

UNIVERSIDAD ADOLFO IBAÑEZ

TESIS DE MAGÍSTER

**Evaluación del uso de biomasa procedente de un
sistema de lodos activos como inóculo de reactores
desnitrificantes hidrogenotróficos para el
tratamiento de aguas subterráneas**

Autor:
Niki Draganidakis

Profesores guía:
JOSE LUIS CAMPOS
JAVIERA TOLEDO

Comité de defensa:
NOMBRE COMISION
2DO NOMBRE COMISION

*Tesis realizada acorde a los requerimientos para el grado de
Magister en Ciencias de la ingeniería, mención Bioingeniería*

de la

Facultad de Ingeniería y Ciencias

1 de agosto de 2025

UNIVERSIDAD ADOLFO IBAÑEZ

Resumen

Facultad de Ingeniería y Ciencias

Magister en Ciencias de la ingeniería, mención Bioingeniería

Evaluación del uso de biomasa procedente de un sistema de lodos activos como inóculo de reactores desnitrificantes hidrogenotróficos para el tratamiento de aguas subterráneas

por Niki Draganidakis

La creciente escasez de agua en zonas urbanas y rurales de Chile, acentuada por el cambio climático y el aumento de la población, ha incentivado la búsqueda de fuentes alternativas para el abastecimiento hídrico. En este contexto, las aguas subterráneas representan una opción viable, aunque su calidad frecuentemente se ve comprometida por la presencia de nitratos, producto de actividades agrícolas e industriales. Existen diferentes procesos para ajustar el nivel de nitrato de las aguas subterráneas a concentraciones inferiores a $50 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$ y, así, poder cumplir con el requisito impuesto para dicho compuesto por la normativa de calidad de agua potable. Entre esos procesos, la desnitrificación hidrogenotrófica es una de las alternativas más atractivas dado su baja producción de lodos y a que no genera una contaminación secundaria. Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo principal promover la actividad desnitrificante hidrogenotrófica de biomasa procedente de un sistema de lodos activos para poder usarla como inóculo en reactores que eliminan nitrato de aguas subterráneas.

Se llevó a cabo la aclimatación de la biomasa mediante alimentaciones sucesivas con un medio sintético que contenía nitrato mientras se le suministró hidrógeno en continuo mediante difusores. Una vez finalizada la aclimatación, se realizaron estudios cinéticos con el fin de determinar las velocidades de consumo de nitrato y nitrito a distintas concentraciones iniciales de nitrato y también de evaluar el posible efecto inhibitorio de la presencia de nitrito sobre la velocidad de eliminación de nitrato. Los resultados mostraron que la velocidad de eliminación de nitrato siempre era mayor que la velocidad de eliminación de nitrito, por lo que se observaba una acumulación transitoria de este compuesto. En términos prácticos, esto implica que el dimensionamiento de los reactores desnitrificantes hidrogenotróficos tiene que realizarse en función de la velocidad de eliminación de nitrito con el fin de que el efluente resultante cumpla con los requerimientos, respecto a nitrato y nitrito, para consumo humano. De acuerdo a los ensayos cinéticos, la acumulación de nitrito no ejercería ningún efecto inhibitorio sobre la velocidad de consumo de nitrato.

Palabras clave: Aguas subterráneas, desnitrificación hidrogenotrófica, lodos activos, nitrato, nitrito.

UNIVERSIDAD ADOLFO IBAÑEZ

Abstract

Faculty of Engineering and Science

Master of Engineering Sciences Mention in Bioengineering

Evaluation of Biomass from an Activated Sludge System as Inoculum for Hydrogenotrophic Denitrifying Reactors in the Treatment of Groundwater

by Niki Draganidakis

The growing water scarcity in urban and rural areas of Chile, exacerbated by climate change and population growth, has driven the search for alternative sources of water supply. In this context, groundwater represents a viable option, although its quality is often compromised by the presence of nitrates resulting from agricultural and industrial activities. Various processes exist to adjust the nitrate level in groundwater to concentrations below 50 mg NO₃⁻/L in order to meet the standards set by drinking water quality regulations. Among these processes, hydrogenotrophic denitrification is one of the most attractive alternatives due to its low sludge production and the fact that it does not generate secondary pollution. Therefore, the main objective of this research was to promote the hydrogenotrophic denitrifying activity of biomass from an activated sludge system, to be used as inoculum in reactors for nitrate removal from groundwater.

Biomass acclimation was carried out through successive feedings with a synthetic medium containing nitrate, while hydrogen was continuously supplied using diffusers. After the acclimation phase, kinetic studies were performed to determine the consumption rates of nitrate and nitrite at different initial nitrate concentrations and to evaluate the potential inhibitory effect of nitrite presence on the nitrate removal rate. The results showed that the nitrate removal rate was always higher than that of nitrite, leading to a transient accumulation of the latter. In practical terms, this implies that the design of hydrogenotrophic denitrifying reactors must be based on the nitrite removal rate to ensure that the resulting effluent complies with human consumption standards for both nitrate and nitrite. According to the kinetic tests, the accumulation of nitrite does not exert any inhibitory effect on the nitrate consumption rate.

Keywords: Activated sludge, groundwater, hydrogenotrophic denitrification, nitrate, nitrite.

Reconocimientos

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mi profesor guía, José Luis Campos, por haberme acogido con generosidad desde un inicio y haber creído en mí incluso antes de ingresar al programa de magíster. Gracias a su voluntad y apoyo pude formar parte de este camino académico. Agradezco profundamente la dedicación con la que ha respondido cada uno de mis correos, la paciencia con la que ha atendido mis dudas, y la disposición constante para orientarme tanto en los momentos de claridad como en los de incertidumbre. Su guía ha sido fundamental para concretar este proyecto.

Del mismo modo, extendiendo mi gratitud a mi profesora co-guía, Javiera Toledo, por encontrar siempre un espacio en su apretada agenda para acompañarme en reuniones, responder mis inquietudes y revisar mis avances. Su apoyo fue clave en el desarrollo de esta investigación.

Agradezco con especial cariño a quienes fueron mis supervisores en el laboratorio y que, con el paso del tiempo, se convirtieron también en amigos: Edgar, Héctor y Eduardo. Ellos no solo me enseñaron con dedicación todo lo necesario para desenvolverme en el trabajo experimental, sino que también estuvieron presentes durante todo el proceso, acompañándome en los momentos de entusiasmo, estrés, risas y lágrimas. Su compañía y disposición hicieron del laboratorio un espacio de aprendizaje humano y técnico invaluable.

A mi compañera de laboratorio, Francisca, le agradezco su generosidad, su constante apoyo y su infinita paciencia. Desde el inicio de esta etapa compartimos el camino y su presencia hizo que cada desafío fuese más llevadero. No podría haber imaginado una mejor compañera de proceso.

A mi familia, mamá, abuela, hermanos, tíos, y primos gracias por sostenerme en cada una de las dimensiones que importan: la emocional, la personal y la económica. Gracias por confiar en mí, por escucharme, por motivarme a seguir, y por brindarme siempre la posibilidad de elegir. Todo lo que he aprendido y recorrido hasta ahora se lo debo especialmente a mi mamá y a mi abuela, pilares incondicionales de mi vida.

Además quiero agradecer a mi papá, quien, a pesar de la distancia y de no vernos con frecuencia, se mantuvo presente a través de mensajes y llamadas, animándome con sus palabras y mostrándome siempre su orgullo.

También, quiero agradecer profundamente a mis amigas y amigos, quienes estuvieron siempre dispuestos a escuchar mis quejas, mis angustias y mi cansancio durante todo este proceso, prestándome sus oídos, su compañía y su cariño incondicional. Finalmente, deseo mencionar a Lucciano, quien, a pesar de no haber estado conmigo desde los inicios del proyecto, se convirtió en un apoyo fundamental. Siempre me entregó palabras de aliento, me dio energías cuando sentía que no podía más y me recordó, una y otra vez, que sí podía con todo y que no debía rendirme. Su presencia fue un refugio cálido y constante que me acompañó en la etapa final de este recorrido.

Finalmente, esta investigación fue posible gracias al financiamiento otorgado por el Gobierno de Chile a través de los siguientes proyectos: ANID/FONDEF/ID23I10165, ANID/REGULAR/1200850, ANID/ANILLO/ACT240022 y ANID/FONDAP/1523A0001.

Índice general

Resumen	I
Abstract	II
Reconocimientos	III
1. Objetivos	1
2. Definición del problema u oportunidad	2
2.1. Agua, un recurso limitado	2
2.2. El uso de aguas subterráneas	4
3. Estado del arte	5
3.1. Tecnologías para eliminar nitrato de las aguas subterráneas	6
3.1.1. Métodos físicos	6
3.1.2. Métodos químicos	7
3.1.3. Métodos de desnitrificación biológica	8
3.2. Desnitrificación hidrogenotrófica, una nueva solución	8
3.3. Sistemas SBR	9
4. Metodología	11
4.1. Métodos Analíticos	11
4.1.1. Sólidos suspendidos totales (SST)	11
Fundamento	11
Equipos y materiales	11
Procedimiento	12
Expresión de los resultados	12
4.1.2. Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	12
Fundamento	12
Equipos y materiales	12
Procedimiento	12
Expresión de los resultados	13
4.1.3. Concentración de nitrito (NO_2^-)	13
Fundamento	13
Equipos y materiales	13
4.1.4. Preparación de reactivos	14
Reactivo NED	14
Reactivo SFNA	14
Preparación de solución patrón de NaNO_2	14
Procedimiento	14
Expresión de resultados	15
4.1.5. Concentración de nitrato (NO_3^-)	15

	Fundamento	15
	Equipos y materiales	15
4.1.6.	Preparación de reactivos	16
	Solución de HCl 0,1 [N]	16
	Solución de ácido sulfámico 50 [g/L]	16
	Preparación de solución patrón de NaNO_3	16
	Procedimiento	16
	Expresión de resultados	17
4.1.7.	Concentración de amonio (NH_4^+)	17
	Fundamento	17
	Equipos y materiales	18
4.1.8.	Preparación de reactivos	18
	Solución de fenol	18
	Solución de nitroprusiato de sodio 0,5 % p/v	18
	Solución de citrato alcalino	18
	Solución de hipoclorito de sodio	18
	Solución oxidante	19
	Preparación de solución patrón de NH_4Cl	19
	Procedimiento	19
	Expresión de resultados	20
4.2.	Preparación de los ensayos cinéticos	20
4.3.	Ensayos cinéticos	22
4.3.1.	Puesta en marcha	22
4.3.2.	Desarrollo de las cinéticas	23
5.	Resultados y análisis	25
6.	Conclusiones	34

Capítulo 1

Objetivos

Objetivo general

- Promover la actividad desnitrificante hidrogenotrófica de biomasa procedente de un sistema de lodos activos para poder usarla como inóculo en reactores que eliminen nitrato de aguas subterráneas.

Objetivos específicos

1. Obtener las cinéticas de consumo de nitrato y nitrito que permitan dimensionar un reactor desnitrificante hidrogenotrófico que elimine nitrato de las aguas subterráneas.
2. Determinar el posible efecto inhibitorio de la acumulación de nitrito sobre la velocidad de eliminación de nitrato durante el proceso de desnitrificación hidrogenotrófica.

Capítulo 2

Definición del problema u oportunidad

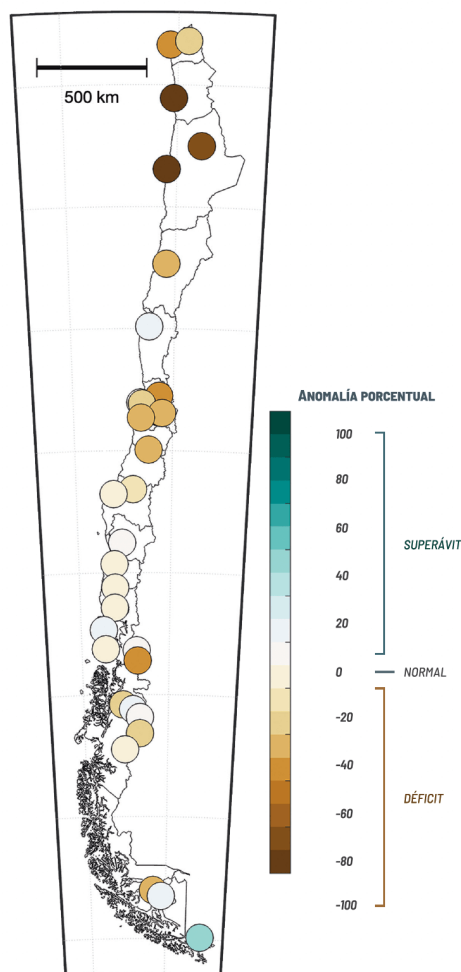
2.1. Agua, un recurso limitado

A lo largo de los años ha surgido preocupación sobre la escasez del agua, afectando a millones de personas en todo el mundo. Al mismo tiempo que la población continúa creciendo, la necesidad del agua se incrementa en diversos sectores a escala global, principalmente en la región de agricultura y ganadería, ya que un incremento en la densidad de población trae como consecuencia un incremento en la cantidad de alimento requerido para sustentar a la población, alimento que se obtiene a través de trabajos dependientes en gran medida de la utilización del agua. Por otro lado, también como consecuencia del aumento de la densidad poblacional, aumenta significativamente el consumo humano particular de agua. El agua es uno de los recursos más importantes para la vida en la Tierra, siendo uno de los pilares fundamentales para el desarrollo biológico. La disponibilidad del agua se está volviendo cada vez más escasa con el correr del día, afectada además por el severo cambio climático, su reiterada contaminación y las malas administraciones de los recursos hidráulicos.

