



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA APLICADA**

**“ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES
EXPERIMENTALES EN LA
IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO
BIOELECTROQUÍMICO PARA EL
TRATAMIENTO DE NITRATOS PRESENTES
EN AGUAS”**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

“MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA”

**PRESENTA
QFB. RUBY BRENES ALCÁNTARA**

**DIRECTOR DE TESIS
DRA. MARÍA DEL ROSARIO RUIZ
GUERRERO**



Tepetitla de Lardizabal, Enero de 2011.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Tepetitla de L. siendo las 12 horas del día 10 del mes de diciembre del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIBA para examinar la tesis de titulada:

ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES EXPERIMENTALES EN LA IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO BIOELECTROQUÍMICO PARA EL TRATAMIENTO DE NITRATOS PRESENTES EN AGUAS

Presentada por el alumno:

Brenes
Apellido paterno

Alcántara
Apellido materno

Ruby
Nombre(s)

Con registro:

B	0	8	1	1	0	6
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

La Maestría en Biotecnología Aplicada

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron ***SU APROBACIÓN DE LA TESIS***, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director de tesis

Dra. María del Rosario Ruiz Guerrero

Dra. Myrna Solís Oba



Dr. Eric López y López

Dr. Arturo Cadena Ramírez

Dr. Martín Gómez Hernández

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Alma Leticia Martínez Ayala



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Tepetitla, Tlaxcala el día 14 del mes Diciembre del año 2010, el (la) que suscribe Ruby Brenes Alcántara alumno (a) del Programa de Maestría en Biotecnología Aplicada con número de registro B081106, adscrito a CIBA-Tlaxcala, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. María del Rosario Ruiz Guerrero y cede los derechos del trabajo intitulado

**“ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES EXPERIMENTALES EN LA
IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO BIOELECTROQUÍMICO PARA EL
TRATAMIENTO DE NITRATOS PRESENTES EN AGUAS”**

al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección maruizg@ipn.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Atentamente.


QFB RUBY BRENES ALCÁNTARA

AGRADECIMIENTOS.

A Dios por las bondades que de Él recibo todos los días y que me han permitido llegar a esta etapa de mi vida.

A los Fondos Mixtos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (FOMIX-CONACyT) por el financiamiento otorgado para la realización del presente proyecto (clave 77298).

De forma muy particular a la Dra. Margarita Teutli por su valiosa colaboración y apoyo incondicional para la realización de la determinación de metales pesados en muestras de agua.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. María del Rosario Ruiz Guerrero por confiar en una servidora para la realización de tan importante proyecto y por enseñarme que no existen barreras que una buena actitud no pueda superar.

A todas las personas que me permitieron llevar a cabo el muestreo de pozos en las comunidades visitadas, entre ellos Srita Mónica del Ayuntamiento de Tonantzintla, el Ing. Huitzil del Sistema Operador de Aguas de San Pedro Cholula, Wilfrido Neri Rivera de San Felipe Teotlalcingo, Don Amado Pérez de San Buenaventura Tecaltzingo, QFB José Luís Amador Pacheco, QFB Jorge Pérez Ibarra de Huejotzingo y Lupita Méndez de San Cristóbal Tepatlaxco.

DEDICATORIAS.

A mis padres Rafael Brenes y Lombard y Rubí Alcántara Cordero, por el gran apoyo que a lo largo de mi vida me han brindado, por la motivación que día a día me dan y por el inagotable amor que me tienen, porque me han enseñado que no hay imposibles y que lo que me propongo lo puedo lograr. Mil gracias por ser mi ejemplo a seguir. Los amo papitos.

A mis pequeños amores, mis sobrinitos Rafita, Edgarcito, Rodriguito y Mildred y en especial al angelito que Dios me ha mandado.

A mis hermanos Rafa y Edgar, los quiero mucho y que siempre mantengamos la unión familiar que nuestros padres nos enseñaron.

A la familia que tanto quiero Rosa María, Jose Luis, Silvia, Víctor, Daniel, Blanca, Víctor Hugo, Rodrigo, Tere y Rosalba.

De forma muy especial a ti Carlos, por ser parte importante de mi vida, por tu amor y apoyo incondicional, porque siempre estás presente aunque lejos estés y porque sabes como motivarme para sacar lo mejor de mí.

CONTENIDO

	Pag.
INDICE DE FIGURAS	iv
INDICE DE TABLAS.	ix
GLOSARIO	xi
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 Panorama del Agua en México	8
2.2 Contaminación del Agua.	9
2.3 Efectos del nitrato en la salud.	14
2.4 Situación hidrológica y contaminación de las aguas subterráneas en Puebla.	16
2.5 Tratamiento de agua y métodos de purificación.	19
2.6 Métodos de eliminación de nitrógeno.	20
2.6.1 Desnitrificación biológica.	20
2.6.1.1 Microbiología de la Desnitrificación	21
2.6.1.2. Bioquímica de la Desnitrificación.	22
2.6.2. Desnitrificación Bioelectroquímica.	24
2.6.2.1. Teoría de la desnitrificación en bioreactores bioelectroquímicos.	25
2.7. Avances sobre desnitrificación biológica.	26
2.8 Avances sobre desnitrificación bioelectroquímica.	30
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	35
3.1 JUSTIFICACIÓN	36
3.2 OBJETIVOS	37
CAPÍTULO 4. ESTUDIO DE LA CALIDAD DE AGUAS EN EL ACUÍFERO VALLE DE PUEBLA	38
4.1 EVOLUCION DE LA CONCENTRACION DE NITRATO PRESENTE EN EL ACUIFERO VALLE DE PUEBLA.	39

4.2 ANALISIS DE LA CONCENTRACION DE METALES PESADOS EN EL ACUIFERO VALLE DE PUEBLA.	57
CAPÍTULO 5. IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMA BIOLÓGICO	81
5.1 METODOLOGÍA.	82
5.1.1 Descripción de Bioreactor.	83
5.1.2 Inoculación del bioreactor.	84
5.1.3 Medios de cultivo y relaciones carbono nitrógeno (C/N) para la adaptación del inóculo.	85
5.1.4. Adaptación del inóculo con relación C/N= 0.33	86
5.1.5 Adaptación del inóculo con relación C/N= 1.2	86
5.1.6 Crecimiento de biomasa en cultivo por lote con relación C/N de 1.8 y 6.	87
5.1.7 Crecimiento de biomasa en cultivo continuo con relación C/N de 6 y 1.8.	87
5.1.8 Cinética de consumo de nitrato.	88
5.1.9 Cambio de carga de nitrógeno con relación C/N=1.8 en cultivo continuo.	89
5.2 RESULTADOS.	89
5.2.1 Adaptación del inóculo con relación C/N= 0.33	90
5.2.2 Adaptación del inóculo con relación C/N= 1.2	91
5.2.3 Crecimiento de biomasa.	93
5.2.3.1 Crecimiento de biomasa en cultivo por lote con relación C/N de 1.8 y 6.	94
5.2.3.2 Crecimiento de biomasa en cultivo continuo con relación C/N de 6.	94
5.2.3.3 Crecimiento de biomasa en cultivo continuo con C/N de 1.8.	96
5.2.4 Cinética de consumo de nitrato.	97
5.2.5 Cambio de carga de nitrógeno con relación C/N=1.8 en cultivo continuo.	99
5.3 CONCLUSIONES.	100

CAPÍTULO 6. IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO BIOELECTROQUÍMICO	101
6.1 METODOLOGÍA.	102
6.1.1 Descripción del bioreactor electroquímico.	102
6.1.2 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato sin aplicación de potencial eléctrico (CSP).	104
6.1.3 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 100 mA (CCP).	105
6.1.4 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 10 mA (CCP2).	106
6.2 RESULTADOS.	107
6.2.1. Cinética sin aplicación de potencial eléctrico (CSP)	107
6.2.2 Cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 100 mA (CCP).	110
6.2.3 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 10 mA (CCP2).	113
6.3 CONCLUSIONES.	117
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES GENERALES	119
PERSPECTIVAS Y TRABAJO FUTURO.	121
BIBLIOGRAFÍA.	124

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 2.1	Ciclo del Nitrógeno.
	12
Figura 2.2.	Consumo aparente de fertilizantes en México.
	14
Figura 2.3.	Estructura y reacción general de formación de nitrosaminas.
	15
Figura 2.4	Distribución porcentual de las defunciones por tumores malignos para cada sexo en el periodo 2006-2007.
	15
Figura 2.5.	Conversión de metahemoglobina a hemoglobina a través de la enzima metahemoglobina reductasa.
	16
Figura 2.6.	Localización del Acuífero Valle de Puebla.
	17
Figura 2.7.	Superficie del acuífero Valle de Puebla dedicada a la agricultura de riego.
	18
Figura 2.8	Comparación de procesos asimilativos y desasimilativos para la reducción de nitrato.
	22
Figura 1.	Concentración de nitrato en aguas superficiales.
	43
Figura 2.	Localización del Acuífero Valle de Puebla. Sitios de muestreo 1.-Calpan. 2.-San Felipe Teotlalcingo. 3.-San Martín Texmelucan. 4.-Coronango. 5.-Huejotzingo. 6.-San Pedro Cholula. 7.-San Andrés Cholula. 8.-Puebla.
	45
Figura 3.	Promedio anual pH y conductividad en pozos monitoreados.
	48
Figura 4.	Concentración promedio anual de N-NO_3^- por pozo monitoreado.
	49
Figura 5.	Concentración promedio anual de N-NO_3^- por Municipio.
	49
Figura 6.	Isolíneas de concentración de nitrato ($\text{mg N-NO}_3^-/\text{L}$) en el agua subterránea de 8 municipios del Acuífero Valle de Puebla.
	50

Figura 7.	Concentración mensual de nitrato en pozos afectados por precipitación pluvial. A.- Calpan y San Felipe Teotlalzingo. B.- Huejo 4, Huejo 5 y San Martín 3. C.- San Andrés 1 y San Pedro Cholula. D.-Huejo1 y San Martín 2.	52
Figura 8.	Concentración mensual de nitrato en pozos no afectados por precipitación pluvial.	52
Figura 1.	Localización del Acuífero Valle de Puebla y municipios de muestreo I.-Calpan. II.-San Felipe Teotlalcingo. III.-San Martín Texmelucan. IV.-Coronango. V.-Huejotzingo. VI.-San Pedro Cholula. VII.-San Andrés Cholula. VIII.-Puebla.	63
Figura 2.	Concentración promedio anual de cobre por municipio.	65
Figura 3.	Concentración promedio anual de zinc por municipio.	65
Figura 4.	Concentración promedio anual de manganeso por municipio.	66
Figura 5.	Concentración mensual de manganeso en pozos del municipio de Huejotzingo.	67
Figura 6.	Concentración promedio anual de cadmio por municipio.	67
Figura 7.	Concentración promedio anual de plomo por municipio.	68
Figura 8a.	Isolíneas de concentración de cobre en pozos monitoreados.	69
Figura 8b.	Isolíneas de concentración de zinc en pozos monitoreados.	69
Figura 8c.	Isolíneas de concentración de manganeso en pozos monitoreados.	70
Figura 8d.	Isolíneas de concentración de cadmio en pozos monitoreados.	70
Figura 8e.	Isolíneas de concentración de plomo en pozos monitoreados.	71
Figura 9.	Concentración mensual de cobre en pozos del Acuífero Valle de Puebla.	72

Figura 10.	Comportamiento mensual de zinc en pozos cuya concentración permaneció casi constante durante 12 meses de monitoreo.	72
Figura 11.	Concentración mensual de cadmio en pozos de cuatro municipios del Acuífero Valle de Puebla.	73
Figura 12.	Concentración mensual de cadmio en pozos de los municipios de Calpan, Coronango, Huejotzingo y Puebla.	74
Figura 13.	Comportamiento de la concentración mensual de manganeso en pozos del municipio de Huejotzingo y su relación con la precipitación pluvial.	75
Figura 14.	Concentración mensual de manganeso en seis municipios del Acuífero Valle de Puebla.	75
Figura 15.	Comportamiento de la concentración mensual de plomo en pozos de Calpan, Coronango, Huejotzingo y Puebla y su relación con la precipitación pluvial.	76
Figura 16.	Comportamiento de la concentración mensual de plomo en pozos de San Andrés Cholula, San Felipe Teotlalcingo, San Martín Texmelucan y San Pedro Cholula y su relación con la precipitación pluvial.	76
Figura 17.	Nivel estático en el Acuífero Valle de Puebla.	78
Figura 5.1	Diseño de bioreactor tipo UASB.	83
Figura 5.2	Esquema del sistema de tratamiento desnitrificante de flujo continuo.	84
Figura 5.3	Comportamiento de la carga (Q) de N-NO_3^- y N-NO_2^- en efluente del bioreactor durante 27 días de operación a una C/N de 0.33.	90
Figura 5.4.	Porcentaje de remoción de nitrato durante 27 días de operación a una C/N de 0.33.	91
Figura 5.5	Comportamiento de la carga (Q) de N-NO_3^- y N-NO_2^- en efluente del bioreactor y SSV durante 31 días de operación a una C/N de 1.2.	92

Figura 5.6	Comportamiento de la carga (Q) de N-NO_3^- en efluente del bioreactor y % de remoción durante 31 días de operación a una C/N de 1.2.	93
Figura 5.7	Carga (Q) de N-NO_3^- , N-NO_2^- y SSV en efluente del bioreactor durante 16 días de operación con una C/N=6.	95
Figura 5.8	Carga (Q) de N-NO_3^- , N-NO_2^- y SSV en efluente del bioreactor durante 44 días de operación con una C/N=1.8.	97
Figura 5.9	Cinética de consumo de nitrato y generación de nitrito.	98
Figura 5.10	Velocidad de consumo de nitrato.	98
Figura 5.11	Rendimiento de nitrito.	99
Figura 5.12	Carga (Q) de N-NO_3^- , N-NO_2^- y SSV en efluente del bioreactor con una C/N=1.8 y una carga de nitrógeno de 500 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}\cdot\text{d}$.	100
Figura 6.1	Esquema de bioreactor electroquímico.	103
Figura 6.2	Cinética de consumo de nitrato y formación de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.	107
Figura 6.3	Velocidad de consumo de nitrato sin aplicación de potencial eléctrico.	108
Figura 6.4	Rendimiento de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.	109
Figura 6.5	Velocidad de formación de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.	109
Figura 6.6	Velocidad de consumo de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.	109
Figura 6.7	Cinética de consumo de nitrato con aplicación de 0.2 V y 100 mA.	110
Figura 6.8	Velocidad de consumo de nitrato con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.	111
Figura 6.9	Rendimiento de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.	111

Figura 6.10	Velocidad de formación de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.	112
Figura 6.11	Velocidad de consumo de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.	112
Figura 6.12	Cinética de consumo de nitrato con aplicación de 0.2 V y 10 mA.	114
Figura 6.13	Rendimiento de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 10 mA.	114
Figura 6.14	Velocidad de consumo de nitrato con aplicación de 0.2 V y 10 mA.	115
Figura 6.15	Velocidad de formación de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 10 mA.	115
Figura 6.16	Velocidad de consumo de nitrito con aplicación de 0.2 V y 10 mA.	116

INDICE DE TABLAS.

	Pag.
Tabla 2.1 Principales fuentes antropogénicas de nitrógeno inorgánico en los ecosistemas.	13
Tabla 2.2. Aplicación de sistemas electroquímicos en tratamiento de aguas.	33
Tabla 2.3 Comparación de investigaciones previas sobre desnitrificación en Bioreactores Electroquímicos.	34
Tabla I. Municipios, coordenadas de localización y clave de pozos monitoreados durante un año.	46
Tabla I. Ubicación de los pozos y claves de identificación.	62
Tabla II. Valores de referencia y límites permisibles para metales pesados.	64
Tabla 5.1 Composición de los medios de cultivo.	85
Tabla 5.2. Condiciones establecidas durante la adaptación del inóculo a una C/N de 0.33.	86
Tabla 5.3. Condiciones establecidas durante la adaptación del inóculo a una C/N de 1.2.	87
Tabla 5.4. Condiciones establecidas durante el crecimiento de la biomasa en cultivo por lote con relaciones C/N de 1.8 y 6.	87
Tabla 5.5. Condiciones establecidas durante el cultivo de forma continua de la biomasa a una C/N de 6 y 1.8.	88
Tabla 5.6 Contenido de nutrientes e inóculo en las botellas para la determinación de la cinética de consumo de nitrato.	89
Tabla 5.7 Condiciones establecidas durante el cultivo de forma continua de la biomasa a una C/N de 1.8.	89
Tabla 5.8 Comparación de SSV en cultivos por lote con relaciones C/N de 1.8 y 6.	94
Tabla 5.9 Comparación de SSV en cultivos por lote y continuo con relación C/N de 6.	96

Tabla 6.1	Condiciones aplicadas durante el desarrollo de la cinética sin aplicación de potencial eléctrico (CSP).	105
Tabla 6.2	Condiciones aplicadas durante el desarrollo de la cinética con aplicación de potencial eléctrico (CCP).	106
Tabla 6.3	Condiciones aplicadas durante el desarrollo de la cinética con aplicación de potencial eléctrico (CCP2).	106
Tabla 6.4	Formulas para el cálculo de velocidades y rendimientos.	108
Tabla 6.5	Resumen de resultados durante el desarrollo de la cinética sin potencial eléctrico (CSP).	110
Tabla 6.6	Resumen de resultados durante el desarrollo de la cinética con potencial eléctrico de 0.2 y corriente de 100 mA.	113
Tabla 6.7	Condiciones establecidas para cada cinética y resultados obtenidos.	117

GLOSARIO

Aceptor de electrones. Sustancia que acepta electrones durante una reacción de oxido-reducción. Un aceptor de electrones es un oxidante.

Anaerobio. Organismo que se desarrolla en ausencia de oxígeno.

ANAMMOX. Oxidación anaeróbica del amonio.

Autótrofo. Organismo con capacidad para utilizar el CO₂ o compuestos inorgánicos como única fuente de carbono.

Consorcio. Cultivo bacteriano de dos o más miembros, o asociación natural, en el cual cada organismo se beneficia del otro.

Desnitrificación. Conversión del nitrato en nitrógeno molecular en condiciones anaeróbicas, que da como resultado la pérdida del nitrógeno en los ecosistemas.

Donador de electrones. Compuesto que cede electrones en una reacción de oxido-reducción. Un donador de electrones es un reductor.

Enzima. Proteína cuya función es la catálisis en los organismos vivos, la cual promueve reacciones o grupos de reacciones específicas.

Eucarionte. Una célula o un organismo que tiene un núcleo verdadero.

Facultativo. Adjetivo calificativo que indica que un organismo es capaz de crecer con o sin un factor ambiental. Por ejemplo “aerobio facultativo”, “psicrófilo facultativo”

Heterótrofo. Organismo que obtienen energía a partir de compuestos orgánicos.

Metabolismo. Todas las reacciones bioquímicas de una célula, tanto catabólicas como anabólicas.

Oxidación. Procesos por el cual un compuesto cede electrones, actuando como donador de electrones, y oxidándose.

Procarionte. Célula u organismo que carece de núcleo verdadero, que usualmente tiene su DNA en una sola molécula.

Reducción. Procesos mediante el cual un compuesto acepta electrones para ser reducido.

Respiración. Reacciones catabólicas que producen ATP, en las cuales los donadores primarios de electrones son compuestos orgánicos o inorgánicos, y los aceptores finales de electrones son compuestos inorgánicos.

RESUMEN

En los últimos años la contaminación del agua ha ido en aumento como consecuencia de las actividades industriales y agrícolas del hombre, tales actividades introducen en el entorno ambiental, varios tipos de contaminantes, entre ellos nutrientes como carbono, fósforo y nitrógeno. En particular, la presencia de nitrógeno en el agua trae consigo riesgos al ambiente y a la salud. El nitrógeno en el agua puede estar en forma de nitrógeno amoniacal, nitrógeno orgánico, y óxidos de nitrógeno. Cada forma depende de la fuente contaminante o de las reacciones de descomposición o formación que sufren como parte del ciclo del nitrógeno. Los óxidos de nitrógeno como nitrato, nitrito y los metales pesados revisten especial importancia en el contenido del presente trabajo, ya que durante un año se monitoreó sus niveles de concentración y la variación con respecto a la precipitación pluvial, altitud geográfica y nivel estático en el acuífero más importante del estado de Puebla, denominado Valle de Puebla. Con la información obtenida se propuso una alternativa novedosa de tratamiento que acopla un sistema biológico con un potencial electroquímico para la eliminación total de nitrato de forma rápida y eficiente.

Los resultados mostraron que existen pozos donde la concentración de nitrato supera los límites establecidos por la normatividad mexicana, localizándose en zonas de mediana y baja altitud, y de la totalidad de los pozos monitoreados el 56% aumentó su concentración a mayor precipitación pluvial. Los metales cadmio y plomo representaron un grave problema de contaminación en todos los pozos monitoreados. Con respecto a manganeso un solo un pozo excedió los límites establecidos por las normas mexicanas y las concentraciones de cobre y zinc se encontraron dentro de la normativa.

Durante el desarrollo del sistema de tratamiento biológico, se adaptó una biomasa a condiciones desnitrificantes desasimilativas lo que significó no generar grandes volúmenes de biomasa, las velocidades de desnitrificación fueron iguales a la carga de nitrógeno suministrada por día. La desnitrificación biológica con aplicación de un potencial eléctrico fue comparada con el sistema biológico convencional y mostró que la velocidad de consumo de nitrato se incrementó 45% con la aplicación de 0.2 V y 10 mA de corriente eléctrica, mientras que con 0.2 V y 100 mA la velocidad de consumo de nitrato disminuyó 45%. El rendimiento de nitrito fue igual en todos los experimentos. La desaparición total del nitrito, en el sistema bioelectroquímico, se observa a las 9 horas de reacción, mientras que en el sistema biológico existió un remanente del 26% de nitrito a las 10 horas de reacción y del 59% cuando se aplicaron 100 mA de corriente.

Lo anterior puso de manifiesto que la aplicación de un potencial eléctrico en un proceso biológico convencional es favorable para la eliminación rápida y eficiente del nitrato.

ABSTRACT

The last years, the contamination of water is a serious problem. The contamination of water had been a consequence of men activities relationated to development, industrialization and farming activities. These activities throw in the environment differents kinds of contaminants, such as the nutrients. The nutrients are sustances that to contain elements such as carbon, phosphorous and nitrogen.

The nitrogen in water is a risk for the environment and the human health. The nitrogen can be present in water as amoniacal nitrogen, organic nitrogen and nitrogen oxides. Each kind of nitrogen had a different origin, for example the contaminant source, reactions of descomposition or formation; this reactions as a consequence of the nitrogen cycle. The nitrogen oxides like nitrate and nitrito are very important for this study, because during one year was monitoring the concentration of nitrate, nitrito and heavy metals in water from Puebla Valley acuifer, and it's variation with the pluvial precipitation, geographic and static level and so, to propose a novel alternative to remove the nitrate This alternative is a bioelectrochemical method which capable to eliminate the nitrate quickly and efficiently.

The results show wells with a concentration that exceed the maximum allowed by the mexican norm, these wells was located in areas of low to medium altitude, the overall results were analized statistically and it was found that nitrate concentration of 56% of wells, increased to higher rainfall. Cadmium and lead represent a serious problem of pollution in all moniotred wells. One well presented contamination with manganese and copper and zinc concentrations were within the limits established by mexican regulations.

About of biological treatment, a biomass was adapted to desasimilative denitrification conditions without to produce great volume of sludge. The denitrification velocity was the same to nitrogen load by day. The biologic denitrification with the application of electric potential compared with the conventional biologic system showed an increment of the nitrate reduction velocity about 45% when it was to impose 0.2V y 10 mA, while, a decrement of the nitrate reduction velocity about 45% was observed when it was to impose 0.2V y 100 mA. The performance of nitrite was the same in all experiments. The complete disappearance of nitrito in the bioelectrochemical system was at 9 hours of reaction; while in the conventional biological denitrification process exist at 10 hours of reaction about the 26% of nitrito and 59% when was imposed 100 mA.

In other words, it's possible to say that to impose an electrical potential to the conventional biological denitrification process was favourable to eliminate the nitrate quickly and efficiently.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

De todos es conocida la importancia que el agua tiene para la vida, de ahí que la contaminación de ella sea un problema de interés mundial que se agrava día con día. Diversos factores han contribuido a este problema, todos ellos pueden englobarse en las actividades industriales y agrícolas desarrolladas por el hombre, que han puesto en riesgo la calidad del agua en acuíferos, ríos, lagos y mares. Aunado a esto, se tiene el problema de la escasez del líquido y los tratamientos para sanear el agua son insuficientes, de poco interés o ineficientes, situación que agrava más la disponibilidad de agua para la población al contar con poca agua y además con riesgo de presentar contaminación [1,2].

México enfrenta, además de los problemas típicos de los países subdesarrollados, problemas característicos de las sociedades industriales, trayendo como consecuencia el aumento de la contaminación de los recursos naturales. Los químicos contaminantes más preocupantes son los metales pesados, pesticidas, herbicidas, compuestos nitrogenados como nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-), solventes orgánicos, radioquímicos, además los lixiviados tóxicos originados por restos químicos indebidamente desechados, entre otros. Muchos de ellos provocan toxicidad aguda o crónica, otros pueden ser genotóxicos y tener efectos carcinogénicos, mutagénicos o teratogénicos. Según la Organización Mundial de la Salud el cáncer en México comienza a emerger como un riesgo creciente [3, 4].

Dentro de los contaminantes nitrogenados, nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) son compuestos que se encuentran de forma natural en el ambiente y son, entre otros, consecuencia del ciclo de nitrógeno que se da con el constante intercambio entre el nitrógeno atmosférico y el terrestre. Desafortunadamente las concentraciones con las que se encuentran en el medio ambiente suelen ser muy altas, debido al abuso en el uso de fertilizantes, o bien, por excretas de

animales, desechos municipales, efluentes industriales o aditivos alimentarios y su único control es su reducción por el proceso llamado desnitrificación [1, 2, 5].

El problema con estos contaminantes es que son solubles, altamente móviles en el agua subterránea y no precipitan como un mineral, estos factores permiten que grandes cantidades de nitratos disueltos permanezcan en el agua subterránea [6]. Si la reducción del nitrato no ocurre, a pesar de ser una reacción natural llevada a cabo por bacterias que reducen el nitrato a gas nitrógeno, los nitratos persisten en los abastecimientos de agua representando un riesgo. Las áreas con alto riesgo incluyen los acuíferos bajo zonas de agricultura intensiva, la vecindad con campos con alta densidad de tanques sépticos o incluso la cercanía con la industria textil.

Afortunadamente existen diferentes metodologías de tratamiento para la remoción de nitrato y nitrito, algunas de ellas sus desventajas, técnicas económicas o de impacto ambiental, las hacen no ser la alternativa más viable para el tratamiento de efluentes contaminados, sin embargo existen, aunque escasos, reportes de métodos biológicos con asistencia de la electricidad, que incluyen diferentes configuraciones en bioreactores con buenos resultados [7].

Lo anterior hace de interés este tipo de sistemas. De manera particular, el presente trabajo estableció las condiciones experimentales necesarias para implementar un método bioelectroquímico para el tratamiento de nitratos presentes en aguas. Para lo cual fue necesario determinar la presencia o no de nitrato en aguas de pozo de uno de los acuíferos más importantes del estado de Puebla, el llamado Acuífero Valle de Puebla. Este acuífero fue adoptado como el área de estudio del presente trabajo, por la vulnerabilidad a la contaminación que presenta al contar con grandes superficies de cultivo y asentamientos industriales, además de ser el acuífero que abastece de agua al valle de Puebla. Derivado del monitoreo de la calidad del agua de pozo se encontró que, de manera general, la concentración de nitrato fue ligeramente arriba del límite

permitido por la normatividad mexicana. Sin embargo, puntualmente, se localizaron pozos en zonas de mediana y baja altitud donde la concentración más alta en uno de los pozos fue de 48 mg N-NO₃⁻/L, valor que superó el límite permitido. Es importante mencionar que durante el monitoreo de la calidad del agua del acuífero, se encontró contaminación por cadmio y plomo, donde las concentraciones más altas superaron por 10 y 70 veces, respectivamente, los límites dictados por la norma mexicana.

Una vez que se obtuvieron datos reales de la contaminación del acuífero en estudio, se llevó a cabo la siguiente fase que consistió en implementar un sistema biológico a través de la adaptación de un consorcio microbiano capaz de llevar a cabo el proceso de desnitrificación a las concentraciones de nitrato encontradas en el acuífero. Después de 58 días de operación del bioreactor, se obtuvo una biomasa estable en condiciones desnitrificantes que cuenta con la capacidad de reducir el nitrato por la vía desasimilativa, lo que significó no generar grandes volúmenes de biomasa durante el proceso.

Una vez que se obtuvo una biomasa estable que llevara a cabo el proceso de desnitrificación fue posible implementar un sistema bioelectroquímico, donde se observó el efecto que la aplicación de un potencial eléctrico tiene sobre la desnitrificación biológica. Los resultados, comparados con el sistema biológico convencional, mostraron un incremento en la velocidad de consumo de nitrato del 45% con un tiempo de agotamiento total del nitrito de 9 horas.

CAPÍTULO 2

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

En el presente capítulo se exponen algunos antecedentes sobre dos aspectos principales que representan en su conjunto el cuerpo de este trabajo. El primero de ellos se refiere a la situación hidrológica del país y del estado de Puebla, de manera particular del acuífero en estudio, el Acuífero Valle de Puebla. Dentro de éste se aborda la contaminación de acuíferos y cuerpos de agua con compuestos nitrogenados, en particular con nitrato. Derivado de la búsqueda de pozos de agua contaminados se encontró una elevada concentración de metales pesados en las aguas provenientes del acuífero, razón por la cual dentro de este capítulo se incluyen algunos aspectos relevantes sobre la presencia de metales pesados en el agua. El segundo aspecto, se refiere a la desnitrificación en el que se mencionan, algunos conceptos útiles para la comprensión de tal proceso, así como avances que han tenido diversos autores para remediar la contaminación del nitrato en el agua. Por último se muestra un panorama de los avances en el desarrollo de la desnitrificación bioelectroquímica que en años recientes ha arrojado resultados alentadores en la eliminación, de forma rápida y eficiente, del nitrato presente en aguas.

2.1 Panorama del Agua en México

Anualmente, México recibe del orden de 1,488 miles de millones de metros cúbicos de agua en forma de precipitación. De esta agua, el 72.5% se evapotranspira y regresa a la atmósfera, el 25.4% escurre por los ríos o arroyos y el 2.1% restante se infiltra al subsuelo y recarga los acuíferos, de tal forma que los acuíferos del país reciben 458 mil millones de metros cúbicos de agua dulce renovable (disponibilidad natural media nacional) y se le extraen por medio de pozos, norias, galerías filtrantes y manantiales 27.5 mil millones de metros cúbicos [8]. Así, el balance subterráneo refleja en principio una gran disponibilidad de agua en el subsuelo, sin embargo, esta situación es engañosa ya que, de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística Geografía e

Informática (INEGI) en su reporte de marzo de 2006 sobre estadísticas por el día mundial del agua, indica que 103 de un total de 653 acuíferos del país se encuentran seriamente sobreexplotados. Lo anterior se explica al tomar en cuenta que en el país el 70% del volumen que se suministra a la población, el 33% que se destina a la agricultura y el 62% que utiliza la industria provienen de acuíferos subterráneos [9].

El crecimiento poblacional trae por consecuencia el aumento en la demanda de agua, de acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (CNA), la disponibilidad natural media per cápita, que resulta de dividir el valor nacional (expresado como la cantidad anual de agua que recarga los acuíferos, o bien el agua dulce renovable proveniente de la precipitación pluvial), entre el número de habitantes ha disminuido de 18035 m³/hab/año en 1950 a tan sólo 4312 m³/hab/año en el 2007 [8]. Analizar las cifras lleva a comprender la importancia por despertar una cultura y conciencia ecológica que conlleve al cuidado y aprovechamiento racional de los recursos naturales, y en el caso del agua; al cuidado, racionalización, y evaluación de la calidad, aunado a la búsqueda de nuevas alternativas que nos permitan tener agua en cantidad y calidad apropiadas para el consumo de la población.

2.2 Contaminación del Agua

La contaminación del agua puede definirse como la modificación de las propiedades físicas, químicas o biológicas que restringen su uso. El agua subterránea por mucho tiempo ha sido sinónimo de “agua limpia”, sin embargo, existen sustancias que modifican la calidad del agua de los acuíferos, dichas sustancias pueden ser de origen natural o antropogénico [1,5].

Las sustancias de origen natural forman parte de la composición nativa del suelo o rocas que contienen el agua de un acuífero, la presencia de estas sustancias puede incluso exceder los estándares de calidad para agua potable,

dentro de estos elementos se puede incluir al Fe, Mn, H₂S y F. Las sustancias antropogénicas son producto de las distintas actividades del hombre que impactan al ambiente, tales como compuestos orgánicos, inorgánicos, sintéticos, disolventes, microorganismos, metales pesados, etc. La presencia de metales pesados en el agua se atribuye al uso de fertilizantes y plaguicidas, incluso la Organización Mundial de la Salud (OMS) explica la presencia de metales en agua por el contacto que ésta tiene con tuberías corroídas, soldaduras, tuberías galvanizadas, pilas eléctricas o por la práctica común que la industria tiene al arrojar sus efluentes contaminados hacia ríos, barrancas y arroyos [3].

El agua subterránea es menos susceptible de contaminarse accidentalmente, sin embargo, el abuso en el uso de fertilizantes y plaguicidas ha originado una sobreconcentración de sustancias y derivados de estos compuestos que han llegado a infiltrarse en el subsuelo contaminando los acuíferos [1, 10]. Aunado a esto, se debe tomar en cuenta que un acuífero que ha sido contaminado, es difícil de revertir tal proceso para dejarlo en su pureza original, ya que los contaminantes que afectaron su pureza, no solamente están presentes en el agua, también están impregnados y son absorbidos sobre las rocas y minerales en los sustratos [1].

La fertilización del suelo con compuestos nitrogenados es una práctica común en la agricultura para enriquecer el suelo, y con ello favorecer el crecimiento de los cultivos. Hoy en día, las superficies cultivadas son limitadas, tienden a reducirse como consecuencia del crecimiento de las zonas urbanas y del deterioro debido a la salinidad, al alto grado de erosión que presentan los suelos y la desertización. Desde un punto de vista de conservación de nuestro hábitat, no se pueden destinar más superficies al cultivo en detrimento de las grandes masas forestales. Teniendo estas limitaciones, el aumento en la producción de alimentos sólo puede venir como consecuencia de una intensificación de la agricultura para obtener un mayor rendimiento en las superficies de tierra cultivada, es por ello que la fertilización con compuestos

nitrogenados desempeña un papel imprescindible para aumentar el rendimiento de los cultivos sin tener que aumentar la superficie cultivable ^[11].

El nitrógeno al ser un elemento imprescindible para el crecimiento de las plantas, lo hace parte esencial de los fertilizantes. Las plantas satisfacen su requerimiento de nitrógeno por la absorción de amonio o nitrato del suelo, sin embargo, existen datos que mencionan que los cultivos solo absorben una fracción del fertilizante aplicado que oscila entre el 10% y 60%. ^[12]. La fracción de fertilizantes nitrogenados o fosfatados que no fue absorbida por las plantas, puede filtrarse a través del suelo y llegar al agua subterránea, o bien entrar a ríos o ecosistemas acuáticos ^[1, 2]. Dentro de los ecosistemas acuáticos, el nitrógeno puede estar presente como consecuencia de la deposición atmosférica, disolución de depósitos geológicos, escorrentía superficial y subterránea, descomposición biológica de la materia orgánica y por la fijación del nitrógeno de ciertos procariontes ^[6].

El ciclo del nitrógeno permite entender la presencia natural de nitrógeno en el suelo, agua y atmósfera, además, explica los procesos y reacciones del nitrógeno llevados a cabo en la naturaleza, a través de reacciones de oxidación-reducción de las principales especies naturales de nitrógeno, siendo nitrógeno molecular (N_2), amonio (NH_4) y nitrato (NO_3^-) como se muestra en la figura 2.1 ^[13, 14].

