + 0.0648$).

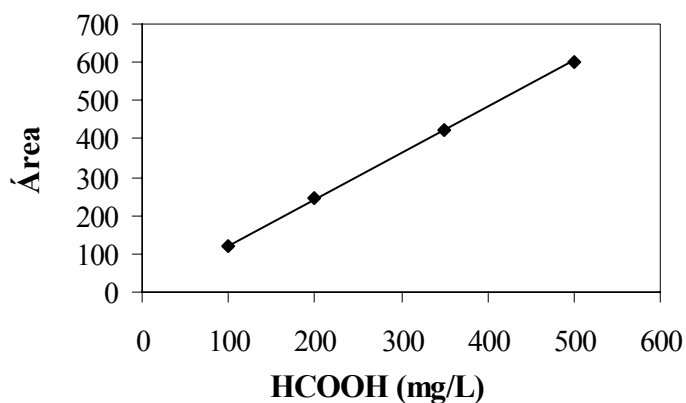


Figura 2.5. Calibrado de ácido fórmico para concentraciones comprendidas entre 100 y 500 mg HCOOH/L ($A = 1.2083 [HCOOH] - 0.6564$).

Para la determinación de ácido fórmico se utiliza un equipo Hewlett Packard Series 1100 con un detector UV/Vis de longitud de onda múltiple. Se emplea una columna C-18 ODS de 25 cm de longitud y de 4 mm de diámetro interno. Como fase móvil se utiliza acetonitrilo al 2% y ácido

fosfórico al 0.1% en proporción 80:20 y a un caudal de 1 mL/min. El volumen de inyección es de 20 μ L y la longitud de onda empleada para la detección es 210 nm.

En las Figuras 2.4 y 2.5 se representan calibrados típicos obtenidos para la determinación de ácido fórmico para concentraciones comprendidas entre 5 y 500 mg HCOOH/L.

2.1.4. Fenol

El fenol se analiza por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Se utiliza un equipo Hewlett Packard Series 1100 con un detector UV/Vis de longitud de onda múltiple. Se emplea una columna C-18 ODS de 25 cm de longitud y de 4 mm de diámetro interno. Como fase móvil se utiliza metanol y agua Milli-Q en proporción 60:40 y a un caudal de 1 mL/min. El volumen de inyección es de 20 μ L y la longitud de onda empleada para la detección es 280 nm.

En la Figura 2.6 se representa un calibrado típico para la determinación de fenol para concentraciones comprendidas entre 1 y 60 mg C₆H₆O/L.

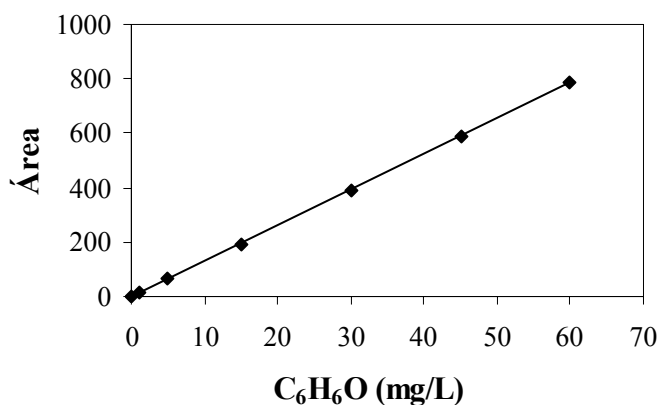


Figura 2.6. Calibrado de fenol ($A = 13.0864 [C_6H_6O] - 0.9142$).

2.1.5. Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) es una medida que indica el nivel de contaminación que presenta el agua residual debida a materia orgánica y compuestos oxidables. Se define como la cantidad de oxígeno (mg O₂/L) necesaria para la oxidación de toda la materia orgánica y compuestos oxidables contenidos en un volumen de muestra. La medición de este parámetro se lleva a cabo utilizando un método semimicro (Soto y col., 1989), simplificación del método descrito en “Standard Methods” (APHA, 1998).

Para la determinación de la DQO se digiere la muestra con una mezcla de dicromato de potasio y ácido sulfúrico durante dos horas a 150°C, utilizando sulfato de plata como catalizador y sulfato de mercurio para eliminar posibles interferencias del ion cloruro. Tras la digestión, el dicromato de potasio en exceso se valora con una disolución de sulfato de amonio y hierro utilizando ferroína como indicador. Cada vez que se realiza un grupo de determinaciones, el sulfato de amonio y hierro se valora con un patrón de dicromato de potasio ya que su concentración varía con el tiempo. Todas las determinaciones se llevan a cabo por duplicado y la DQO se calcula teniendo en cuenta un blanco con agua destilada.

En este trabajo se determina la DQO soluble y para ello antes del análisis se filtran todas las muestras con filtros de membrana de 0.45 µm de diámetro de poro.

2.1.6. Carbono orgánico total (COT) y carbono inorgánico (CI)

El carbono orgánico total (COT) se define como la cantidad de carbono (mg C/L) que forma parte de la materia orgánica en un volumen de muestra y el carbono inorgánico (CI) como la cantidad de carbono inorgánico (mg C/L) en un volumen de muestra. La suma del COT y del CI constituye el carbono total (CT) presente en una muestra. La medición de estos parámetros se lleva a cabo utilizando un equipo Shimadzu TOC-5050A con un muestreador automático Shimadzu ASI-5000A.

La muestra se filtra previamente a través de filtros de membrana de 0.45 μm de diámetro de poro y se inyecta una microporción en una cámara de reacción calentada a 680°C y rellena con un catalizador oxidante (platino sobre alúmina). El agua se vaporiza y el carbono orgánico e inorgánico se oxida a dióxido de carbono y agua. El dióxido de carbono obtenido es transportado mediante un gas portador (aire de alta pureza) hasta un analizador infrarrojo no dispersivo, obteniendo así el CT. A continuación es necesario medir el CI para calcular por diferencia el COT. Este se determina inyectando la muestra en una cámara de reacción donde el gas portador (aire de alta pureza) burbujea en ácido fosfórico. Bajo estas condiciones, el carbono orgánico no se oxida y sólo se mide el CI en el analizador infrarrojo.

En las Figuras 2.7, 2.8 y 2.9 se representan calibrados típicos de CT y CI para concentraciones comprendidas entre 1 y 1000 mg C/L.

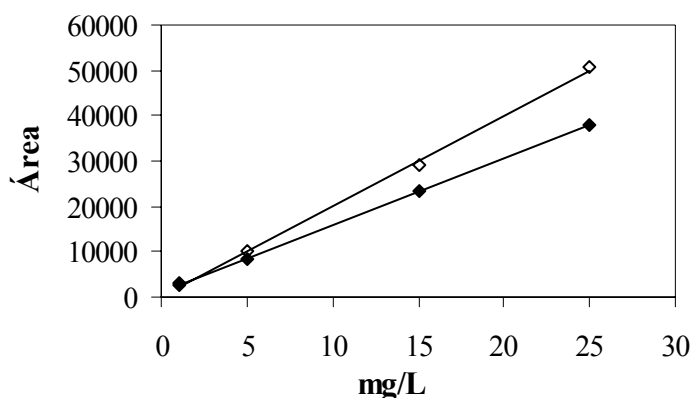


Figura 2.7. Calibrado de CT (◆) y CI (◇) para concentraciones comprendidas entre 1 y 25 mg C/L ($A = 1470.29 \text{ CT} + 1287.22$; $A = 1987.07 \text{ CI} + 288.63$).

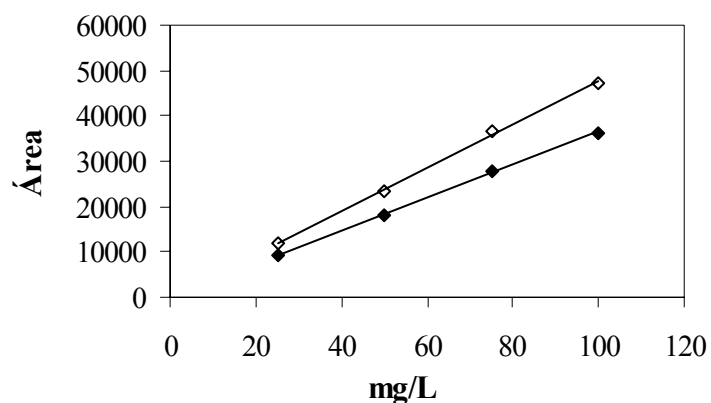


Figura 2.8. Calibrado de CT (♦) y CI (◇) para concentraciones comprendidas entre 25 y 100 mg C/L ($A = 360.92 \text{ CT} + 383.17$; $A = 477.72 \text{ CI} - 122.00$).

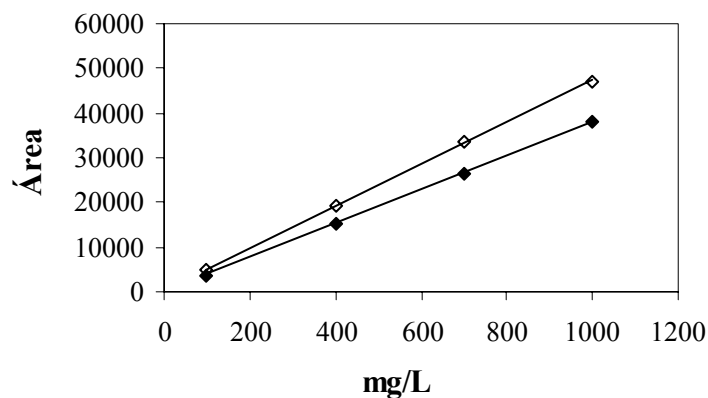


Figura 2.9. Calibrado de CT (♦) y CI (◇) para concentraciones comprendidas entre 100 a 1000 mg C/L ($A = 37.90 \text{ CT} + 57.42$; $A = 46.98 \text{ CI} + 40.26$).

2.1.7. Amonio

La concentración de nitrógeno como amonio se determina mediante un electrodo selectivo de amoníaco, modelo Ingold, conectado a un medidor de mV/pH Crison 506. Dicha determinación sigue el procedimiento descrito en “Standard Methods” (APHA, 1998).

Sobre un volumen de muestra de 50 mL (para bajas concentraciones de amonio) o de 30 mL (para altas concentraciones), se añaden respectivamente 0.5 o 0.3 mL de hidróxido de sodio (10 mol/L), alcanzando un pH superior a 11 y convirtiendo así el amonio presente en amoníaco libre.

En las Figuras 2.10 y 2.11 se presentan calibrados típicos obtenidos para bajas concentraciones (comprendidas entre 0.05 y 0.5 mg N-NH₄⁺/L) y para altas concentraciones (comprendidas entre 1 y 1000 mg N-NH₄⁺/L).

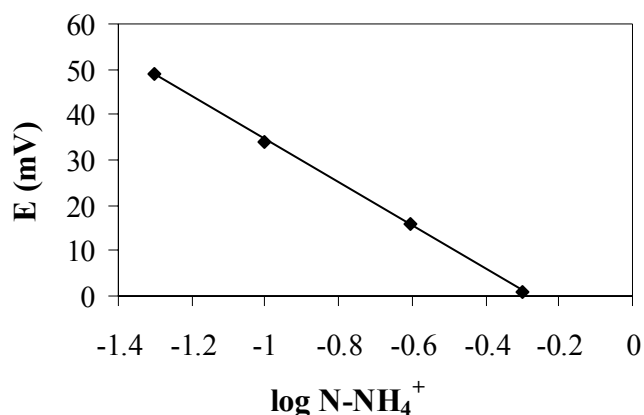


Figura 2.10. Calibrado de amonio para concentraciones comprendidas entre 0.05 y 0.5 mg N-NH₄⁺/L ($E = -0.0210 \log [N-NH_4^+] - 0.2763$).

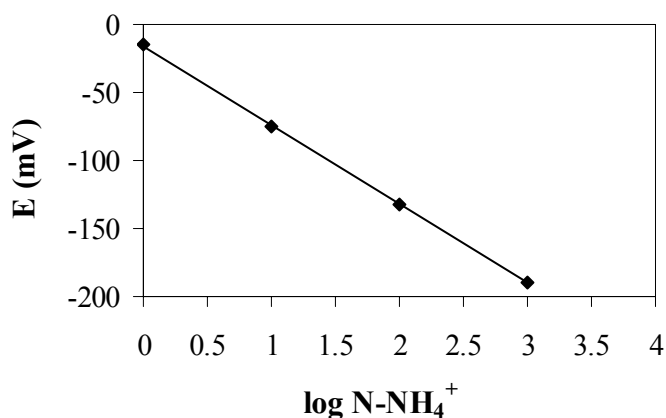


Figura 2.11. Calibrado de amonio para concentraciones comprendidas entre 1 y 1000 mg N-NH₄⁺/L ($E = -0.0172 \log [N-NH_4^+] - 0.2754$).

2.1.8. Nitrito y nitrato

La determinación de nitrito y nitrato se lleva a cabo mediante la técnica de electroforesis capilar (Amram *y col.*, 1992; Harrold *y col.*, 1993). Dicha técnica consiste en aplicar una corriente eléctrica a un microcapilar, de esta forma se crea un campo eléctrico que produce un flujo electroosmótico y hace migrar a las especies cargadas a distintas velocidades. La separación se basa en las diferencias existentes entre las movilidades de las especies cargadas en presencia de dicho flujo. Dichas diferencias dependen de la carga de las especies y de las fuerzas de fricción, que están relacionadas con la forma y tamaño de las especies analito así como con la viscosidad del medio (Li, 1993).

Para la determinación de nitrito y nitrato se utiliza un equipo Hewlett Packard ^{3D}CE. El capilar utilizado es de sílice fundida con una longitud efectiva de 40 cm y un diámetro interno de 50 μm . Como electrolito conductor de la corriente se emplea una disolución de fosfato de sodio (0.1 mol/L). La inyección de la muestra se efectúa por presión a 50 mbar durante 4 segundos. Las determinaciones se realizan a un voltaje de 30 kV con polaridad negativa y a una temperatura de 30°C. La detección de los iones se lleva a cabo a una longitud de onda de 214 nm, utilizando 450 nm como longitud de onda de referencia.

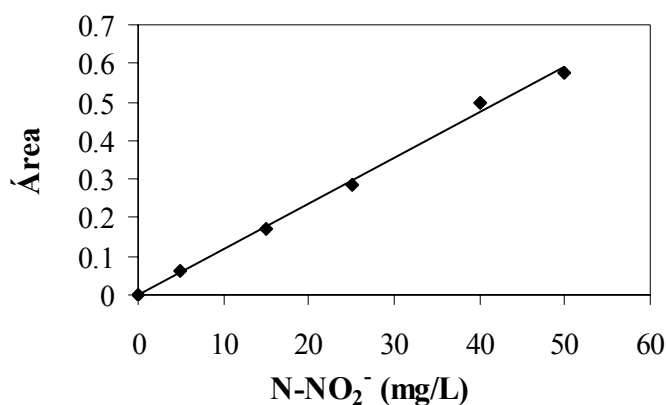


Figura 2.12. Calibrado de nitrito ($A = 0.0119 [N-NO_2^-] - 0.0010$).

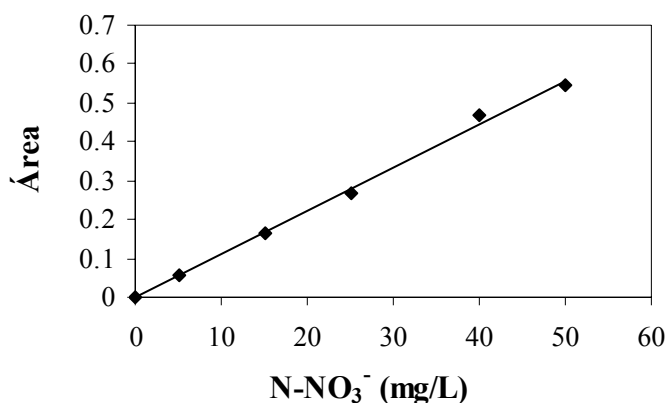


Figura 2.13. Calibrado de nitrato ($A = 0.0112 [N-NO_3^-] - 0.0015$).

Para la realización de los análisis, las muestras se filtran previamente a través de filtros de membrana de 0.45 μm de diámetro de poro. La calibración se lleva a cabo con patrones de concentraciones de nitrito y nitrato comprendidas entre 5 y 50 mg N/L (Figuras 2.12 y 2.13, respectivamente).

2.1.9. Nitrógeno total Kjeldahl (NTK)

Bajo la denominación de nitrógeno total Kjeldahl (NTK) se incluyen el nitrógeno como amonio y los compuestos nitrogenados de tipo orgánico, a excepción de aquellos que se encuentran en forma de azida, azina, azo, hidrazona, nitrito, nitrato, nitrilo, nitroso, oxima o semicarbazona.

El método utilizado para su determinación consiste en la digestión en caliente de un volumen de muestra con una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y ácido fosfórico en proporción 9:1. La digestión se realiza en presencia de selenio como catalizador y de una mezcla de sulfato de cobre y sulfato de potasio que eleva el punto de ebullición de la mezcla líquida. El ácido sulfúrico se reduce gradualmente a dióxido de azufre y agua, el carbono y el hidrógeno de la materia orgánica se oxidan a dióxido de carbono y agua y el nitrógeno se transforma en sales de amonio. Tras la digestión se efectúa la destilación, previa adición de una disolución

concentrada de hidróxido de sodio, con el fin de convertir el amonio en amoníaco y facilitar su desorción y posterior arrastre por la fase vapor para ser finalmente recogido sobre una disolución de ácido bórico. Este se valora con una disolución de ácido clorhídrico de concentración conocida, empleando como indicador una mezcla de verde de bromocresol y naranja de metilo.

Todas las muestras se filtran previamente con filtros de membrana de 1.2 μm de diámetro de poro, obteniéndose la concentración de NTK soluble.

2.1.10. Composición del biogás

La determinación de la composición del biogás (N_2 , CH_4 y CO_2) se realiza por cromatografía de gases (CG), empleando un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 Serie II con un detector de conductividad térmica (TCD). Se emplea una columna de acero inoxidable de 2 m de longitud y de 1/8" de diámetro interno, con un relleno de PORAPACK Q de malla W80/100. Las temperaturas del inyector, columna y detector se fijan en 90, 25 y 100°C, respectivamente. Como gas portador se utiliza helio con un caudal de 15 mL/min. El volumen de muestra inyectada es de 1 mL.

En las Figuras 2.14, 2.15 y 2.16 se representan calibrados típicos de nitrógeno, metano y dióxido de carbono, respectivamente.

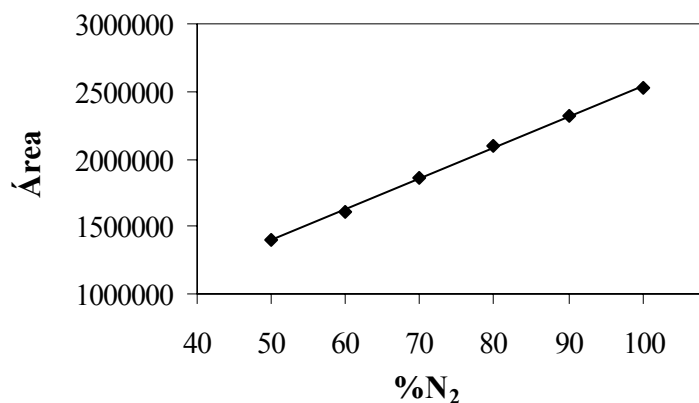


Figura 2.14. Calibrado de nitrógeno ($A = 22794 \%N_2 + 259163$).

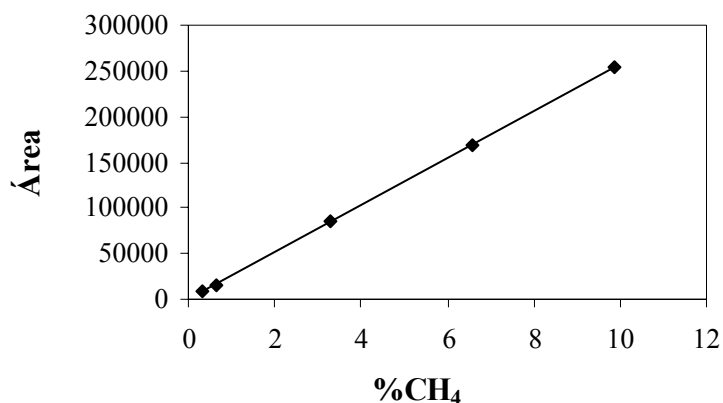


Figura 2.15. Calibrado de metano ($A = 25909 \%CH_4 - 812$).

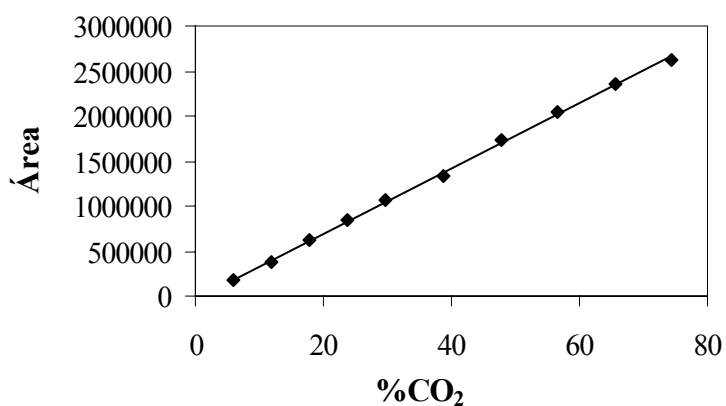


Figura 2.16. Calibrado de dióxido de carbono ($A = 36160 \%CO_2 - 29069$).

2.1.11. Sólidos en suspensión totales (SST) y volátiles (SSV)

Los sólidos en suspensión se determinan según el método descrito en “Standard Methods” (APHA, 1998), mediante filtración a vacío de un volumen conocido de muestra sobre un filtro de membrana de 1.2 μm de diámetro de poro, previamente calcinado y enfriado hasta peso constante. El filtro con el residuo retenido se seca hasta peso constante a 110°C y el aumento de peso del filtro representa los SST. A continuación se incinera el

filtro en la mufla hasta peso constante a 550°C y por diferencia gravimétrica se determinan los SSV.

2.1.12. pH

Para la determinación del pH se utiliza un electrodo combinado Ingold U455-S7 conectado a un medidor pH/mV Crison 507. Previamente a su medida se realiza un calibrado del electrodo empleando disoluciones tampón Crison de pH 4.00 y 7.02 a 20°C.

2.1.13. Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto se analiza mediante un electrodo selectivo de oxígeno, CellOx 325, conectado a un medidor Crison Oxi 330. La calibración se efectúa de forma automática, previa a la medida, utilizando el vaso de calibración OxiCal^R, con aire saturado de vapor de agua.

2.1.14. Microscopía electrónica de barrido

Para la observación de la flora microbiana presente en el lodo se utiliza la microscopía electrónica de barrido (Kratochvil y *col.*, 1996). Para ello es necesario llevar a cabo una preparación previa de la muestra de lodo.

La primera etapa consiste en la fijación de la muestra con glutaraldehído al 3% y tetraóxido de osmio al 1%, ambas disoluciones preparadas en tampón fosfato (0.025 mol/L) a pH 7. Para la fijación se deja la muestra en cada una de estas disoluciones por un período de dos horas, haciendo un lavado intermedio y al final con tampón fosfato.

A continuación se deshidrata la muestra mediante el uso de disoluciones acuosas de etanol de concentraciones crecientes, con los siguientes porcentajes en volumen: 30, 50, 70, 90 y 100%. La muestra se deja durante aproximadamente 15 minutos en cada una de las disoluciones.

Posteriormente, la muestra deshidratada se somete a secado al punto crítico de dióxido de carbono utilizando un Critical Point Dryer Bal-Tec CPD030.

La muestra así preparada se monta en un portamuestras de bronce de 32 mm de diámetro mediante cinta de carbono doblemente conductora y se metaliza con oro con un espesor de 25 μm en un Sputter Coater Bal-Tec SCD004.

La muestra, una vez metalizada, se guarda en un desecador a vacío para luego ser observada en un microscopio electrónico de barrido Jeol Scanning Microscope JSM-6400 operando a 15 kV.

2.2. REFERENCIAS

- Amram M. B., Lakkis M. D., Lagarde F., Leroy M. J. F., López-Sánchez J. F., Rauret G. **1992** Separation of bromide, bromate, iodide, iodate, nitrite, nitrate and selenite anions by capillary zone electrophoresis. *J. Anal. Chem.* **345**, 420-423.
- APHA-AWWA-WPCF **1998** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Ed., Washington DC, USA.
- Hanai T. **1999** HPLC: a practical guide. *Ed. Cambridge Royal Society of Chemistry*.
- Harrold M. P., Wojtusik M. J., Riviello J., Henson P. **1993** Parameters influencing separation and detection of anions by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* **640**, 463-471.
- Kratochvil K., Wase D. A. J., Forster C. F. **1996** The formation and characterization of a granular sludge in an anoxic USB reactor. *Trans IChemE* **74** (B), 94-98.
- Li S. F. Y. **1993** Capillary electrophoresis: principles, practice and applications. *Ed. Elsevier*.
- Nash T. **1953** The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.* **55**, 416-421.
- Soto M., Veiga M. C., Méndez R., Lema J. M. **1989** Semimicro COD determination method for high-salinity wastewater. *Environ. Technol. Lett.* **10**, 541-548.

Walter J. **1997** Analytical gas chromatography. *Ed. San Diego Academic Press.*

Capítulo 3. Biodegradación aerobia y efecto del formaldehído sobre el proceso de nitrificación

Capítulo 3. BIODEGRADACIÓN AEROBIA Y EFECTO DEL FORMALDEHÍDO SOBRE EL PROCESO DE NITRIFICACIÓN

RESUMEN

Este capítulo se centra en el estudio de la eliminación simultánea de formaldehído y amonio en sistemas de lodos activos. Para ello se llevaron a cabo ensayos aerobios en discontinuo y en un reactor de lodos activos.

En los ensayos aerobios en discontinuo se estudió la biodegradación de formaldehído y su efecto sobre el proceso de nitrificación, así como la influencia del metanol sobre ambos procesos. El formaldehído se degradó completamente a las concentraciones ensayadas tanto como única fuente de carbono (30 - 3890 mg CH₂O/L) como en presencia de metanol (30 - 2800 mg CH₂O/L). Para una concentración de formaldehído de 2000 mg/L, se obtuvo una velocidad inicial de biodegradación de 4.6 g CH₂O/g SSV·d como única fuente de carbono y de 7.3 g CH₂O/g SSV·d en presencia de metanol. El formaldehído a concentraciones elevadas causó inhibición del proceso de nitrificación, resultando completamente inhibido a concentraciones iniciales de formaldehído superiores a 1500 mg/L. Un aumento en la concentración de formaldehído o la adición de metanol provocó una mayor fase de retardo y un descenso en el porcentaje de nitrificación.

A continuación, se estudió la biodegradación de formaldehído y su efecto sobre el proceso de nitrificación en un reactor aerobio de lodos activos. Se operó a un tiempo de retención hidráulica de 2.4 d con una concentración de amonio en el influente de 350 mg N-NH₄⁺/L, manteniendo la velocidad de carga de amonio en 0.15 kg N-NH₄⁺/m³·d. La velocidad de carga orgánica aplicada se varió entre 0.01 y 1.40 kg DQO/m³·d, aumentando la concentración de formaldehído en el influente (26 - 3168 mg/L). Durante todo el período de operación se obtuvieron porcentajes de eliminación de formaldehído y de amonio elevados, superiores al 98.7% y al 99.9%, respectivamente. La concentración de amonio en el efluente fue menor de 0.1 mg N-NH₄⁺/L a todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, indicando que no hubo inhibición de la nitrificación.

3.1. INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales de las industrias productoras de formaldehído y resinas se caracterizan por poseer un elevado contenido en compuestos nitrogenados (56 - 1462 mg NTK/L) y orgánicos, principalmente formaldehído (7 - 2711 mg CH₂O/L). En la mayoría de los casos la eliminación simultánea de la materia orgánica y nitrogenada puede llevarse a cabo mediante procesos biológicos, siendo el proceso de lodos activos el más utilizado para el tratamiento de las aguas mencionadas. En dicho tratamiento el nitrógeno es eliminado mediante el proceso de nitrificación-desnitrificación, en el cual la etapa de nitrificación suele ser la limitante.

Como se ha indicado en el Apartado 1.1.4 del Capítulo 1, en la planta de tratamiento de aguas residuales de la empresa productora de formaldehído y resinas (FORESA) se emplea un reactor biológico de lodos activos de tipo aireación prolongada con una cámara anóxica previa. En la zona aerobia de dicho reactor tiene lugar el proceso de nitrificación y en la zona anóxica, el de desnitrificación. Generalmente, la mayor parte del formaldehído se elimina en la parte anóxica pero, si existen vertidos puntuales altamente contaminados, puede pasar una elevada cantidad de este compuesto a la zona aerobia. Además, cuando la relación DQO/N no es suficiente para llevar a cabo la desnitrificación se añade metanol como fuente de carbono externa y parte de este metanol también puede pasar a la zona aerobia. Por tanto, resulta interesante estudiar la biodegradación aerobia de formaldehído como única fuente de carbono y en presencia de metanol, así como el efecto de ambos compuestos sobre el proceso de nitrificación.

El formaldehído es un compuesto producido mediante la oxidación catalítica de metanol y ampliamente usado en la industria química, encontrándose frecuentemente en efluentes líquidos y gaseosos (Prado *y col.*, 2003). Debido a su toxicidad, el formaldehído se utiliza como ingrediente activo en agentes desinfectantes para inhibir el crecimiento biológico; a pesar de ello, existen diversas referencias sobre sistemas biológicos para el tratamiento aerobio de aguas residuales que contienen este compuesto.

Bonastre *y col.* (1986) estudiaron la cinética de biodegradación de formaldehído en un sistema de lodos activos y encontraron que puede ser descrita usando el modelo de Vavilin. En ensayos discontinuos con lodo

activo obtuvieron degradación parcial de concentraciones de formaldehído de 2300 mg/L.

Adroer y *col.* (1990) investigaron la biodegradación de 400 mg/L de formaldehído como única fuente de carbono, en un ensayo en discontinuo, por bacterias *Pseudomonas putida* A2 aisladas del lodo de una planta industrial de tratamiento. La biodegradación se inició con la reacción de dismutación del formaldehído, produciendo ácido fórmico y metanol, cuya degradación tuvo lugar una vez agotado el formaldehído.

Azachi y *col.* (1995) encontraron que 100 mg/L de formaldehído pudieron ser degradados en un medio salino por bacterias del tipo *Halomonas sp.* MA-C sin inhibir su crecimiento. Dichas bacterias fueron aisladas de una muestra de suelo de una planta de fabricación de resinas. Añadiendo formiato a un medio de cultivo enriquecido con formaldehído, ambos compuestos fueron metabolizados rápidamente y no se observó acumulación de formiato.

Yamazaki y *col.* (2001) investigaron la biodegradación de formaldehído por una bacteria resistente a este compuesto aislada de agua de mar y encontraron que podía degradar hasta 400 mg/L de formaldehído en un medio salino (3% NaCl).

Hidalgo y *col.* (2002) estudiaron la biodegradación de formaldehído en presencia de fenol por *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 aislados de un agua residual contaminada con fenol. El formaldehído fue eliminado tanto como única fuente de carbono como en presencia de hasta 800 mg/L de fenol.

3.2. OBJETIVOS

Dentro del plan general de trabajo, este capítulo se centra en el estudio de la eliminación simultánea de formaldehído y amonio en sistemas de lodos activos. Para ello se llevaron a cabo ensayos aerobios en discontinuo y en un reactor de lodos activos. Los objetivos concretos del presente trabajo son los siguientes:

Ensayos aerobios en discontinuo

- Estudio de la biodegradación aerobia de formaldehído cuando este se encuentra como única fuente de carbono y el efecto de un cosustrato, el metanol, en dicha biodegradación.
- Análisis del efecto de diferentes concentraciones de formaldehído solo y con metanol sobre el proceso de nitrificación.

Ensayos aerobios en un reactor de lodos activos

- Estudio de la biodegradación aerobia de formaldehído mediante ensayos en continuo, trabajando en condiciones similares a las de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas.
- Análisis del efecto de la adición de cantidades crecientes de formaldehído sobre el proceso de nitrificación.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1. Ensayos aerobios en discontinuo

Después de algunos experimentos previos que permitieron definir las condiciones de operación más apropiadas, los ensayos aerobios en discontinuo se llevaron a cabo en viales de 500 mL de volumen útil, siendo el volumen de ensayo de 100 mL. Cada vial se inoculó con 3.5 g SSV/L de lodo obtenido del reactor aerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. Además, se añadieron 10 mL de una disolución de nutrientes (Tabla 3.1), 0.05 mL de una disolución de micronutrientes (Tabla 3.2) y 3.4 g/L de bicarbonato de sodio con el fin de proporcionar alcalinidad y mantener el pH alrededor de 7.5.

Finalmente, se añadió a los viales cloruro de amonio y formaldehído (sin o con metanol) para estudiar el proceso de nitrificación y la biodegradación de formaldehído. Teniendo en cuenta la concentración de amonio en los nutrientes y la que se adicionó como cloruro de amonio, la concentración final en los ensayos fue de 250 mg N-NH₄⁺/L. Los ensayos se

mantuvieron en un agitador orbital funcionando a 200 rpm situado en una cámara a 20°C. Se siguió la evolución en las concentraciones de formaldehído, nitrito y nitrato.

Tabla 3.1. Composición de la disolución de nutrientes empleada en los ensayos aerobios en discontinuo.

MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.12 g/L
KH ₂ PO ₄	0.25 g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.18 g/L
NaCl	1.00 g/L
NH ₄ Cl	0.96 g/L

Tabla 3.2. Composición de la disolución de micronutrientes.

CaCl ₂ ·2H ₂ O	7.35 g/L
MnCl ₂ ·4H ₂ O	5.06 g/L
FeSO ₄ ·7H ₂ O	5.00 g/L
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	1.05 g/L
Na ₂ (AEDT)	50.00 g/L
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.57 g/L
CoCl ₂ ·6H ₂ O	1.57 g/L
ZnCl ₂	1.04 g/L

Todos los ensayos se llevaron a cabo por duplicado y con cada grupo de experimentos se realizaron blancos y controles, los cuales se prepararon igual que el resto de ensayos, excepto que en el caso de los blancos no se añadió biomasa y en el caso de los controles se añadió biomasa esterilizada. La esterilización se realizó en una autoclave CertoClav a una temperatura de

120°C durante aproximadamente 20 minutos. La finalidad de los blancos y de los controles es comprobar si existe desaparición de formaldehído por mecanismos abióticos tales como volatilización, adsorción o transformación química.

3.3.2. Ensayos aerobios en un reactor de lodos activos

Los ensayos en continuo se llevaron a cabo en un reactor de lodos activos a escala de laboratorio que consta de un tanque de aireación y un sedimentador externo (Figura 3.1). El reactor fue construido en metacrilato y en la Tabla 3.3 se presentan sus dimensiones. En la Figura 3.2 se muestra una fotografía del sistema de lodos activos empleado.

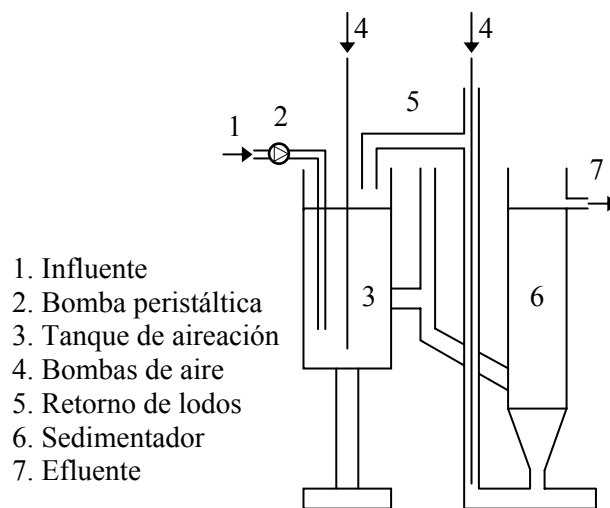


Figura 3.1. Esquema del reactor de lodos activos.

La alimentación al tanque de aireación se realizó de forma continua mediante una bomba peristáltica. En dicho tanque el agua se pone en contacto con la biomasa y tiene lugar la oxidación de la materia orgánica y nitrogenada. Inicialmente, el reactor se inoculó con 0.92 g SSV/L de lodo obtenido del reactor aerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. Una corriente de aire y la existencia de recirculación aseguraron la obtención de un buen grado de

mezcla y del oxígeno necesario para la reacción biológica. La entrada de aire se efectuó mediante el uso de una bomba de aireación conectada a un difusor de vidrio poroso.

Tabla 3.3. Dimensiones del reactor de lodos activos.

Tanque de aireación	Diámetro	$8.5 \cdot 10^{-2}$ m
	Altura	$26 \cdot 10^{-2}$ m
Sedimentador	Diámetro	$6 \cdot 10^{-2}$ m
	Altura	$43 \cdot 10^{-2}$ m
Volumen efectivo (tanque de aireación y sedimentador)		1.8 L

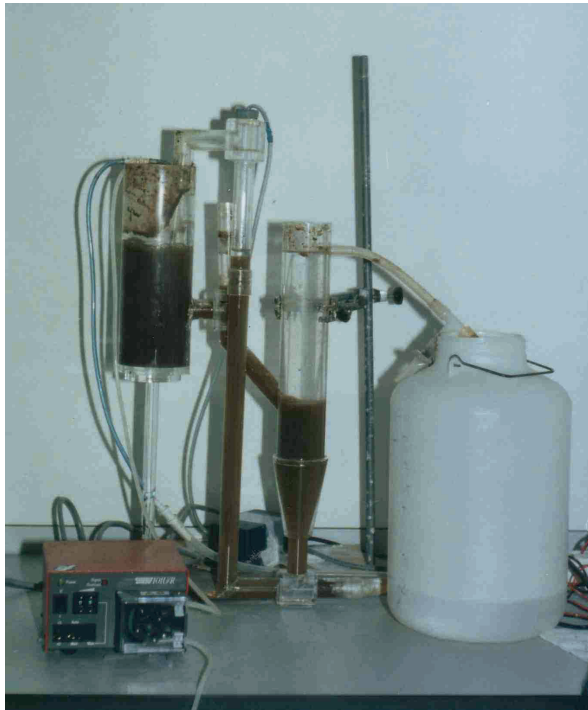


Figura 3.2. Fotografía del reactor de lodos activos.

El efluente de la zona de aireación pasa al sedimentador, donde el lodo biológico decanta separándose así del agua. El agua tratada sale por la parte superior del sedimentador mientras que en la zona inferior se acumulan los lodos que se recircularán al tanque de aireación.

La recirculación de lodos se realizó por medio de una bomba de aireación y constituye lo que en la Figura 3.1 se muestra como línea de retorno de lodos. El mecanismo de recirculación está basado en el efecto de arrastre que produce una corriente de aire que se inyecta en la parte inferior de la línea de retorno de lodos mediante un tubo dispuesto dentro de dicha línea. Así se consiguió que la biomasa acumulada en la zona inferior del sedimentador retornase al reactor. Este mecanismo estaba temporizado, funcionando durante un minuto y después permaneciendo parado durante diez minutos.

Para alimentar el sistema se utilizó agua sintética compuesta por nutrientes, bicarbonato de sodio y formaldehído. La composición de la disolución de nutrientes se indica en la Tabla 3.4 y además se le añaden 0.5 mL/L de la disolución de micronutrientes (Tabla 3.2). El bicarbonato de sodio (4.8 g/L) se emplea como tampón a fin de mantener el pH alrededor del valor óptimo para el proceso de nitrificación y evitar variaciones bruscas del mismo.

Tabla 3.4. Composición de la disolución de nutrientes empleada en el reactor aerobio.

MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.08 g/L
KH ₂ PO ₄	0.18 g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.83 g/L
NaCl	0.70 g/L
NH ₄ Cl	0.67 g/L

La disolución de nutrientes proporciona una concentración de amonio de 350 mg N-NH₄⁺/L, que es la usada a lo largo de todo el ensayo para estudiar el proceso de nitrificación. En cambio, la concentración de formaldehído en la alimentación se va aumentando paulatinamente durante el período de operación del reactor con el fin de observar su degradación y su efecto sobre el proceso de nitrificación. Cada concentración de formaldehído se mantiene durante al menos tres veces el tiempo de retención hidráulica con el fin de asegurar que se han alcanzado condiciones estacionarias. Para el seguimiento y control de la unidad se analizaron una serie de parámetros en el reactor y en el efluente: formaldehído, amonio, nitrito, nitrato, DQO, SSV, pH y oxígeno disuelto.

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1. Ensayos aerobios en discontinuo

Con el fin de estudiar la biodegradación aerobia de formaldehído como única fuente de carbono y en presencia de metanol, así como su influencia sobre el proceso de nitrificación, se llevaron a cabo ensayos aerobios en discontinuo según se ha descrito en el Apartado 3.3.1.