Aunque el agua es un recurso abundante en nuestro planeta, ya que tres cuartas partes de la Tierra están cubiertas por ella, solo el 1 % es apto para el consumo humano [1]. Chile, a pesar de ser conocido por su extensa costa y su rica diversidad de recursos naturales, enfrenta desafíos significativos en cuanto a la disponibilidad de agua. En la actualidad, la escasez de agua que afecta al país, especialmente en la zona central, representa una grave amenaza para diversas actividades productivas y el suministro de agua potable a la población. Según datos de la Dirección General de Aguas (DGA) del Ministerio de Obras Públicas, hasta marzo de 2023 se han emitido más de 15 decretos de escasez, que abarcan 107 comunas, principalmente en las regiones de Valparaíso y Metropolitana. Estos decretos afectan aproximadamente al 25 % de la población nacional.

Como se deja ver en la figura 2.1, la escasez de agua viene dada también por la falta de precipitaciones. Si bien en varias regiones del país se encuentran zonas con déficit de precipitación, se puede apreciar claramente que la zona central es la más que se ve más afectada por este fenómeno [2]. Además en una investigación del World Resources Institute del Pacto Mundial de las Naciones Unidas (2019), Chile ocupa el lugar número 18 a nivel mundial en lo que se refiere a estrés hídrico elevado, siendo el país más afectado por la misma al continente de América Latina [3].

UNA MIRADA AL TERRITORIO



Precipitación actualizada al 13 de noviembre de 2022.
Crédito: Diego Campos - Dirección Meteorológica de Chile

FIGURA 2.1: Precipitación al 13 de noviembre de 2022
[4].

Desde la economía de los recursos naturales se señalan problemas importantes que afectan la eficacia del mercado. Estos incluyen la sobreexplotación de los recursos hídricos, efectos negativos como la contaminación que no se consideran en los costos, y la falta de medidas para conservar los flujos de agua necesarios según la ciencia. Estudios recientes como la Evaluación de Desempeño Ambiental de Chile 2024 de la OCDE y el Balance Ambiental 2023 destacan la crítica escasez de agua potable en muchas regiones. La calidad del agua en estas áreas es deficiente debido principalmente a la contaminación industrial, agrícola y urbana. Esta contaminación, junto con la insuficiente infraestructura para tratar aguas residuales, representa riesgos para la salud pública y el medio ambiente. Esto subraya una brecha persistente en la provisión de servicios básicos de saneamiento. La sobreexplotación de los recursos hídricos, la contaminación y la degradación ambiental amenazan seriamente la biodiversidad y la salud de nuestros ríos, lagos y humedales [5].

La presión causada por los recursos hídricos se incrementa debido a la aumento de la demanda del recurso para trabajar en él el humano y el sector industrial y la agricultura para proveer insumos [1]. A esto además se le suman las limitaciones que se generan por la situación climática. Por lo tanto, buscar la forma de asegurar un buen suministro de agua potable es de suma importancia para garantizar una seguridad hídrica suficiente para el desarrollo de las actividades industriales y mantener, a su vez, el equilibrio natural a largo plazo. Ya es cada vez menos factible obtener más fuentes de recursos hídricos, por lo que buscar una manera de poder reutilizar el agua que ya está en circulación podría ser una posible solución a esta crisis hídrica.

2.2. El uso de aguas subterráneas

Para abordar esta problemática se ha estudiado el uso de las aguas subterráneas, las cuales podrían ser una buena alternativa para generar agua potable. Hoy en día, en Chile, más del 40 % del agua utilizada en áreas urbanas y más del 76 % en zonas rurales proviene de fuentes subterráneas y se destina al consumo humano [6]. Sin embargo, debido a la contaminación ambiental, se ha visto afectada por diferentes sustancias que no la hacen segura ni factible para su uso potable.

De los principales contaminantes que se encuentran en el agua subterránea, el nitrato cumple con ser el más común en el mundo y superan de manera significativa los rangos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (50 mg/L nitrato, 3 mg/L nitrito) para que éste no se considere dañino. Altos niveles pueden llegar a generar graves problemas de salud, tanto efectos cancerígenos como metahemoglobinemia, la cual corresponde a un trastorno sanguíneo en donde la hemoglobina no es capaz de liberar el oxígeno en los tejidos del cuerpo de manera eficiente [7] [8] [9].

Si bien la existencia de nitratos en el agua subterránea ocurre de manera natural por la disolución de ciertas rocas que lo contienen, bajo estas circunstancias, su concentración no supera los 10 mg/L de agua, por lo que éste no se considera peligroso para la salud [10]. La presencia de concentraciones de nitrato superiores a esta estarían indicando problemas de contaminación asociados generalmente al vertido de residuos industriales/aguas servidas o a la aplicación excesiva de fertilizantes a terreno. Es más, en una investigación reciente efectuada en 2021 por la Dirección General de Aguas, se llevó a cabo una evaluación de la relación entre la concentración de nitrato en las aguas subterráneas y el uso del suelo en esas zonas [6]. Los resultados revelaron que las elevadas concentraciones se correlacionan con suelos dedicados a actividades agrícolas, así como a zonas urbanas e industriales [11].

Con el fin de poder usar las aguas subterráneas como un recurso hídrico para consumo humano, es necesario desarrollar sistemas de tratamiento eficientes y económicos que permitan reducir la concentración de nitrato hasta el límite establecido por normativa para el agua potable.

Capítulo 3

Estado del arte

La molécula de nitrógeno (N_2) es químicamente inerte y necesita ser procesada para volverse biológicamente activa. Este proceso se lleva a cabo a través del ciclo del nitrógeno, en el cual el N_2 se transforma en amoníaco, que se oxida perdiendo electrones y transformándose en NO_2^- y NO_3^- para que las plantas puedan hacer uso de él. Este cambio es realizado por las bacterias nitrificantes [11]. De esta manera, el nitrógeno se vuelve disponible para las plantas. En la agricultura, se enriquece el suelo con fertilizantes que contienen amonio, (p.e. nitrato de amonio, fosfato de amonio y sulfato de amonio, sales de nitrato, urea y otras formas orgánicas de N_2). No obstante, si se aplican fertilizantes o productos químicos en cantidades que superan la capacidad de las plantas para absorberlos, se genera una acumulación de nitrato en la tierra mas aún si hay escasez de nutrientes como el fósforo, potasio y calcio [12]. Cuando el agua se infiltra en el suelo y discurre por la superficie (Figura 3.1), el nitrato es fácilmente arrastrado hacia las aguas subterráneas y las aguas superficiales, esto debido a su notoria capacidad para movilizarse en el agua [13].

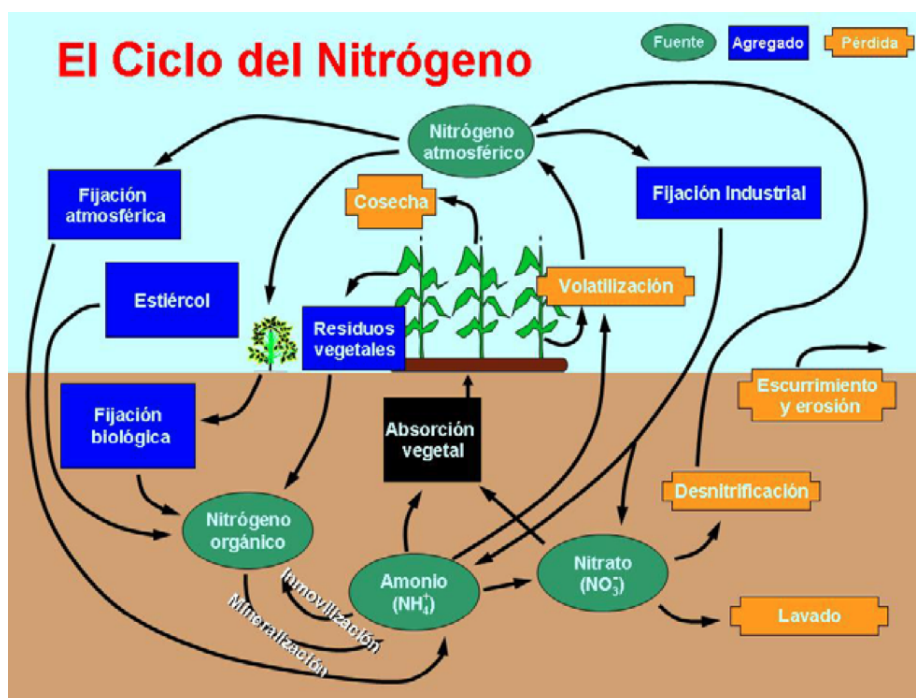


FIGURA 3.1: Ciclo del nitrógeno.

La concentración de nitrato presente en el agua que se infiltra en el suelo depende de

varios factores. Estos incluyen el tipo de fertilizante utilizado, así como la frecuencia, la cantidad y la forma en que se aplican los fertilizantes. Además, la concentración de nitrato en el agua de infiltración está influenciada por la presencia de nitrógeno orgánico o inorgánico ya existente en el suelo. Otros factores que afectan en esta concentración incluyen el nivel de permeabilidad del suelo, su grado de humedad y diversas características específicas del suelo [11].

3.1. Tecnologías para eliminar nitrato de las aguas subterráneas

El ion NO_3^- es altamente soluble y estable, lo que dificulta su eliminación de las aguas debido a su baja propensión a co-precipitar y absorberse. Esto conlleva la aplicación de tratamientos complejos y costosos para su remoción (Figura 3.2).

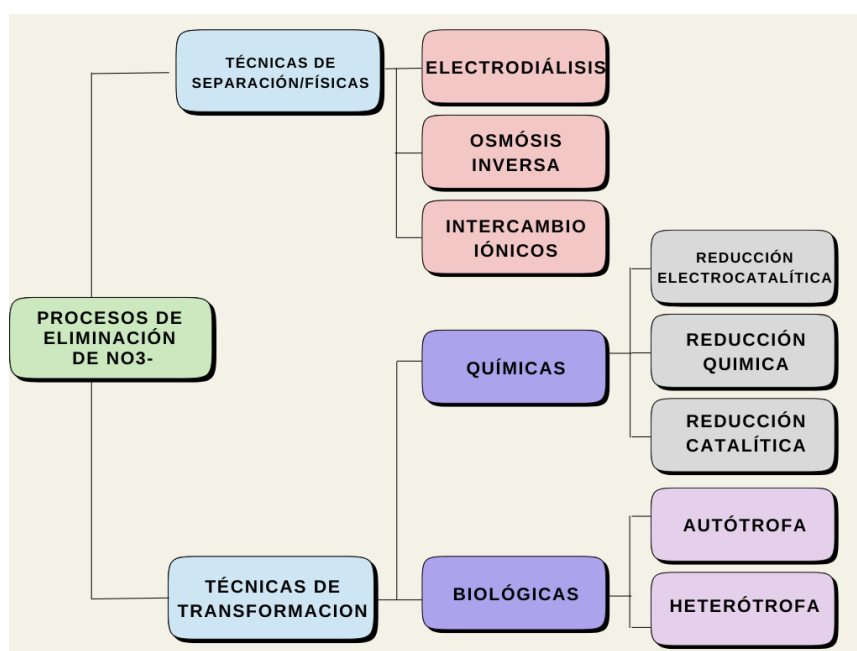


FIGURA 3.2: Procesos de eliminación de nitrato.

A continuación se describirán los métodos físicos, químicos y biológicos más frecuentemente usados para la eliminación del nitrato [14].

3.1.1. Métodos físicos

Entre los métodos físicos, destacan el intercambio iónico, la ósmosis inversa y la electrodiálisis. El proceso de intercambio iónico se basa en el uso de resinas aniónicas que son capaces de intercambiar iones cloruro y bicarbonato, de forma reversible, por el nitrato presente en el agua. El proceso de ósmosis inversa usa membranas selectivas que permiten el paso del agua, reteniendo el nitrato. Este proceso usa como fuerza impulsora un gradiente de presión [15]. En el proceso de electrodiálisis se usa una corriente eléctrica para promover la migración de los iones nitrato a través de una membrana, obteniéndose una corriente concentrada en dicha ion y otra corriente sin nitrato [16].

En un estudio reciente llevado a cabo por Abascal y colaboradores en 2022, se constató que un 55 % de las 75 instalaciones especializadas en el tratamiento del nitrato en aguas subterráneas empleaban una o más de las tecnologías mencionadas [17] [18]. No obstante, los sistemas que se basan en métodos físicos, dan lugar a la generación de una corriente concentrada en nitrato que representa entre el 15 % y el 30 % del caudal del agua tratada [19] [20]. Este efluente puede llegar a tener una concentración de nitrato hasta 5 veces mas elevada que que la del agua original. Esta situación implica la necesidad de implementar tratamientos adicionales con el fin de eliminar los nitratos de estas corrientes concentradas.

3.1.2. Métodos químicos

La reducción electrocatalítica implica transformar el ion nitrato en productos reducidos como nitrito, nitrógeno molecular o amonio, dependiendo de las condiciones experimentales mediante una reacción electroquímica en un electrodo que funciona como el ánodo de una celda de batería. El material del electrodo es crucial, ya que actúa como catalizador para acelerar esta reacción y determina qué productos se generan y en qué cantidad [21]. Reddy y Lin llevaron a cabo este proceso usando catalizadores a base de rodio y aplicando una corriente de baja intensidad. Los resultados obtenidos en dicho estudio mostraron que se alcanzaba una eliminación del 98 % del nitrato en un período de reacción de 6 horas. Este método se caracteriza por operar a un amplio rango de temperaturas y poseer un coste moderado. No obstante, es importante destacar algunas de sus principales limitaciones, que incluyen la necesidad de un control preciso de la operación, la posibilidad de contaminación de los catalizadores y la susceptibilidad del proceso a las condiciones ambientales [22].