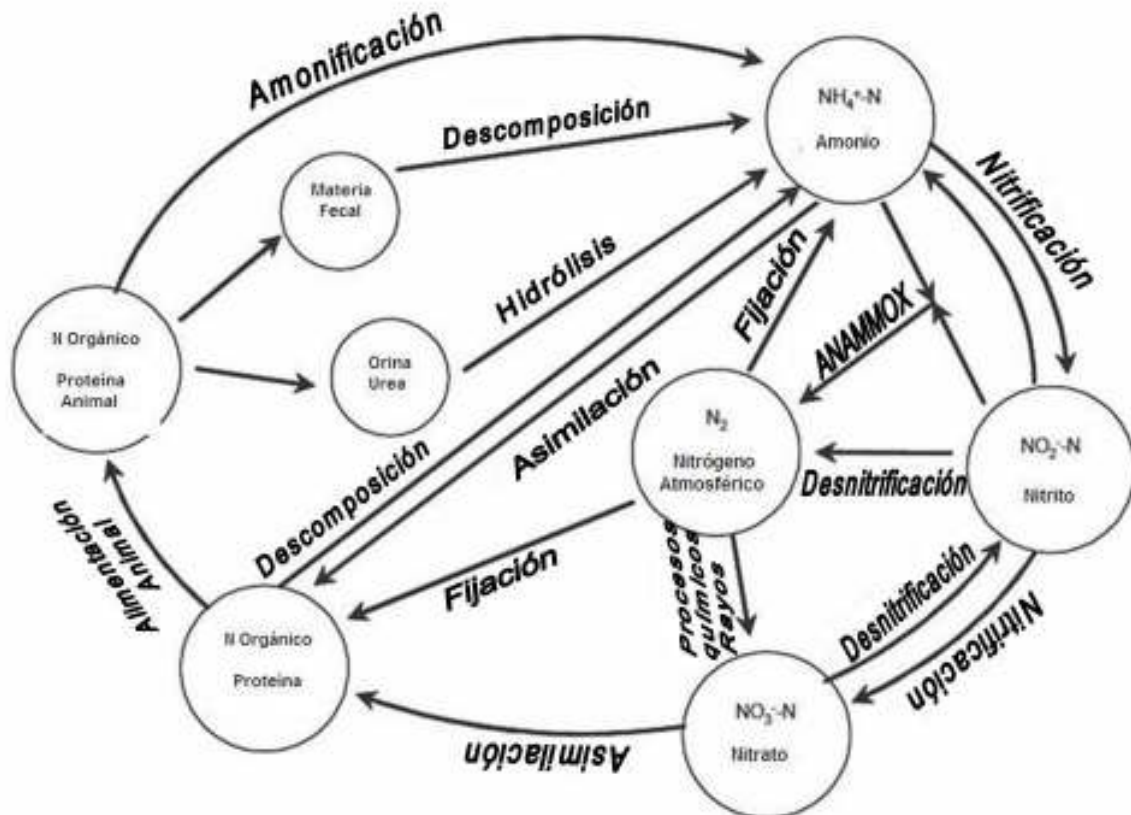


Figura 2.1 Ciclo del Nitrógeno.

Sin embargo, la alteración significativa de este ciclo propicia el aumento del nitrógeno en los ecosistemas en forma de nitrato, nitrito y amonio, perdiendo el equilibrio de este elemento en el ambiente, lo que trae como consecuencia la acidificación de ríos y lagos con baja o reducida alcalinidad, eutrofización de las aguas dulces y marinas y la toxicidad directa por compuestos nitrogenados en los animales acuáticos [6].

No solamente los nitratos alcanzan el agua subterránea debido a los fertilizantes nitrogenados que se esparcen en el suelo, sino además, por una gran variedad de fuentes; entre estas fuentes se encuentran los desechos y excretas de animales, los desechos municipales y las descargas de agua provenientes de la industria textil, entre otros [1, 2, 6]. La tabla 2.1 muestra las principales fuentes de nitrógeno.

Tabla 2.1 Principales fuentes antropogénicas de nitrógeno inorgánico en los ecosistemas [6]

Fuentes Puntuales	
✓	Residuos y vertidos de granjas y animales, piscifactorías continentales y centros de acuicultura marina
✓	Vertidos industriales y municipales sin un tratamiento adecuado
✓	Procesos de escorrentía e infiltración en basureros.
Fuentes Difusas	
✓	Procesos de escorrentía e infiltración en campos de cultivo.
✓	Procesos de escorrentía e infiltración en praderas y bosques quemados.
✓	Emisiones a la atmósfera provenientes del uso de combustibles fósiles y fertilizantes, y la posterior deposición atmosférica sobre las aguas superficiales.

En México, de acuerdo con la Asociación Nacional de Comercializadores de Fertilizantes (ANACOFER), desde 1992 ocurrió un cambio en el consumo de fertilizantes. En la actualidad se utiliza más fósforo y potasio que en 1992 y se ha reducido ligeramente el consumo de nitrógeno. Sin embargo los fertilizantes nitrogenados continúan siendo los de mayor consumo, lo cual se muestra en la figura 2.2 [15].

Lo anterior lleva a pensar que existe un riesgo en el aumento de las concentraciones de nitratos dentro de las aguas subterráneas [2], en particular en las áreas donde el tipo de agricultura sea intensiva. En México el empleo de fertilizantes no es uniforme en todo el territorio dedicado a la agricultura, su aplicación se concentra en áreas específicas donde se desarrolla una agricultura intensiva. Puebla se encuentra dentro de los once estados del país que concentra el 80% de la superficie fertilizada, siendo en su mayoría nitrogenados [15].

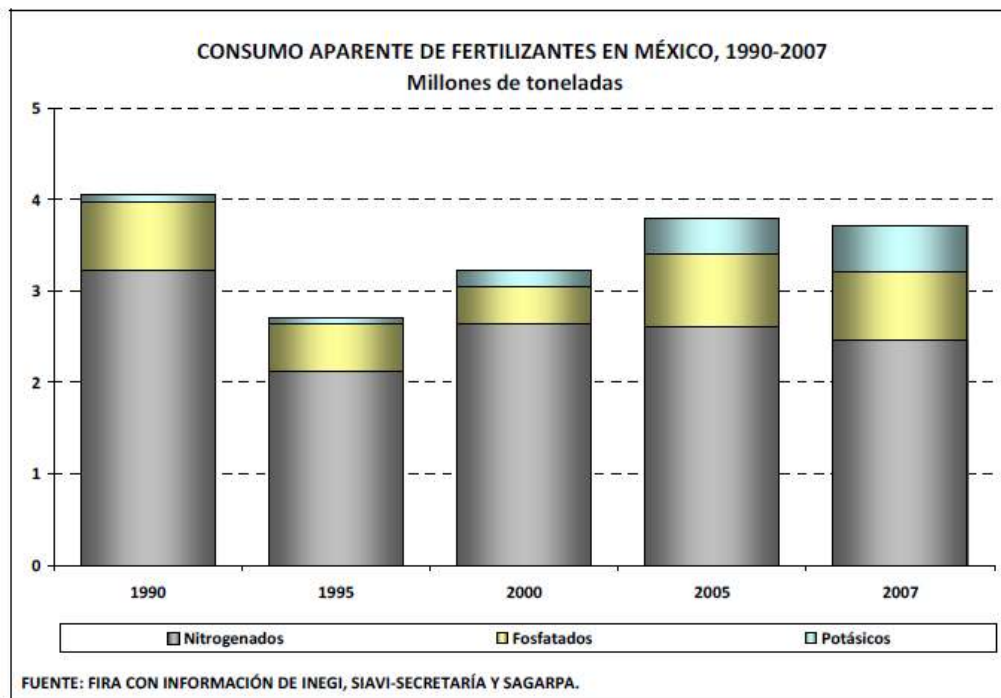


Figura 2.2 Consumo aparente de fertilizantes en México.

La presencia de NO_3^- y NO_2^- en el agua subterránea es uno de los tipos de contaminación que más preocupa, no solo por las ya mencionadas repercusiones que tiene en los ecosistemas acuáticos sino también porque el consumo de agua contaminada con nitrato representa un peligro potencial para la salud humana y animal [7].

2.3 Efectos del nitrato en la salud

La fuente de exposición humana a los nitratos es la ingestión oral del ión preformado, a través del consumo de vegetales, carnes curadas y agua contaminada con nitratos [16, 17]. El nitrato una vez dentro del estómago se reduce a nitrito, que a su vez se combina con el grupo amino (NH_2) de las proteínas suministradas en la dieta, dando lugar a la formación de nitrosaminas, las cuales pueden causar cáncer de estómago [18, 19]. La estructura química de las nitrosaminas es mostrada en la figura 2.3

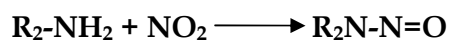
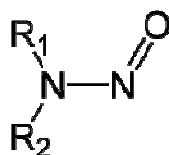


Figura 2.3 Estructura y reacción general de formación de nitrosaminas.

De acuerdo con datos del INEGI el cáncer de estómago en México se encuentra dentro de las primeras cinco causas de muerte por tumores malignos en el año 2007, ocupando en hombres el tercer lugar, mientras que en las mujeres ocupa el cuarto lugar. La figura 2.4 muestra la distribución porcentual, según el tipo de tumor maligno, por sexo [4].

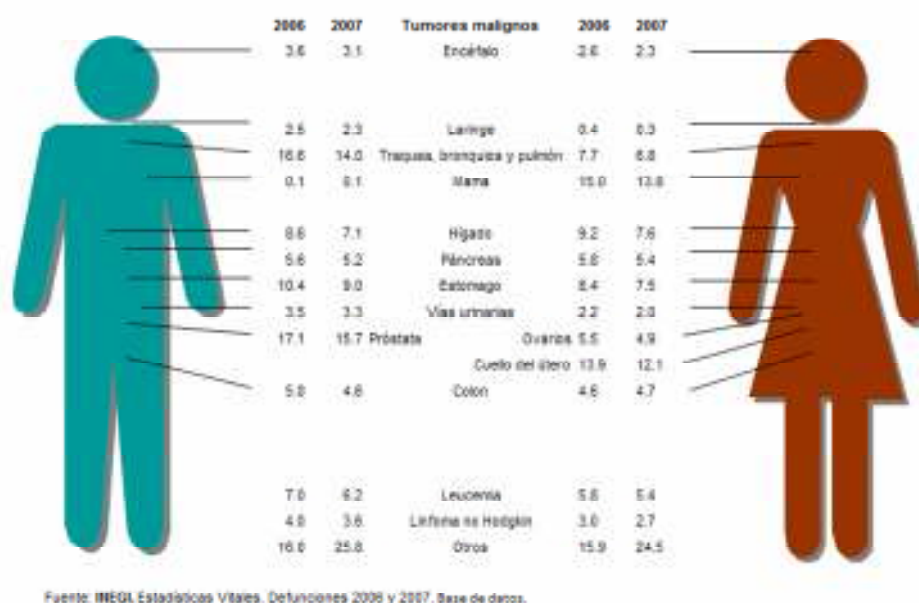


Figura 2.4 Distribución porcentual de las defunciones por tumores malignos para cada sexo en el periodo 2006-2007.

Además del cáncer de estómago, los nitratos son causales de otro padecimiento llamado “Síndrome del bebé azul”, en donde el nitrito que no es convertido a nitrosaminas pasa al plasma sanguíneo haciendo que la hemoglobina se convierta en metahemoglobina, la cual se caracteriza por inhibir el transporte de oxígeno en la sangre. Cuando la concentración de estos compuestos es alta,

los cuales se muestran en la figura 2.5, los mecanismos de reducción de hierro por la enzima metahemoglobina reductasa, se ven saturados, y comienzan a aparecer en los individuos los signos de intoxicación por estas sustancias. Cuando la metahemoglobina es elevada, el primer signo de intoxicación es la cianosis, que en niños es llamado “Síndrome del bebé azul” generalmente asociada a una tonalidad azulada de la piel y de las mucosas. Otras manifestaciones clínicas de esta enfermedad son: vómitos, dolor abdominal, diarrea, taquicardia, hipotensión, disnea y coma, pudiendo provocar la muerte [20]. En mujeres embarazadas, el consumo de nitratos, puede provocar abortos espontáneos ó defectos en el sistema nerviosos central de sus bebés. Es importante mencionar que el efecto genotóxico y toxicológico del nitrato proviene de los productos metabólicos tales como NO_2^- y óxido nítrico (NO^-) que se forman en el organismo a partir del consumo de nitrato [19,21].

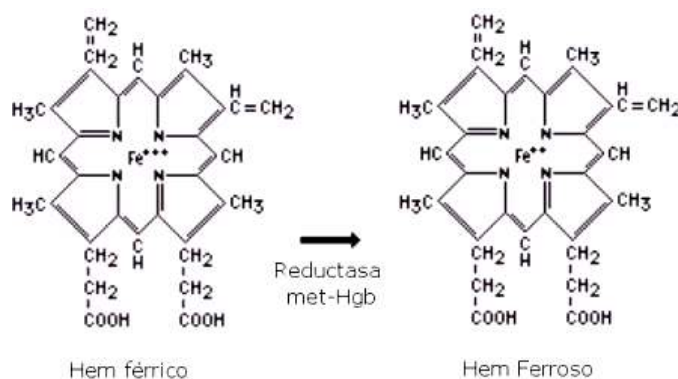


Figura 2.5 Conversión de metahemoglobina a hemoglobina a través de la enzima metahemoglobina reductasa.

2.4 Situación hidrológica y contaminación de las aguas subterráneas en Puebla.

Puebla cuenta con cinco grandes zonas geohidrológicas establecidas por la CNA que suministran agua a más de 5 millones de habitantes, el agua que se extrae de estas zonas se emplea principalmente en la agricultura, aproximadamente el 80%; el 15% se destina al uso público urbano y doméstico,

el 3.5% se utiliza en la industria, y tan solo 1.5% restante se emplea para fines pecuarios [22].

El acuífero Valle de Puebla pertenece a las cinco zonas geohidrológicas del Estado, el cual para el año 2000 suministraba agua a más de dos millones de habitantes, incluyendo la capital del Estado. Este acuífero, quedo designado con la clave 2104 en el documento publicado el 5 de diciembre de 2001 en el Diario Oficial de la Federación. Su superficie, misma que se muestra en la figura 2.6, comprende, a partir de la capital del Estado, hasta sus límites con la Sierra Nevada, lo que representa aproximadamente 2000 km². Incluye municipios como Calpan, Huejotzingo, Nealtican, San Martín Texmelucan, San Andrés Cholula, San Pedro Cholula, San Miguel Xoxtla, San Salvador El Verde, San Felipe Teotlalcingo, entre otros [22, 23].

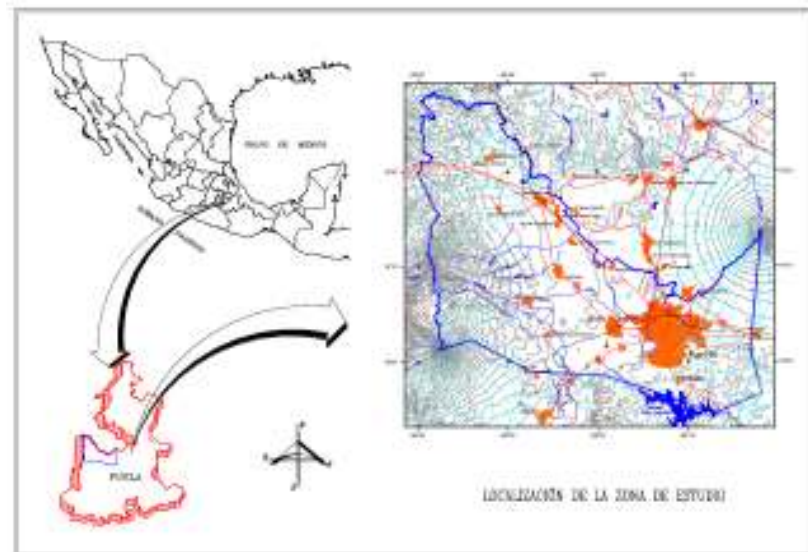


Figura 2.6 Localización del Acuífero Valle de Puebla.

La disponibilidad de agua en el subsuelo es un factor importante que condiciona fuertemente el incremento del desarrollo económico del Estado, por lo que la importancia del acuífero Valle de Puebla radica en el numero de habitantes que se abastecen de agua potable a partir de este, asimismo, se debe señalar la importancia de una explotación racional de estos recursos, pues son

susceptibles de agotarse ante la explotación irracional, o bien pueden sufrir contaminación por las descargas residuales o el uso de pesticidas y fertilizantes.

Dentro del acuífero en cuestión, la principal actividad económica es la agricultura, en particular existen zonas importantes donde la agricultura es de riego, figura 2.7. Este tipo de agricultura propicia que el campo sufra procesos de producción intensivos, al menos dos veces al año [24].

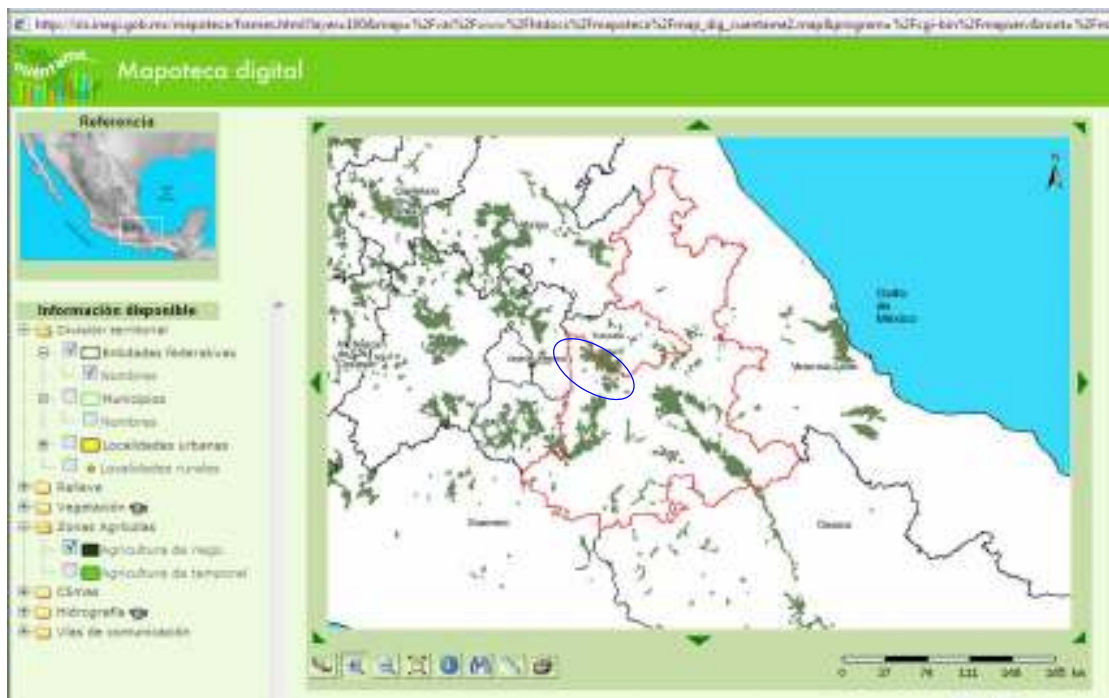


Figura 2.7 Superficie del acuífero Valle de Puebla dedicada a la agricultura de riego. Muestra en verde la superficie agrícola de riego y el ovalo azul señala la localización del acuífero Valle de Puebla.

Como se mencionó anteriormente esto implica la adición constante y posiblemente irracional de fertilizantes nitrogenados, así como también la infiltración del exceso de estos compuestos no absorbidos por las plantas hacia el subsuelo, contaminando de esta forma las aguas subterráneas.

En el acuífero Valle de Puebla el problema de contaminación de nitrato no solo puede darse por el empleo intensivo de fertilizantes nitrogenados en las zonas de cultivo, sino también por la existencia de establos e industrias avícolas.

Además la colindancia con la industria textil del estado de Tlaxcala, cuyos efluentes, caracterizados por ser ricos en nitrógeno, son arrojados a los ríos Atoyac y Zahuapan que atraviesan el acuífero.

2.5 Tratamiento de agua y métodos de purificación.

La contaminación del agua es un problema que se presenta a nivel mundial y a pesar de ser el hombre el gran causante de ella, apenas se ha dado a la tarea de empezar a diseñar e implementar tecnologías o sistema de tratamiento de agua, que coadyuven a frenar tan importante problema, sin embargo aun falta mucho por hacer.

De manera muy general estas tecnologías se engloban en tres tipos de tratamiento; el tratamiento primario, secundario y terciario. El tratamiento primario es el más sencillo, y para algunos no se considera un tratamiento como tal, ya que solo se encarga de la remoción de basura y partículas relativamente grandes con la ayuda de operaciones unitarias tales como cribado, sedimentación, igualación, neutralización, coagulación y floculación. El tratamiento primario debe considerarse un pretratamiento que “prepara” el agua para un tratamiento secundario. El tratamiento secundario o “biológico” consiste en la degradación por microorganismo de compuestos orgánicos solubles, si el tratamiento se controla correctamente puede dar por resultado una alta eficiencia en el tratamiento de este tipo de compuestos, sin embargo estos efluentes, dependiendo del uso al que sean destinados quizá deban ser sometidos a un tratamiento más avanzado, es decir a un tratamiento terciario. Los tratamientos terciarios se emplean cuando es necesario retirar compuestos específicos del agua o bien cuando se exige una calidad de agua mayor para un uso particular. Entre las tecnologías incluidas en este tipo de tratamiento esta la osmosis inversa, la ultra y microfiltración, el intercambio iónico, electrodiálisis y adsorción con carbón activado entre otras. Muchas de estas tecnologías, tales como la osmosis inversa, la ultra y microfiltración y el intercambio iónico son

útiles para la remoción del nitrato contenido en aguas subterráneas, sin embargo, son caras y existen problemas para la disposición de las aguas de rechazo de estos equipos, requiriendo un tratamiento alternativo ya que en ellas se concentra el contaminante una vez que ha sido removido del agua tratada, es decir, solo cambian el contaminante de un lugar a otro.

2.6 Métodos de eliminación de nitrógeno.

La eliminación de nitrógeno en aguas se puede llevar a cabo por dos métodos, uno es el método abiótico que básicamente emplea tecnologías incluidas en el tratamiento terciario, que como se mencionó en el punto anterior no resuelve el problema ya que sólo traslada el contaminante de un lugar a otro.

El otro método es el biológico. Tomando en consideración que los compuestos nitrogenados constituyen nutrimentos clave para el crecimiento de los seres vivos, el nitrógeno puede ser eliminado del agua si es asimilado por microorganismos, a lo que se conoce como desnitrificación biológica [7]. Este método es el más utilizado en las plantas depuradoras de agua, resulta ser ambientalmente amigable, sin embargo es un proceso lento y que requiere de controles estrictos respecto a las cargas de materia orgánica que entran al proceso de tratamiento y se generan grandes volúmenes de biomasa lo que resulta un problema por la disposición final de los lodos de origen biológico [10].

2.6.1 Desnitrificación biológica

En términos estrictos, la desnitrificación biológica es un proceso respiratorio anaerobio heterotrófico del tipo anóxico, donde la reducción del NO_3^- hasta N_2 sigue una serie de pasos que involucran la actividad de diferentes enzimas reductasas [25, 26]. La desventaja de este tratamiento es el manejo y disposición de la biomasa producida. Sin embargo, si los microorganismos utilizan el nitrato a través de la vía metabólica desnitrificante desasimilativa, se logrará la eliminación del nitrato de forma más efectiva, sostenible y económicamente

factible, sin la generación de grandes volúmenes de lodo biológico [2, 27]. La reducción desasimilativa de nitrato va a depender de la concentración del donador de electrones y del aceptor, por lo que debe existir una óptima relación carbono/nitrógeno (C/N) durante la desnitrificación, que por lo general es aquella relación C/N cercana a la estequiometría de la reacción [28, 29, 30]. Por esta razón, si el agua a tratar no contiene una fuente de carbono, compuestos tales como metanol o acetato deben ser suministrados como fuente de carbono durante el tratamiento.

2.6.1.1 Microbiología de la Desnitrificación

A nivel microbiológico los géneros desnitrificantes más citados son, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus*, *Thiosphaera*, *Bacillus*, algunas cepas de *Agrobacterium*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Halobacteria* e *Hyphomicrobium* entre otros. Sin embargo, en la mayoría de los habitats existe un potencial para la desnitrificación, pero es poca la información sobre que grupos de microorganismos son los responsables. A pesar de lo anterior, la frecuencia de aislamiento indica que los géneros *Pseudomonas* y *Alcaligenes* son los de mayor significado [28].

La mayoría de estos microorganismos son heterótrofos, pero algunos pueden crecer autotróficamente en hidrógeno y CO_2 , o en compuestos sulfurados reducidos. Por lo general, los microorganismos desnitrificantes poseen todas las enzimas necesarias para reducir NO_3^- a N_2 , sin embargo, algunos carecen de la enzima nitrato reductasa por lo que se consideran dependientes de nitrito; otros carecen de la enzima oxido nitroso reductasa por lo que el producto final de la reducción del nitrato es el oxido nitroso [28, 31, 32], lo que significa que en diversos habitats y consorcios microbianos existe una cooperación entre géneros para llevar a cabo el proceso desnitrificante, así, el ser dependiente de una especie reducida del nitrato no significaría incapacidad de llevar a cabo la desnitrificación, ya que el sustrato necesario para continuar con el proceso lo puede obtener como producto de la reducción de la enzima de la cual carece y

que está presente en otro microorganismo que forma parte del hábitat o del consorcio.

2.6.1.2. Bioquímica de la Desnitrificación.

En las bacterias existen dos tipos de metabolismo del nitrógeno. Uno de ellos reduce el NO_3^- para usarlo como una fuente nutritiva y se dice que es asimilado, este proceso de reducción se llama metabolismo de asimilación, es decir, los nitratos son reducidos a nivel de amoníaco (NH_3) para utilizarlo como fuente de nitrógeno para el crecimiento. El metabolismo de asimilación es muy diferente del uso de óxidos de nitrógeno como aceptores de electrones para el metabolismo de energía. Para distinguir entre estas dos clases de procesos de reducción, se tiene que el uso del nitrato como aceptor de electrones en el metabolismo de energía se denomina metabolismo de desasimilación [2, 31]. La figura 2.8 muestra la comparación de procesos asimilativos y desasimilativos para la reducción de nitrato.

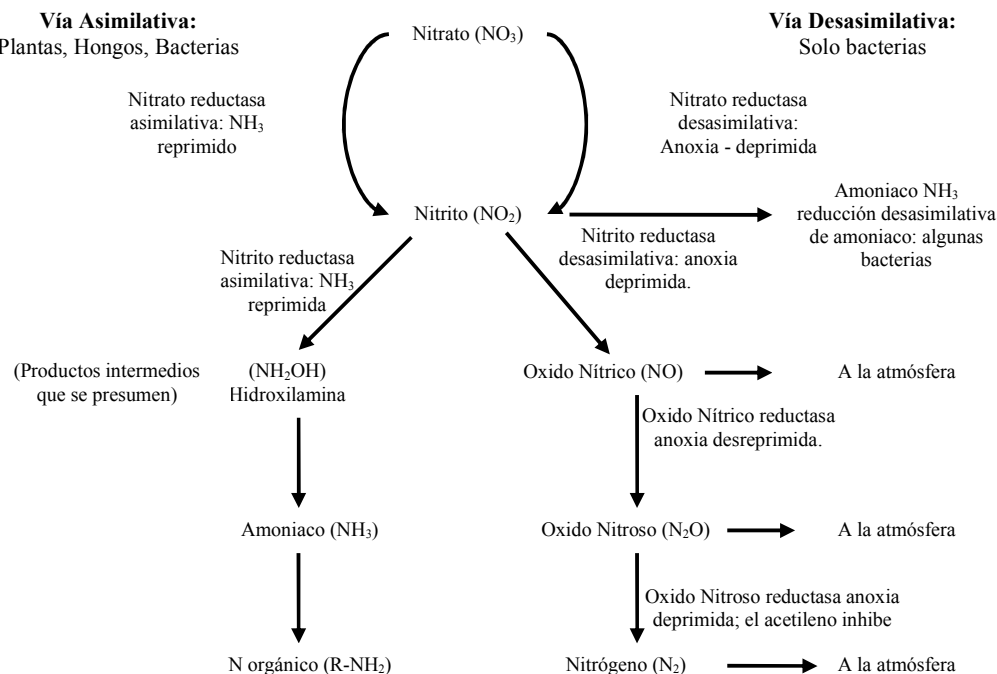


Figura 2.8 Comparación de procesos asimilativos y desasimilativos para la reducción de nitrato [13].

Para los fines de la presente tesis, es de suma importancia la eliminación del nitrato, eliminación que es factible de llevar a cabo a través metabolismo del nitrógeno por la vía desasimilativa, ya que, después del oxígeno, el nitrato es uno de los aceptores alternos de electrones más comunes; convirtiéndose en formas de nitrógeno más reducidas como consecuencia de diversas reacciones redox dentro la cadena respiratoria de las bacterias [31, 33]. La reducción del nitrato por la vía asimilativa lleva a la formación de nitrógeno orgánico, lo que significa, entre otras cosas, la generación de nuevas células y con ello el aumento de biomasa, situación que no es deseable en el desarrollo del presente trabajo.

Como se ha mencionado la desnitrificación biológica desasimilativa es la reducción del nitrato a gas nitrógeno, lo cual se logra a través de una secuencia de reacciones enzimáticas:



Cada paso es catalizado por una enzima y cuando los electrones son transferidos del donador al aceptor de electrones, el organismo gana energía, la cual puede ser aplicada para la síntesis de componentes celulares o para el mantenimiento de la masa celular. Desde un punto de vista bioquímico, la desnitrificación biológica es un proceso en el cual la oxidación de sustratos orgánicos difiere en la respiración con oxígeno molecular solo en el paso final, en el cual nitrato o nitrito sirven como aceptores de electrones. Al ser la desnitrificación un proceso respiratorio, un sustrato oxidable o donador de electrones es necesario como fuente de energía [33].

La desnitrificación comienza con la reducción de NO_3^- a NO_2^- , catalizada por la enzima nitrato reductasa. De esta enzima se han identificado dos tipos, una membranal de tres subunidades de 120, 60 y 20 kDa, que emplea ubihidroquinona en el transporte de electrones y cuyo centro activo se orienta hacia el citoplasma. La otra es una enzima soluble que se localiza en el

periplasma, está formada por dos subunidades de 94 y 19 kDa la cual aún no está bien caracterizada. En ambas se ha encontrado que el molibdeno, como parte de estas enzimas, juega un papel importante en la reducción a nitrito [26, 31, 32].

La enzima nitrito reductasa lleva a cabo la reducción de NO_2^- a NO (óxido nítrico). De esta enzima se han identificado dos tipos, una contiene cobre, mientras que la otra contiene el grupo hemo cd_1 [34].

Continuando con el proceso la reducción de NO a N_2O (óxido nitroso), la reacción es catalizada por la enzima óxido nítrico reductasa, localizada en la membrana citoplasmática [34, 35]. Esta enzima ha sido aislada de *Paracoccus denitrificans* y *Pseudomonas stutzeri* y está formada por una subunidad de 16 kDa que contiene un grupo hemo c, y otra de 53 kDa que incluye un grupo hemo b [33, 35, 36].

La oxido nitroso reductasa es la enzima responsable de la última etapa de la desnitrificación, esta enzima cataliza la reducción de N_2O a N_2 , la cual se localiza en el periplasma y contiene ocho átomos de cobre distribuidos en dos monómeros de aproximadamente 70 kDa, cada uno [36, 37], algunos microorganismos carecen de esta enzima por lo que la desnitrificación concluye en la obtención de N_2O

2.6.2. Desnitrificación Bioelectroquímica.

Existen investigaciones recientes que reportan una variante de la desnitrificación, la llamada desnitrificación bioelectroquímica, misma que a grandes rasgos consiste en una desnitrificación biológica asistida por electricidad que podría teóricamente ser desarrollada por la producción *in situ* del hidrógeno sobre la superficie del cátodo. En este tipo de desnitrificación, el hidrógeno y un bajo potencial de oxido reducción que se genera en el ambiente, como consecuencia de las reacciones catódicas inducidas en un bioreactor

dotado de electrodos, podrían ser utilizados por las bacterias para la reducción del nitrato en gas nitrógeno ^[38], por lo que un contacto apropiado entre los microorganismos y el hidrógeno mejorará la desnitrificación biológica haciendo que esta sea un proceso más rápido y eficiente ^[39].

La producción de hidrógeno *in situ* a través de la electrólisis del agua revela algunas ventajas debidas a la electricidad. La mayoría de las ventajas del empleo de la electricidad se resumen en la no generación de subproductos residuales así como el fácil control que se tiene sobre la producción de hidrógeno. Por lo tanto, el empleo de la electricidad en la desnitrificación inspira prometedores procesos que conllevan a la generación de bioreactores electroasistidos ^[7].

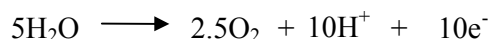
2.6.2.1. Teoría de la desnitrificación en bioreactores bioelectroquímicos.

Los investigadores que han desarrollado la desnitrificación bioelectroquímica han diseñado Bioreactores Electroquímicos (BERs) que han permitido la inmovilización de bacterias sobre la superficie del cátodo, en donde el hidrógeno esta siendo producido directamente para su aprovechamiento por los microorganismos. Los BERs se encargan de suministrar donadores de electrones de forma obligatoria, más que por contacto accidental, lo que trae como consecuencia una desnitrificación más rápida, es decir con tiempos de retención hidráulica que van desde 20 minutos hasta 6 horas dependiendo de la carga de nitrato alimentada y del arreglo y numero de electrodos y de la intensidad de corriente aplicada ^[7, 40, 41, 42]. Los BERs pueden ser alimentados con fuentes de carbono orgánico e inorgánico según sea el microorganismo desnitrificante (heterótrofo o autótrofo) ^[7].

La descomposición de nitrato en un BER puede ser explicada con siete ecuaciones que incluyen la electrolisis del agua, las cuales son mostradas a continuación ^[7, 43, 44]:

- Electrolisis del agua

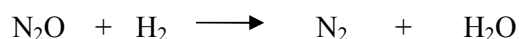
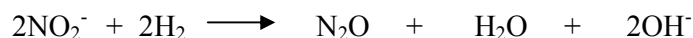
Sobre el ánodo:



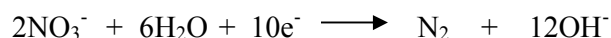
Sobre el cátodo:



- El principal rol del gas hidrógeno como un donador de electrones es mostrado en esta descomposición:



- La reacción neta de desnitrificación es la siguiente:



- La reacción global en un bioreactor electroquímico es:



Todas estas reacciones en conjunto son llevadas a cabo en un bioreactor electroquímico y han permitido a los investigadores obtener resultados prometedores en la aceleración de la desnitrificación incluso trabajando con altas concentraciones de nitrato.

2.7. Avances sobre desnitrificación biológica.

Diversas investigaciones se han desarrollado sobre la desnitrificación biológica con la única finalidad de hacer más eficiente este proceso. Las investigaciones se han dirigido sobre diversos aspectos, mismos que son descritos a continuación. La bioquímica de la desnitrificación es punto clave para el entendimiento y aplicación de nuevas tecnologías, de ahí que existan trabajos relevantes sobre las bases biológicas de la desnitrificación y los factores que la controlan y

afectan [26, 32, 35, 45, 46]. Tales estudios han sido enfocados no solo al problema de contaminación por nitrógeno en agua, sino también se enfocan sobre las interacciones que se dan en el suelo entre microorganismo, nitrógeno y planta [28, 45, 47]. Lo anterior además de ser interesante, otorga herramientas para la comprensión de los mecanismos bioquímicos y/o enzimáticos que se ven afectados o beneficiados al desarrollar nuevas tecnologías con el fin de hacer más eficiente el proceso desnitrificante.