3.4.1.1. Biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono

Se estudió la biodegradación de formaldehído en ensayos aerobios en discontinuo y con cada grupo de experimentos se realizaron blancos y controles con la finalidad de comprobar si existió desaparición de formaldehído por mecanismos abióticos.

En los blancos, sin biomasa, la concentración de formaldehído permaneció prácticamente constante durante todo el experimento, lo cual quiere decir que no existieron pérdidas del compuesto por mecanismos abióticos. En los controles, con biomasa esterilizada, se observó que la concentración inicial (tiempo cero) de formaldehído medida mediante técnicas analíticas era inferior a la teóricamente añadida. Después, dicha concentración se mantuvo constante a lo largo de todo el experimento. Por tanto, tuvo lugar una adsorción inicial de parte del formaldehído al lodo

presente, siendo la cantidad adsorbida alrededor del 23%. Comparando con la bibliografía, otros autores encontraron pérdidas de formaldehído por bioadsorción y por transformación química (Bhattacharya y Parkin, 1988; González-Gil y *col.*, 1999).

En cuanto a los ensayos con biomasa activa, también se observó esta discrepancia entre la concentración inicial (tiempo cero) de formaldehído medida y la teóricamente añadida. Por esta razón, en todos los ensayos se ha considerado y representado la concentración de formaldehído medida analíticamente en la fase líquida.

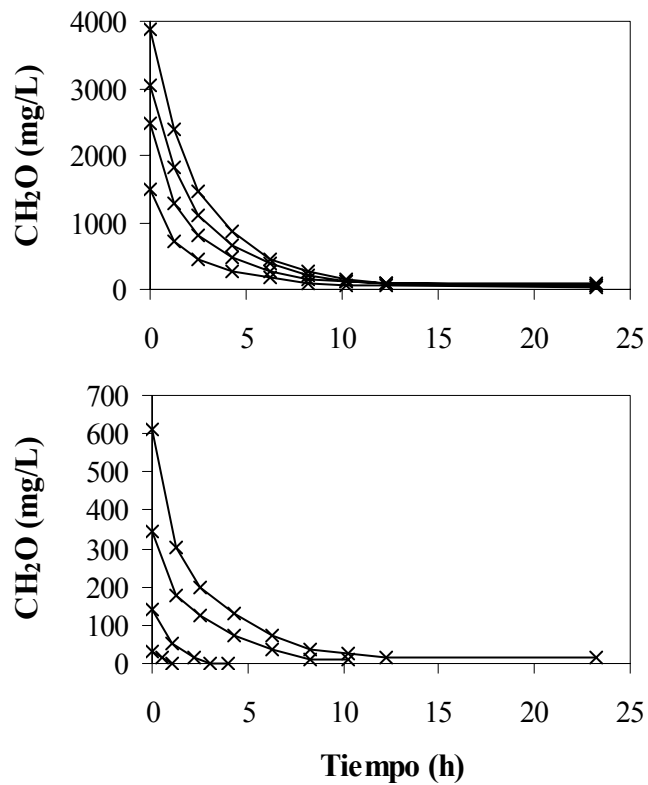


Figura 3.3. Biodegradación aerobia de diferentes concentraciones de formaldehído.

La biodegradación de formaldehído se estudió en un rango de concentraciones de 30 a 3890 mg/L (Figura 3.3). Los resultados obtenidos

muestran que fue posible la eliminación de concentraciones elevadas de formaldehído en condiciones aerobias, a pesar de su condición de compuesto tóxico y bactericida. La biodegradación completa tuvo lugar en menos de 24 h para todas las concentraciones ensayadas.

Con el fin de obtener el perfil cinético de la biodegradación de formaldehído se aplicó la metodología de las velocidades iniciales, en la cual se determinan las máximas pendientes de las curvas de disminución de la concentración a lo largo del tiempo. En la Figura 3.4 se muestran las velocidades iniciales de consumo de formaldehído frente a las concentraciones iniciales del compuesto.

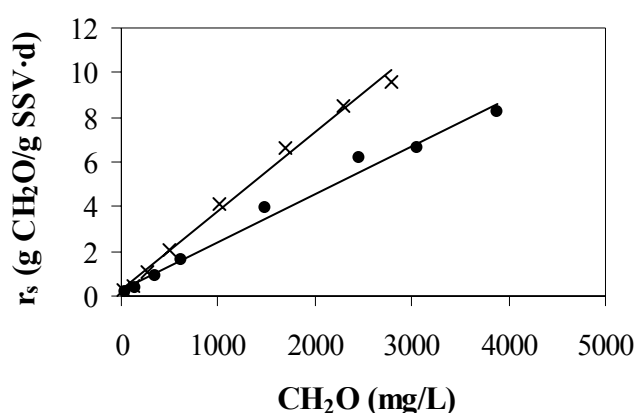


Figura 3.4. Velocidades iniciales de biodegradación (r_s) frente a concentraciones iniciales de formaldehído: (●) formaldehído como única fuente de carbono, (x) formaldehído en presencia de metanol.

Los resultados obtenidos indican elevadas velocidades de eliminación para concentraciones altas de formaldehído. Se obtuvieron velocidades iniciales de consumo de sustrato entre 0.2 y 8.2 g CH₂O/g SSV·d para concentraciones de formaldehído comprendidas entre 30 y 3890 mg/L. Se observa que al aumentar la concentración de formaldehído, su velocidad inicial de biodegradación es mayor, hasta la concentración más elevada, sugiriendo una cinética de primer orden ($r^2 = 0.9872$) y ausencia de inhibición. La constante de velocidad de primer orden obtenida es 0.31 h⁻¹,

por tanto, aproximadamente el 31% del formaldehído presente es consumido en una hora.

Las concentraciones de formaldehído degradadas por el lodo empleado en estos ensayos son superiores a las encontradas en la bibliografía. Bonastre *y col.* (1986) obtuvieron una biodegradación parcial al trabajar con concentraciones de formaldehído de 2300 mg/L en ensayos aerobios con lodos activos. Observaron que los datos experimentales no seguían una cinética de primer orden sino que tendía a órdenes superiores. Las elevadas concentraciones de formaldehído eliminadas en nuestro caso pueden deberse a la gran adaptación del lodo empleado a la presencia del compuesto en la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de resinas de la cual fue obtenido.

3.4.1.2. Biodegradación de formaldehído en presencia de metanol

Con el fin de poder comparar la biodegradación aerobia de formaldehído como única fuente de carbono con la biodegradación del mismo en presencia de un cosustrato, se llevaron a cabo ensayos con formaldehído y metanol (12.5%). El interés de estudiar la influencia de un cosustrato como el metanol en la eliminación de formaldehído es debido a que el metanol se usa en la producción industrial de formaldehído y se ha detectado en la planta de tratamiento de aguas residuales que estamos operando en la industria productora de resinas. Además, en dicha planta suele añadirse metanol cuando la relación DQO/N no es suficiente para llevar a cabo el proceso de desnitrificación. Por tanto, podría pasar parte de este metanol sin degradar al reactor aerobio.

En los ensayos con formaldehído y metanol se observó básicamente el mismo comportamiento que el descrito anteriormente para los ensayos con formaldehído como único sustrato. En los blancos, la concentración de formaldehído permaneció prácticamente constante a lo largo del tiempo, por tanto, no hubo pérdidas de compuesto por mecanismos abióticos. En los controles también se observó una discrepancia entre la concentración inicial de formaldehído medida y la teóricamente añadida, indicando adsorción inicial de parte del compuesto al lodo.

En la Figura 3.5 se representan las curvas de biodegradación de formaldehído obtenidas a diferentes concentraciones (30 - 2800 mg CH₂O/L), en presencia de metanol. El formaldehído se degradó completamente en todos los casos y el proceso tuvo lugar en menos de 24 h, al igual que en los ensayos anteriores sin cosustrato.

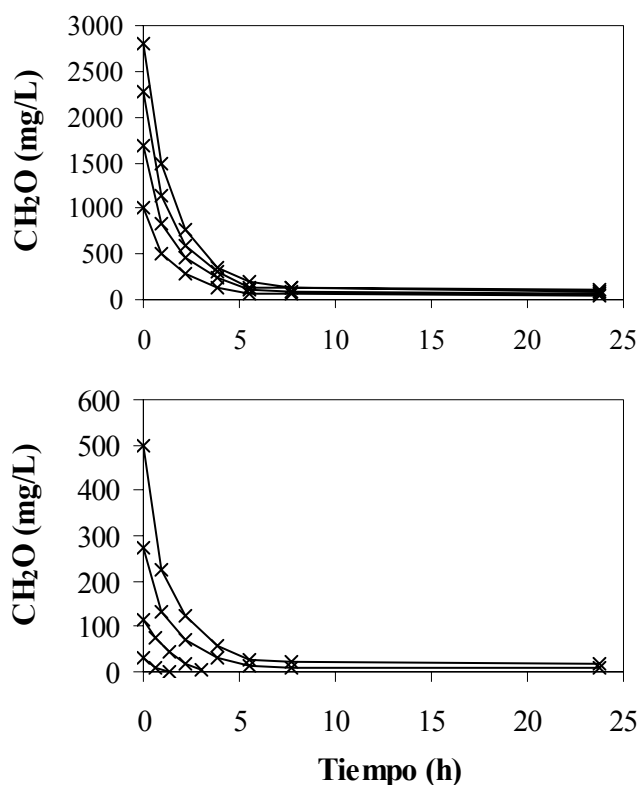


Figura 3.5. Biodegradación aerobia de diferentes concentraciones de formaldehído en presencia de metanol.

Las velocidades iniciales de consumo de formaldehído frente a las concentraciones iniciales del mismo se recogen en la Figura 3.4. Al aumentar la concentración de formaldehído, su velocidad de degradación es mayor, sugiriendo una cinética de primer orden ($r^2 = 0.9936$) y ausencia de inhibición. La constante de velocidad de primer orden obtenida es 0.51 h^{-1} , por tanto, aproximadamente el 51% del formaldehído presente es consumido en una hora. Aunque la tendencia es la misma que en el caso del

formaldehído solo, las velocidades de degradación son mayores cuando el metanol está presente. Por ejemplo, para una concentración de formaldehído de 2000 mg/L se obtuvo una velocidad de 4.6 g CH₂O/g SSV·d cuando se encontraba como única fuente de carbono y de 7.3 g CH₂O/g SSV·d en presencia de metanol (12.5%).

En la bibliografía no se han encontrado datos de biodegradación de formaldehído en presencia de un cosustrato en condiciones aerobias. En condiciones anaerobias, Omil *y col.* (1999) estudiaron la degradación de formaldehído en presencia de ácidos grasos volátiles. Encontraron que las velocidades iniciales de eliminación de formaldehído eran significativamente más bajas cuando este se encontraba como única fuente de carbono (0.027 - 0.042 g CH₂O/g SSV·d) que cuando los ácidos grasos estaban presentes (0.051 - 0.081 g CH₂O/g SSV·d).

La posibilidad de biodegradación de formaldehído en presencia de una fuente de carbono fácilmente metabolizable como es el metanol es de gran interés desde el punto de vista práctico. Estos resultados son interesantes para aguas residuales en las que es necesario eliminar formaldehído y otras fuentes de carbono, como es el caso de las generadas en las industrias de producción de resinas.

3.4.1.3. Proceso de nitrificación en presencia de formaldehído

Resulta interesante conocer el efecto de los compuestos tóxicos sobre la nitrificación ya que pueden afectar de forma notable al rendimiento del tratamiento biológico de las aguas, de modo que se estudió el proceso de nitrificación sin formaldehído y en presencia de diferentes concentraciones del mismo (30 - 3890 mg/L). Para ello se analizó la evolución en la concentración de nitrito y nitrato a lo largo del tiempo (Figura 3.6).

El pH se mantuvo durante todos los ensayos entre 7.5 y 8.2 lo cual asegura un buen rendimiento de los microorganismos ya que el pH óptimo de las bacterias nitrificantes se encuentra alrededor de 7.8 (Antoniou *y col.*, 1990).

El proceso de nitrificación fue posible, aunque con una ligera inhibición, a bajas concentraciones de formaldehído, observándose un mayor efecto inhibitorio a medida que se aumentaba la concentración inicial de formaldehído. En la Figura 3.6 se muestran algunas curvas representativas. En todos los ensayos se observa en primer lugar la producción de nitrito, el cual posteriormente se transforma en nitrato. Comparando los ensayos sin formaldehído y los que contienen una concentración del mismo de 30 mg/L, no se observa ningún efecto del formaldehído sobre la nitrificación ya que las fases de retardo antes de la producción de nitrito y de nitrato coinciden. En los ensayos con mayores concentraciones de formaldehído las fases de retardo son más largas. Además, a concentraciones iniciales de formaldehído superiores a 350 mg/L, el nivel de nitrificación comienza a descender y a concentraciones superiores a 1500 mg/L, las concentraciones de nitrito y nitrato están por debajo del límite de detección, mostrando inhibición completa del proceso de nitrificación. Por tanto, el aumento en la concentración inicial de formaldehído causó una fase de retardo más larga antes del comienzo del proceso de nitrificación así como un descenso en el porcentaje de nitrificación con acumulación de amonio.

Gómez *y col.* (2000) estudiaron el efecto de distintas concentraciones de varios compuestos orgánicos volátiles en el proceso de nitrificación en ensayos discontinuos. Estos investigadores también encontraron que un aumento en la concentración de compuesto orgánico volátil provocó un incremento en el grado de inhibición del proceso de nitrificación. Sin embargo, no detectaron nitrito a ninguna concentración de compuesto orgánico volátil, a diferencia de lo que sucedió en nuestros ensayos. En nuestro caso, al final de los experimentos la concentración de oxígeno disuelto fue baja, aunque nunca inferior a 1 mg/L al finalizar el ensayo, lo cual no afectó a la oxidación de amonio pero redujo la oxidación de nitrito, llevando a una acumulación de nitrito y retrasando la formación de nitrato.

Hanaki *y col.* (1990 a) también encontraron que bajas concentraciones de oxígeno disuelto no afectaron adversamente a la oxidación de amonio pero sí a la oxidación de nitrito. Observaron que el rendimiento del crecimiento de las bacterias amonio oxidantes era mayor a niveles de oxígeno disuelto bajos y este efecto positivo compensó la

reducida velocidad de oxidación de amonio por unidad de biomasa. En cambio, la oxidación de nitrito se vio fuertemente inhibida por concentraciones de oxígeno disuelto bajas ya que el rendimiento del crecimiento de las bacterias nitrito oxidantes permaneció sin cambios.

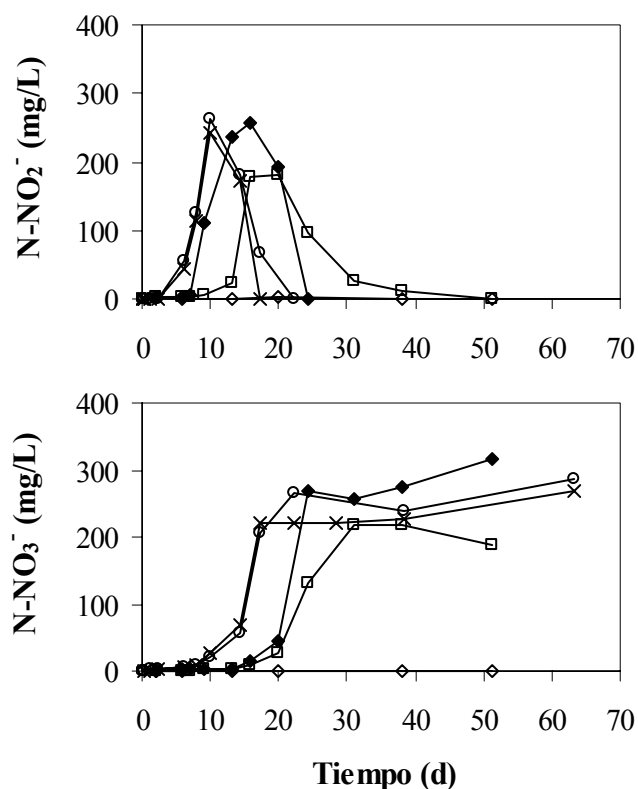


Figura 3.6. Nitrificación sin formaldehído y en presencia de diferentes concentraciones del mismo: (o) sin CH₂O, (x) 30, (◆) 350, (□) 600 y (◇) 1500 mg CH₂O/L.

Ya que el formaldehído y el amonio fueron añadidos en los mismos ensayos, tuvo lugar un crecimiento simultáneo de biomasa heterótrofa y nitrificante, lo cual llevó a velocidades de nitrificación considerablemente bajas. El efecto inhibitorio sobre el proceso de nitrificación podría ser explicado debido a las altas relaciones DQO/N, las cuales favorecieron el rápido crecimiento de las bacterias heterótrofas retrasando el desarrollo de la

población nitrificante. Concentraciones elevadas de materia orgánica estimulan el crecimiento de las bacterias heterótrofas, las cuales compiten con las nitrificantes por sus sustratos básicos, el amonio y el oxígeno (Cheng y Chen, 1994).

3.4.1.4. Proceso de nitrificación en presencia de formaldehído y metanol

Con el fin de poder comparar, se estudió el proceso de nitrificación en presencia de concentraciones de formaldehído similares a las empleadas en los ensayos anteriores pero con metanol. En la Figura 3.7 se muestran algunos resultados representativos del proceso de nitrificación en presencia de distintas concentraciones de formaldehído (30 - 2800 mg/L) y metanol (12.5%).

Se puede observar un comportamiento similar al encontrado en los ensayos con formaldehído como única fuente de carbono. La diferencia es que el proceso de nitrificación comienza ligeramente más tarde. Además, el efecto inhibitorio sobre la nitrificación es mayor para concentraciones de formaldehído más bajas. Esta diferencia podría ser explicada por el hecho de que la relación DQO/N fue superior en los ensayos con formaldehído y metanol como fuentes de carbono que en los ensayos sin metanol, de manera que, la competición existente entre las bacterias heterótrofas y nitrificantes pudo ser mayor.

Cuando el metanol está presente, a concentraciones iniciales de formaldehído superiores a 175 mg/L decrece el nivel de nitrificación. A concentraciones iniciales de formaldehído superiores a 500 mg/L apenas se detecta nitrito y nitrato en los ensayos, mostrando la inhibición completa del proceso de nitrificación.

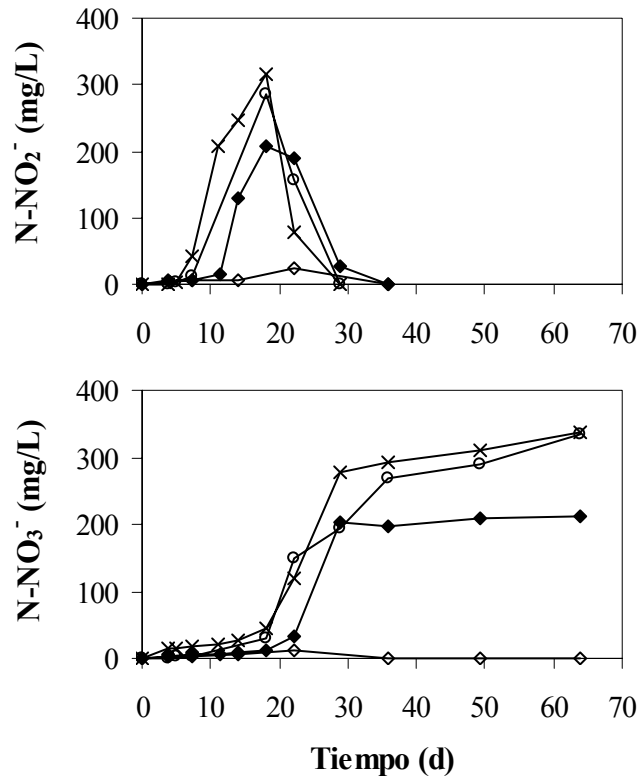


Figura 3.7. Nitrificación en presencia de distintas concentraciones de formaldehído y metanol: (x) 30, (o) 175, (◆) 275 y (◇) 500 mg CH₂O/L.

3.4.2. Ensayos aerobios en un reactor de lodos activos

Con el fin de estudiar en continuo la biodegradación de formaldehído en condiciones aerobias, así como su influencia sobre el proceso de nitrificación, se realizaron ensayos en un reactor de lodos activos según se ha descrito en el Apartado 3.3.2.

El primer objetivo fue llevar a cabo la puesta en marcha del reactor antes de empezar a añadirle el formaldehído. Para ello se fue incrementando paulatinamente la concentración de amonio en la alimentación con el fin de aclimatar la biomasa. Al final de esta etapa se alcanzaron 350 mg N-NH₄⁺/L con una eficacia de eliminación del compuesto superior al 99.9 %.

Después de la puesta en marcha, la concentración de amonio en la alimentación se mantuvo en 350 mg N-NH₄⁺/L operando a un tiempo de retención hidráulica de 2.4 d. Por tanto, la velocidad de carga nitrogenada a la que trabajó el sistema fue de 0.15 kg N-NH₄⁺/m³·d durante todo el período de operación. La estrategia de operación consistió en incrementar gradualmente la concentración de formaldehído alimentada al reactor, una vez alcanzado el estado estacionario en los parámetros de control. La concentración del compuesto en la alimentación se varió entre 26 y 3168 mg CH₂O/L, que se corresponde con velocidades de carga orgánica entre 0.01 y 1.40 kg DQO/m³·d.

Un parámetro importante en el control de los procesos biológicos es el pH, en la Figura 3.8 se representa la evolución del mismo en el reactor. Con el fin de estabilizarlo en el sistema se añadió bicarbonato de sodio en la alimentación. La alcalinidad aportada se mantuvo en una relación constante de 13.7 g NaHCO₃/g N-NH₄⁺, así el pH osciló entre 7.6 y 8.4 durante todo el período de operación. El aumento brusco de pH que se observa alrededor del día 62 de operación fue debido a que el reactor se quedó varios días sin alimentación, pero cuando se volvió a alimentar, el sistema se recuperó rápidamente.

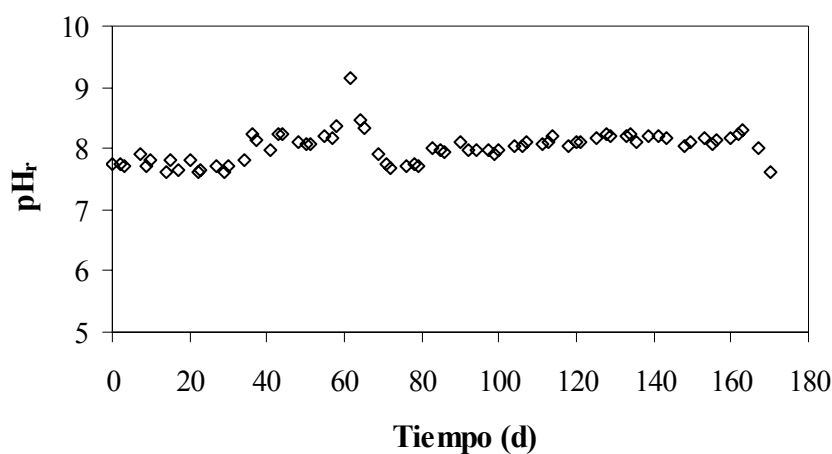


Figura 3.8. Evolución del pH en el reactor.

Otro parámetro fundamental en los procesos biológicos en medio aerobio es el oxígeno disuelto. La concentración de oxígeno disuelto en el reactor a lo largo de todo el estudio estuvo comprendida entre 5.0 mg/L y 7.9 mg/L, manteniéndose la temperatura alrededor de 20°C.

En la Figura 3.9 se puede observar la evolución de la concentración de sólidos en suspensión volátiles en el reactor y en el efluente. La concentración de biomasa en el reactor aumentó desde su valor inicial de 0.92 hasta 6.56 g SSV/L después de seis meses de operación. Gracias a la existencia de recirculación del decantador al reactor se consiguió una buena retención de la biomasa. Además, se consiguió un efluente bastante clarificado con una concentración de lodo comprendida entre 0.006 y 0.058 g SSV/L. Se obtuvo un lodo con buenas propiedades de sedimentación y un efluente con bajas concentraciones de sólidos. La eficacia de la sedimentación de lodos activos depende fundamentalmente de su habilidad para formar flóculos. Por ello, se mantuvieron elevadas concentraciones de oxígeno disuelto en el sistema durante todo el período de operación ya que se sabe que valores elevados de oxígeno disuelto producen flóculos con alta densidad y buenas propiedades de sedimentación (Wilén y Balmér, 1999).

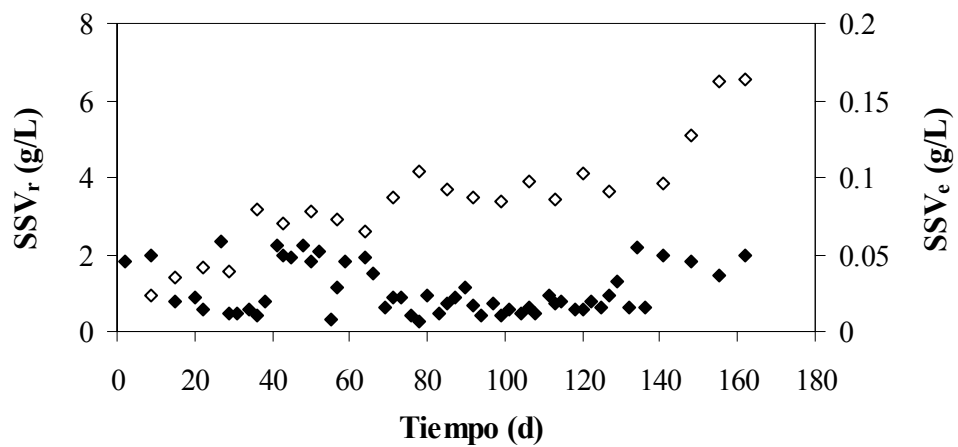


Figura 3.9. Sólidos en suspensión volátiles en el reactor (◇) y en el efluente (◆).

3.4.2.1. Biodegradación de formaldehído

Con el fin de estudiar la biodegradación de formaldehído en la unidad de lodos activos, como se mencionó anteriormente, la velocidad de carga orgánica aplicada se incrementó de 0.01 a 1.40 kg DQO/m³·d. En la Figura 3.10 se representa la evolución de la concentración de formaldehído en el influente y en el efluente del sistema. Aunque la concentración de formaldehído en el efluente se mantuvo siempre muy baja (inferior a 30 mg/L), se observa que a medida que aumenta la concentración del compuesto en el influente (26 - 3168 mg/L) aumenta ligeramente su concentración en el efluente. Sin embargo, para todas las velocidades de carga orgánica aplicadas el porcentaje de eliminación de formaldehído fue muy elevado, superior al 98.7%.

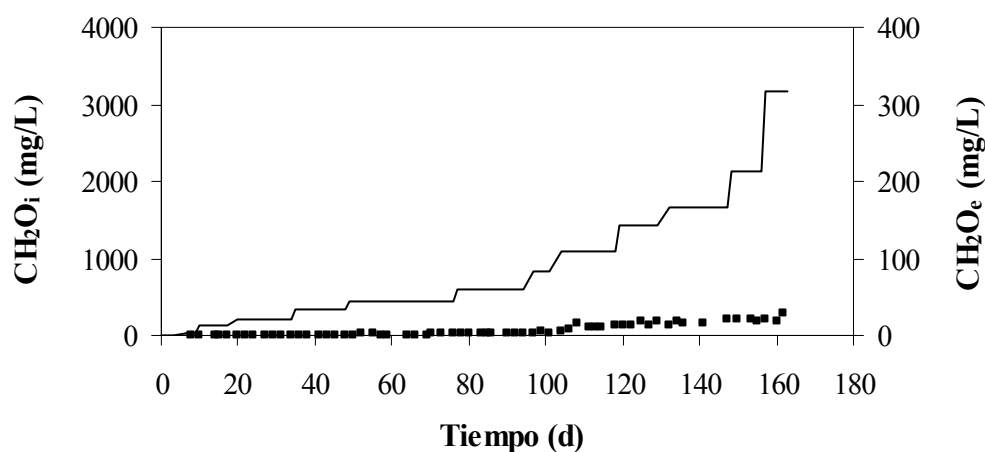


Figura 3.10. Concentración de formaldehído en el influente (—) y en el efluente (■).

Aunque el formaldehído se degradó fácilmente, aproximadamente un 18% de la DQO del influente continuó en el efluente (Figura 3.11). Esto indica la existencia de productos de degradación del formaldehído como metanol y ácido fórmico. Ensayos similares llevados a cabo en nuestro laboratorio en condiciones desnitrificantes mostraron la presencia de metanol y ácido fórmico en estudios de degradación de formaldehído que presentaban DQO residual (Apartado 4.4.2 del Capítulo 4). Esto concuerda con los

resultados obtenidos por Kato *y col.* (1983) estudiando la eliminación aerobia de formaldehído por una cepa de *Pseudomonas putida*. En ese estudio encontraron un enzima que catalizaba la dismutación de formaldehído en metanol y ácido fórmico. Adroer *y col.* (1990) también estudiaron el mecanismo de biodegradación aerobia de formaldehído por una cepa de *Pseudomonas putida*. Los datos obtenidos por estos investigadores indican que esta degradación es iniciada por una reacción de dismutación, en la que se originan como productos metanol y ácido fórmico. La degradación del metanol y del ácido fórmico comienza una vez se ha agotado el formaldehído en el medio.

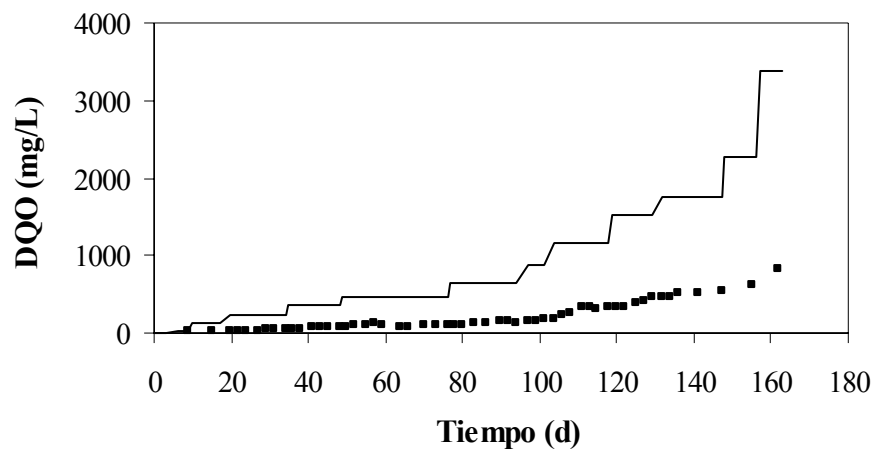


Figura 3.11. DQO soluble en el influente (—) y en el efluente (■).

Los datos obtenidos en la biodegradación de formaldehído en continuo corroboran las conclusiones sacadas de los ensayos aerobios en discontinuo. Es posible la degradación de concentraciones elevadas de formaldehído mediante un tratamiento biológico aerobio. El sistema se mantuvo estable durante los seis meses de operación y resultó ser muy eficaz en la eliminación del compuesto. Esto indica que el tratamiento de aguas residuales con concentraciones elevadas de formaldehído puede ser llevado a cabo en un sistema aerobio de lodos activos. Sin embargo, sería necesario controlar las condiciones de operación con el fin de que no aparezca metanol o ácido fórmico en el efluente.

3.4.2.2. Proceso de nitrificación en presencia de formaldehído

Es importante estudiar el efecto del formaldehído sobre el proceso de nitrificación ya que a menudo tiene lugar en un mismo reactor la eliminación de materia orgánica y amonio. Como se mencionó anteriormente, la velocidad de carga de amonio se mantuvo en $0.15 \text{ kg N-NH}_4^+/\text{m}^3\cdot\text{d}$ durante todo el estudio y la velocidad de carga de formaldehído se aumentó hasta $1.40 \text{ kg DQO}/\text{m}^3\cdot\text{d}$ (Figura 3.12). Por tanto, la relación $\text{DQO}/\text{N-NH}_4^+$ alimentada al sistema varió entre 0.1 y 9.3.

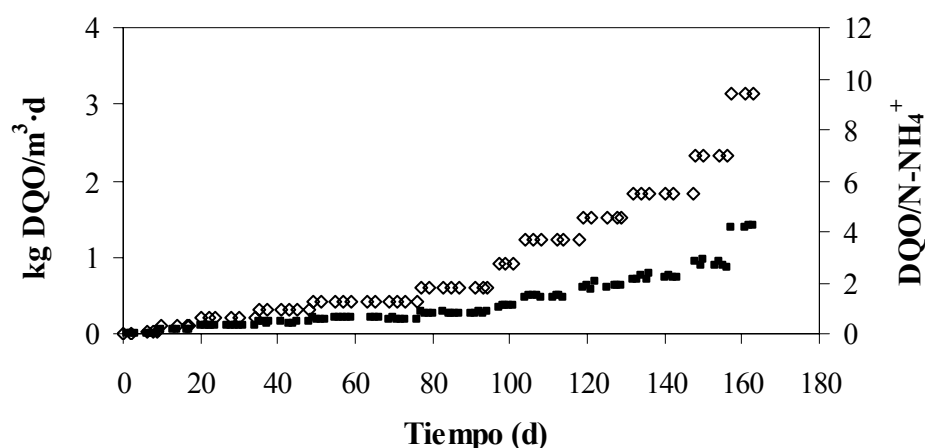


Figura 3.12. Velocidad de carga orgánica aplicada (■) y relación $\text{DQO}/\text{N-NH}_4^+$ (◇).

Se llevó a cabo un control periódico de las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato en el efluente (Figura 3.13). La concentración de nitrito no aparece representada ya que fue nula durante todo el período de operación. El porcentaje de eliminación de amonio fue elevado a lo largo de todo el estudio, superior al 99.9%, manteniéndose la concentración de amonio en el efluente por debajo de $0.1 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L}$ para todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, indicando que no hubo inhibición de la eliminación de amonio debida al formaldehído.

En cuanto al porcentaje de nitrificación, hasta una velocidad de carga de formaldehído de $0.48 \text{ kg DQO}/\text{m}^3\cdot\text{d}$ se alcanzaron valores entre el 72 y el 99%, siendo el valor medio del 85%. Después (a partir del día 122 de

operación), la concentración de nitrato en el efluente disminuye, lo cual no puede ser atribuible a efectos inhibitorios ya que la concentración de amonio en el efluente siempre fue cercana a cero. Este descenso en la concentración de nitrato pudo deberse básicamente a un proceso de desnitrificación y, en menor proporción, a asimilación de amonio por las bacterias heterótrofas.

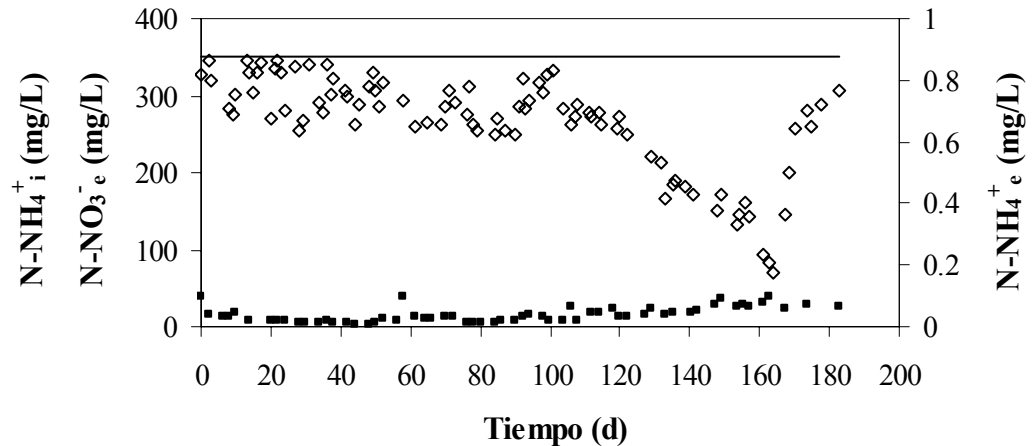


Figura 3.13. Evolución de los compuestos de nitrógeno: amonio en el influente (—) y efluente (■), y nitrato en el efluente (◇).

El proceso de desnitrificación del nitrato pudo tener lugar debido a microzonas anaerobias en el centro de los flóculos de lodo ya que existía materia orgánica que pudo actuar como dador de electrones. El descenso en el porcentaje de nitrificación se observó desde que la relación DQO/N-NH₄⁺ en el influente se aumentó a 4.6 (Figuras 3.12 y 3.13). El aumento en la relación DQO/N-NH₄⁺ pudo favorecer el proceso de desnitrificación. Con el fin de corroborar la disminución en la concentración de nitrato por desnitrificación, el día 164 de operación se paró la adición de formaldehído en el influente. Como resultado, desde ese momento aumentó el porcentaje de nitrificación. Por tanto, los procesos de nitrificación y desnitrificación tuvieron lugar en la misma unidad.

Otro posible mecanismo que puede explicar parte del descenso en la concentración de nitrato en el efluente es la asimilación de parte del amonio para el crecimiento de la biomasa heterótrofa. La asimilación de amonio por

bacterias nitrificantes es baja; sin embargo, se hace importante cuando las bacterias heterótrofas crecen en presencia de materia orgánica (Akunna y col., 1994; Rostron y col., 2001). La biomasa en el reactor aumentó sustancialmente (Figura 3.9) y la asimilación de amonio para su crecimiento fue más rápida que la nitrificación. Sólo el amonio restante fue utilizado por las bacterias para la nitrificación (Hanaki y col., 1990 b; Cheng and Chen, 1994). Por tanto, la asimilación de amonio por las bacterias heterótrofas redujo la cantidad de amonio disponible para las bacterias nitrificantes, disminuyendo así el porcentaje de nitrificación alcanzable. Elevadas velocidades de carga orgánica provocaron mayor asimilación de amonio para el crecimiento de las bacterias heterótrofas.

Debido a la rápida biodegradación del formaldehído por las bacterias heterótrofas, no se observó inhibición de la eliminación de amonio incluso a elevadas cargas orgánicas, al contrario que los resultados obtenidos en los ensayos en discontinuo, en los cuales la adición de formaldehído provocó inhibición del proceso de nitrificación. Esta discrepancia entre los resultados obtenidos en discontinuo y en continuo puede deberse a que en estos últimos la concentración de formaldehído en el reactor fue siempre muy baja (inferior a 30 mg/L). Por tanto, el tratamiento aerobio de aguas residuales con elevados contenidos de formaldehído y amonio puede ser llevado a cabo en un reactor de lodos activos.

3.5. CONCLUSIONES

Ensayos aerobios en discontinuo

- El formaldehído como única fuente de carbono se degradó completamente a concentraciones comprendidas entre 30 y 3890 mg/L. La velocidad inicial de biodegradación aumentó al aumentar la concentración de este compuesto, alcanzando 8.2 g CH₂O/g SSV·d para la concentración más elevada.

- Concentraciones similares de formaldehído (30 - 2800 mg/L) también fueron totalmente degradadas en presencia de metanol (12.5%) como cosustrato, aunque en este caso las velocidades iniciales de biodegradación obtenidas fueron mayores. Para una concentración de

formaldehído de 2000 mg/L, se obtuvo una velocidad de 4.6 g CH₂O/g SSV·d como única fuente de carbono y de 7.3 g CH₂O/g SSV·d en presencia de metanol.

- La presencia de formaldehído provocó inhibición del proceso de nitrificación, mostrando mayor inhibición al aumentar la concentración inicial del compuesto. El proceso de nitrificación resultó totalmente inhibido a concentraciones iniciales de formaldehído superiores a 1500 mg/L.

- En presencia de metanol como cosustrato, el proceso de nitrificación resultó inhibido a concentraciones inferiores de formaldehído, siendo total la inhibición a concentraciones iniciales de formaldehído superiores a 500 mg/L.

Ensayos aerobios en un reactor de lodos activos

- El funcionamiento en continuo del reactor aerobio de lodos activos, operando a un tiempo de retención hidráulica de 2.4 d, demuestra que es posible la biodegradación de concentraciones de formaldehído hasta 3168 mg/L. El porcentaje de eliminación del compuesto se mantuvo por encima del 98.7% para todas las velocidades de carga orgánica aplicadas (0.01 - 1.40 kg DQO/m³·d). La unidad fue estable durante todo el período de operación.

- La velocidad de carga de amonio aplicada se mantuvo en 0.15 kg N-NH₄⁺/m³·d y el porcentaje de eliminación de amonio fue siempre superior al 99.9%. Para el rango de concentraciones de formaldehído tratadas, de 26 a 3168 mg/L, la concentración de amonio en el efluente fue siempre inferior a 0.1 mg N-NH₄⁺/L. Los datos indican que no hubo inhibición de la eliminación de amonio debida al formaldehído. Sin embargo, se produjo un descenso en la concentración de nitrato en el efluente que pudo deberse básicamente a un proceso de desnitrificación y, en menor proporción, a asimilación de amonio por las bacterias heterótrofas.