Por otra parte, existen diversas metodologías de reducción química para la eliminación de nitrato en aguas usando hierro o aluminio. En el caso del hierro, la reducción requiere un entorno ligeramente ácido, pues los protones se consumen durante el proceso y el hierro se corroe lentamente durante la reducción del nitrato. Esto no serviría en condiciones cercanas a un pH neutro, pues la corrosión del hierro metálico es limitada, lo que conlleva a una eficiencia reducida en la eliminación del nitrato. Además, el pH constituye un parámetro crítico que influye en la cinética de eliminación del ion NO_3^- , siendo que el aumento de la alcalinidad intensifica la corrosión del hierro [23]. En entornos anóxicos se ha logrado la reducción completa del NO_3^- a NH_4^+ , además de la liberación de Fe^{+2} como consecuencia de la corrosión inducida por el ácido. Sin embargo, el uso de tratamientos químicos presenta desventajas. En primer lugar, tiene un impacto significativo en el medio ambiente y la vida acuática, ya que muchos de estos productos químicos pueden persistir en el entorno y acumularse en la cadena alimentaria, afectando los ecosistemas naturales y generando alteraciones fisiológicas y bioquímicas, además de efectos letales [24]. En segundo lugar, existe el riesgo de efectos secundarios en la salud humana debido a la exposición a estos productos, pues se ha demostrado que algunos químicos como el cloro, además de inactivar los patógenos, reaccionan con la materia orgánica disuelta en el agua, originando subproductos de desinfección, como compuestos orgánicos halogenados sintéticos, tales como los trihalometanos (THM). La exposición a trihalometanos y al ácido tricloroacético plantea un riesgo para la salud pública, ya que estudios toxicológicos han confirmado su rol en efectos cancerígenos, actividad espermatotóxica, daño en las funciones reproductoras y alteraciones en el desarrollo fetal dentro del útero, entre otros [25] [26].

Es crucial manejar estas sustancias con precaución y seguir rigurosamente las recomendaciones de seguridad para mitigar cualquier riesgo para la salud. Recientemente, ha surgido un gran interés por la eliminación del nitrato mediante reacciones catalíticas heterogéneas. Sin embargo, hasta la fecha, han sido escasos los estudios que han abordado el proceso de reducción catalítica con la finalidad de eliminar el NO_3^- presente en aguas contaminadas. Es importante señalar que una limitación inherente a este método es la formación de amoníaco como producto secundario [27] [28].

3.1.3. Métodos de desnitrificación biológica

Estos métodos demandan la interacción directa de microorganismos con el agua a ser tratada. En este contexto, la actividad de diversas enzimas posibilita la reducción de NO_3^- y NO_2^- a N_2 , empleando NO_3^- como aceptor de electrones [29].

En términos generales, los sistemas de naturaleza biológica ofrecen la ventaja de alcanzar eficiencias de eliminación del nitrato notablemente elevadas, superiores al 90 %. Además, se caracterizan por su sencilla operación y costos reducidos [18]. De hecho, el empleo de tecnologías basadas en la desnitrificación biológica resulta más económico en comparación con alternativas como la osmósis inversa o el intercambio iónico para la remoción de nitrato. En promedio, el costo asociado al tratamiento de agua contaminada con nitrato a través de procesos de desnitrificación biológica se sitúa en torno a 0,24 US\$/m³ contraste con los 0,60 US\$/m³ y 0,32 US\$/m³ que suponen los procesos de osmósis inversa e intercambio iónico, respectivamente [30]. Esta diferencia de costos hace que la desnitrificación biológica sea una alternativa económicamente atractiva para la eliminación eficiente de nitrato en el agua.

Dependiendo del tipo de donador de electrones que usen los microorganismos, se distinguen dos tipos de procesos desnitrificantes: heterótrofos y autótrofos. En el caso de la desnitrificación autótrofa, los microorganismos usan materia orgánica para reducir el nitrato mientras que, en la desnitrificación heterótrofa, el donador de electrones es un compuesto inorgánico (p.e. sulfuro, azufre o hidrógeno). La desnitrificación heterótrofa es un método comúnmente empleado para abordar la contaminación de agua con nitratos, ya que ofrece un desempeño confiable y ventajas económicas. La actividad de desnitrificación heterótrofa se ve influenciada por factores como la cantidad de carbono disponible, la concentración de nitrato, el pH, la temperatura ambiental y la presencia de oxígeno [31]. Dado que las aguas subterráneas no contienen apenas materia orgánica, es necesario agregarla para poder eliminar el nitrato. Esto implica un control preciso de la cantidad a adicionar con el fin de evitar una contaminación secundaria en las aguas subterráneas [32]. Este inconveniente no existe en el caso de la desnitrificación autótrofa con hidrógeno, dado que la baja solubilidad de éste evita su acumulación en el agua subterránea [33].

3.2. Desnitrificación hidrogenotrófica, una nueva solución

Es conocido que los procedimientos más comúnmente empleados para la eliminación de nitrato en aguas subterráneas dan lugar a una corriente de agua cuyo alto nivel de nitrato impide su posible vertido a aguas superficiales por lo cual requiere realizar gestión de la misma, incurriendo en notables costos operacionales. Es en

este contexto donde se inicia la investigación en torno a la desnitrificación hidrogenotrófica como una posible solución. Las bacterias que realizan la desnitrificación hidrogenotrófica corresponden a bacterias autótrofas anaerobias facultativas las cuales obtienen su energía mediante la transferencia de electrones. Las desnitrificantes que logran oxidar el hidrógeno son a menudo pertenecientes a la clase de *Proteo-bacteria* y la que más se ha estudiado ha sido la *Paracoccus denitrificans*. La desnitrificación hidrogenotrófica se ha empleado como una alternativa tecnológica a la desnitrificación heterótrofa en la remediación del agua contaminada con nitratos ya que presenta diversas ventajas respecto a esta: 1) genera menor cantidad de biomasa, lo que reduce los costos asociados a la gestión de lodos; 2) no necesita materia orgánica, por lo que se evitan posibles problemas de contaminación secundaria; 3) el hidrógeno no es tóxico y puede generarse in-situ mediante la electrólisis del agua, por lo que los sistemas de desnitrificación hidrogenotrófica pueden operar de forma descentralizada [7] [32]. Sin embargo, este proceso también conlleva ciertas desventajas pues el hidrógeno se caracteriza por ser poco soluble en agua y, además, por su alto potencial de explosión o inflamabilidad [7] [33]. Para mejorar la eficiencia de transferencia del gas a la fase líquida y además evitar explosiones, estudios han propuesto el uso de micro-burbujas dentro de reactores. Al ser burbujas de menor tamaño, tienen un mayor tiempo de retención, lo que genera una mayor eficiencia de transferencia del gas al agua en comparación con otras de mayor tamaño pues, hay un mayor tiempo de contacto entre el hidrógeno y el agua [32]. Estas micro-burbujas pueden generarse usando diferentes tecnologías como disolución presurizada, ultrasonidos, oscilación de fluidos y cavitación hidrodinámica. Un estudio muestra que el uso de difusores de micro-burbujas puede aumentar hasta seis veces la eficacia de aprovechamiento del hidrógeno suministrado [34].

3.3. Sistemas SBR

El reactor por lotes secuenciales (SBR) corresponde a una variante de los sistemas de lodos activados, y es una de las tecnologías más comunes para el tratamiento de aguas residuales. El SBR opera de forma discontinua y su uso es aconsejable solamente en el caso de que el caudal de agua a tratar sea bajo. Su funcionamiento se basa en la aplicación de ciclos operacionales consecutivos que constan de las siguientes etapas [35] (Figura 3.3) :

Llenado del reactor: En esta etapa se suministra el agua residual al sistema.

Reacción: En esta etapa, se procede a airear o a agitar el sistema para llevar a cabo los procesos biológicos aerobios y anaerobios, respectivamente, que eliminarán los contaminantes.

Reposo: Tiempo de espera entre el vaciado y el siguiente llenado del reactor.

Sedimentación: En esta etapa se detiene la aireación y/o la agitación dentro del reactor, de modo que los lodos y los sólidos suspendidos se asientan en el fondo de reactor y el efluente ya depurado quedará como sobrenadante separando los sólidos biológicos del agua tratada.

Vaciado: El agua tratada se descarga de manera segura hacia el medio ambiente o se somete a un postratamiento en caso de ser necesario [36].

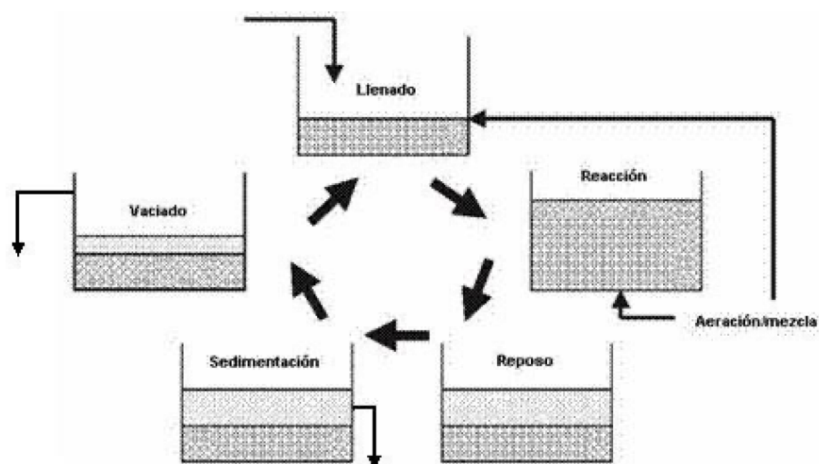


FIGURA 3.3: Esquema de etapas de un reactor biológico [37].

Capítulo 4

Metodología

Para este estudio, se realizaron cinéticas para evaluar la desnitrificación hidrogenotrófica utilizando diferentes concentraciones iniciales de nitrato (15, 30 y 45 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$) con el fin de evaluar las tasas de consumo de nitrato y nitrito bajo condiciones controladas. Además, se estudió el efecto de la presencia de nitrito sobre la desnitrificación hidrogenotrófica mediante la inclusión de reactores paralelos en los que, manteniendo constantes las condiciones de operación (temperatura, pH, agitación y dosis de biomasa), contengan diferentes concentraciones de nitrito inicial. Se llevaron a cabo 2 series de ensayos a concentraciones iniciales de 15 y 45 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$ y 4 series a una concentración inicial de 30 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$. Cada serie se realizó por triplicado. En primer lugar, se procedió a determinar la concentración de sólidos en suspensión del inóculo y se prepararon las disoluciones de reactivos necesarias para la medición de nitrito, nitrato y amonio. Se empleó, como inóculo, biomasa procedente del reactor aerobio de lodos activos que opera en la planta de tratamiento de La Farfana (Aguas Andinas). Estas mediciones se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro para determinar la absorbancia de cada muestra. Los datos obtenidos fueron utilizados para realizar las curvas de calibración específicas para cada componente analizado. Se emplearon lodos activados de tipo aerobio y se realizó la caracterización utilizando un protocolo con 6 repeticiones experimentales para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

4.1. Métodos Analíticos

4.1.1. Sólidos suspendidos totales (SST)

Fundamento

Los sólidos suspendidos totales (SST) fueron los obtenidos después de separar los sólidos mediante lavado de lodos y secado en una estufa que opere a 103-105 [°C]. Su cuantificación se realizó en base a lo establecido en el método 2540 D - Total Suspended Solids Dried at 103-105°C de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [38].

Equipos y materiales

- Pinzas
- Crisoles de porcelana para un volumen de 20 [mL].
- Estufa que opere en el rango de 103-105 [°C].

- Desecador conteniendo un desecante con indicador de coloreado de humedad (sílica gel).
- Balanza analítica de precisión 0,1 [mg].

Procedimiento

- Pesar crisol en la balanza analítica (peso A)
- Extraer una muestra conocida y someterla a centrifugación. Eliminar el sobrenadante seguido de la adición de 6 ml de agua destilada para lavar la muestra. Repetir esta operación 3 veces.
- Colocar la muestra dentro de un crisol limpio, seco y tarado y, luego, llevar a la estufa operando a 103 – 105 [°C], por un tiempo mínimo de 8 [h]. Retirar de la estufa y dejar enfriar en la desecadora. Pesar en una balanza analítica y chequear peso constante. Este valor constituye el Peso (B), en gramos.

Expresión de los resultados

Los Sólidos Suspendidos Totales (SST) se determinaron mediante la siguiente relación:

$$\text{SST} \left[\frac{\text{g}}{\text{L}} \right] = \frac{(\text{Peso B} - \text{Peso A}) [\text{g}]}{\text{Volumen de muestra} [\text{mL}]} \cdot \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}}$$

4.1.2. Sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Fundamento

La medida de los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) permitió determinar la fracción volátil de los lodos y, combinándola con la medida de los SST, también permitió determinar su fracción inorgánica. Su cuantificación se realizó en base a lo establecido en el método 2540 E - Fixed and Volatile Solids Ignited at 550 °C de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [38].

Equipos y materiales

- Pinzas
- Crisoles de porcelana para un volumen de 20 [mL].
- Estufa que opere en el rango de 103-105 [°C].
- Mufla que opere a 550 [°C]
- Desecador conteniendo un desecante con indicador de coloreado de humedad (sílica gel).
- Balanza analítica de precisión 0,1 [mg].

Procedimiento

- Pesar crisol en la balanza analítica (peso A)
- Extraer una muestra conocida y someterla a centrifugación. Eliminar el sobrenadante seguido de la adición de 6 ml de agua destilada para lavar la muestra. Repetir esta operación 3 veces.

- Colocar la muestra dentro de un crisol limpio, seco y tarado y, luego, llevar a la estufa operando a 103 – 105 [°C], por un tiempo mínimo de 8 [h]. Retirar de la estufa y dejar enfriar en la desecadora. Pesar en una balanza analítica y chequear peso constante. Este valor constituye el Peso (B), en gramos.
- Luego de obtener el Peso (B), colocar el crisol en la mufla e incinerar a 550°C durante 8 [h].
- Retirar el crisol de la mufla y dejar enfriar en desecadora. Pesar en una balanza analítica y chequear peso constante. Este valor constituye el Peso (C), en gramos.