Otras investigaciones han dirigido sus estudios hacia el empleo de diversas fuentes de carbono [43, 48-64], por lo general se emplean las más baratas, las de fácil eliminación en caso de permanecer un remanente después del tratamiento o bien las que estén permitidas por las legislaciones sanitarias de cada país, en especial cuando se trata de agua para consumo humano. La mayoría de las investigaciones han evaluado fuentes de carbono tanto sólidas, líquidas y gaseosas [51], entre estas se puede nombrar al etanol [52, 53, 54], metanol [55], ácido acético [56], papel periódico [57] pajas de trigo [58], fibra de algodón no procesada [59], azúcar y caña de azúcar [60], polímeros biodegradables insolubles en agua [61], gránulos de poliéster sintético [62, 63] y sustancias orgánicas naturales tales como paja, corteza de diferentes árboles, madera de abedul hidrolizada [61, 64], entre otros. La mayoría de los resultados son buenos, en mayor o menor medida se logró la degradación de los compuestos orgánicos y del nitrato. En años recientes se han dirigido investigaciones con el empleo de fuentes de carbono que también representan un problema de contaminación, y que acopladas a la desnitrificación se pueden obtener dos beneficios en un solo proceso. Algunos ejemplos son los pesticidas [43], hidrocarburos del petróleo [48] y compuestos derivados de la fracción soluble del petróleo como los llamados BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno) y el metil.t-butil eter (MTBE) [49, 50]. Aunado a la selección de la fuente de carbono, existen trabajos donde evaluaron la desnitrificación con distintas relaciones carbono/nitrógeno (C/N), donde fue posible observar la influencia de esta relación sobre la remoción de nitrato. Las relaciones evaluadas fueron por debajo de la estequiometría de la

reacción desnitrificante, iguales a la estequiometría o muy superiores a ella, obteniendo las mejores remociones cuando se evaluó la relación C/N igual a la estequiometría de la reacción. [29, 65]

De acuerdo con el tipo de fuente de carbono empleada en la desnitrificación, se puede hablar de la desnitrificación autotrófica y heterotrófica, sin embargo la heterotrófica ha sido la más estudiada y la más ampliamente aplicada en el campo. Sobre estos dos tipos de desnitrificación existen trabajos novedosos que combinan ambos tipos de desnitrificación en reactores separados, pero que entre ambos, llegan a alcanzar hasta el 100% de remoción de nitrato [29]. Otros han empleado bacterias desnitrificantes que oxidan el azufre utilizando reactores empacados de flujo ascendente [66], o bien, emplean la oxidación de sulfato o tiosulfato en reactores de cama empacada y flujo ascendente con concentraciones de nitrato de 3 g/L que con un tiempo de retención de 2.5 horas logran desnitrificaciones del 95%, lo que equivale a una carga de nitrato de 25 Kg $\text{NO}_3^-/\text{m}^3\cdot\text{d}$, en estos casos emplean cepas puras de *Thiobacillus denitrificans* o desnitrificadores heterotróficos como *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo no mencionan concentraciones de biomasa para alcanzar tales eficiencias [67]. Otros autores han descrito la desnitrificación bajo condiciones extremas, ejemplo de ello es la desnitrificación heterotrófica a altas concentraciones de sal y pH en sedimentos de lagos y suelos con hipersalinidad e hiperalcalinidad. Bajo estas condiciones encontraron predominio en la población bacteriana del género *Halomonas* e identificaron la reducción de nitrito y óxido nitroso como el paso limitante en la desnitrificación [68].

Existen otros trabajos donde acoplan la nitrificación a la desnitrificación, de este modo no solo abarcan las especies químicas más oxidadas del nitrógeno sino también las formas más reducidas, con el fin común de llevar a ambas hacia la obtención de nitrógeno molecular.

Los reactores diseñados para este fin, suelen ser novedosos, algunos de ellos se enfocan al tratamiento de efluentes industriales donde han empleado

bioreactores de lecho fluidizado de triple fase. En este tipo de reactores se alcanzan eficiencias del 98% de nitrificación y 86% de remoción de DQO, sin embargo la desnitrificación solo alcanza eficiencias buenas cuando al proceso se le suministra una fuente de carbono exógena [69]. Existen otros reactores que en sus diseños incluyen capas de biomasa nitrificante inmovilizada sobre fibras y se conectan con capas de biomasa desnitrificante inmovilizada, lo que ha dado como resultado una completa conversión del amonio en nitrógeno molecular [70].

Hablar de diseño de reactores es tanto como extenderse en la imaginación de cada investigador que ha aportado conocimiento sobre la desnitrificación. En párrafos anteriores se mencionaron algunos diseños de reactores, los más sencillos utilizan células inmovilizadas de bacterias desnitrificantes [71], sobre poliuretano, membranas de celulosa, alginato de calcio [71] por mencionar algunos, otros incluyen diversos arreglos que han permitido procesos eficientes, sin embargo, no son los únicos ya que algunos mas han utilizado reactores con geles poliméricos tubulares que contiene en su estratificado poblaciones bacterianas como *Nitrosomas europaea* y *Paracoccus denitrificans* [72, 73, 74], o bien, bioreactores de membrana con fibras huecas aereadas [75, 76] y procesos que combinan la reacción Anammox [77] con parcial oxidación de amonio en biofilms [78]. A pesar de que estos diseños han alcanzado remociones altas de nitrógeno, todavía no son ampliamente aplicados debido a que son reactores muy especializados, o se requiere de un mayor cuidado en sus condiciones de operación al ser más sensibles y complicadas que los reactores menos sofisticados. Los reactores más comunes han sido los reactores de lecho empacado o de lecho fluidizado.

Existen otros reactores diseñados hace más de dos décadas, son los llamados reactores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), a pesar de su sencillez logran alcanzar buenas eficiencias de desnitrificación. Algunos autores han acoplado este tipo de reactores con tecnologías de intercambio iónico, por éste método

remueven el nitrato del agua y las aguas de rechazo y resinas de estos equipos han sido desnitrificadas biológicamente en reactores UASB, alcanzando eficiencias del 90% [79]. Algunos autores han logrado en reactores UASB de laboratorio obtener velocidades de carga de 4 kg N/m³*d con tiempos de retención de 8 minutos [80, 81].

2.8 Avances sobre desnitrificación bioelectroquímica.

La desnitrificación bioelectroquímica, al igual que la biológica ha tenido avances en los últimos años, principalmente enfocados al diseño de los bioreactores electroquímicos (BERs), por lo general, los diversos diseños han tratado de hacer más eficiente la teoría de desnitrificación bioelectroquímica descrita en el punto 2.6.2.1. Las especificaciones de los electrodos y el diseño de reactores juegan un papel importante en la velocidad de desnitrificación. Los principales parámetros a considerar en la construcción de un bioreactor son los materiales, forma y número de electrodos y su arreglo dentro del BER [7].

La mayoría de las investigaciones realizadas utilizan microorganismos autótrofos como inóculo de los BERs, debido a que para muchos es la ruta para la remoción de cualquier contenido de nitrato en agua subterránea. Sin embargo, microorganismos heterótrofos han sido probados en los BERs con buenos resultados.

Algunos estudios previos que aplican el método bioelectroquímico, mencionan diseños de BERs con diversas configuraciones y los han probado a diferentes concentraciones de nitrato. Algunos de ellos han empleado multicátodos con microorganismos autótrofos tratando agua sintética contaminada a concentraciones de entre 13 y 20 mg N-NO₃⁻/L [40], otros han adaptado, además de los multicátodos, un sistema de microfiltración debido a que tratan agua de origen subterráneo a concentraciones de 15 a 40 mg N-NO₃⁻/L [41]. Existen otros autores que han desnitrificado agua subterránea sintética a concentraciones de

20 mg N-NO₃⁻/L en BERs convencionales que resultan ser los más austeros al emplear un ánodo y un cátodo acoplados en el interior del reactor [42, 82]. El agua proveniente de acuarios a una concentración de 20 mg N-NO₃⁻/L también ha sido objeto de estudio, para ello se han empleado reactores separados, en uno se lleva a cabo la electrolisis del agua mientras que en otro ocurre la desnitrificación con microorganismos heterotróficos [83]. No solo aguas con pequeñas concentraciones de nitrato han sido evaluadas para su desnitrificación en BERs, también se han probado aguas residuales sintéticas con concentraciones tan altas como 100, 200, 300 y 492 mg N-NO₃⁻/L con ayuda de microorganismos tanto heterótrofos como autótrofos [39, 84, 85, 86].

Las configuraciones de los BERs son tan variables como la forma y el número de cátodos empleados y todos tienen la finalidad de aumentar la remoción de nitrato. Los cátodos más sencillos son de forma plana en material de acero inoxidable [86]. Algunos otros, además de ser planos, son agrupados dentro de los BERs desde dos hasta cinco cátodos de acero inoxidable, los cuales son acomodados de forma paralela a un ánodo de platino recubierto de titanio [41], o bien algunos más sencillos contruidos de carbón [82, 87]. El titanio también ha sido material de construcción de cátodos cilíndricos donde ocho de ellos son colocados de forma concéntrica a dos ánodos de carbón [40]. En el 2001 fue diseñado un BER en cuya configuración se incluían electrodos de carbón, donde el ánodo era colocado en el centro y se rodeaba de 20 cátodos en paralelo [85]. El uso de numerosos cátodos en los BERs resulta en una alta remoción debido a que proveen un área extra de superficie para la producción de hidrógeno, así como también permite un mayor contacto con los microorganismos desnitrificadores [7]. Una configuración paralela con electrodos planos es el sistema más común de electrodos donde su principal ventaja es la disponibilidad de materiales y corriente uniforme. El ánodo también suele ser variable, algunos consisten de una malla colocada de forma vertical donde el cátodo plano de grafito se coloca de forma horizontal al ánodo [88]. Otro material

de construcción para ánodos y cátodos es el grafito donde el ánodo en forma de barra ha sido colocado en el centro y es rodeado por un cátodo cilíndrico [42].

El desarrollo de la desnitrificación en los BERs es interesante ya que los resultados encontrados son variables pero alentadores. Estos resultados dependen de la configuración del reactor, la concentración de nitrato y principalmente de la corriente aplicada en el sistema, misma que puede oscilar entre 1 mA hasta 200 mA [7, 41, 42, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90].

Cast y Flora en 1998 [84], utilizaron un biofilm de microorganismos para desnitrificar 100 mg N-NO₃⁻/L aplicando una corriente de 1 mA a un reactor que contaba con dos cátodos uno de acero inoxidable y el otro del mismo material pero recubierto de polipropileno, un flujo de 640 ml/d y un Tiempo de Residencia Hidráulica (TRH) de 5.5 días. Los resultados mostraron que la desnitrificación no fue posible por la presencia de metales pesados ya que se depositaban en los cátodos e inhibían la actividad del biofilm.

Otro investigador, Watanabe en el 2001 [85], desnitrificó agua residual acida que contenía una salmuera de cobre, para ello empleó microorganismos heterótrofos y un ánodo de carbón rodeado de doce barras de cátodos cubiertos por un cinturón de fibra de carbono. Además empleo acetato como fuente de carbono, un TRH de 5 a 3 horas, corriente de 15 a 23 mA, una C/N de 0.7 a 1.2 y la concentración de nitrato osciló entre 1 y 35 mg/L. Los resultados encontrados mostraron una remoción simultánea de cobre, nitrato y una neutralización dentro del reactor.

Park en el 2005 [88], desnitrificó agua sintética con concentraciones de 70 mg N-NO₃⁻, para ello empleó un biofilm de microorganismos autótrofos, los cuales ganaron electrones directamente del cátodo. El biofilm fue aclimatado por 60 días con 200 mA de corriente y alcanzó un 98% de reducción de nitrato

aplicando la misma corriente durante los experimentos. Con mayor o menor corriente fueron alcanzadas eficiencias menores.

La tabla 2.2 muestra un resumen sobre las aplicaciones de los sistemas electroquímicos, las cuales no solo se reducen a aguas subterráneas sino también a aguas residuales, industriales, nucleares entre otras.

Tabla 2.2. Aplicación de sistemas electroquímicos en tratamiento de aguas.

Clasificación	Agua o agua residual tratada	Sustancias y/o reacción	Eficiencia	Sistema de electrodos	Referencia
<i>Reacción catódica</i>					
Reducción	Efluente de proceso	$\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}$	0-100%	Malla acero inoxidable	[91]
Reducción	Agua residual	$\text{Cd}^{2+} \rightarrow \text{Cd}$	4-6%	Carbón fibroso	[92]
Reducción	Agua residual	$\text{Cr}^{6+} \rightarrow \text{Cr}^{3+}$	91%	Cinturón de grafito	[93]
Desnitrificación	Desecho nuclear	$\text{NO}_3^-, \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2, \text{NH}_4^+$	55%	Plomo	[94]
<i>Reacción anódica</i>					
Oxidación	Industrial	Fenol	5-30%	Electrodo de Pt	[95]
Oxidación	Industrial	1,4 benzoquinona	6-19%	Ti/IrO ₂ , Ti/SnO ₂	[96]
Desnitrificación	Tenería	$\text{NH}_3 \rightarrow \text{N}_2$	6-26%	Ti/Pt/Ir	[97]
Desinfección	Agua para beber	<i>Escherichia coli</i>	--	ACF ^a	[98]
<i>Sistema o reactor de reacción combinada</i>					
BTT ^b	Electroplatinado	Au, CN ⁻	< 10%	Tablero dentado	[99]
EES ^c	Agua subterránea	$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$	--	Pt	[100]
BER	Agua subterránea	$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2^-$	80-95%	Carbón, HRT=10h a 3 d	[42, 84, 101, 102]
<i>Separación mediada electroliticamente</i>					
Electrodialisis	Agua de mar	Desalinización	--	Intercambio iónico. Membrana	[103]
Electroósmosis	Suelo	Remediación	--	Grafito	[104]
Generación de coagulante	Agua o desechos	$\text{Al}^+ \text{Al}^{3+}$, $\text{Fe}^+ \text{Fe}^{3+}$	--	Al o Fe	[105]

^aFibra de carbon activado

^bBipolar Trickle Tower

^cSistema Electrodo-Enzima

La tabla 2.3 muestra una comparación de las investigaciones realizadas sobre desnitrificación con BER's.

Tabla 2.3 Comparación de investigaciones previas sobre desnitrificación en Bioreactores Electroquímicos

NO ₃ ⁻ reducido (mg N/L)	HRT (h)	Velocidad de desnitrificación (mg N/L*h)	Modo de Operación	Referencia
8.6	10.5	0.82	Lote	[102]
20	13.4	1.46	Continuo	[42, 106]
26	96	0.27	Lote	[107]
20	72	0.28	Lote	[84]
20	10	2.50	Continuo	[82]
10	2	5.00	Continuo	[40]
5.4	0.33	16.40	Continuo	[41]

CAPÍTULO 3

JUSTIFICACIÓN Y

OBJETIVOS

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

3.1 JUSTIFICACIÓN.

Los crecientes problemas de contaminación del agua a nivel mundial aunado al uso irracional del recurso, la creciente demanda de agua y la poca disponibilidad del líquido han hecho que parte de las investigaciones sean dirigidas a buscar alternativas de saneamiento del agua. Uno de los contaminantes que más preocupan son los compuestos nitrogenados y metales pesados cuya presencia en el agua se debe principalmente al uso indiscriminado de fertilizantes, pesticidas, efluentes industriales ricos en nitrógeno, entre otros. De forma particular, la presencia en agua de nitrato, nitrito y metales pesados traen graves consecuencias a la salud, entre estas se encuentran el Síndrome del bebé azul, padecimiento que es consecuencia de beber agua con elevados niveles de nitrato. Por su parte, el consumo de agua con metales pesados pueden causar efectos tóxicos, gastrointestinales, neurológicos y carcinógenos.

El presente trabajo se dio a la tarea de investigar las concentraciones de nitrato, nitrito y metales pesados en el Acuífero Valle de Puebla donde los reportes de calidad del agua son escasos o nulos, desconociéndose los riesgos a la salud que tiene la población que se abastece de agua a partir de este acuífero. Derivado de lo anterior, fue fundamental establecer las condiciones experimentales en la implementación de una alternativa de tratamiento de nitratos presentes en aguas y ofrecer una solución a un problema que se observó en el acuífero en estudio.

3.2 OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Establecer las condiciones experimentales eficientes en la implementación de un método bioelectroquímico para el tratamiento de nitratos presentes en aguas.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Realizar el diagnóstico de calidad de agua en cuanto a la concentración presente de nitrato, nitrito y metales pesados en pozos del Acuífero Valle de Puebla.
- Realizar análisis estadístico que permita conocer el nivel de concentración promedio de nitrato, nitrito y metales pesados en los pozos monitoreados del Acuífero Valle de Puebla.
- Establecer las variables óptimas para el crecimiento de una biomasa en condiciones desnitrificantes desasimilativas, con la finalidad de implementar un sistema biológico desnitrificante desasimilativo.
- Desarrollar un sistema de remediación biológica asistido por electricidad para la desnitrificación de aguas.
- Evaluar y comparar el sistema biológico contra el sistema bioelectroquímico.

CAPÍTULO 4

ESTUDIO DE LA CALIDAD DE AGUAS EN EL ACUÍFERO VALLE DE PUEBLA

4. ESTUDIO DE LA CALIDAD DE AGUAS EN EL ACUÍFERO VALLE DE PUEBLA.

En el presente capítulo se muestran los resultados encontrados después del monitoreo durante un año de la calidad del agua en pozos del acuífero Valle de Puebla, en particular sobre los analitos nitrato, nitrito y metales pesados.

De los resultados del monitoreo de la calidad de agua se presenta un análisis que permite contar con información real sobre el impacto que variables como la altitud geográfica, la precipitación pluvial y el nivel estático tienen sobre la concentración de nitrato y metales pesados. Lo anterior permitió contar con información que indica una posible contaminación del agua la cual puede atribuirse a orígenes antropogénicos.

La información aquí mostrada no obedece al formato que hasta el momento se ha desarrollado en la presente tesis, debido a que los resultados encontrados han sido sometidos a la revisión para su posible publicación en la Revista Internacional de Contaminación Ambiental (ISSN 0188-4999).

4.1 EVOLUCION DE LA CONCENTRACION DE NITRATO PRESENTE EN EL ACUIFERO VALLE DE PUEBLA.

Ruby BRENES^a, Arturo CADENA^b, Rosario RUIZ-GUERRERO^{a*}

^aCentro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN(CIBA-Tlax),Carr. Estatal San Inés Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5, Tepetitla. Tlaxcala, 90700, México e-mail: baruby77@hotmail.com, [*maruizg@ipn.mx](mailto:maruizg@ipn.mx)

^bLaboratorio de Bioreacciones, Universidad Politécnica de Pachuca (UPP). Carretera Pachuca-Ciudad Sahagún Km. 20 Rancho Luna Ex Hacienda de Santa Barbara, Zempoala, Hidalgo, 43830, México

RESUMEN

Se estudio la evolución de la concentración de nitrato durante un año en el Acuífero Valle de Puebla, durante este periodo se monitoreo la concentración de nitrato en agua subterránea y se evaluó la influencia de la precipitación

pluvial, así como la altitud geográfica sobre los valores encontrados. Se determinó la concentración de nitrato en muestras recolectadas mensualmente en aguas subterráneas de ocho municipios dentro del acuífero. La concentración promedio de nitrato fue de 10.75 mg de nitrógeno de nitrato por litro ($\text{N-NO}_3^-/\text{L}$) en el total de pozos analizados, donde la concentración más alta encontrada fue de 48 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$. Los resultados totales fueron evaluados estadísticamente encontrando que la concentración de nitrato del 56% de los pozos aumentó a mayor precipitación pluvial. Los pozos ubicados en zonas geográficas de mayor altitud presentaron en promedio concentraciones menores a 3 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$. Basados en los resultados obtenidos, de manera global, la concentración de nitrato en el acuífero, no rebasa el límite máximo permitido por la norma. Sin embargo, y de manera puntual existen pozos que presentan contaminación que excede la norma, encontrándose estos en zonas de mediana y baja altitud.

Palabras clave: acuífero valle de Puebla, evolución de contaminación, nitratos.

ABSTRACT

During one year the evolution of nitrate concentration was studied in the Puebla Valley aquifer, the concentration of nitrate in groundwater was monitoring and the influence of rainfall as well as the geographical height was evaluated in relation with the values found. It was measured the concentration of nitrate in samples collected monthly in eight zones inside of the aquifer. The average concentration of nitrate was 10.75 mg per liter of nitrate of nitrogen ($\text{N-NO}_3^-/\text{L}$) in the total of wells studied, where the highest concentration found was 48 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$. The overall results were analyzed statistically and it was found that the nitrate concentration of 56% of wells, increased to higher rainfall. The wells located in high geographic areas have concentrations, on average, below 3 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$. Based on the results, globally; the nitrate concentration in the aquifer does not exceed the maximum allowed by the norm. However,

punctually, there are contaminated wells above the norm, especially in areas of low to medium altitude.

Key words: Puebla Valley aquifer, pollution evolution, nitrate

INTRODUCCIÓN

El nitrato (NO_3^-) en agua subterránea tiene su origen de diversos factores. Destacan las operaciones de granjas y establos con la aplicación de excretas de animales en áreas cultivables, la aplicación de fertilizantes nitrogenados y pesticidas en la agricultura de riego y temporal y la presencia de tanques sépticos (Canter, 1997, Filintas, 2005, Pacheco y Cabrera, 2003).

La toxicidad por el consumo de agua contaminada con nitrato es sobre todo severa en infantes, estos adquieren una coloración azulosa en la piel como consecuencia de la anoxia celular producida por la fijación del nitrito en la hemoglobina, haciéndola incapaz de transportar/transferir oxígeno en la sangre (Manassaram et.al, 2006), lo que se conoce como “Síndrome del bebé azul” ó metahemoglobinemia (Canter, 1997). Existen reportes donde alrededor del 80% a 90% de los casos de metahemoglobinemia en el mundo se asocian con una concentración más allá de 100 mg NO_3^-/L , es decir, 22.5 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$ (Oakes, 1996). En mujeres embarazadas, el consumo de agua contaminada con nitrato provoca abortos espontáneos y defectos de nacimiento en el sistema nervioso central (Manassaram et.al, 2006). De acuerdo con diversas investigaciones (Díaz, 2004, Filintas, 2005, Hill, 1996), el nitrito al reaccionar con el grupo amino (NH_2) de las proteínas induce la formación de compuestos químicos con potencial carcinogénico llamados nitrosaminas, que pueden ser causa de cáncer. La Organización Mundial de la salud recomienda un valor de referencia para la concentración de nitrato en agua para consumo humano con exposición a corto plazo de 50 mg/L y para el ión nitrito (NO_2^-) de 3 mg/L, teniendo este último el valor de 0.2 mg/L si la exposición al ión es prolongada (OMS, 2006). En México la Norma-127-SSA1, 1994 establece un límite expresado en nitrógeno de 10 mg

$\text{N-NO}_3^-/\text{L}$, equivalente a $44.3 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$. Cabe destacar que la norma mexicana está basada en la guía para la calidad del agua potable de la Organización Mundial de la Salud de 1985. Como se observa, las recomendaciones hechas en 2006 por la OMS son menos estrictas, que en años anteriores argumentando que no se han detectado casos de metahemoglobinemia en lactantes expuestos a concentraciones de $50 \text{ mg de NO}_3^-/\text{L}$ (OMS, 2006). Esta situación causa controversia, pues el valor de referencia se establece sólo tomando en cuenta los efectos toxicológicos del nitrato y no el riesgo que representan los acuíferos al contaminarse como consecuencia de las actividades industriales y/o agrícolas, que por supuesto pone en riesgo la calidad del agua a futuro.

En México se tienen registrados 653 acuíferos, de los cuales 103 se encuentran sobreexplotados (CNA, 2008). En el 2007 la intensidad del uso del agua subterránea calculada como el cociente de la extracción de agua subterránea por la recarga media de los acuíferos, excedió de manera significativa a la recarga en algunas regiones. En el mismo año, 17 acuíferos presentaban problemas de intrusión salina. El usuario con mayor volumen concesionado de agua subterránea en el periodo 2000-2007 fue el sector agropecuario, seguido por el abastecimiento público e industrial (Semarnat, 2009).

De acuerdo a la Comisión Nacional de Agua (CNA) en el año 2003, los sitios de monitoreo de los cuerpos de agua superficiales presentaban concentraciones en un intervalo de entre $0.2 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$, y $10 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$, **figura 1**. Cabe destacar que la CNA califica los cuerpos de agua con tendencia a la eutrofización a partir de $5 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$. (Semarnat, 2005).

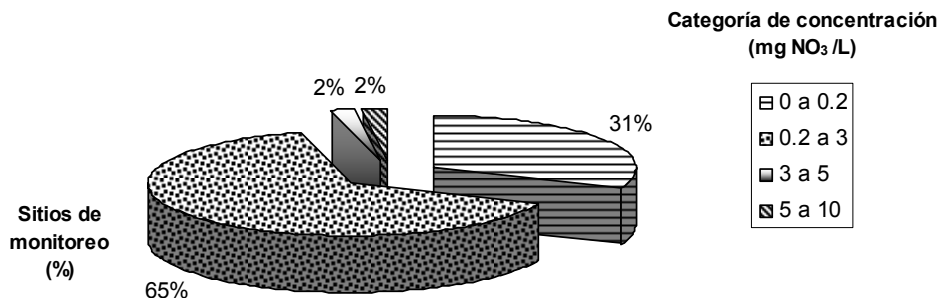


Figura 1. Concentración de nitrato en aguas superficiales.

Actualmente la CNA no tiene reportes actualizados de esta región en cuanto a niveles de concentración de nitrato en aguas subterráneas (Semarnat, 2005), por lo que es importante contar con datos vigentes que permitan conocer el impacto de la contaminación urbana, rural, industrial y de los fertilizantes agrícolas sobre la concentración de nitrato en los acuíferos.

Es de notable importancia subrayar que las actividades agrícolas e industriales en la zona del acuífero Valle de Puebla son muy practicadas. Puebla se encuentra dentro de los 11 estados del país que concentran el 80% de la superficie fertilizada a nivel nacional y las sales de nitrógeno son los fertilizantes de mayor aplicación en la agricultura (FIRA, 2009). Además, los asentamientos de industrias metalúrgicas, automotrices y textiles que descargan sus efluentes hacia ríos que atraviesan el acuífero, vulneran la calidad del agua subterránea. Al no existir datos del contenido de nitrato (o nitrito) en el acuífero, se desconoce si está en riesgo la salud de más de dos millones de habitantes que consumen agua de este acuífero.

Dada la falta de información en cuanto a la calidad de agua en el acuífero Valle de Puebla se procedió a evaluarla. Se monitoreó mensualmente la concentración de nitrato y nitrito en 16 pozos ubicados en ocho diferentes municipios localizados en el acuífero. Los resultados muestran que siete pozos, en total, rebasan el límite permitido por la norma 127, estos pozos se concentran en los municipios de mediana a baja altitud y sólo algunos presentan influencia de la

precipitación pluvial sobre la concentración de nitrato. La concentración de nitrato más elevada, correspondiente a uno de los pozos estudiados, fue de 48 mg N-NO₃⁻/L, rebasando en mas de cuatro veces la norma nacional que lo rige.

METODOLOGÍA

a) Ubicación de la zona

El área del acuífero Valle de Puebla comprende de la capital del estado de Puebla hasta sus límites con la Sierra Nevada, cubriendo una superficie aproximada de 2,000 km², se localiza entre los paralelos 18°54' y 19°28', y entre los meridianos 98°01' y 98°40' al oeste de Greenwich.

Partiendo de la hipótesis de que la altura geográfica guarda relación con la concentración de nitrato en los mantos acuíferos, se realizó un análisis para seleccionar los pozos a estudiar considerando la ubicación y altura geográfica. Primeramente se seleccionaron ocho municipios comprendidos dentro de la extensión del acuífero, designados con numeración en la **figura 2**.

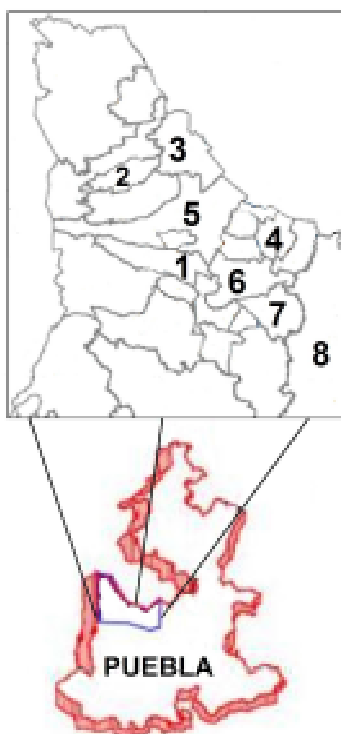


Figura 2. Localización del Acuífero Valle de Puebla. Sitios de muestreo 1.- Calpan. 2.-San Felipe Teotlalcingo. 3.-San Martín Texmelucan. 4.-Coronango. 5.- Huejotzingo. 6.-San Pedro Cholula. 7.-San Andrés Cholula. 8.-Puebla

Los municipios de mayor altitud, con respecto al nivel del mar, fueron Calpan (1) y San Felipe Teotlalcingo (2); de mediana altitud Coronango (4), San Martín Texmelucan (3), y Huejotzingo (5) y por último de baja altitud San Pedro Cholula (6), San Andrés Cholula (7) y Puebla (8).

b) Muestreo de pozos.

Se llevó a cabo un monitoreo mensual durante un año, de marzo de 2009 a febrero de 2010, de niveles de nitrito y nitrato, en 16 pozos. Los pozos se encuentran distribuidos dentro de los ocho municipios mencionados arriba como sigue: Calpan: uno, Coronango: uno, Huejotzingo: cinco, Puebla: uno, San Andrés Cholula: dos, San Felipe Teotlalcingo: uno, San Martín Texmelucan: cuatro, San Pedro Cholula: uno. Para facilitar la identificación los pozos, las claves así como las coordenadas de ubicación y altura se asignaron de acuerdo a la **tabla I**.

Tabla I. Municipios, coordenadas de localización y clave de pozos monitoreados durante un año.

Municipio	Localidad / Lugar de muestreo	Clave Pozo	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)
Calpan	Calpan	Calpan	19°06'20"	98°27'55"	2437
Coronango	Mihuacán	Coronango	19°08'57"	98°08'42"	2207
Huejotzingo	Los Carrizos	Huejo 1	19°09'21"	98°24'30"	2273
	Segundo	Huejo 2	19°09'24"	98°24'30"	2273
	El Manzano	Huejo 3	19°09'48"	98°24'14"	2279
	Santa Ana Xalmimilulco	Huejo 4	19°12'30"	98°22'39"	2224
	Manuel Acuña	Huejo 5	19°09'03"	98°24'17"	2289
Puebla	Balcones	Puebla	18°57'29"	98°13'51"	2104
San Andrés	Tonantzintla	San Andrés 1	19°01'49"	98°19'13"	2160
Cholula	Cacalotepec	San Andrés 2	19°00'34"	98°17'44"	2159
San Felipe Teotlalcingo	San Felipe Teotlalcingo	San Felipe Teotlalcingo	19°14'13"	98°29'51"	2402
San Martín Texmelucan	Colorado	San Martín 1	19°16'22"	98°27'29"	2304
	San Buenaventura Tecaltzingo. Centro	San Martín 2	19°14'47"	98°27'37"	2331
	San Buenaventura Tecaltzingo. Suroeste	San Martín 3	19°14'26"	98°28'15"	2331
	San Cristóbal Tepatlaxco	San Martín 4	19°18'01"	98°27'16"	2270
	La Magdalena	San Pedro Ch.	19°03'09"	98°19'03"	2160

El muestreo se realizó conforme a lo indicado en la NOM 014-SSA1-1993. Al momento de su recolección se tomaron las lecturas de temperatura, conductividad y potencial de hidrógeno. Para la lectura de conductividad se tomo como referencia la norma NMX-AA-093-SCFI-2000, y la norma NMX-AA-008-SCFI-2000 como referencia para la medición del potencial de hidrógeno. Las lecturas fueron realizadas con un medidor de pH, temperatura, conductividad marca Conductronic, modelo PC-18. La calibración del potenciómetro fue realizada con buffer fosfatos de pH 4 y 7 (J. T. Baker, Méx.) y la calibración de la sonda de conductividad fue realizada con una solución de cloruro de potasio (J. T. Baker, Méx.) 0.01 M de 1413 μ S de conductividad. Las muestras fueron conservadas a 4 °C hasta el momento de su análisis.

c) Análisis de Nitritos y Nitratos.

El análisis de nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) se realizó con un HPLC-UV marca Agilent Technologies Series 1100 y una columna aniónica IC-PACK con grupo funcional de aminas cuaternarias de 4.6 mm x 150 mm con tamaño de partícula 10 μm y capacidad de $30 \pm 3 \mu\text{eq/mL}$ (Waters, Millipore, Milford, MA, USA). Se realizó una curva de calibración con una mezcla de estándares de concentración conocida de nitrito de sodio (Merck, Méx.) y nitrato de sodio (J.T. Baker, Mex) de 0 a 50 mg NO_2^-/L y 0 a 100 mg de NO_3^-/L . La cromatografía fue desarrollada a temperatura ambiente con una fase móvil de pH 8.5 compuesta de un buffer de borato de sodio (J.T. Baker, USA) gluconato de sodio (Sigma-Aldrich, France), butanol (J.T. Baker, Mex), acetonitrilo (J.T. Baker, USA) y agua desionizada con una velocidad de flujo de 2 mL/min y un volumen de inyección de muestra de 5 μl . La fase móvil fue filtrada antes de su uso al igual que las muestras recolectadas a través de un filtro marca Millipore de 47 mm de diámetro y tamaño de poro de 0.45 μm . El detector UV con arreglo de diodo (UV-DAD) fue ajustado a una longitud de 214 nm. Se confirmaron los tiempos de retención del ión nitrito a 6 minutos a 10 minutos y para el ión nitrato.

d) Análisis de datos.

Los datos encontrados después del monitoreo anual fueron analizados mediante la estadística descriptiva del programa Microsoft Excel 2003, además se realizaron pruebas de hipótesis para conocer si las concentraciones de nitrato de los pozos analizados representaban el valor promedio de todo el acuífero. Los diagramas de isoconcentración fueron contruidos mediante la técnica *natural neighbor*, con el programa Surfer 32 versión 9.9.785 (Golden Software Inc. 1993-2010).

RESULTADOS.

a) Propiedades químicas generales

Los valores de pH obtenidos durante el año de muestreo de los 16 pozos se encuentran dentro del límite permitido por la norma 127, oscilan entre 6.6 y 7.7, **figura 3**. El valor más alto (8.28) lo presentó el pozo San Andrés 2 en el mes de junio. El valor más bajo fue 6.25 en el pozo San Martín 4 en el mes de junio y este pozo presentó la conductividad más elevada en el mes de febrero que coincide con la concentración más alta de nitrato para este pozo. Cabe destacar que para la conductividad no existe una limitación por parte de la norma mexicana.

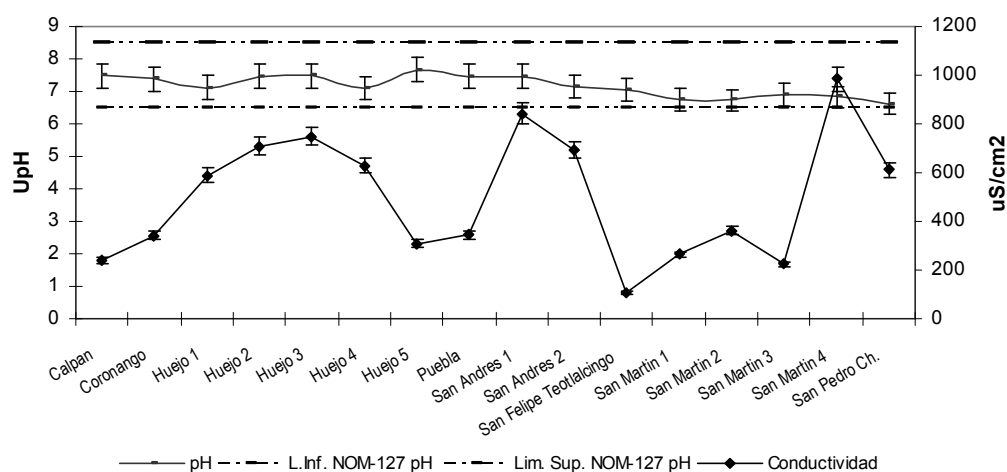


Figura 3. Promedio anual pH y conductividad en pozos monitoreados.

b) Iones de interés.

En cuanto a los iones analizados, no hubo evidencia de la presencia de nitrito (NO_2^-) en ninguno de los pozos monitoreados a lo largo de doce meses, **figura 4**. Sin embargo, los iones nitrato (NO_3^-) presentaron tendencias diversas en los pozos monitoreados durante éste periodo. La concentración de este ión fué variable y diferente en cada pozo, donde siete de ellos rebasaron la concentración permitida por la norma.

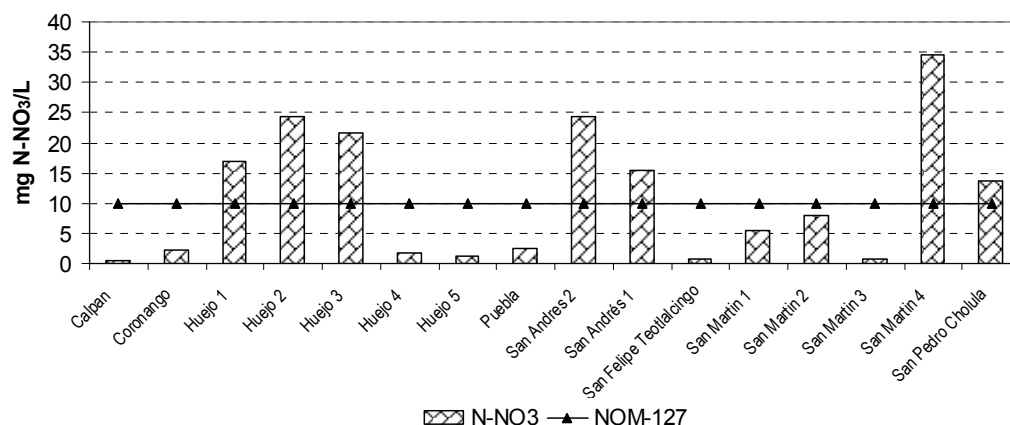


Figura 4. Concentración promedio anual de N-NO₃ por pozo monitoreado.