- Los resultados obtenidos demuestran que el tratamiento de aguas residuales con elevadas concentraciones de formaldehído y amonio puede ser llevado a cabo eficazmente en un sistema aerobio de lodos activos.

3.6. REFERENCIAS

- Adroer N., Casas C., de Mas C., Solà C. **1990** Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomonas putida*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**, 217-220.
- Akunna J., Bizeau C., Moletta R., Bernet N., Heduit A. **1994** Combined organic carbon and complete nitrogen removal using anaerobic and aerobic upflow filters. *Water Sci. Technol.* **30** (12), 297-306.
- Antoniou P., Hamilton J., Koopman B., Jain R., Holloway B., Lyberatos G., Svoronos S. A. **1990** Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Water Res.* **24** (1), 97-101.
- Azachi M., Henis Y., Oren A., Gurevich P., Sarig S. **1995** Transformation of formaldehyde by a *Halomonas* sp. *Can. J. Microbiol.* **41**, 548-553.
- Bhattacharya S. K., Parkin G. F. **1988** Fate and effect of methylene chloride and formaldehyde in methane fermentation systems. *J. Water Pollut. Control Fed.* **60** (4), 531-536.
- Bonastre N., de Mas C., Solà C. **1986** Vavilin equation in kinetic modelling of formaldehyde biodegradation. *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 616-619.
- Cheng S., Chen W. **1994** Organic carbon supplement influencing performance of biological nitrification in a fluidized bed reactor. *Water Sci. Technol.* **30** (11), 131-142.
- Gómez J., Méndez R., Lema J. M. **2000** Kinetic study of addition of volatile organic compounds to a nitrifying sludge. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **87**, 189-202.
- González-Gil G., Kleerebezem R., van Aelst A., Zoutberg G. R., Versprille A. I., Lettinga G. **1999** Toxicity effects of formaldehyde on methanol degrading sludge and its anaerobic conversion in biobed[®] expanded granular sludge bed (EGSB) reactors. *Water Sci. Technol.* **40** (8), 195-202.

- Hanaki K., Wantawin C., Ohgaki S. **1990 (a)** Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Water Res.* **24** (3), 297-302.
- Hanaki K., Wantawin C., Ohgaki S. **1990 (b)** Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in a suspended-growth reactor. *Water Res.* **24** (3), 289-296.
- Hidalgo A., Lopategi A., Prieto M., Serra J. L., Llama M. J. **2002** Formaldehyde removal in synthetic and industrial wastewater by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 260-263.
- Kato N., Shirakawa K., Kobayashi H., Sakazawa C. **1983** The dismutation of aldehydes by a bacterial enzyme. *Agric. Biol. Chem.* **47** (1), 39-46.
- Omil F., Méndez D., Vidal G., Méndez R., Lema J. M. **1999** Biodegradation of formaldehyde under anaerobic conditions. *Enzyme Microbiol. Technol.* **24**, 255-262.
- Prado Ó. J., Eiroa M., Veiga M. C., Kennes C. **2003** Bioreactors for the treatment of industrial waste gases containing formaldehyde and other aliphatic compounds. In: Agathos S. N. and Reineke W. (Eds.), *Focus on Biotechnology*, Vol. 3C, pp. 259-273, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands.
- Rostron W. M., Stuckey D. C., Young A. A. **2001** Nitrification of high strength ammonia wastewaters: comparative study of immobilisation media. *Water Res.* **35** (5), 1169-1178.
- Wilén B., Balmér P. **1999** The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.* **33** (2), 391-400.
- Yamazaki T., Tsugawa W., Sode K. **2001** Biodegradation of formaldehyde by a formaldehyde-resistant bacterium isolated from seawater. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **91-93**, 213-217.

**Capítulo 4. Biodegradación anóxica de formaldehído
y metanol y efecto de ambos compuestos sobre
el proceso de desnitrificación**

Capítulo 4. BIODEGRADACIÓN ANÓXICA DE FORMALDEHÍDO Y METANOL Y EFECTO DE AMBOS COMPUESTOS SOBRE EL PROCESO DE DESNITRIFICACIÓN

RESUMEN

El principal objetivo de este capítulo es el estudio de la biodegradación de formaldehído y metanol, así como del efecto de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. Con este fin se realizaron ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo con formaldehído como única fuente de carbono y con formaldehído y metanol.

En los ensayos en discontinuo con formaldehído, se obtuvieron velocidades iniciales de consumo de sustrato entre 0.7 y 3.3 g CH₂O/g SSV·d para concentraciones de formaldehído comprendidas entre 300 y 2150 mg/L. El proceso de desnitrificación resultó afectado por la concentración inicial de formaldehído, aumentando la acumulación de nitrito al aumentar dicha concentración. Cuando se realizaron los ensayos en discontinuo con formaldehído y metanol, el proceso de biodegradación de formaldehído fue más lento. Además, se comprobó que la eliminación de formaldehído daba lugar a la aparición en el medio de metanol y ácido fórmico.

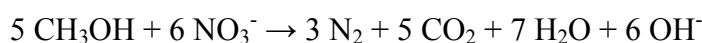
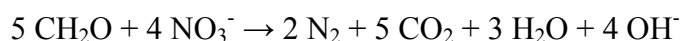
En el reactor en continuo con formaldehído, se alcanzaron eficacias de eliminación del compuesto superiores al 98.5% para todas las velocidades de carga de formaldehído aplicadas, entre 0.37 y 2.96 kg DQO/m³·d (625 - 5000 mg CH₂O/L). En cuanto al proceso de desnitrificación, se obtuvieron porcentajes elevados (alrededor del 99.7%) para todas las velocidades de carga nitrogenada, hasta 0.44 kg N-NO₃⁻/m³·d. Cuando se alimentaron al reactor en continuo distintas proporciones de formaldehído y metanol, tuvo lugar la biodegradación de ambos compuestos. Sin embargo, cada aumento en la proporción de metanol provocó una disminución en el porcentaje de desnitrificación. Se observó que fue necesario un período de adaptación del medio al metanol, tras el cual se recuperó la eficacia de la desnitrificación. A diferencia de los ensayos en discontinuo, en continuo no se detectó metanol ni ácido fórmico en el efluente. Además, los porcentajes de desnitrificación obtenidos en continuo fueron mayores y la acumulación de nitrito fue menor.

4.1. INTRODUCCIÓN

Como se ha mencionado anteriormente, las aguas residuales de las industrias productoras de formaldehído y resinas presentan una elevada concentración de compuestos nitrogenados (56 - 1462 mg NTK/L) y orgánicos, principalmente formaldehído (7 - 2711 mg CH₂O/L). En la mayoría de los casos la eliminación simultánea de la materia orgánica y nitrogenada puede llevarse a cabo mediante tratamiento biológico. En dicho tratamiento el nitrógeno es eliminado mediante el proceso de nitrificación-desnitrificación.

En el Capítulo 3 se analizó la biodegradación aerobia de formaldehído como única fuente de carbono y en presencia de metanol, así como el efecto de ambos compuestos sobre el proceso de nitrificación. En este capítulo se pretende estudiar la biodegradación de formaldehído y su efecto sobre el proceso de desnitrificación. La relación DQO/N es un parámetro importante para el control de la desnitrificación. En la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de resinas (Apartado 1.1.4 del Capítulo 1), cuando esta relación no es suficiente para llevar a cabo la desnitrificación, se añade metanol como fuente de carbono externa. Por tanto, también resulta interesante estudiar dichos procesos en presencia de metanol.

En presencia de compuestos tóxicos, como el formaldehído, la eliminación biológica de nitrógeno puede resultar inhibida. Usando formaldehído o metanol como fuentes de carbono, las ecuaciones estequiométricas de la desnitrificación son las siguientes:



Como se ha indicado en el Capítulo 3, se sabe que el formaldehído es biodegradable en medio aerobio (Bonastre *y col.*, 1986; Adroer *y col.*, 1990; Azachi *y col.*, 1995; Yamazaki *y col.*, 2001; Hidalgo *y col.*, 2002).

A continuación se presentan diversas referencias sobre sistemas biológicos para el tratamiento anaerobio de aguas residuales que contienen formaldehído. Qu y Bhattacharya (1997) estudiaron la toxicidad y

biodegradabilidad del formaldehído en un sistema anaerobio en continuo. Obtuvieron porcentajes de eliminación del 99% para concentraciones de formaldehído en el influente hasta 1110 mg/L (0.167 g CH₂O/g SSV·d).

Lu y Hegemann (1998) llevaron a cabo ensayos en discontinuo y encontraron que el formaldehído era tóxico para la digestión anaerobia. La producción de biogás y la eliminación de DQO disminuyeron al aumentar la concentración de formaldehído.

Omil *y col.* (1999) estudiaron la biodegradación de formaldehído en ensayos discontinuos en ausencia y en presencia de ácidos grasos volátiles. Las velocidades de eliminación de formaldehído como única fuente de carbono (0.027 - 0.042 g CH₂O/g SSV·d) fueron significativamente menores que en presencia del cosustrato (0.051 - 0.081 g CH₂O/g SSV·d).

En la bibliografía se han encontrado pocas referencias sobre la eliminación biológica de formaldehído en condiciones anóxicas. Garrido *y col.* (2000) estudiaron el tratamiento de aguas residuales de una industria productora de adhesivos de formaldehído y urea. Para ello emplearon un sistema de nitrificación-desnitrificación en dos reactores de biomasa en suspensión. La mayor parte del formaldehído se usó como fuente de carbono en el proceso de desnitrificación, obteniendo velocidades de eliminación entre 0.2 y 0.6 kg CH₂O/m³·d. La desnitrificación también fue bastante eficaz, alcanzándose velocidades de 1.0 kg N-NO_x⁻/m³·d.

Garrido *y col.* (2001) trabajaron con un filtro de flujo ascendente con el fin de analizar la hidrólisis de urea, la eliminación de formaldehído y el proceso de desnitrificación. Para ello aumentaron progresivamente la velocidad de carga de formaldehído hasta 4.0 kg CH₂O/m³·d y encontraron que la máxima velocidad de eliminación fue de 2.0 kg CH₂O/m³·d. La velocidad de desnitrificación más elevada que alcanzaron fue 0.75 kg N-NO_x⁻/m³·d, con una eficacia del 90%.

Campos *y col.* (2003) estudiaron la eliminación de urea y formaldehído empleando un reactor anóxico de tipo USB. La acumulación de formaldehído en el reactor (250 - 300 mg/L) causó un descenso en el porcentaje de desnitrificación (hasta el 15%). El proceso de desnitrificación se recuperó totalmente al cesar la acumulación de formaldehído. Al final del

experimento obtuvieron velocidades de eliminación de formaldehído de 2.4 kg CH₂O/m³·d.

4.2. OBJETIVOS

El principal objetivo de este capítulo es el estudio de la biodegradación de formaldehído y metanol, así como del efecto de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. Con este fin se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo. Estos ensayos se realizaron primero con formaldehído como única fuente de carbono y después con distintas proporciones de formaldehído y metanol. Los objetivos concretos del presente trabajo se presentan a continuación:

- Estudio de la biodegradación anóxica de diferentes concentraciones de formaldehído como única fuente de carbono y en presencia de metanol.
- Análisis del efecto sobre el proceso de desnitrificación de la presencia de formaldehído y de distintas proporciones de formaldehído y metanol, manteniendo constante la relación DQO/N.

4.3. MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1. Ensayos anóxicos en discontinuo

Después de algunos experimentos previos que permitieron definir las condiciones de operación más apropiadas, los ensayos anóxicos en discontinuo se llevaron a cabo en viales de 300 mL de volumen útil siendo el volumen de ensayo de 250 mL. Cada vial se inoculó con 2 g SSV/L de lodo obtenido del reactor anóxico de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. Además se añadieron 2.5 mL de una disolución de nutrientes (Tabla 4.1) y la cantidad necesaria de cloruro de amonio y fosfato de potasio para obtener una relación DQO/N/P de 200/5/1. Con el fin de proporcionar alcalinidad y mantener el pH alrededor de 7.5, se adicionaron 2 g/L de bicarbonato de sodio.

Finalmente, se añadieron a los viales nitrato de potasio para estudiar el proceso de desnitrificación y el o los compuestos orgánicos para estudiar su biodegradación y su influencia sobre la desnitrificación. Con el fin de desplazar el oxígeno se pasó una corriente de nitrógeno durante unos minutos. Los ensayos se mantuvieron en un agitador orbital funcionando a 200 rpm situado en una cámara a 20°C. Las concentraciones de los distintos compuestos se determinaron a diferentes intervalos de tiempo.

Tabla 4.1. Composición de la disolución de nutrientes empleada en los ensayos anóxicos.

CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.00 g/L
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.50 g/L
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.25 g/L
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.05 g/L
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.05 g/L
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.40 g/L
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.001 g/L

Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído

Se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo empleando formaldehído como fuente de carbono. En todos ellos se utilizó una concentración constante de nitrato de 250 mg N/L, variando en cambio la concentración de formaldehído entre 300 y 2150 mg/L.

Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído y metanol

También se realizaron ensayos anóxicos en discontinuo utilizando como fuentes de carbono formaldehído y metanol. En estos ensayos se mantuvo constante la concentración de nitrato en 400 mg N/L y la relación

DQO/N en 3.6. Sin embargo, se fueron variando las proporciones de formaldehído y metanol según se indica en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Concentraciones de formaldehído y metanol en los ensayos en discontinuo.

DQO (CH ₂ O):DQO (CH ₃ OH)	CH ₂ O (mg/L)	CH ₃ OH (mg/L)
100:0	1360	0
72:28	980	270
48:52	650	500
28:72	375	690
12:88	160	850
0:100	0	950

4.3.2. Ensayos anóxicos en continuo

Los ensayos en continuo se llevaron a cabo en un reactor anóxico de tipo USB (Upflow Sludge Blanket Reactor) a escala de laboratorio (Figura 4.1). El reactor fue construido en vidrio y el diámetro interno, la altura y el volumen efectivo del mismo son 5.5 cm, 45 cm y 0.92 L, respectivamente. El reactor está conectado a un dispositivo de medición de gas. En la Figura 4.2 se muestra una fotografía del sistema empleado.

La alimentación al reactor se realiza en flujo ascendente de forma continua mediante una bomba peristáltica. El agua atraviesa el lecho de lodos donde tiene lugar la oxidación de la materia orgánica y el proceso de desnitrificación, en ausencia de oxígeno. El agua tratada sale por la parte superior del reactor. La recirculación desde la parte superior del reactor a la parte inferior se realiza de forma continua mediante otra bomba peristáltica. La alimentación en flujo ascendente y la existencia de recirculación aseguran la obtención de un buen grado de mezcla. Unos valores apropiados de caudal de alimentación y recirculación permiten que el lodo se encuentre en

suspensión en la zona inferior del reactor y el agua clarificada en la zona superior del mismo.

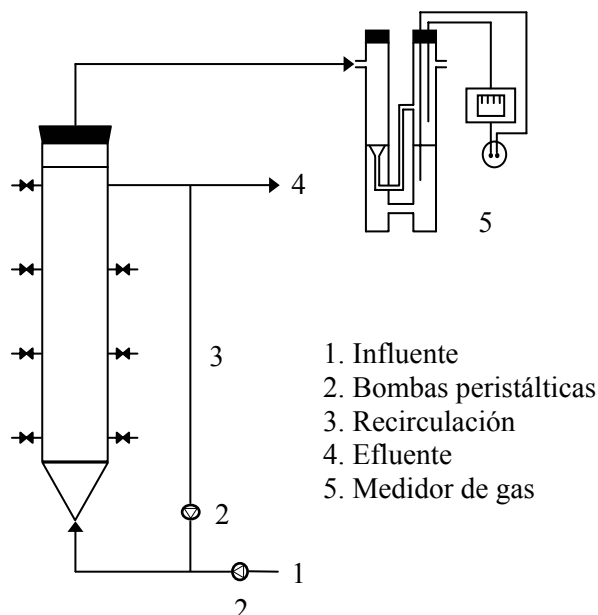


Figura 4.1. Esquema del reactor anóxico de tipo USB.

En la parte superior del reactor tiene lugar la separación líquido-gas, de forma que el biogás producido en el proceso asciende por una goma conectada a un sistema de medición de gas por desplazamiento de líquido (Veiga y col., 1990). El medidor de gas consta de dos cilindros de vidrio conectados mediante un sistema de sifón. Ambos cilindros contienen agua acidulada para evitar la disolución del dióxido de carbono en la misma. El segundo cilindro tiene dos electrodos a diferente altura y está graduado. El gas entra en el primer cilindro, desplaza el líquido y cierra el circuito entre los dos electrodos en el segundo cilindro. Cuando el líquido alcanza la altura que permite que el gas salga por el tubo superior, el nivel de líquido se equilibra y se abre el circuito. Un contador eléctrico de pasos cuenta la apertura y el cierre del circuito. Conociendo el volumen de líquido desplazado en cada paso y el número de pasos, podemos calcular el volumen de gas producido.

La unidad se mantuvo a temperatura ambiente. Para el seguimiento y control de la misma se analizaron una serie de parámetros en el reactor, en el efluente y en el biogás: formaldehído, metanol, ácido fórmico, DQO, COT, Cl, amonio, nitrito, nitrato, SST, SSV, pH, composición del biogás...



Figura 4.2. Fotografía del reactor anóxico de tipo USB.

Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído

Para llevar a cabo los ensayos en continuo con formaldehído, el reactor se inoculó con 8.0 g SSV/L de lodo obtenido del reactor anóxico de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. El tiempo de retención hidráulica se fijó en 1.8 d y el caudal de recirculación en 7.7 L/d.

Para alimentar el sistema se empleó agua sintética compuesta por nutrientes, fosfato de potasio, formaldehído y nitrato de potasio. La

composición de la disolución de nutrientes se indica en la Tabla 4.1 y se añadieron 10 mL por litro de alimentación. El fosfato de potasio ($0.27 \text{ g KH}_2\text{PO}_4/\text{L}$ y $0.4 \text{ g K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$) se empleó como tampón a fin de mantener el pH alrededor del valor óptimo para el proceso de desnitrificación. Las concentraciones de formaldehído y nitrato en la alimentación se fueron variando paulatinamente ($625 - 5000 \text{ mg CH}_2\text{O}/\text{L}$ y $100 - 800 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$) según se indica en la Tabla 4.3, manteniendo constante la relación DQO/N en 6.7.

Tabla 4.3. Concentraciones de formaldehído y nitrato en la alimentación.

Tiempo (d)	CH₂O (mg/L)	N-NO₃⁻ (mg/L)
0 - 10	625	100
11 - 20	1250	200
21 - 31	1875	300
32 - 46	2500	400
47 - 59	3125	500
60 - 73	3750	600
74 - 87	4375	700
88 - 94	2500	400
95 - 108	1250	200
109 - 115	2500	400
116 - 126	3750	600
127 - 136	4375	700
137 - 153	5000	800

Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído y metanol

Para realizar los ensayos en continuo con formaldehído y metanol, el reactor se inoculó con $7.2 \text{ g SSV}/\text{L}$ de lodo obtenido del reactor anóxico de

la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. El caudal de alimentación al reactor se fijó en 0.49 L/d, por tanto, el tiempo de retención hidráulica se mantuvo en 1.9 d.

Para alimentar el sistema se utilizó agua sintética compuesta por nutrientes, fosfato de potasio, cloruro de amonio, formaldehído, metanol y nitrato de potasio. Los nutrientes y el fosfato de potasio se emplearon en las mismas concentraciones que en el caso anterior. La concentración de nitrato en la alimentación se mantuvo constante en 400 mg N/L y la relación DQO/N en 4. Sin embargo, se fueron variando las proporciones de formaldehído y metanol según se indica en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4. Concentraciones de formaldehído y metanol en la alimentación.

Tiempo (d)	DQO (CH ₂ O):DQO (CH ₃ OH)	CH ₂ O (mg/L)	CH ₃ OH (mg/L)
0 - 33	100:0	1500	0
34 - 47	86:14	1285	153
48 - 62	73:27	1090	292
63 - 75	40:60	600	640
76 - 111	18:82	275	871
112 - 135	100:0	1500	0

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1. Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído

Con el propósito de analizar la biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono y su influencia sobre el proceso de desnitrificación, se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo según se ha descrito en el Apartado 4.3.1.

4.4.1.1. Biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono

La biodegradación de formaldehído se estudió en un rango de concentraciones iniciales comprendidas entre 300 y 2150 mg/L (Figura 4.3). Los datos obtenidos muestran que fue posible la eliminación de concentraciones elevadas de formaldehído en condiciones anóxicas, a pesar de su condición de compuesto tóxico y bactericida. En la bibliografía no se han encontrado estudios en discontinuo de eliminación biológica de formaldehído en medio anóxico.

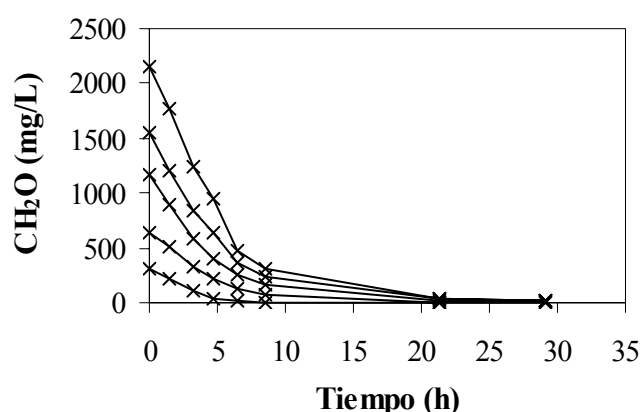


Figura 4.3. Biodegradación anóxica de diferentes concentraciones de formaldehído.

Con el fin de obtener el perfil cinético de la biodegradación anóxica de formaldehído se aplicó la metodología de las velocidades iniciales, en la cual se determinan las máximas pendientes de las curvas de disminución de la concentración a lo largo del tiempo. En la Figura 4.4 se muestran las velocidades iniciales de consumo de formaldehído frente a las concentraciones iniciales del compuesto. Se obtuvieron velocidades iniciales de consumo de sustrato entre 0.7 y 3.3 g CH₂O/g SSV·d para concentraciones de formaldehído comprendidas entre 300 y 2150 mg/L. Se observa que al aumentar la concentración de formaldehído, su velocidad inicial de biodegradación es mayor, sugiriendo una cinética de primer orden ($r^2 = 0.9902$) y ausencia de inhibición. La constante de velocidad de primer

orden obtenida es 0.12 h^{-1} , por tanto, aproximadamente el 12% del formaldehído presente es consumido en una hora.

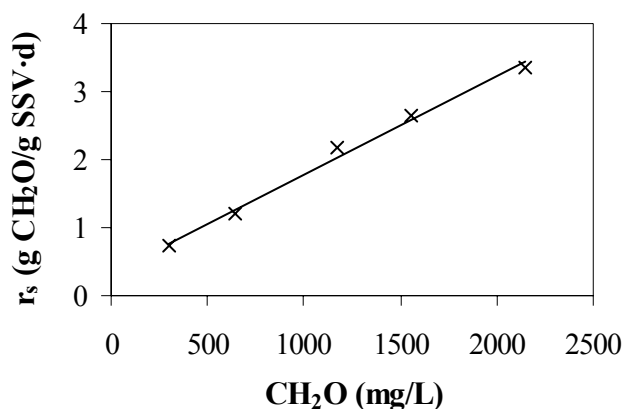


Figura 4.4. Velocidades iniciales de biodegradación (r_s) frente a concentraciones iniciales de formaldehído.

Los resultados obtenidos indican elevadas velocidades de eliminación para concentraciones altas de formaldehído. Sin embargo, estas velocidades son inferiores a las obtenidas en la biodegradación aerobia de formaldehído como única fuente de carbono (Apartado 3.4.1.1 del Capítulo 3). En medio aerobio, para una concentración de formaldehído de 2150 mg/L se obtuvo una velocidad inicial de consumo de sustrato de $4.9 \text{ g CH}_2\text{O/g SSV}\cdot\text{d}$. La cinética también fue de primer orden pero con una constante de 0.31 h^{-1} .

4.4.1.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído

El análisis del efecto de los compuestos tóxicos sobre la desnitrificación es importante ya que pueden influir en el rendimiento del tratamiento biológico de las aguas, debido a esto se estudió el proceso de desnitrificación en presencia de diferentes concentraciones de formaldehído. Para ello se analizó la evolución en la concentración de nitrito y nitrato a lo largo del tiempo (Figura 4.5). En todos los ensayos se empleó una concentración constante de nitrato (250 mg N/L), variando la concentración

inicial de formaldehído entre 300 y 2150 mg/L, y por tanto, la relación DQO/N.

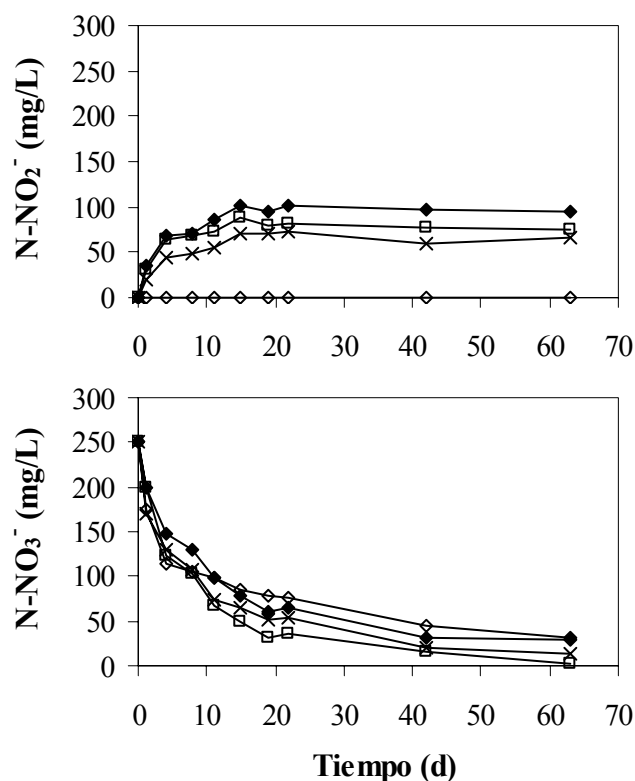


Figura 4.5. Nitrito y nitrato en presencia de distintas concentraciones de formaldehído: (◇) 300, (x) 1170, (□) 1550 y (◆) 2150 mg CH₂O/L.

Se puede observar que en ningún caso tuvo lugar la desnitrificación completa. En todos los experimentos, excepto en los de 300 mg/L de formaldehído, aparece nitrito como intermedio del proceso de desnitrificación. En los ensayos con 300 mg/L de formaldehído, la relación DQO/N existente (1.3) es inferior a la necesaria para el porcentaje de desnitrificación que tuvo lugar (88%). Esto puede deberse a que el lodo empleado contuviese materia orgánica que se haya podido degradar durante el ensayo, aumentando así la fuente de carbono disponible para los microorganismos desnitrificantes. También se pudo haber obtenido carbono de la muerte celular. En el resto de ensayos, la relación DQO/N existente es

superior a la necesaria para llevar a cabo la desnitrificación de todo el nitrato añadido. Sin embargo, el proceso de desnitrificación resultó afectado por la concentración inicial de formaldehído, aumentando la acumulación de nitrito al aumentar dicha concentración. Para la concentración inicial de formaldehído más elevada (2150 mg/L) se acumularon aproximadamente 100 mg N/L de nitrito. De los resultados obtenidos se puede concluir que el formaldehído puede ser usado como fuente de carbono para la desnitrificación pero es necesario tener en cuenta su concentración ya que se puede producir una elevada cantidad de nitrito con las correspondientes consecuencias para el medio.

Asimismo, mientras que el formaldehído se eliminó completamente en pocas horas, el proceso de desnitrificación duró varios días. Por tanto, el formaldehído se transformó en otros compuestos orgánicos los cuales se usaron posteriormente como fuentes de carbono para la desnitrificación. Como se ha comprobado posteriormente en los ensayos con formaldehído y metanol presentados a continuación en el Apartado 4.4.2, el formaldehído se transformó en metanol y ácido fórmico.

4.4.2. Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído y metanol

Se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído y metanol según se indica en el Apartado 4.3.1, con el fin de estudiar la biodegradación de ambos compuestos y su influencia sobre el proceso de desnitrificación.

4.4.2.1. Biodegradación de formaldehído y metanol

Con el fin de analizar la biodegradación de formaldehído en presencia de un cosustrato, se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído y metanol. En estos ensayos se mantuvo constante la relación DQO/N en 3.6 y como fuente de carbono se utilizaron distintas mezclas de formaldehído y metanol (Tabla 4.2).

La concentración inicial de formaldehído se varió entre 1360 y 160 mg/L. En la Figura 4.6 se representan los resultados obtenidos en la

biodegradación de formaldehído. Se puede observar que fue posible la eliminación en condiciones anóxicas de cantidades altas de formaldehído en presencia de metanol. Sin embargo, el proceso de biodegradación fue más lento que en el caso en el que el formaldehído se encontraba en ausencia de cosustrato (Figura 4.3).

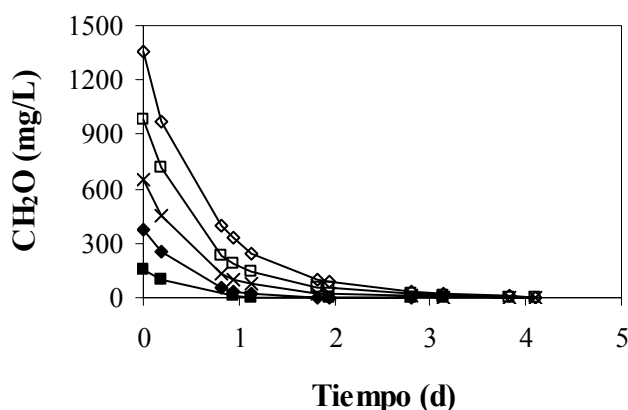
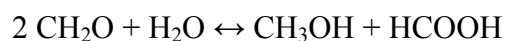


Figura 4.6. Biodegradación anóxica de formaldehído en presencia de metanol: (◇) 0, (□) 270, (x) 500, (◆) 690 y (■) 850 mg CH₃OH/L.

Una vez realizados los ensayos, al analizar los datos de formaldehído, metanol y COT se comprobó que la suma de los dos primeros no se correspondía con los resultados de COT. Además, las curvas de metanol presentaban un altibajo que no tenía explicación ya que la concentración de metanol debería disminuir paulatinamente con el transcurso del tiempo.

En la bibliografía se encontraron estudios de eliminación de formaldehído por una cepa de *Pseudomonas putida*, en los cuales se observó la dismutación estequiométrica del formaldehído en metanol y ácido fórmico debido a la acción de la enzima formaldehído dismutasa (Kato y col., 1983; Adroer y col., 1990). Esta dismutación tiene lugar según la reacción que se indica a continuación:



Tras analizar las muestras de los ensayos se comprobó que la eliminación de formaldehído daba lugar a la aparición en el medio de

metanol y ácido fórmico (Figura 4.7-A). Esto permitió explicar el altibajo observado en las curvas de metanol. En algunos ensayos se observa una disminución inicial de la concentración de metanol transcurrido un día, debido a su biodegradación anóxica; y posteriormente, un aumento de la concentración del mismo debido a la dismutación del formaldehído. Una vez que se ha eliminado todo el formaldehído se produce la biodegradación del metanol y el ácido fórmico producidos. Resulta raro que el metanol tarde tanto tiempo en eliminarse cuando se añade con formaldehído y en cambio, se elimine en pocos días cuando se añade como única fuente de carbono. Esto puede deberse a una inhibición de los microorganismos producida por la presencia de ácido fórmico ya que cuanto mayor fue la acumulación de ácido fórmico mayor fue el tiempo necesario para la eliminación de metanol.

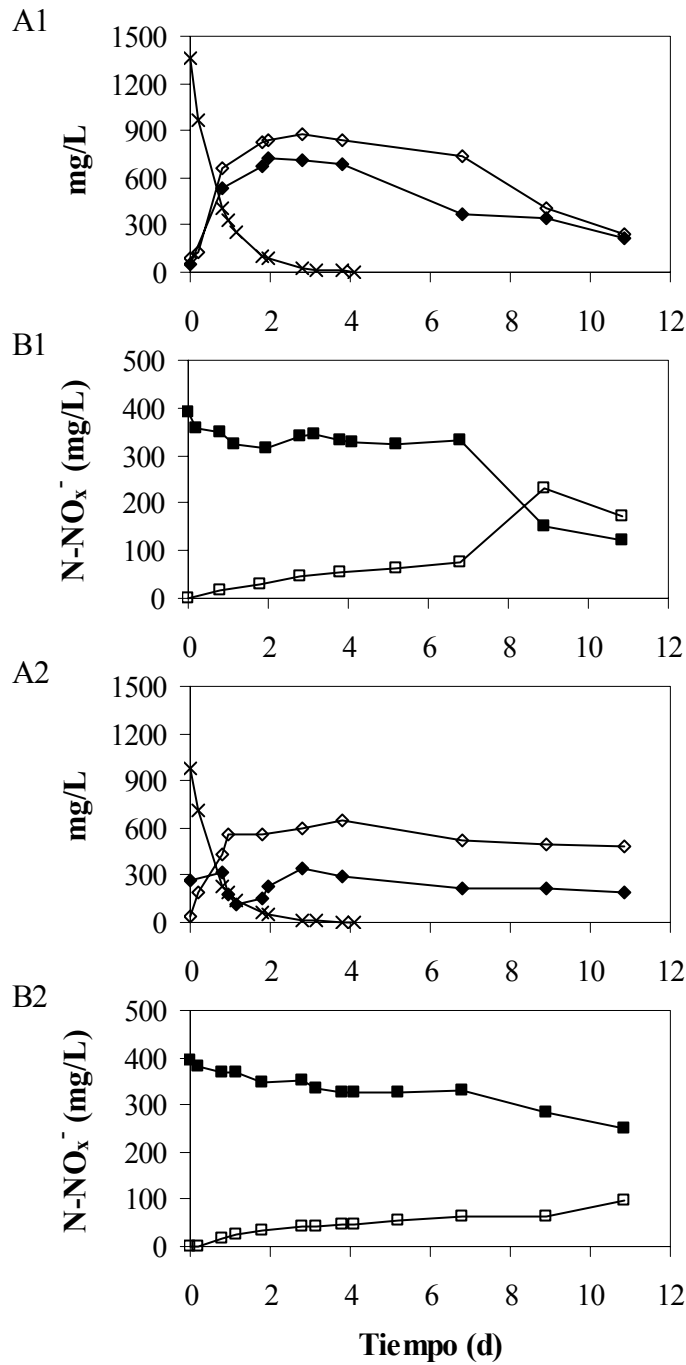


Figura 4.7. A: Concentraciones de formaldehído (x), metanol (◆) y ácido fórmico (◇). B: Concentraciones de nitrito (□) y nitrato (■). 1: 1360 mg CH₂O/L. 2: 980 mg CH₂O/L y 270 mg CH₃OH/L.

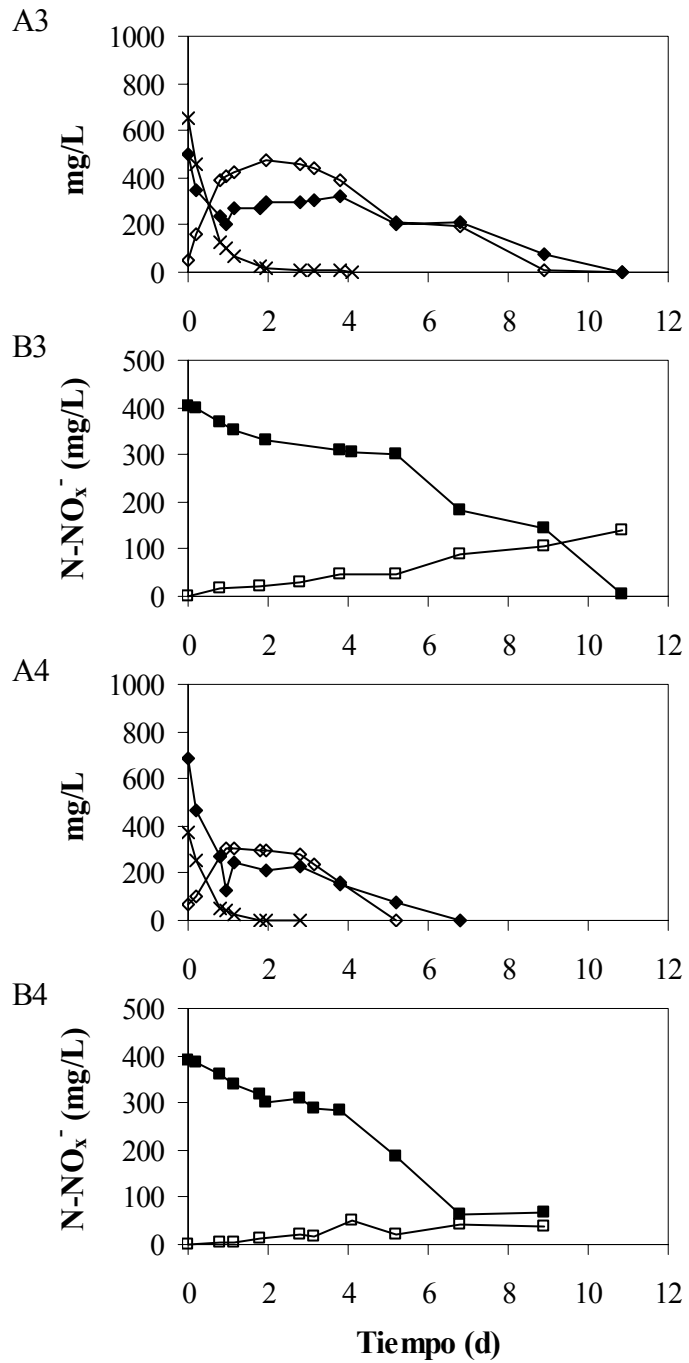


Figura 4.7. A: Concentraciones de formaldehído (x), metanol (◆) y ácido fórmico (◇). B: Concentraciones de nitrito (□) y nitrato (■). 3: 650 mg CH₂O/L y 500 mg CH₃OH/L. 4: 375 mg CH₂O/L y 690 mg CH₃OH/L.

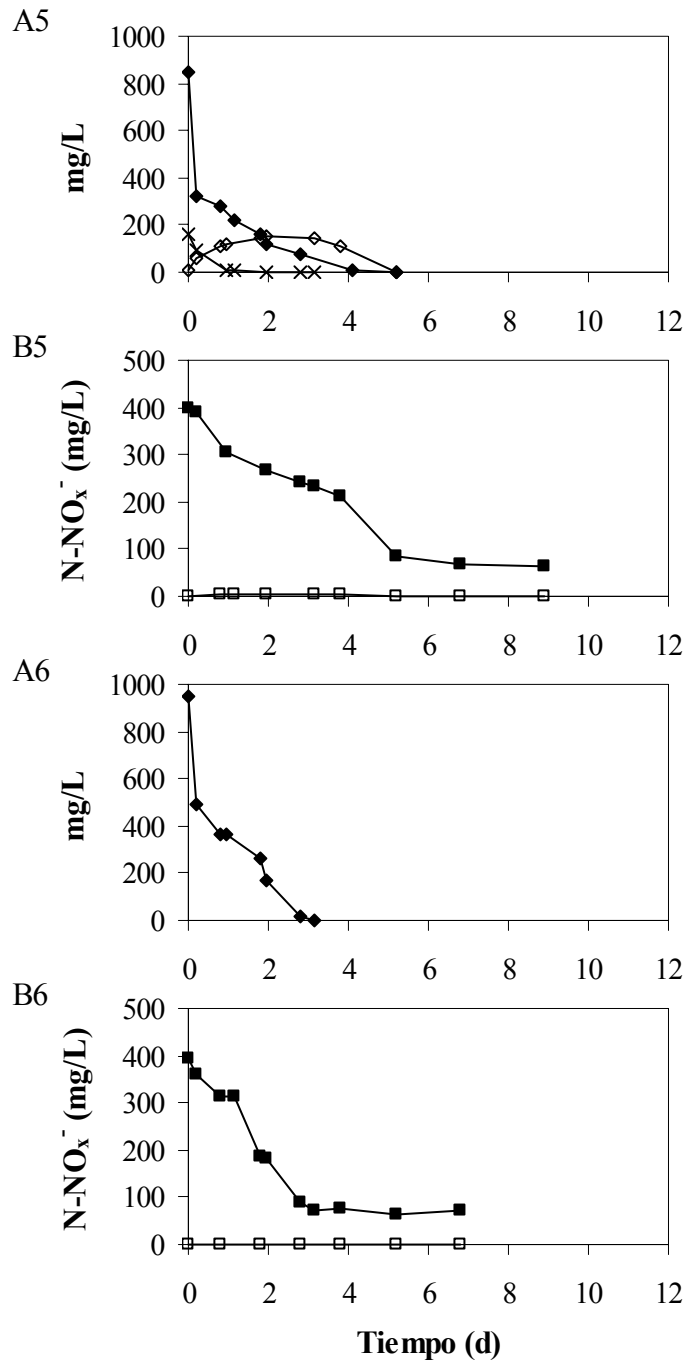


Figura 4.7. A: Concentraciones de formaldehído (x), metanol (◆) y ácido fórmico (◇). B: Concentraciones de nitrito (□) y nitrato (■). 5: 160 mg CH₂O/L y 850 mg CH₃OH/L. 6: 950 mg CH₃OH/L.