Expresión de los resultados

Los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) se determinaron mediante la siguiente relación:

$$\text{SSV} \left[\frac{\text{g}}{\text{L}} \right] = \frac{(\text{Peso B} - \text{Peso C}) [\text{g}]}{\text{Volumen de muestra} [\text{mL}]} \cdot \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}}$$

4.1.3. Concentración de nitrito (NO_2^-)

Fundamento

La concentración de nitrito en las muestras analizadas se determinó siguiendo lo indicado en el método 4500- NO_2 -B, correspondiente al Método Colorimétrico de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [38]. En este procedimiento, el nitrito se mide a través de la formación de un compuesto de color fucsia, que se produce en un pH de 2,0-2,5 por la reacción de sulfanilamida diazotada (SFNA) con N-(1-naftil)-etilenamina dihidrocloruro (NED dihidroclorado). Este compuesto se cuantifica a una longitud de onda de 543 nm usando un espectrofotómetro UV-visible. El rango aplicable de este método para mediciones espectrofotométricas es de 0 a 1,0 mg N- NO_2^- /L.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro Shimadzu UV-1603, para uso a 543 [nm].
- Cubetas de espectrofotómetro de cuarzo o vidrio, de 1 [cm] de espesor.
- Centrífuga.
- Balanza analítica.
- Pipetas y micropipetas.
- Probetas.
- Matrices aforados.
- Vasos precipitados.
- Filtros de 0,45 μm de tamaño de poro.
- Tubos de ensayo.
- Reactivo NED.
- Reactivo SFNA.

- Solución patrón de nitrito de sodio (NaNO_2) de 10 $[\text{mg N-NO}_2^-/\text{L}]$

4.1.4. Preparación de reactivos

Reactivo NED

Disolver 0,5 [g] de N-(1-naftil)-etilendiamina diclorhidrato en 500 [mL] de agua destilada. La disolución se refrigera en botella de vidrio oscuro y se renueva en caso de haber decoloración.

Reactivo SFNA

Disolver 10 [g] de sulfanilamida cristalizada en 100 [mL] de HCl concentrado y 600 [mL] de agua destilada. Después de enfriar la disolución llevarla a 1 [L] con agua destilada. La disolución es estable durante varios meses, debe almacenarse en frasco ámbar y mantenerse en refrigeración a 4 ± 2 $^{\circ}\text{C}$.

Preparación de solución patrón de NaNO_2

Aforar 0,4926 [g] de NaNO_2 en 100 [mL] de agua destilada. Luego, tomar 1 [mL] de la solución anterior y aforar a 100 [mL]. Con esto, se obtiene una solución de NaNO_2 con una concentración final de 10 $[\text{mg N-NO}_2^-/\text{L}]$ (solución patrón).

Procedimiento

- Centrifugar y filtrar la muestra para eliminar sólidos suspendidos.
- Diluir la muestra (para que esta quede dentro del rango lineal del método).
- Agregar 2,5 [mL] de la muestra diluida en tubos de ensayo secos.
- Luego, agregar 0,1 [mL] de NED y 0,1 [mL] de SFNA.
- El blanco consiste en 2,5 [mL] de agua destilada y la misma cantidad de NED y SFNA.
- Tanto la muestra como el blanco se agitan y se mantienen a temperatura ambiente y se dejan reaccionar por 20 [min].
- Una vez transcurrido el tiempo de reacción, en el espectrofotómetro, se mide la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 543 [nm].

Preparación de la curva de calibrado: Se confecciona la curva de calibrado con la solución patrón de NaNO_2 preparada, realizando las diluciones correspondientes. Ajustando una regresión lineal a los resultados de las absorbancias obtenidas, se determina la curva de calibrado (Figura 4.1), la cual sigue la forma:

$$\text{Absorbancia } [-] = m \cdot \text{Concentración N-NO}_2^- [\text{mg/L}] + b$$

Donde:

- m : pendiente de la curva de calibrado.
- b : intercepto de la curva de calibrado.

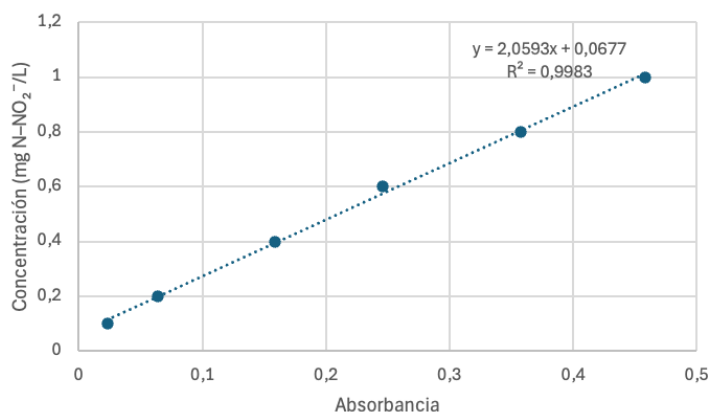


FIGURA 4.1: Curva de calibración de nitrato.

Expresión de resultados

La concentración del nitrógeno en forma de nitrato de las muestras se obtiene a partir de la curva de calibrado de la siguiente forma:

$$\text{Concentración N-NO}_3^- \text{ [mg/L]} = \frac{FD \cdot \text{Absorbancia} - b}{m}$$

Donde:

- m : pendiente de la curva de calibrado.
- b : intercepto de la curva de calibrado.
- FD : factor de dilución de la muestra analizada.

4.1.5. Concentración de nitrato (NO₃⁻)

Fundamento

La concentración de nitrato en las muestras analizadas se determinó utilizando el método 4500-NO₃-B, que corresponde al Método de Screening Ultravioletas por Espectrofotometría de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [38]. Este es un método de determinación directa que se basa en la absorción de luz ultravioleta por el ion nitrato a una longitud de onda de 220 nm. Dado que la materia orgánica también absorbe luz ultravioleta a 220 nm y 275 nm, mientras que el nitrato solo lo hace a 220 nm, se requiere una segunda medición a 275 nm para corregir los resultados obtenidos a 220 nm y eliminar las interferencias de la materia orgánica. El rango de aplicación de este método es de 0 a 4,0 mg N-NO₃⁻ /L.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro Shimadzu UV-1603, para uso a 543 [nm].
- Cubetas de espectrofotómetro de cuarzo o vidrio, de 1 [cm] de espesor.
- Centrífuga.
- Balanza analítica.

- Pipetas y micropipetas.
- Probetas.
- Matraces aforados.
- Vasos precipitados.
- Filtros de 0,45 μm de tamaño de poro.
- Tubos de ensayo.
- Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0,1 [M].
- Solución de ácido sulfámico (H_3NSO_3) 50 [g/L].
- Solución patrón de NaNO_3 de 100 [mg N- NO_3^- /L].

4.1.6. Preparación de reactivos

Solución de HCl 0,1 [N]

Disolver 3,64 [g] de ácido clorhídrico fumante 37 % p/p en agua destilada y aforar a 1 [L]

Solución de ácido sulfámico 50 [g/L]

Disolver 25 [g] de ácido sulfámico en agua destilada y aforar a 500 [mL].

Preparación de solución patrón de NaNO_3

Aforar 0,6068 [g] de NaNO_3 en 100 [mL] de agua destilada. Luego, tomar 10 [mL] de la solución anterior y aforar a 100 [mL]. Con esto, se obtiene una solución de NaNO_3 con una concentración final de 100 [mg N- NO_3^- /L] (solución patrón).

Procedimiento

- Centrifugar y filtrar la muestra para eliminar sólidos suspendidos.
- Diluir la muestra (para que esta quede dentro del rango lineal del método).
- Agregar 5 [mL] de la muestra diluida en tubos de ensayo secos.
- Luego, agregar 0,1 [mL] de HCl 0,1 [N] y 1 [mL] de la solución de ácido sulfámico 50 [g/L].
- El blanco consiste en 5 [mL] de agua destilada y la misma cantidad de HCl 0,1 [N] y ácido sulfámico.
- Tanto la muestra como el blanco se agitan utilizando un vórtex, se mantienen a temperatura ambiente y se dejan reaccionar por 10 [min].
- Una vez transcurrido el tiempo de reacción, en el espectrofotómetro, se mide la absorbancia de la muestra a las longitudes de onda 220 [nm] y 275 [nm].

Preparación de la curva de calibrado: Se confecciona la curva de calibrado con la solución patrón de NaNO_3 preparada, realizando las diluciones correspondientes. Ajustando una regresión lineal a los resultados de las absorbancias obtenidas, se determina la curva de calibrado (Figura 4.2), la cual sigue la forma:

$$\text{Ajuste } [-] = m \cdot \text{Concentración N-NO}_3^- [\text{mg/L}] + b$$

Donde:

- Ajuste: es la diferencia entre la Absorbancia a 200 nm y la Absorbancia a 275 nm.
- m : pendiente de la curva de calibrado.
- b : intercepto de la curva de calibrado.

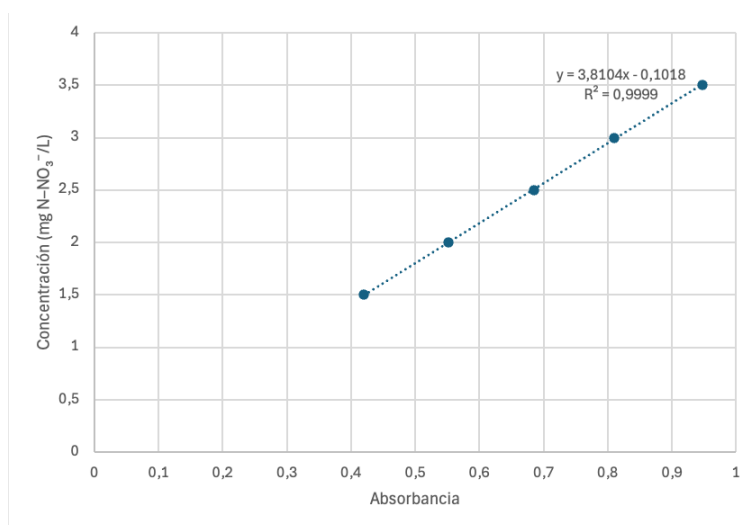


FIGURA 4.2: Curva de calibración de nitrato.

Expresión de resultados

$$\text{Concentración N-NO}_3^- [\text{mg/L}] = \frac{FD \cdot [(\text{Absorbancia a 220 nm} - \text{Absorbancia a 275 nm}) - b]}{m}$$

Donde:

- m : pendiente de la curva de calibrado.
- b : intercepto de la curva de calibrado.
- FD : factor de dilución de la muestra analizada.

4.1.7. Concentración de amonio (NH₄⁺)

Fundamento

La concentración de amonio en las muestras analizadas se determinó utilizando el método 4500-NH₃ F, conocido como Método Fenato, de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [38]. Este procedimiento se basa en la formación de un compuesto de color azul, denominado indofenol, que se genera a partir de la reacción entre el ion amonio, el ion hipoclorito y el fenol, catalizada por el nitroprusiato de sodio en un medio alcalino. La medición del indofenol se realiza a una

longitud de onda de 640 nm utilizando un espectrofotómetro UV-visible. El rango aplicable para este método es de 0 a 1,0 mg N-NH₄⁺/L.

Equipos y materiales

- Espectrofotómetro Shimadzu UV-1603, para uso a 543 [nm].
- Cubetas de espectrofotómetro de cuarzo o vidrio, de 1 [cm] de espesor.
- Centrífuga.
- Balanza analítica.
- Pipetas y micropipetas.
- Probetas.
- Matraces aforados.
- Vasos precipitados.
- Filtros de 0,45 µm de tamaño de poro.
- Tubos de ensayo.
- Solución de fenol.
- Solución nitroprusiato de sodio.
- Solución de citrato alcalino.
- Solución de hipoclorito de sodio.
- Solución oxidante.
- Solución patrón de cloruro de amonio (NH₄Cl) de 10 [mg N-NH₄⁺/L].

4.1.8. Preparación de reactivos

Solución de fenol

Mezclar 11,1 [mL] de fenol licuado ($\geq 89\%$) con alcohol etílico 95 % v/v hasta completar un volumen final de 100 [mL]. Preparar semanalmente.

Solución de nitroprusiato de sodio 0,5 % p/v

Disolver 0,5 [g] de nitroprusiato de sodio (C₅N₆OFe) en 100 [mL] de agua destilada.

Solución de citrato alcalino

Disolver 200 [g] de citrato trisódico (Na₃C₆H₅O₇) y 10 [g] de hidróxido de sodio (NaOH) en agua destilada y aforar a 1 [L].

Solución de hipoclorito de sodio

Usar una solución comercial de hipoclorito de sodio, con un 5 % p/p aproximado

Solución oxidante

Mezclar 100 [mL] de solución de citrato alcalino con 25 [mL] de la solución de hipoclorito de sodio comercial. Preparar de manera diaria.

Preparación de solución patrón de NH_4Cl

Aforar 0,3821 [g] de NH_4Cl en 100 [mL] de agua destilada. Luego, tomar 1 [mL] de la solución anterior y aforar a 100 [mL]. Con esto, se obtiene una solución de NH_4Cl con una concentración final de 10 [mg N- NH_4^+ /L] (solución patrón).