La **figura 5** muestra las concentraciones promedio anuales de N-NO₃ en cada municipio. Se encontró una concentración anual promedio de 10.75 mg N-NO₃/L, los datos indican que de los 16 pozos monitoreados existen siete con concentración de nitrato superior al límite permitido por la norma y estos se localizan en los municipios de San Andrés Cholula, San Pedro Cholula, Huejotzingo y San Martín Texmelucan. Los pozos de San Andrés Cholula en promedio alcanzaron una concentración mayor de nitrato, aunque fué en el municipio de San Martín Texmelucan, donde se localiza el pozo San Martín 4, que presentó un valor muy por encima de la norma (48 mg N-NO₃/L), situación que no se refleja en el promedio al no presentar una concentración similar el resto de los pozos de ese municipio.

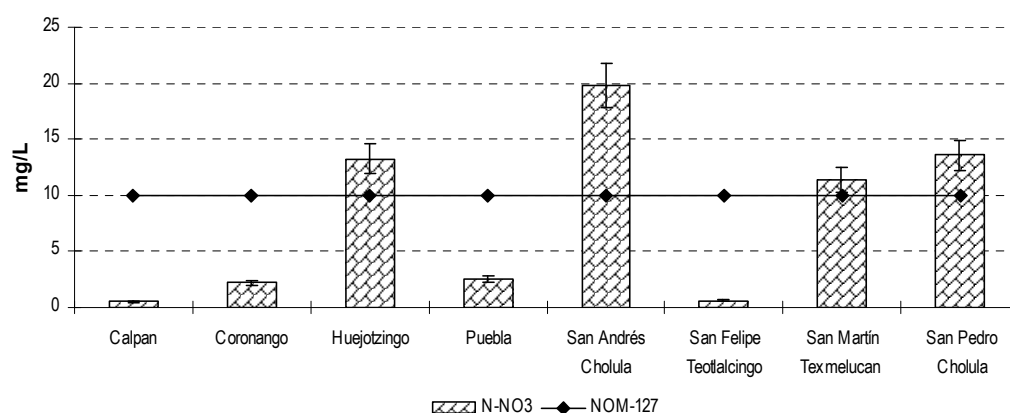


Figura 5. Concentración promedio anual de N-NO₃ por Municipio.

De manera general, las isolíneas obtenidas a partir de los datos experimentales, con la concentración anual promedio de nitrato, muestran tres lentes que coinciden con los municipios donde se localizan los pozos con mayor concentración de nitrato. En la **figura 6** es posible observar estos tres lentes que muestran un patrón de distribución espacial orientado hacia los municipios de San Martín Texmelucan, Huejotzingo, San Andrés y San Pedro Cholula, es decir, los municipios mas contaminados se encuentran en las zonas de mediana y baja altura del acuífero en estudio. Lo anterior indica que es posible obtener más pozos contaminados con nitrato dentro de esta área.

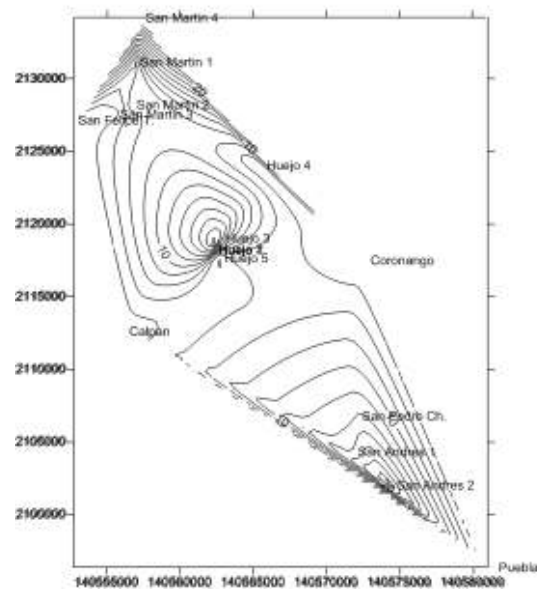


Figura 6. Isolíneas de concentración de nitrato ($\text{mg N-NO}_3/\text{L}$) en el agua subterránea de 8 municipios del Acuífero Valle de Puebla.

DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados encontrados no muestran una tendencia propiamente, de tal manera que se mencionaran puntualmente los pozos con un comportamiento significativo. El pozo San Martín 4 resultó ser el más pernicioso por los altos niveles de nitrato, su concentración alcanzó $48 \text{ mg N-NO}_3/\text{L}$ en febrero de 2009. Sin embargo, este pozo en muestreos posteriores, presentó una disminución en su concentración aproximadamente a la mitad de la inicial, para volver a incrementarla en los meses finales del muestreo (Sep/09 a Feb/10), sin

alcanzar la concentración más alta de todo el año. Los pozos donde se detectó la menor concentración, fueron Calpan y San Felipe Teotlalcingo, en promedio, 0.5 mg N-NO₃⁻/L y 0.6 mg N-NO₃⁻/L respectivamente. Es importante mencionar que la comunidad de San Felipe Teotlalcingo se abastece de agua a partir de los deshielos del volcán Iztaccihuatl y las muestras fueron tomadas de las cajas almacenadoras de agua que abastecen a la población. La concentración máxima alcanzada en este municipio fue de 1.6 mg N-NO₃⁻/L en el mes de agosto de 2009.

Se observó que la concentración de nitrato sólo de algunos pozos estudiados incrementó cuando inició el periodo de lluvias. La **figura 7** muestra la tendencia de aquellos que si mostraron esta directriz; el pozo San Felipe Teotlalcingo, **figura 7A**, a pesar de su baja concentración, muestra un claro incremento con la máxima precipitación pluvial en el mes de septiembre, lo mismo sucedió en Calpan al aumentar la concentración de nitrato con relación al incremento de la precipitación pluvial, sin embargo disminuyó en el mes de agosto para incrementarse nuevamente en el mes más lluvioso. La **figura 7B** muestra que el pozo Huejo 5 y el pozo San Martín 3 presentaron picos de concentración al inicio del periodo de lluvias disminuyendo de forma inmediata al siguiente mes, regresando a su concentración inicial. El pozo Huejo 4 presentó cierta variabilidad en su concentración cuando la precipitación pluvial comenzó a incrementarse alcanzando el pico mayor en octubre, un mes después del mes más lluvioso.

En la **figura 7C**, se observa que el pozo San Andrés 1 presentó una clara elevación de la concentración de nitrato en el mes con mayor precipitación pluvial para disminuir gradualmente en los meses posteriores. En cuanto al pozo de San Pedro Cholula presentó una ligera elevación en el mes de agosto. Situación contraria presentaron el pozo Huejo 1 y el pozo San Martín 2 con un aparente efecto de dilución al inicio de las lluvias y en el punto más alto de las mismas, **figura 7D**.

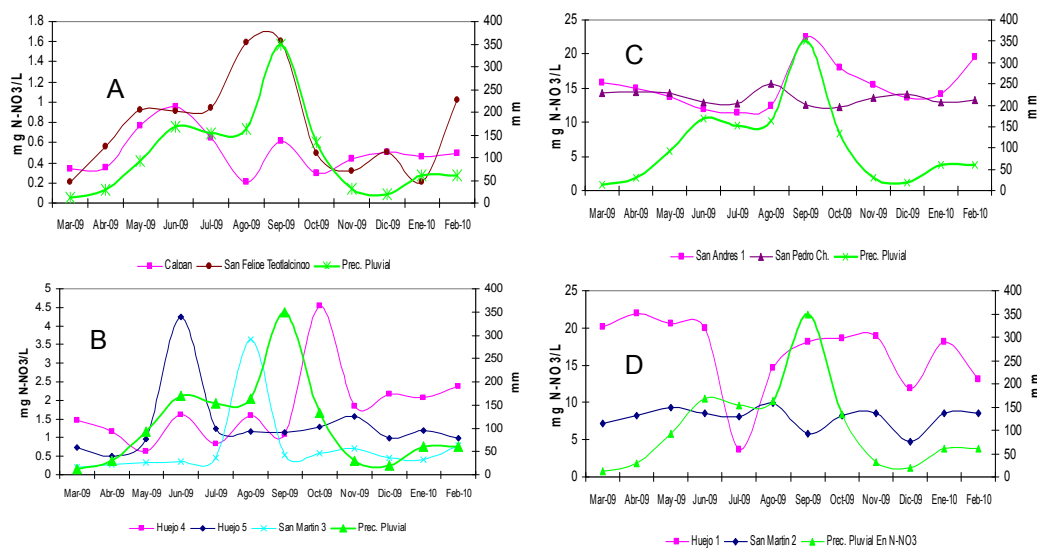


Figura 7. Concentración mensual de nitrato en pozos afectados por precipitación pluvial. A.- Calpan y San Felipe Teotlalzingo. B.- Huejo 4, Huejo 5 y San Martín 3. C.- San Andrés 1 y San Pedro Cholula. D.-Huejo1 y San Martín 2.

La concentración de nitrato de los siete pozos restantes permaneció constante durante todo el año de monitoreo, y no fué posible observar influencia por la precipitación pluvial sobre la concentración de nitrato, ejemplo de ello es el pozo San Martín 4, figura 8.

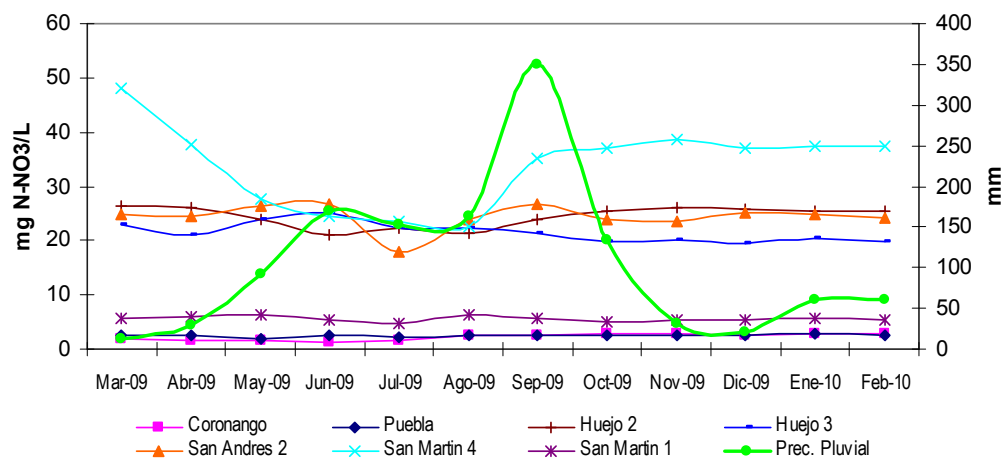


Figura 8. Concentración mensual de nitrato en pozos no afectados por precipitación pluvial

Los resultados que se han encontrado en esta zona de estudio, en cuanto a NO_3^- , no difieren de lo que algunos autores ya han reportado. Oakes (1996), indica que la tendencia en los cambios de concentración de nitrato en agua superficial y subterránea son difíciles de establecer debido a que las concentraciones cambian lentamente y la diferencia entre años es comúnmente menor que las fluctuaciones dentro de cada año de monitoreo. Esta situación parece extrapolarse al presente trabajo, al encontrar pozos cuyas concentraciones han fluctuado en los meses que presentaron la mayor precipitación pluvial y con pozos cuya concentración no se alteró mes con mes. Desafortunadamente, al no contar con antecedentes de años previos no es posible observar si las diferencias entre las medias de cada año son significativas.

Es importante señalar que además de las actividades agrícolas, existen otros factores que pueden afectar la concentración de nitrato en los acuíferos, como lo es el uso y tipo de suelo, que favorece o resiste la filtración del agua de lluvia que arrastra al ión nitrato y la variabilidad meteorológica; la profundidad de los pozos, el tipo de agricultura y la frecuencia de fertilización y la época del año en que son aplicados a los cultivos, lo que origina cambios a la alza en la filtración del nitrato hacia los depósitos de agua (Hill, 1996)

Como se ha explicado, la precipitación pluvial es la variable meteorológica que ha afectado significativamente la concentración de algunos pozos de este acuífero y se desconoce si esta afectación es constante año con año.

También se observa que los pozos contaminados se concentran en zonas de mediana a baja altitud, sin que se tenga certeza que la altura sea la variable que propicie la diferencia de concentración de nitrato con respecto a la precipitación pluvial.

CONCLUSIONES

En promedio la concentración de nitrato encontrada en 16 pozos de 8 municipios comprendidos dentro del acuífero Valle de Puebla no supera

significativamente el límite permitido por la norma mexicana. Sin embargo el 44% de los pozos analizados presentan niveles de nitrato que puede significar un riesgo para la salud de la población que consume agua de estos pozos. Se encontró que el 56% de los pozos monitoreados durante un año presentaron variaciones en la concentración de nitrato, variaciones que parecen guardar una relación directa con la precipitación pluvial. No es posible concluir que las variaciones en la concentración de nitrato sólo se deban a la precipitación pluvial ya que existen otros factores que la pueden afectar y que no fueron estudiados en el presente trabajo, sin embargo si se observa que los pozos con mayores niveles de nitrato se concentran en los municipios de mediana a baja altitud.

Es importante resaltar que si no se consideran límites más estrictos y se toman acciones pertinentes para evitar la contaminación de acuíferos, pronto se tendrán concentraciones más allá de 50 mg NO₃⁻/L.

AGRADECIMIENTOS.

Ruby Brenes y Rosario Ruiz agradecen el financiamiento para la realización de este trabajo a CONACyT FOMIX-PUEBLA 77298.

REFERENCIAS

Canter L.W. (1997). *Nitrates in Groundwater*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 261 p.

Comisión Nacional del Agua [CNA]. (2008). *Estadísticas del Agua en México, 2008*. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, 228 p.

Ćurčić J.M., Djukic M., Vasiljevic I., Ninkovic M., y Jovanovic M. (2007). Determination of nitrate by the IE-HPLC-UV method in the brain tissues of Wistar rats poisoned with paraquat. J. Serb. Chem. Soc. 72 (4), 347-356.

Díaz D. (2004). Oxido Nítrico Mutagénesis y Cáncer. Rev. Cubana Invest. Biomed. 23 (3), 184-189.

Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura [FIRA]. (2009). *El Mercado de los Fertilizantes en México: Situación Actual y perspectiva 2009*. Dirección de Análisis Económico y Sectorial, México, 25 p.

Filintas, T. Ag., (2005). Land Use Systems with emphasis on Agricultural Machinery, Irrigation and Nitrates Pollution, with the use of Satellite Remote Sensing, Geographic Information Systems and Models, in Watershed level in Central Greece. MSc Thesis, Department of Environmental Studies, Faculty of Environment, University of Aegean, Mitilini, Greece. 122 p.

Hill M. (1996). *Nitrates and nitrites from food and water in relation to human disease. En: Nitrates and nitrites in food and water*. (Woodhead Publishing Limited, Ed) Cambridge, England. pp 163-187.

Massamaram M.D., Backer L.C., Moll D.M. (2006). A review of nitrates in drinking water: maternal exposure and adverse reproductive and developmet outcomes. Environ. Health Persp. 114, 320-327.

Modificación a la Norma Oficial Mexicana. NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

NMX-AA-008-SCFI-2000. Análisis de Agua-Determinación del pH-Método de Prueba.

NMX-AA-093-SCFI-2000. Determinación de conductividad electrolítica - Método de Prueba.

Norma Oficial Mexicana. NOM 014-SSA1-1993 Procedimientos Sanitarios para el Muestreo de Agua para Uso y Consumo Humano en Sistemas de Abastecimiento de Agua Públicos y Privados.

Pacheco J., Cabrera A. (2003). Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. Ing. Rev. Académica. 7(2), 47-54.

Oakes, D. (1996). Nitrate in water. En: Nitrates and nitrites in food and water. (Woodhead Publishing Limited, Ed) Cambridge England. pp 33-58.

Organización Mundial de la Salud. (2006). Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1, Recomendaciones. Ediciones de la OMS, Ginebra, 398 p.

Secretaría del medio Ambiente y Recursos Naturales [Semarnat]. (2009). El Medio Ambiente en México 2009: en Resumen. Dirección General de Estadística e Información Ambiental, México, 53 p.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [Semarnat]. (2005) Indicadores básicos del desempeño ambiental de México 2005. Tomado del sitio <http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/snua/Pages/snua.aspx>

Velazco, K., Noguera, N., Jiménez, L *et al.* (2009). Evaluación de nitratos y nitritos lixiviados en un sistema de pastoreo intensivo usando fertilizantes nitrogenados. Rev. Fac. Agron. 26, 23-38.

4.2 ANALISIS DE LA CONCENTRACION DE METALES PESADOS EN EL ACUIFERO VALLE DE PUEBLA.

Ruby BRENES-ALCÁNTARA^a, Rosario RUIZ-GUERRERO^{a*}, Margarita TEUTLI^b, Myrna SOLIS-OBA^a

^aCentro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN(CIBA-Tlax),Carr. Estatal San Inés Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5, Tepetitla. Tlaxcala, 90700, México e-mail: *maruizg@ipn.mx

^bFacultad de Ingeniería. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla., Av. San Claudio s/n Ciudad Universitaria, Puebla, Puebla.72592, México.

RESUMEN

Durante un año se monitoreo la concentración de metales pesados en el agua subterránea del Acuífero Valle de Puebla y se evaluó su variación en concentración considerando la influencia de la precipitación pluvial así como la altitud geográfica. Se determinó la concentración de cobre, cadmio, manganeso, plomo y zinc en muestras recolectadas mensualmente en pozos de agua localizados en ocho municipios ubicados dentro del Acuífero. Estadísticamente se evaluó la totalidad de los resultados, encontrando que el total de los pozos analizados presentaron contaminación por cadmio y plomo, donde las concentraciones mas altas registradas en todo el monitoreo rebasan por 10 y 70 veces, respectivamente, el límite máximo permitido por la norma mexicana NOM-127-SSA1-1994. Un municipio presentó contaminación por manganeso, cuyo pozo más contaminado presenta valores que rebasan el límite de la norma 4 veces. Las concentraciones de cobre y zinc se encontraron dentro del límite establecido por la normatividad mexicana. Las concentraciones de los metales analizados fueron variables y difirieron de un pozo a otro. Se encontró que en el caso del cobre existió correlación entre la concentración y la dilución por precipitación pluvial, no así para el resto de los metales. Sin embargo, cadmio y plomo representan un problema serio de contaminación en todos los pozos monitoreados.

Palabras clave: acuífero Valle de Puebla, contaminación por metales pesados, agua potable.

ABSTRACT

During one year the concentration of heavy metals was studied in the Puebla Valley aquifer, the variation in their concentration was evaluated considering the influence of rainfall as well as the geographical altitude. The concentration of copper, cadmium, manganese, lead and zinc was quantified in eight zones inside of the aquifer. All the results were evaluated statistically, and it was found that the total wells tested were contaminated with cadmium and lead. The highest concentrations recorded in the study exceeded in 10 and 70 times, respectively, the maximum concentration allowed by the Mexican norm NOM-127-SSA1-1994. One zone presented contamination with manganese, which is the most contaminated well, exceeding the standard limit 4 times. The copper and zinc concentrations were within the limits established by Mexican regulations. The concentrations of the metals analyzed were variable and differed from well to well. In the case of copper, was found a correlation between concentration and dilution by rainfall, but not for the other metals. However, cadmium and lead represent a serious problem of pollution in all monitored wells.

Keywords: Puebla Valley aquifer, heavy metal pollution, drinking water

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la presencia de metales pesados en agua potable se debe a diversos factores, algunos son atribuidos al uso de fertilizantes y pesticidas. Sin embargo, la OMS no atribuye a todos este origen; tal es el caso del cobre, plomo y zinc cuya presencia en agua la atribuye a la corrosión del interior de tuberías. Para esta organización el cadmio que se libera al ambiente proviene de aguas residuales y fertilizantes. No obstante, soldaduras, tuberías galvanizadas y accesorios metálicos de

plomería así como pilas eléctricas pueden ser fuente de contaminación del agua con este metal. En muchas fuentes de agua superficial y subterránea el manganeso se encuentra de forma natural sobre todo en condiciones anaerobias o de microoxidación, sin embargo, niveles altos de manganeso son asociados a contaminación industrial (OMS, 2006).

No obstante, diversas investigaciones en aguas superficiales y subterráneas han detectado contaminantes provenientes de diversos tipos de fertilizantes y pesticidas, que pueden contener desde iones hasta contaminantes nitrogenados y elementos traza como metales pesados (Herrero y Martin, 1993, Moon y Moon, 1999, Nouri y Mahvi, 2006). Otros investigadores reportan que la contaminación de suelo, productos agrícolas, atmósfera, agua subterránea y superficial es debida, principalmente, a diferentes tipos de fertilizantes y pesticidas agrícolas cuya aplicación en los cultivos suele ser excesiva (Mikayilov y Acar, 2006). Lo anterior contradice las explicaciones que la OMS da a la presencia de metales como plomo, zinc y cobre en el agua.

Los efectos en la salud que conlleva el consumir agua contaminada con metales pesados son diversos, según la OMS el consumo de agua contaminada con cobre ocasiona efectos gastrointestinales, el cadmio se acumula principalmente en riñones y aunque no existen pruebas de que sea carcinógeno por esta vía si lo es por inhalación. El manganeso, a pesar de ser un elemento esencial para los humanos, produce efectos neurológicos adversos tras la exposición prolongada a concentraciones muy altas en el agua de consumo o por inhalación. El plomo se acumula en el esqueleto siendo los lactantes, niños y mujeres embarazadas la población más vulnerable a sus efectos tóxicos para el sistema nervioso central y periférico que inducen efectos neurológicos extraencefálicos y conductuales; también afecta el metabolismo del calcio y vitamina D, aunado a su posible carcinogenicidad. Por otra parte, hasta el momento la OMS, más allá de alteraciones gustativas del agua, no ha reportado afectaciones a la salud por el consumo de agua contaminada con zinc (OMS, 2006).

Sin duda, en el suelo se da un gran número de reacciones, así como efectos entre organismos y sustancias que determinarán el aprovechamiento de fertilizantes y pesticidas. Estos efectos van desde la disolución, transporte, alteraciones hidrológicas relacionadas a la irrigación, hasta efectos que incluyen cambios en las reacciones agua-roca en suelos y acuíferos, causados por el incremento en las concentraciones de oxidantes disueltos, protones y iones (Elhatip y Kavurmaci, 2003).

Lo anterior ayuda a comprender la movilidad en suelo y agua de los metales pesados, presencia que no sólo depende de su concentración, sino de las propiedades intrínsecas del metal como es la movilidad propiamente, controlada por procesos químicos y bioquímicos tales como precipitación-disolución, adsorción-desorción, complejación-disociación y oxidación-reducción, tipo de suelo y factores ambientales (He et al, 2005, Moore et al, 1998).

De acuerdo a la Comisión Nacional del Agua (CNA), en México se tienen registrados 653 acuíferos, de los cuales 103 se encuentran sobreexplotados (CNA, 2008). Un acuífero importante es el Acuífero Valle de Puebla donde actividades agrícolas e industriales son muy practicadas. Puebla se encuentra dentro de los 11 estados del país que concentran el 80% de la superficie fertilizada a nivel nacional (FIRA, 2009). Además, los asentamientos de industrias metalúrgicas, automotrices y textiles que descargan sus efluentes hacia ríos que atraviesan el acuífero vulneran la calidad del agua subterránea.

Actualmente la CNA no tiene reportes de esta región en cuanto a niveles de concentración de metales pesados en aguas subterráneas (SEMARNAT 2005), por lo que es importante contar con datos actualizados que permitan conocer el impacto de la contaminación urbana, rural, industrial y de los fertilizantes agrícolas sobre la concentración de metales pesados en los acuíferos.

A falta de información de la calidad de agua en el acuífero Valle de Puebla en cuanto a metales pesados, se procedió a hacer una evaluación, para lo cual se

monitoreó mensualmente, durante un año la concentración de cinco metales pesados en 16 pozos ubicados en ocho diferentes municipios localizados en el acuífero. Se buscó que los pozos estudiados se encontraran en una disposición geográfica tal que su monitoreo permitiera evaluar el grado de contaminación a diferentes altitudes geográficas del terreno, esto es, desde las faldas del volcán Iztaccihuatl, hasta el valle de Puebla. Los resultados muestran en el 100% de los pozos, concentraciones de cadmio y plomo que rebasaron el límite permitido por la norma NOM-127-SSA1-1994. En uno de los municipios monitoreados, Huejotzingo, se detectaron concentraciones de manganeso que rebasaron el límite permitido por la misma norma. Por otra parte, el cobre y zinc se encontraron dentro de los límites permitidos. Sin embargo, no existen tendencias claras, para todos los metales estudiados, que relacionen a la precipitación pluvial como un factor que afecte la concentración de estos metales, no así con la altitud geográfica de los pozos donde parece ser que son las zonas de mediana altitud las que concentran los pozos más contaminados.

METODOLOGÍA

a) Ubicación de la zona

El área del Acuífero Valle de Puebla comprende de la capital del estado de Puebla hasta sus límites con la Sierra Nevada, cubriendo una superficie aproximada de 2,000 km², se localiza entre los paralelos 18°54' y 19°28', los meridianos 98°01' y 98°40' al oeste de Greenwich.

Se realizó un análisis para seleccionar los pozos a estudiar considerando su ubicación y así cubrir diversas alturas geográficas: mayor (de 2400 a 2500 msnm), mediana (de 2200 a 2400 msnm) y baja altitud (de 2100 a 2200 msnm). De manera general estos pozos abarcaron zonas con grandes superficies de cultivo. Se seleccionaron ocho municipios comprendidos dentro de la extensión del acuífero, que incluyeron un total de 16 pozos repartidos en la zona, estos se encuentran distribuidos como sigue: Calpan: uno, Coronango: uno, Huejotzingo: cinco, Puebla: uno, San Andrés Cholula: dos, San Felipe

Teotlalcingo: uno, San Martín Texmelucan: cuatro, San Pedro Cholula: uno. Para facilitar la identificación los pozos se asignaron claves como se indica en la **Tabla I**. Así mismo esta tabla indica coordenadas de ubicación y altura de los pozos seleccionados.

Tabla I. Ubicación de los pozos y claves de identificación.

Municipio	Localidad / Lugar de muestreo	Clave Pozo	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)	Criterio de altura
Calpan	Calpan	CLP	19°06'20"	98°27'55"	2437	Mayor
Coronango	Mihuacán	CRN	19°08'57"	98°08'42"	2207	Mediana
Huejotzingo	Los Carrizos	HJ1	19°09'21"	98°24'30"	2273	Mediana
	Segundo	HJ2	19°09'24"	98°24'30"	2273	
	El Manzano	HJ3	19°09'48"	98°24'14"	2279	
	Santa Ana Xalmimilulco	HJ4	19°12'30"	98°22'39"	2224	
	Manuel Acuña	HJ5	19°09'03"	98°24'17"	2289	
Puebla	Balcones	PUE	18°57'29"	98°13'51"	2104	Baja
San Andrés	Tonantzintla	SA1	19°01'49"	98°19'13"	2160	Baja
Cholula	Cacalotepec	SA2	19°00'34"	98°17'44"	2159	
San Felipe Teotlalcingo	San Felipe Teotlalcingo	SFT	19°14'13"	98°29'51"	2402	Mayor
San Martín Texmelucan	Colorado	SM1	19°16'22"	98°27'29"	2304	Mediana
	San Buenaventura Tecaltzingo. Centro	SM2	19°14'47"	98°27'37"	2331	
	San Buenaventura Tecaltzingo. Suroeste	SM3	19°14'26"	98°28'15"	2331	
	San Cristóbal Tepatlatxco	SM4	19°18'01"	98°27'16"	2270	
San Pedro Cholula	La Magdalena	SPC	19°03'09"	98°19'03"	2160	Baja

La **figura 1** esquematiza la ubicación en el estado de Puebla de los municipios seleccionados, que se extienden desde las faldas del volcán Iztaccihuatl hasta el valle de Puebla.

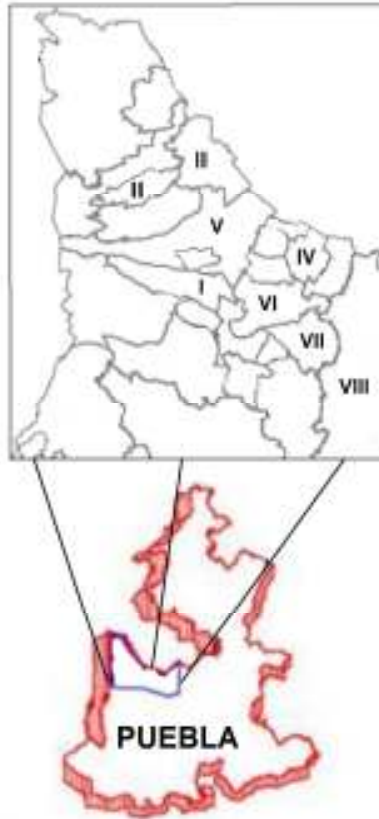


Figura 1. Localización del Acuífero Valle de Puebla y municipios de muestreo
 I.-Calpan. II.-San Felipe Teotlalcingo. III.-San Martín Texmelucan. IV.-
 Coronango. V.-Huejotzingo. VI.-San Pedro Cholula. VII.-San Andrés Cholula.
 VIII.-Puebla.

b) Muestreo de pozos.

Durante un año, de marzo de 2009 a febrero de 2010, se llevó a cabo un monitoreo mensual de 16 pozos, comprendidos en 8 municipios para evaluar la concentración de los siguientes metales: cobre, cadmio, manganeso, plomo y zinc. El muestreo se realizó conforme a lo indicado en la NOM 014-SSA1-1993. Al momento de la recolección se tomaron las lecturas de temperatura, conductividad y potencial de hidrógeno. Las muestras fueron acidificadas con ácido nítrico (HNO_3) y conservadas a 4°C y hasta el momento de su análisis.

c) Análisis Metales Pesados.

El análisis de metales pesados se realizó con un espectrofotómetro de Absorción Atómica marca GBC Scientific con una flama aire/acetileno a la longitud de onda correspondiente. Las muestras fueron analizadas siguiendo el procedimiento de la norma NMX-AA-051-SCFI-2001, para ello se construyó una curva de calibración con estándares de concentración conocida para cada metal con las siguientes concentraciones: cobre (Merck, Alemania) de 0 a 5 µg/mL, cadmio (Merck, Alemania) de 0 a 1.8 µg/mL, manganeso (Merck, Alemania) de 0 a 3 µg/mL, plomo (J.T.Baker, EUA) de 0 a 9 µg/mL y zinc (J.T.Baker, EUA) de 0 a 1.5 µg/mL. La determinación de metales pesados fue desarrollada a temperatura ambiente y las muestras fueron filtradas a través de un filtro Millipore de 47 mm de diámetro y tamaño de poro de 0.45 µm. Las absorbancias registradas fueron procesadas con el programa de computo GBC Avanta versión 1.33.

Las concentraciones límite para metales pesados en agua potable, recomendados por la OMS han sido adoptadas por la normatividad mexicana y asentadas en la modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Tales valores son mostrados en la **tabla II** y han sido tomados en cuenta en este trabajo para discutir los resultados.

Tabla II. Valores de referencia y límites permisibles para metales pesados.

Metal Pesado	Valor de referencia OMS mg/L	Límite Permisible NOM-127 mg/L
Cobre	2	2
Cadmio	0.003	0.005*
Manganeso	0.4	0.15
Plomo	0.1	0.01
Zinc	No es necesario +	5*

*Tomados de las recomendaciones de la OMS publicadas en 1984, el valor de zinc se basa solo en consideraciones gustativas.
+Las recomendaciones de la OMS de 1993 consideraron no necesario calcular un valor de referencia.

d) Análisis de datos.

Se utilizó el programa Surfer 9 para construir mapas de isoconcentración de los cinco metales monitoreados mediante la técnica Kriging.

RESULTADOS

En el total de los pozos, los valores en la concentración de los metales pesados monitoreados durante un año difirieron para cada metal y en cada pozo. En la **figura 2** se muestran los resultados promedio para cobre en los diferentes municipios. Como puede observarse la mayoría se hallan entre 0.106 y 0.178 $\mu\text{g/mL}$, y para zinc, entre 0.024 y 0.076 $\mu\text{g/mL}$, **figura 3**. Los límites permitidos por la norma NOM-127-SSA1-1994 para estos metales son más amplios que para el resto de los metales analizados en este estudio (2 $\mu\text{g/mL}$ para cobre y 5 $\mu\text{g/mL}$ para zinc), por lo que estos metales no representaron un problema de contaminación en ninguna de las muestras de agua recolectadas en todo este periodo.

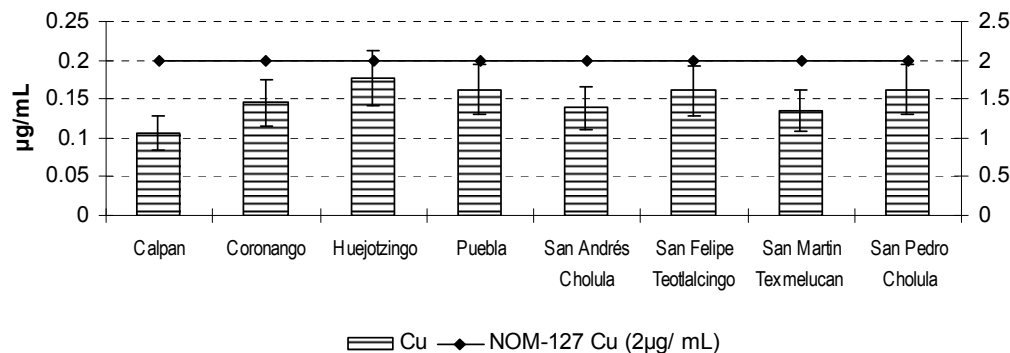


Figura 2. Concentración promedio anual de cobre por municipio.

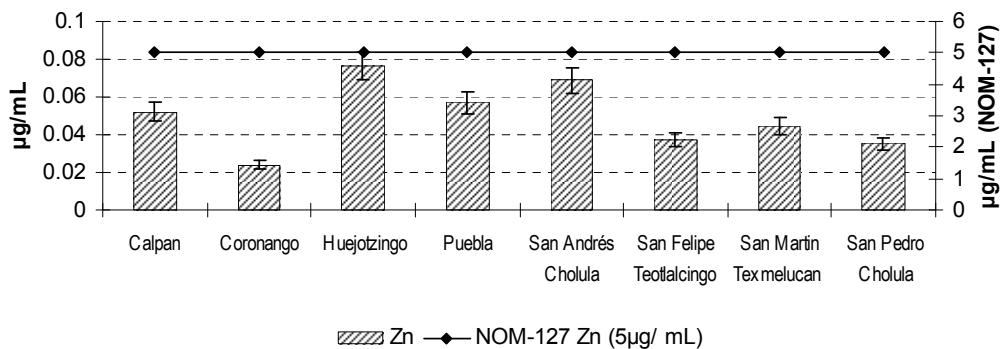


Figura 3. Concentración promedio anual de zinc por municipio.

Sin embargo, las concentraciones de manganeso, cadmio y plomo rebasaron el límite máximo permitido por la norma mexicana. En la **figura 4** se observa que el manganeso presentó altas concentraciones en la mayoría de los pozos analizados en el municipio de Huejotzingo.

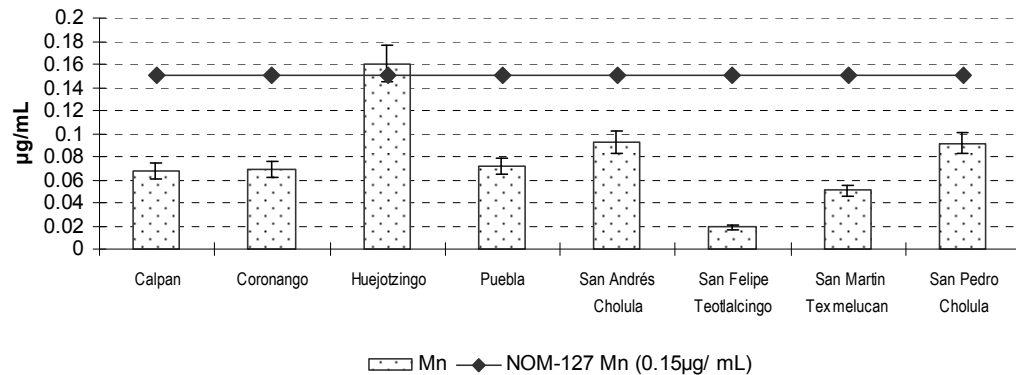


Figura 4. Concentración promedio anual de manganeso por municipio.

Al menos en cuatro meses de muestreo en este municipio, cuatro de cinco pozos monitoreados presentaron niveles de manganeso por encima del límite establecido por la norma. Los resultados del muestreo puntual para manganeso en el municipio de Huejotzingo se presentan en la **figura 5** y como puede observarse, los valores más altos de manganeso lo presentó el pozo HJ4, mientras que el pozo HJ5, presentó una concentración superior al límite (0.228 µg/mL) sólo durante un mes. Concentración que no afectó el promedio anual, por lo que no es posible afirmar que este pozo (HJ5) represente un problema de contaminación con este metal en el periodo de muestreo.