4.4.2.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y metanol

Se estudió el proceso de desnitrificación en presencia de distintas proporciones de formaldehído y metanol (Tabla 4.2). En todos los ensayos se mantuvo constante la concentración de nitrato en 400 mg N/L y la relación DQO/N en 3.6. La evolución en la concentración de nitrito y nitrato a lo largo del tiempo se muestra en la Figura 4.7-B. Se puede observar que en todos los casos la disminución en la concentración de nitrato coincide en el tiempo con la disminución en las concentraciones de metanol y ácido fórmico. Por tanto, queda confirmado que el formaldehído se transforma en metanol y ácido fórmico y estos son posteriormente empleados en el proceso de desnitrificación.

En todos los experimentos, excepto en los realizados con metanol como única fuente de carbono, tuvo lugar una acumulación de nitrito. Dicha acumulación fue mayor cuanto más elevada era la concentración inicial de formaldehído. De este modo, en los ensayos con mayor concentración de formaldehído (1360 mg/L) se alcanzaron concentraciones de nitrito de 230 mg N/L, frente a los 6 mg N/L obtenidos en los ensayos realizados con menor cantidad de formaldehído (160 mg/L). Esto concuerda con los datos obtenidos anteriormente en la desnitrificación empleando formaldehído como única fuente de carbono (Figura 4.5). La aparición de nitrito puede deberse al efecto inhibitorio provocado por la acumulación de ácido fórmico procedente de la dismutación del formaldehído. Cuanto mayor fue la acumulación de ácido fórmico, mayor fue la inhibición y por tanto, se obtuvo una concentración más alta de nitrito.

4.4.3. Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído

Con el fin de estudiar la biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono y su influencia sobre el proceso de desnitrificación, se realizaron ensayos anóxicos en continuo según se indica en el Apartado 4.3.2.

4.4.3.1. Biodegradación de formaldehído como única fuente de carbono

La biodegradación de formaldehído en medio anóxico también se estudió en continuo, variando su concentración en el influente entre 625 y 5000 mg/L (Tabla 4.3). La evolución de la concentración de formaldehído en el influente y en el efluente del reactor se muestra en la Figura 4.8. La unidad permaneció estable hasta el día 81 de operación, en el cual las concentraciones de formaldehído y nitrato en el influente eran de 4375 mg/L y 700 mg N/L, respectivamente. Durante este período, los niveles de biodegradación de formaldehído fueron muy elevados, siendo su concentración media en el efluente de 2.2 mg/L. Se obtuvieron eficacias de eliminación de formaldehído superiores al 98.5% para todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, entre 0.37 y 2.59 kg DQO/m³·d.

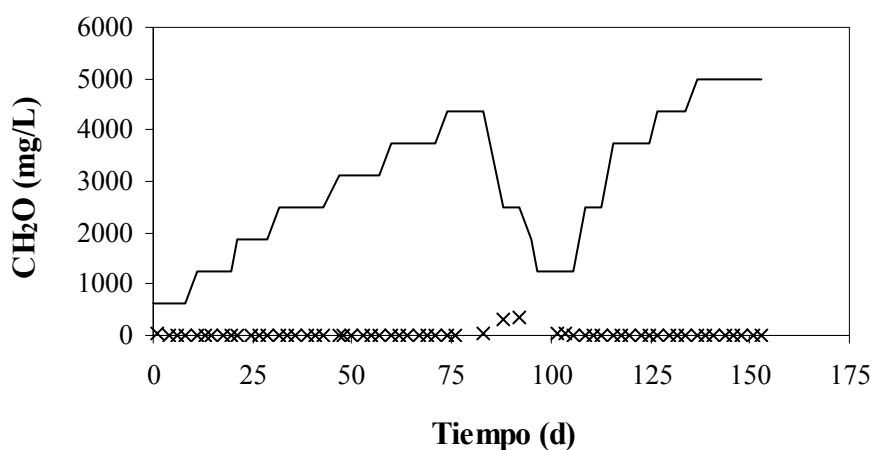


Figura 4.8. Concentración de formaldehído en el influente (-) y en el efluente (x) del reactor.

Hasta el día 81 de operación, el pH en el efluente estuvo comprendido entre 7.1 y 8.1, con un valor medio de 7.6 (Figura 4.9). A medida que aumenta la concentración de nitrato en el influente, se puede observar un aumento en el CI en el efluente, lo cual es lógico ya que en el proceso de desnitrificación se produce alcalinidad. Pero a partir del día 81 de operación, se observa un descenso brusco del pH que llegó a alcanzar valores de 4.4. Este descenso pudo ser debido a la elevada concentración de

ácido fórmico que se produjo durante esos días, según se indica más adelante. La disminución del pH, acompañada lógicamente por la caída en el CI, provocó una desestabilización del sistema. Con el fin de recuperar su eficacia el lodo del reactor se lavó con disolución tampón para aumentar el pH y se disminuyeron las concentraciones de formaldehído y nitrato en el influente.

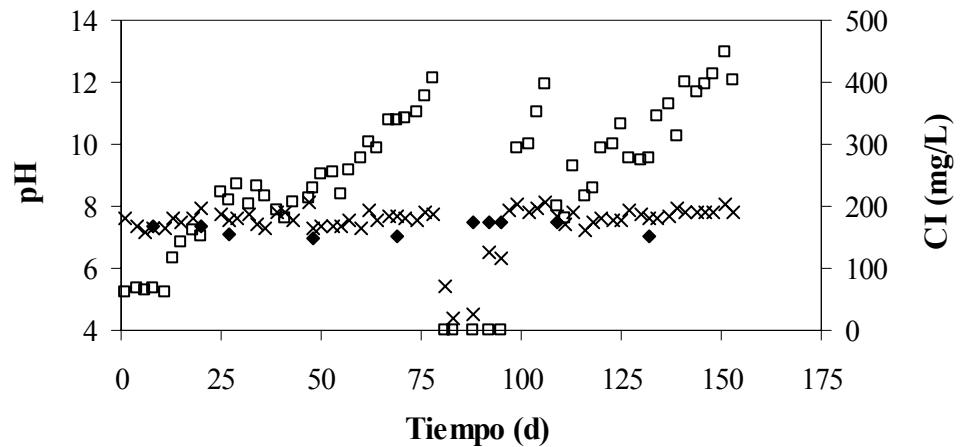


Figura 4.9. pH en el influente (◆), pH en el efluente (x) y CI en el efluente (□) del reactor.

Una vez recuperada la eficacia inicial, se volvieron a aumentar paulatinamente las concentraciones de formaldehído y nitrato en el influente hasta alcanzar 5000 mg/L y 800 mg N/L, respectivamente. Durante este período, las eficacias fueron equivalentes a las obtenidas hasta el día 81 de operación. La concentración media de formaldehído en el efluente fue de 2.1 mg/L, obteniendo eficacias de eliminación superiores al 99.8% para velocidades de carga orgánica hasta 2.96 kg DQO/m³·d (2.78 kg CH₂O/m³·d).

Comparando con la bibliografía, Garrido *y col.* (2000) estudiaron el tratamiento de aguas residuales de una industria productora de adhesivos de formaldehído y urea. Para ello emplearon un sistema de nitrificación-desnitrificación en dos reactores de biomasa en suspensión. La mayor parte del formaldehído se usó como fuente de carbono en el proceso de

desnitrificación, obteniendo velocidades de eliminación entre 0.2 y 0.6 kg CH₂O/m³·d. Garrido *y col.* (2001) trabajaron con un filtro de flujo ascendente con el fin de analizar la hidrólisis de urea, la eliminación de formaldehído y el proceso de desnitrificación. Para ello aumentaron progresivamente la velocidad de carga de formaldehído hasta 4.0 kg CH₂O/m³·d y encontraron que la máxima velocidad de eliminación fue de 2.0 kg CH₂O/m³·d. Campos *y col.* (2003) estudiaron la eliminación de urea y formaldehído empleando un reactor anóxico de tipo USB. Al final del experimento obtuvieron velocidades de eliminación de formaldehído de 2.4 kg CH₂O/m³·d. Las velocidades de carga de formaldehído eliminadas en nuestro caso (2.78 kg CH₂O/m³·d) son superiores a las encontradas en la bibliografía. Esto puede deberse a la gran adaptación del lodo empleado a la presencia del compuesto en la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de resinas de la cual fue obtenido.

Como se ha indicado en el apartado anterior, el formaldehído da como productos de biodegradación metanol y ácido fórmico, por ello, se decidió determinar estos compuestos en el efluente (Figura 4.10). Hasta el día 81 de operación sus concentraciones no superaron los 72 mg/L de metanol y 110 mg/L de ácido fórmico. Ese día se alcanzaron 891 mg/L de metanol y 1019 mg/L de ácido fórmico y posteriormente, 334 mg/L de formaldehído. Esta elevada concentración de ácido fórmico pudo ser la causa del descenso brusco del pH. Cuando la unidad se fue recuperando, las concentraciones de todos los compuestos fueron disminuyendo. Aun así, la concentración de metanol en el efluente permaneció bastante alta hasta el último día de operación. Esto puede deberse a que las bacterias que utilizaban metanol como fuente de carbono no se recuperasen. Por tanto, en la biodegradación anóxica de formaldehído es necesario tener en cuenta las condiciones de operación ya que podría producirse una cantidad elevada de metanol y ácido fórmico con el consecuente descenso del pH.

Aun cuando el formaldehído se eliminó casi completamente y teniendo en cuenta la existencia de metanol y ácido fórmico en el efluente, una fracción de DQO del influente estuvo presente en el efluente de la unidad durante todo el período de operación. El porcentaje de DQO que

permaneció en el efluente fue de alrededor del 15.4%. Dicha DQO pudo ser debida a bioproductos inertes del lodo del reactor.

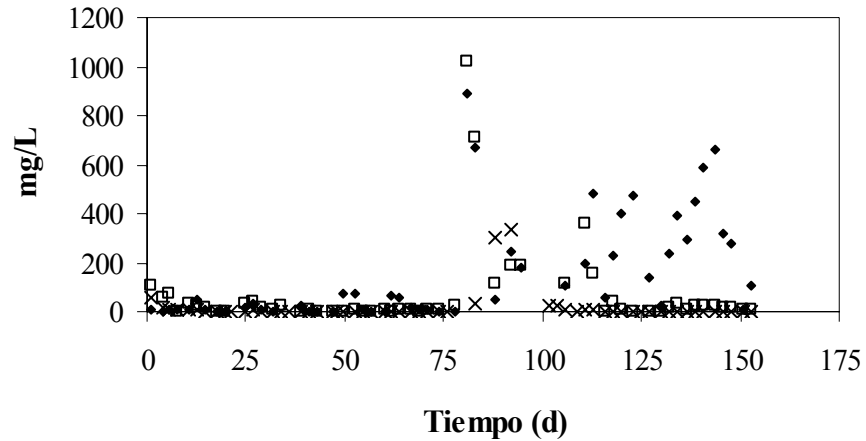


Figura 4.10. Concentración de formaldehído (x), metanol (◆) y ácido fórmico (□) en el efluente del reactor.

4.4.3.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído

El proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído también se estudió en el reactor en continuo. La evolución de las concentraciones de nitrato y nitrito se presenta en la Figura 4.11. La relación DQO/N se mantuvo en 6.7, variando la concentración de nitrato en el influente entre 100 y 800 mg N/L (Tabla 4.3).

Hasta el día 81 de operación, se obtuvieron elevados porcentajes de desnitrificación, siendo la eficacia de desnitrificación media del 99.7% (Figura 4.12). Pero a partir de ese día, como se ha indicado anteriormente se observó un descenso brusco del pH, acompañado lógicamente por la caída en el porcentaje de desnitrificación hasta el 20.8% (562.8 mg N/L de nitrato en el efluente). Una vez recuperada la eficacia inicial, se volvió a aumentar paulatinamente la concentración de nitrato hasta alcanzar 800 mg N/L. Durante este período, las eficacias fueron equivalentes a las obtenidas hasta el día 81 de operación, obteniendo porcentajes de desnitrificación elevados para todas las velocidades de carga de nitrato aplicadas, hasta 0.44 kg N-

$\text{NO}_3^-/\text{m}^3\cdot\text{d}$. La eficacia de desnitrificación media fue del 99.9%. Durante todo el período de operación ocasionalmente apareció nitrito en el efluente, permaneciendo siempre por debajo de 2.9 mg N/L, excepto en los días en los que el pH estuvo por debajo de su valor óptimo en los que alcanzó 18.7 mg N/L.

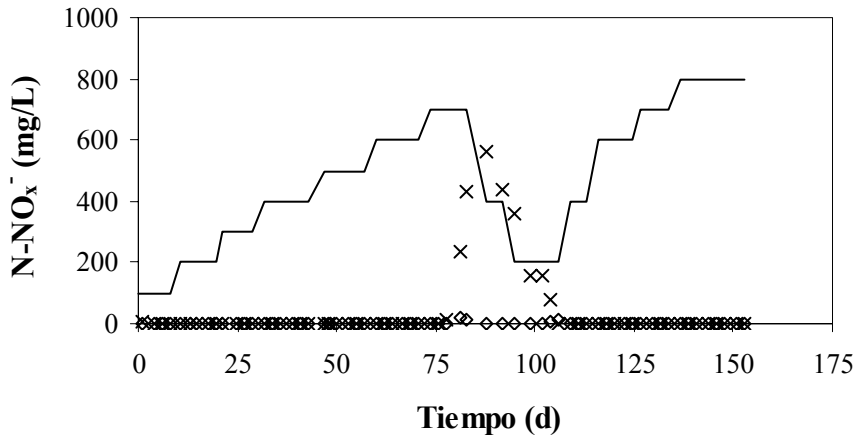


Figura 4.11. Nitrato en el influente (—) y nitrato (x) y nitrito (◇) en el efluente del reactor.

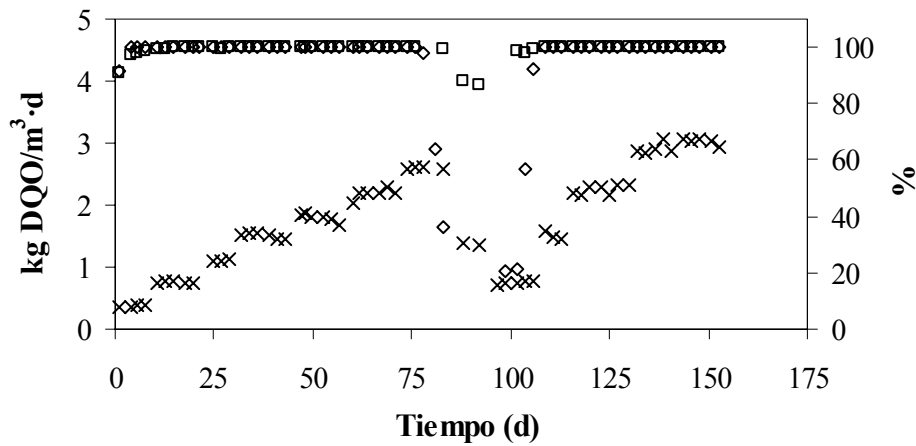


Figura 4.12. Velocidad de carga de formaldehído aplicada (x), porcentaje de eliminación de formaldehído (□) y porcentaje de desnitrificación (◇).

Exceptuando el problema con el descenso del pH que provocó la caída del porcentaje de desnitrificación, aumentando la concentración de formaldehído hasta un valor tan elevado como 5000 mg/L, no se observó pérdida en la eficacia del proceso. Por tanto, se puede concluir que el formaldehído se usó eficientemente como donador de electrones para la desnitrificación.

Esto concuerda con los resultados obtenidos por Garrido *y col.* (2000) y Garrido *y col.* (2001) que alcanzaron velocidades de desnitrificación de 1.0 y 0.75 kg N-NO_x⁻/m³·d, respectivamente, empleando formaldehído como fuente de carbono. Campos *y col.* (2003) también estudiaron la eliminación de formaldehído empleando un reactor anóxico de tipo USB. Encontraron que la acumulación de formaldehído en el reactor (250 - 300 mg/L) causaba un descenso en el porcentaje de desnitrificación (hasta el 15%). El proceso de desnitrificación se recuperaba totalmente al cesar la acumulación de formaldehído.

El caudal de biogás producido se midió con el sistema de desplazamiento de líquido descrito en el Apartado 4.3.2. Los datos obtenidos presentan fluctuaciones bastante grandes debido a problemas en la medida ya que cuando la producción de biogás es baja se producen retrocesos del líquido por diferencias de presión y el valor del caudal medido es erróneo.

La composición del biogás se analizó periódicamente y los resultados se muestran en la Figura 4.13. Hasta el día 81 de operación, el porcentaje de nitrógeno fue disminuyendo y los de dióxido de carbono y metano fueron aumentando. Los porcentajes de nitrógeno, dióxido de carbono y metano en el biogás variaron entre 95.2 - 57.3%, 0.4 - 25.7% y 0 - 12.8%, respectivamente. Por tanto, tuvieron lugar dos procesos simultáneos en la misma unidad, desnitrificación y metanogénesis. Estudios previos indican que si existe suficiente fuente de carbono en el influente, ambos procesos pueden tener lugar en el mismo sistema (Akunna *y col.*, 1992). Si esto sucede, la metanogénesis comienza una vez finalizada la desnitrificación, el carbono sobrante es transformado en metano y consecuentemente se alcanza un efluente con una baja DQO (Chen y Lin, 1993; Her y Huang, 1995).

Después del descenso del pH (día 81 de operación) y cuando el sistema recuperó su eficacia inicial, los porcentajes de nitrógeno, dióxido de

carbono y metano en el biogás variaron entre 89.7 - 69.4%, 7.3 - 29.5 % y 0 - 0.2%, respectivamente. Parece que durante el episodio de bajo pH, las bacterias metanogénicas resultaron más afectadas que las desnitrificantes.

Garrido *y col.* (1998) trabajando con un filtro anóxico, detectaron óxido nitroso en la fase gas durante la desnitrificación cuando se acumulaba formaldehído. Midieron un 1% de óxido nitroso cuando la concentración de formaldehído en el influente se aumentó a 1500 mg/L y la velocidad de carga de 1.6 a 6.4 kg DQO (CH₂O)/m³·d. En nuestro caso, en ningún momento se detectó óxido nitroso en el biogás.

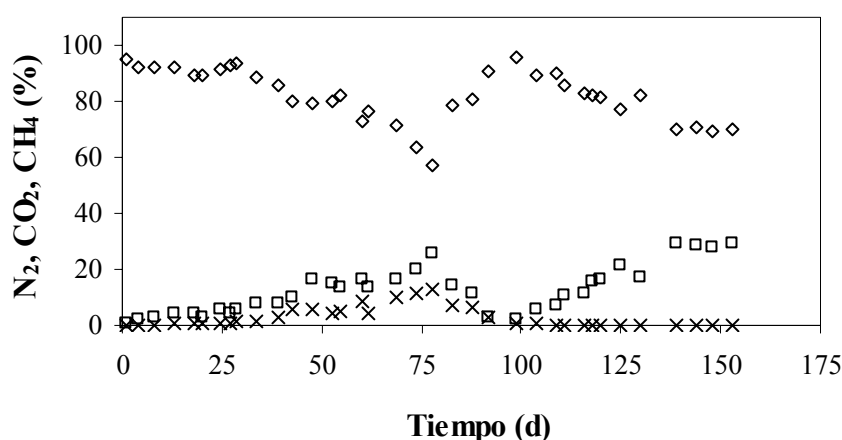


Figura 4.13. Evolución de la composición del biogás: nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

La concentración de biomasa en el reactor aumentó de un valor inicial de 8.0 a 11.2 g SSV/L después de cinco meses de operación. No se purgó biomasa del reactor durante todo el período experimental. Al ir aumentando las velocidades de carga orgánica y nitrogenada aplicadas, la concentración de biomasa en el efluente también aumentó (Figura 4.14). Durante el período de descenso del pH, la concentración de biomasa en el efluente disminuyó ya que la producción de biogás fue menor y el lodo estaba más decantado. Se obtuvo lodo con buenas propiedades de sedimentación y un efluente con bajas concentraciones de sólidos en suspensión, variando entre 0.032 y 0.190 g SSV/L.

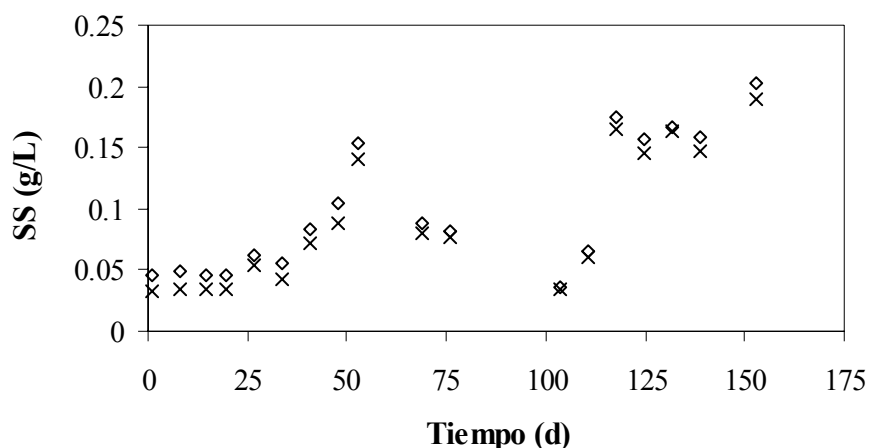


Figura 4.14. Sólidos en suspensión totales (◇) y volátiles (x) en el efluente del reactor.

Los resultados obtenidos en continuo corroboraron los obtenidos en los ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído (Apartado 4.4.1). Se demostró que es posible la biodegradación anóxica de concentraciones elevadas de formaldehído y la desnitrificación empleando este compuesto como fuente de carbono. Sin embargo, a diferencia de los ensayos en discontinuo, en continuo la acumulación de nitrito durante el proceso de desnitrificación fue muy baja.

4.4.4. Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído y metanol

Se llevaron a cabo ensayos anóxicos en continuo con formaldehído y metanol según se indica en el Apartado 4.3.2, con el propósito de estudiar su biodegradación y la influencia de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación.

4.4.4.1. Biodegradación de formaldehído y metanol

Se realizaron ensayos anóxicos en continuo con la finalidad de analizar la biodegradación de formaldehído en presencia de metanol,

empleando distintas proporciones de ambos compuestos (Tabla 4.4). En la Figura 4.15 se muestra la concentración de formaldehído en el influente y en el efluente, y de metanol en el influente. No se representa la concentración de metanol en el efluente porque no se detectó durante todo el período de operación. Se degradaron concentraciones de formaldehído de hasta 1500 mg/L (0.84 kg DQO (CH₂O)/m³·d) con un porcentaje de eliminación superior al 99.8% durante todo el ensayo, manteniéndose su concentración en el efluente siempre por debajo de 0.8 mg/L. En cuanto al metanol, su degradación fue completa para concentraciones comprendidas entre 153 y 871 mg/L. Los resultados obtenidos indican que la presencia de metanol a las concentraciones utilizadas no afecta a la biodegradación anóxica de formaldehído. Por tanto, podría usarse metanol como fuente de carbono adicional para la desnitrificación en aguas que contengan formaldehído, sin afectar a su eliminación.

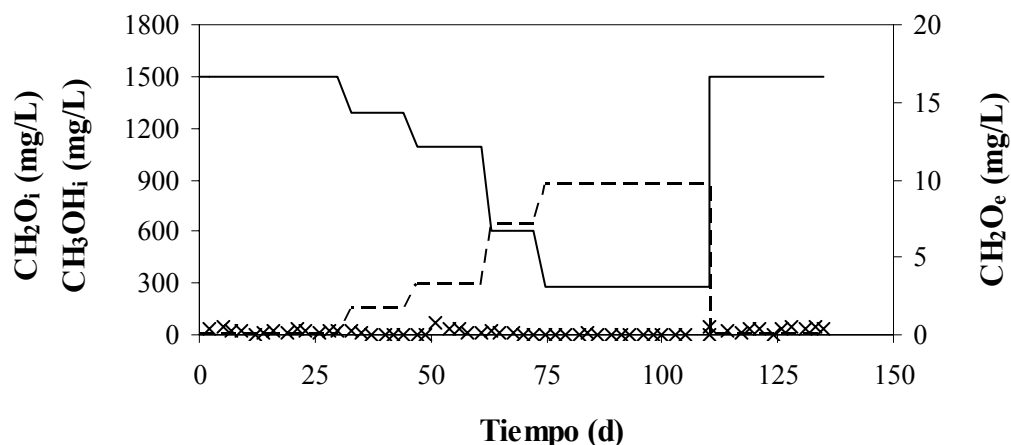


Figura 4.15. Concentración de formaldehído en el influente (—) y en el efluente (x) y de metanol en el influente (— —) del reactor.

El porcentaje medio de eliminación de DQO fue del 96.7%, inferior al porcentaje de eliminación de formaldehído. El valor medio de DQO en el efluente fue de 54.1 mg/L. Tras haber observado en los ensayos en discontinuo la dismutación del formaldehído en metanol y ácido fórmico (Apartado 4.4.2), se pensó en la posibilidad de que esa DQO residual se

debiera a la acumulación de ácido fórmico. Sin embargo, no se detectó este compuesto en el efluente en ningún momento. Por tanto, la DQO residual pudo ser debida a bioproductos inertes del lodo del reactor.

4.4.4.2. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y metanol

Se estudió en el reactor en continuo el efecto de la variación en la proporción de formaldehído y metanol en el influente (Tabla 4.4) sobre el proceso de desnitrificación. La concentración de nitrato en el influente se mantuvo constante en 400 mg N/L (0.21 kg N-NO₃⁻/m³·d) y la relación DQO/N en 4. En la Figura 4.16 se representa la evolución de las concentraciones de nitrato y nitrito junto a la concentración de metanol en el influente. Inicialmente, el reactor se alimentó únicamente con formaldehído y las concentraciones de nitrato y nitrito en el efluente permanecieron entre 13.0 - 63.7 y 2.7 - 24.5 mg N/L, respectivamente. Sin embargo, dichas concentraciones disminuyeron después de 26 días de operación. Al ir aumentando la cantidad de metanol en el influente se observó un aumento en la concentración de nitrato en el efluente. Cuando la concentración de metanol se subió a 871 mg/L, el aumento en la concentración de nitrato y nitrito en el efluente fue mayor, alcanzándose valores de hasta 203.1 y 65.7 mg N/L, respectivamente. Tras 18 días de operación con esta concentración de metanol, se recuperó la desnitrificación y las concentraciones de nitrato y nitrito en el efluente disminuyeron por debajo de 40.6 y 38.0 mg N/L, respectivamente. Posteriormente, el reactor se alimentó de nuevo únicamente con formaldehído, siendo la concentración de nitrato y nitrito inferior a 16.7 y 26.4 mg N/L, respectivamente. Por tanto, en este último período se alcanzó un porcentaje de desnitrificación medio del 95.4%.

Cada aumento en la proporción de metanol en el influente produjo una disminución en el porcentaje de desnitrificación. Sin embargo, tras un cierto período de adaptación a las nuevas condiciones, el porcentaje de desnitrificación se recuperó. Esto corrobora los resultados obtenidos por otros autores que observaron ese período de adaptación del medio al metanol, tras el cual se mejoraba la desnitrificación en el sistema (Nyberg y col., 1992; Purtschert y col., 1996).

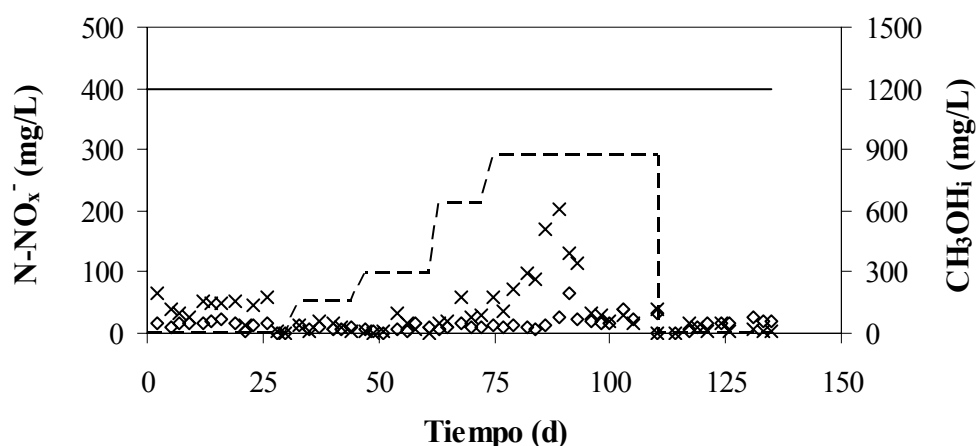


Figura 4.16. Nitrato en el influente (—), nitrato (x) y nitrito (◇) en el efluente y metanol en el influente (—) del reactor.

Nyberg *y col.* (1992) operaron una planta de tratamiento de aguas residuales con un sistema de post-desnitrificación de lodos activos. Emplearon metanol como fuente de carbono externa y observaron que la desnitrificación con metanol requirió de un período de adaptación de la biomasa al mismo. En su caso este período fue de aproximadamente un mes, hasta alcanzar porcentajes de desnitrificación del 90%. Durante este período de adaptación tiene lugar la proliferación de bacterias metilotróficas facultativas que utilizan metanol como fuente de carbono para la desnitrificación. Purtschert *y col.* (1996) operaron una planta de tratamiento de aguas residuales con un sistema de pre-desnitrificación de lodos activos. La adición de metanol como fuente de carbono externa mejoró el porcentaje de desnitrificación del 35 al 55%, tras un período de adaptación de unos días.

En cuanto al biogás (Figura 4.17), estuvo compuesto mayoritariamente por nitrógeno, con un valor medio del 92.6%, siendo el porcentaje medio de dióxido de carbono del 4.3%. A diferencia de los ensayos con formaldehído (Figura 4.13), no se detectó metano durante todo el período de operación, lo cual es lógico ya que la relación DQO/N es bastante menor. Además, se detectó óxido nitroso en torno a los días 14 - 26 y 75 - 110 de operación, no superando en ningún momento el 0.9%.

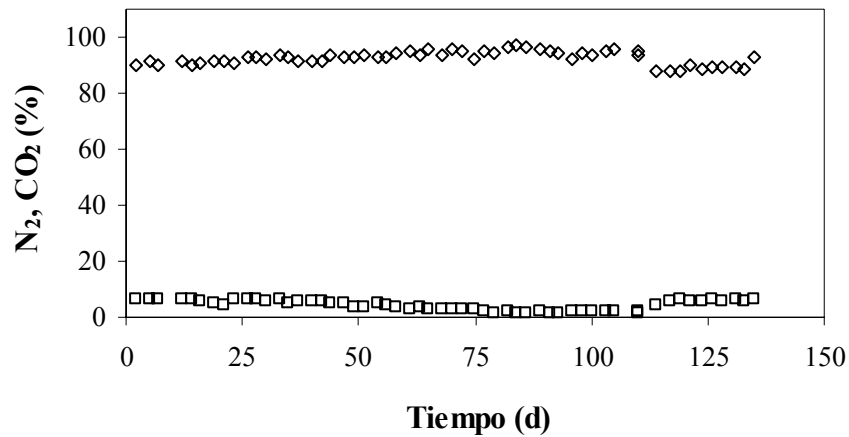


Figura 4.17. Evolución de la composición del biogás: nitrógeno (\diamond) y dióxido de carbono (\square).

Un parámetro importante en el control de los procesos biológicos es el pH (Figura 4.18). Su valor medio en el influente fue de 6.9. Durante todo el periodo de operación, el pH en el efluente estuvo comprendido entre 7.6 y 8.8, con un valor medio de 8.2. Se puede observar que cuando disminuye el porcentaje de desnitrificación también disminuye el CI en el efluente, debido al descenso en la producción de alcalinidad.

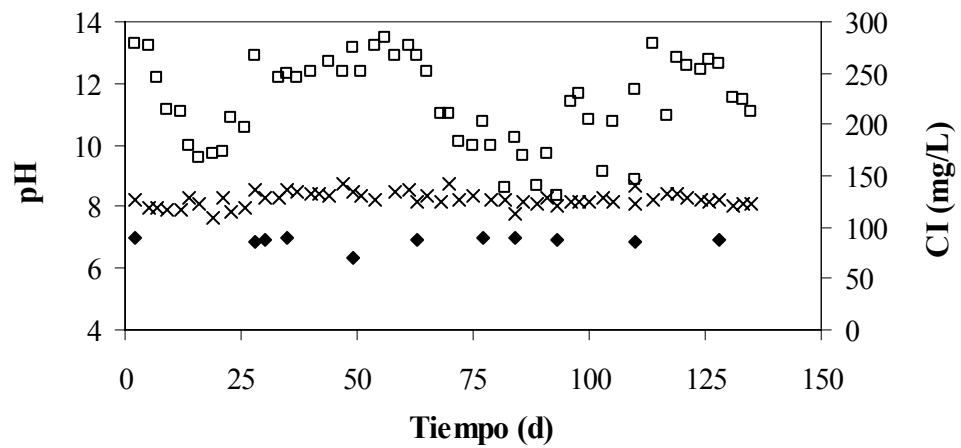


Figura 4.18. pH en el influente (\blacklozenge), pH en el efluente (\times) y CI en el efluente (\square) del reactor.

La concentración de biomasa en el reactor prácticamente no sufrió ninguna variación con respecto al valor inicial de 7.2 g SSV/L. En la Figura 4.19 se muestra la evolución de la concentración de biomasa en el efluente, dicha concentración varió entre 0.054 y 0.180 g SSV/L. En el período comprendido entre los días 75 y 93 de operación, en los cuales se desestabilizó el sistema y el porcentaje de desnitrificación fue menor, aumentó la cantidad de sólidos en suspensión en el efluente.

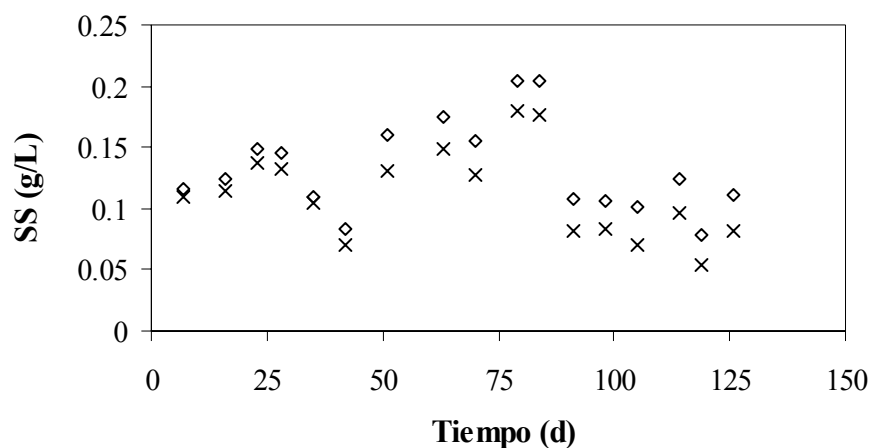


Figura 4.19. Sólidos en suspensión totales (\diamond) y volátiles (x) en el efluente del reactor.

Durante el transcurso de este estudio, el color marrón del lodo del reactor fue palideciendo, alcanzando un aspecto blanquecino. Timmermans y van Haute (1983) observaron un comportamiento similar en un reactor anóxico alimentado con concentraciones elevadas de metanol y nitrato. Tras varios meses de operación, el lodo palideció y presentó una gran capacidad desnitrificante. Estudios microscópicos revelaron que el lodo se había enriquecido en *Hyphomicrobium sp.*, bacterias metilotróficas facultativas que proliferan en medios en los que tiene lugar la desnitrificación con metanol como fuente de carbono (Purtschert y Gujer, 1999).

Tanto en los ensayos en continuo como en los ensayos en discontinuo con formaldehído y metanol (Apartado 4.4.2), se demostró que es posible la biodegradación de formaldehído y metanol en medio anóxico. Sin embargo,

a diferencia de los ensayos en discontinuo, en continuo no se observó metanol y ácido fórmico en el efluente. Además, los porcentajes de desnitrificación fueron mayores que los obtenidos en discontinuo y la acumulación de nitrito fue menor. Esto puede deberse a que no se acumuló ácido fórmico y en consecuencia, no inhibió el proceso de desnitrificación. Por tanto, es posible llevar a cabo el proceso de desnitrificación empleando formaldehído y metanol como fuentes de carbono, siempre y cuando el lodo empleado esté aclimatado a la presencia de metanol.

4.5. CONCLUSIONES

Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído

- El formaldehído como única fuente de carbono se degradó completamente a concentraciones comprendidas entre 300 y 2150 mg/L. La velocidad inicial de biodegradación aumentó al aumentar la concentración de este compuesto, alcanzando 3.3 g CH₂O/g SSV·d para la concentración más elevada.
- El proceso de desnitrificación resultó afectado por la concentración inicial de formaldehído, aumentando la acumulación de nitrito al aumentar dicha concentración. Para la concentración inicial de formaldehído más elevada (2150 mg/L) se acumularon aproximadamente 100 mg N/L de nitrito.

Ensayos anóxicos en discontinuo con formaldehído y metanol

- En presencia de metanol, fue posible la eliminación de cantidades altas de formaldehído (hasta 980 mg/L). Sin embargo, el proceso de biodegradación fue más lento que en el caso en el que el formaldehído se encontraba como única fuente de carbono.
- Se comprobó que la eliminación de formaldehído daba lugar a la aparición en el medio de metanol y ácido fórmico. Además, cuanto mayor fue la acumulación de ácido fórmico mayor fue el tiempo necesario para la eliminación de metanol y mayor fue la acumulación de nitrito.

Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído

- La concentración de formaldehído en el influente se incrementó desde 625 hasta 5000 mg/L. Se alcanzaron eficacias de eliminación de formaldehído superiores al 98.5% para todas las velocidades de carga aplicadas, entre 0.37 y 2.96 kg DQO/m³·d.
- La concentración de nitrato en el influente se varió entre 100 y 800 mg N/L, manteniendo la relación DQO/N en 6.7. Se obtuvieron porcentajes de desnitrificación alrededor del 99.7% para todas las velocidades de carga nitrogenada aplicadas, hasta 0.44 kg N-NO₃⁻/m³·d.

Ensayos anóxicos en continuo con formaldehído y metanol

- Cuando se alimentaron al reactor distintas proporciones de formaldehído y metanol, tuvo lugar la biodegradación de ambos compuestos (hasta 1500 mg CH₂O/L y 871 mg CH₃OH/L). Sin embargo, cada aumento en la proporción de metanol provocó una disminución en el porcentaje de desnitrificación. Se observó que fue necesario un período de adaptación del medio al metanol, tras el cual se recuperó la desnitrificación en el sistema.
- A diferencia de los ensayos en discontinuo, en continuo no se detectó metanol ni ácido fórmico en el efluente. Además, los porcentajes de desnitrificación obtenidos en continuo fueron mayores y la acumulación de nitrito fue menor.
- Los resultados obtenidos indican que se puede llevar a cabo el proceso de desnitrificación empleando formaldehído y metanol como fuentes de carbono, siempre y cuando el lodo empleado esté aclimatado a la presencia de metanol.

4.6. REFERENCIAS

- Adroer N., Casas C., de Mas C., Solà C. **1990** Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomonas putida*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**, 217-220.

- Azachi M., Henis Y., Oren A., Gurevich P., Sarig S. **1995** Transformation of formaldehyde by a *Halomonas* sp. *Can. J. Microbiol.* **41**, 548-553.
- Bonastre N., de Mas C., Solà C. **1986** Vavilin equation in kinetic modelling of formaldehyde biodegradation. *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 616-619.
- Campos J. L., Sánchez M., Mosquera A., Méndez R., Lema J. M. **2003** Coupled BAS and anoxic USB system to remove urea and formaldehyde from wastewater. *Water Res.* **37**, 3445-3451.
- Chen K. C., Lin Y. F. **1993** The relationship between denitrifying bacteria and methanogenic bacteria in a mixed culture system of acclimated sludges. *Water Res.* **27** (12), 1749-1759.
- Garrido J. M., Moreno J., Méndez R., Lema J. M. **1998** Nitrous oxide production under toxic conditions in a denitrifying anoxic filter. *Water Res.* **32** (8), 2550-2552.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2000** Treatment of wastewaters from a formaldehyde-urea adhesives factory. *Water Sci. Technol.* **42** (5-6), 293-300.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2001** Simultaneous urea hydrolysis, formaldehyde removal and denitrification in a multifed upflow filter under anoxic and anaerobic conditions. *Water Res.* **35** (3), 691-698.
- Hidalgo A., Lopategi A., Prieto M., Serra J. L., Llama M. J. **2002** Formaldehyde removal in synthetic and industrial wastewater by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 260-263.
- Kato N., Shirakawa K., Kobayashi H., Sakazawa C. **1983** The dismutation of aldehydes by a bacterial enzyme. *Agric. Biol. Chem.* **47** (1), 39-46.
- Lu Z., Hegemann W. **1998** Anaerobic toxicity and biodegradation of formaldehyde in batch cultures. *Water Res.* **32** (1), 209-215.