Procedimiento

- Centrifugar y filtrar la muestra para eliminar sólidos suspendidos.
- Diluir la muestra (para que esta quede dentro del rango lineal del método).
- Agregar 2,5 [mL] de la muestra diluida en tubos de ensayo secos.
- Luego, agregar 0,1 [mL] de solución de fenol, 0,1 [mL] de solución de nitroprusiato de sodio y 0,25 [mL] de solución oxidante.
- El blanco consiste en 2,5 [mL] de agua destilada y la misma cantidad de solución de fenol, solución de nitroprusiato de sodio y de solución oxidante.
- Tanto la muestra como el blanco se agitan utilizando un vórtex, se mantienen a temperatura ambiente y se dejan reaccionar por 1 [h].
- Una vez culminado el tiempo de reacción, en el espectrofotómetro se mide la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 640 [nm].

Preparación de la curva de calibrado: Se confecciona la curva de calibrado con la solución patrón de NH_4Cl preparada, realizando las diluciones correspondientes. Ajustando una regresión lineal a los resultados de las absorbancias obtenidas, se determina la curva de calibrado (Figura 4.3), la cual sigue la forma:

$$\text{Absorbancia } [-] = m \cdot \text{Concentración N-}\text{NH}_4^+ \text{ [mg/L]} + b$$

Donde:

- m : pendiente de la curva de calibrado.
- b : intercepto de la curva de calibrado.

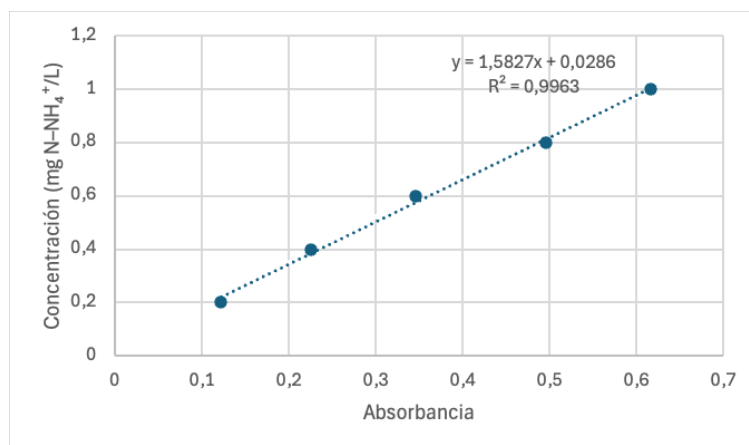


FIGURA 4.3: Curva de calibración de amonio.

Expresión de resultados

La concentración de nitrógeno amoniacal de las muestras se obtiene a partir de la curva de calibrado de la siguiente forma:

$$\text{Concentración N-NH}_4^+ [\text{mg/L}] = FD \cdot \frac{(\text{Absorbancia} - b)}{m}$$

Donde:

- m : pendiente de la curva de calibrado.
- b : intercepto de la curva de calibrado.
- FD : factor de dilución de la muestra analizada.

4.2. Preparación de los ensayos cinéticos

Con el lodo previamente caracterizado, se procedió a la conformación de cinco reactores discontinuos (Figura 4.4). Cada uno con un volumen útil de 400 ml destinado al acondicionamiento ambiental del lodo. La preparación de estos reactores incluyó la incorporación de lodos activados, trazas de elementos necesarios, tampones fosfato, nitrito y bicarbonato, componentes esenciales para el desarrollo experimental.

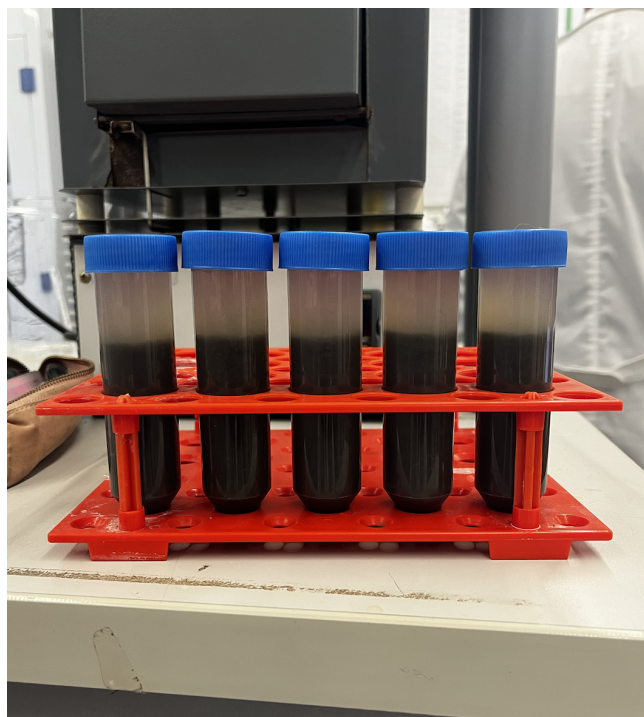


FIGURA 4.4: Muestras realizadas para cada reactor.

Además, se añadió nitrato en forma de nitrato de sodio, con una dosis de 5,48 mg por reactor, equivalente a 2,26 mg de nitrógeno (aclimatación). La relación carbono/nitrógeno (C/N) fue establecida en 4:1, por lo cual se agregaron 25,288 mg de carbono por botella, correspondiente a 9,03 mg de carbono. Finalmente, se incorporaron 200 ml de tampón fosfato y 1 ml de trazas, completando así la formulación de los reactores discontinuos (Cuadros 4.1 y 4.2).

Parámetros operacionales	
pH	7,5
Regulación pH	Tampón fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$)
Relación C/N	4:1 (Mínimo requerido 0,2 desde 0,5 hasta 7,45 mg C/mg N- NO_3)
Concentración inicial de lodo	0,5 g SSV/L
Temperatura	30 °C
Fuente de carbono inorgánico	Bicarbonato de sodio
Velocidad de agitación	200 rpm

CUADRO 4.1: Resumen parámetros operacionales definidos.

Componente	Compuesto utilizado	Concentración (por litro)	Volumen de trabajo (por 0,4 L)
Nitrógeno (como NO_3^-)	Nitrato de sodio (NaNO_3)	13,7 g/L	5,48 mg
Carbono (como C)	Bicarbonato de sodio (NaHCO_3)	63,22 mg/L	25,29 mg
Buffer fosfato (pH 7,5)	KH_2PO_4 / K_2HPO_4	1 mL tampón 0,1 M	—
Trazas	MgCl_2 , CaCl_2 , FeSO_4 , ZnCl_2 , MnSO_4 , CuCl_2 , Na_2MoO_4 , NiCl_2 , H_3BO_3	1 mL por litro	0,4 mL

CUADRO 4.2: Componentes utilizados y sus concentraciones en la preparación de soluciones.

4.3. Ensayos cinéticos

Cada uno de los reactores discontinuos está equipado con tres salidas para facilitar la toma de muestras y el suministro de hidrógeno. La primera salida está sellada con un tapón diseñado para regular la presión interna del reactor, asegurando condiciones estables durante todo el proceso experimental. La segunda salida está conectada a una jeringa, permitiendo la extracción periódica de muestras para análisis y, la tercera salida fue diseñada para la adición constante de hidrógeno al reactor (Figura 4.5). Este proceso de adición es controlado y continuo, asegurando condiciones ideales para las reacciones específicas que se investigan en el estudio.

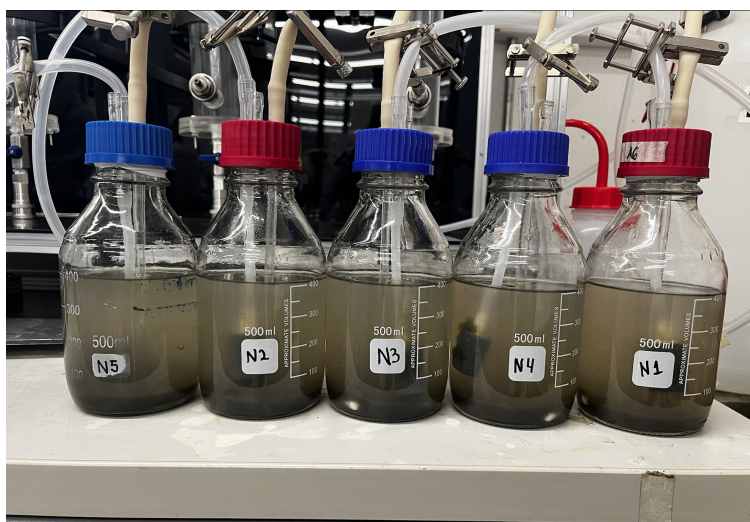


FIGURA 4.5: Reactores previos a su puesta en marcha.

4.3.1. Puesta en marcha

Cada uno de los reactores fue ubicado dentro de una batea conteniendo agua, diseñada para mantener una temperatura estable de 30 °C (Figura 4.6). La regulación térmica del agua se realizó mediante un termociclador específico para agua, donde las mangueras actuaron como conductos térmicos, asegurando una distribución uniforme de la temperatura alrededor de los reactores.

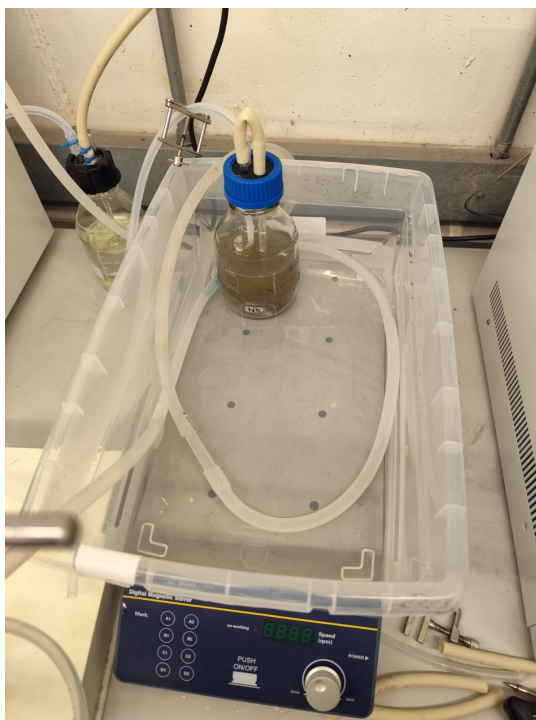


FIGURA 4.6: Posicionamiento de los reactores dentro de las bateas, sobre el agitador magnético.

Dentro de cada reactor se colocó un sensor Macherey-Nagel nano, instrumento clave para la monitorización precisa de parámetros durante el experimento. La batea con los reactores fue posicionada sobre un agitador magnético, garantizando un movimiento constante dentro de cada reactor. Este agitador magnético contribuyó a mantener una distribución homogénea de los componentes y a promover las condiciones ideales para las reacciones en curso.

Esta configuración experimental no solo aseguró condiciones ambientales controladas y estables, sino que también facilitó la recolección de datos precisos y la realización de mediciones continuas.

Para el suministro de hidrógeno, se utilizó un generador de hidrógeno gaseoso PEM QL-500, capaz de proporcionar hasta 500 mL/min de H_2 . Este equipo está equipado con un controlador de presión que ajusta la salida de H_2 entre 0,02 y 0,40 MPa. La línea de suministro de H_2 está compuesta por tubing que es impermeable al hidrógeno, una válvula de corte de bola y una válvula de supresión de llama con antirretorno integrado. Además, se emplea un manifold para distribuir el hidrógeno según las necesidades del proceso.

4.3.2. Desarrollo de las cinéticas

Se llevó a cabo un periodo de aclimatación o pre-acondicionamiento de 49 días en total. A partir del día 24, las botellas de control cesaron el proceso de desnitrificación, y desde entonces, solo se realizaron reposiciones para mantener constante el nivel de nitrato que contenían. A partir del día 49 se comenzaron a realizar series de ensayos cinéticos por triplicado, partiendo por los de concentración inicial de 15 ppm, seguidos por los de 30 ppm y 45 ppm. Finalmente, se realizaron dos series de ensayos adicionales a una concentración inicial de 30 ppm (Cuadro 4.3).

Concentración inicial	Serie	Número de muestras	Duración (h)
15 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética I	5	8
15 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética II	5	8
30 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética I	5	8
30 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética II	5	8
30 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética III	9	168
30 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética IV	7	53
45 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética I	6	46
45 mg N-NO ₃ ⁻ /L	Cinética II	6	73,5

CUADRO 4.3: Detalle de muestras por cinética.

Cada experimento fue realizado en triplicado, lo que permitió identificar tendencias generales y variaciones puntuales entre reactores. A partir de los perfiles de concentración de nitrato y nitrito se obtuvieron las tasas de consumo de estos compuestos. Esto permitió determinar cuál es la etapa cinética limitante de la desnitrificación hidrogenotrófica, lo cual es de suma importancia al momento de dimensionar un reactor para llevar a cabo este proceso a escala real.

Capítulo 5

Resultados y análisis

A continuación se muestran los perfiles de concentración de nitrato, nitrito y nitrógeno total para los ensayos realizados (Figuras 5.1–5.4). A partir de estos datos se obtuvieron las velocidades de consumo de nitrato y nitrito, considerando concentraciones iniciales de 15, 30 y 45 mg N-NO₃⁻ /L (Cuadro 5.1).