En cuanto a las concentraciones que se encontraron para cadmio y plomo los valores se pueden considerar alarmantes. El promedio anual de la concentración de estos metales en los pozos de los municipios más contaminados rebasaron 2.9 y 25.5 veces respectivamente los límites que dicta la norma mexicana.

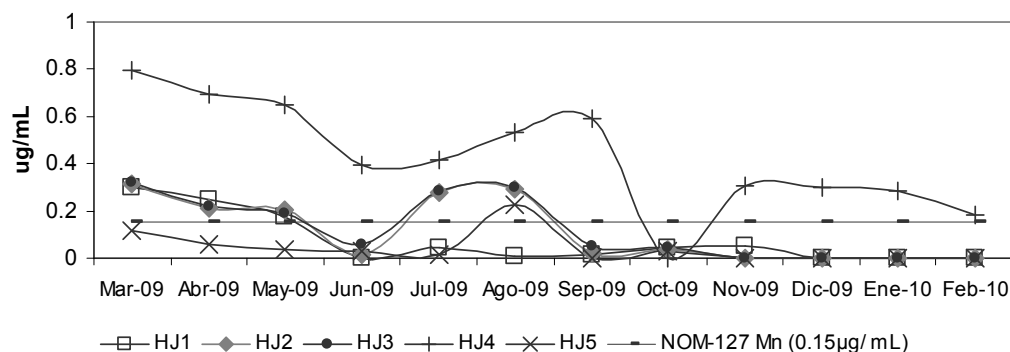


Figura 5. Concentración mensual de manganeso en pozos del municipio de Huejotzingo.

De manera puntual, el valor más alto en la concentración de cadmio registrado durante el monitoreo fue 0.053 $\mu\text{g/mL}$ en el pozo SM1, en enero de 2009. El valor más bajo fue 0.001 $\mu\text{g/mL}$ y se presentó en los pozos HJ1 y SA1. La **figura 6** muestra los resultados promedio de cadmio para todos los pozos analizados en cada municipio, durante el monitoreo.

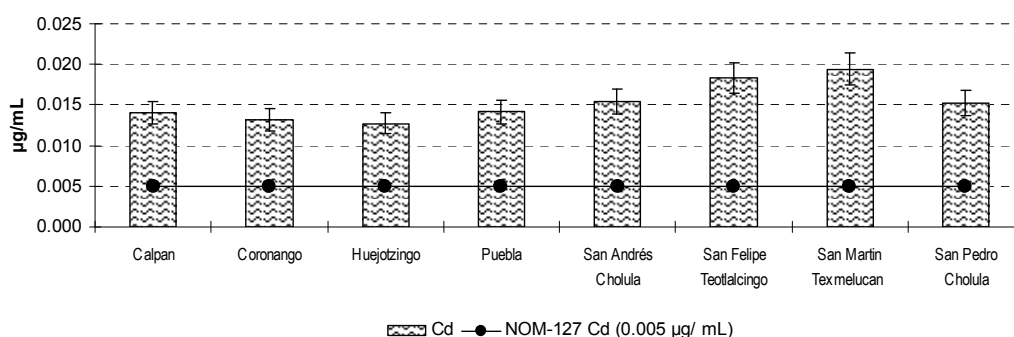


Figura 6. Concentración promedio anual de cadmio por municipio.

Para el caso de plomo el valor más alto fue 0.710 $\mu\text{g/mL}$ en el pozo SM4 en agosto de 2009 y el más bajo fue 0.045 en el pozo CRN. Es importante destacar que el municipio con la más alta concentración promedio anual de plomo fue San Andrés Cholula, **figura 7**, a pesar de que el pozo más contaminado, puntualmente en un mes, correspondió al municipio de San Martín Texmelucan (SM4).

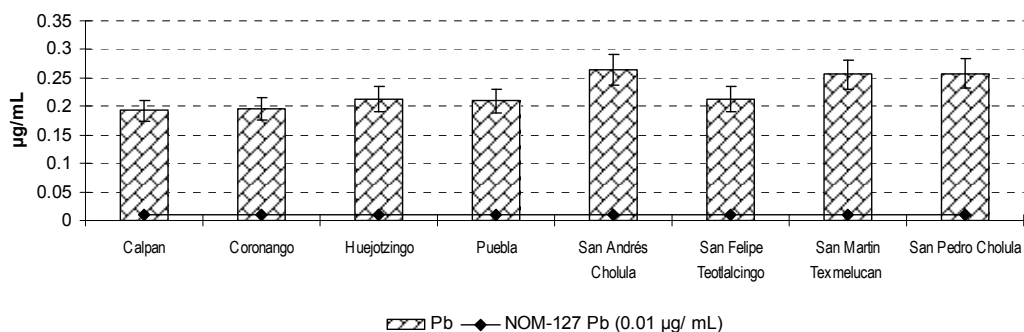


Figura 7. Concentración promedio anual de plomo por municipio.

Las figuras 8a a 8e muestran las isolíneas de concentración promedio anuales obtenidas a partir de los datos experimentales, para los diferentes metales monitoreados. En la **figura 8a**, se identifican para el cobre cuatro lentes, el más intenso ubicado en el municipio de Huejotzingo donde se detectó la concentración más alta del metal. La **figura 8b** muestra para el zinc, tres lentes formados, localizados en los municipios de Huejotzingo, San Martín Texmelucan y San Felipe Teotlalcingo. El pozo HJ4 concentraron los mayores niveles de manganeso de todos los pozos monitoreados, situación que se observa en el lente formado en la **figura 8c**. Para el caso de cadmio es posible observar tres lentes en la **figura 8d**, el principal se concentra en los municipios de San Martín Texmelucan y San Felipe Teotlalcingo. Por último la **figura 8e** muestra los cinco lentes formados de plomo en toda la superficie monitoreada del acuífero, siendo el área más intensa la localizada en el municipio de San Andrés Cholula.

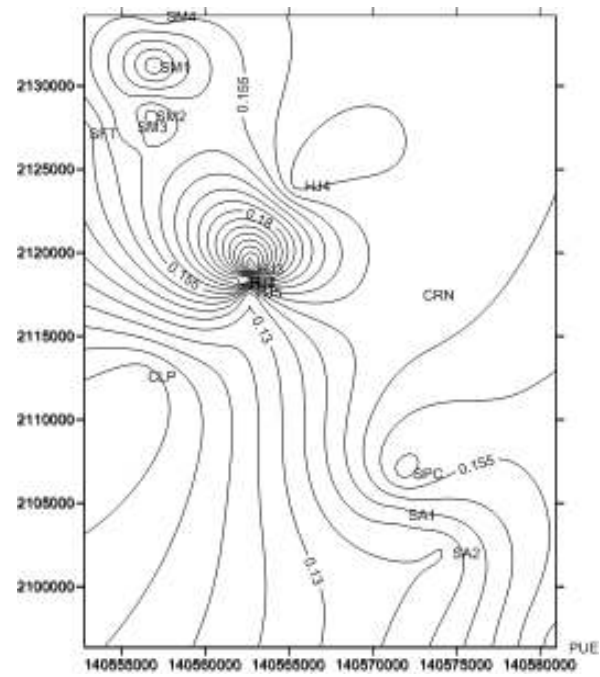


Figura 8a. Isolíneas de concentración de cobre en pozos monitoreados.

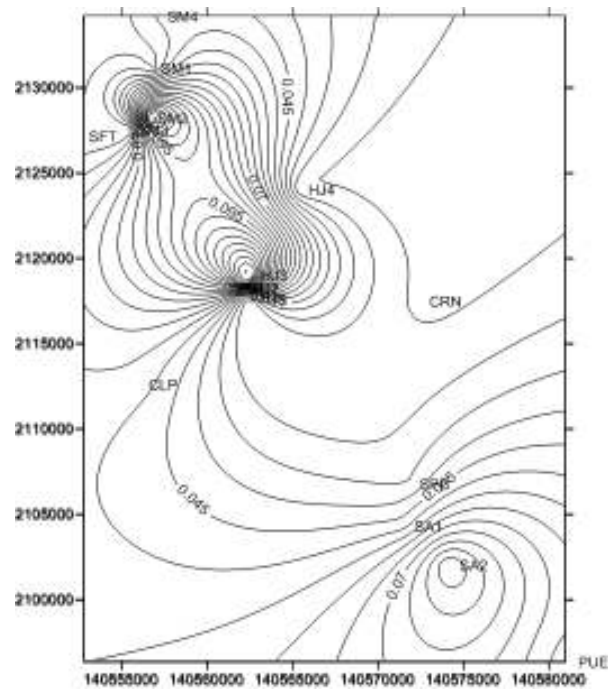


Figura 8b. Isolíneas de concentración de zinc en pozos monitoreados.

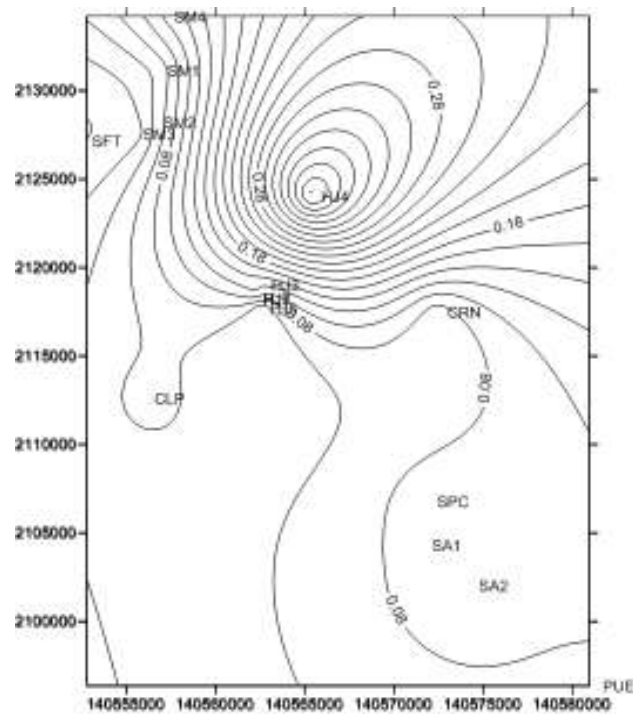


Figura 8c. Islíneas de concentración de manganeso en pozos monitoreados.

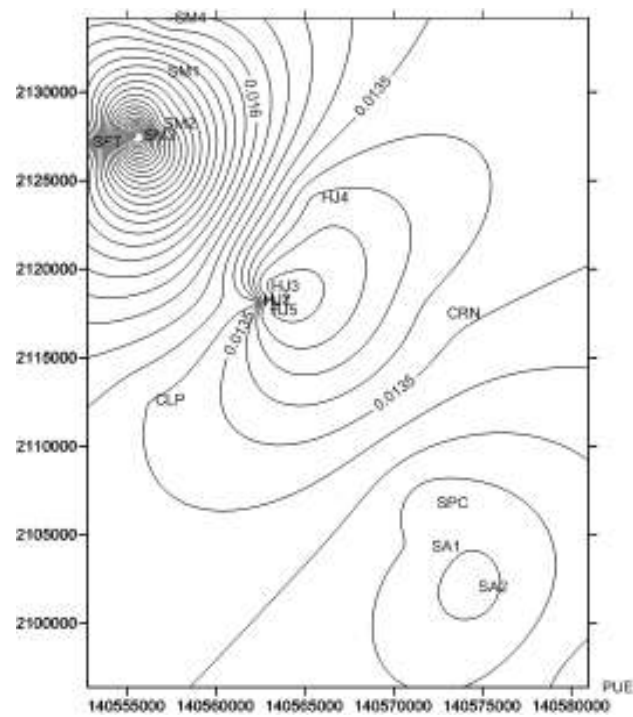


Figura 8d. Islíneas de concentración de cadmio en pozos monitoreados.

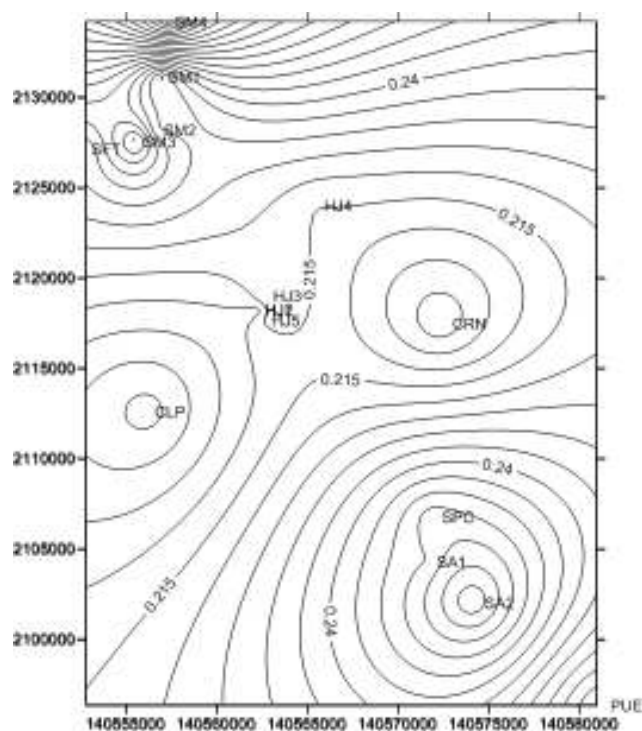


Figura 8e. Isolíneas de concentración de plomo en pozos monitoreados.

DISCUSION DE RESULTADOS

Se observó que las concentraciones de los metales analizados fueron variables y difirieron de un pozo a otro, excepto para el cobre que presentó una concentración similar en todos los pozos, después de iniciado el periodo de lluvia. La **figura 9** muestra el comportamiento mensual de la concentración de cobre, donde se observa que la concentración disminuyó significativamente en toda el área de estudio cuando la precipitación pluvial comenzó a incrementarse en el mes de mayo. A partir de este mes, las concentraciones se mantuvieron prácticamente constantes sin alcanzar los niveles iniciales, es decir, aparentemente la lluvia generó un efecto de dilución en la concentración de este metal. El pozo HJ3 representa una excepción a lo antes mencionado, ya que mostró un ligero incremento en los meses de noviembre y diciembre 2009 y febrero de 2010.

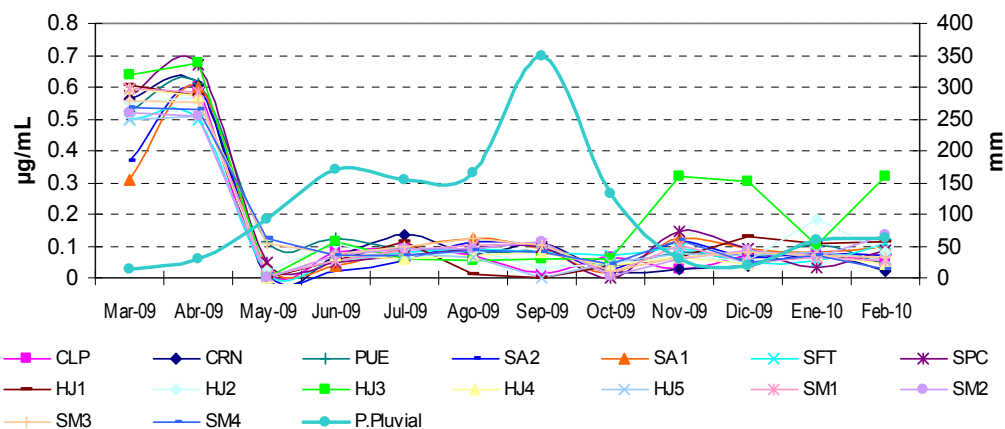


Figura 9. Concentración mensual de cobre en pozos del Acuífero Valle de Puebla.

El zinc no representó problema de contaminación en los pozos monitoreados. Los resultados se muestran en la **figura 10**, como puede observarse mantuvieron una concentración relativamente constante a lo largo de doce meses que duró el monitoreo, sin que en apariencia, la precipitación pluvial ejerciera influencia sobre la concentración de este metal.

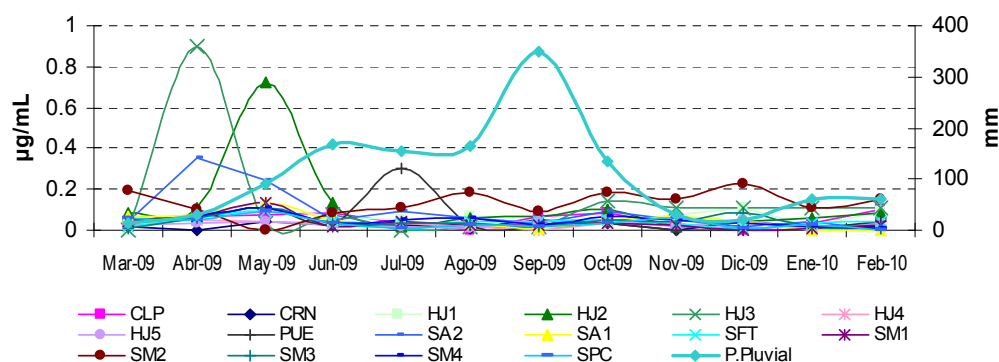


Figura 10. Comportamiento mensual de zinc en pozos cuya concentración permaneció casi constante durante 12 meses de monitoreo.

En el caso del cadmio el comportamiento difiere notablemente de los anteriormente descritos. Por motivos de claridad los resultados se subdividen en pozos donde su concentración presentó una tendencia similar, **figura 11**, mientras que pozos que no presentaron esta tendencia se agrupan en la **figura 12**.

En todos los pozos de la **figura 11**, excepto el pozo SM3, la concentración de cadmio disminuyó en el periodo marzo 2009 a mayo 2009) exhibiendo un incremento de concentración cuando la precipitación pluvial inició. Posteriormente, cuando la precipitación pluvial se intensificó, las concentraciones disminuyeron, para finalmente sufrir un incremento sólo en el mes de noviembre regresando a niveles bajos de cadmio en los meses finales del monitoreo.

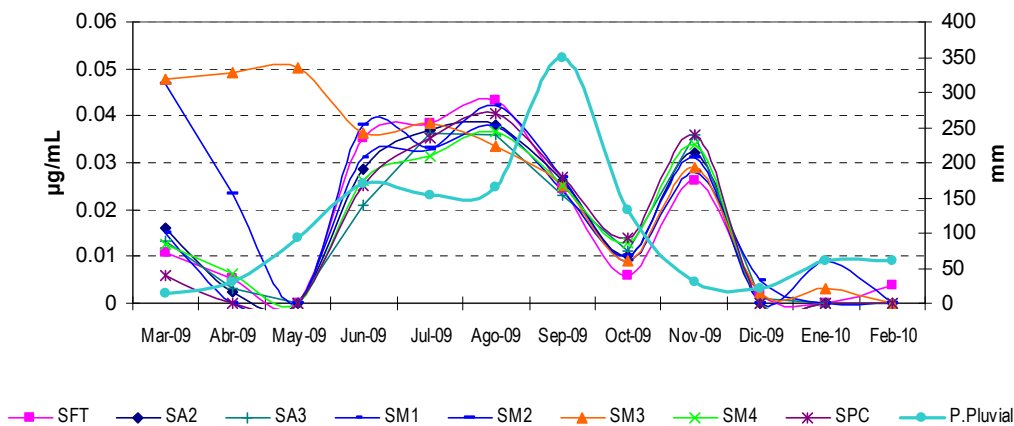


Figura 11. Concentración mensual de cadmio en pozos de cuatro municipios del Acuífero Valle de Puebla.

Cabe destacar que la zona que presentó una contaminación mucho más fuerte por este metal se encuentra en zona de mediana altura respecto al resto de los municipios, pero en esta área se practica la agricultura de manera intensiva, (pozo SM3). No se debe ignorar que la industria química y petroquímica se encuentra establecida en esta región, lo que puede ser el factor determinante en los niveles de cadmio encontrados.

En la **figura 12** se presentan las tendencias de los pozos CLP, CRN, HJ1, HJ2, HJ3, HJ4, HJ5 y PUE. Las concentraciones aquí reportadas tienen la particularidad de encontrarse todas por encima de la norma, además de pertenecer a pozos que se encuentran entre alta, mediana y baja altitud. La agricultura se practica menos intensamente que en la región donde se ubican

los pozos discutidos en la **figura 11** y tal vez esto justifique una ligera disminución en su concentración.

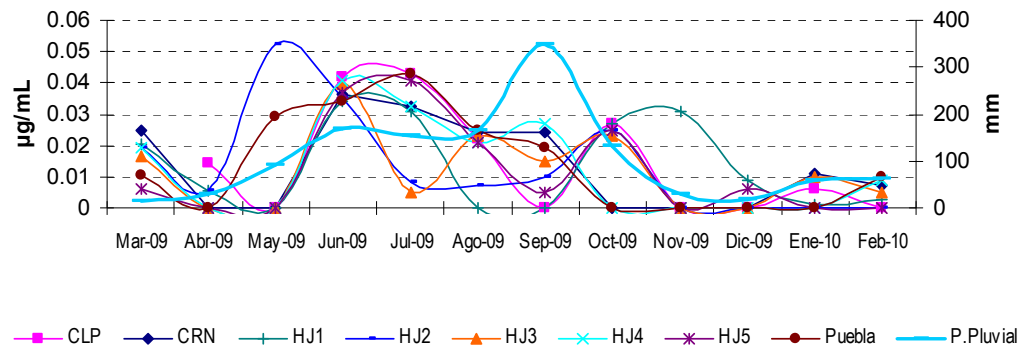


Figura 12. Concentración mensual de cadmio en pozos de los municipios de Calpan, Coronango, Huejotzingo y Puebla.

Como se mencionó con anterioridad, manganeso es el metal que presentó altos niveles de concentración con respecto a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 en sólo uno de los municipios monitoreados. En el municipio de Huejotzingo se monitorearon 5 pozos de los cuales HJ4, resultó ser el más nocivo, **figura 13**. La concentración de cadmio en este pozo disminuyó hacia el mes de junio cuando la precipitación pluvial comenzó a incrementarse, aumentando paralelamente con esta hacia los meses de septiembre y disminuyó drásticamente en octubre, al cese de las lluvias. Lo cual indicaría que fue transportado por escorrentía.

El comportamiento de los resultados obtenidos para los otros pozos del municipio: HJ1, HJ2, HJ3, y HJ5 fue muy similar entre ellos. Cuando inició el periodo de lluvias se presentó un efecto de dilución, durante los meses en que la precipitación pluvial fue constante, la concentración de manganeso tiene tendencia a aumentar ligeramente, diluyéndose drásticamente en la temporada de lluvias más intensa.

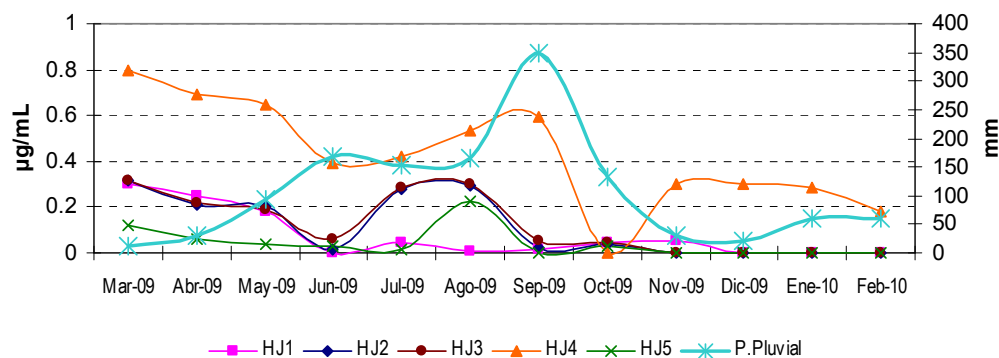


Figura 13. Comportamiento de la concentración mensual de manganeso en pozos del municipio de Huejotzingo y su relación con la precipitación pluvial.

De acuerdo con la **figura 14**, la concentración del metal se incrementó en los pozos CRN, PUE, SA1, SA2, SM1, SM2, SM3, SM4 y SPC cuando la precipitación pluvial se intensificó (septiembre 2009). El pozo CLP presentó el pico de concentración un mes antes que el resto de los pozos mencionados (agosto 2009). Esto puede justificarse considerando que el pozo CLP se encuentra más alto respecto al resto, y al incrementarse las lluvias el metal pudiera migrar a zonas más bajas.

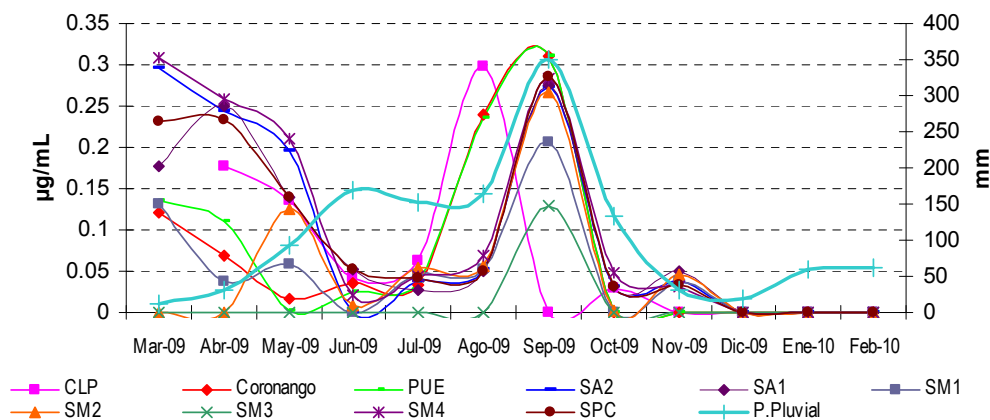


Figura 14. Concentración mensual de manganeso en seis municipios del Acuífero Valle de Puebla.

En cuanto al plomo, los pozos: CLP, CRN, HJ1, HJ2, HJ3, HJ4 y PUE presentaron tendencias equivalentes en las concentraciones monitoreadas a lo largo de todo el periodo, **figura 15**. La concentración fue alta en todos estos

pozos en época de sequías, incrementándose con las primeras lluvias, pero con un efecto de dilución, cuando la época de lluvias se intensificó y permaneciendo en niveles bajos nuevamente al empezar la época de sequia, volviendo a sus niveles iniciales en los primeros dos meses de 2010.

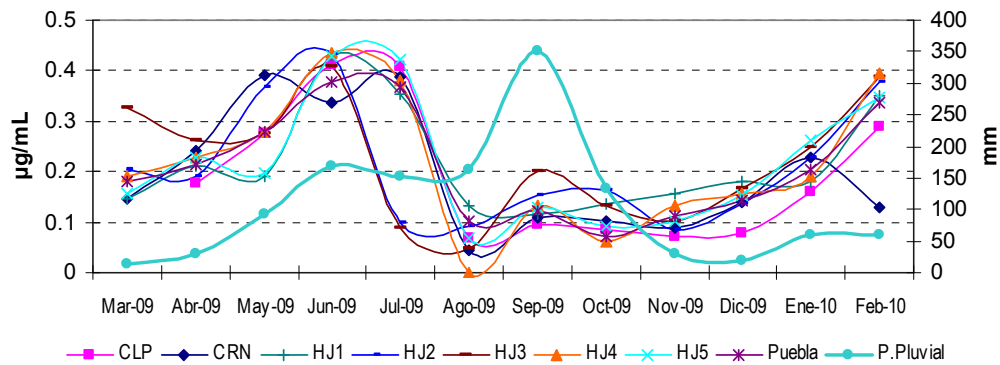


Figura 15. Comportamiento de la concentración mensual de plomo en pozos de Calpan, Coronango, Huejotzingo y Puebla y su relación con la precipitación pluvial.

En los pozos: SA1, SA2, SFT, SM1, SM2, SM3, SM4 y SPC se cuantificó un aumento gradual en la concentración de plomo conforme la intensidad de las lluvias incrementó, **figura 16**. Sin embargo en septiembre, cuando se registró la mayor precipitación pluvial la concentración de plomo disminuyó drásticamente, alcanzando los niveles iniciales inmediatamente después de terminada la época de lluvias.

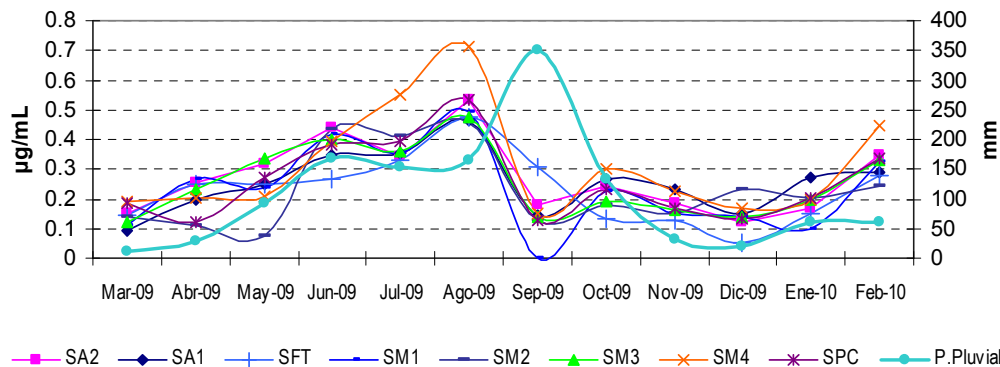


Figura 16. Comportamiento de la concentración mensual de plomo en pozos de San Andrés Cholula, San Felipe Teotlalcingo, San Martín Texmelucan y San Pedro Cholula y su relación con la precipitación pluvial.

La concentración de los metales analizados en cada uno de los pozos, con respecto a la altitud geográfica, se observa a partir de las isolíneas de concentración de cada metal, corresponde a los municipios de mediana altitud en donde se concentran los pozos más contaminados para cada metal. Por ejemplo el municipio Huejotzingo considerado con el criterio de mediana altitud respecto al resto de los municipios presentó los más altos niveles de cobre, zinc y manganeso. El municipio de San Martín Texmelucan también considerado de mediana altitud presentó los más altos niveles de concentración de cadmio. Dato curioso se presenta con el metal plomo, ya que el municipio más contaminado en este metal fue San Andrés Cholula (baja altitud), sin embargo el pozo más contaminado pertenece al municipio de San Martín Texmelucan (mediana altitud) y fue el pozo SM4. Lo anterior tiene relación con el mapa que muestra el nivel estático en el Acuífero Valle de Puebla, **figura 17**, (Bautista, 2009) donde es posible observar que los municipios de San Martín Texmelucan y Huejotzingo tienen un nivel estático entre 15 y 20 metros, es decir el agua se encuentra a poca profundidad. Aunado a esto la conductividad hidráulica del acuífero en los municipios mencionados tiene valores entre 8 y 7 m/día, considerados de alta conductividad, lo cual es indicativo de una alta capacidad de filtración del suelo y así como arrastre de materiales contaminantes que pueden rápidamente alcanzar el acuífero al contar con niveles estáticos tan poco profundos. De acuerdo con estudios previos, el acuífero en estudio presenta vulnerabilidad alta a la contaminación, lo anterior se concluye considerando la topografía del acuífero, en la cual predomina la pendiente suave, y la composición del acuífero constituida principalmente por materiales permeables del Cuaternario (Bautista, 2009).

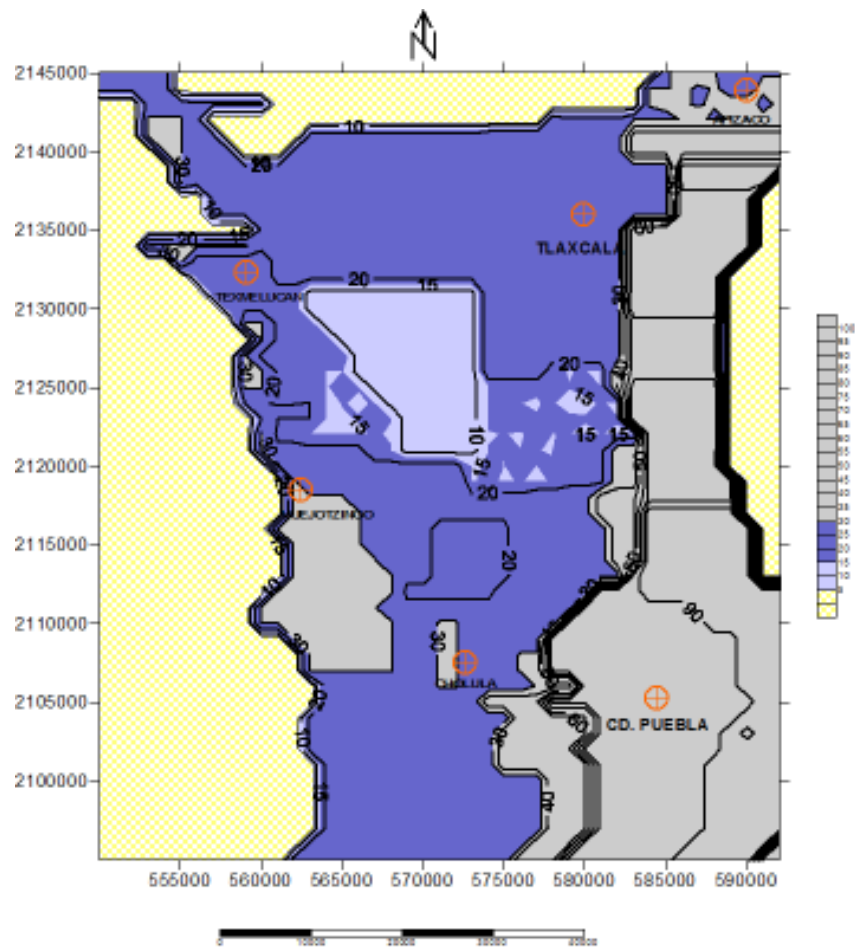


Figura 17. Nivel estático en el Acuífero Valle de Puebla.

CONCLUSIONES

La concentración de metales pesados encontrada en 16 pozos de 8 municipios comprendidos dentro del acuífero Valle de Puebla fue diferente para cada pozo y para cada metal. Los metales cadmio y plomo superaron significativamente el límite permitido por la norma mexicana, mientras que manganeso no representó un problema de contaminación en los pozos analizados excepto por el municipio de Huejotzingo. La concentración encontrada de cobre y zinc se encuentra dentro de los límites permitidos por la normatividad mexicana. Debido a que los metales pesados se acumulan en el suelo de varias formas tienen diferentes niveles de movilidad hacia los acuíferos, la cual no solo

depende de la concentración sino de las propiedades del suelo, del metal y de factores ambientales. Como se pudo observar los municipios de Huejotzingo y San Martín Texmelucan presentaron los mayores niveles de concentración en los metales analizados, además la variabilidad observada con respecto a la precipitación pluvial y considerando el nivel estático, la conductividad hidráulica y el tipo de suelo del acuífero en general, es posible que la contaminación presentada en esos municipios tenga un origen antropogénico.

AGRADECIMIENTOS.

Ruby Brenes y Rosario Ruiz agradecen el financiamiento para la realización de este trabajo al proyecto CONACyT FOMIX-PUEBLA 77298.

REFERENCIAS

Bautista S. (2009). *Mapa de vulnerabilidad a la contaminación del Acuífero del Valle de Puebla, Método Drástico*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ingeniería. Colegio de Ingeniería Geofísica. Puebla, Méx. 64 p.

Comisión Nacional del Agua [CNA]. (2008). *Estadísticas del Agua en México, 2008*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, 228 p.

Elhatip H. y Kavurmaci M. (2003). Influences of human activities and agriculture on groundwater quality of Kayseri-Incesu-Dokuzpinar springs, Central Anatolian part of Turkey. *Environ Geol.* 44, 490-494.

Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura [FIRA]. (2009). *El Mercado de los Fertilizantes en México: Situación Actual y perspectiva 2009*. Dirección de Análisis Económico y Sectorial, México, 25 p.

He Z.L., Yang X.E. y Stoffella P.J. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol.* 19, 125-140.

Herrero T.C. y Martín L.F. (1993). Evaluation of cadmium levels in fertilized soils. *Bull Environ Contam Toxicol.* 50, 61-68.

Mikayilov F.D. y Acar B. (1998). Investigation and modelling of contaminant's movement processes within the soils ecosystems. Cev Kor. 28, 20-23.

Modificación a la Norma Oficial Mexicana. NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

Moon J.W., Moon H.S., Woo N.C. y Hahn J.S. (1999). Evaluation of heavy metal contamination and implication of multiple sources from Hunchun basin, northeastren China. Environ Geol. 30, 1039-1052.

Moore P.A., Daniel T.C., Gilmour J.T., Shreve B.R., Edwards D.R. y Wood B.H. (1998). Decreasing metal runoff from poultry litter with aluminum sulfate. J Envriion Qual. 27, 9-92.

NMX-AA-051-SCFI-2001. Análisis de agua-Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Método de Prueba.