- Nyberg U., Aspegren H., Andersson B., Jansen J. C., Villadsen I. S. **1992** Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. *Water Sci. Technol.* **26** (5-6), 1077-1086.
- Omil F., Méndez D., Vidal G., Méndez R., Lema J. M. **1999** Biodegradation of formaldehyde under anaerobic conditions. *Enzyme Microbiol. Technol.* **24**, 255-262.
- Purtschert I., Siegrist H., Gujer W. **1996** Enhanced denitrification with methanol at WWTP Zurich-Werdholzli. *Water Sci. Technol.* **33** (12), 117-126.
- Purtschert I., Gujer W. **1999** Population dynamics by methanol addition in denitrifying wastewater treatment plants. *Water Sci. Technol.* **39** (1), 43-50.
- Qu M., Bhattacharya S. K. **1997** Toxicity and biodegradation of formaldehyde in anaerobic methanogenic culture. *Biotechnol. Bioeng.* **55** (5), 727-736.
- Timmermans P., van Haute A. **1983** Denitrification with methanol. *Water Res.* **17** (10), 1249-1255.
- Veiga M. C., Soto M., Méndez R., Lema J. M. **1990** A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water Res.* **24** (12), 1551-1554.
- Yamazaki T., Tsugawa W., Sode K. **2001** Biodegradation of formaldehyde by a formaldehyde-resistant bacterium isolated from seawater. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **91-93**, 213-217.

**Capítulo 5. Biodegradación anóxica de formaldehído
y fenol y efecto de ambos compuestos sobre
el proceso de desnitrificación**

Capítulo 5. BIODEGRADACIÓN ANÓXICA DE FORMALDEHÍDO Y FENOL Y EFECTO DE AMBOS COMPUESTOS SOBRE EL PROCESO DE DESNITRIFICACIÓN

RESUMEN

Este capítulo se centra en el estudio de la eliminación simultánea de formaldehído y fenol, así como de la influencia de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. Para ello se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo.

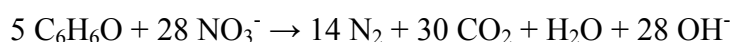
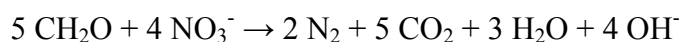
En los ensayos anóxicos en discontinuo, se estudió la biodegradación de formaldehído (260 mg/L) como única fuente de carbono y en presencia de concentraciones de fenol comprendidas entre 30 y 580 mg/L, obteniendo una velocidad inicial de biodegradación en torno a 0.5 g CH₂O/g SSV·d. En cuanto al fenol, solamente se produjo su biodegradación total en los ensayos con una concentración inicial de 30 y 180 mg/L, a concentraciones mayores se observó inhibición en su biodegradación. El proceso de desnitrificación resultó inhibido a concentraciones de fenol iguales y superiores a 360 mg/L.

En el reactor anóxico en continuo, se obtuvieron eficacias de eliminación de formaldehído superiores al 99.5% a todas las velocidades orgánicas de carga aplicadas, entre 0.89 y 0.14 kg DQO (CH₂O)/m³·d. La velocidad de carga de fenol se aumentó desde 0.03 hasta 1.3 kg DQO (C₆H₆O)/m³·d. Para concentraciones de fenol en el influente entre 27 y 755 mg/L se obtuvieron eficacias de eliminación superiores al 90.6%. Sin embargo, cuando la concentración de fenol se incrementó a 1010 mg/L, su eficacia de eliminación disminuyó. En cuanto al proceso de desnitrificación, hasta concentraciones de fenol en el influente de 755 mg/L, se obtuvieron porcentajes alrededor del 98.4%. Después de aumentar la concentración de fenol a 1010 mg/L, el porcentaje de desnitrificación disminuyó al 21.2% debido a la inhibición causada por este compuesto.

5.1. INTRODUCCIÓN

La composición de las aguas residuales de las industrias productoras de resinas depende del proceso de fabricación que se esté llevando a cabo en cada momento. En general, la materia orgánica está presente principalmente como formaldehído; sin embargo, también se generan vertidos que contienen elevadas concentraciones de fenol. Por tanto, resulta interesante estudiar la eliminación biológica simultánea de ambos compuestos, así como su influencia sobre el proceso de desnitrificación.

En presencia de compuestos tóxicos, como el formaldehído y el fenol, la eliminación biológica de nitrógeno puede resultar inhibida. Usando formaldehído o fenol como fuentes de carbono, las ecuaciones estequiométricas de la desnitrificación son las siguientes:



Como se ha indicado en los Capítulos 3 y 4, existen referencias sobre la biodegradación de formaldehído en medio aerobio (Bonastre *y col.*, 1986; Adroer *y col.*, 1990; Azachi *y col.*, 1995; Yamazaki *y col.*, 2001; Hidalgo *y col.*, 2002), en medio anaerobio (Qu y Bhattacharya, 1997; Lu y Hegemann, 1998; Omil *y col.*, 1999) y en medio anóxico (Garrido *y col.*, 2000; Garrido *y col.*, 2001; Campos *y col.*, 2003).

El fenol es un compuesto tóxico encontrado con frecuencia en efluentes industriales de refinerías y plantas químicas de resinas, pesticidas, explosivos, maderas... Es un compuesto aromático clave que se produce en grandes cantidades ya que se emplea directa o indirectamente para la síntesis de otros compuestos orgánicos usados en distintos tipos de industrias.

En la bibliografía existen diversos trabajos sobre la biodegradación de fenol en medio aerobio. Buitrón *y col.* (1998) estudiaron la degradación de fenol por lodo activo aclimatado y por bacterias aisladas. La aclimatación del lodo activo la realizaron usando una mezcla de fenol y clorofenoles durante 70 d y a continuación aislaron los microorganismos responsables de la degradación. El lodo aclimatado degradó fenol más eficazmente que las bacterias aisladas, siendo la velocidad específica de consumo de fenol 0.407

g/g SSV·d para el lodo aclimatado y 0.054 g/g SSV·d para la cepa más eficaz.

González y col. (2001 a) trabajaron con dos sistemas aerobios diferentes, un tanque agitado y un reactor de lecho fluidizado, con el fin de evaluar la biodegradación de fenol por un cultivo puro de *Pseudomonas putida*. Ambos sistemas mostraron elevadas eficacias de degradación de fenol, superiores al 90%, incluso para velocidades de carga en el influente tan altas como 4 kg/m³·d. Posteriormente, estudiaron la biodegradación de aguas residuales industriales fenólicas en el reactor de lecho fluidizado con células inmovilizadas de *Pseudomonas putida* (González y col., 2001 b). Obtuvieron eficacias de degradación de fenol superiores al 90% para velocidades de carga de 0.5 kg/m³·d. Por tanto, la velocidad de carga de fenol degradada fue bastante baja en comparación con la obtenida tratando agua sintética.

Para describir la cinética de biodegradación de fenol por cultivos puros y mixtos se han usado una gran variedad de modelos sin y con inhibición. La selección de uno de ellos es difícil porque la mayoría son empíricos y los resultados obtenidos presentan bastante variación. Entre ellos, las ecuaciones de Monod y Andrews han sido ampliamente utilizadas (Magbanua y col., 1994; Kumaran y Paruchuri, 1997; Goudar y col., 2000; Peyton y col., 2002).

En la bibliografía también existen referencias sobre la biodegradación de fenol en medio anóxico. Khoury y col. (1992) trabajando en discontinuo y en continuo, demostraron que es posible la degradación de fenol con reducción simultánea de nitrato por un consorcio compuesto de *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter* y una cepa no identificada.

Fang y Zhou (1997) trabajaron con un reactor empaquetado de flujo ascendente con el fin de evaluar la desnitrificación utilizando agua sintética fenólica. El agua contenía nitrato (223 mg N/L), fenol (100 mg/L), m-cresol y sucrosa; el tiempo de retención hidráulica lo fueron disminuyendo desde 12.2 hasta 0.52 h. Incluso al tiempo de retención de 0.52 h, la eficacia de la desnitrificación y de la degradación de fenol fue elevada, obteniendo velocidades de desnitrificación de 10.1 kg N/m³·d y de degradación de 4.3 kg/m³·d.

Blaszczyk *y col.* (1998) también estudiaron la biodegradación de fenol en condiciones desnitrificantes y para ello llevaron a cabo ensayos en discontinuo a 30°C. El fenol a concentraciones inferiores a 500 mg/L se degradó sin fase de retardo; en cambio, a concentraciones superiores (hasta 1000 mg/L) la actividad de las bacterias estuvo precedida por una fase de retardo de 9 a 15 d. El fenol también se degradó en continuo con una eficacia de degradación máxima de 2.5 kg/m³·d.

Son *y col.* (1998) analizaron la adaptación a concentraciones elevadas de fenol de ocho cepas de bacterias desnitrificantes. El fenol seleccionó las bacterias desnitrificantes a concentraciones superiores a 250 mg/L, la adaptación a concentraciones más elevadas fue posible con algunas cepas. Únicamente la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* mostró alta velocidad específica de degradación de fenol en presencia de 600 mg/L del mismo.

Holub *y col.* (2000) estudiaron la biodegradación de fenol en condiciones desnitrificantes por sedimentos de una planta de tratamiento de aguas residuales del refinado de petróleo. La incubación de los sedimentos a 30 y 55°C en un medio con fenol (500 mg/L) y nitrato (535 mg N/L) resultó en una reducción completa de nitrato acompañada por una acumulación de nitrito.

Sarfaraz *y col.* (2004) estudiaron la eliminación de fenol en medio anóxico empleando un reactor SBR. Obtuvieron eliminaciones de fenol y nitrato superiores al 80% para concentraciones de fenol en el influente hasta 1050 mg/L, correspondientes a velocidades de carga hasta 6.4 kg DQO/m³·d. Sin embargo, cuando incrementaron la concentración de fenol a 1150 mg/L, la eficacia en la eliminación del mismo disminuyó al 56% y aumentó la concentración de nitrito en el efluente.

5.2. OBJETIVOS

Este capítulo se centra en el estudio de la eliminación simultánea de formaldehído y fenol, así como de la influencia de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. Se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo para alcanzar los siguientes objetivos concretos:

Ensayos anóxicos en discontinuo

- Estudio de la biodegradación anóxica de formaldehído en presencia de diferentes concentraciones de fenol.
- Estudio de la biodegradación de fenol en medio anóxico y en presencia de formaldehído.
- Análisis del efecto de la presencia de formaldehído y fenol sobre el proceso de desnitrificación.

Ensayos anóxicos en continuo

- Estudio de la biodegradación anóxica de formaldehído en presencia de distintas concentraciones de fenol, manteniendo la relación DQO/N aproximadamente constante.
- Estudio de la biodegradación de fenol en medio anóxico, aumentando su velocidad de carga en el influente.
- Análisis del proceso de desnitrificación en presencia de diferentes concentraciones de formaldehído y fenol.

5.3. MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1. Ensayos anóxicos en discontinuo

Los ensayos anóxicos en discontinuo se llevaron a cabo como se indica en el Apartado 4.3.1 del Capítulo 4. En todos los ensayos se utilizó una concentración constante de formaldehído de 260 mg/L y de nitrato de 240 mg N/L, en cambio, la concentración de fenol se varió entre 30 y 580 mg/L. Además, se realizaron ensayos con formaldehído o fenol como única fuente de carbono (Tabla 5.1).

Tabla 5.1. Concentraciones de formaldehído y fenol, y relación DQO/N en los ensayos en discontinuo.

CH₂O (mg/L)	C₆H₆O (mg/L)	DQO/N
260	0	1.2
260	30	1.4
260	180	2.9
260	360	4.7
260	580	6.9
0	180	1.8

5.3.2. Ensayos anóxicos en continuo

Los ensayos anóxicos en continuo se realizaron en un reactor de tipo USB, similar al descrito en el Apartado 4.3.2 del Capítulo 4. Inicialmente, el reactor se inoculó con 8.5 g SSV/L de lodo obtenido del reactor anóxico de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. El caudal de alimentación al reactor se fijó en 0.51 L/d y el caudal de recirculación en 7.7 L/d, por tanto, el tiempo de retención hidráulica se mantuvo en 1.8 d.

Para alimentar el sistema se empleó agua sintética compuesta por nutrientes, fosfato de potasio, cloruro de amonio, formaldehído, fenol y nitrato de potasio. La composición de la disolución de nutrientes se indica en la Tabla 4.1 (Capítulo 4) y se añadieron 10 mL por litro de alimentación. El fosfato de potasio (0.27 g KH₂PO₄/L y 0.4 g K₂HPO₄/L) se emplea como tampón a fin de mantener el pH alrededor del valor óptimo para el proceso de desnitrificación. Se añadió el cloruro de amonio necesario para obtener una concentración de 100 mg N/L. Las concentraciones de formaldehído y fenol en la alimentación se fueron variando durante el período de operación (1505 - 235 mg CH₂O/L y 27 - 1010 mg C₆H₆O/L), según se indica en la Tabla 5.2, mientras que la concentración de nitrato se mantuvo constante en

400 mg N/L. Con el fin de estudiar la biodegradación de fenol y su efecto sobre el proceso de desnitrificación, inicialmente se mantuvo la relación DQO/N entre 4 y 4.5, disminuyendo la concentración de formaldehído y aumentando paulatinamente la concentración de fenol. Finalmente, se aumentó la relación DQO/N a 6.

Tabla 5.2. Concentraciones de formaldehído y fenol, y relación DQO/N en la alimentación.

Tiempo (d)	CH₂O (mg/L)	C₆H₆O (mg/L)	DQO/N
0 - 16	1430	27	4
17 - 37	1360	60	4
38 - 52	1505	60	4.4
53 - 66	1485	90	4.5
67 - 89	1415	120	4.5
90 - 108	1350	150	4.5
109 - 125	1020	300	4.5
126 - 153	570	500	4.5
154 - 167	235	650	4.5
168 - 202	0	755	4.5
203 - 227	0	1010	6
228 - 245	1125	505	6

5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1. Ensayos anóxicos en discontinuo

Con el fin de estudiar la biodegradación de formaldehído y fenol, así como su influencia sobre el proceso de desnitrificación, se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo según se indica en el Apartado 5.3.1.

5.4.1.1. Biodegradación de formaldehído

Se estudió la biodegradación de 260 mg/L de formaldehído como única fuente de carbono y en presencia de concentraciones de fenol comprendidas entre 30 y 580 mg/L. Para ello se siguió la concentración de formaldehído a lo largo del tiempo y los datos obtenidos se muestran en la Figura 5.1. La biodegradación completa de 260 mg/L de formaldehído tuvo lugar en menos de 24 h, observándose el mismo comportamiento para todos los experimentos sin fenol y con diferentes concentraciones del mismo. La velocidad inicial de biodegradación obtenida es similar en todos los casos, en torno a 0.5 g CH₂O/g SSV·d. Podemos concluir que, para las concentraciones ensayadas, la presencia de distintas cantidades de fenol en el medio no influye en la eliminación de formaldehído. Posteriormente a la biodegradación completa de formaldehído, tuvo lugar la eliminación de fenol. Por tanto, es posible la eliminación de formaldehído en condiciones anóxicas en presencia de fenol, sin variar su velocidad de degradación.

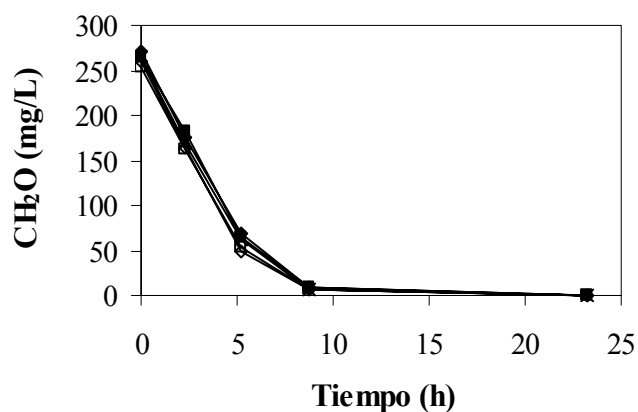


Figura 5.1. Biodegradación de formaldehído en presencia de fenol: (◇) 0, (□) 30, (x) 180, (◆) 360 y (■) 580 mg C₆H₆O/L.

5.4.1.2. Biodegradación de fenol

Con el fin de estudiar la biodegradación de fenol se emplearon distintas concentraciones del mismo (entre 30 y 580 mg/L) en presencia de una cantidad constante de formaldehído (260 mg/L). Se determinó la

concentración de fenol a lo largo del tiempo y los datos obtenidos se presentan en la Figura 5.2. En los blancos, sin biomasa, y en los controles, con biomasa esterilizada, la concentración de fenol permaneció prácticamente constante durante todo el experimento; por tanto, no existieron pérdidas del compuesto por mecanismos abióticos. Pocas horas después de comenzar los ensayos, el formaldehído ya se había eliminado completamente (Figura 5.1), pero la biodegradación de fenol no comenzó para el experimento de menor concentración hasta el tercer día, es decir, no hubo eliminación simultánea de ambos sustratos. Parece que el fenol ejerció una mayor inhibición y se necesitó un tiempo de adaptación del lodo al sustrato. Solamente se produjo la biodegradación total de fenol en los ensayos con una concentración inicial de 30 y 180 mg/L. Se puede observar que la presencia o ausencia de formaldehído no influye en la eliminación de fenol. En los ensayos con una concentración inicial de fenol de 360 mg/L, tras 36 d sólo se había eliminado el 33.7%. Cuando la concentración inicial de fenol fue de 580 mg/L, se observó una importante inhibición en su biodegradación.

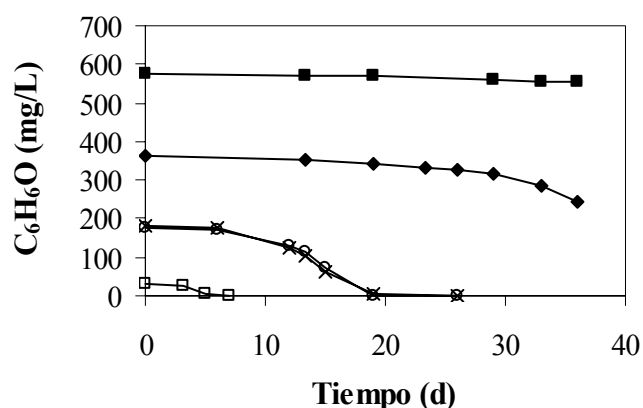


Figura 5.2. Biodegradación de fenol en presencia de formaldehído (260 mg $\text{CH}_2\text{O/L}$): (\square) 30, (\times) 180, (\blacklozenge) 360 y (\blacksquare) 580 mg $\text{C}_6\text{H}_6\text{O/L}$ y de (\circ) 180 mg $\text{C}_6\text{H}_6\text{O/L}$ sin formaldehído.

Blaszczyk y *col.* (1998) también estudiaron la biodegradación de fenol en condiciones desnitrificantes y para ello llevaron a cabo ensayos en

discontinuo a 30°C. El fenol a concentraciones inferiores a 500 mg/L se degradó sin fase de retardo, en cambio, a concentraciones superiores (hasta 1000 mg/L) la actividad de las bacterias estuvo precedida por una fase de retardo de 9 a 15 d. Las concentraciones de fenol degradadas son mayores a las obtenidas en nuestro caso y la fase de retardo es menor. Esto puede deberse a la temperatura puesto que los ensayos fueron realizados a 30°C y en nuestro caso a 20°C y la actividad de los microorganismos disminuye al disminuir la temperatura. Otra causa puede ser la adaptación de las bacterias que usaron en los ensayos a la presencia de fenol ya que las mantuvieron durante tres años en un medio con fenol como fuente de carbono y nitrato como aceptor de electrones.

5.4.1.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y fenol

Se estudió el proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído (260 mg/L) y distintas concentraciones de fenol (entre 30 y 580 mg/L). La evolución en la concentración de nitrato se presenta en la Figura 5.3. En todos los ensayos se observa una disminución en la concentración de nitrato. Sólo se detectó nitrito (hasta 12.2 mg N/L) en los experimentos con mayor concentración de fenol (580 mg/L), por lo que no aparece representado. Otro parámetro que se siguió durante el transcurso de los experimentos fue el pH, encontrándose en todos los casos entre 7.5 y 8.

Como fuente de carbono se usaron dos sustratos diferentes y parece que el proceso de desnitrificación transcurrió en dos etapas. La primera etapa se corresponde con el uso de formaldehído como fuente de carbono ya que tuvo lugar a la vez que la biodegradación del mismo. Además, la velocidad de desnitrificación en esta etapa fue similar en todos los casos (0.067 g N-NO₃⁻/g SSV·d) debido a que la concentración de formaldehído fue la misma. La segunda etapa se corresponde con el uso de fenol como fuente de carbono ya que tuvo lugar después de eliminarse el formaldehído. En esta segunda etapa la velocidad de desnitrificación fue mucho más baja. Este proceso en dos etapas puede corroborarse considerando que en los ensayos con formaldehído como única fuente de carbono sólo se observa la disminución inicial en la concentración de nitrato y después permanece constante (primera etapa), mientras que en los ensayos con fenol como única fuente de

carbono no se observa la disminución inicial en la concentración de nitrato (segunda etapa).

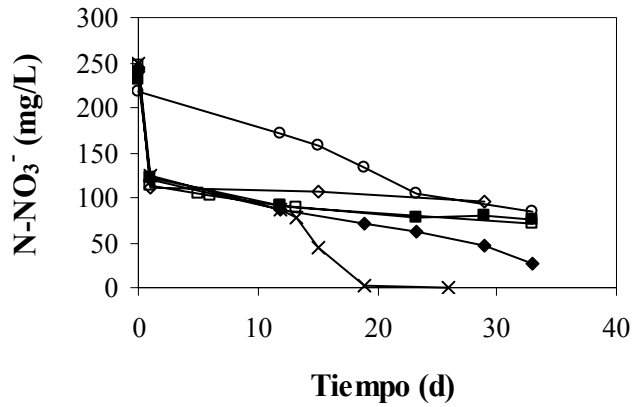


Figura 5.3. Nitrato en presencia de formaldehído (260 mg CH₂O/L) y distintas concentraciones de fenol: (◇) 0, (□) 30, (x) 180, (◆) 360 y (■) 580 mg C₆H₆O/L y de (○) 180 mg C₆H₆O/L sin formaldehído.

En todos los ensayos (excepto en el que únicamente contiene fenol) tuvo lugar aproximadamente el mismo porcentaje de desnitrificación en la primera etapa, en torno al 51.2%. En los ensayos que únicamente contienen formaldehído (Figura 5.4) el porcentaje de desnitrificación fue del 54.4%.

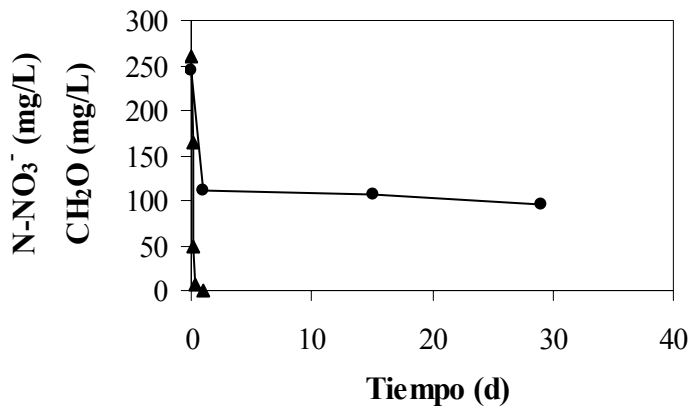


Figura 5.4. Formaldehído (▲) y nitrato (●) en los ensayos con 260 mg CH₂O/L.

Una vez eliminado el formaldehído es necesario tener en cuenta la cantidad de fenol existente y la concentración de nitrato que queda para poder explicar los distintos porcentajes de desnitrificación obtenidos. En los ensayos con 30 mg/L de fenol (Figura 5.5) no tuvo lugar la desnitrificación completa porque no disponían de la cantidad de materia orgánica necesaria. Sólo se consiguió la eliminación total de nitrato en los experimentos con 180 mg/L de fenol (Figura 5.6) ya que la cantidad de materia orgánica necesaria en dichos ensayos sí era suficiente y no se observó inhibición.

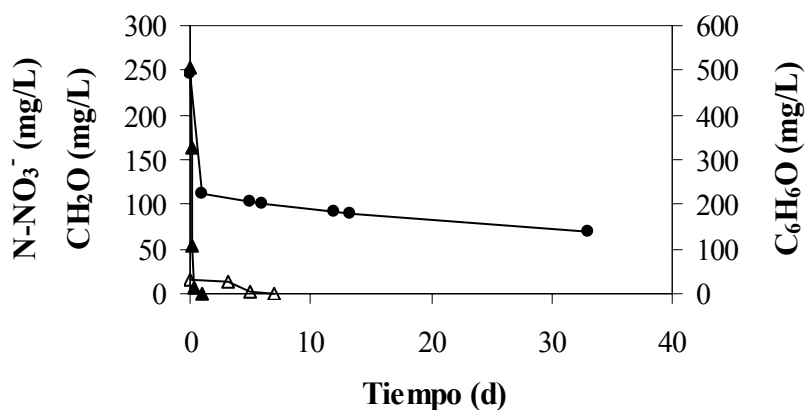


Figura 5.5. Formaldehído (▲), fenol (Δ) y nitrato (●) en los ensayos con 260 mg CH₂O/L y 30 mg C₆H₆O/L.

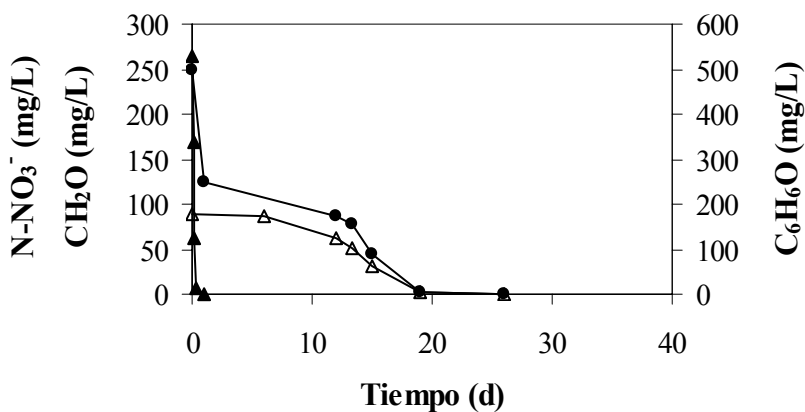


Figura 5.6. Formaldehído (▲), fenol (Δ) y nitrato (●) en los ensayos con 260 mg CH₂O/L y 180 mg C₆H₆O/L.

En los ensayos con 360 y 580 mg/L de fenol (Figuras 5.7 y 5.8), aunque la cantidad de materia orgánica sería suficiente para la desnitrificación completa, no se produjo probablemente debido a la inhibición causada por el fenol.

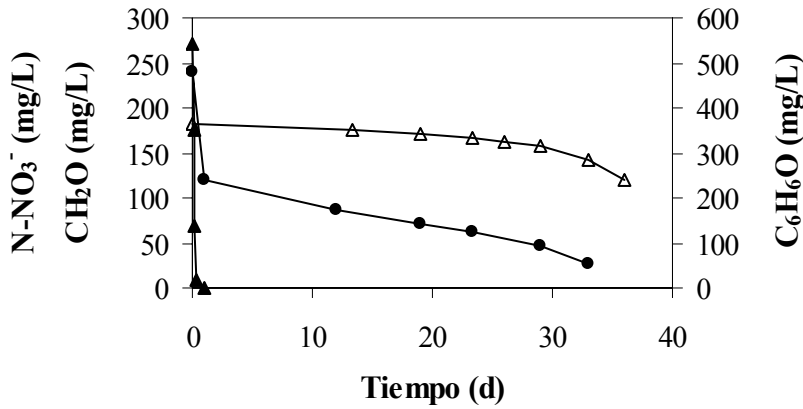


Figura 5.7. Formaldehído (▲), fenol (Δ) y nitrato (●) en los ensayos con 260 mg CH₂O/L y 360 mg C₆H₆O/L.

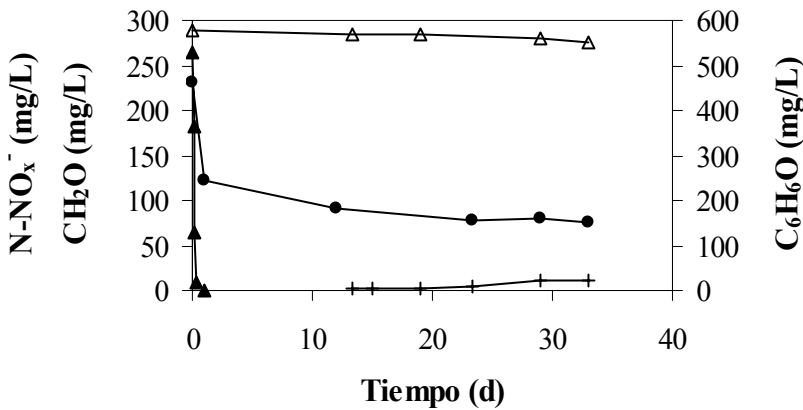


Figura 5.8. Formaldehído (▲), fenol (Δ), nitrato (●) y nitrito (+) en los ensayos con 260 mg CH₂O/L y 580 mg C₆H₆O/L.

En los ensayos con fenol solo (Figura 5.9), aunque el fenol se eliminó completamente, la desnitrificación tampoco fue completa ya que la materia

orgánica no era suficiente. Por tanto, el proceso de desnitrificación resultó inhibido a concentraciones de fenol iguales y superiores a 360 mg/L.

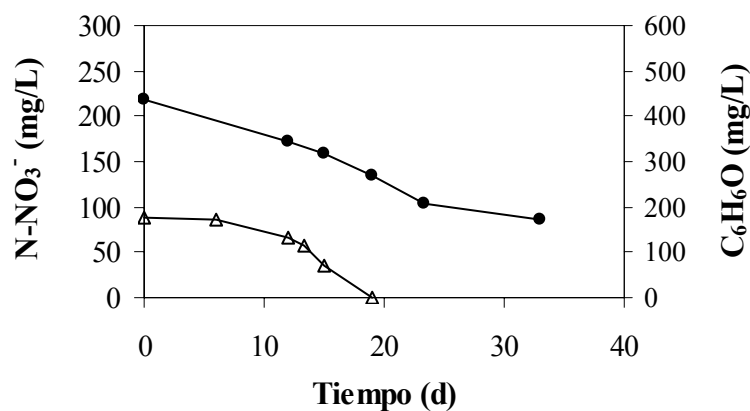


Figura 5.9. Fenol (Δ) y nitrato (\bullet) en los ensayos con 180 mg C₆H₆O/L.

Holub *y col.* (2000) estudiaron la desnitrificación en presencia de fenol por sedimentos de una planta de tratamiento de aguas residuales del refinado de petróleo. La incubación de los sedimentos a 30 y 55°C en un medio con fenol (500 mg/L) y nitrato (535 mg N/L) resultó en una reducción completa de nitrato acompañada por una acumulación de nitrito, alcanzando 115 y 275 mg N/L para 30 y 55°C. En nuestro estudio, a pesar de ser insuficiente la materia orgánica, no se acumuló nitrito, excepto en los ensayos con mayor concentración de fenol (580 mg/L) en los que se acumularon hasta 12.2 mg N/L.

5.4.2. Ensayos anóxicos en continuo

Se llevaron a cabo ensayos anóxicos en continuo, según se ha descrito en el Apartado 5.3.2, con la finalidad de estudiar la biodegradación de formaldehído y fenol y su influencia sobre el proceso de desnitrificación.

5.4.2.1. Biodegradación de formaldehído

La concentración de fenol en el influente se aumentó paulatinamente con el fin de estudiar su biodegradación. Por tanto, para mantener la relación DQO/N entre 4 y 4.5, la concentración de formaldehído en el influente se varió entre 1505 y 235 mg/L. La evolución de su concentración en el influente y en el efluente del reactor se muestra en la Figura 5.10, la línea vertical indica el cambio en la relación DQO/N de 4 - 4.5 a 6 (día 203 de operación). Se obtuvieron eficacias de eliminación de formaldehído superiores al 99.5% para todas las velocidades de carga aplicadas, entre 0.89 y 0.14 kg DQO (CH₂O)/m³·d. Su concentración en el efluente fue siempre inferior a 2.8 mg/L, con un valor medio de 0.7 mg/L. Por tanto, la biodegradación de formaldehído no resultó afectada por la velocidad de carga de fenol aplicada al sistema.

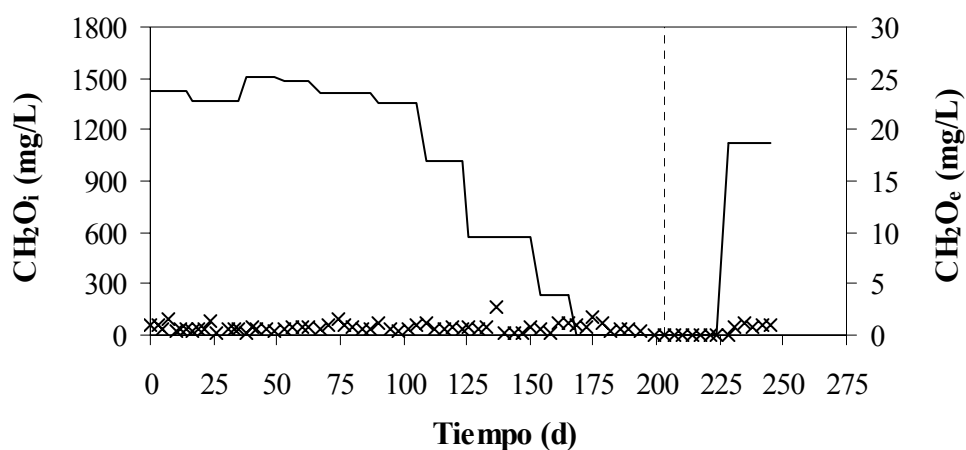


Figura 5.10. Concentración de formaldehído en el influente (—) y en el efluente (x) del reactor.

A partir del día 228 de operación, al pasar de no añadir formaldehído a añadir una concentración de 1125 mg/L (para mantener la relación DQO/N y disminuir la concentración de fenol), se detectaron metanol y ácido fórmico en el efluente. Sus concentraciones aumentaron hasta aproximadamente 130 mg CH₃OH/L y 190 mg HCOOH/L, disminuyendo por debajo de los límites de detección en menos de siete días. Estos datos

concuerdan con los resultados expuestos en el Apartado 4.4.2 del Capítulo 4 de este trabajo y con los encontrados en la bibliografía sobre la dismutación del formaldehído (Kato *y col.*, 1983; Adroer *y col.*, 1990).

5.4.2.2. Biodegradación de fenol

Con el fin de estudiar su biodegradación, la concentración de fenol en el influente se aumentó desde 27 hasta 1010 mg/L. En cambio, la concentración de nitrato en el influente se mantuvo constante en 400 mg N/L durante todo el período de operación. La evolución de la concentración de fenol en el influente y en el efluente del reactor se presenta en la Figura 5.11. Hasta el día 203 de operación, se aplicó una relación DQO/N entre 4 y 4.5, disminuyendo la concentración de formaldehído y aumentando paulatinamente la concentración de fenol (hasta 755 mg/L). Se obtuvieron eficacias de eliminación de fenol superiores al 90.6% para todas las velocidades de carga aplicadas, entre 0.03 y 1.0 kg DQO (C₆H₆O)/m³·d. La concentración de fenol en el efluente fue siempre inferior a 15.3 mg/L, con un valor medio de 1.4 mg/L.

Una vez añadido el 100% de fenol en el influente a la relación DQO/N de 4.5 (día 203 de operación), se incrementó dicha relación a 6 elevando la concentración de fenol a 1010 mg/L (1.3 kg DQO (C₆H₆O)/m³·d). En estas condiciones, su concentración en el efluente empezó a aumentar, llegando a alcanzar 650 mg/L, por tanto, el fenol causó inhibición. En consecuencia, se decidió mantener la relación DQO/N pero disminuir la concentración de fenol a 505 mg/L, añadiendo por tanto formaldehído en el influente. Bajo estas condiciones, el sistema se recuperó en pocos días, disminuyendo el fenol en el efluente, confirmando así que la inhibición fue causada por la elevada concentración de fenol en el influente (1010 mg/L).

Por tanto, fue posible la eliminación de concentraciones de fenol hasta 755 mg/L (1.0 kg DQO (C₆H₆O)/m³·d, 0.42 kg C₆H₆O/m³·d). Sin embargo, cuando la concentración se incrementó a 1010 mg/L (1.3 kg DQO (C₆H₆O)/m³·d, 0.56 kg C₆H₆O/m³·d), el fenol causó inhibición y su eficacia de eliminación disminuyó. Estos datos indican que es posible el tratamiento

anóxico en continuo de aguas con elevados niveles de fenol en presencia de formaldehído, pero que es necesario controlar la concentración de fenol aplicada al sistema.

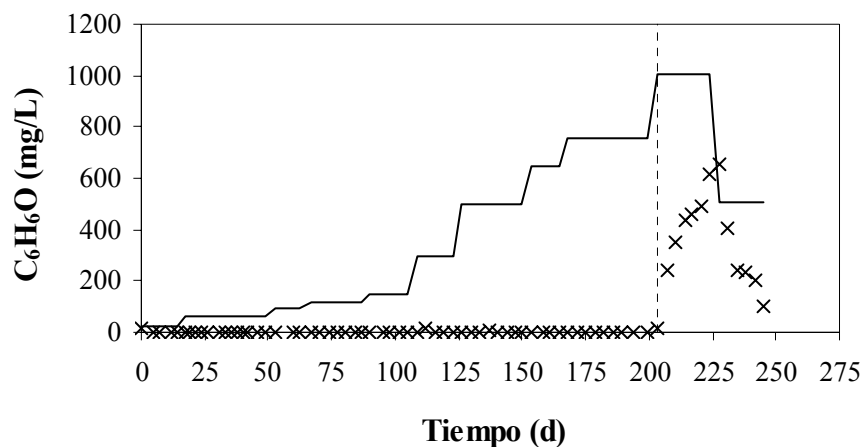


Figura 5.11. Concentración de fenol en el influente (—) y en el efluente (x) del reactor.

Otros autores trabajaron con fenol a mayores velocidades de carga orgánica pero usando concentraciones mucho más bajas. Fang y Zhou (1997) estudiaron la biodegradación de fenol en condiciones desnitrificantes en un reactor empaquetado de flujo ascendente a 30°C. Trabajando a un tiempo de retención de 0.52 h y usando agua sintética que contenía 223 mg N/L de nitrato, 100 mg/L de fenol, 50 mg/L de m-cresol y 500 mg/L de sucrosa, obtuvieron una velocidad de degradación de 4.3 kg C₆H₆O/m³·d. Dicha velocidad es superior a la obtenida en nuestro estudio pero la concentración de fenol en el influente fue mucho más baja.

Blaszcyk y col. (1998) también analizaron la biodegradación de fenol en un reactor empaquetado en condiciones desnitrificantes. Realizando estudios a distintas temperaturas (13, 20 y 30°C) y a distintas concentraciones de fenol en el influente (de 200 a 2000 mg/L), concluyeron que la biodegradación de fenol depende de ambos parámetros. Al disminuir la temperatura y al aumentar la concentración de fenol en el influente, su eliminación es menos efectiva. La máxima velocidad de degradación,

obtenida usando una concentración de fenol en el influente de 200 mg/L y operando el reactor a 30°C y 2 h de tiempo de retención hidráulica, fue de 2.5 kg C₆H₆O/m³·d.

Otros autores (Sarfaraz *y col.*, 2004) estudiaron la eliminación de fenol en medio anóxico a 30°C empleando un reactor SBR. Obtuvieron eliminaciones de fenol superiores al 80% para concentraciones de fenol en el influente hasta 1050 mg/L y ciclos de 6 h (2.7 kg C₆H₆O/m³·d). Sin embargo, cuando aumentaron la concentración a 1150 mg/L la eficacia de eliminación de fenol descendió al 56% (3.1 kg C₆H₆O/m³·d).

En nuestro estudio, hasta el día 203 de operación, el formaldehído y el fenol se eliminaron casi completamente en condiciones anóxicas. Sin embargo, una fracción de DQO del influente estuvo presente en el efluente de la unidad (Figura 5.12). El porcentaje medio de DQO que permaneció en el efluente fue del 4.2%, pudiendo deberse a bioproductos inertes del lodo del reactor. Después del día 203 de operación, la DQO en el efluente aumentó debido al aumento en la concentración de fenol. La concentración máxima de fenol alcanzada en el efluente fue de 650 mg/L, que se corresponde con 1547 mg/L de DQO, lo cual concuerda bastante bien con los datos obtenidos.