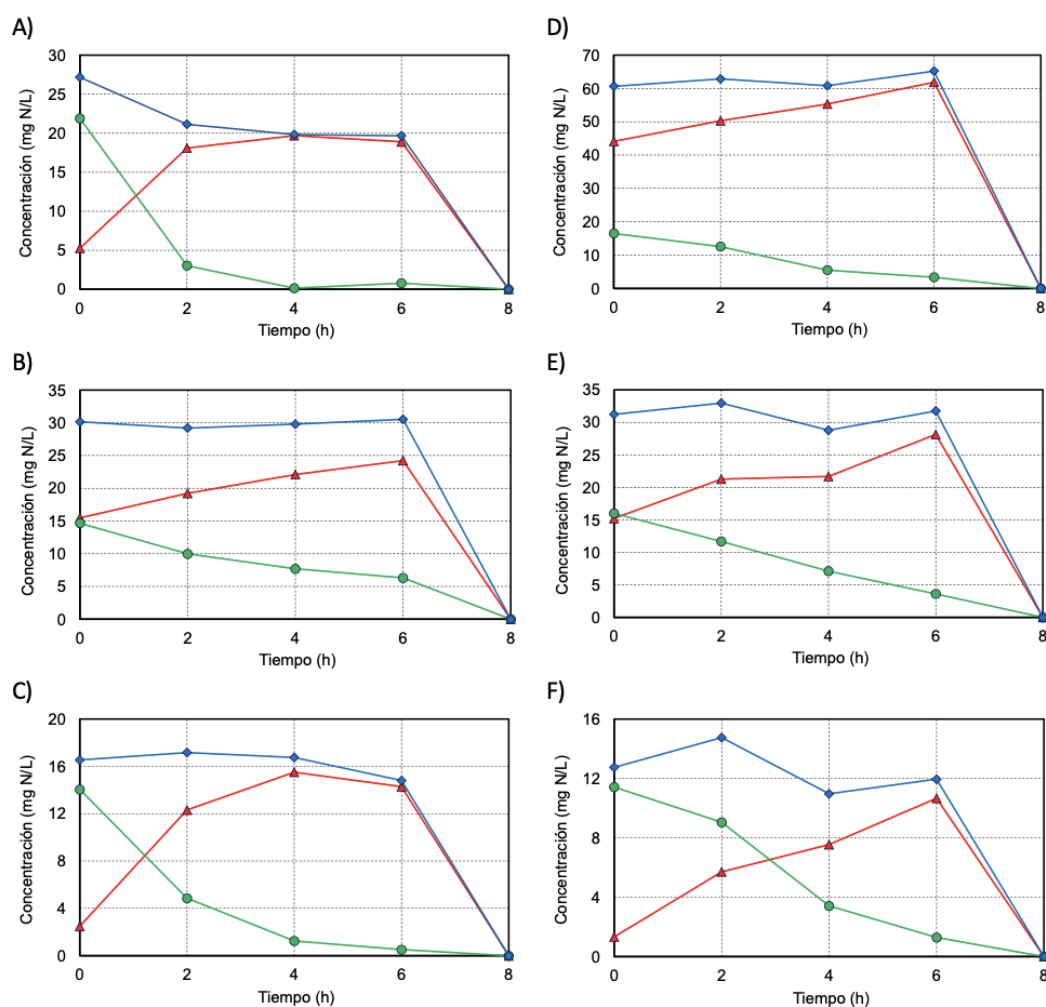


FIGURA 5.1: Ensayos realizados a una concentración inicial de 15 mg N-NO₃⁻ /L: Cinéticas I (A, B, C) y II (D, E, F) (● nitrato; ▲ nitrito; ◆ nitrógeno total).

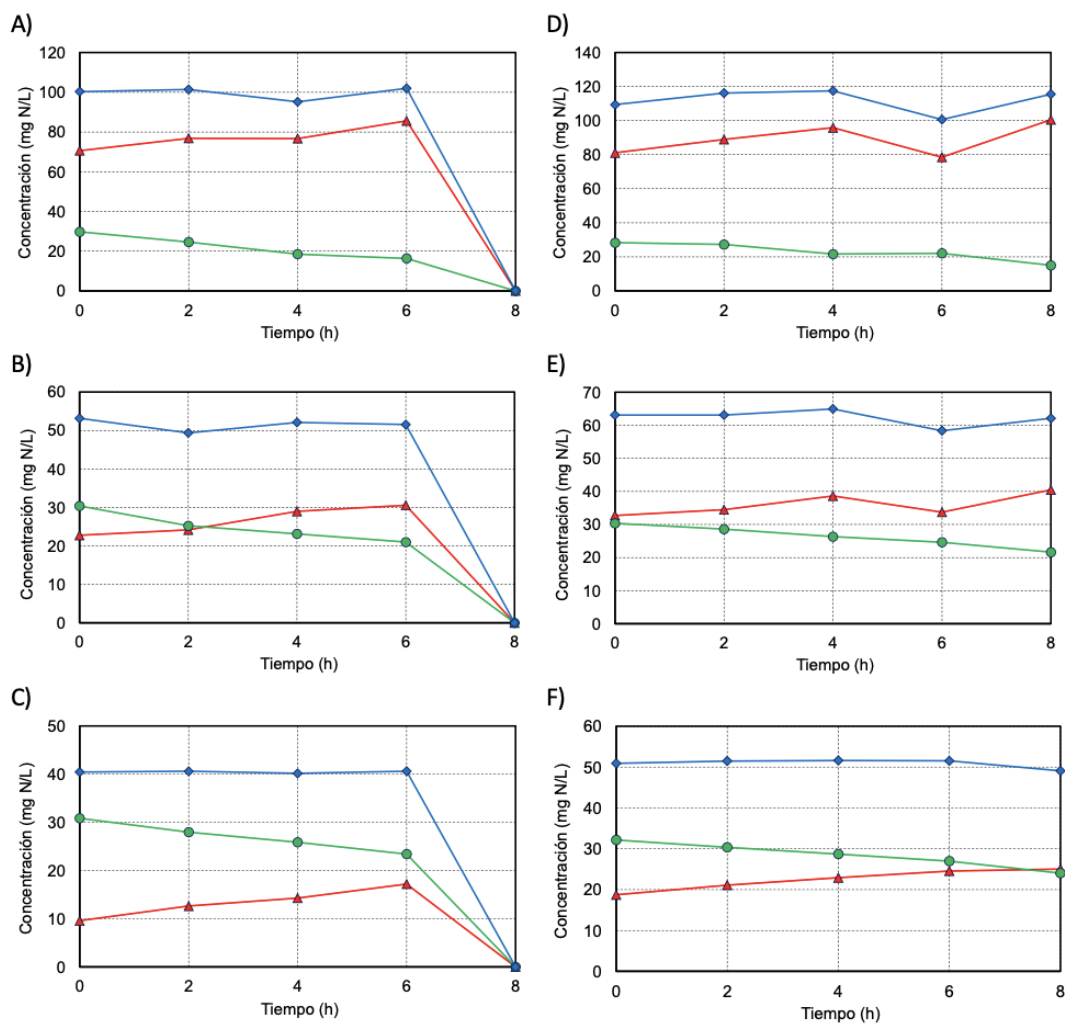


FIGURA 5.2: Ensayos realizados a una concentración inicial de 30 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$: Cinéticas I (A, B, C) y II (D, E, F) (● nitrato; ▲ nitrito; ◆ nitrógeno total).

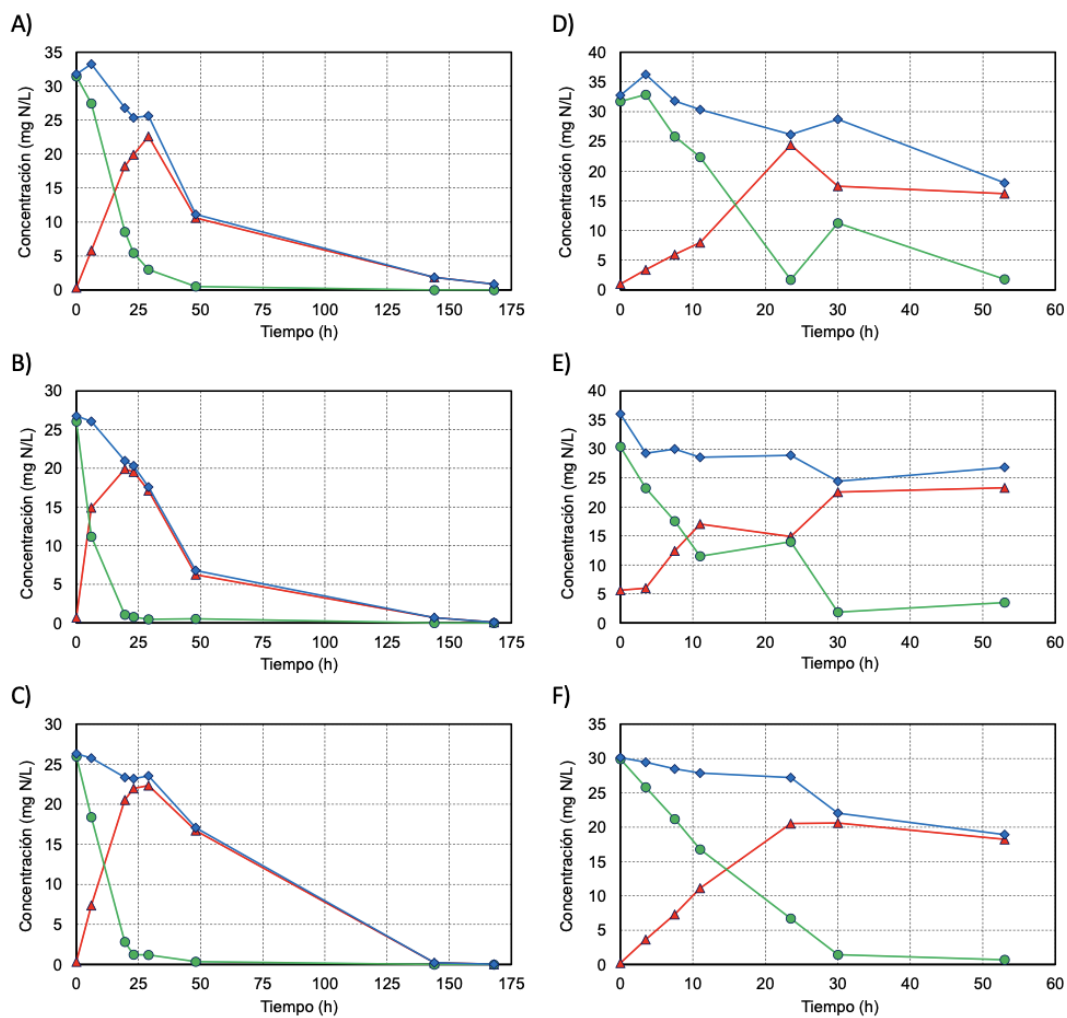


FIGURA 5.3: Ensayos realizados a una concentración inicial de 30 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$: Cinéticas III (A, B, C) y IV (D, E, F) (● nitrato; ▲ nitrito; ◆ nitrógeno total).

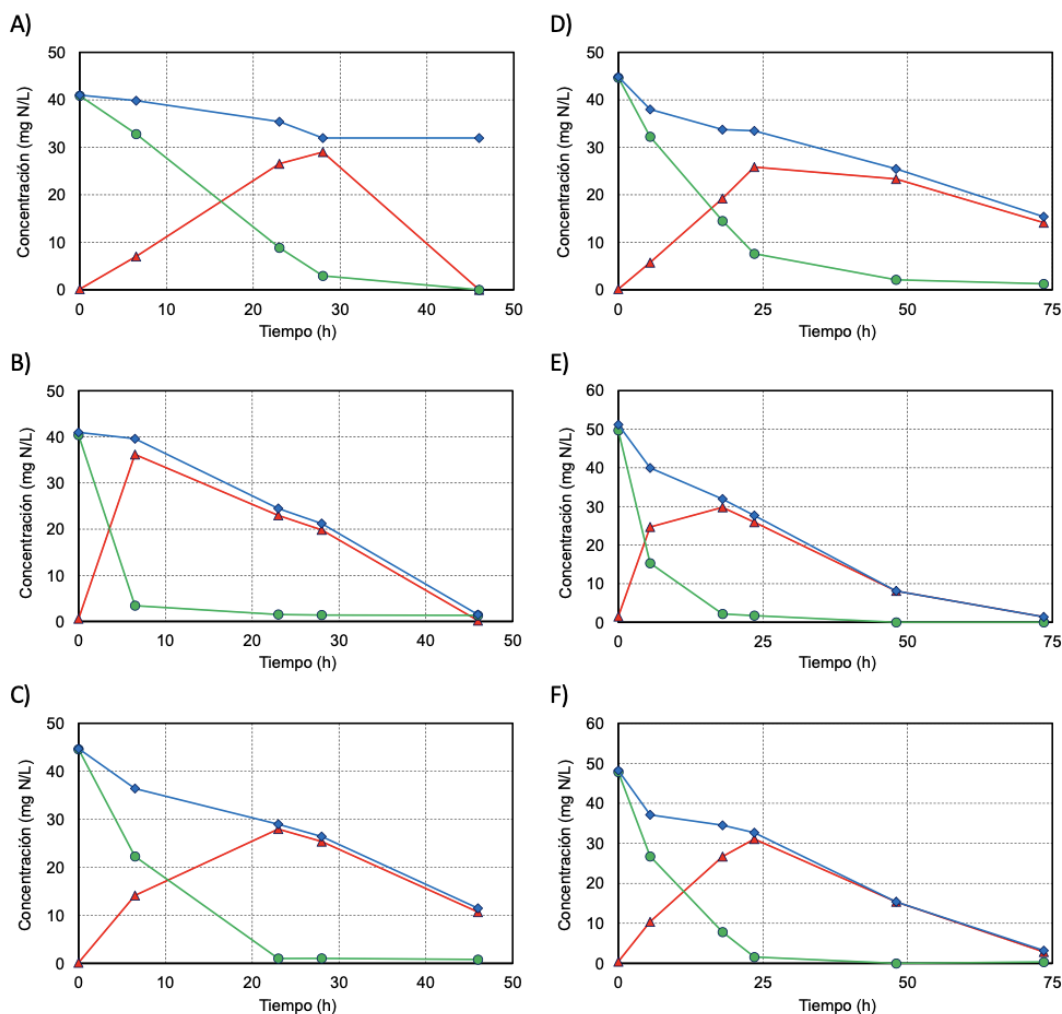


FIGURA 5.4: Ensayos realizados a una concentración inicial de 45 mg N-NO₃⁻/L: Cinéticas I (A, B, C) y II (D, E, F) (● nitrato; ▲ nitrito; ◆ nitrógeno total).