Norma Oficial Mexicana. NOM 014-SSA1-1993 Procedimientos Sanitarios para el Muestreo de Agua para Uso y Consumo Humano en Sistemas de Abastecimiento de Agua Públicos y Privados.

Nouri J., Mahvi A.H., Babaei A.A., Jahed G.R. y Ahmadpour E. (2006). Investigation of heavy metals in groundwater. Pak J Biol Sci. 9, 377-384.

Organización Mundial de la Salud. (2006). Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1, Recomendaciones. Ediciones de la OMS, Ginebra, 398 p.

Secretaria del Media Ambientes y Recursos Naturales [Semarnat]. (2005) Indicadores básicos del desempeño ambiental de México 2005. Tomado del sitio <http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/snua/Pages/snua.aspx>

CAPÍTULO 5

IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMA BIOLÓGICO.

5. IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMA BIOLÓGICO.

En el presente capítulo se exponen las condiciones establecidas para la implementación de un sistema de tratamiento biológico convencional para la eliminación de nitrato. Fue necesario implementar este método para la obtención de un lodo biológico cuyo metabolismo fuera desnitrificante por la vía desasimilativa, y así contar con una biomasa estable que fue empleada como inóculo durante la puesta en marcha del método bioelectroquímico.

Durante el montaje del sistema biológico fue necesario la fabricación de un bioreactor tipo UASB, donde fue adaptado un lodo biológico procedente de una planta de tratamiento de aguas residuales. El lodo se alimento con una fuente de carbono y una de nitrógeno y se establecieron condiciones de adaptación de la biomasa tal que se permitiera la obtención de un cultivo biológico cuyo metabolismo estuviera dirigido a la vía metabólica desnitrificante desasimilativa. Para ello se evaluaron dos relaciones carbono nitrógeno (C/N), una de 0.33 y otra de 1.2. Una vez que se comprobó que la biomasa contaba con un metabolismo desnitrificante desasimilativo, se procedió a someterla a una fase de crecimiento donde se evaluaron relaciones C/N de 1.8 y 6 en cultivo por lote y continuo a modo de obtener un volumen de lodo suficiente para llevar a cabo todos los experimentos. La cinética de consumo de nitrato mostró la capacidad desnitrificante de la biomasa.

5.1 METODOLOGÍA.

Dentro de la metodología se muestra la descripción e inoculación del bioreactor empleado para la adaptación de la biomasa, así como los medios de cultivo empleados en este proceso. Para la implementación del método biológico se diseñaron los siguientes experimentos: la adaptación del inóculo con dos relaciones C/N de 0.33 y 1.2, crecimiento de la biomasa en cultivo por lote con relaciones C/N de 1.8 y 6, crecimiento de biomasa en cultivo continuo con

relaciones C/N de 6 y 1.8, cinética de consumo de nitrato y el aumento de la carga de nitrógeno con relación C/N de 1.8 en cultivo continuo.

5.1.1 Descripción de Bioreactor.

El acondicionamiento de lodo biológico desnitrificante, se llevó a cabo en un reactor tipo UASB, es decir, es un bioreactor anaerobio de flujo ascendente, figura 5.1. El material de construcción es de vidrio con un volumen de operación de 1.35 litros y cuenta con un enchaquetado para el control de temperatura.

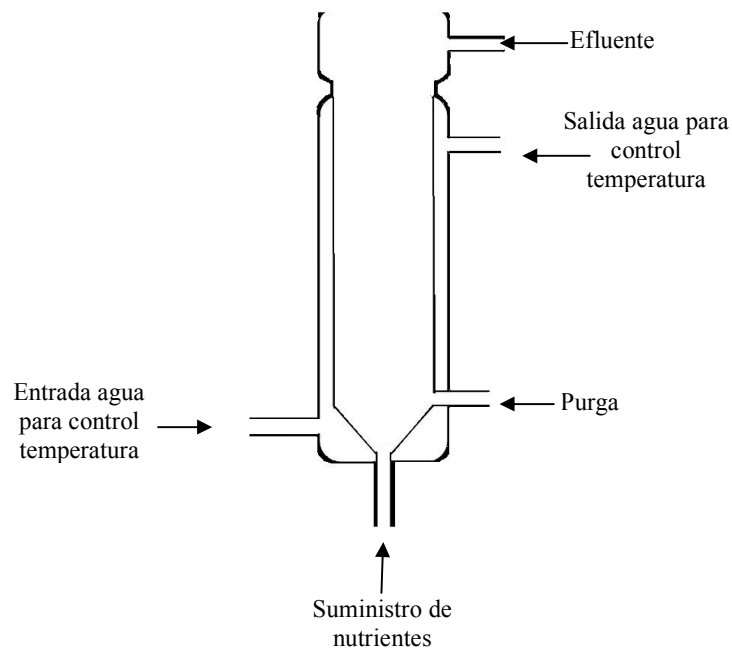


Figura 5.1 Diseño de bioreactor tipo UASB.

Este bioreactor permitió el desarrollo del cultivo microbiológico desnitrificante fisiológica y metabólicamente estable. Una vez que se logró la obtención del cultivo, éste se utilizó como inóculo en las pruebas electroquímicas.

El sistema de tratamiento biológico para la desnitrificación, figura 5.2, fue alimentado de forma continua, para ello fue instalada una bomba peristáltica

conectada a un temporizador y un recirculador de agua que mantiene la temperatura a 25°C. La manguera de descarga del efluente se encuentra en la parte lateral superior del reactor y desemboca en un recipiente para su recolección y toma de muestra del agua desnitrificada. El bioreactor cuenta con una adaptación para la captura del gas producido durante la desnitrificación, esta adaptación se encuentra en la parte superior y cuenta con una conexión adaptable a un medidor de desplazamiento de volumen.

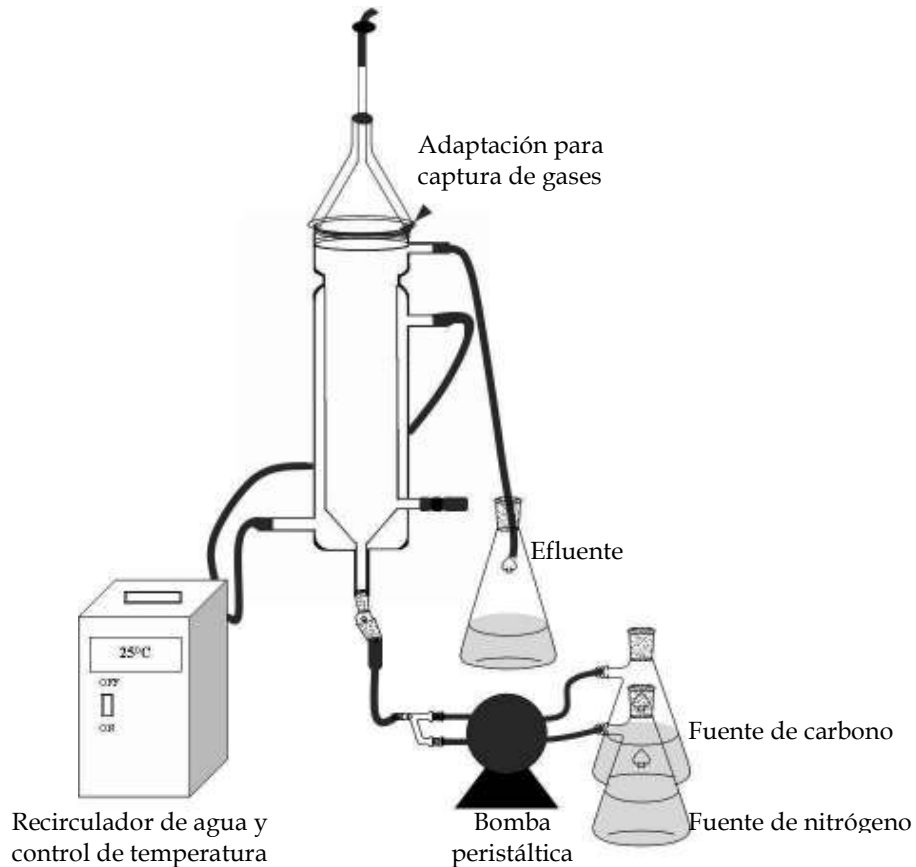


Figura 5.2 Esquema del sistema de tratamiento desnitrificante de flujo continuo.

5.1.2 Inoculación del bioreactor

El lodo biológico con el cual se inoculó el bioreactor fue obtenido de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa y dentro de la misma institución ha formado parte de

diversas investigaciones y trabajos de tesis por lo que su capacidad desnitrificante ha sido comprobada con anterioridad [30].

Antes de inocular el reactor, el lodo fue lavado con un litro de solución fisiológica (NaCl, 0.9%), para lo cual el lodo fue agitado, permitiendo la precipitación para posteriormente desechar el sobrenadante, este procedimiento se realizó dos veces. El lodo previamente lavado fue introducido dentro del reactor, el volumen del inóculo fue aproximadamente de 250 ml, y se alimentó con dos medios de cultivo, uno la fuente de carbono y otro la de nitrógeno.

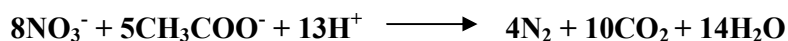
5.1.3 Medios de cultivo y relaciones carbono nitrógeno (C/N) para la adaptación del inóculo.

El lodo del bioreactor se alimentó de forma continua con dos medios de cultivo, uno la fuente de carbono, consistente de una solución de acetato de sodio (CH_3COONa), y el otro la fuente de nitrógeno, consistente de nitrato de sodio (NaNO_3), ambas fuentes disueltas en agua destilada, en donde la fuente de electrones es el acetato y el aceptor final de electrones es el nitrato. La tabla 5.1 muestra la composición de los medios de cultivo. La concentración de micronutrientes fue la misma en los experimentos desarrollados en este capítulo y en el desarrollo del método bioelectroquímico, variando únicamente la concentración o carga de nitrato y acetato de acuerdo con la relación C/N que se esta evaluando.

Tabla 5.1 Composición de los medios de cultivo.

Fuente de Carbono		Fuente de Nitrógeno	
CH_3COONa	Según relación C/N	NaNO_3	Según relación C/N
KH_2PO_4	2 g/L	$\text{FeCl}_3 (6\text{H}_2\text{O})$	0.1 g/L
$\text{CaCl} (2\text{H}_2\text{O})$	0.6 g/L	$\text{CuSO}_4 (5\text{H}_2\text{O})$	0.02 g/L
NaMoO_4	0.12 g/L		
$\text{MgSO}_4 (7\text{H}_2\text{O})$	0.4 g/L		

Para la realización de esta etapa, se evaluaron dos relaciones carbono/nitrógeno (C/N), una de ellas se mantuvo por debajo de la relación estequiométrica, es decir de 0.33, mientras que la otra ligeramente arriba de esta, es decir de 1.2. A continuación se muestra la estequiometría de la reacción:



5.1.4. Adaptación del inóculo con relación C/N= 0.33

Para la realización de esta etapa, la velocidad de carga del nitrógeno (Q_N) fue de 125 mg de N- NO_3^- /L*día y de carbono (Q_C) de 41.5 mg de C- CH_3COO^- /L*día. El flujo de alimentación de cada uno de los medios fue de 0.180 L/d con un Tiempo de Residencia Hidráulica (TRH) de 3.6 días. La temperatura del bioreactor se mantuvo a $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Tales condiciones se resumen en la tabla 5.2.

Tabla 5.2. Condiciones establecidas durante la adaptación del inóculo a una C/N de 0.33

Q_N (mg N- NO_3^- /L*día)	125
Q_C (mg C- CH_3COO^- /L*día)	41.5
Flujo alimentación cada medio (L/d)	0.180
TRH (días)	3.6
T° ($^\circ\text{C}$)	25 ± 2

5.1.5 Adaptación del inóculo con relación C/N= 1.2

Durante esta etapa se comenzó con el suministro de los medios de cultivo bajo una relación C/N de 1.2. La velocidad de carga del nitrógeno fue de 125 mg de N- NO_3^- /L*día y de carbono de 150 mg de C- CH_3COO^- /L*día. El flujo de alimentación de cada uno de los medios fue de 0.180 L/d con un TRH de 3.6 días. La temperatura del bioreactor se mantuvo a $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Las condiciones de adaptación se resumen en la tabla 5.3.

Tabla 5.3. Condiciones establecidas durante la adaptación del inoculo a una C/N de 1.2

Q_N (mg N- NO_3^- /L*día)	125
Q_C (mg C- CH_3COO^- /L*día)	150
Flujo alimentación cada medio (L/d)	0.180
TRH (días)	3.6
T° ($^\circ\text{C}$)	25 ± 2

5.1.6 Crecimiento de biomasa en cultivo por lote con relación C/N de 1.8 y 6.

Para llevar a cabo el crecimiento de la biomasa en cultivo por lote, fueron preparadas las fuentes de carbono y nitrógeno, con las concentraciones indicadas en la tabla 5.4.

Tabla 5.4. Condiciones establecidas durante el crecimiento de la biomasa en cultivo por lote con relaciones C/N de 1.8 y 6

Condiciones	C/N 1.8	C/N 6
Concentración de nitrógeno (mg N- NO_3^- /L)	250	250
Concentración de carbono (mg C- CH_3COO^- /L)	450	1500
T° ($^\circ\text{C}$)	25 ± 2	25 ± 2

5.1.7 Crecimiento de biomasa en cultivo continuo con relación C/N de 6 y 1.8.

Para evaluar el crecimiento de la biomasa en cultivo continuo en el reactor UASB, se realizó el cambio de relación C/N, primeramente a 6 y posteriormente a 1.8. En ambos casos, se dosificó un flujo de alimentación de cada medio de cultivo de 0.375 L/d con una carga de nitrógeno de 250 mg N- NO_3^- /L*día, una temperatura de 25°C y se tomaron muestras diarias en el efluente del bioreactor para la determinación de carga de nitrato, nitrito y concentración de SSV. La tabla 5.5 resume las condiciones de crecimiento de la biomasa

Tabla 5.5. Condiciones establecidas durante el cultivo de forma continua de la biomasa a una C/N de 6 y 1.8

Condiciones	C/N 6	C/N 1.8
Q_N (mg N- NO_3^- /L*día)	250	250
Q_C (mg C- CH_3COO^- /L*día)	1500	450
Flujo alimentación cada medio (L/d)	0.375	0.375
TRH (días)	1.8	1.8
T° ($^\circ\text{C}$)	25 ± 2	25 ± 2

5.1.8 Cinética de consumo de nitrato.

Una vez que se tuvo suficiente biomasa se iniciaron las cinéticas de consumo de nitrato. Para ello se prepararon medios de cultivo de fuente de carbono y nitrógeno descritos anteriormente guardando entre ellos una relación C/N de 1.2. La concentración de carbono fue de 60 mg C- CH_3COO^- /L y la de nitrógeno 50 mg N- NO_3^- /L. La cinética fue realizada en botellas serológicas de 60 ml de capacidad, se trabajó a un volumen final de 40 ml, siendo 20 ml de fuente de carbono y el resto de la fuente de nitrógeno. El inóculo fue calculado de tal modo que cada botella tuviera la misma concentración de biomasa que en el reactor, es decir, cada botella serológica tenía una concentración de 4.1 g/L de SSV.

La alícuota de biomasa tomada del reactor fue enjuagada con solución salina (NaCl 0.9%), posteriormente se centrifugó a 4200 rpm por 10 min, se decanta el sobrenadante y la pastilla fue inoculada en la botella que contiene los medios de cultivo, se hizo pasar una corriente de He para desplazar el oxígeno del interior de la botella, posteriormente se tapa y sella la botella y se toma la primer muestra misma que se considera el tiempo 0. Las botellas se incuban a 25°C con una velocidad de agitación de 150 rpm. La tabla 5.6 muestra el volumen de nutrientes contenido en las botellas serológicas, la letra E denota experimento.

Tabla 5.6 Contenido de nutrientes e inóculo en las botellas para la determinación de la cinética de consumo de nitrato.

Clave	NO ₃ ⁻	CH ₃ COO ⁻	Inóculo (g/L)
E1	20 ml	20 ml	4.1
E2	20 ml	20 ml	4.1
Control	20 ml	20 ml	-

La toma de muestra se realizó a intervalos de tiempo de 15, 30 y 60 minutos y se cuantificaron las variables de concentración de nitrato y nitrito por la técnica de HPLC-UV descrita anteriormente.

5.1.9 Cambio de carga de nitrógeno con relación C/N=1.8 en cultivo continuo.

Con el fin de incrementar la biomasa en el bioreactor UASB para continuar con la realización de cinéticas electroquímicas, se decidió incrementar la carga de nitrógeno en el medio de cultivo que alimenta al reactor. La concentración de la fuente de nitrógeno se incrementa a 500 mg N-NO₃⁻/L*d, guardando una relación con la fuente de carbono de 1.8. La tabla 5.7 resume las condiciones establecidas.

Tabla 5.7 Condiciones establecidas durante el cultivo de forma continua de la biomasa a una C/N de 1.8

Q _N (mg N-NO ₃ ⁻ /L*día)	500
Q _C (mg C-CH ₃ COO ⁻ /L*día)	900
Flujo alimentación cada medio (L/d)	0.375
TRH (días)	1.8
T° (°C)	25 ± 2

5.2 RESULTADOS.

Los resultados de los experimentos descritos se muestran a continuación.

5.2.1 Adaptación del inóculo con relación C/N= 0.33

Durante 27 días se evaluaron las variables de respuesta: carga de nitrato ($\text{mg N-NO}_3^-/\text{L}\cdot\text{d}$) y carga de nitrito ($\text{mg N-NO}_2^-/\text{L}\cdot\text{d}$) en el influente y efluente del bioreactor, bajo una relación C/N de 0.33. La figura 5.3 muestra la grafica correspondiente al seguimiento del bioreactor sobre estas variables.

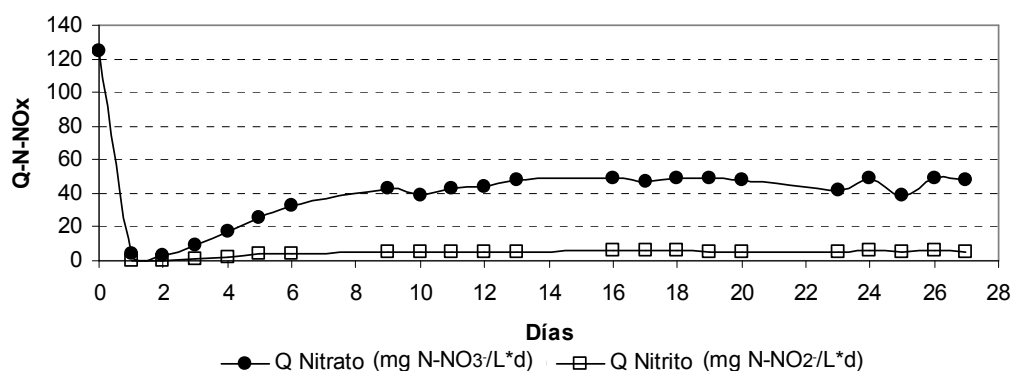


Figura 5.3 Comportamiento de la carga (Q) de N-NO_3^- y N-NO_2^- en efluente del bioreactor durante 27 días de operación a una C/N de 0.33

De la gráfica se observa que desde el primer día se comenzó a saturar el bioreactor con los medios de cultivo, aumentando gradualmente la concentración de nitrato en el efluente. La carga de nitrito, oscila entre 5 y 12 $\text{mg N-NO}_2^-/\text{L}\cdot\text{d}$, y al parecer no dependió de las variaciones y acumulaciones de la carga de N-NO_3^- en el efluente. Los resultados observados sobre todo de la carga de nitrato en el efluente requirió del análisis de los mismos y de la comparación con la eficiencia del proceso, se observó que el porcentaje de remoción después de 27 días, alcanzaba el 60%, figura 5.4.

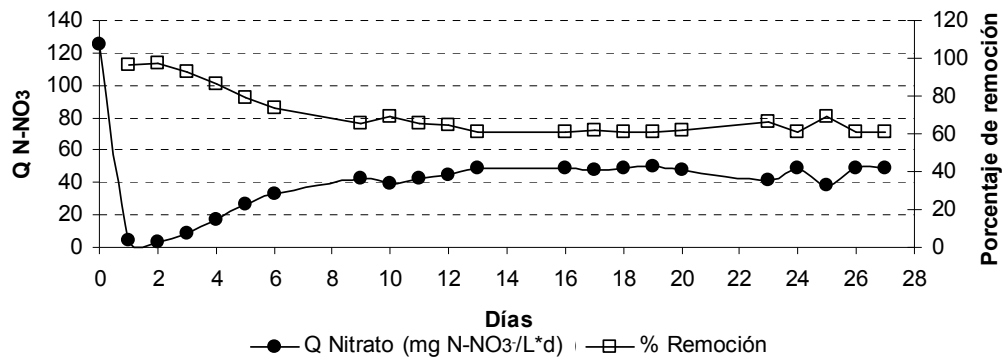


Figura 5.4. Porcentaje de remoción de nitrato durante 27 días de operación a una C/N de 0.33

Los resultados muestran una buena remoción de nitrógeno que alcanzó el 60%, sin embargo, la relación de 0.33 no proporciona un suministro suficiente de donadores de electrones para alcanzar la eficiencia del 80% que algunos investigadores mencionan como resultado de trabajar con relaciones C/N más bajas que la estequiometría de la reacción de desnitrificación [29].

Sin embargo, tal y como se observa en la figura 5.3 y 5.4, una desnitrificación con eficiencias buenas puede ser factible de llevarse a cabo a dosis insuficientes de carbono, ya que a pesar de carecer de un suministro adecuado de donadores de electrones, la reducción del nitrato se llevo a cabo con una eficiencia del 60%.

5.2.2 Adaptación del inóculo con relación C/N= 1.2

Durante 31 días de operación, se evaluó la: carga de nitrato y de nitrito en el influente y efluente del bioreactor así como los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) del lodo. La figura 5.5 muestra la grafica correspondiente al seguimiento del bioreactor sobre estas variables.

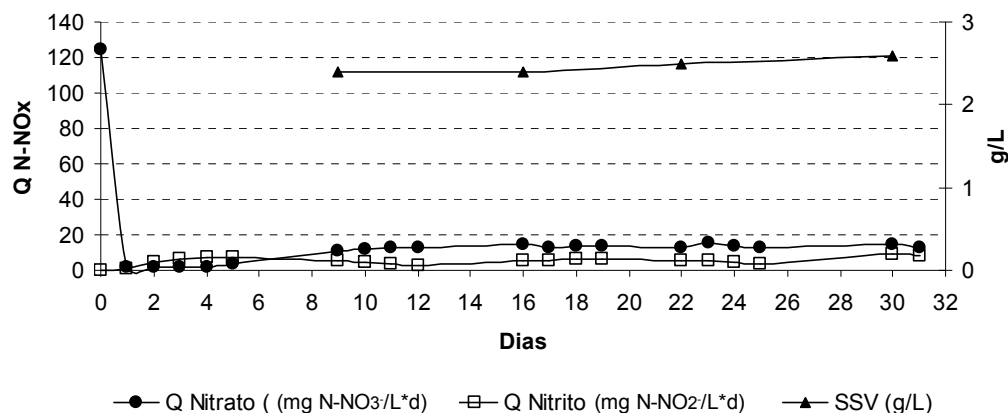


Figura 5.5 Comportamiento de la carga (Q) de N-NO₃⁻ y N-NO₂⁻ en efluente del bioreactor y SSV durante 31 días de operación a una C/N de 1.2.

La figura 5.5, muestra que durante 31 días se incrementa gradualmente la carga de nitrato en el efluente, debido a la saturación del reactor con la fuente de nitrógeno, la carga máxima registrada en el efluente fue de 15 mg N-NO₃⁻/L*d, sin embargo esta concentración no igualó las cargas que se presentaron con la relación C/N de 0.33. El efluente del reactor fue monitoreado por 31 días, hasta donde se observó un comportamiento constante de las cargas de nitrato y nitrito, lo que reflejó una estabilización del proceso desnitrificante. Aunado a lo anterior la remoción del nitrato, mostrada en la figura 5.6, alcanzó el 90%.

Los resultados obtenidos en esta etapa, coinciden con lo que algunos investigadores han reportado respecto a que la relación C/N es un factor clave en la eficiencia de desnitrificación, en donde relaciones C/N cercanas a la estequiométrica alcanzan eficiencias de remoción de nitrato cercanas al 98%, permitiendo mantener un cultivo con un metabolismo organotrófico y desnitrificante en condiciones desasimilativas [30, 65].

Una variable que indica crecimiento de biomasa es la determinación son los SSV, variable que es mostrada en la figura 5.5 y cuyas unidades se determinaron en gramos por litro (g/L). Se observa que la concentración de la biomasa se mantuvo de forma constante durante aproximadamente 21 días, por lo que es posible decir que el nitrato fue empleado por la biomasa con fines respiratorios (vía desasimilativa) y no de crecimiento (vía asimilativa).

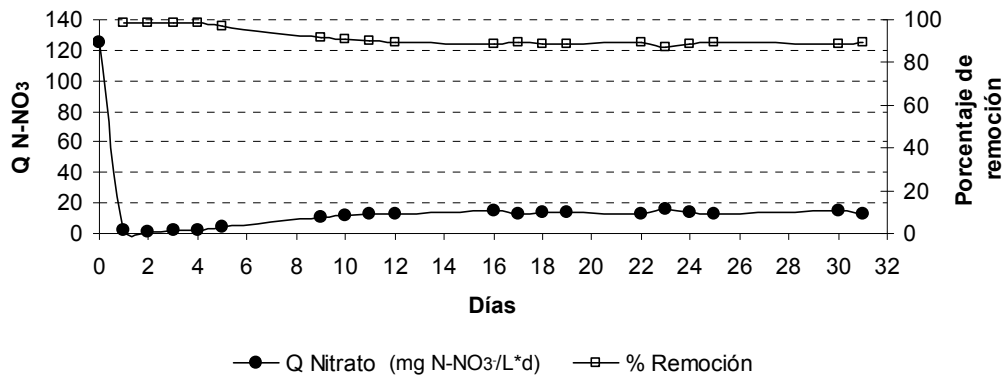


Figura 5.6 Comportamiento de la carga (Q) de N-NO_3^- en efluente del bioreactor y % de remoción durante 31 días de operación a una C/N de 1.2.

Por lo anterior, después de adaptar el inoculo bajo dos relaciones C/N, se puede decir que fueron suficientes 16 TRH, para que la biomasa mantuviera un estado fisiológico y metabólicamente estable en condiciones desnitrificantes desasimilativas.

5.2.3 Crecimiento de biomasa.

Una vez que, el lodo fue adaptado a condiciones desnitrificantes desasimilativas, el estado fisiológico del lodo se mantuvo constante y el reactor mostró un perfil desnitrificante constante, se procedió a hacer crecer la biomasa, obteniendo los siguientes resultados

5.2.3.1 Crecimiento de biomasa en cultivo por lote con relación C/N de 1.8 y 6.

Durante 36 días, la biomasa se mantuvo en cultivo por lote con una relación C/N= 1.8. Después de estos días se determinaron los SSV de la biomasa, cuyo valor fue 2.55 g/L, es decir el cultivo de la biomasa por lote con una relación C/N=1.8 no propició el crecimiento de la biomasa.

Los resultados obtenidos después de crecer la biomasa durante 19 días en cultivo por lote con una relación C/N de 6 mostraron un crecimiento de biomasa alcanzando un valor de 3.33 g/L de SSV.

Si se comparan las concentraciones de SSV de estas dos relaciones en un cultivo por lote, el incremento de biomasa fue del 30%, lo cual se muestra en la tabla 5.8

Tabla 5.8 Comparación de SSV en cultivos por lote con relaciones C/N de 1.8 y 6.

SSV (g/L) con C/N 1.8 por lote	2.55
SSV (g/L) con C/N 6 por lote	3.33
Incremento de biomasa	30%

Posterior a la obtención de estos resultados, se realizó la evaluación del cultivo en continuo.

5.2.3.2 Crecimiento de biomasa en cultivo continuo con relación C/N de 6.

Los resultados después del crecimiento de la biomasa con relación C/N de 6 en cultivo continuo se muestran a continuación en la figura 5.7.

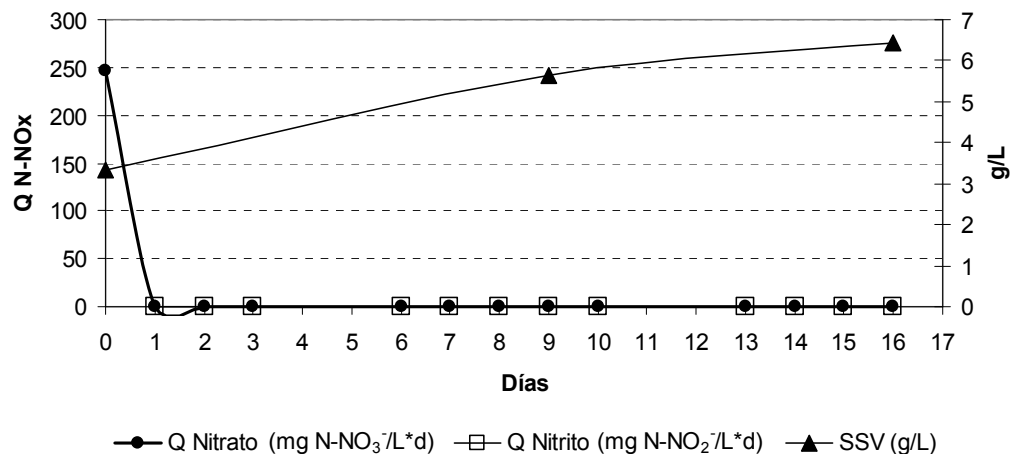


Figura 5.7 Carga (Q) de N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ y SSV en efluente del bioreactor durante 16 días de operación con una C/N=6.

Se observa que desde el primer día de arranque del bioreactor con relación C/N=6, no se detectó ningún óxido de nitrógeno en el efluente, asumiendo que la velocidad de consumo de N-NO₃⁻ fué de 250 mg N-NO₃⁻/día. Es importante recalcar que la biomasa fué sometida durante 19 días a un cultivo por lote con la misma relación C/N, periodo en el que no se tomaron muestras para el análisis de nitrato y nitrito. Por lo anterior se puede asumir que este periodo de “adaptación” a tales condiciones, permitió que la carga de nitrato suministrada al bioreactor con un régimen continuo, fuera consumida por la biomasa en un día. Además es importante comentar que algunos autores mencionan que cuando la fuente de carbono se encuentra en exceso la velocidad de desnitrificación es muy alta, alcanzando una eficiencia de remoción de nitrato hasta del 100% [29], situación que se observa en la figura 5.7.

Bajo esta relación de nutrientes se pudo observar un crecimiento de biomasa. A diferencia del cultivo por lote con relación C/N=1.8, la relación C/N=6 permitió incrementar la biomasa, tanto en cultivo por lote como de forma continua.

Se observó también que el cultivo de la biomasa de modo continuo, permitió un mayor crecimiento que un cultivo por lote. Después de cambiar el régimen de

cultivo en lote a continuo, bajo una $C/N=6$, la biomasa presentó un incremento del 70%, y hasta el día 16 de cultivo continuo se obtuvo un crecimiento del 94%. Tal situación se muestra en la tabla 5.9. Es posible decir, que el suministro de nutrientes de forma continua permitió que la biomasa tuviera un mejor contacto y aprovechamiento de los nutrientes debido al bombeo constante de estos al reactor, lo que propicia constante movimiento de sustancias al interior del mismo. Situación que no ocurre en un cultivo por lote.

Tabla 5.9 Comparación de SSV en cultivos por lote y continuo con relación C/N de 6.

SSV (g/L) con C/N 6 por lote	3.33
SSV (g/L) con C/N 6 en continuo hasta día 9	5.65
Incremento de biomasa	70%
SSV (g/L) con C/N 6 en continuo hasta día 16	6.45
Incremento biomasa con respecto a valor por lote	94%

Durante el incremento de la biomasa, en el reactor no se observó producción de gas, mismo que se hizo presente durante la fase de adaptación de la biomasa con una relación C/N de 1.2, esto se debió a que la mayor parte de la fuente de nitrógeno se empleó en la biosíntesis de nuevas células, es decir la desnitrificación la realizaban por la vía asimilativa.

5.2.3.3 Crecimiento de biomasa en cultivo continuo con C/N de 1.8.

Durante el desarrollo de esta etapa, los SSV al momento de cambiar la relación C/N de 6 a 1.8, fueron de 6.45 g/L. La figura 5.8 muestra los resultados de este cambio de relación.

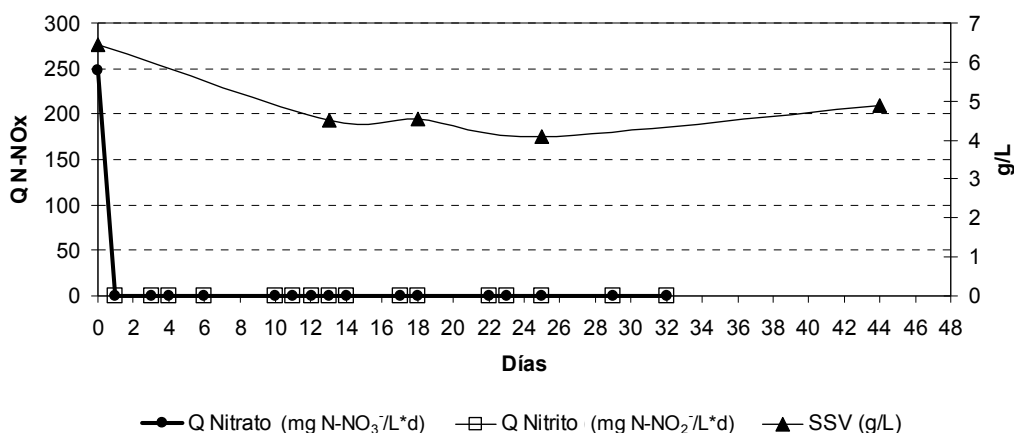


Figura 5.8 Carga (Q) de N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ y SSV en efluente del bioreactor durante 44 días de operación con una C/N=1.8.

Los resultados sobre el perfil de consumo de nitrato fueron iguales a los encontrados con la relación C/N de 6, sin embargo, como era de esperarse, la disminución de la carga de carbono suministrada no fue suficiente para el mantenimiento de la biomasa que se formó durante el crecimiento con una C/N de 6, por lo que la biomasa disminuyó su concentración aproximadamente a 5 g/L, sin decaer hasta la concentración que se tenía cuando se creció con una C/N de 1.8 en cultivo por lote (2.55 g/L). Durante 32 días de operación en estas condiciones no se detectó nitrato y nitrito en el efluente y la carga ingresada al bioreactor es consumida en un día de operación. Adicionalmente se observó la producción de gas manifestada durante la fase de adaptación de la biomasa con una relación C/N de 1.2, por lo que se sugiere que nuevamente la desnitrificación se llevó a cabo por la vía desasimilativa

5.2.4 Cinética de consumo de nitrato.

Durante el desarrollo de la cinética se monitorearon las variables de concentración de nitrato y nitrito por la técnica de HPLC descrita anteriormente. Los resultados encontrados se muestran en la figura 5.9.

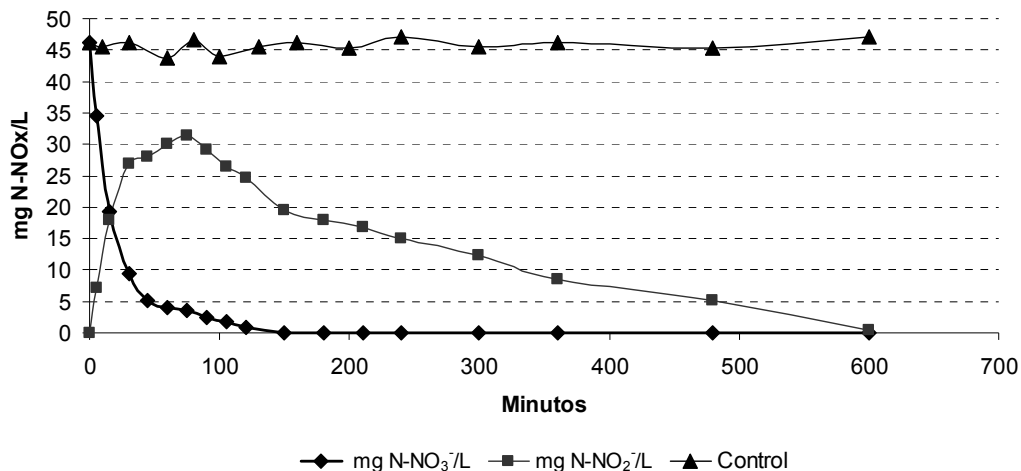


Figura 5.9 Cinética de consumo de nitrato y generación de nitrito.

De la grafica se observa que a los 120 minutos se tuvo una eficiencia del 98% en el consumo de nitrato, a los 75 minutos se detectó la concentración mayor de NO₂⁻ y la completa desaparición de este ión se dio a las 10 horas.