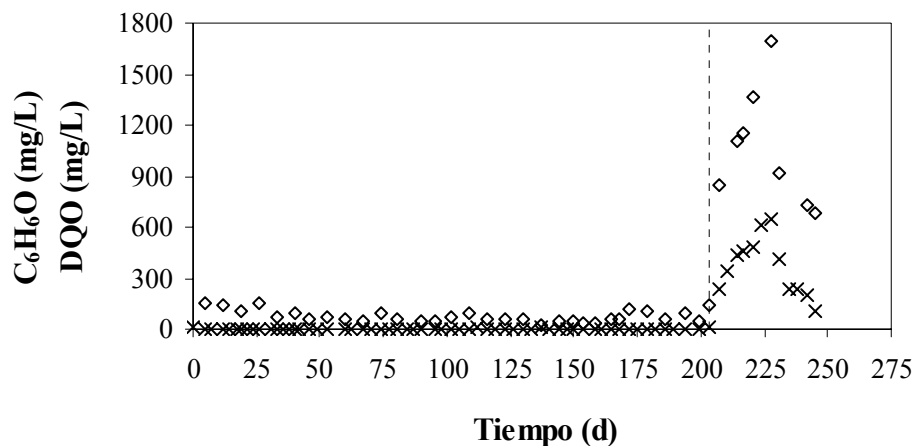


Figura 5.12. Concentración de fenol (x) y DQO (◇) en el efluente del reactor.

5.4.2.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y fenol

En el reactor en continuo también se estudió el proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y fenol. La relación DQO/N aplicada estuvo comprendida entre 4 y 4.5 hasta el día 203 de operación y posteriormente se aumentó a 6 (Tabla 5.2). La concentración de nitrato en el influente se mantuvo constante en 400 mg N/L, siendo la velocidad de carga nitrogenada aplicada de 0.22 kg N-NO₃⁻/m³·d. Hasta concentraciones de fenol en el influente de 755 mg/L (día 203 de operación), se obtuvieron porcentajes de desnitrificación siempre superiores al 93.4%, siendo la eficacia de desnitrificación media del 98.4% (Figura 5.13). La evolución de las concentraciones de nitrato y nitrito durante este período se presenta en la Figura 5.14. Las cantidades de nitrato y nitrito en el efluente permanecieron siempre por debajo de 14.9 y 20.8 mg N/L, respectivamente. Por tanto, se puede concluir que el formaldehído y el fenol se usaron eficientemente como donadores de electrones para la desnitrificación.

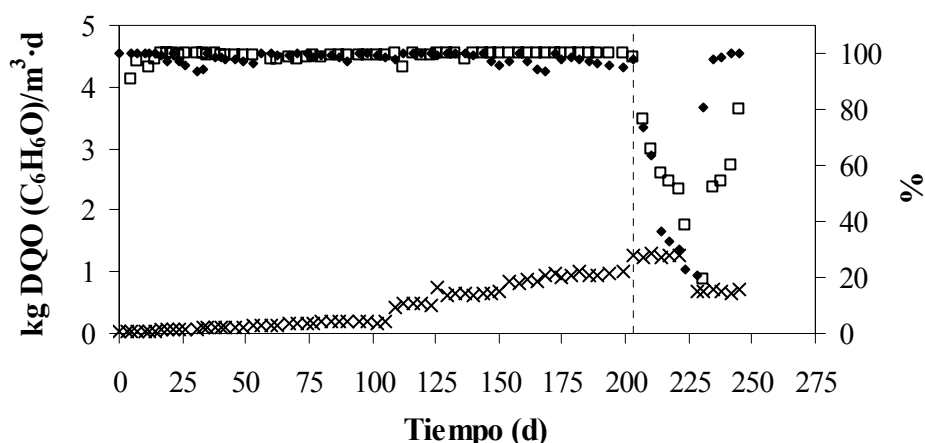


Figura 5.13. Velocidad de carga de fenol aplicada (x), porcentaje de eliminación de fenol (□) y porcentaje de desnitrificación (◆).

Después de aumentar la concentración de fenol en el influente a 1010 mg/L (día 203 de operación), la concentración de nitrato en el efluente aumentó hasta 315 mg N/L según se muestra en la Figura 5.15 (se representa cada período en una figura debido a la necesidad de cambiar la escala para

poder apreciar los valores de nitrato y nitrito en el efluente). La concentración de nitrito permaneció en los mismos valores que en el período anterior. Así, el porcentaje de desnitrificación disminuyó al 21.2% (Figura 5.13), debido a la inhibición causada por el fenol. Cuando se disminuyó la concentración de fenol en el influente, el porcentaje de desnitrificación se recuperó.

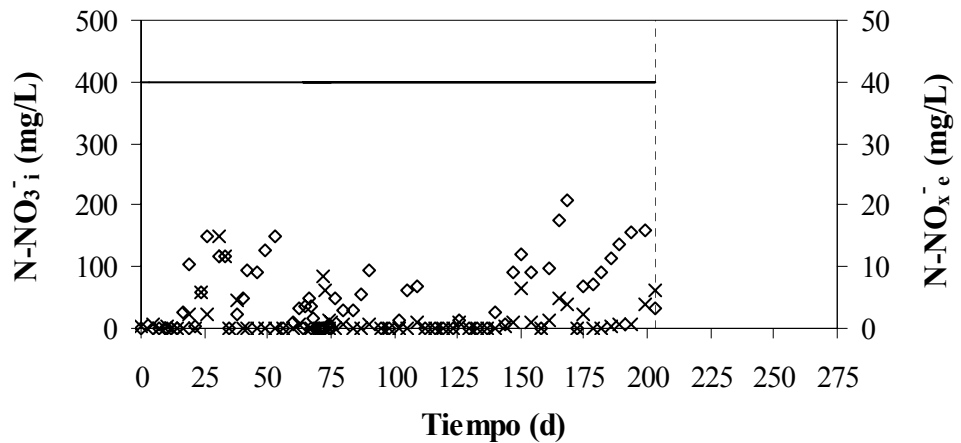


Figura 5.14. Nitrato en el influente (—) y nitrato (x) y nitrito (◇) en el efluente del reactor (relación DQO/N entre 4 y 4.5).

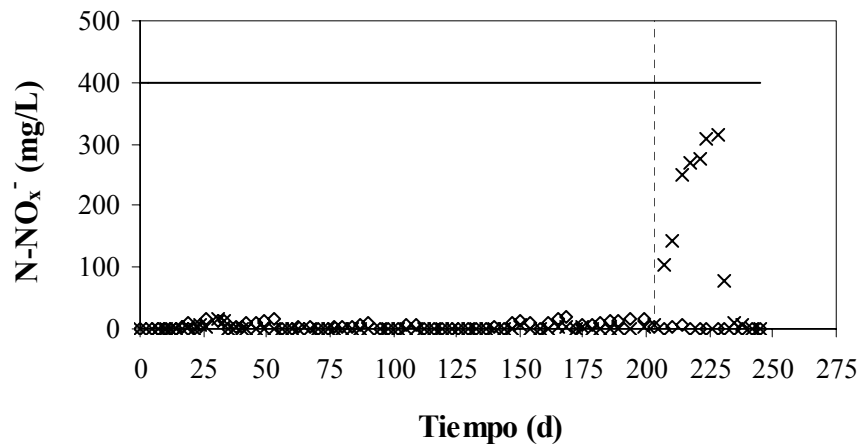


Figura 5.15. Nitrato en el influente (—) y nitrato (x) y nitrito (◇) en el efluente del reactor.

Un parámetro importante en el control de los procesos biológicos es el pH, en la Figura 5.16 se muestra la evolución del mismo y los valores de CI. El pH en el efluente estuvo comprendido entre 7.6 y 8.6 (con un valor medio de 8.2), excepto cuando aumentó la concentración de fenol en el efluente que disminuyó hasta 7.1. Esta bajada se debe a que al disminuir el porcentaje de desnitrificación, disminuye la alcalinidad producida como se puede observar en los valores de CI. Al recuperarse el proceso de desnitrificación, también se recupera el CI y el pH.

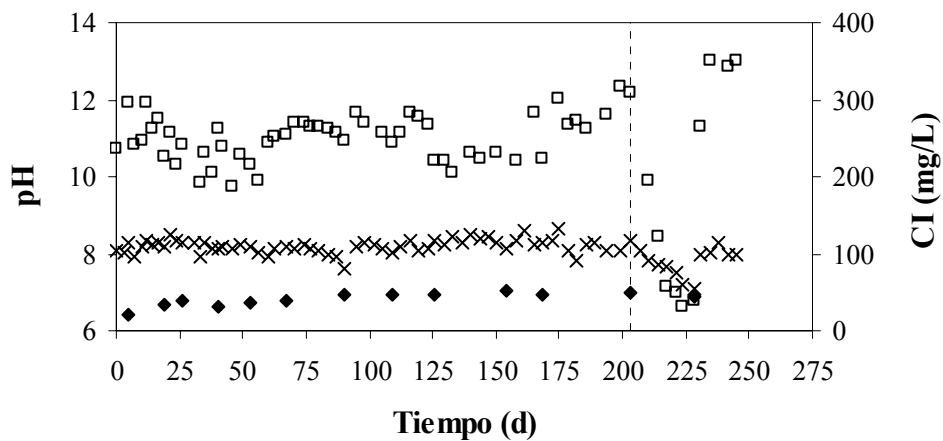


Figura 5.16. pH en el influente (◆), pH en el efluente (x) y CI en el efluente (□) del reactor.

El caudal de biogás producido se midió con el sistema de desplazamiento de líquido descrito en el Apartado 4.3.2 del Capítulo 4 (Veiga y col., 1990). Mientras la relación DQO/N se mantuvo entre 4 y 4.5, el caudal de biogás varió entre 102 y 213 mL gas/L·d, con un valor medio de 160 mL gas/L·d (Figura 5.17). Al aumentar la relación DQO/N a 6, el caudal disminuyó, lo cual es lógico al disminuir la eliminación de fenol y la desnitrificación. Posteriormente, la producción de biogás aumenta al recuperarse dichos procesos.

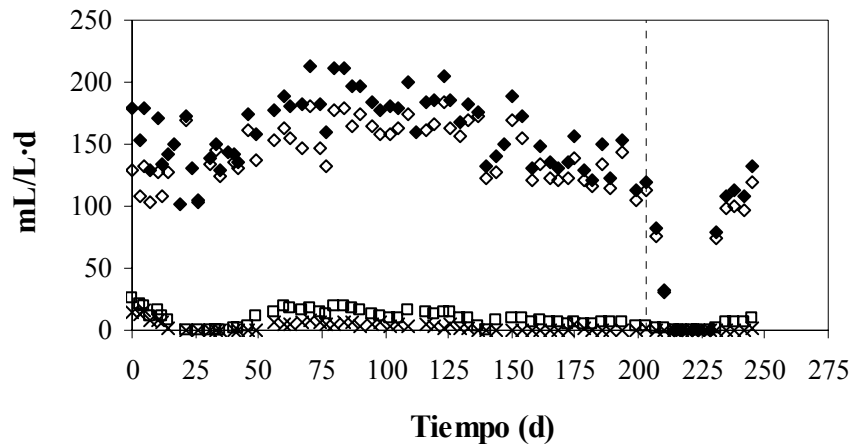


Figura 5.17. Caudal de biogás global (◆) y caudal de nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

En cuanto a la composición del biogás (Figura 5.18), inicialmente el porcentaje de nitrógeno fue aumentando y los porcentajes de dióxido de carbono y metano fueron disminuyendo. Cuando el sistema se estabilizó, los porcentajes de nitrógeno, dióxido de carbono y metano en el biogás variaron entre 80.5 - 98.0%, 0.04 - 10.0% y 0 - 4.0%, respectivamente.

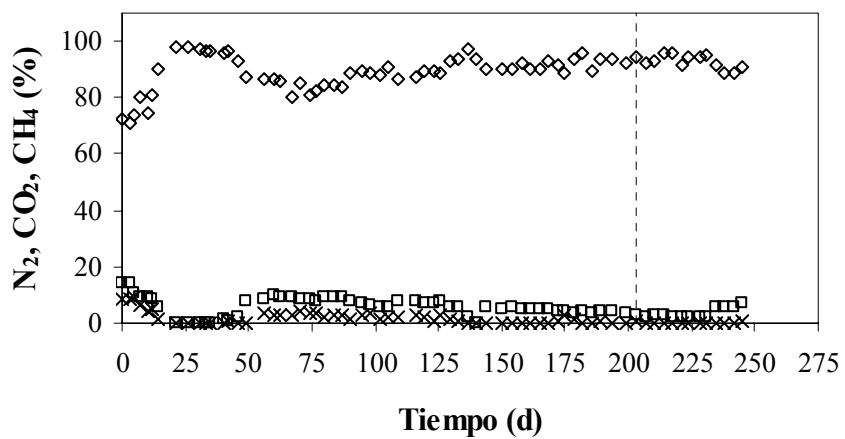


Figura 5.18. Evolución de la composición del biogás: nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

No se detectó óxido nitroso en ningún momento. Aunque el porcentaje de metano es bajo, indica que el lodo retiene cierta actividad metanogénica incluso después de trabajar durante un período largo de tiempo en condiciones anóxicas. Fang y Zhou (1997) trabajando con agua que contenía fenol, m-cresol y sucrosa como fuentes de carbono y operando a una relación DQO/N de 5, encontraron que el exceso de materia orgánica también se convertía en metano.

La concentración de biomasa en el reactor aumentó de un valor inicial de 8.5 a 13.1 g SSV/L hasta el día 137 de operación. Ese día se purgó biomasa del reactor dejando en el mismo 7.6 g SSV/L. Posteriormente, su concentración aumentó a 10.1 g SSV/L hasta el final del estudio (día 245 de operación). En cuanto a la biomasa en el efluente, durante los primeros días su concentración fue disminuyendo (Figura 5.19). Cuando el sistema se estabilizó y hasta el día 203 de operación, varió entre 0.006 y 0.024 g SSV/L, con un valor medio de 0.016 g SSV/L. Por tanto, se obtuvo lodo con buenas propiedades de sedimentación y un efluente satisfactorio con concentraciones de sólidos en suspensión muy bajas. Sin embargo, ocurrieron varios episodios de flotación del lodo; durante la operación del reactor se observó retención de burbujas de gas en el lodo que causaron la flotación del mismo.

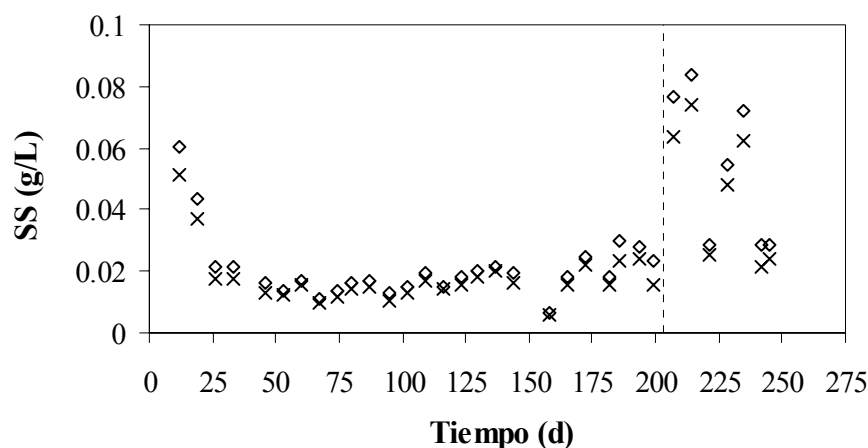


Figura 5.19. Sólidos en suspensión totales (\diamond) y volátiles (x) en el efluente del reactor.

Después de aumentar la concentración de fenol en el influente a 1010 mg/L (día 203 de operación), la concentración de biomasa en el efluente aumentó al desestabilizarse el sistema. Durante este período varió entre 0.022 y 0.074 g SSV/L.

5.5. CONCLUSIONES

Ensayos anóxicos en discontinuo

- En todos los ensayos tuvo lugar la biodegradación completa de formaldehído (260 mg/L). Su velocidad inicial de biodegradación se mantuvo prácticamente constante, en torno a 0.5 g CH₂O/g SSV·d, a concentraciones de fenol comprendidas entre 30 y 580 mg/L. Por tanto, la presencia de distintas concentraciones de fenol en el medio no influye en la eliminación de formaldehído.

- El fenol causó inhibición y se necesitó un tiempo de adaptación del lodo al sustrato. Solamente se produjo su biodegradación total en los ensayos con una concentración inicial de 30 y 180 mg/L, a concentraciones mayores se observó inhibición en su biodegradación.

- Los datos obtenidos muestran que el proceso de desnitrificación transcurrió en dos etapas, la primera se corresponde con el uso de formaldehído como fuente de carbono y la segunda con el uso de fenol. El proceso de desnitrificación resultó inhibido a concentraciones de fenol iguales y superiores a 360 mg/L.

Ensayos anóxicos en continuo

- La concentración de formaldehído en el influente se varió entre 1505 y 235 mg/L. Se alcanzaron eficacias de eliminación superiores al 99.5% a todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, entre 0.89 y 0.14 kg DQO (CH₂O)/m³·d. La biodegradación de formaldehído no resultó afectada por la velocidad de carga de fenol aplicada al sistema.

- La velocidad de carga de fenol se aumentó desde 0.03 hasta 1.3 kg DQO (C₆H₆O)/m³·d. Para concentraciones de fenol en el influente entre 27 y 755 mg/L se obtuvieron eficacias de eliminación superiores al

90.6%. Sin embargo, cuando la concentración de fenol se incrementó a 1010 mg/L, su eficacia de eliminación disminuyó.

- En cuanto al proceso de desnitrificación, hasta concentraciones de fenol en el influente de 755 mg/L, se obtuvieron porcentajes alrededor del 98.4%. Después de aumentar la concentración de fenol a 1010 mg/L, el porcentaje de desnitrificación disminuyó al 21.2% debido a la inhibición causada por este compuesto.

- Los resultados obtenidos indican que es posible el tratamiento anóxico en continuo de aguas con elevados niveles de fenol en presencia de formaldehído y nitrato pero es necesario controlar la concentración de fenol aplicada al sistema.

5.6. REFERENCIAS

- Adroer N., Casas C., de Mas C., Solà C. **1990** Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomonas putida*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**, 217-220.
- Azachi M., Henis Y., Oren A., Gurevich P., Sarig S. **1995** Transformation of formaldehyde by a *Halomonas* sp. *Can. J. Microbiol.* **41**, 548-553.
- Blaszczyk M., Przytocka-Jusiak M., Suszek A., Mielcarek A. **1998** Microbial degradation of phenol in denitrifying conditions. *Acta Microbiol. Polon.* **47** (1), 65-75.
- Bonastre N., de Mas C., Solà C. **1986** Vavilin equation in kinetic modelling of formaldehyde biodegradation. *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 616-619.
- Buitrón G., González A., López-Marín L. M. **1998** Biodegradation of phenolic compounds by an acclimated activated sludge and isolated bacteria. *Water Sci. Technol.* **37** (4-5), 371-378.
- Campos J. L., Sánchez M., Mosquera A., Méndez R., Lema J. M. **2003** Coupled BAS and anoxic USB system to remove urea and formaldehyde from wastewater. *Water Res.* **37**, 3445-3451.

- Fang H. H. P., Zhou G. M. **1997** Denitrification of phenolic wastewater by immobilized sludge. *Environ. Technol.* **18**, 827-834.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2000** Treatment of wastewaters from a formaldehyde-urea adhesives factory. *Water Sci. Technol.* **42** (5-6), 293-300.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2001** Simultaneous urea hydrolysis, formaldehyde removal and denitrification in a multified upflow filter under anoxic and anaerobic conditions. *Water Res.* **35** (3), 691-698.
- González G., Herrera G., García M. T., Peña M. **2001 (a)** Biodegradation of phenol in a continuous process: comparative study of stirred tank and fluidized-bed bioreactors. *Bioresource Technol.* **76**, 245-251.
- González G., Herrera G., García M. T., Peña M. **2001 (b)** Biodegradation of phenolic industrial wastewater in a fluidized bed bioreactor with immobilized cells of *Pseudomonas putida*. *Bioresource Technol.* **80**, 137-142.
- Goudar C. T., Ganji S. H., Pujar B. G., Strevett K. A. **2000** Substrate inhibition kinetics of phenol biodegradation. *Water Environ. Res.* **72** (1), 50-55.
- Hidalgo A., Lopategi A., Prieto M., Serra J. L., Llama M. J. **2002** Formaldehyde removal in synthetic and industrial wastewater by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 260-263.
- Holub W., Przytocka-Jusiak M., Blaszczyk M., Mycielski R. **2000** Nitrite as agent selecting anaerobic phenol-degrading microflora in petroleum refining sediments. *Water Res.* **34** (4), 1354-1358.
- Kato N., Shirakawa K., Kobayashi H., Sakazawa C. **1983** The dismutation of aldehydes by a bacterial enzyme. *Agric. Biol. Chem.* **47** (1), 39-46.
- Khoury N., Dott W., Kampfer P. **1992** Anaerobic degradation of phenol in batch and continuous cultures by a denitrifying bacterial consortium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 524-528.

- Kumaran P., Paruchuri Y. L. **1997** Kinetics of phenol biotransformation. *Water Res.* **31** (1), 11-22.
- Lu Z., Hegemann W. **1998** Anaerobic toxicity and biodegradation of formaldehyde in batch cultures. *Water Res.* **32** (1), 209-215.
- Magbanua B. S., Hoover P. A., Campbell P. J., Bowers A. R. **1994** The effect of cosubstrates on phenol degradation kinetics. *Water Sci. Technol.* **30** (9), 67-77.
- Omil F., Méndez D., Vidal G., Méndez R., Lema J. M. **1999** Biodegradation of formaldehyde under anaerobic conditions. *Enzyme Microbiol. Technol.* **24**, 255-262.
- Peyton B. M., Wilson T., Yonge D. R. **2002** Kinetics of phenol biodegradation in high salt solutions. *Water Res.* **36**, 4811-4820.
- Qu M., Bhattacharya S. K. **1997** Toxicity and biodegradation of formaldehyde in anaerobic methanogenic culture. *Biotechnol. Bioeng.* **55** (5), 727-736.
- Sarfaraz S., Thomas S., Tewari U. K., Iyengar L. **2004** Anoxic treatment of phenolic wastewater in sequencing batch reactor. *Water Res.* **38**, 965-971.
- Son T. T. T., Blaszczyk M., Mycielski R. **1998** Adaptation of a phenol-degrading denitrifying bacteria to high concentration of phenol in the medium. *Acta Microbiol. Polon.* **47** (3), 297-304.
- Veiga M. C., Soto M., Méndez R., Lema J. M. **1990** A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water Res.* **24** (12), 1551-1554.
- Yamazaki T., Tsugawa W., Sode K. **2001** Biodegradation of formaldehyde by a formaldehyde-resistant bacterium isolated from seawater. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **91-93**, 213-217.

**Capítulo 6. Biodegradación anóxica de formaldehído,
hidrólisis de urea y proceso de desnitrificación
en presencia de ambos compuestos**

Capítulo 6. BIODEGRADACIÓN ANÓXICA DE FORMALDEHÍDO, HIDRÓLISIS DE UREA Y PROCESO DE DESNITRIFICACIÓN EN PRESENCIA DE AMBOS COMPUESTOS

RESUMEN

El principal objetivo del trabajo expuesto en este capítulo es el estudio de la biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y el proceso de desnitrificación en presencia de ambos compuestos. Con este fin se realizaron ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo.

En los ensayos anóxicos en discontinuo, la velocidad inicial de biodegradación de formaldehído (430 mg/L) se mantuvo prácticamente constante, alrededor de 0.7 g CH₂O/g SSV·d, independientemente de la concentración inicial de urea (90 - 370 mg N/L). La urea se hidrolizó totalmente a amonio en presencia de 430 mg/L de formaldehído. Además, aplicando una relación DQO/N de 3.7, tuvo lugar la desnitrificación completa en todos los casos (125 mg N/L de nitrato).

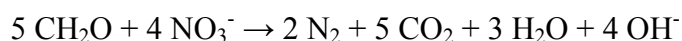
En el reactor anóxico en continuo, se obtuvieron eficacias de eliminación de formaldehído superiores al 99.5% a todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, entre 0.37 y 2.96 kg DQO/m³·d. La velocidad de carga de urea se aumentó desde 0.06 hasta 0.44 kg N/m³·d, obteniendo un porcentaje de conversión de urea a amonio en torno al 77.5%. En cuanto al proceso de desnitrificación, a todas las velocidades de carga nitrogenada aplicadas, hasta 0.44 kg N-NO₃⁻/m³·d (100 - 800 mg N/L de nitrato, DQO/N 6.7), se alcanzaron porcentajes alrededor del 98.5%. La composición del biogás indicó que en la misma unidad tuvieron lugar dos procesos simultáneos, desnitrificación y metanogénesis. Posteriormente, se cambió la relación DQO/N en el influente y se obtuvo un valor mínimo de 3.5 para llevar a cabo la desnitrificación completa. Durante el estudio, tuvo lugar la granulación del lodo en el reactor USB operando a una velocidad ascensional de 0.14 m/h.

6.1. INTRODUCCIÓN

Como se ha mencionado anteriormente, las aguas residuales de las industrias productoras de formaldehído y resinas se caracterizan por poseer un elevado contenido en compuestos nitrogenados (56 - 1462 mg NTK/L) y orgánicos (117 - 6851 mg DQO/L). Los compuestos nitrogenados están presentes principalmente en forma de urea y los orgánicos como formaldehído. Por tanto, es necesario llevar a cabo la biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea a amonio y la eliminación de amonio mediante los procesos de nitrificación y desnitrificación. Este tratamiento puede realizarse mediante procesos biológicos en un sistema pre-desnitrificante (Apartado 1.2.4 del Capítulo 1). La biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y la desnitrificación del nitrato recirculado de la unidad aerobia tendrían lugar en el reactor anóxico. La nitrificación del amonio proporcionado por la unidad anóxica y la biodegradación del formaldehído que no hubiese sido eliminado en el reactor anóxico tendrían lugar en el reactor aerobio (Capítulo 3). Por tanto, resulta interesante estudiar la biodegradación de formaldehído y la hidrólisis de urea en condiciones desnitrificantes.

Como se ha indicado en los Capítulos 3 y 4, se sabe que el formaldehído es biodegradable en medio aerobio (Bonastre *y col.*, 1986; Adroer *y col.*, 1990; Azachi *y col.*, 1995; Yamazaki *y col.*, 2001; Hidalgo *y col.*, 2002), en medio anaerobio (Qu y Bhattacharya, 1997; Lu y Hegemann, 1998; Omil *y col.*, 1999) y en medio anóxico (Garrido *y col.*, 2000; Garrido *y col.*, 2001; Campos *y col.*, 2003).

Usando formaldehído como donador de electrones, la ecuación estequiométrica de la desnitrificación es la siguiente:



En la práctica, la cantidad de formaldehído necesaria para la desnitrificación es superior a la teórica debido a la síntesis de biomasa. Se cree que si existen bacterias anaerobias en un reactor desnitrificante, la actividad metanogénica comienza una vez finalizada la desnitrificación. Es decir, el exceso de materia orgánica que queda después de la desnitrificación

puede convertirse en metano y dióxido de carbono (Chen y Lin, 1993; Her y Huang, 1995).

En cuanto a la urea, algunos microorganismos son capaces de hidrolizarla a amonio y dióxido de carbono. Latkar y Chakrabarti (1994) estudiaron la hidrólisis biológica de urea en un sistema anaerobio, usando metanol como fuente de carbono. Alcanzaron una eficacia de hidrólisis del 100% a velocidades de carga de urea hasta 1.5 kg N/m³·d. Garrido y col. (2001) también analizaron la hidrólisis de urea trabajando con un filtro ascendente multialimentado bajo condiciones anóxicas, usando formaldehído como fuente de carbono. Obtuvieron porcentajes de hidrólisis entre el 65 y 85% a una velocidad de carga de urea de 0.46 kg N/m³·d.

6.2. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es el estudio de la biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y el proceso de desnitrificación en presencia de ambos compuestos. Con este fin se realizaron ensayos anóxicos en discontinuo y en un reactor en continuo. Los objetivos concretos del presente trabajo se presentan a continuación:

Ensayos anóxicos en discontinuo

- Estudio de la biodegradación anóxica de formaldehído en presencia de diferentes concentraciones de urea.
- Evaluación de la hidrólisis de distintas concentraciones de urea en medio anóxico y en presencia de formaldehído.
- Análisis del efecto de la presencia de formaldehído y urea sobre el proceso de desnitrificación.

Ensayos anóxicos en continuo

- Estudio de la biodegradación anóxica de diferentes concentraciones de formaldehído en presencia de diferentes concentraciones de urea, manteniendo constante la relación DQO/N.

- Evaluación de la hidrólisis de distintas concentraciones de urea en medio anóxico y en presencia de formaldehído.
- Análisis del proceso de desnitrificación en presencia de distintas concentraciones de formaldehído y urea, y variación de la relación DQO/N con el fin de obtener el valor óptimo.

6.3. MATERIALES Y MÉTODOS

6.3.1. Ensayos anóxicos en discontinuo

Los ensayos anóxicos en discontinuo se llevaron a cabo como se indica en el Apartado 4.3.1 del Capítulo 4. En todos los ensayos se empleó una concentración constante de formaldehído de 430 mg/L y de nitrato de 125 mg N/L, manteniendo la relación DQO/N en 3.7. En cambio, la concentración de urea se varió entre 90 y 370 mg N/L y además se realizaron ensayos sin urea.

6.3.2. Ensayos anóxicos en continuo

Los ensayos anóxicos en continuo se realizaron en un reactor de tipo USB, similar al descrito en el Apartado 4.3.2 del Capítulo 4. Inicialmente, el reactor se inoculó con 8.0 g SSV/L de lodo obtenido del reactor anóxico de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. El caudal de alimentación al reactor se fijó en 0.51 L/d y el caudal de recirculación en 7.7 L/d, por tanto, el tiempo de retención hidráulica se mantuvo en 1.8 d.

Para alimentar el sistema se utilizó agua sintética compuesta por nutrientes, fosfato de potasio, formaldehído, urea y nitrato de potasio. La composición de la disolución de nutrientes se indica en la Tabla 4.1 (Capítulo 4) y se añadieron 10 mL por litro de alimentación. El fosfato de potasio (0.27 g $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{L}$ y 0.4 g $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$) se emplea como tampón a fin de mantener el pH alrededor del valor óptimo para el proceso de desnitrificación. Inicialmente, las concentraciones de formaldehído, urea y nitrato en la alimentación se fueron aumentando paulatinamente (625 - 5000 mg $\text{CH}_2\text{O}/\text{L}$, 100 - 800 mg $\text{N-NH}_2\text{CONH}_2/\text{L}$ y 100 - 800 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$),

manteniendo constante la relación DQO/N (Tabla 6.1). Posteriormente, las concentraciones de urea y nitrato se mantuvieron constantes y se varió la concentración de formaldehído con el fin de obtener distintas relaciones DQO/N.

Tabla 6.1. Concentraciones de formaldehído, urea y nitrato, y relación DQO/N en la alimentación.

Tiempo (d)	CH ₂ O (mg/L)	N-NH ₂ CONH ₂ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	DQO/N
0 - 11	625	0	100	6.7
12 - 26	625	100	100	6.7
27 - 45	1250	200	200	6.7
46 - 71	1875	300	300	6.7
72 - 85	2500	400	400	6.7
86 - 106	3125	500	500	6.7
107 - 120	3750	600	600	6.7
121 - 134	4375	700	700	6.7
135 - 148	5000	800	800	6.7
149 - 164	3600	800	800	4.8
165 - 183	2800	800	800	3.7
184 - 199	2400	800	800	3.2
200 - 220	2600	800	800	3.5
221 - 228	2400	800	800	3.2

6.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.4.1. Ensayos anóxicos en discontinuo

Se llevaron a cabo ensayos anóxicos en discontinuo, según se ha descrito en el Apartado 6.3.1, con la finalidad de estudiar la biodegradación

de formaldehído, la hidrólisis de urea y su influencia sobre el proceso de desnitrificación.

6.4.1.1. Biodegradación de formaldehído

Se estudió la biodegradación de 430 mg/L de formaldehído sin urea y en presencia de concentraciones de urea comprendidas entre 90 y 370 mg N/L. Para ello se siguió la evolución en la concentración de formaldehído y los datos obtenidos se presentan en la Figura 6.1. En menos de 30 h tuvo lugar la eliminación completa de formaldehído. Los datos obtenidos muestran que su biodegradación no resultó afectada por la concentración inicial de urea ya que la velocidad inicial de biodegradación permaneció constante en todos los ensayos, en torno a 0.7 g CH₂O/g SSV·d. Por tanto, es posible la eliminación de formaldehído en condiciones anóxicas en presencia de urea, sin que varíe su velocidad de degradación.

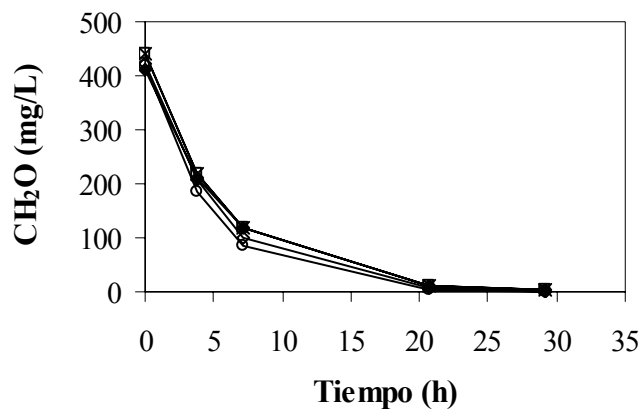


Figura 6.1. Biodegradación de formaldehído en presencia de urea:
(○) 0, (◇) 90, (x) 180, (□) 280 y (◆) 370 mg N/L.

6.4.1.2. Hidrólisis de urea

Con el fin de estudiar el porcentaje de hidrólisis de urea se emplearon concentraciones comprendidas entre 90 y 370 mg N/L. Las concentraciones de amonio obtenidas de la hidrólisis se muestran en la Figura 6.2. La urea se

hidrolizó completamente en presencia de 430 mg/L de formaldehído, como indican las concentraciones de amonio alcanzadas al final de los ensayos. Dichas concentraciones de amonio al final de los experimentos son alrededor de 80 mg N/L superiores al valor teórico, independientemente de la concentración inicial de urea, a causa de la presencia de compuestos de nitrógeno en el lodo que son hidrolizados a amonio. Esto se confirmó con los ensayos sin urea en los cuales se detectó esta misma concentración de amonio final.

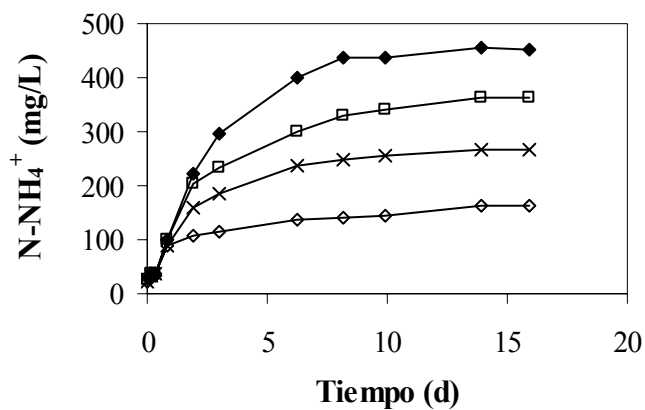


Figura 6.2. Concentración de amonio obtenida de la hidrólisis de distintas concentraciones de urea: (◇) 90, (x) 180, (□) 280 y (◆) 370 mg N/L.

6.4.1.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y urea

Resulta interesante conocer el proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y urea. Para ello se analizó la evolución de las concentraciones de nitrito y nitrato a lo largo del tiempo (Figura 6.3). Se empleó una relación DQO/N constante de 3.7 introduciendo 430 mg CH₂O/L y 125 mg N-NO₃⁻/L en todos los ensayos, en cambio, la concentración de urea se varió entre 90 y 370 mg N/L.

En todos los casos tuvo lugar una desnitrificación completa y mientras que el formaldehído se eliminó completamente en menos de 30 h, el proceso de desnitrificación duró varios días. Esto fue debido probablemente a que el formaldehído se transformó en metanol y ácido

fórmico, los cuales se usaron posteriormente como fuentes de carbono para la desnitrificación. Este hecho se comprobó en los ensayos en discontinuo con formaldehído y metanol presentados en el Apartado 4.4.2 del Capítulo 4 y también fue confirmado en el reactor en continuo que se presenta a continuación en este capítulo.

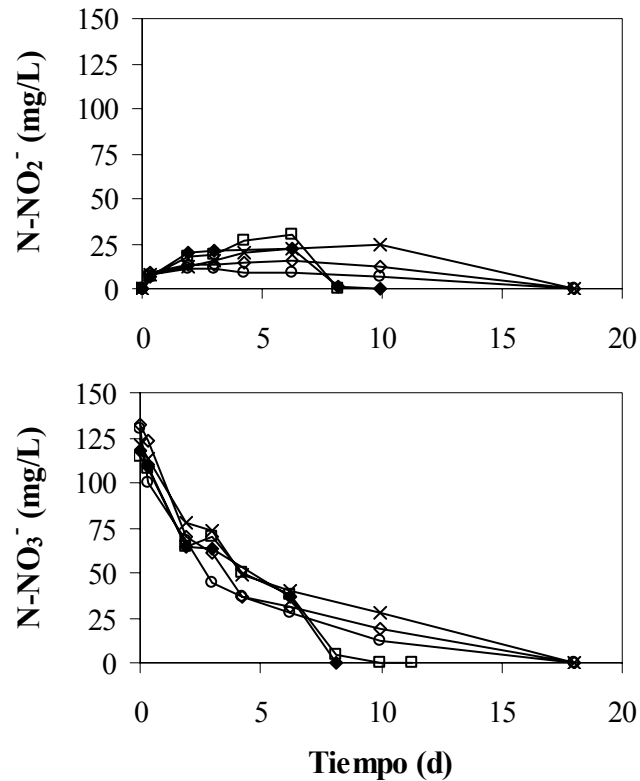


Figura 6.3. Nitrito y nitrato en presencia de formaldehído (430 mg/L) y urea: (○) 0, (◇) 90, (x) 180, (□) 280 y (◆) 370 mg N/L.

Los datos obtenidos muestran que el proceso de desnitrificación global no resultó afectado por la concentración inicial de urea (Figura 6.3). El nitrato incluso se eliminó más rápidamente a mayor concentración inicial de urea, pero con una ligera mayor acumulación de nitrito (siempre menor a 30 mg/L) que posteriormente fue eliminado. A pesar de las elevadas concentraciones de amoníaco libre alcanzadas en los ensayos no se observó

inhibición del proceso global de desnitrificación. El pH estuvo comprendido entre 7.3 y 8.7 y las concentraciones finales de amoníaco libre fueron 2.8, 7.8, 42.2 y 77.9 mg N/L para, respectivamente, 90, 180, 280 y 370 mg N/L de urea.

6.4.2. Ensayos anóxicos en continuo

Con el fin de estudiar la biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y su influencia sobre el proceso de desnitrificación, se realizaron ensayos anóxicos en continuo según se indica en el Apartado 6.3.2.

6.4.2.1. Biodegradación de formaldehído

Con el propósito de estudiar la biodegradación de formaldehído en el reactor anóxico en continuo y el efecto de su concentración en su eliminación, la cantidad de formaldehído en el influente se incrementó desde 625 hasta 5000 mg/L. La evolución de su concentración en el influente y en el efluente del reactor se muestra en la Figura 6.4.

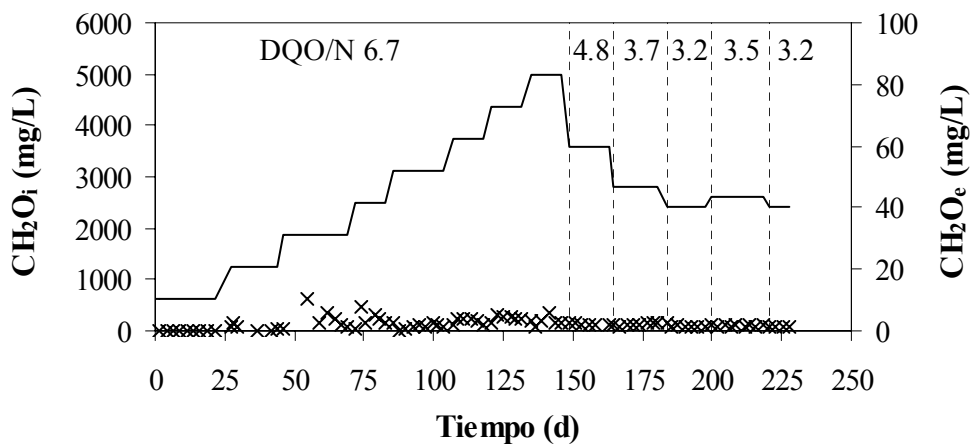


Figura 6.4. Concentración de formaldehído en el influente (—) y en el efluente (x) del reactor.