En el cuadro 5.1 se presenta un resumen de los principales parámetros cinéticos obtenidos para cada condición de concentración inicial de nitrato (15, 30 y 45 mg N-NO₃⁻/L). Se incluyen los valores promedio y la desviación estándar de las velocidades de consumo de nitrato y nitrito, así como la relación entre la velocidad de consumo.

[NO ₃ ⁻] inicial (mg N/L)	Velocidad de consumo NO ₃ ⁻ (mg N/L·h)	Velocidad de consumo NO ₂ ⁻ (mg N/L·h)	Relación de velocidades NO ₃ ⁻ / NO ₂ ⁻
15	2,051 ± 0,564	0,144 ± 0,211	14,20
30	1,378 ± 0,424	0,200 ± 0,106	6,89
45	1,911 ± 0,439	0,697 ± 0,223	2,74

CUADRO 5.1: Velocidades promedio de consumo de nitrato y nitrito, y su relación, para distintas concentraciones iniciales de nitrato.

La tasa de consumo de nitrito aumentó a medida que la concentración inicial de nitrato fue más alta mientras que la tasa de consumo de nitrato no mostró diferencias significativas (Figura 5.5 La tasa de consumo de nitrito fue siempre menor que la de

nitrito lo que indica que la reducción de nitrito es la etapa que limita cinéticamente la desnitrificación hidrogenotrófica. En todo caso, a medida que se aumentó la concentración de nitrato, este desbalance entre las tasas de consumo de nitrato y nitrito fue disminuyendo. En el caso de los ensayos llevados a cabo con una concentración inicial de $30 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$, los correspondientes a las Cinéticas I y II fueron realizados a distintas concentraciones iniciales de nitrito, que variaron entre 9,58 y $81,07 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L}$. A pesar de ello, las velocidades de consumo de nitrato observadas fueron similares por lo que se puede inferir que el nitrito no ejerce ningún efecto inhibitorio sobre el proceso en el rango de concentraciones ensayadas.

Las cinéticas I y II, realizadas con una concentración inicial de $30 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$, presentaron niveles iniciales de nitrito más altos que las cinéticas III y IV. Sin embargo, la diferencia más relevante entre estas series fue la baja velocidad de consumo de nitrito observada en la cinética I, ya que en la cinética II, a pesar de tener concentraciones similares, se alcanzaron tasas más altas (Figura 5.5). Este comportamiento no puede explicarse únicamente por la presencia de nitrito, por lo que se considera que el historial experimental del sistema, particularmente la exposición previa a una carga mayor de nitrato ($45 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$), podría haber inducido una respuesta adaptativa en la comunidad microbiana, favoreciendo una mayor eficiencia en la reducción de nitrito en las cinéticas posteriores [39].

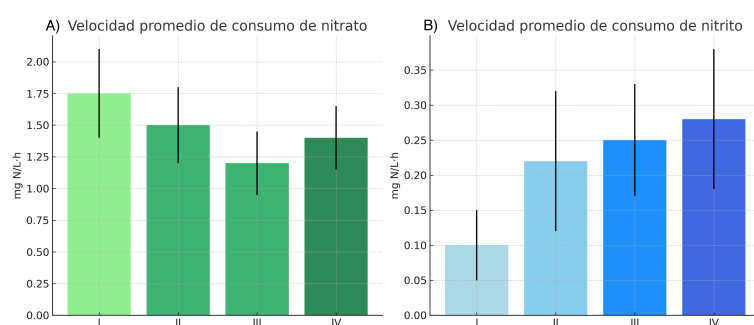


FIGURA 5.5: Velocidad de consumo de nitrato (A) y nitrito (B) determinadas a partir de las distintas series de ensayos realizadas a concentraciones iniciales de $30 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$.

De los datos obtenidos de la tercera repetición de la cinética III realizada a una concentración inicial de $30 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$, se logró determinar la constante de afinidad (K_s) para el nitrato obteniéndose valores entre 1,45 y $1,89 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$ aproximadamente. Valores bajos de K_s , como los observados, reflejan una alta afinidad: las bacterias desnitrificantes presentes fueron capaces de mantener tasas apreciables de consumo incluso en condiciones de baja disponibilidad de nitrato.

Esta observación sugiere que el consorcio microbiano estaba funcionalmente adaptado al entorno experimental, posiblemente como resultado de su exposición previa a condiciones de alta carga nitrogenada. Aunque no se realizó un análisis específico de expresión génica ni de composición microbiana, este comportamiento es coherente con lo descrito en la literatura respecto al incremento en la eficiencia de captación de sustrato tras procesos de aclimatación [40].

Con el fin de que el agua tratada tenga calidad potable, la máxima concentración de nitrato y nitrito que debe tener es de $11,3 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}$ y $1 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L}$, respectivamente. Si considera que las cinéticas de consumo de ambos compuestos son de orden cero, se puede calcular el tiempo de residencia hidráulico (TRH) al que

se tendría que operar un reactor de mezcla completa para que pueda cumplir con cada uno de estos criterios mediante balances de materia al nitrato y al nitrito:

$$\text{TRH}_{\text{NO}_3^-} = \frac{[\text{N-NO}_3^-]_{\text{entrada}} - [\text{N-NO}_3^-]_{\text{límite permitido}}}{-r_{\text{NO}_3^-}}$$

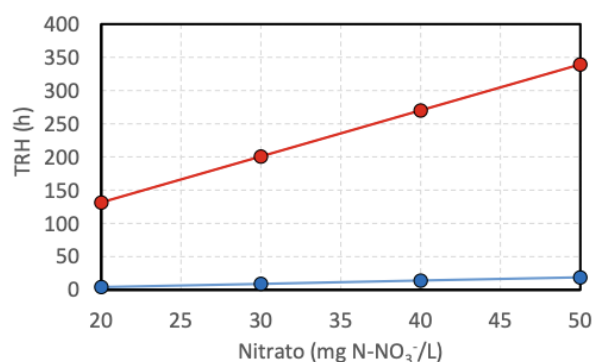
$$\text{TRH}_{\text{NO}_2^-} = \frac{[\text{N-NO}_3^-]_{\text{entrada}} - [\text{N-NO}_2^-]_{\text{límite permitido}}}{-r_{\text{NO}_2^-}}$$

donde $\text{TRH}_{\text{NO}_3^-}$ y $\text{TRH}_{\text{NO}_2^-}$ son los TRH necesarios cumplir con los criterios de concentración de nitrato y nitrito establecidos por la normativa (h); $[\text{N-NO}_3^-]_{\text{entrada}}$ es la concentración de nitrato del agua subterránea a ser tratada (mg N- NO_3^- /L); $[\text{N-NO}_3^-]_{\text{límite permitido}}$ y $[\text{N-NO}_2^-]_{\text{límite permitido}}$ son la concentración de nitrato y nitrito máximas permitidas en agua potable, respectivamente (mg N- NO_3^- /L y mg N- NO_2^- /L); $(-r_{\text{NO}_3^-})$ y $(-r_{\text{NO}_2^-})$ es la velocidad de consumo de nitrato y nitrito, respectivamente (mg N- NO_3^- /L·h y mg N- NO_2^- /L·h).

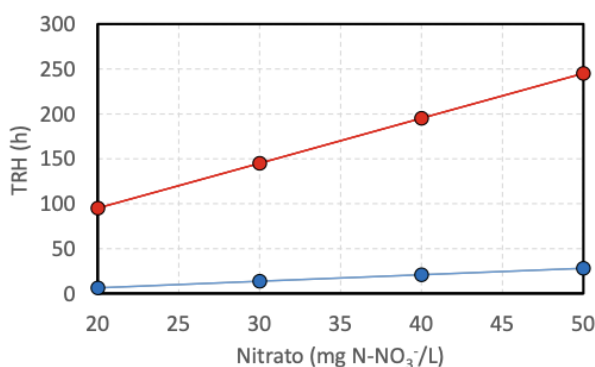
Este cálculo se hizo considerando las velocidades de consumo promedio obtenidas para los ensayos realizados a 15, 30 y 45 mg N- NO_3^- /L (Figura 5.6). Como se puede observar, la concentración de nitrito es el parámetro a tener en cuenta al momento de dimensionar el sistema de tratamiento dado que el TRH requerido para cumplir la normativa respecto a este compuesto siempre es mayor que el necesario para alcanzar el límite establecido para nitrato. Este resultado es lógico debido tanto a la menor velocidad consumo como al menor límite permitido en el agua potable del NO_2^- respecto al NO_3^- . Los valores de la relación $\text{TRH}_{\text{NO}_3^-} / \text{TRH}_{\text{NO}_2^-}$ están en un intervalo 3,72 a 31,02 para los casos analizados. Esta relación aumenta a medida que la concentración de nitrato del agua subterránea a tratar disminuye.

El estudio realizado por Vasiliadou et al. presenta condiciones operacionales similares a las empleadas en este trabajo, lo que permite utilizarlo como referencia comparativa. En dicho experimento, se utilizó CO_2 como fuente de carbono, un pH más bajo (6,4–7,0) y concentraciones de N- NO_3^- que variaron entre 7 y 201,7 mg/L. Aunque existen algunas diferencias metodológicas, ambos trabajos comparten un rango de concentración de nitrato parcialmente coincidente y condiciones de temperatura comparables, lo que justifica la comparación de sus resultados cinéticos.

A)



B)



C)

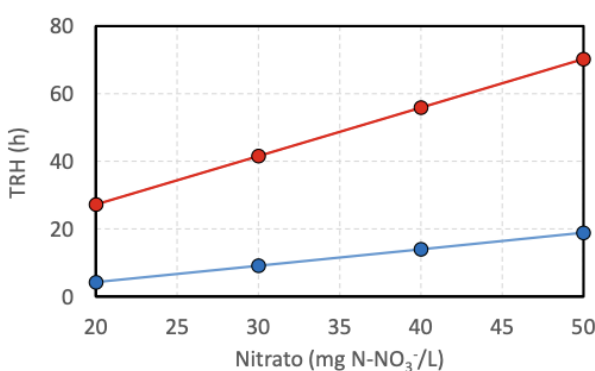


FIGURA 5.6: TRH necesario para que un sistema de tratamiento de mezcla completa logre cumplir con los criterios de concentración de nitrato (●) y nitrito (●) establecidos para agua potable, en función de la concentración de nitrato del agua subterránea a tratar. Los cálculos se realizaron usando las cinéticas de consumo obtenidas a partir de los ensayos llevados a cabo con concentraciones iniciales de nitrato de 15 (A), 30 (B) y 45 (C) mg N-NO₃⁻.

En cuanto a la tasa máxima de consumo de nitrato, el estudio de Vasiliadou et al. (2006) reporta un valor de 3,17 mg N-NO₃⁻ /L·h, mientras que en este trabajo se alcanzó una tasa máxima de 2,75 mg N-NO₃⁻ /L·h. Adicionalmente, otros estudios sobre desnitrificación hidrogenotrófica reportaron tasas dentro de un rango comparable. Por ejemplo, Mansell y Schroeder (2002) reportaron valores entre 2,7 y 5,3 mg N-NO₃⁻ /L·h en sistemas con membranas, y Rezania et al. (2005) observaron tasas de hasta 6,5 mg N-NO₃⁻ /L·h en biorreactores SBR operando con cultivos mixtos.

Estos antecedentes permiten afirmar que la actividad cinética obtenida en este estudio se encuentra dentro del rango superior de desempeño típico para consorcios microbianos mixtos en condiciones hidrogenotróficas [41]. Respecto a la constante de afinidad (K_s), Vasiliadou et al. reportaron un valor de 28,6 mg N- NO_3^- /L, mientras que en este trabajo en la cinética 30-III se determinó un valor significativamente menor (1,45 a 1,89 mg N- NO_3^- /L). Este valor de K_s es comparable con los valores de 1-4 mg/L obtenidos por Seok et al. (2005) en sistemas aclimatados, lo que indica una alta afinidad de las bacterias hidrogenotróficas por el nitrato [42][43] [44].

En el presente estudio, a pesar de los bajos valores de K_s estimados (1,45–1,89 mg N- NO_3^- /L), se observó una acumulación intermedia de nitrito en ciertas cinéticas, a diferencia del estudio de Vasiliadou et al. (2006), donde no se detectó acumulación significativa de este intermediario. Esta divergencia puede explicarse por diferencias en las condiciones experimentales: mientras Vasiliadou utilizó CO_2 como la fuente de carbono pues, el uso de bicarbonato (HCO_3^-) en lugar de CO_2 puede modificar el equilibrio ácido-base y afectar la disponibilidad de carbono disuelto, lo cual influye en la eficiencia metabólica del consorcio microbiano además, Vasiliadou utilizó un pH entre 6,4–7,0, en este trabajo se utilizó un tampón a pH 7,5, más alcalino el cual puede afectar negativamente la actividad de la nitrito reductasa. Por otro lado, pueden influir factores como la composición microbiana y el grado de aclimatación progresiva de la biomasa [44].

Por otro lado, en el estudio de Chen et al. (2016), se analizaron diversos factores que afectan la eficiencia del proceso de desnitrificación hidrogenotrófica, incluyendo el efecto de la carga de nitrato, el pH, la concentración de biomasa y temperatura. En el estudio, se evaluó experimentalmente el efecto del pH sobre la eficiencia de desnitrificación, concluyendo que el intervalo óptimo se encuentra entre 6,0 y 7,0. Fuera de este rango, se observaron efectos adversos significativos como la acumulación de nitrito (Cuadro 5.2). En particular a un pH 9,0, por ejemplo, se registró una acumulación de 1,92 mg N- NO_2^- /L, atribuida a la inhibición de la actividad de la enzima nitrito reductasa. Este hallazgo resalta la importancia del pH en la eficiencia del proceso. Por tanto, mantener el pH en el rango óptimo de 6,0–7,0, como el observado en dicho estudio, podría ser una estrategia preventiva útil en futuros diseños para evitar acumulaciones similares [45].

pH	Remoción de NO_3^- (%)	Acumulación de NO_2^- (mg N/L)
6,0	99,1	0,05
6,5	99,0	0,08
7,0	98,9	0,10
7,5	93,5	0,75
8,0	89,2	1,10
9,0	62,3	1,92

CUADRO 5.2: Efecto del pH sobre la remoción de nitrato y acumulación de nitrito según Chen et al. (2016) [45].