La figura 5.10 muestra la velocidad de consumo de nitrato con un valor de 0.0486 mg N-NO₃⁻/L*min., y el rendimiento de nitrito (Y_{NO2}) fue de 0.73 mg N-NO₂⁻/mg N-NO₃⁻, el cual es mostrado en la figura 5.11.

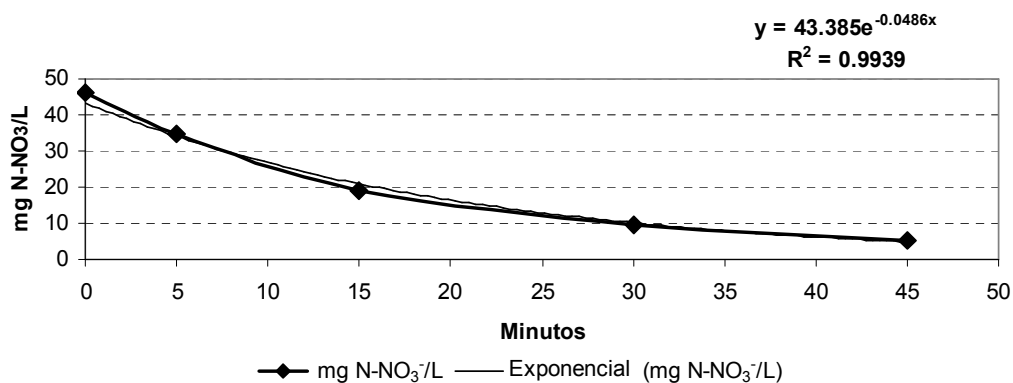


Figura 5.10 Velocidad de consumo de nitrato.

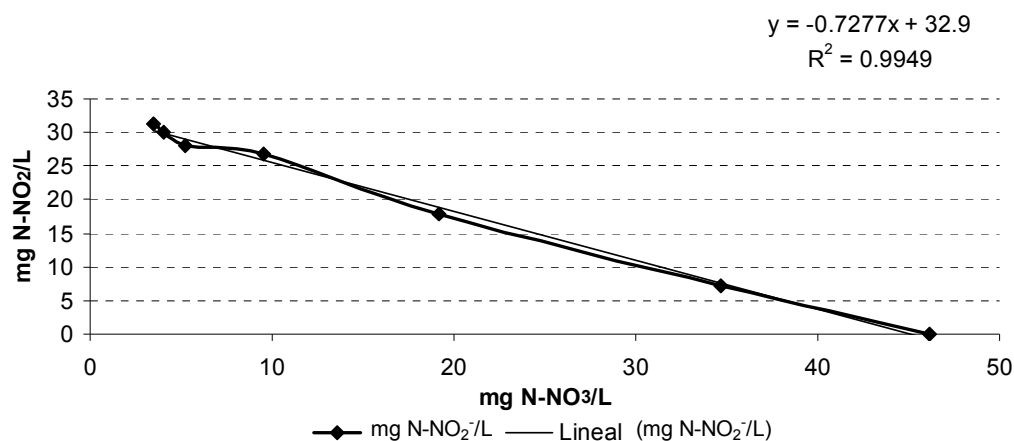


Figura 5.11 Rendimiento de nitrito

Si bien es cierto la importancia de caracterizar y cuantificar la fracción gaseosa en una desnitrificación para comprobar que se obtiene como producto final nitrógeno molecular, los resultados de la cinética del presente experimento muestran un perfil adecuado en cuanto a la primer reacción de reducción del nitrato, la cual concluye con la completa reducción del nitrito, que presumiblemente fue transformado a la siguiente especie reductora del nitrógeno.

5.2.5 Cambio de carga de nitrógeno con relación C/N=1.8 en cultivo continuo.

Derivado del cambio de la carga de nitrógeno que se suministró a un cultivo de forma continua con relación C/N de 1.8, se obtuvieron los siguientes resultados.

Como se observa en la figura 5.12 el crecimiento de la biomasa se dio por arriba de los 10 g/L, concentración que permitirá llevar a cabo los experimentos electroquímicos.

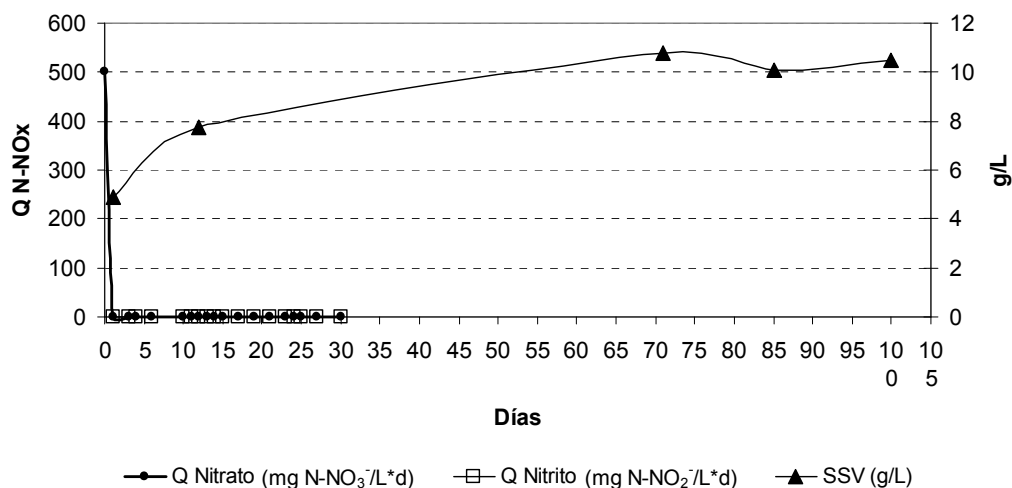


Figura 5.12 Carga (Q) de N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ y SSV en efluente del bioreactor con una C/N=1.8 y una carga de nitrógeno de 500 mg N-NO₃⁻/L*d

5.3 CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos durante esta etapa permiten concluir que fue posible la adaptación de la biomasa a condiciones desnitrificantes desasimilativas, en donde la concentración constante de SSV puso de manifiesto que el nitrato es empleado con fines respiratorios y no biosintéticos. Para llevar a cabo tal adaptación fueron necesarios 16 TRH. Por otra parte, el cultivo de biomasa por lote a una relación C/N de 1.8 no favoreció el crecimiento como lo hace el suministro de nutrientes de forma continua dentro de un bioreactor con la misma relación C/N e incluso a una C/N de 6. Sin embargo una relación C/N de 6 pone en riesgo la adaptación de la biomasa a condiciones desnitrificantes desasimilativas.

CAPÍTULO 6

IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO BIOELECTROQUÍMICO

6. IMPLEMENTACIÓN DEL METODO BIOELECTROQUIMICO.

En este capítulo se aborda la prueba electroquímica que se realizó con el fin de evaluar el efecto que la aplicación de un potencial tiene sobre el proceso biológico convencional. Para ello fue necesaria la fabricación de un bioreactor para ser operado en lote. En este bioreactor se adaptó la parte electroquímica que permitió evaluar la aplicación de un potencial eléctrico sobre el proceso desnitrificante.

Fue necesario realizar cinéticas de consumo de nitrato con y sin la aplicación de un potencial eléctrico y, con los resultados encontrados, se evaluó el efecto de la aplicación de dos diferentes magnitudes de corriente eléctrica. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que un potencial eléctrico favorece el proceso biológico desnitrificante.

6.1 METODOLOGÍA.

Para la implementación del método bioelectroquímico se diseñaron tres experimentos, el primero de ellos fue el desarrollo, en el bioreactor electroquímico, de una cinética sin la aplicación de potencial eléctrico, el segundo fue con la aplicación de 0.2 V y 100 mA de corriente eléctrica y por último con 0.2 V y 10 mA de corriente. Todas las cinéticas fueron evaluadas con un tiempo de reacción de 10 horas.

6.1.1 Descripción del bioreactor electroquímico.

La figura 6.1 muestra el esquema del bioreactor fabricado en vidrio y acero inoxidable este consistió de una cuba de vidrio con capacidad de 2 litros, que cuenta con enchaquetado para el control de la temperatura. La cuba es sostenida por varillas de acero inoxidable colocadas sobre una base del mismo material. La tapa de la cuba es de acero inoxidable y cuenta con chimeneas para la colocación de diversos sensores y aparatos que controlaran el proceso.

Fueron utilizadas cinco chimeneas, en una de ellas fue colocado un termómetro, otras dos se utilizaron como entrada y purga de gas Helio. La cuarta chimenea fue usada para introducir el cable del polo (+) proveniente de la fuente de poder y la quinta chimenea sirvió como entrada de medios de cultivo e inoculo, la cual fue herméticamente cerrada una vez que fueron colocados. El bioreactor también contó con un sistema de agitación consistente de una propela ubicada en la parte más baja del rotor movido por un motor que a su vez está conectado a un controlador de velocidad (rpm).

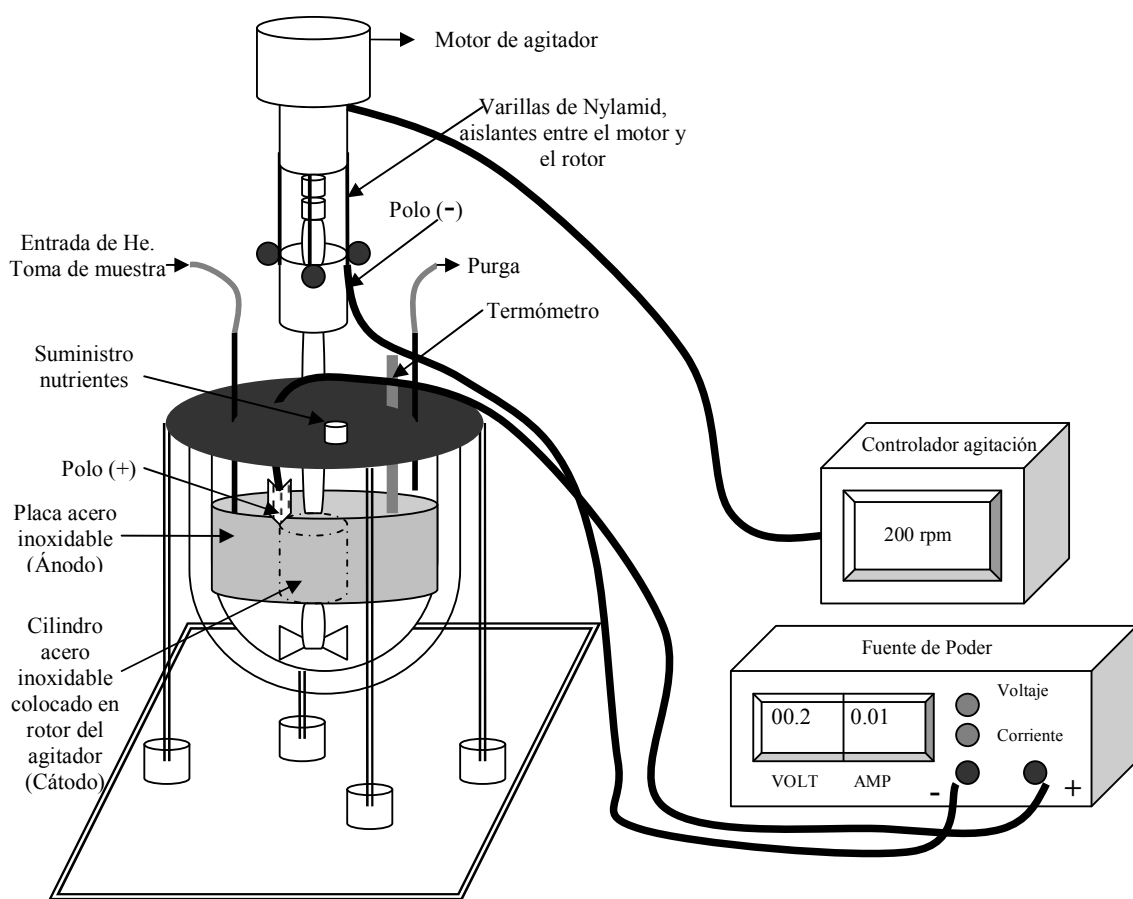


Figura 6.1 Esquema de bioreactor electroquímico

En el bioreactor se adaptó el sistema electroquímico, el cual consistió de un cátodo de acero inoxidable colocado en el rotor de agitación. Una placa de acero

inoxidable colocada en la circunferencia de la cuba del bioreactor fungió como ánodo. En esta placa se colocó una pinza o caimán conectado al polo positivo de una fuente de poder marca BK PRECISION con capacidad de 0 a 30 Volts (V) y de 0 a 3 amperes (A) y una resolución de 0.1 V y 0.01 A, mientras que el polo negativo fue colocado en una de las tuercas metálicas que conectan el motor con el rotor de agitación. Con la adaptación de la parte electroquímica al reactor, el volumen de operación se determinó en 1.6 litros, volumen con el cual se cubren completamente los electrodos con los medios de cultivo empleados en el desarrollo de las cinéticas de consumo de nitrato.

6.1.2 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato sin aplicación de potencial eléctrico (CSP).

Para el desarrollo de esta etapa fue necesario realizar una cinética de consumo de nitrato en el bioreactor electroquímico, a fin de poder evaluar el comportamiento de la biomasa sin la aplicación de un potencial eléctrico y que los resultados arrojados fueran bajo el mismo sistema y parámetros de control que posteriormente serían aplicados a las cinéticas electroquímicas.

En el capítulo 5 se mostraron los resultados de la cinética de consumo de nitrato realizada en botellas serológicas con un inóculo proveniente del bioreactor UASB. Estas pruebas solo permitieron conocer el estado fisiológico de la biomasa asegurando que ésta se encontraba en un metabolismo desnitrificante desasimilativo. Por lo tanto los resultados encontrados, no son extrapolables al comportamiento que la biomasa puede tener en un cultivo por lote trabajando con volúmenes superiores a un litro e incluso a concentraciones mayores de nitrato.

La cinética se desarrolló con una relación C/N de 1.2, la concentración de la fuente nitrógeno fue de 50 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$, y la de carbono de 60 mg $\text{C-CH}_3\text{COO}^-/\text{L}$, se inoculó un volumen de biomasa proveniente del bioreactor UASB tal que se tuviera una concentración de 2 g SSV/L. El inóculo fue previamente lavado con una solución fisiológica consistente de cloruro de sodio al 0.9% y

centrifugado a 4200 rpm por 10 minutos, el sobrenadante se decantó y la pastilla se resuspendió con la fuente de carbono y se vertió en el bioreactor por la chimenea destinada para ese fin. Posteriormente fue agregada la fuente de nitrógeno y una vez que medios de cultivo e inóculo estaban dentro del bioreactor la chimenea fue cerrada enroscándola fuertemente. Inmediatamente se hizo pasar por 10 minutos una corriente de helio que permitió el desplazamiento del oxígeno disuelto dentro del bioreactor. Transcurrido el tiempo, el bioreactor fue cerrado de las mangueras de toma de muestra y purga con ayuda de cuatro pinzas, dos para cada manguera. Este momento es considerado como el tiempo cero de la reacción y a partir de éste, cada hora fueron tomadas muestras de la fase líquida del reactor. La agitación fue programada a 200 rpm. Las muestras recolectadas del reactor fueron analizadas para determinar la concentración de nitrato y nitrito, para ello se siguió la metodología descrita en el capítulo 4. Las condiciones de la cinética se resumen en la tabla 6.1

Tabla 6.1 Condiciones aplicadas durante el desarrollo de la cinética sin aplicación de potencial eléctrico (CSP).

Condiciones	CSP
Relación C/N	1.2
[N] mg N-NO ₃ ⁻ /L	50
[C] mg C-CH ₃ COO ⁻	60
Inóculo (g SSV/L)	2
Agitación (rpm)	200
Volumen de operación (L)	1.6
Tiempo de reacción (h)	10

6.1.3 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 100 mA (CCP).

Para el desarrollo de esta etapa, se aplicó al reactor bioelectroquímico una corriente de 100 mA, y una diferencia de potencial de 0.2 Volts, el resto del procedimiento fue el mismo que el realizado durante la cinética de consumo de

nitrato sin la aplicación de potencial eléctrico. La tabla 6.2 resume las condiciones aplicadas en el desarrollo de esta cinética.

Tabla 6.2 Condiciones aplicadas durante el desarrollo de la cinética con aplicación de potencial eléctrico (CCP).

Condiciones	CCP
Relación C/N	1.2
[N] mg N-NO ₃ ⁻ /L	50
[C] mg C-CH ₃ COO ⁻	60
Inóculo (g SSV/L)	2
Agitación (rpm)	200
Volumen de operación (L)	1.6
Tiempo de reacción (h)	10
Voltaje (V)	0.2
Corriente (mA)	100

6.1.4 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 10 mA (CCP2).

Para el desarrollo de esta cinética se estableció una corriente de 10 mA, manteniendo el potencial eléctrico en 0.2 V. Las condiciones del desarrollo de la cinética se resumen en la tabla 6.3.

Tabla 6.3 Condiciones aplicadas durante el desarrollo de la cinética con aplicación de potencial eléctrico (CCP2)

Condiciones	CCP
Relación C/N	1.2
[N] mg N-NO ₃ ⁻ /L	50
[C] mg C-CH ₃ COO ⁻	60
Inóculo (g SSV/L)	2
Agitación (rpm)	200
Volumen de operación (L)	1.6
Tiempo de reacción (h)	10
Voltaje (V)	0.2
Corriente (mA)	10

Es importante mencionar que investigaciones previas [42, 86, 87, 88, 89, 90] han obtenido buenas remociones de nitrato con corrientes eléctricas que oscilan entre 1 a 200 mA, sin embargo, las condiciones de desnitrificación incluían dosis de nitrato variables desde 10 a 500 mg N-NO₃⁻/L, sofisticados arreglos y materiales de construcción de los electrodos o bien empleaban biofilms de cepas puras de microorganismos desnitrificantes. A pesar de lo anterior la mayoría de estas investigaciones obtuvieron buenos resultados con corrientes entre 3 y 10 mA [87, 42, 83, 89]. Por lo anterior, se seleccionó una corriente de 10 mA para el desarrollo de esta etapa.

6.2 RESULTADOS.

Los resultados de las cinéticas descritas en la metodología se muestran a continuación.

6.2.1. Cinética sin aplicación de potencial eléctrico (CSP)

Los resultados encontrados después de 10 horas de reacción son mostrados en la figura 6.2. Se observa que la totalidad del nitrato fue consumida a las 5 horas de iniciada la reacción, mientras que 10 horas no fueron suficientes para agotar el nitrito formado durante la reducción del nitrato, obteniendo un remanente de 13 mg N-NO₂⁻/L, es decir del 26%, el porcentaje de remoción de nitrito fue 64%.

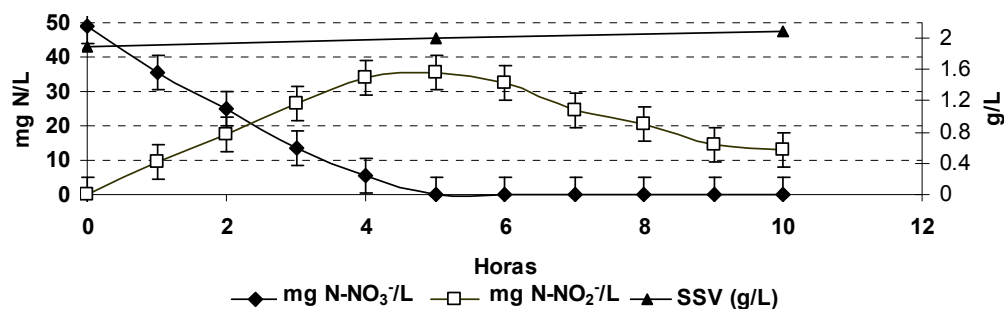


Figura 6.2 Cinética de consumo de nitrato y formación de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.

De la figura también se observa que la concentración de la biomasa permaneció constante, los valores oscilaron entre 1.9 y 2.1 g/L, por lo que se puede decir que el nitrato en su mayoría fue metabolizado por la biomasa con fines respiratorios y no de crecimiento.

La velocidad de consumo de nitrato se muestra en la figura 6.3, siendo ésta de 10.93 mg N-NO₃⁻/L*h y el rendimiento de nitrito (Y_{NO2}) a las 5 horas de iniciada la reacción se muestra en la figura 6.4, donde se observa el valor de 0.752 mg N-NO₂⁻/ mg N-NO₃⁻. A partir de los resultados de la cinética de consumo de nitrato fue posible calcular la velocidad de formación de nitrito (8.51 mg N-NO₂⁻/L*h), valor que se muestra en la figura 6.5, y la velocidad de consumo de nitrito (4.88 mg N-NO₂⁻/L*h) que se muestra en la figura 6.6. La tabla 6.4 muestra las fórmulas empleadas para el cálculo de la velocidad de consumo y formación de así como del rendimiento de nitrito.

Tabla 6.4 Formulas para el calculo de velocidades y rendimientos.

Velocidad de consumo nitrato	$Vel = [N-NO_3^-]_f - [N-NO_3^-]_i / t_f$
Rendimiento de nitrito (Y _{NO2})	$Y_{NO2} = [N-NO_2^-]_f - [N-NO_2^-]_i / [N-NO_3^-]_f - [N-NO_3^-]_i$
Velocidad de formación nitrito	$Vel = [N-NO_2^-]_f - [N-NO_2^-]_i / t_f$
Velocidad de consumo nitrito	$Vel = [N-NO_2^-]_f - [N-NO_2^-]_i / t_f - t_i$

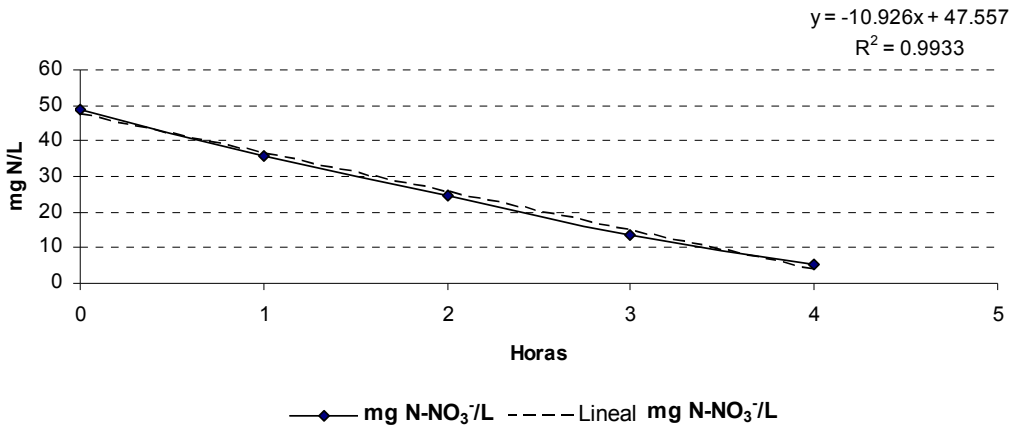


Figura 6.3 Velocidad de consumo de nitrato sin aplicación de potencial eléctrico.

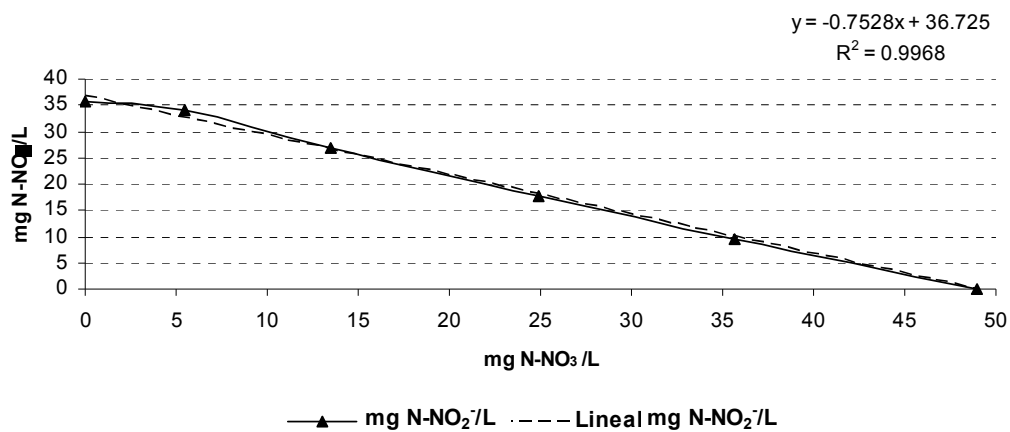


Figura 6.4 Rendimiento de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.

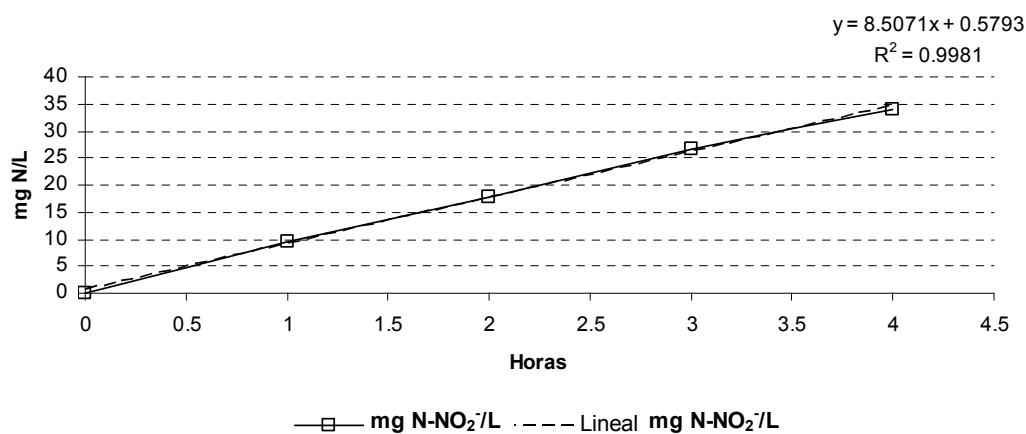


Figura 6.5 Velocidad de formación de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.

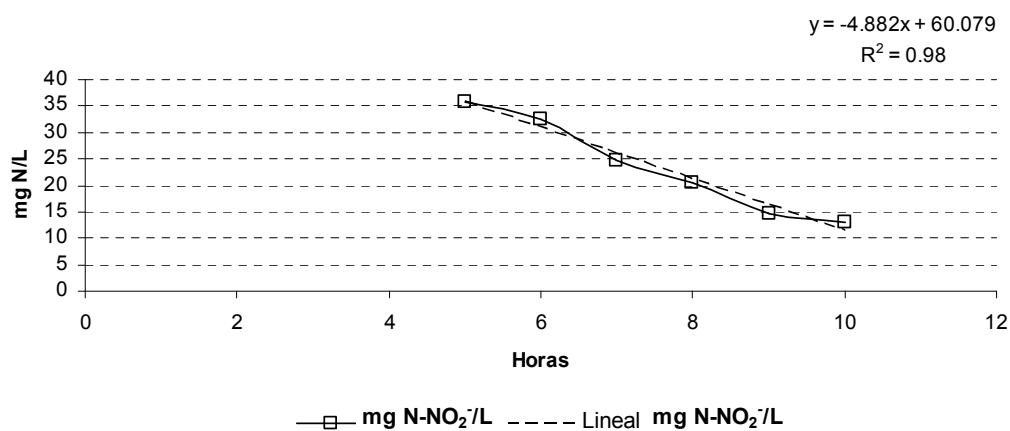


Figura 6.6 Velocidad de consumo de nitrito sin aplicación de potencial eléctrico.

La tabla 6.5 muestra un resumen de las variables analizadas en la evaluación de la cinética sin potencial eléctrico.

Tabla 6.5 Resumen de resultados durante el desarrollo de la cinética sin potencial eléctrico (CSP).

	CSP
Remanente N-NO_2^- a las 10 horas	26%
Tiempo necesario para agotar la totalidad del N-NO_3^- (h)	5
Tiempo en que se presenta pico máximo de $[\text{N-NO}_2^-]$	5
Velocidad de consumo de nitrato ($\text{mg N-NO}_3^-/\text{L}\cdot\text{h}$)	10.93
Y_{NO_2} ($\text{mg N-NO}_2^-/\text{mg N-NO}_3^-$)	0.75
Velocidad de formación de N-NO_2^- ($\text{mg N-NO}_2^-/\text{L}\cdot\text{h}$)	8.51
Velocidad de consumo de N-NO_2^- ($\text{mg N-NO}_2^-/\text{L}\cdot\text{h}$)	4.88
Porcentaje de remoción de nitrito	64%

6.2.2 Cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 100 mA (CCP).

Los resultados encontrados después de 10 horas de reacción se ilustran en la figura 6.7.

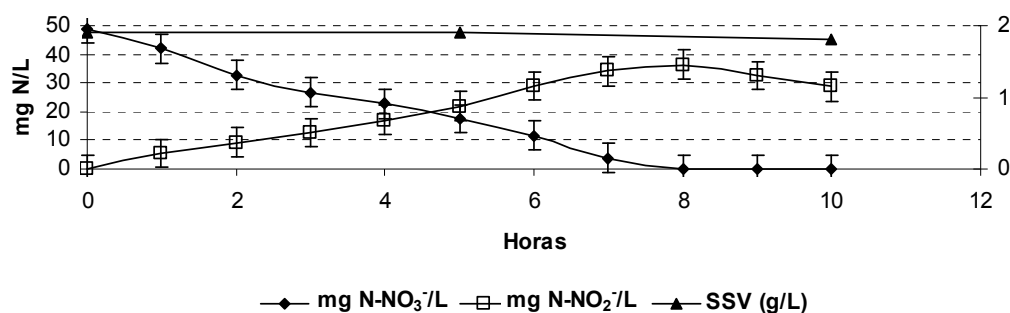


Figura 6.7 Cinética de consumo de nitrato con aplicación de 0.2 V y 100 mA.

De la figura se observa un alargamiento en el tiempo de reducción de nitrato a nitrito, siendo este de 8 horas, es decir, casi el doble del tiempo requerido por la biomasa cuando ésta no fue sometida a un potencial eléctrico, situación que se refleja en la velocidad de consumo de nitrato de $6.03 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{L}\cdot\text{h}$. Este

valor, que se muestra en la figura 6.8, es un 45% menor que la velocidad de la cinética sin potencial. A las 10 horas, el nitrito todavía está presente en una concentración de 29 mg N-NO₂⁻/L, es decir, existe un remanente de N-NO₂⁻ del 59%, con un porcentaje de remoción de 19%.

El rendimiento del nitrito (Y_{NO₂}) a las 5 horas de iniciada la reacción es mostrado en la figura 6.9, este valor (0.76 mg N-NO₂⁻/mg N-NO₃⁻) no sufrió afectación considerable por la aplicación del potencial eléctrico encontrando un valor muy similar al rendimiento de nitrito sin la aplicación de potencial.

En la figura 6.10 se muestra la velocidad de formación de nitrito, la cual disminuyó un 45.5 % con respecto a la cinética sin potencial eléctrico,

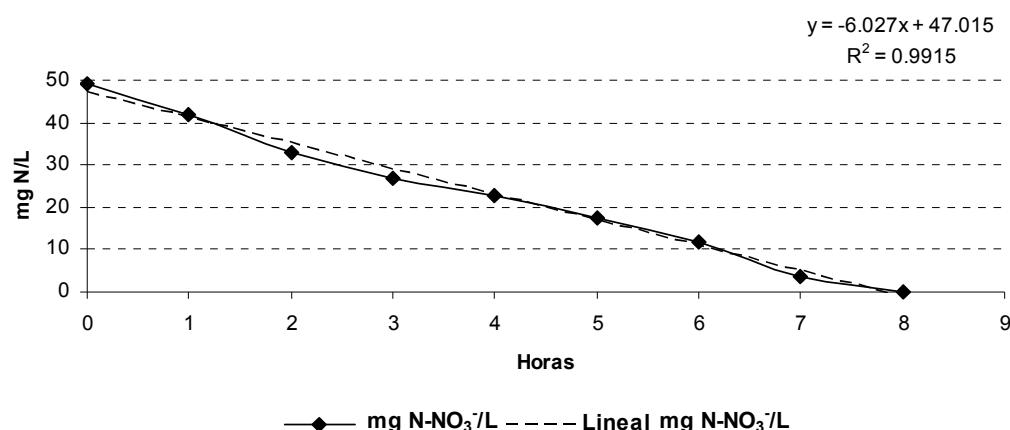


Figura 6.8 Velocidad de consumo de nitrato con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.

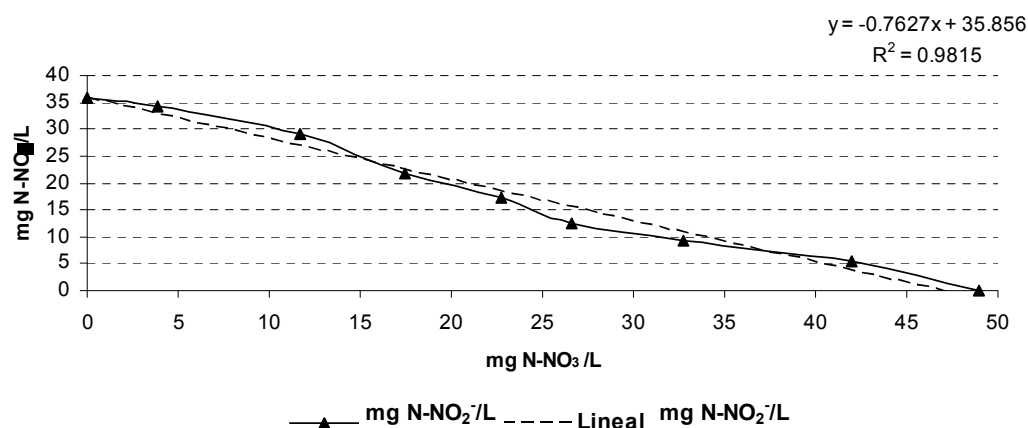


Figura 6.9 Rendimiento de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.

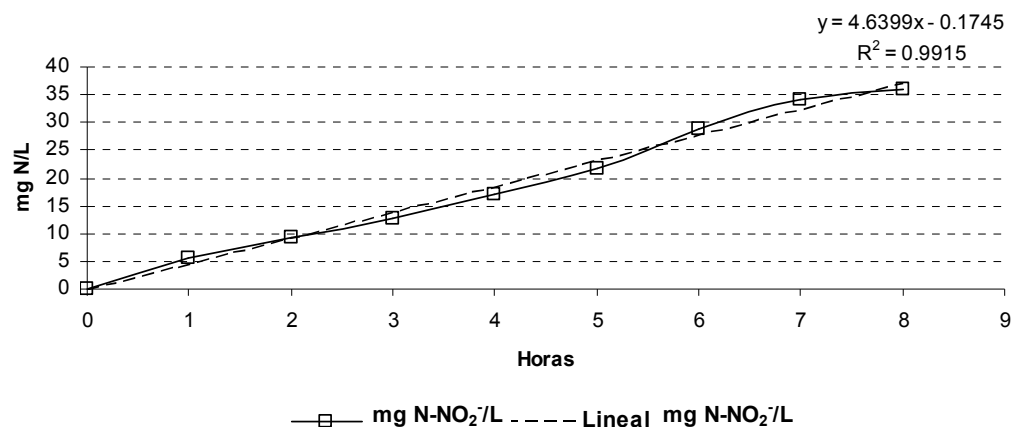


Figura 6.10 Velocidad de formación de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.

La velocidad de consumo de nitrito fue menor al valor encontrado en la cinética sin potencial eléctrico, a pesar de sólo comparar tres puntos en la curva mostrada en la figura 6.11 contra 6 puntos de la figura 6.6, es evidente que la velocidad de consumo de nitrato fue menor con la aplicación de 100 mA, ya que a las 10 horas existe un remanente de nitrito del 59% contra 26% en la cinética sin potencial.

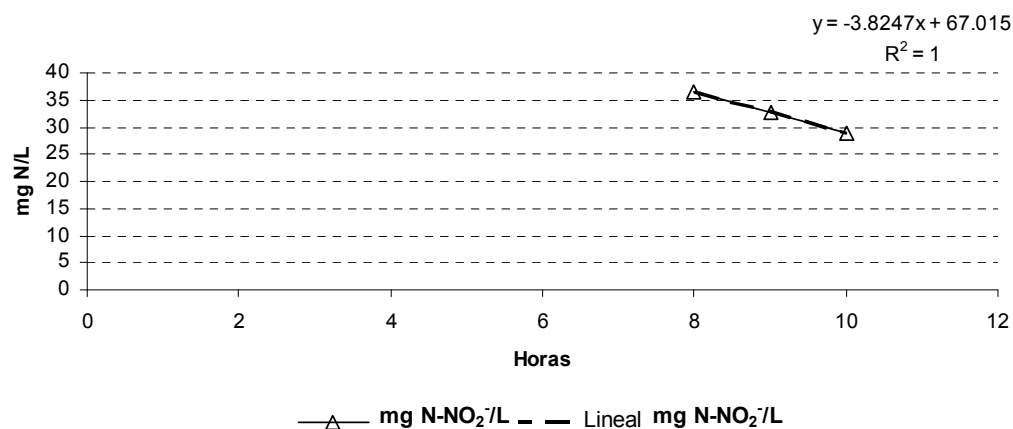


Figura 6.11 Velocidad de consumo de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 100 mA.