Se obtuvieron eficacias de eliminación de formaldehído superiores al 99.5% para todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, entre 0.37 y 2.96 kg DQO/m³·d. La unidad permaneció estable durante más de siete meses de operación con niveles muy elevados de biodegradación de formaldehído, siendo su concentración en el efluente siempre inferior a 10.3 mg/L. Además, la eliminación de formaldehído no resultó afectada por la velocidad de carga de urea aplicada al sistema. Estos datos indican que es posible el tratamiento anóxico en continuo de aguas con elevados niveles de formaldehído en presencia de urea, como es el caso de las aguas residuales de una industria productora de resinas.

Garrido *y col.* (2001) trabajando con un filtro ascendente multialimentado bajo condiciones anóxicas y en presencia de urea, aumentaron la velocidad de carga de formaldehído hasta 4 kg CH₂O/m³·d y encontraron que la velocidad de eliminación no superó los 2 kg CH₂O/m³·d. En nuestro estudio, se obtuvieron porcentajes de eliminación de formaldehído superiores al 99.5% sin inhibición aplicando una velocidad de carga de 2.78 kg CH₂O/m³·d.

El formaldehído se degradó fácilmente en condiciones anóxicas. Sin embargo, una fracción de DQO del influente estuvo presente en el efluente de la unidad (Figura 6.5), indicando la posible existencia de productos de biodegradación. Parte de la DQO que permaneció en el efluente también puede ser debida a bioproductos inertes del lodo del reactor. El porcentaje de DQO que permaneció en el efluente fue del 12.7% a la concentración de formaldehído más alta aplicada, siendo el valor medio del 7.2%.

Esporádicamente se detectaron en el efluente metanol y ácido fórmico a bajas concentraciones (hasta 100 mg CH₃OH/L y 150 mg HCOOH/L) como productos de la biodegradación de formaldehído, principalmente inmediatamente después de los cambios de la concentración de formaldehído en el influente. Esto concuerda con los datos encontrados en la bibliografía sobre la dismutación de formaldehído dando metanol y ácido fórmico como productos (Kato *y col.*, 1983; Adroer *y col.*, 1990) y con los resultados expuestos en el Apartado 4.4.2 del Capítulo 4 del presente trabajo.

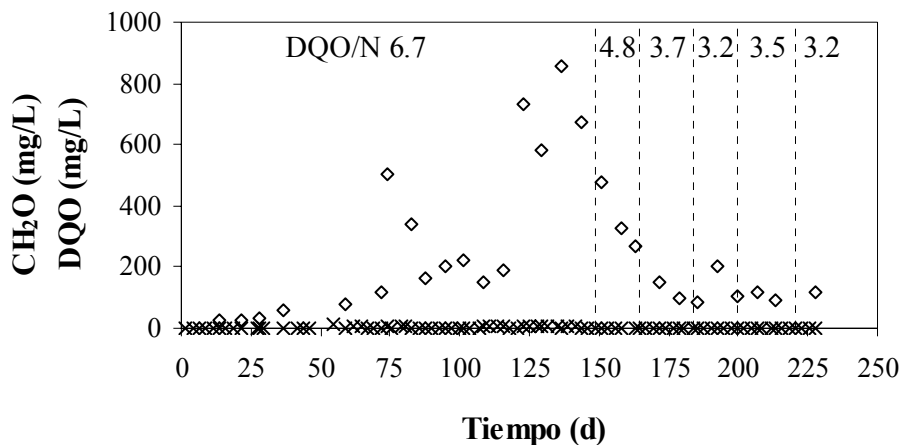


Figura 6.5. Concentración de formaldehído (x) y DQO (◇) en el efluente del reactor.

6.4.2.2. Hidrólisis de urea

La hidrólisis de urea genera amonio, así como un aumento en la fracción de dióxido de carbono en la fase gas. Con la finalidad de evaluar el nivel de hidrólisis de urea se analizó la evolución en la concentración de amonio (Figura 6.6). La velocidad de carga de urea aplicada al sistema se aumentó desde 0.06 hasta 0.44 kg N/m³·d. La urea se hidrolizó casi totalmente a concentraciones entre 100 y 800 mg N/L, como indica la concentración de amonio alcanzada en el efluente. Del balance calculado en base a la cantidad de urea alimentada al reactor y los niveles de amonio en el efluente, se obtiene un valor medio de conversión de urea a amonio del 77.5%. La fracción restante puede atribuirse a asimilación por parte de los microorganismos así como a pérdidas por mecanismos abióticos.

Estos resultados son comparables con los obtenidos por Garrido y *col.* (2001) trabajando también bajo condiciones anóxicas. A una velocidad de carga de urea de 0.46 kg N/m³·d, obtuvieron porcentajes de hidrólisis entre el 65 y el 85%. Los porcentajes de hidrólisis alcanzados en nuestro estudio fueron mayores, a una velocidad de carga de urea de 0.44 kg N/m³·d se obtuvo un porcentaje del 90.5% sin inhibición. Sin embargo, ambos

resultados son inferiores a los obtenidos por Latkar y Chakrabarti (1994) que usando un sistema anaerobio alcanzaron velocidades de hidrólisis de urea de $1.5 \text{ kg N/m}^3\cdot\text{d}$ con una eficacia del 100%.

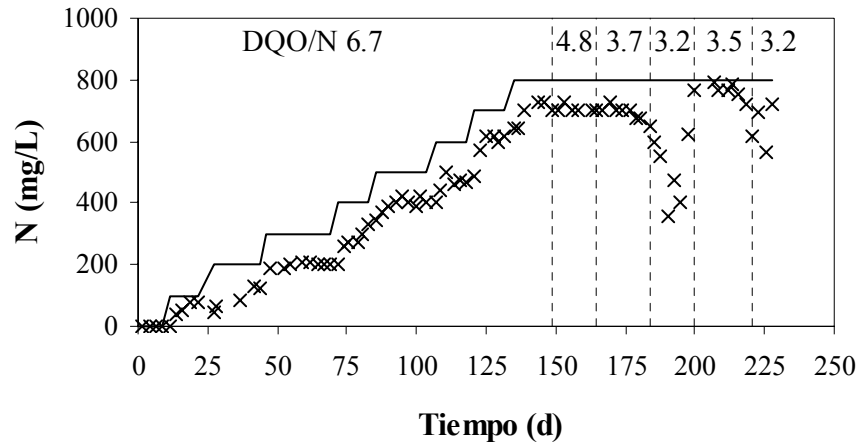


Figura 6.6. Concentración de urea en el influente (—) y amonio en el efluente (x) del reactor.

6.4.2.3. Proceso de desnitrificación en presencia de formaldehído y urea

El proceso de desnitrificación también se estudió en el reactor en continuo en presencia de formaldehído y urea. La evolución de las concentraciones de nitrato y nitrito se presenta en la Figura 6.7. La relación DQO/N se mantuvo en 6.7 hasta el día 148 de operación, variando las concentraciones de nitrato en el influente entre 100 y 800 mg N/L. Se obtuvieron elevados porcentajes de desnitrificación para todas las velocidades de carga de nitrato aplicadas, hasta $0.44 \text{ kg N-NO}_3^-/\text{m}^3\cdot\text{d}$, siendo la eficacia de desnitrificación media del 98.5%. Ocasionalmente apareció nitrito en el efluente, permaneciendo siempre por debajo de 14.0 mg N/L. Aumentando la concentración de formaldehído hasta un valor tan elevado como 5000 mg/L, no se observó pérdida en la eficacia de desnitrificación. Por tanto, se puede concluir que el formaldehído se usó eficientemente como donador de electrones para la desnitrificación. Es más, el proceso de desnitrificación aparentemente no se vio afectado por la velocidad de carga

de urea aplicada al sistema. A mayores concentraciones de urea en el influente, se obtuvo un porcentaje de desnitrificación incluso mayor. El pH estuvo comprendido entre 7.6 y 8.7 y la concentración de amonio alcanzada en el efluente fue de 730 mg N-NH₄⁺/L. Por tanto, la concentración de amoníaco libre varió entre 3 y 110 mg N-NH₃/L durante el período de operación y no resultó inhibitoria para el proceso de desnitrificación.

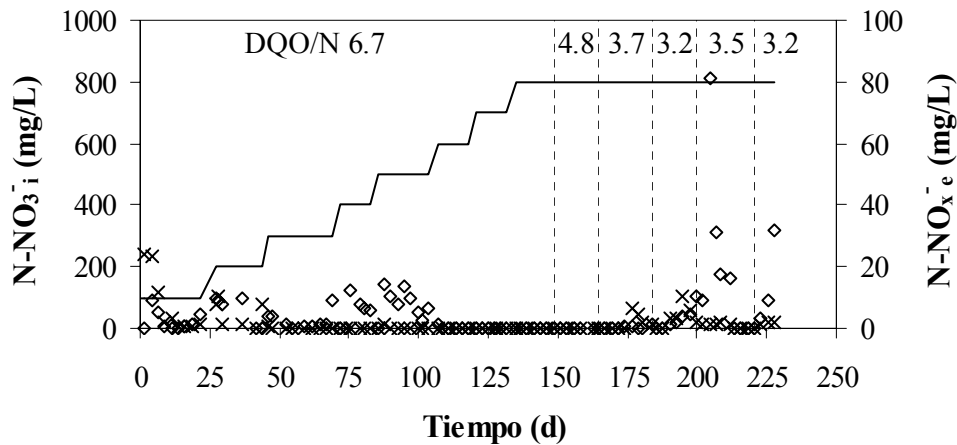


Figura 6.7. Nitrato en el influente (—) y nitrato (x) y nitrito (◇) en el efluente del reactor.

Después del día 148 de operación, la relación DQO/N en el influente se cambió a 4.8, 3.7, 3.2, 3.5 y 3.2 (Tabla 6.1). La concentración de nitrato se mantuvo en 800 mg N/L (Figura 6.7) mientras se variaba la concentración de formaldehído. La biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y el proceso de desnitrificación permanecieron sin cambios para relaciones DQO/N de 4.8 y 3.7. Cuando se disminuyó la relación DQO/N a 3.2 (día 184 de operación), la concentración de nitrito en el efluente aumentó a causa de la escasez de fuente de carbono, llegando a alcanzar 80.9 mg N/L. Debido a esto se decidió aumentar la relación DQO/N a 3.5, lo que provocó una recuperación de la eficacia del proceso de desnitrificación. Posteriormente, la relación DQO/N en el influente se volvió a disminuir a 3.2 (día 221 de operación) y la unidad perdió eficacia de nuevo. Aunque las necesidades teóricas de materia orgánica para la desnitrificación, calculadas sin

considerar la producción de biomasa, se corresponden con una relación DQO/N de 2.8; en la práctica, esta relación es superior debido a la síntesis de biomasa. En este caso, obtuvimos una relación DQO/N mínima de 3.5 para alcanzar una desnitrificación completa empleando formaldehído como fuente de carbono.

Un parámetro importante en el control de los procesos biológicos es el pH, su evolución se muestra en la Figura 6.8. El pH en el efluente estuvo comprendido entre 7.6 y 8.7, con un valor medio de 8.2. En la figura también se observa un aumento en el CI en el efluente a medida que aumenta la concentración de nitrato en el influente, lo cual se puede atribuir a la producción de alcalinidad que conlleva el proceso de desnitrificación. De hecho, cuando el sistema se desestabiliza se produce un descenso en la alcalinidad producida.

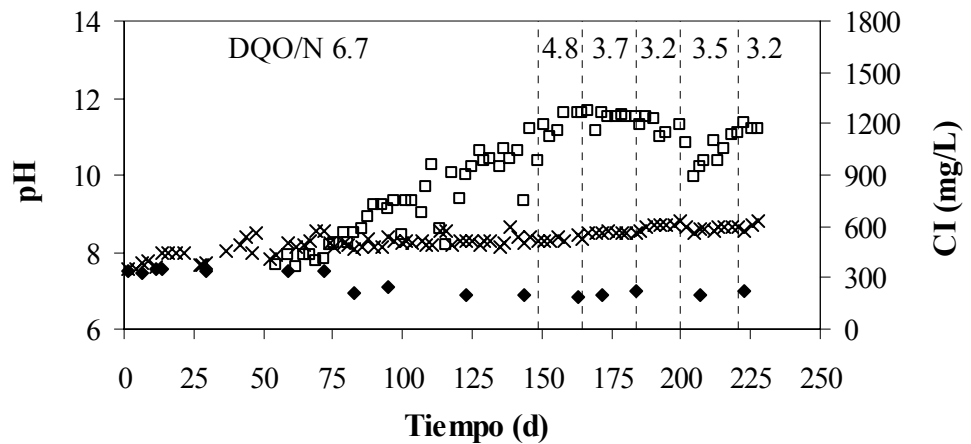


Figura 6.8. pH en el influente (◆), pH en el efluente (x) y CI en el efluente (□) del reactor.

El caudal de biogás producido se midió con el sistema de desplazamiento de líquido descrito en el Apartado 4.3.2 del Capítulo 4 (Veiga y col., 1990), los datos obtenidos se presentan en la Figura 6.9. Los valores de los primeros días de operación no aparecen representados debido a problemas en la medida ya que cuando la producción de biogás es baja se producen retrocesos del líquido por diferencias de presión y el valor del

caudal medido es poco fiable. Para producciones de biogás más elevadas los valores no presentan tanta fluctuación. Al aumentar las velocidades de carga orgánica y nitrogenada aplicadas al sistema, se observa un aumento en la producción de biogás. Cuando la velocidad de carga orgánica aplicada disminuye, la producción también disminuye.

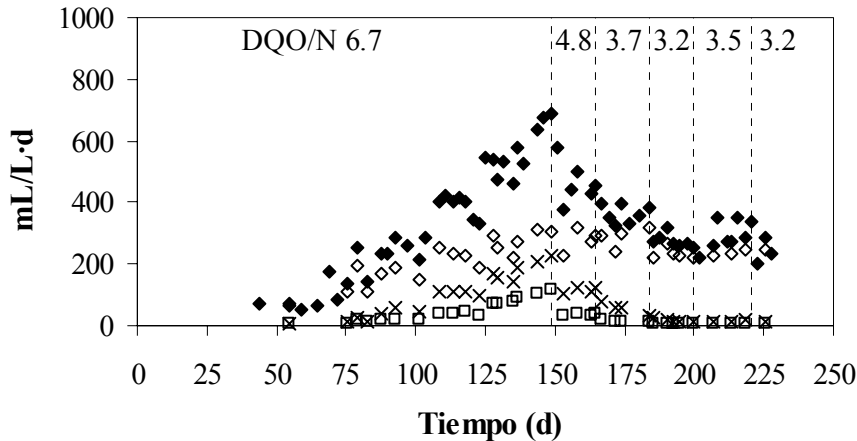


Figura 6.9. Caudal de biogás global (◆) y caudal de nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

La composición del biogás se analizó periódicamente y los resultados se muestran en la Figura 6.10. Mientras la relación DQO/N se mantuvo en 6.7, los porcentajes de nitrógeno, dióxido de carbono y metano en el biogás variaron entre 91.5 - 47.2%, 2.7 - 16.5% y 0 - 32.8%, respectivamente. A la vista de estos resultados se confirma que hasta el día 148 de operación tuvieron lugar dos procesos simultáneos en la misma unidad, desnitrificación y metanogénesis. Estudios previos indican que si existe suficiente fuente de carbono en el influente, ambos procesos pueden tener lugar en el mismo sistema (Akunna y col., 1992). Si esto sucede, la metanogénesis comienza una vez finalizada la desnitrificación, el carbono sobrante es transformado en metano y consecuentemente se alcanza un efluente con una baja DQO (Chen y Lin, 1993; Her y Huang, 1995). La ventaja del uso conjunto de la desnitrificación y la metanogénesis es que la DQO sobrante después de la desnitrificación puede ser eliminada por las bacterias metanogénicas.

En nuestro estudio, después del día 148 de operación, con el descenso de la relación DQO/N, el porcentaje de nitrógeno en el biogás aumentó mientras que el porcentaje de metano disminuyó. Esto indica que las bacterias desnitrificantes compitieron favorablemente contra las bacterias metanogénicas por la fuente de carbono, resultando finalmente en una pérdida de la actividad metanogénica.

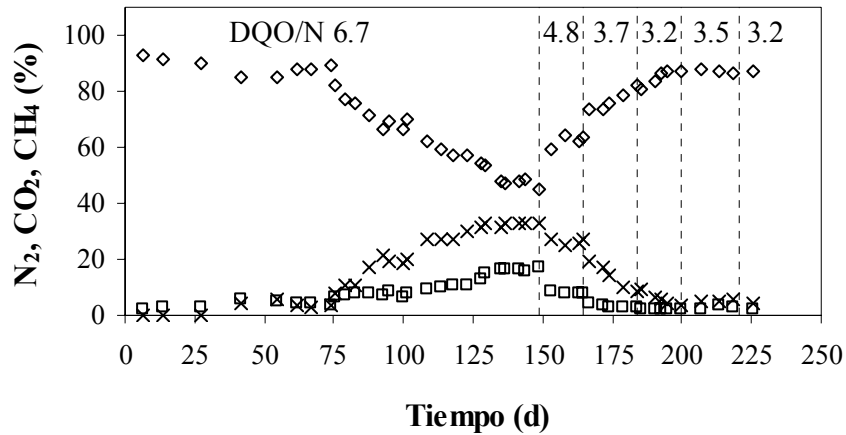


Figura 6.10. Evolución de la composición del biogás: nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

6.4.2.4. Granulación del lodo

La concentración de biomasa en el reactor aumentó de un valor inicial de 8.0 a 17.5 g SSV/L a lo largo de más de siete meses de operación. No se purgó biomasa del reactor durante todo el período experimental. Al ir aumentando las velocidades de carga orgánica y nitrogenada aplicadas, la concentración de biomasa en el efluente también aumentó, variando entre 0.002 y 0.168 g SSV/L (Figura 6.11). A partir del día 148 de operación, con el descenso de la relación DQO/N, la biomasa en el efluente también disminuyó. Por tanto, se obtuvo lodo con buenas propiedades de sedimentación y un efluente con bajas concentraciones de sólidos en suspensión.

Durante el estudio, tuvo lugar la granulación del lodo en el reactor USB operando a una velocidad ascensional de 0.14 m/h. Parte del lodo cambió de aspecto 65 días después de la puesta en marcha, pero no se observó una granulación clara hasta el día 90 de operación. Desde este momento hasta el final de la operación del reactor, se observaron claramente gránulos entre 0.5 y 2.0 mm de diámetro. Por tanto, se obtuvo lodo granular usando como inóculo lodo activo. Los gránulos obtenidos resultaron ser bastante frágiles, en el lecho de lodos eran estables pero al sacarlos del reactor se deshacían fácilmente. Antes de la granulación, se produjeron varios episodios de flotación del lodo, pero la formación de los gránulos le proporcionó unas mejores características de sedimentación.

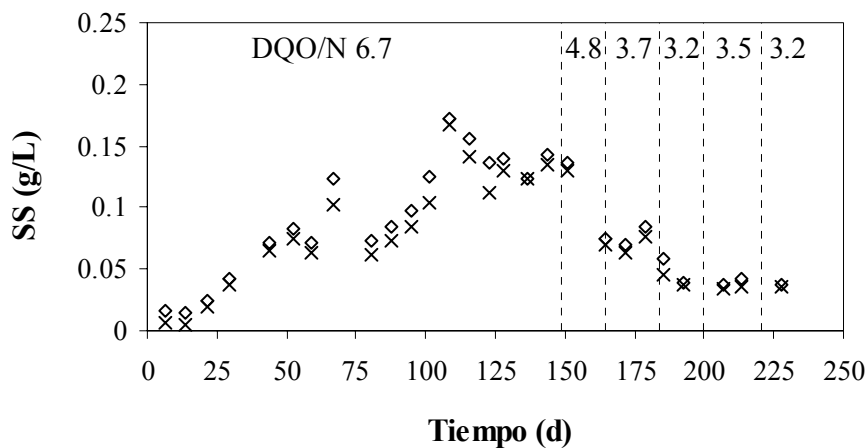


Figura 6.11. Sólidos en suspensión totales (◇) y volátiles (x) en el efluente del reactor.

En la bibliografía se han publicado recientemente fenómenos de granulación en reactores desnitrificantes de tipo USB (Kratochvil *y col.*, 1996; Borzacconi *y col.*, 1999; Rouse *y col.*, 1999). La granulación está claramente influenciada por la precipitación de sales de calcio a los elevados valores de pH alcanzados como resultado de la desnitrificación, lo cual puede crear una matriz para la granulación del lodo. Las bacterias metanogénicas también pudieron jugar un papel importante en la granulación ya que muchas metanogénicas suelen crecer en grandes agregados. En este

estudio, el lodo granular se obtuvo usando una alimentación con una alcalinidad comprendida entre 150 y 250 mg/L como CaCO_3 , la cual es comparable a los valores encontrados en la bibliografía. Así por ejemplo, Green *y col.* (1994) estudiando la desnitrificación en aguas subterráneas usando un reactor USB, establecieron que era necesaria una dureza de al menos 380 mg/L como CaCO_3 para obtener gránulos con unas buenas características de sedimentación. Sin embargo, Kratochvil *y col.* (1996) trabajando con un reactor anóxico USB, encontraron que fue posible obtener lodo granular con una alcalinidad de 50 mg/L como CaCO_3 .

Se tomaron muestras de lodo, se prepararon según se indica en el Apartado 2.1.14 del Capítulo 2 y se observaron por microscopía electrónica de barrido (Figura 6.12). Los gránulos presentaban formas irregulares y aparentemente tenían una superficie porosa. Por tanto, el sustrato podría difundirse fácilmente dentro de los gránulos donde sería utilizado por las bacterias de la zona interior y el biogás podría salir de los gránulos. Un mayor aumento mostró que la superficie y la estructura interna consistían en bacterias muy empaquetadas y con forma de bacilos, junto a algunos cocos incrustados en una matriz. Esta matriz podría estar compuesta de polímeros extracelulares típicamente producidos por organismos metanogénicos (Veiga *y col.*, 1997). Los gránulos obtenidos son similares a los descritos por Kratochvil *y col.* (1996).



1 μm

Figura 6.12. Lodo observado por microscopía electrónica de barrido.

6.5. CONCLUSIONES

Ensayos anóxicos en discontinuo

- En todos los ensayos tuvo lugar la biodegradación completa de formaldehído. Su velocidad inicial de biodegradación se mantuvo prácticamente constante, alrededor de $0.7 \text{ g CH}_2\text{O/g SSV}\cdot\text{d}$, a concentraciones de urea comprendidas entre 90 y 370 mg N/L. La urea se hidrolizó completamente a amonio en presencia de 430 mg/L de formaldehído.

- En los estudios de desnitrificación, se empleó una relación DQO/N de 3.7 ($430 \text{ mg CH}_2\text{O/L}$ y $125 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$) y tuvo lugar la desnitrificación completa en todos los casos. Los resultados obtenidos muestran que la biodegradación de formaldehído y el proceso neto de desnitrificación no resultaron afectados por la concentración inicial de urea.

Ensayos anóxicos en continuo

- La concentración de formaldehído en el influente se incrementó desde 625 hasta 5000 mg/L. Se alcanzaron eficacias de eliminación superiores al 99.5% a todas las velocidades de carga orgánica aplicadas, entre 0.37 y $2.96 \text{ kg DQO/m}^3\cdot\text{d}$. La velocidad de carga de urea se aumentó desde 0.06 hasta $0.44 \text{ kg N/m}^3\cdot\text{d}$, obteniendo un porcentaje de conversión de urea a amonio en torno al 77.5%.

- La concentración de nitrato en el influente se varió de 100 a 800 mg N/L, manteniendo la relación DQO/N en 6.7. Se obtuvieron porcentajes de desnitrificación alrededor del 98.4% a todas las velocidades de carga nitrogenada aplicadas, hasta $0.44 \text{ kg N-NO}_3^-/\text{m}^3\cdot\text{d}$. Los porcentajes de nitrógeno, dióxido de carbono y metano en el biogás variaron entre 91.5 - 47.2%, 2.7 - 16.5% y 0 - 32.8%, respectivamente. Por tanto, en la misma unidad tuvieron lugar dos procesos simultáneos, desnitrificación y metanogénesis. Posteriormente, se cambió la relación DQO/N en el influente y se obtuvo un valor mínimo de 3.5 para llevar a cabo la desnitrificación completa empleando formaldehído como fuente de carbono.

- Los resultados obtenidos indican que puede llevarse a cabo eficazmente el tratamiento anóxico en continuo de aguas residuales que contengan elevados niveles de formaldehído, urea y nitrato.

6.6. REFERENCIAS

- Adroer N., Casas C., de Mas C., Solà C. **1990** Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomonas putida*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**, 217-220.
- Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R. **1992** Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO_x ratio. *Environ. Technol.* **13**, 825-836.
- Azachi M., Henis Y., Oren A., Gurevich P., Sarig S. **1995** Transformation of formaldehyde by a *Halomonas* sp. *Can. J. Microbiol.* **41**, 548-553.
- Bonastre N., de Mas C., Solà C. **1986** Vavilin equation in kinetic modelling of formaldehyde biodegradation. *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 616-619.
- Borzacconi L., Ottonello G., Castelló E., Pelaez H., Gazzola A., Viñas M. **1999** Denitrification in a carbon and nitrogen removal system for leachate treatment: performance of a upflow sludge blanket (USB) reactor. *Water Sci. Technol.* **40** (8), 145-151.
- Campos J. L., Sánchez M., Mosquera A., Méndez R., Lema J. M. **2003** Coupled BAS and anoxic USB system to remove urea and formaldehyde from wastewater. *Water Res.* **37**, 3445-3451.
- Chen K. C., Lin Y. F. **1993** The relationship between denitrifying bacteria and methanogenic bacteria in a mixed culture system of acclimated sludges. *Water Res.* **27** (12), 1749-1759.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2000** Treatment of wastewaters from a formaldehyde-urea adhesives factory. *Water Sci. Technol.* **42** (5-6), 293-300.

- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2001** Simultaneous urea hydrolysis, formaldehyde removal and denitrification in a multified upflow filter under anoxic and anaerobic conditions. *Water Res.* **35** (3), 691-698.
- Green M., Tarre S., Schnizer M., Bogdan B., Armon R., Shelef G. **1994** Groundwater denitrification using an upflow sludge blanket reactor. *Water Res.* **28** (3), 631-637.
- Her J., Huang J. **1995** Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. *Bioresource Technol.* **54**, 45-51.
- Hidalgo A., Lopategi A., Prieto M., Serra J. L., Llama M. J. **2002** Formaldehyde removal in synthetic and industrial wastewater by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 260-263.
- Kato N., Shirakawa K., Kobayashi H., Sakazawa C. **1983** The dismutation of aldehydes by a bacterial enzyme. *Agric. Biol. Chem.* **47** (1), 39-46.
- Kratochvil K., Wase D. A. J., Forster C. F. **1996** The formation and characterization of a granular sludge in an anoxic USB reactor. *Trans IChemE* **74** (B), 94-98.
- Latkar M., Chakrabarti T. **1994** Performance of upflow anaerobic sludge blanket reactor carrying out biological hydrolysis of urea. *Water Environ. Res.* **66** (1), 12-15.
- Lu Z., Hegemann W. **1998** Anaerobic toxicity and biodegradation of formaldehyde in batch cultures. *Water Res.* **32** (1), 209-215.
- Omil F., Méndez D., Vidal G., Méndez R., Lema J. M. **1999** Biodegradation of formaldehyde under anaerobic conditions. *Enzyme Microbiol. Technol.* **24**, 255-262.
- Qu M., Bhattacharya S. K. **1997** Toxicity and biodegradation of formaldehyde in anaerobic methanogenic culture. *Biotechnol. Bioeng.* **55** (5), 727-736.

Rouse J. D., Sumida K., Kida K., Furukawa K. **1999** Maintainability of denitrifying granular sludge in soft to marginally hard waters in an upflow sludge-blanket reactor. *Environ. Technol.* **20**, 219-225.

Veiga M. C., Soto M., Méndez R., Lema J. M. **1990** A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water Res.* **24** (12), 1551-1554.

Veiga M. C., Jain M. K., Wu W. M., Hollingsworth R. I., Zeikus J. G. **1997** Composition and role of extracellular polymers in methanogenic granules. *Appl. Environ. Microbiol.* **63** (2), 403-407.

Yamazaki T., Tsugawa W., Sode K. **2001** Biodegradation of formaldehyde by a formaldehyde-resistant bacterium isolated from seawater. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **91-93**, 213-217.

**Capítulo 7. Tratamiento biológico de aguas residuales
de una industria productora de resinas y efecto
de la aplicación de sobrecargas de fenol**

Capítulo 7. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES DE UNA INDUSTRIA PRODUCTORA DE RESINAS Y EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SOBRECARGAS DE FENOL

RESUMEN

El propósito de este trabajo es estudiar el tratamiento biológico de dos tipos de agua residual de una industria productora de formaldehído y resinas empleando un sistema pre-desnitrificante.

Inicialmente, se analizó la eliminación de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico. La eliminación media de formaldehído y ácido fórmico fue del 99.9 y 99.7%, respectivamente, variando sus concentraciones en la alimentación entre 2087.0 y 2200.0 mg CH₂O/L y 1384.6 y 1513.9 mg HCOOH/L. La eficacia de eliminación de COT fue elevada, alrededor del 92.0%, a una velocidad de carga orgánica de 0.20 kg COT/m³·d. Con respecto a los compuestos nitrogenados, la velocidad de carga nitrogenada estuvo en torno a 0.06 kg NTK/m³·d, obteniendo un porcentaje medio de eliminación de NTK del 76.7%.

Posteriormente, se estudió la eliminación de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con baja concentración de materia orgánica y el efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol. La velocidad de carga orgánica fue de 0.20 kg COT/m³·d, obteniendo una eliminación media de COT del 91.9%, similar al estudio con el agua residual anterior. En cambio, la eliminación de NTK fue superior a la obtenida en el caso anterior, alrededor del 87.9% a una velocidad de carga nitrogenada en torno a 0.08 kg NTK/m³·d. Se aplicaron sobrecargas de fenol de 250 a 4000 mg/L. Durante las sobrecargas se detectó fenol en el efluente del reactor anóxico pero la unidad se recuperó rápidamente al cesar las mismas. La eliminación global de COT permaneció invariable durante las sobrecargas con respecto al período anterior, excepto en la sobrecarga más elevada. Con respecto al NTK, su eliminación media tampoco resultó afectada por las sobrecargas de fenol.

7.1. INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales de las industrias productoras de formaldehído y resinas contienen materia orgánica y compuestos nitrogenados. Por tanto, el tratamiento biológico de dichas aguas requiere un proceso combinado de eliminación de carbono y nitrógeno. Este tratamiento biológico puede realizarse en un sistema pre-desnitrificante (Apartado 1.2.4 del Capítulo 1), el cual se emplea generalmente para tratar aguas residuales que contienen, además de compuestos nitrogenados, materia orgánica que puede ser usada como fuente de carbono para el proceso de desnitrificación. El sistema pre-desnitrificante reduce los gastos que supone la utilización de una fuente de carbono externa. En el reactor anóxico tendría lugar la eliminación de los compuestos orgánicos, la hidrólisis de los compuestos nitrogenados y la desnitrificación del nitrato recirculado de la unidad aerobia. Mientras que en el reactor aerobio tendría lugar la nitrificación del amonio suministrado por la unidad anóxica y la biodegradación de los compuestos orgánicos que no hubiesen sido eliminados en dicha unidad.

La composición de las aguas residuales de las industrias productoras de resinas depende del proceso de fabricación que se esté llevando a cabo en cada momento. En general, la materia orgánica está presente fundamentalmente como formaldehído y los compuestos nitrogenados como urea; sin embargo, también se generan vertidos puntuales que contienen elevadas concentraciones de fenol. Por tanto, resulta interesante analizar la eliminación biológica de todos estos compuestos y su influencia sobre los procesos de nitrificación y desnitrificación. Para ello, en los capítulos anteriores se estudiaron los distintos procesos utilizando agua sintética. En el Capítulo 3 se investigó la eliminación simultánea de formaldehído y amonio (nitrificación) en sistemas de lodos activos. Mientras que en el Capítulo 4 se analizó la biodegradación de formaldehído y metanol, así como el efecto de ambos compuestos sobre el proceso de desnitrificación. En el Capítulo 5 se estudió la eliminación simultánea de formaldehído y fenol, además de su influencia sobre el proceso de desnitrificación. Y por último, en el Capítulo 6 se analizó la biodegradación de formaldehído, la hidrólisis de urea y el proceso de desnitrificación en presencia de ambos compuestos. En el presente capítulo se estudian todos estos procesos empleando aguas

residuales de la industria productora de formaldehído y resinas (Apartado 1.1.3 del Capítulo 1). Concretamente, se analiza la eliminación biológica de materia orgánica y compuestos nitrogenados, así como el efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol sobre dicha eliminación.

Cheng *y col.* (1996) estudiaron el tratamiento de aguas residuales de una industria productora de resinas utilizando un sistema pre-desnitrificante (anóxico-aerobio-aerobio) a escala de laboratorio. Trabajando a velocidades de carga orgánica entre 0.27 y 0.72 kg DQO/m³·d y velocidades de carga nitrogenada entre 0.04 y 0.12 kg NTK/m³·d, alcanzaron eliminaciones medias de DQO y NTK del 95.3 y 83.8%, respectivamente.

Garrido *y col.* (2000) también analizaron el tratamiento de aguas residuales de una industria productora de resinas usando un sistema pre-desnitrificante (anóxico-aerobio) a escala de laboratorio. Trabajando a velocidades de carga orgánica entre 0.7 y 1.9 kg DQO/m³·d, obtuvieron eliminaciones de DQO entre el 70 y el 85%.

7.2. OBJETIVOS

El propósito de este trabajo es estudiar el tratamiento biológico de dos tipos de agua residual de la industria productora de formaldehído y resinas. Para ello se realizaron ensayos en continuo en un sistema pre-desnitrificante con los siguientes objetivos concretos:

- Estudio de la eliminación biológica de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico.
- Estudio de la eliminación biológica de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con baja concentración de materia orgánica y análisis del efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol sobre dicha eliminación.

7.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos en continuo se llevaron a cabo en un sistema pre-desnitrificante a escala de laboratorio (Figuras 7.1 y 7.2). Este sistema consiste en un reactor anóxico de tipo USB (0.8 L) conectado a un reactor aerobio de lodos activos (1.8 L), ambos reactores descritos en el Apartado 4.3.2 del Capítulo 4 y en el Apartado 3.3.2 del Capítulo 3, respectivamente. Para la medida de biogás se utiliza un sistema de desplazamiento de líquido (Veiga y col., 1990). La alimentación al reactor anóxico se realiza mediante una bomba peristáltica y el efluente de dicho reactor pasa continuamente al reactor aerobio. Una parte del efluente de la unidad aerobia se recircula al reactor anóxico mediante otra bomba peristáltica y la otra parte sale como efluente final.

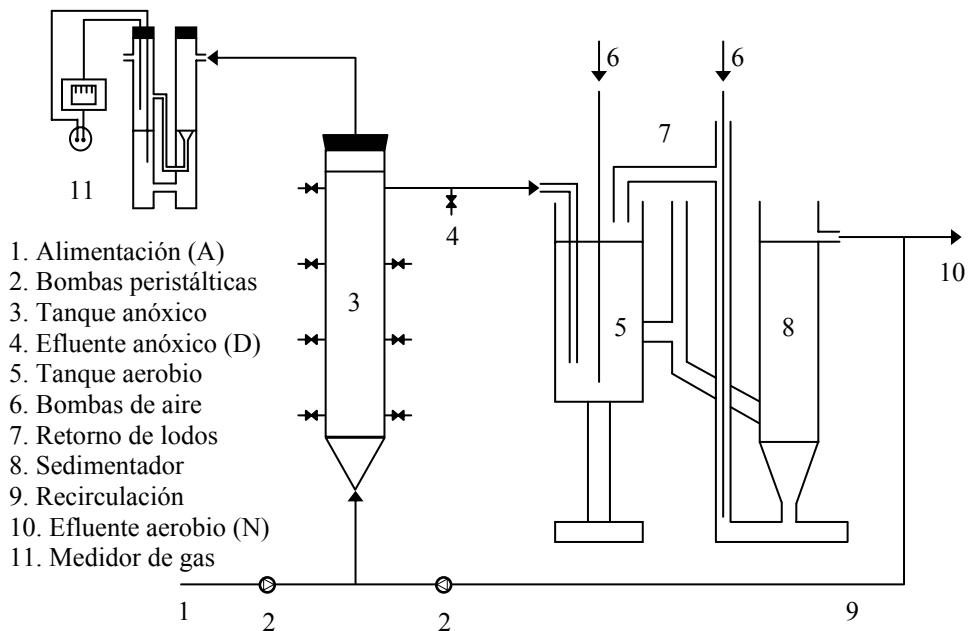


Figura 7.1. Esquema del sistema pre-desnitrificante.



Figura 7.2. Fotografía del sistema pre-desnitrificante.

Los reactores se inocularon con lodo obtenido de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria productora de formaldehído y resinas. El sistema se mantuvo en una cámara a 20°C. Para alimentar el sistema se emplearon dos tipos de agua residual de dicha industria: el agua residual I, con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico; y el agua residual II, con baja concentración de materia orgánica. En la Tabla 7.1 se presenta la composición de los dos tipos de agua residual.

A lo largo del capítulo en las figuras se representan las concentraciones de los distintos parámetros en la alimentación (A) y en el efluente de los reactores anóxico (D) y aerobio (N). Para determinar los porcentajes de eliminación de los distintos compuestos en el sistema global o en cada una de las unidades, se realizaron balances de materia con respecto a la alimentación y teniendo en cuenta los diferentes caudales.

Tabla 7.1. Composición de los dos tipos de agua residual industrial empleados (todos los parámetros en mg/L, excepto el pH).

Parámetro	Agua residual I		Agua residual II	
	Rango	Promedio	Rango	Promedio
CH ₂ O	2087.0 - 2200.0	2144.4	4.8 - 22.3	14.7
HCOOH	1384.6 - 1513.9	1436.2	-	-
CH ₃ OH	240.0 - 264.1	249.4	-	-
C ₆ H ₆ O	0.9 - 2.0	1.6	3.3 - 4.4	3.9
COT	1423.0 - 1599.5	1552.6	246.0 - 515.5	361.4
NTK	467.8 - 492.3	477.8	532.0 - 559.7	544.7
N-NH ₄ ⁺	11.3 - 19.2	14.9	328.9 - 372.7	348.5
N-NO ₃ ⁻	0.4 - 1.1	0.6	0.1 - 1.2	0.6
pH	6.3 - 7.0	6.7	8.2 - 9.1	8.6

7.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.4.1. Agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico

Con el fin de estudiar la eliminación biológica de materia orgánica y compuestos nitrogenados en un agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico, se llevaron a cabo ensayos en continuo en el sistema pre-desnitrificante descrito en el Apartado 7.3. Este sistema se alimentó con agua residual industrial de tipo I, cuya composición se muestra en la Tabla 7.1. La alimentación se suministró a un caudal de 0.33 L/d, con una recirculación entre la unidad aerobia y la anóxica de 3.6 L/d. El tiempo de retención hidráulica global fue de 7.9 d, siendo de 2.4 d en el reactor anóxico y 5.5 d en la unidad aerobia. Los reactores anóxico y aerobio se inocularon con 7.5 y 2.7 g SSV/L, respectivamente.

7.4.1.1. Eliminación biológica de materia orgánica

El agua residual utilizada presentaba una concentración elevada de formaldehído. La evolución de este compuesto en la alimentación y en el efluente de los reactores anóxico y aerobio se muestra en la Figura 7.3. La concentración de formaldehído en la alimentación varió entre 2087.0 y 2200.0 mg/L, correspondiendo a una velocidad de carga orgánica alrededor de 0.11 kg C/m³·d. Durante el período de operación la eliminación promedio de formaldehído fue del 99.9%, siendo su concentración en el efluente siempre inferior a 3.5 mg/L. Este compuesto se eliminó casi completamente en el reactor anóxico (99.1%). Esto corrobora los resultados sobre la biodegradación anóxica de formaldehído presentados en el Capítulo 4 del presente trabajo y los encontrados en la bibliografía (Garrido y *col.*, 2001; Campos y *col.*, 2003). Por tanto, es posible la eliminación en medio anóxico de elevadas concentraciones de formaldehído en presencia de otros compuestos orgánicos.