El trabajo de Ghafari et al. (2010) evaluó la desnitrificación hidrogenotrófica en un reactor SBR, enfocado en la optimización de las condiciones de operación mediante diseño experimental. En particular, se analizaron el pH y la dosis de bicarbonato

de sodio como factores críticos, encontrando que las condiciones óptimas correspondían a pH 8,0 y 1100 mg/L de NaHCO_3 , valores con los que se logró una completa eliminación de nitrato sin acumulación significativa de nitrito. Este resultado contrasta con lo reportado en otros estudios y revisiones, donde pH superiores a 7,6 suelen estar asociados a acumulación de nitrito por inhibición parcial de la nitrito reductasa. En este sentido, el hallazgo de Ghafari resulta llamativamente alto respecto a los pH óptimos más conservadores que predominan en la literatura especializada (Figura 5.7). Lo más probable es que este resultado se deba a condiciones experimentales muy controladas, como una frecuencia alta de renovación de hidrógeno, y una biomasa bien aclimatada, que en conjunto permitieron mitigar los efectos normalmente negativos de un pH elevado [46].

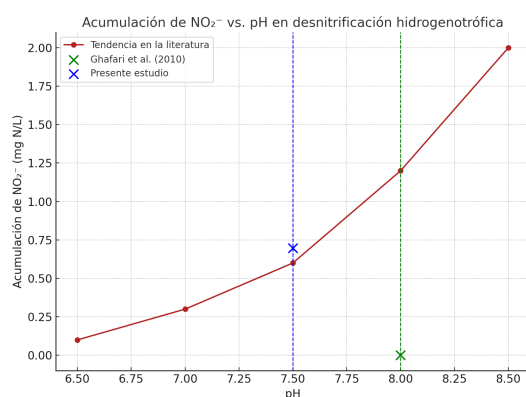


FIGURA 5.7: Comparación de comportamiento de Acumulación de NO_2^- vs. pH en desnitrificación hidrogenotrófica [45] [46] .

Capítulo 6

Conclusiones

Mediante un proceso de aclimatación es posible promover la actividad desnitrificante hidrogenotrófica de biomasa procedente del sistema de lodos activos de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas con el fin de poder usarlo como inóculo en sistemas de eliminación del nitrato presente en aguas subterráneas.

Considerando los límites de concentración de nitrato y nitrito establecidos por la normativa, la aplicación del proceso de desnitrificación hidrogenotrófica para obtener agua potable podría modelarse usando cinéticas de consumo de orden cero para ambos compuestos.

Bajo las condiciones ensayadas, la reducción de nitrito a nitrógeno molecular es la etapa que limita cinéticamente la desnitrificación hidrogenotrófica. Esto implica que el dimensionamiento de un reactor que trate aguas subterráneas con nitrato, con el fin de obtener un efluente que tenga calidad para consumo humano, se debe realizar en función de la velocidad de consumo de nitrito, y no de la de nitrato.

En base a los ensayos realizados con distintas concentraciones iniciales de nitrito, no se espera que la acumulación de este compuesto cause una disminución de la velocidad de consumo de nitrato durante el tratamiento de las aguas subterráneas.

Bibliografía

- [1] S. Jiménez and J. Wainer. *Serie informe económico. Realidad del agua en Chile: ¿Escasez o falta de infraestructura?* ISSN 0717-1536, 2017.
- [2] Andrés Ortega-Ballesteros, Francisco Iturriaga-Bustos, Alberto-Jesus Perea-Moreno, and David Muñoz-Rodríguez. Advanced pressure management for sustainable leakage reduction and service optimization: A case study in central chile. *Sustainability*, 14(19), 2022.
- [3] Samantha Kuzma, Liz Saccoccia, and Marlena Chertock. 25 countries, housing one-quarter of the population, face extremely high water stress. *World Resources Institute (WRI)*, 2023.
- [4] Samantha Kuzma, Liz Saccoccia, and Marlena Chertock. Escasez hídrica en chile: Desafíos de un futuro con menos agua. *Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia (CR2)*, 2023.
- [5] OCDE. Evaluación del desempeño ambiental de la ocde: Chile 2024. *Ministerio del Medio Ambiente de Chile*, 2024.
- [6] Departamento de Conservación y Protección de Recursos Hídricos Ministerio de Obras Públicas, Dirección General de Aguas. Minuta dcprh no. 12: Estudio de la relación entre concentraciones de nitrato y el nivel de agua subterránea en fuentes apr, regiones de coquimbo a los lagos (2014–2020) chile. In *Dirección General de Aguas*, 2021.
- [7] Tatsuru Kamei, Yuya Tsutsumi, Suphatchai Rujakom, Rawintra Eamrat, and Futaba Kazama. Hydrogenotrophic denitrification for treatment of nitrate-contaminated groundwater: Using a microbubble diffuser to optimize performance. *Journal of Water Process Engineering*, 55, 2023. En prensa o sin paginación.
- [8] Zhihao Bi, Quan Zhang, Xijun Xu, Yuan Yuan, Nanqi Ren, Duu-Jong Lee, and Chuan Chen. Perspective on inorganic electron donor-mediated biological denitrification process for low c/n wastewaters. In *Bioresource Technology*, volume 363, 2022. En prensa o sin paginación.
- [9] Instituto Nacional de Normalización (INN). Nch 409: Calidad del agua – agua potable – requisitos. <https://ciperchile.cl/pdfs/11-2013/norovirus/NCh409.pdf>, 2005. Norma Chilena oficial.
- [10] Minnesota Department of Health. Nitrato en el agua potable. <https://www.health.state.mn.us/communities/environment/water/docs/factsheet/nitratespan.pdf>, 2021. Hoja informativa sobre nitratos en español.
- [11] Constantino Miguel-Fernández and Yaniel M. Vázquez-Taset. Origen de los nitratos (NO_3) y nitritos (NO_2) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas. In *Minería y Geología*, volume 22, page 9, 2006.

- [12] Mateo Londoño Pereira and Briana Davahiva Gómez Ramírez. Nitratos y nitritos, la doble cara de la moneda. *Universidad de Antioquia – Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, pages 110–119, 2020.
- [13] W. Adam Sigler and Jim Bauder. Nitrato y nitrito. *Montana State University Extension*, 2012. Publicado originalmente en 2012, PDF distribuido por MSU Extension.
- [14] P. Bogovski and S. Bogovski. Animal species in which n-nitroso compounds induce cancer. In *International Journal of Cancer*, volume 27, pages 471–474, 1981.
- [15] Agua Pura Vida. Ósmosis inversa: Qué es, para qué sirve y su proceso. *Blog Agua Pura Vida*, 2023.
- [16] Anoop Kapoor and T. Viraraghavan. Nitrate removal from drinking water—review. *Journal of Environmental Engineering*, 123(4):371–380, 1997.
- [17] Mehrdad Bastani and Thomas Harter. Source area management practices as remediation tool to address groundwater nitrate pollution in drinking supply wells. *Journal of Contaminant Hydrology*, 226:103521, 2019.
- [18] E. Abascal, L. Gómez-Coma, I. Ortiz, and A. Ortiz. Global diagnosis of nitrate pollution in groundwater and review of removal technologies. *Science of The Total Environment*, 810:152233, 2022.
- [19] Rachel C. Scholes, Michael A. Vega, Jonathan O. Sharp, and David L. Sedlak. Nitrate removal from reverse osmosis concentrate in pilot-scale open-water unit process wetlands. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 7(3):650–661, 2021.
- [20] Mohamed Belkacem, Saida Bekhti, and Kenza Bensadok. Groundwater treatment by reverse osmosis. *Desalination*, 206(1):100–106, 2007. EuroMed 2006.
- [21] Universidad de Alicante, Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI). Eliminación de nitratos en aguas contaminadas mediante reducción electrolítica. <https://innoua.ua.es/es/3423/eliminacion-de-nitratos-en-aguas-contaminadas-mediante-reduccion-electrolitica-pdf>, 2011.
- [22] Katta J. Reddy and Jianping Lin. Nitrate removal from groundwater using catalytic reduction. *Water Research*, 34(3):995–1001, 2000.
- [23] Xinhua Xu, Hongyi Zhou, and Mi Zhou. Catalytic amination and dechlorination of para-nitrochlorobenzene (p-ncb) in water over palladium-iron bimetallic catalyst. *Chemosphere*, 62(5):847–852, 2006.
- [24] R. A. Smith, R. B. Alexander, and M. G. Wolman. Water-quality trends in the nation’s rivers. *Science of The Total Environment*, 120:129–152, 1992.
- [25] Cristina Olmedo. Subproductos de la desinfección del agua. Documento técnico, 2008. Consultado el 18 de julio de 2025.
- [26] R. Torrealba, C. Gómez, G. Rangel, I. Bravo, C. Padrón, and C. Soto. Desinfección de aguas: Aspectos químicos, sanitarios y ambientales. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 24(11):563–582, 2007. Consultado el 18 de julio de 2025.

- [27] Noelia Barrabés and Jacinto Sá. Catalytic nitrate removal from water, past, present and future perspectives. *Applied Catalysis B: Environmental*, 104(1):1–5, 2011.
- [28] Amisando. Ventajas y desventajas de tratamientos químicos vs. barreras físicas. Sitio web, 2021. Consultado el 18 de julio de 2025.
- [29] Larry W. Canter. *Nitrates in Groundwater*. Routledge, 1997.
- [30] Vivian B. Jensen, Jeannie L. Darby, Chad Seidel, and Craig Gorman. Nitrate in potable water supplies: Alternative management strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(20):2203–2286, 2014.
- [31] Guillermo Rosell, Atilio Osorio, Florencia Gutiérrez Boem, Orlando Ernst, and Federico García. Emisión de óxido nitroso, nitrificación, desnitrificación y mineralización de nitrógeno durante el cultivo del arroz en dos suelos de uruguay. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(2):129–137, 2021.
- [32] J. W. Lee, K. H. Lee, K. Y. Park, and S. K. Maeng. Hydrogenotrophic denitrification in a packed bed reactor: Effects of hydrogen-to-water flow rate ratio. *Bioresource Technology*, 101(11):3940–3946, 2010.
- [33] Subrajit Bosu, Natarajan Rajamohan, Manivasagan Rajasimman, Nitin Raut, and Yasser Vasseghian. Hydrogen based membrane bioreactor for environmental remediation of pollutants: Review on applications and mechanism. *International Journal of Hydrogen Energy*, 48(17):6546–6559, 2023. The hydrogen-based catalyst for degradation of hazardous pollutants.
- [34] Rawintra Eamrat, Yuya Tsutsumi, Tatsuru Kamei, Wilawan Khanitchaidecha, Tsukasa Ito, and Futaba Kazama. Microbubble application to enhance hydrogenotrophic denitrification for groundwater treatment. *The Environment and Natural Resources Journal*, 18:156–165, 2020.
- [35] United States Environmental Protection Agency. Wastewater technology fact sheet: Sequencing batch reactors. EPA, 1999. EPA Fact Sheet, Office of Water, EPA 832-F-99-073.
- [36] Madrid Fundación para el Crecimiento. Reactores biológicos secuenciales (sbr): Una tecnología versátil para el tratamiento de aguas residuales industriales. *Boletín Técnico*, 2006. Fuente institucional sin más detalles.
- [37] P. Lorenzo. Contaminación de aguas por nitratos, 2006. Consultado el 25 de julio de 2025.
- [38] APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, Washington, D.C., 20th edition, 1999.
- [39] Andrés Mora, Mercedes Arauzo, and Carlos Segovia-Martínez. Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: ph effect on inhibition and nitrite accumulation. *Water Research*, 36(15):4095–4102, 2002.
- [40] Rubén Moreno, Maria T. Moreira, Gumersindo Feijoo, Jorge B. Mena, Xavier Gabarrell, Joan Rieradevall, and Rafael Aldaco. Methodological approach for including seasonal water stress and water scarcity in water-related life cycle impact assessment. *Science of The Total Environment*, 857:159419, 2023.

- [41] V. Mateju, S. Cizinska, J. Krejci, and T. Janoch. Biological water denitrification — a review. *Chemical Engineering Journal*, 115(1–2):225–246, 2006.
- [42] Barbara O. Mansell and Edward D. Schroeder. Hydrogenotrophic denitrification in a microporous membrane bioreactor. *Water Research*, 36(18):4683–4689, 2002.
- [43] Seung-Jun Seok, Seok-Young Oh, Woojin Lee, and Jong Moon Park. Microbial adaptation in hydrogenotrophic denitrification systems. *Environmental Technology*, 26(12):1317–1326, 2005.
- [44] Ioanna A. Vasiliadou, Stavros Pavlou, and Dionissios V. Vayenas. Hydrogenotrophic denitrification of potable water: A review. *Process Biochemistry*, 41(7):1401–1408, 2006.
- [45] Dan Chen, Kai Yang, and Hongyu Wang. Effects of important factors on hydrogen-based autotrophic denitrification in a bioreactor. *Desalination and Water Treatment*, 57(8):3482–3488, 2016.
- [46] Shahin Ghafari, Masitah Hasan, and Mohamed Kheireddine Aroua. A kinetic study of autohydrogenotrophic denitrification at the optimum ph and sodium bicarbonate dose. *Bioresource Technology*, 101(7):2236–2242, 2010.