La tabla 6.6 muestra el resumen de los resultados encontrados durante el desarrollo de esta cinética.

Tabla 6.6 Resumen de resultados durante el desarrollo de la cinética con potencial eléctrico de 0.2 y corriente de 100 mA

	CCP
Remanente N-NO ₂ ⁻ a las 10 horas	59%
Tiempo necesario para agotar la totalidad del N-NO ₃ ⁻ (h)	8
Tiempo en que se presenta pico máximo de [N-NO ₂ ⁻]	8
Velocidad de consumo de nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ /L*h)	6.03
Y _{NO2} (mg N-NO ₂ ⁻ /mg N-NO ₃ ⁻)	0.76
Velocidad de formación de N-NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ /L*h)	4.64
Velocidad de consumo de N-NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ /L*h)	3.82
Porcentaje de remoción de nitrito	19%

Los resultados de la cinética aplicando 100 mA de corriente no mostraron un beneficio del proceso desnitrificante convencional. Islam y Suidan en 1998, reportaron que la remoción de nitrato declinó cuando la corriente eléctrica se incrementa de 25 a 100 mA, lo cual fue atribuido a inhibición por formación de hidrógeno, ya que el exceso de hidrógeno comenzó a aparecer cuando la corriente se incrementó más allá de 60 mA ^[42], lo cual parece extrapolarse al presente experimento que mostró velocidades de consumo de nitrato y nitrito menores a las mostradas en el método biológico convencional.

6.2.3 Desarrollo de cinética de consumo de nitrato con aplicación de potencial eléctrico 0.2 Volts y 10 mA (CCP2).

La cinética de consumo de nitrato es mostrada en la figura 6.12. Se puede observar que las diferencias en los tiempos de agotamiento de nitrato y nitrito fueron evidentes a comparación de la cinética donde la corriente aplicada fue de 100 mA. De la grafica se observa que el 92% del nitrato se agotó a las 3 horas de iniciada la reacción, y es en ese tiempo que se presentó el pico máximo de formación de nitrito, situación que no se presentó en las cinéticas anteriores ya que el pico máximo de concentración de nitrito ocurrió al momento en que la concentración de nitrato fue cero, aunado a esto el nitrito fue agotado a las 9 horas de iniciada la reacción.

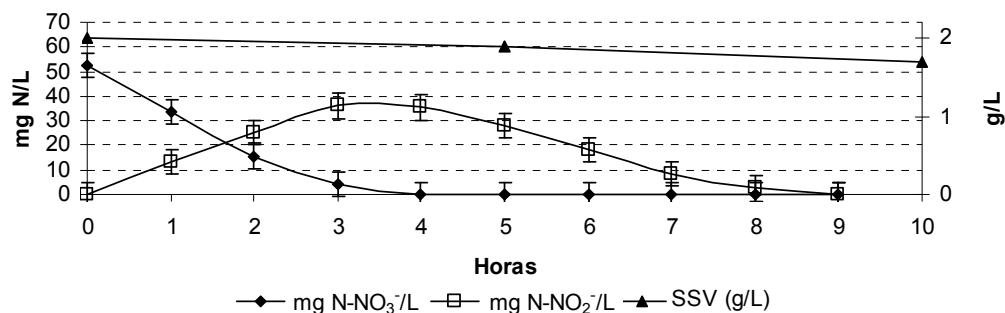


Figura 6.12 Cinética de consumo de nitrato con aplicación de 0.2 V y 10 mA.

La concentración de la biomasa permaneció constante a lo largo de todo el desarrollo de la cinética.

En cuanto al rendimiento de nitrito (Y_{NO_2}) mostrado en la figura 6.13, no se observan variaciones significativas entre ésta comparada con la cinética sin aplicación de potencial eléctrico y la cinética con 100 mA de corriente.

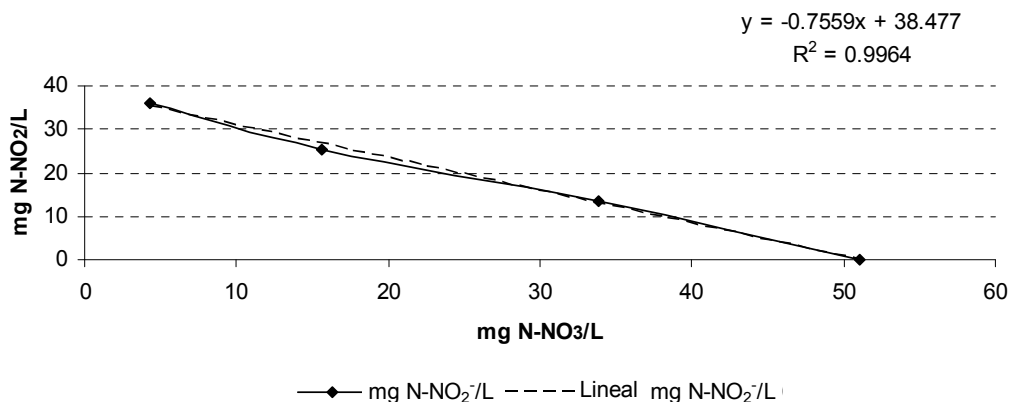


Figura 6.13 Rendimiento de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 10 mA.

La velocidad de consumo de nitrato presentó un valor de 15.83 mg N-NO₃⁻/L*h, figura 6.14, representando la mayor velocidad que el resto de las cinéticas realizadas en el presente trabajo. Comparando este valor con la velocidad de consumo de nitrato en la cinética sin potencial eléctrico (10.93 mg N-NO₃⁻/L*h) representa un 45% de aumento en la velocidad de consumo, mientras que comparado con el valor de la cinética cuando fueron aplicados 100 mA de

corriente (6.03 mg N-NO₃⁻/L*h) representa un aumento del 163% en dicha velocidad.

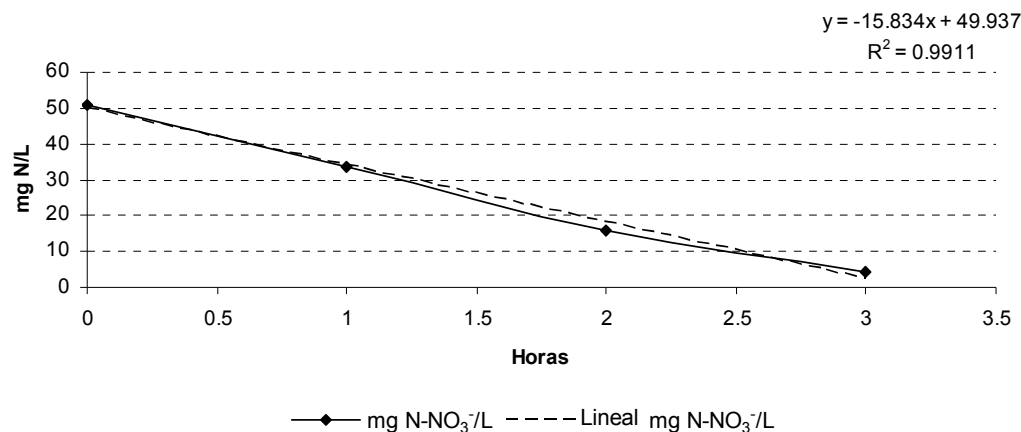


Figura 6.14 Velocidad de consumo de nitrato con aplicación de 0.2 V y 10 mA.

La velocidad de formación de nitrito, figura 6.15, también mostró resultados superiores a los presentados en las dos cinéticas anteriores. Comparando la velocidad de formación de nitrito de ésta ultima cinética (12.03 mg N-NO₂⁻/L*h) con el valor encontrado en la cinética sin potencial (8.51 mg N-NO₂⁻/L*h), se tuvo un aumento en la velocidad de un 41.4%. Ahora bien, si se compara contra la cinética con aplicación de 100 mA de corriente la velocidad de formación de nitrito aumento un 159%, cuando se aplicó 10 mA de corriente.

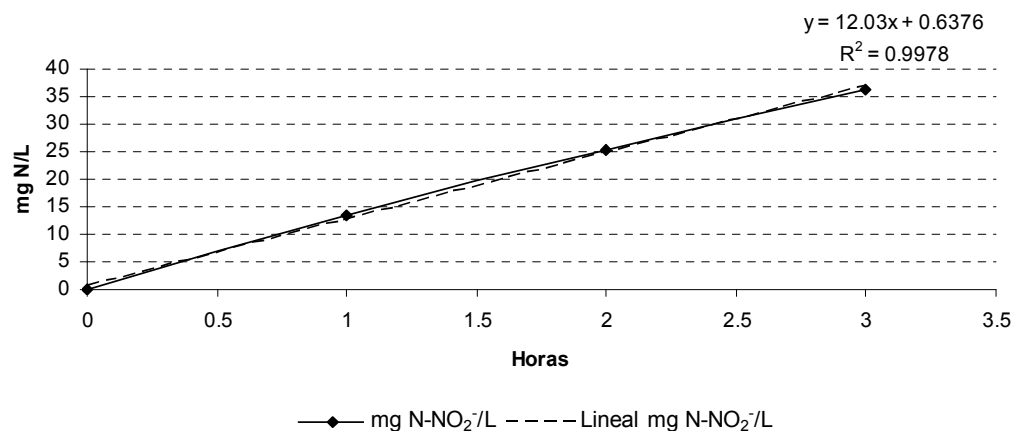


Figura 6.15 Velocidad de formación de nitrito con la aplicación de 0.2 V y 10 mA.

Por último, la velocidad de consumo de nitrito mostrada en la figura 6.16, fue mayor que las presentadas en la cinética sin potencial y la cinética con la aplicación de 100 mA de corriente. La cinética con aplicación de 10 mA de corriente elevó la velocidad de consumo de nitrito en un 82% con respecto a la cinética con aplicación de 100 mA.

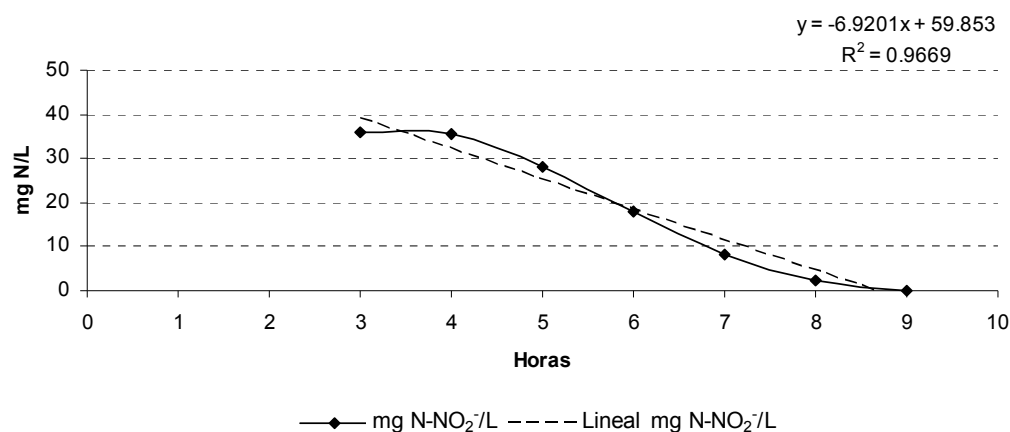


Figura 6.16 Velocidad de consumo de nitrito con aplicación de 0.2 V y 10 mA.

El aumento en la velocidad de formación y consumo de nitrito favorece y acorta el tiempo de formación del óxido nítrico, que es la siguiente especie reductora en la reacción de desnitrificación.

La tabla 6.7 muestra una comparativa con las tres cinéticas y las diferentes condiciones que fueron evaluadas, así como los resultados obtenidos en cada una de ellas.

Tabla 6.7 Condiciones establecidas para cada cinética y resultados obtenidos.

Condiciones	CSP	CCP	CCP2
Inoculo (SSV g/L)	2	2	2
[N-NO ₃ ⁻] (mg/L)	50	50	50
[C-CH ₃ COO ⁻] (mg/L)	60	60	60
C/N	1.2	1.2	1.2
Vol. operación	1.6	1.6	1.6
Voltaje (V)	---	0.2	0.2
Corriente (mA)	---	100	10
Tiempo de reacción (h)	10	10	10
Resultados			
Remanente N-NO ₂ ⁻ a las 10 horas	26%	59%	0%
Tiempo necesario para agotar la totalidad del N-NO ₃ ⁻ (h)	5	8	4
Tiempo en que se presenta pico máximo de [N-NO ₂ ⁻]	5	8	3
Velocidad de consumo de nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ /L*h)	10.93	6.03	15.83
Y _{NO2} (mg N-NO ₂ ⁻ /mg N-NO ₃ ⁻)	0.75	0.76	0.75
Velocidad de formación de N-NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ /L*h)	8.51	4.64	12.03
Velocidad de consumo de N-NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ /L*h)	4.88	3.82	6.92
Porcentaje de remoción de nitrito	64%	19%	100%

6.3 CONCLUSIONES.

A partir de los resultados obtenidos de las tres cinéticas realizadas es posible concluir que existe un efecto favorable para la reducción del nitrato cuando son aplicados 0.2 V y 10 mA de corriente eléctrica. Este efecto favorable puede resumirse en un 45% de aumento en la velocidad de reducción de nitrato a nitrito con respecto al proceso biológico convencional, debido a que fueron suficientes 9 horas para la eliminación completa del nitrito. Sin embargo, la aplicación de corrientes tan altas como 100 mA propician un alargamiento de la etapa de reducción de nitrato a nitrito y de éste a la siguiente especie reductora (NO⁻), provocando una desnitrificación más lenta que el proceso biológico convencional, tal alargamiento puede ser explicado por un exceso de producción de hidrógenos cuando se aplican esos niveles de corriente eléctrica.

Importante también es mencionar que el mantenimiento constante de la concentración de la biomasa durante el desarrollo de las tres cinéticas permitió concluir que el nitrato es metabolizado con fines respiratorios y no de crecimiento, y que esta concentración parece no recibir afectación por la aplicación de potenciales eléctricos.

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES GENERALES.

7. CONCLUSIONES.

Con base en los resultados obtenidos durante las tres etapas del desarrollo del presente trabajo se llegó a las siguientes conclusiones:

El diagnóstico de la calidad de agua en el acuífero Valle de Puebla mostró niveles de concentración de nitratos que, en siete pozos, superan los límites establecidos por la normatividad mexicana. Los metales pesados que representan riesgo para la salud de la población que se abastece de agua a partir del acuífero son cadmio y plomo, lo anterior se debe a que la totalidad de los pozos monitoreados presentan altos niveles de concentración de estos metales.

La implementación del sistema biológico desnitrificante fue posible a partir de la adaptación de la biomasa hacia un metabolismo desnitrificante por la vía desasimilativa, tal adaptación se llevó a cabo con el suministro de nutrientes bajo una relación carbono/nitrógeno de 1.2. Mientras que el crecimiento de esta biomasa fue posible en un cultivo de tipo continuo con una relación carbono/nitrógeno de 1.8.

El desarrollo del sistema biológico asistido por electricidad fue posible a partir de un inóculo desnitrificante desasimilativo y la aplicación de 0.2 V y 10 mA de corriente, tales condiciones, comparadas con el proceso desnitrificante biológico, mostraron una aceleración del consumo de nitrato, velocidad de formación y consumo de nitrito.

PERSPECTIVAS Y TRABAJO FUTURO.

PERSPECTIVAS Y TRABAJO FUTURO.

Las perspectivas y trabajo futuro del presente trabajo son muy amplias. Con respecto a la calidad del agua del acuífero Valle de Puebla es recomendable continuar con su monitoreo, el cual debe ser más extenso a modo de abarcar la totalidad de los pozos en el acuífero. Se propone la realización de un inventario real de las empresas cuyos efluentes no reciban ningún tipo de tratamiento y sean arrojados a cuerpos de agua localizados sobre la superficie del acuífero, o peor aún, que sean desechados directamente al ambiente. Tales efluentes deberán ser caracterizados en cuanto a los contaminantes que contienen.

También es importante contar con información real sobre la cantidad y frecuencia de fertilizantes y plaguicidas aplicados a las superficies agrícolas localizadas en el acuífero, sean de riego o temporal. De esta forma se puede estimar el riesgo real de incrementarse la contaminación por nitrato y metales pesados a mediano y corto plazo.

Por otro lado, tanto en la implementación del método biológico y bioelectroquímico descritos en este trabajo, es importante contar con el análisis de la fase gaseosa en cinéticas de consumo de nitrato, a modo de tener la certeza que el nitrato es reducido hasta nitrógeno molecular. Además, se debe realizar el monitoreo de la oxidación de la fuente de carbono y emplear otras técnicas más precisas para la cuantificación de la biomasa que permitan contar con valores más específicos sobre la población y actividad microbiana.

Sumamente interesante es evaluar la desnitrificación, tanto en el método biológico como electroquímico, empleando agua extraída del pozo más contaminado que se localizó en el acuífero, la cual puede llevarse a cabo con y sin adición de fuente de carbono. Así como seleccionar un tratamiento terciario que en su momento, sería útil para hacer que esa agua sea apta para el consumo humano. Del mismo modo, se propone evaluar la eliminación electroquímica o

bioelectroquímica de los metales pesados cadmio y plomo cuya elevada presencia en el acuífero es preocupante.

No solo el agua subterránea es interesante para su evaluación en el reactor bioelectroquímico, sino también, la evaluación de la desnitrificación de agua residual.

Por último, con base en los resultados del trabajo a futuro propuesto, se debe analizar el estudio económico sobre la implementación del método bioelectroquímico para el saneamiento de aguas subterráneas y residuales. En el estudio se deberá incluir toda la ingeniería necesaria para dimensionar el bioreactor electroquímico a las cargas de nitrógeno y carbono del agua a tratar, así como los costos de operación y mantenimiento.

BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFIA.

1. Hill M. 1996. Nitrates and nitrites in food and water. Origins of nitrate in water. Ed. Woodhead Publishing Limited. Cambridge England. 2a ed. 59, 70.
2. Oakes D. 1996. Nitrates and nitrites in food and water. Nitrate in water. Ed. Woodhead Publishing Limited. Cambridge England. 2a ed. 33
3. Organización Mundial de la Salud. 2006. Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1, Recomendaciones. Ediciones de la OMS, Ginebra, Suiza. 398
4. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). Estadísticas Vitales, Defunciones 2007. Base de Datos. Tomado del reporte "Estadísticas a propósito del día mundial contra el Cáncer". Datos Nacionales 2007.
5. Nielsen, D. 1991. *Practical Handbook of Groundwater Monitoring*. Lewis Publishers. Florida, USA. 1a ed. 430-440
6. Camargo J., Alonso A. 2007. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problema medioambientales, criterios de calidad del agua e implicaciones del cambio climático". Asociación Española de Ecología Terrestre Revista Ecosistemas. 16 (2). 98-110.
7. Ghafari S., Hasan M., Kheireddine A. 2007. Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater- A review. Bioresource. Technology. 05. 1-10.

8. Comisión Nacional del Agua, Estadísticas del agua en México 2008, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, 2008. 1a ed. 24.
9. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2006. Estadísticas a propósito del día mundial del agua. Datos Nacionales, Marzo, 2006. Tomado del sitio www.inegi.gob.mx.
10. Degremont S.A. 2007. Water Treatment Handbook, Halsted Press, 2 ed. 2.
11. Cadahía C. Fertirrigación Cultivos Hortícolas, Frutales y Ornamentales., Editorial Mundi-Prensa. España. 3a ed. 33.
12. Peña-Cabriaes J., Grageda-Cabrera O, Vera-Núñez J. 2001. Manejo de los fertilizantes nitrogenados en México: uso de las técnicas isotópicas (^{15}N). Terra. 20. 51-56.
13. Brock T., Madigan M. 1991. Microbiología. Prentice Hall Hispanoamérica. México. 8a. ed. 109.
14. Zumft W. 1997. Cell Biology and Molecular Basis of Denitrification. Microbiology and Molecular. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 61(4). 533-616.
15. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). 2009. El Mercado de los Fertilizantes en México: Situación Actual y Perspectivas 2009. 13.
16. Hartman P. Nitrates and nitrites: ingestion, pharmacodynamics and toxicology. 1982. In: Chemical Mutagens Principles and Methods for their Detection. Vol. 7, Plenum Press. New York, USA. 1a ed. 211-293.

17. Packer P., Leach A. 1996. Human exposure, pharmacology and metabolism of nitrate and nitrite. Editorial Woodhead Publishing Limited. Cambridge England 1a ed. 131 -162.
18. Acosta R. Saneamiento ambiental e higiene de los alimentos. 2008. Editorial Brujas, Argentina. 1ª ed. 53
19. Díaz D. 2004. Oxido Nítrico Mutagénesis y Cáncer. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 23(3).184-189.
20. Repetto M. 2005. Toxicología Avanzada. Editorial Díaz de Santos. Madrid, España. 1a ed. 268-270
21. Manassaram D., Backer L. Moll D. 2006. A review of nitrates in drinking water: maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. Journal Environmental Health Perspective. 114. 320-327.
22. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Sistema Nacional de Información Estadística y Geográfica. Tomado del sitio web: <http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/pue/rh.cfm?c=444&e=16>
23. Comisión Nacional del Agua (CNA). 2003. Determinación de la disponibilidad de Agua Subterránea en el Acuífero Valle de Puebla, Estado de Puebla. Gerencia de Aguas Subterráneas. 1-28
24. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2009. Cuéntame de México. Tomado del sitio web: <http://cuentame.inegi.org.mx/economia/primarias/agri/default.aspx?tema=E#>

25. Cervantes, F. 2000. Avances en la eliminación biológica del nitrógeno en las aguas residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42.73-82.
26. Lalucat J., Bennasar A., Bosch R., García-Valdez E., Palleroni N. 2006. Biology of *Pseudomonas stutzeri*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 70(2). 510-547.
27. Halling-Sørensen B., Jørgensen S. 1993. The removal of nitrogen compounds from wastewater, Elsevier Science Publishers, Netherlands. Amsterdam, Holanda. 1a ed. 3.
28. Knowles R. 1982. Denitrification. *Microbiological Reviews*. 46. 43-70.
29. Huijuan L., Wei J., Dongjin W., Jiuhui Q. 2009. Study of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of nitrate in water. *Journal of Hazardous Materials*. 169.23-28.
30. Cadena Ramírez, Arturo. Tesis de maestría. 2004. Efecto de las quinonas en la oxidación anaerobia de materia orgánica recalcitrante por un lodo desnitrificante". Universidad Autónoma Metropolitana.
31. Stouthamer, A. 1992. Metabolic pathways in *Paracoccus denitrificans* and closely related bacteria in relation to the phylogeny of prokaryotes. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 61. 1-33.
32. Krause, B. 1997. Physiology and Enzymology Involved in Denitrification by *Shewanella putrefaciens*. *Applied and Environmental Microbiology*. 63. 2613-2618

33. Ovez B., Ozgen S., Yukzel M. 2006. Biological denitrification in drinking water using *Glycirriza glabra* and *Arunda donax* as the carbon source. *Process Biochemistry*. 41. 1539-1544.
34. Goretski J., Hollocher TC. 1990. The kinetic and isotopic competence of nitric oxide as an intermediate in denitrification. *Journal Biological Chemistry*. 265. 889-895.
35. Carr G., Ferguson S. 1990. The nitric oxide reductase of *Paracoccus denitrificans*. *Biochemical. Journal*. 269. 423-429.
36. Scott R., Zumft W., Coyle C., Dooley D. 1989. *Pseudomonas stutzeri* N₂O reductasa contains Cu_A-type sites. *Biophysics*. 86. 4082-4086.
37. Cervantes F., Monroy O., Gómez J. 1998. Accumulation of intermediates in a denitrifying process at different copper and high nitrate concentrations. *Biotechnology Letters*. 20 (10). 959-961.
38. Zhang L. Jia J., Ying D., Ying D., Zhu N., Zhu Y. 2005. Electrochemical effect on denitrification in different microenvironments around the anodes and cathodes. *Research in Microbiology*. 156. 88-92.
39. Park, H.I., Kim D.K., Choi Y., Pak D. 2005. Nitrate reduction using an electrode as direct electron donor in a biofilm-electrode reactor. *Process. Biochemistry*. 40, 3383-3388.
40. Sakakibara Y. Nakayama T. 2001. A novel multielectrode system for electrolytic and biological water treatments: electric charge transfer and application to denitrification. *Water Research*. 35(3). 768-778.

41. Prosnansky M., Sakakibara Y., Kuroda M. 2002. High-rate denitrification and SS rejection by biofilm-electrode reactor (BER) combines with microfiltration. *Water Research*. 36.4801-4810.
42. Islam S., Suidan M. 1998. Electrolytic denitrification: long term performance and effect of current intensity. *Water Research*. 32(2). 528-536.
43. Feleke Z., Sakakibara Y. 2002. A bioelectrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticides. *Water Research*. 36, 3092-3102.
44. Killingstad M., Widdowson M., Smith R. 2002. Modeling enhanced in situ denitrification in groundwater. *Journal of Environmental Engineering*. 128 (6), 491-504.
45. Ferguson S. 1994. Denitrification and its control. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 66. 89-110.
46. Zumft W. 1993. Minireview the biological role of nitric oxide in bacteria. *Archives of Microbiology*. 160. 253-264.
47. Krause B., Nealson K., 1997. Physiology and Enzymology involved in denitrification by *Shewanella putrefaciens*. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(7). 2613-2618.
48. Yaoguo W., Yunfeng L., Lin H., Ying T., Song J. 2009. Effects of ethanol on Benzene degradation under denitrifying conditions. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. 82. 145-152.

49. Jin S., Fallgren P., Luo H. 2010. Feasibility of enhanced biodegradation of petroleum compounds in groundwater under denitrifying conditions. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. 84. 357-361.
50. Martínez-Hernández S., Olguín E., Gómez J., Cuervo-López F. 2009. Acetate enhances the specific consumption rate of toluene under denitrifying conditions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 57. 679-687.
51. Mateju V., Cizinska S., Krejci J., Janoch T. 1992. Biological Water denitrification – A review. *Enzyme. Microbial. Technology*. 14(3). 170-183
52. Green M., Schnizer M., Tarre S., Bogdan B., Shelef G. 1994. Groundwater denitrification using an upflow sludge blanket reactor. *Water Research*. 28(3). 631-7
53. Kapoor A., Viraraghavan T., 1997. Nitrate removal from drinking water-review. *Journal of Environmental Engineering*. 123(4). 371-380.
54. Dahab MF., Kalagiri J., 1996. Nitrate removal from water using cyclically operated fixed-film biodenitrification reactors. *Water Science and Technology*. 34. 331-338
55. Hoek JP., Klapwijk A. 1987. Nitrate removal from ground water. *Water Research*. 21(8). 989-997.
56. Bandpi MA. Elliott DJ. 1996. Nitrate removal from groundwater using an anoxic-aerobic rotating biological contactor. *Water Science Technology*. 34. 323-330

57. Yatong X. 1996. Volatile fatty acids carbon source for biological denitrification. *Journal of Environmental Sciences*. 8(3). 257-269.
58. Volokita M., Belkin S., Abeliovich A. 1996. Biological denitrification of drinking water using newspaper. *Water Research*. 30(4). 965-971.
59. Soares MIM., Abeliovich A. 1998. Wheat straw as substrate for water denitrification. *Water Research*. 32(12). 379-385
60. Volokita M., Abeliovich A, Soares MIM. 1996. Denitrification of ground water using cotton as energy resource. *Water Science Technology*. 34(1-2). 379-385.
61. Nurizzo C., Mezzanatte V. 1992. Ground water biodenitrification on sand fixed film reactor using sugars as organic carbon source. *Water Science Technology*. 26(3-4). 827-834.
62. Müller W. Heinemann A. Schafer C. 1992. Aspects of PHA (poly-b-hydroxy-butyric-acid) as H-donator for denitrification in water treatment processes. *Water Supply*. 10(3). 79-90.
63. Megaert J., Boley A., Cnockaert MC, Müller W. 2001. Identity and potential functions of heterotrophic bacterial isolates from a continuous upflow fixed-bed reactor for denitrification of drinking water with bacterial polyester as source of carbon and electron donor. *Systematic and Applied Microbiology*. 24(2). 303-310.
64. Boley A., Mergaert J., Muller C., Lebreuz H. Cnockaert MC. 2003. Denitrification and pesticide elimination in drinking water treatment with the biodegradable polymer poly (epsilon-caprolactone) PCL. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*. 31(3). 195-203.

65. Bernet N., Bizeau C. 1994. Study of physicochemical factors controlling nitrite build up during heterotrophic denitrification. *Environmental Technology*. 16, 165-172.
66. Sengupta S., Ergas S., López-Luna E., Sahu A., Palaniswamy K. 2006. Autotrophic biological denitrification for complete removal of nitrogen from septic system wastewater. *Water Air and Soil Pollution: Focus*. 6. 111-126.
67. Claus G. Kutzner HJ. 1985. Autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans* in a packed bed reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 22. 289-29.
68. Shapovalova A., Khijniak T. 2008. Heterotrophic denitrification at extremely high salt and pH by haloalkaliphilic Gammaproteobacteria from hypersaline soda lakes. *Extremophiles*. 12. 619-625.
69. Granhen C. Riberio R. 2001. Nitrification and denitrification processes for biologic treatment of industrial effluents. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 91-93. 437-446.
70. Aoi Y., Shiramasa Y., Kakimoto E., Tsuneda S. 2005. Single-stage autotrophic nitrogen removal process using a composite matrix immobilizing nitrifying and sulfur-denitrifying bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 68. 124-130.
71. Nilsson I., Ohlson S., Häggström L., Molin N., Mosbach K. 1980. Denitrification of water using *Pseudomonas denitrificans* cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 10. 261-274.

72. Uemoto H., Saiki H. 1996. Nitrogen removal by tubular gel containing *Nitrosomas europaea* and *Paracoccus denitrificans*. *Applied Environmental Microbiology*. 62. 4224-4228.
73. Uemoto H., Saiki H. 2000. Distribution of *Nitrosomas europaea* and *Paracoccus denitrificans* immobilized in tubular polymeric gel for nitrogen removal. *Applied Environmental Microbiology*. 66. 816-819.
74. Uemoto H., Saiki H. 2000. Nitrogen removal reactor using packed gel envelopes containing *Nitrosomas europaea* and *Paracoccus denitrificans*. *Biotechnology and Bioengineering*. 67. 80-86.
75. Terada A. Hibiya K. Nagai J., Tsuneda S., Hirata A. 2003. Nitrogen removal characteristic and biofilm analysis of a membrane aerated biofilm reactor applicable to high-strength nitrogenous wastewater treatment. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2. 170-178.
76. Hibiya K., Terada A. Tsuneda S. 2003. Simultaneous nitrification and denitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrane-aerated biofilm reactor. *Journal of biotechnology*. 100. 23-32.
77. Strous M., Van Gerven E. Zheng P., Kuenen J., Jetten M. 1997. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation process. *Water Research*. 31. 1955-1962.
78. Sliekers A., Derwort N., Campos-Gómez J., Strous M., Kuenen J., Jetten M. 2002. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. *Water Research*. 36. 2475-2482.

79. Van der Hoek JP., Van der Ven P., Klapwijk A. 1988. Combined ion Exchange/biological denitrification for nitrate removal from ground water under different process conditions. *Water Research*. 22. 679-684.
80. Green M. Tarre S., Schnizer M., Bogdan B., Armon R., Shelef G.. 1994. Groundwater denitrification using an upflow sludge blanket reactor. *Water Research*. 28. 631-637.
81. Soares M. 2000. Biological denitrification of groundwater. *Water, Air and Soil Pollution*. 123. 183-193.
82. Feleke Z., Araki K., Sakakibara Y., Watanabe T., Kuroda M. 1998. Selective reduction of nitrate to nitrogen gas in a biofilm-electrode reactor. *Water Research*. 32(9). 2728-2734.
83. Grommen R., Verhaege M., Verstraete W. 2006. Removal of nitrate in aquaria by means of electrochemically generated hydrogen gas as electron donor biological denitrification. *Aquacultural Engineering*. 34. 33-39
84. Cast K., Flora J. 1998. An evolution of two cathode materials and the impact of copper on bio-bioelectrochemical denitrification. *Water Research*. 32(1). 63-70.
85. Watanabe T., Motoyama H., Kuroda M. 2001. Denitrification and neutralization treatment by direct feeding of an acidic wastewater containing copper ion and high- strenght nitrate to a bio-electrochemical reactor process. *Water Research*. 35(17). 4102-4110.

86. Beschkov V., Velizarov S., Agathos S.N. Lukova V. 2004. Bacterial denitrification of waste water stimulated by constant electric field. *Journal of Biochemical Engineering*. 17. 141-145.
87. Feleke Z., Sakakibara Y. 2002. A bio-electrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticide. *Water Research*. 36. 3092-3102.
88. Park H., Kim D., Choi Y., Pak D. 2005. Nitrate reduction using an electrode as direct electron donor in a biofilm-electrode reactor. *Process Biochemistry*. 40. 3383-3388.
89. Park D., Park Y. 2001. Bioelectrochemical denitrification by *Pseudomonas* sp. or anaerobic bacterial consortium. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 11(3). 406-411.
90. Kuroda M., Watanabe T. Umedu Y. 1997. Simultaneous COD removal and denitrification of wastewater by bio-electro reactors. *Water Science, Technology*. 35(8). 161-168.
91. Keating K., Williams J. 1976. The recovery of soluble copper from an industrial chemical waste. *Resource Recovery and Conservation*. 2. 39-55.
92. Abda M., Oren Y. 1993. Removal of cadmium and associated contaminants from aqueous wastes by fiborous carbon electrodes. *Water Research*. 27(10). 1535-1544.
93. Golub D., Oren Y. 1989. Removal of chromium from aqueous solutions by treatment with porous carbon electrodes: electrochemical principles. *Journal Applied Electrochemistry*. 19. 311-316.

94. Genders J., Hartsough D. 1996. Electrochemical reduction of nitrates and nitrites in alkaline nuclear waste solutions. *Journal Applied Electrochemistry*. 26. 1-9.
95. Comninellis C., Pulgarin C. 1991. Anodic oxidation of phenol for waste water treatment. *Journal Applied Electrochemistry*. 21. 703-708.
96. Pulgarin C., Alder N., Peringer P, Comninellis C. 1994. Electrochemical detoxification of a 1, 4 benzoquinone solution in wastewater treatment. *Water Research*. 28(4). 887-893.
97. Szpyrkowicz L., Naumczyk J., Zilio-Grandi F. 1995. Electrochemical treatment of tannery wastewater using Ti/Pt and Ti/Pt/Ir electrodes. *Water Research*. 29(2). 517-524.
98. Matsunaga T., Nakasone S., Kitajima Y., Horiguchi K. 1993. Electrochemical disinfection of bacteria in drinking water using activated carbon fibers. *Biotechnology Bioengineering*. 43. 429-433.
99. Walsh F., Reade G. 1994. Water care and treatment processes. *Environmental Oriented Electrochemistry*, ed. C.A.C Sequeira. Elsevier Amsterdam. The Netherlands. 3-44
100. Mellor B., Ronnenburg J., Campbell W. Diekmann S. 1992. Reduction of nitrate and nitrite in water by immobilized enzymes. *Nature*. 355. 717-719.
101. Sakakibara Y., Araki K., Watanabe T., Kuroda M. 1997. The denitrification and neutralization performance of an electrochemically activated biofilm reactor used to treat nitrate-contaminated groundwater. *Water Science Technology*. 36(1). 61-68.

102. Sakakibara Y., Kuroda M. 1993. Electric prompting and control of denitrification. *Biotechnology and Bioengineering*. 42. 535-537.
103. Strathmann H. 1994. Electrodialytic membrane process and their practical application. In *Environmental Oriented Electrochemistry*, ed C.A.C. Sequeira. Elsevier. The Netherlands.
104. Segall B., Bruell C. 1992. Electroosmotic contaminant-removal processes. *Journal of Environmental Engineering*. 118(1). 84-100.
105. Tambo N. 1978. Electrolytic Addition of Aluminium. *Journal Water Works Association*. 552. 39-58.
106. Flora R. Suidan M., Islam S., Biswas P., Sakakibara Y. 1993. Numerical modelling of a biofilm-electrode reactor used for enhanced denitrification. *Proceedings of a Second International Specialized Conference on Biofilm Reactors*. 613-20.
107. Sakakibara Y., Tanaka T., Ihara K., Watanabe T., Kuroda M. 1995. An in-situ denitrification of nitrate-contaminated groundwater using electrodes. *Process Environmental Engineering Research*. 32. 528-536.