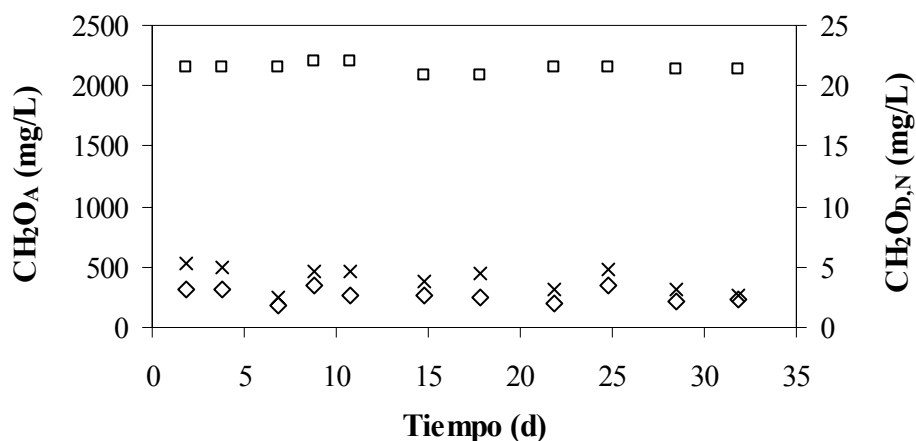


Figura 7.3. Concentración de formaldehído en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

Otro compuesto orgánico presente en el agua residual a concentraciones elevadas fue el ácido fórmico. Su concentración en la alimentación varió entre 1384.6 y 1513.9 mg/L (Figura 7.4), correspondiendo a una velocidad de carga orgánica en torno a 0.05 kg

C/m³·d. La concentración media en el efluente fue de 3.6 mg/L, obteniendo una eliminación de ácido fórmico alrededor del 99.7%. La eliminación de este compuesto también tuvo lugar principalmente en el reactor anóxico (98.8%).

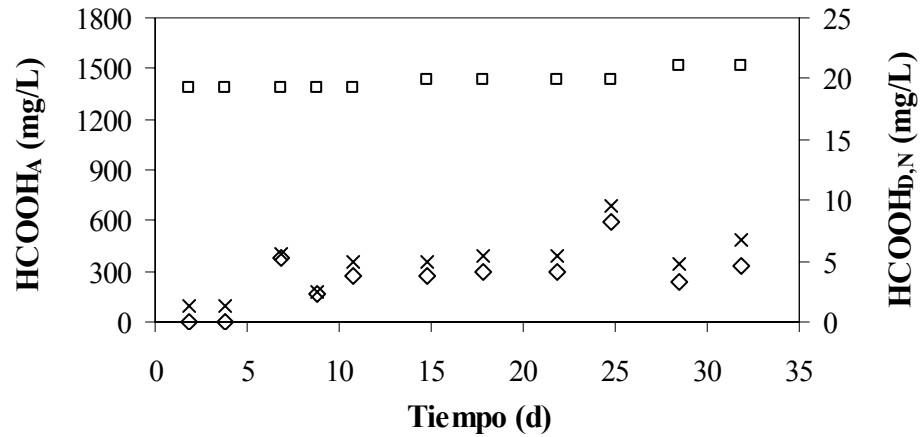


Figura 7.4. Concentración de ácido fórmico en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

En la Figura 7.5 se presenta el COT en la alimentación y en el efluente de los reactores anóxico y aerobio. Los valores de COT en la alimentación estuvieron comprendidos entre 1423.0 y 1599.5 mg/L, correspondiendo a una velocidad de carga orgánica alrededor de 0.20 kg COT/m³·d. La eficacia de eliminación de materia orgánica fue elevada, en torno al 92.0%, obteniendo valores de COT en el efluente entre 94.0 y 141.4 mg/L.

La mayor parte de la materia orgánica se eliminó en el reactor anóxico, pero una pequeña cantidad se eliminó en la unidad aerobia. Consecuentemente, en el reactor aerobio pudo existir una competición entre las bacterias nitrificantes y las heterótrofas ya que la presencia de materia orgánica estimula el crecimiento de las bacterias heterótrofas, las cuales compiten con las nitrificantes por sus sustratos básicos, el amonio y el oxígeno (Hanaki *y col.*, 1990; Cheng y Chen, 1994).

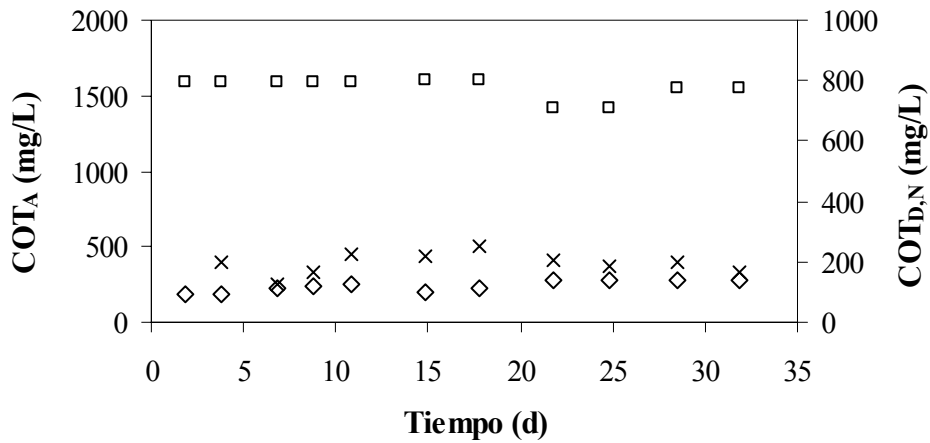


Figura 7.5. COT en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

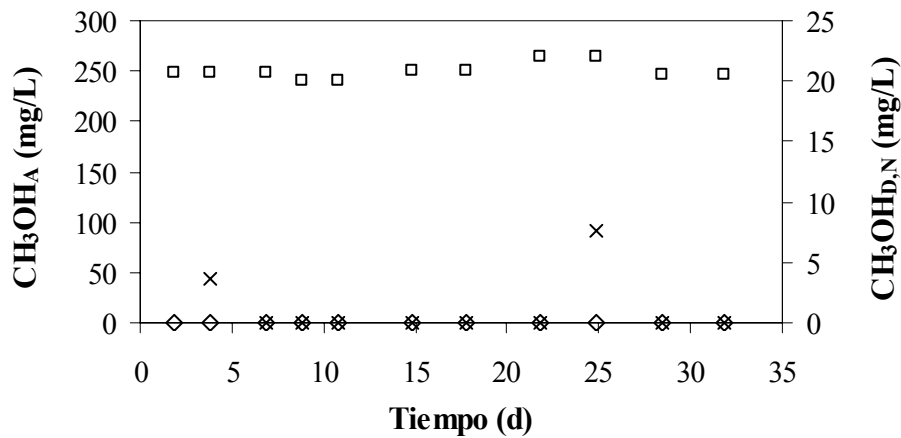


Figura 7.6. Concentración de metanol en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

Las concentraciones de formaldehído y ácido fórmico no se correspondían con la cantidad de materia orgánica medida. Por tanto, el agua residual contenía otros compuestos orgánicos en menor proporción y debido a ello se decidió determinar metanol y fenol. La concentración de metanol en la alimentación varió entre 240.0 y 264.1 mg/L, y se eliminó completamente

durante todo el período de operación (Figura 7.6). En cuanto al fenol, su concentración en la alimentación fue muy baja (entre 0.9 y 2.0 mg/L) y también se eliminó totalmente (Figura 7.7).

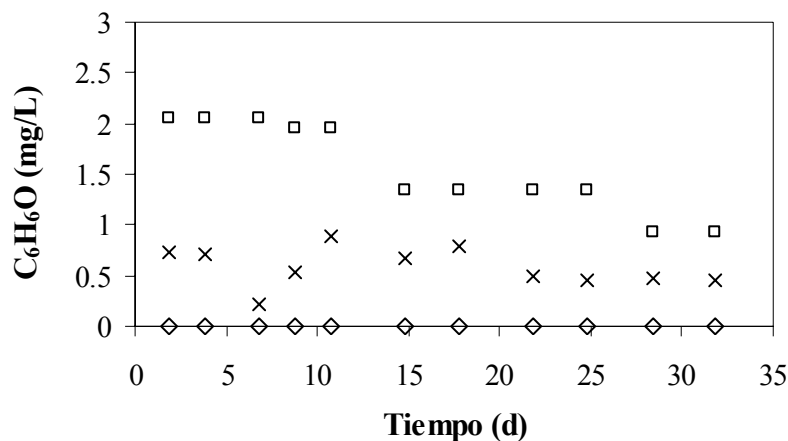


Figura 7.7. Concentración de fenol en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

7.4.1.2. Eliminación biológica de compuestos nitrogenados

También se estudió la eliminación de los compuestos nitrogenados presentes en el agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico. La concentración de NTK en la alimentación estuvo comprendida entre 467.8 y 492.3 mg/L, obteniendo valores en el efluente entre 82.6 y 137.6 mg/L (Figura 7.8). La velocidad de carga nitrogenada aplicada estuvo en torno a 0.06 kg NTK/m³·d, siendo el porcentaje de eliminación del 76.7%.

La mayoría del NTK estaba presente en el agua residual como nitrógeno orgánico ya que la concentración de amonio varió entre 11.3 y 19.2 mg N/L (Figura 7.9). En consecuencia, la eliminación de NTK dependió fundamentalmente de la eficacia de la hidrólisis del nitrógeno orgánico.

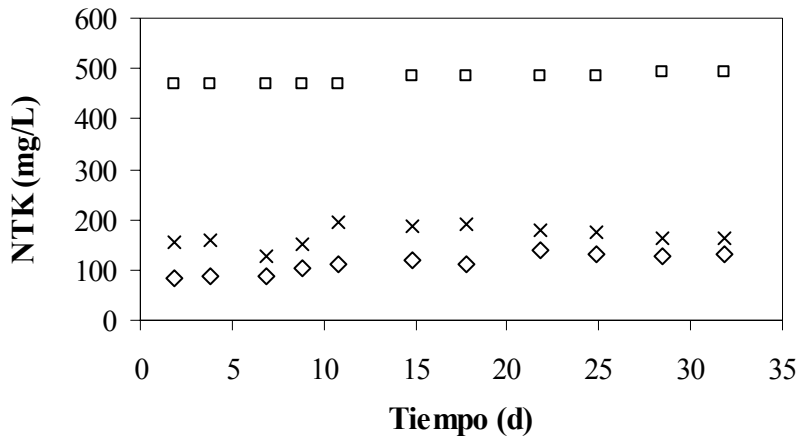


Figura 7.8. NTK en la alimentación (\square) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (\diamond).

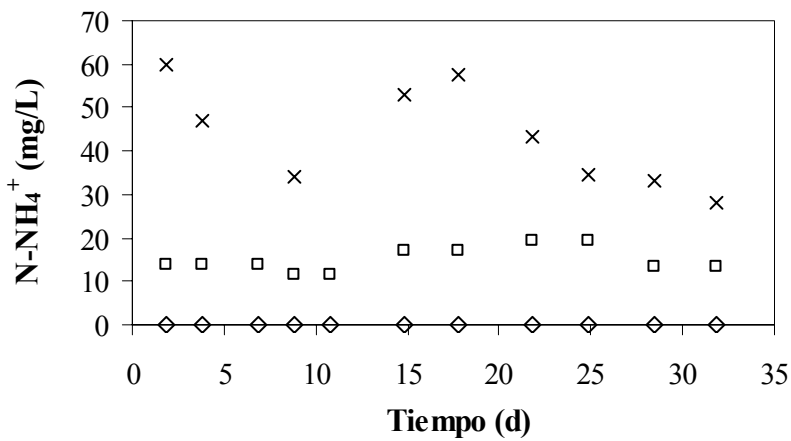


Figura 7.9. Concentración de amonio en la alimentación (\square) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (\diamond).

Las concentraciones de amonio y nitrato en la alimentación fueron muy bajas, con un valor medio de 14.9 y 0.6 mg N/L, respectivamente. En el reactor aerobio tuvo lugar la nitrificación y la asimilación por los microorganismos del amonio suministrado por la unidad anóxica, obteniendo una eliminación de amonio alrededor del 99.8% (Figura 7.9). Mientras que

en el reactor anóxico tuvo lugar la desnitrificación del nitrato recirculado de la unidad aerobia, alcanzando eficacias superiores al 99.9% (Figura 7.10).

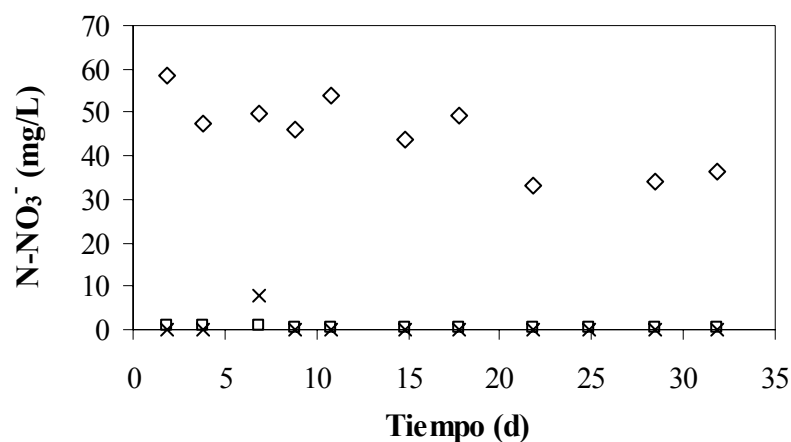


Figura 7.10. Concentración de nitrato en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

La composición del biogás producido en el reactor anóxico se analizó periódicamente, obteniendo porcentajes de nitrógeno, dióxido de carbono y metano entre 55.8 - 78.0, 3.0 - 7.2 y 12.2 - 33.0%, respectivamente (Figura 7.11). A la vista de estos resultados se confirma que tuvieron lugar dos procesos simultáneos en la misma unidad, desnitrificación y metanogénesis. Estudios previos indican que si existe suficiente fuente de carbono en el influente, ambos procesos pueden tener lugar en el mismo sistema (Akunna y *col.*, 1992). Si esto sucede, la metanogénesis comienza una vez finalizada la desnitrificación, el carbono sobrante es transformado en metano y consecuentemente se alcanza un efluente con una baja concentración de materia orgánica (Chen y Lin, 1993; Her y Huang, 1995). En este caso la relación COT/NTK promedio era de 3.2.

Durante el estudio el lodo presentó buenas propiedades de sedimentación y se obtuvo un efluente final con bajas concentraciones de sólidos, entre 0.002 y 0.048 g SSV/L.

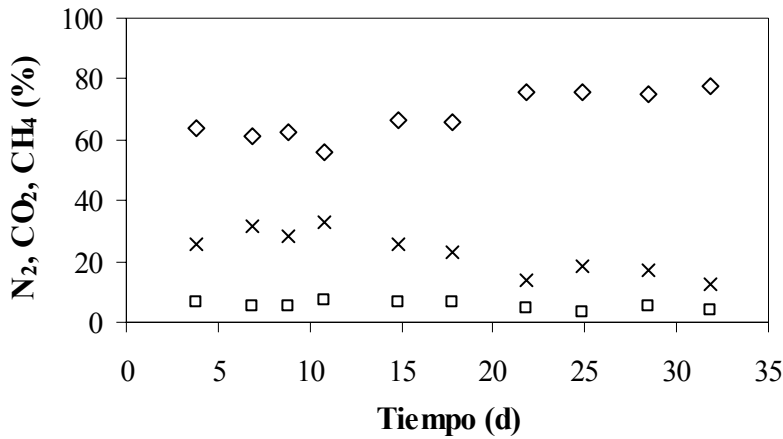


Figura 7.11. Evolución de la composición del biogás: nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

En los sistemas pre-desnitrificantes un parámetro importante a tener en cuenta es la relación de recirculación, obtenida dividiendo el caudal de recirculación entre el caudal de alimentación. En estos sistemas se emplean relaciones de recirculación altas para obtener porcentajes de eliminación de nitrógeno elevados ya que la eficacia máxima de eliminación (η) depende directamente de la relación de recirculación aplicada al sistema (R), tal y como indica la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{R}{R + 1}$$

Esta ecuación se obtiene considerando una condición ideal en la cual la unidad desnitrificante y la nitrificante poseen un rendimiento del 100%. Cuanto mayor sea la relación de recirculación, mayor será la disponibilidad de nitrato para la desnitrificación y por tanto, mayor eficacia de eliminación de nitrógeno. Sin embargo, existe un valor máximo para la relación de recirculación debido a que al aumentarla se aumenta el oxígeno recirculado al reactor desnitrificante.

La relación de recirculación óptima es distinta para cada reactor y agua residual empleada. Así, Morgan-Sagastume *y col.* (1994) trabajaron con aguas residuales urbanas y, usando una relación de recirculación de 3, alcanzaron porcentajes de eliminación de COT y N alrededor del 80 y 62%, respectivamente. Cheng *y col.* (1996) estudiaron el tratamiento de aguas residuales de una industria productora de resinas. Usando una relación de recirculación de 6, obtuvieron eliminaciones medias de DQO y NTK del 95.3 y 83.8%, respectivamente. Mosquera-Corral *y col.* (2003) utilizaron un sistema anaerobio-anóxico-aerobio para tratar aguas residuales de una fábrica de conservas. Trabajando a relaciones de recirculación entre 2.0 y 2.5, alcanzaron porcentajes de eliminación medios de DQO y N del 90 y 60%, respectivamente.

En nuestro estudio, la relación de recirculación empleada fue de 10.9, valor superior a los encontradas en la bibliografía. La eficacia máxima de eliminación para esta relación sería del 91.6%, en cambio la eliminación de NTK obtenida fue del 76.7%. La etapa limitante en la eliminación de NTK fue la hidrólisis del nitrógeno orgánico. El agua residual empleada debía contener polímeros difícilmente biodegradables como ya ha sido indicado por otros autores (Garrido *y col.*, 2000).

7.4.2. Agua residual con baja concentración de materia orgánica y efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol

Se realizaron ensayos en continuo en el sistema pre-desnitrificante descrito en el Apartado 7.3, con el fin de estudiar la eliminación biológica de materia orgánica y compuestos nitrogenados, así como el efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol sobre dicha eliminación. El sistema se alimentó con agua residual industrial de tipo II, con baja concentración de materia orgánica, cuya composición se presenta en la Tabla 7.1. La alimentación se suministró a un caudal de 0.38 L/d y 3.7 L/d del efluente aerobio se recircularon al reactor anóxico. El tiempo de retención hidráulica global fue de 6.8 d, siendo de 2.1 d en el reactor anóxico y 4.7 d en la unidad aerobia. Los reactores anóxico y aerobio se inocularon con 7.5 y 4.0 g SSV/L, respectivamente.

7.4.2.1. Eliminación biológica de materia orgánica

Como se puede observar en la Tabla 7.1, la relación COT/NTK del agua residual II no era suficiente para llevar a cabo la desnitrificación completa. Esta relación es un parámetro importante para el control del proceso de desnitrificación (Akunna y col., 1992; Her y Huang, 1995). Por ello, se decidió añadir metanol al agua residual debido a su amplio uso como fuente de carbono externa y a su bajo coste (Nyberg y col., 1992; Purtschert y col., 1996).

El sistema se alimentó con agua residual industrial durante los primeros 17 días de operación, posteriormente se aplicaron sobrecargas de fenol. Teniendo en cuenta que se añadió metanol, la concentración final de COT en la alimentación estuvo comprendida entre 1243.5 y 1513.0 mg/L, correspondiendo a una velocidad de carga orgánica alrededor de 0.20 kg COT/m³·d. Los valores de COT en el efluente se estabilizaron en torno a 105.0 mg/L, alcanzando una eliminación media del 91.9%. Por tanto, los resultados obtenidos fueron muy similares al estudio con el agua residual anterior (92.0% a 0.20 kg COT/m³·d).

La concentración de metanol en la alimentación fue de aproximadamente 2660.0 mg/L (Figura 7.12), correspondiendo a una velocidad de carga orgánica de 0.15 kg C/m³·d. La biodegradación de metanol se mantuvo alrededor del 99.8%.

Además de metanol, se determinaron otros compuestos orgánicos como formaldehído, ácido fórmico y fenol. La concentración de formaldehído en la alimentación varió entre 4.8 y 22.3 mg/L, siendo su valor medio en el efluente de 0.9 mg/L (Figura 7.13). La cantidad de ácido fórmico estuvo por debajo del límite de detección. En cuanto al fenol, su concentración en la alimentación también fue muy baja (entre 3.3 y 4.4 mg/L) y se eliminó completamente.

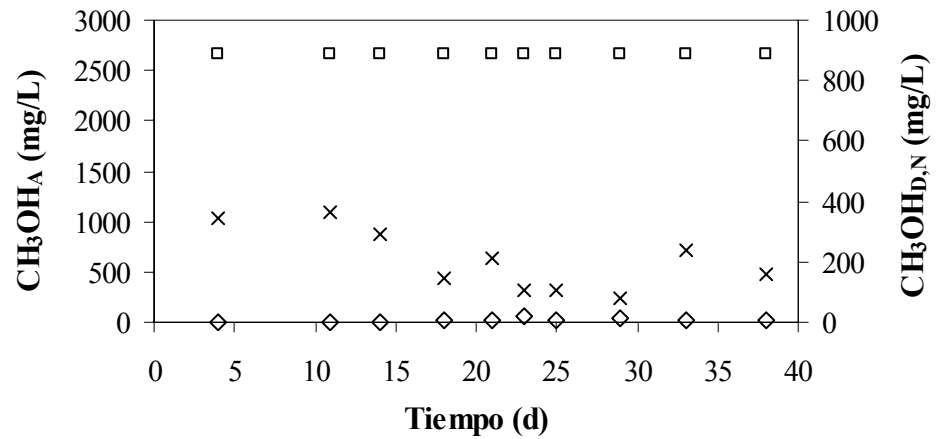


Figura 7.12. Concentración de metanol en la alimentación (\square) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (\diamond).

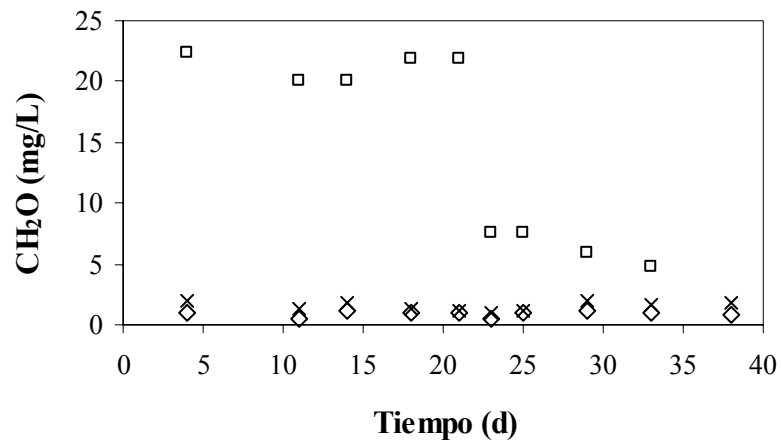


Figura 7.13. Concentración de formaldehído en la alimentación (\square) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (\diamond).

7.4.2.2. Eliminación biológica de compuestos nitrogenados

También se estudió la eliminación de los compuestos nitrogenados presentes en el agua residual con baja concentración de materia orgánica. Las concentraciones de NTK en la alimentación y en el efluente de los

reactores anóxico y aerobio se presentan en la Figura 7.14. La concentración de NTK en la alimentación varió entre 532.0 y 559.7 mg/L, siendo el valor medio en el efluente de 62.8 mg/L. El porcentaje de NTK eliminado fue del 87.9% a una velocidad de carga nitrogenada alrededor de 0.08 kg NTK/m³·d.

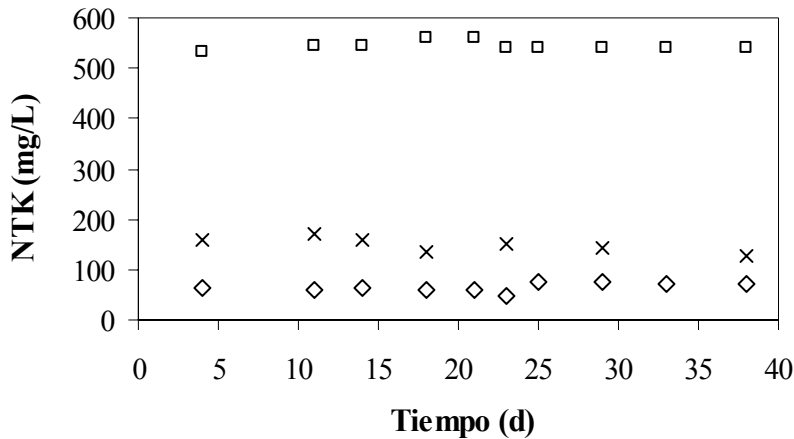


Figura 7.14. NTK en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

Por tanto, la eliminación de NTK fue superior a la obtenida con el agua residual anterior (76.7% a 0.06 kg NTK/m³·d). Esto puede deberse a que en este caso la mayoría del NTK estaba presente como amonio, en torno a 348.5 mg N/L (Figura 7.15). En consecuencia, la eliminación de NTK dependió en menor medida de la eficacia de la hidrólisis del nitrógeno orgánico. De hecho, para la relación de recirculación empleada (9.7) la eficacia máxima de eliminación sería del 90.7% y la obtenida fue muy próxima (87.9%).

Comparando con la bibliografía, Cheng y col. (1996) también estudiaron el tratamiento de aguas residuales de una industria productora de resinas empleando un sistema pre-desnitrificante (anóxico-aerobio-aerobio). Usaron una relación de recirculación de 6 y la concentración media de amonio en la alimentación fue de 232 mg N/L. Trabajando a velocidades de carga nitrogenada entre 0.04 y 0.12 kg NTK/m³·d, alcanzaron eliminaciones medias de NTK del 83.8%. En nuestro caso, la eliminación de NTK fue

superior (87.9%), lo cual podría explicarse por la mayor relación de recirculación (9.7) y la mayor concentración de amonio existente (348.5 mg N/L).

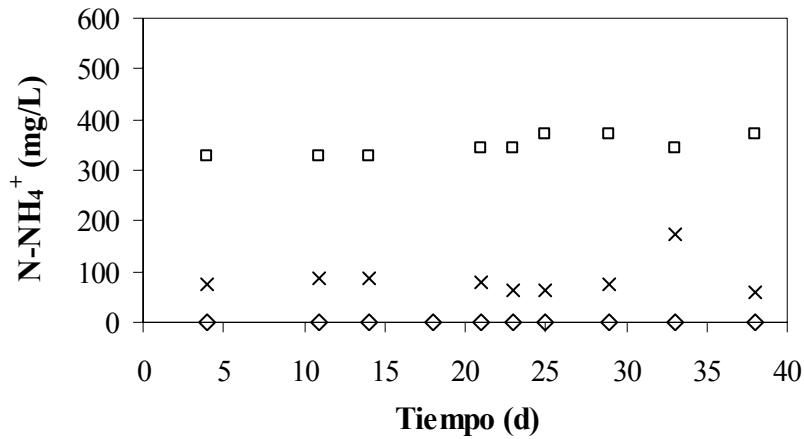


Figura 7.15. Concentración de amonio en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

Igual que en el estudio con el agua residual anterior, la concentración de nitrato en la alimentación fue muy baja, con un valor medio de 0.6 mg N/L. En el reactor aerobio tuvo lugar la nitrificación y la asimilación de amonio por los microorganismos, siendo la eliminación media de amonio del 99.5% (Figura 7.15). Mientras que en el reactor anóxico tuvo lugar la desnitrificación del nitrato, obteniendo eficacias en torno al 99.8% (Figura 7.16). Por tanto, con ambos tipos de agua residual se obtuvieron eficacias de eliminación de amonio y de desnitrificación similares.

El biogás producido en el reactor anóxico estuvo compuesto mayoritariamente por nitrógeno (alrededor del 95.4%), siendo las proporciones de dióxido de carbono y de metano muy bajas (en torno al 1.1 y 0.1%, respectivamente) (Figura 7.17). A diferencia de lo que sucedió con el agua residual anterior, en este caso no tuvo lugar el proceso de metanogénesis ya que la relación COT/NTK (2.5) fue inferior que en el caso anterior (3.2).

Durante el estudio el lodo presentó buenas propiedades de sedimentación, igual que en el caso anterior. Se obtuvo un efluente final bastante clarificado con una concentración de lodo comprendida entre 0.004 y 0.069 g SSV/L.

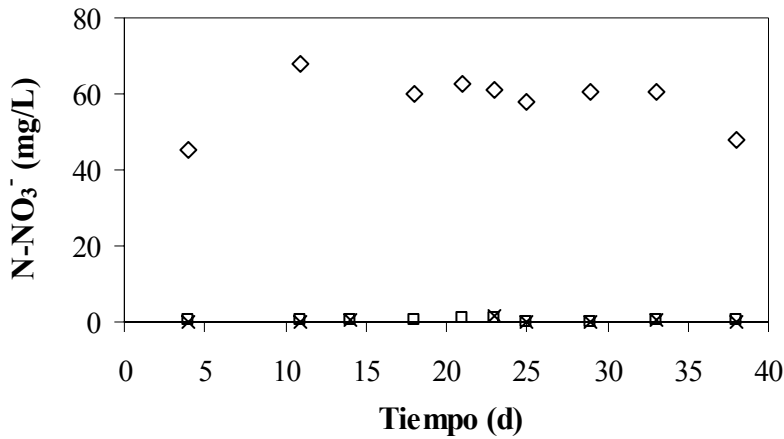


Figura 7.16. Concentración de nitrato en la alimentación (□) y en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◇).

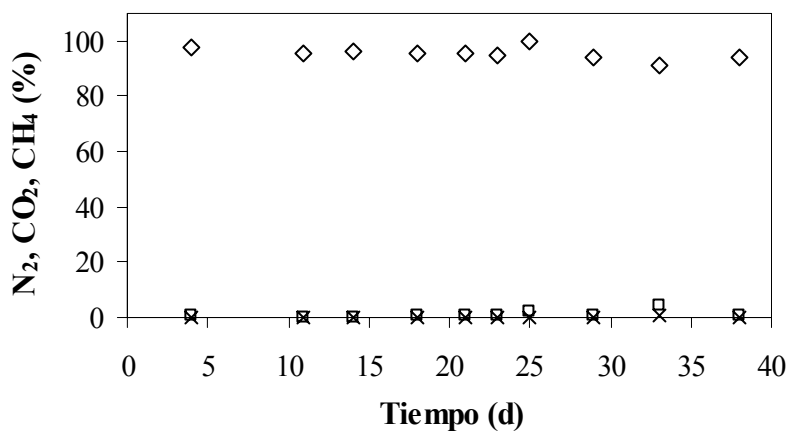


Figura 7.17. Evolución de la composición del biogás: nitrógeno (◇), dióxido de carbono (□) y metano (x).

7.4.2.3. Efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol

Después del día 17 de operación, el sistema se siguió alimentando con agua residual industrial pero se aplicaron sobrecargas de fenol durante 10 h de 250, 500, 1000, 1700, 2500 y 4000 mg/L. Por tanto, la velocidad de carga orgánica de fenol aplicada estuvo comprendida entre 0.04 y 0.59 kg C₆H₆O/m³·d (0.03 - 0.45 kg C/m³·d). La evolución de la concentración de fenol en la alimentación y en el efluente del reactor anóxico se muestra en la Figura 7.18.A. No se representó la concentración de fenol en el efluente del reactor aerobio debido a que no se detectó durante ninguna de las sobrecargas aplicadas, excepto en la de 4000 mg/L.

Como se puede observar en la gráfica, durante las sobrecargas se detectó fenol en el efluente del reactor anóxico pero la unidad se recuperó rápidamente al cesar las mismas. En el efluente de dicho reactor se alcanzó una concentración de fenol de 21.0 mg/L durante la sobrecarga más baja (250 mg/L) y de 370.2 mg/L durante la sobrecarga más elevada (4000 mg/L). Sin embargo, en el efluente del reactor aerobio únicamente se detectó fenol durante la sobrecarga de 4000 mg/L, siendo la concentración máxima alcanzada de 128.1 mg/L, que se eliminó en un día.

Por tanto, en el caso de producirse un vertido puntual que contuviese una elevada concentración de fenol, la unidad anóxica no se desestabilizaría, aunque parte del fenol no se eliminaría en esta unidad, pasando al reactor aerobio. Finalmente el fenol se eliminaría en la unidad aerobia, con la consiguiente proliferación de bacterias heterótrofas que podrían competir con las bacterias nitrificantes.

La eliminación global de COT permaneció invariable durante las sobrecargas de fenol con respecto a los primeros 17 días de operación, excepto en la sobrecarga más elevada (Figura 7.18.B). Esto es debido a que únicamente se detectó fenol en el efluente del reactor aerobio durante la sobrecarga de 4000 mg/L, alcanzando concentraciones de COT de 270.1 mg/L. Durante el resto del período, los valores de COT en el efluente estuvieron comprendidos entre 72.4 y 127.1 mg/L.

Con respecto a los compuestos nitrogenados, la eliminación media de NTK tampoco resultó afectada por las sobrecargas de fenol, obteniendo las mismas concentraciones en el efluente que durante los primeros 17 días de operación (Figura 7.14). Los porcentajes de eliminación de amonio (Figura 7.15) y de desnitrificación (Figura 7.16) también permanecieron invariables durante las sobrecargas, en torno al 99.5 y 99.8%, respectivamente.

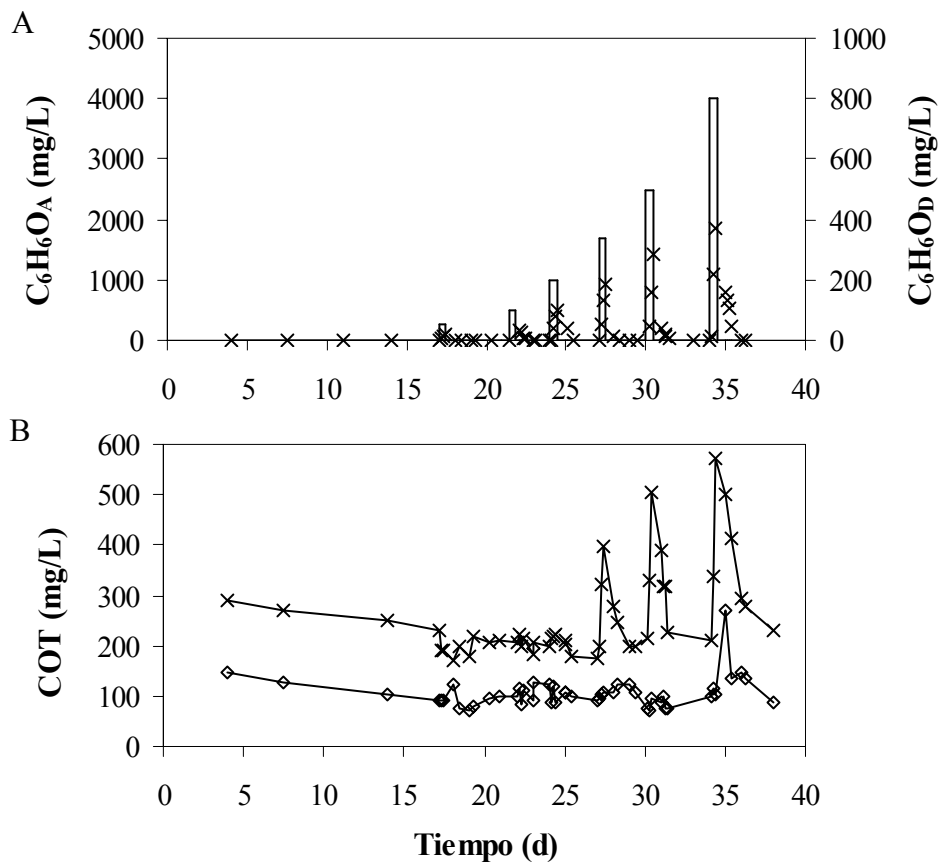


Figura 7.18. A. Concentración de fenol en la alimentación (—) y en el efluente del reactor anóxico (x). B. COT en el efluente de los reactores anóxico (x) y aerobio (◊).

7.5. CONCLUSIONES

Agua residual con concentraciones elevadas de formaldehído y ácido fórmico

- La eliminación media de formaldehído y ácido fórmico fue del 99.9 y 99.7%, respectivamente, variando sus concentraciones en la alimentación entre 2087.0 y 2200.0 mg CH₂O/L y 1384.6 y 1513.9 mg HCOOH/L. La eficacia de eliminación de COT fue elevada, en torno al 92.0%, a una velocidad de carga orgánica alrededor de 0.20 kg COT/m³·d. La mayor parte de la materia orgánica se eliminó en el reactor anóxico, pero una pequeña cantidad se eliminó en la unidad aerobia.

- Con respecto a los compuestos nitrogenados, la concentración de NTK en la alimentación varió entre 467.8 y 492.3 mg/L. La velocidad de carga nitrogenada estuvo en torno a 0.06 kg NTK/m³·d, obteniendo un porcentaje medio de eliminación de NTK del 76.7%. La mayoría del NTK estaba presente como nitrógeno orgánico ya que la concentración de amonio varió entre 11.3 y 19.2 mg N/L. En consecuencia, la eliminación de NTK dependió fundamentalmente de la eficacia de la hidrólisis del nitrógeno orgánico.

Agua residual con baja concentración de materia orgánica y efecto de la aplicación de sobrecargas de fenol

- La velocidad de carga orgánica fue de 0.20 kg COT/m³·d, obteniendo una eliminación media de COT del 91.9%, similar al estudio con el agua residual anterior. En cambio, la eliminación de NTK fue superior a la obtenida en el caso anterior, alrededor del 87.9% a una velocidad de carga nitrogenada en torno a 0.08 kg NTK/m³·d. Esto puede deberse a que en este caso la concentración de NTK en la alimentación varió entre 532.0 y 559.7 mg/L pero la mayoría estaba presente como amonio, en torno a 348.5 mg N/L. En consecuencia, la eliminación de NTK dependió en menor medida de la eficacia de la hidrólisis del nitrógeno orgánico.

- Se aplicaron sobrecargas de fenol de 250 a 4000 mg/L. Durante las sobrecargas se detectó fenol en el efluente del reactor anóxico pero la unidad se recuperó rápidamente al cesar las mismas. La eliminación

global de COT permaneció invariable durante las sobrecargas con respecto al período anterior, excepto en la sobrecarga más elevada. Esto es debido a que únicamente se detectó fenol en el efluente del reactor aerobio durante la sobrecarga de 4000 mg/L. Con respecto al NTK, su eliminación media tampoco resultó afectada por las sobrecargas de fenol.

7.6. REFERENCIAS

- Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R. **1992** Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO_x ratio. *Environ. Technol.* **13**, 825-836.
- Campos J. L., Sánchez M., Mosquera A., Méndez R., Lema J. M. **2003** Coupled BAS and anoxic USB system to remove urea and formaldehyde from wastewater. *Water Res.* **37**, 3445-3451.
- Chen K. C., Lin Y. F. **1993** The relationship between denitrifying bacteria and methanogenic bacteria in a mixed culture system of acclimated sludges. *Water Res.* **27** (12), 1749-1759.
- Cheng S., Chen W. **1994** Organic carbon supplement influencing performance of biological nitrification in a fluidized bed reactor. *Water Sci. Technol.* **30** (11), 131-142.
- Cheng S., Lin Y., Chen S. **1996** Enhanced biodegradation of organic nitrogenous compounds in resin manufacturing wastewater by anoxic denitrification and oxic nitrification process. *Water Sci. Technol.* **34** (10), 35-41.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2000** Treatment of wastewaters from a formaldehyde-urea adhesives factory. *Water Sci. Technol.* **42** (5-6), 293-300.
- Garrido J. M., Méndez R., Lema J. M. **2001** Simultaneous urea hydrolysis, formaldehyde removal and denitrification in a multified upflow filter under anoxic and anaerobic conditions. *Water Res.* **35** (3), 691-698.

- Hanaki K., Wantawin C., Ohgaki S. **1990** Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in a suspended-growth reactor. *Water Res.* **24** (3), 289-296.
- Her J., Huang J. **1995** Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. *Bioresource Technol.* **54**, 45-51.
- Morgan-Sagastume J., Jiménez B., Noyola A. **1994** Anaerobic-anoxic-aerobic process with recycling and separated biomass for organic carbon and nitrogen removal from wastewater. *Environ. Technol.* **15**, 233-243.
- Mosquera-Corral A., Campos J. L., Sánchez M., Méndez R., Lema J. M. **2003** Combined system for biological removal of nitrogen and carbon from a fish cannery wastewater. *J. Environ. Eng.* **129** (9), 826-833.
- Nyberg U., Aspegren H., Andersson B., Jansen J. C., Villadsen I. S. **1992** Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. *Water Sci. Technol.* **26** (5-6), 1077-1086.
- Purtschert I., Siegrist H., Gujer W. **1996** Enhanced denitrification with methanol at WWTP Zurich-Werdholzli. *Water Sci. Technol.* **33** (12), 117-126.
- Veiga M. C., Soto M., Méndez R., Lema J. M. **1990** A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water Res.* **24** (12), 1551-1554.