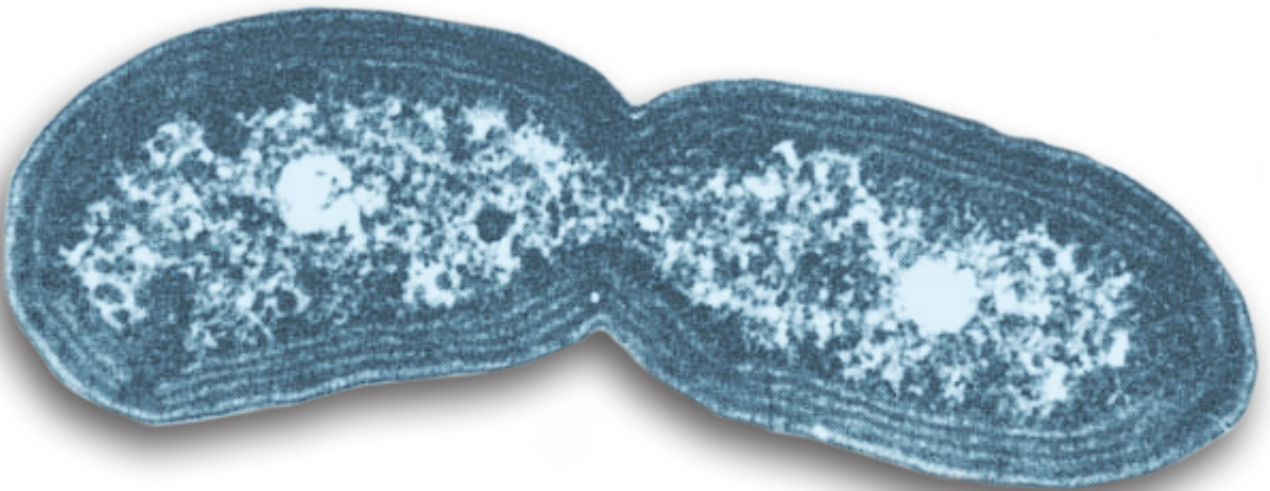




**AQUAFIX**  
Wastewater Laboratories  
University of Wisconsin Research Park

# Restauración de la nitrificación en aguas residuales

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN SOBRE  
VITASTIM DYNAMIC DUO



**Dan McKeaton**

Químico

Aquafix, Inc

[info@teamaquafix.com](mailto:info@teamaquafix.com)

888-757-9577



# Resumen del trabajo de investigación

- Las bacterias nitrificantes constituyen entre 4-6% de la población total en un proceso de depuración biológica por lodos activados, y tienen una diversidad limitada en comparación con las bacterias heterótrofas de las aguas residuales. Esto las hace más susceptibles a la toxicidad
- Los nitrificantes presentan tasas de crecimiento lentas, lo que significa que su población necesita de tiempo para adaptarse a los cambios en las diversas condiciones ambientales
- Este documento presenta los datos de laboratorio y de campo del VitaStim Dynamic Duo, así como las condiciones operativas y ambientales sugeridas para el crecimiento óptimo de los nitrificantes.
- VitaStim Dynamic Duo permite que la recuperación de la pérdida de la nitrificación sea mucho más rápida.

**Estudio de caso 1:**  
SBR municipal, restauración de la nitrificación a 13° C

**Eliminación de amoníaco al**

**97%**

**Estudio de caso 2:**  
SBR industrial

**Eliminación de amoníaco al**

**96%**

**Estudio de caso 3:**  
Procesamiento de carne,  
Bloqueo de nitritos

**Eliminación de nitritos al**

**99.6%**

## Resumen

Los organismos quimioautótrofos, como las bacterias nitrificantes, producen energía a través de la oxidación de compuestos inorgánicos como el amoníaco y el nitrito. Este proceso tiende a ser menos eficiente para la producción de energía que los métodos de producción de energía heterótrofa. Como consecuencia, las bacterias heterótrofas presentes en un sistema de aguas residuales controlan la eliminación de todos los nutrientes hasta que los niveles de DBO son muy bajos y los niveles de oxígeno disuelto aumentan. A su vez, la concentración de bacterias nitrificantes suele ser baja y su diversidad menor en comparación con la de las bacterias heterótrofas.

Se cree que las bacterias nitrificantes constituyen entre 0.39-9% de la población bacteriana en los lodos activados (Yao y Peng, 2017). La mayoría de los sistemas de lodos activados nitrificantes tienen entre 4-6% de la población bacteriana compuesta por bacterias nitrificantes (Yao y Peng, 2017). Esta población, tasa de crecimiento y diversidad reducidas hace que sea mucho más probable que una planta de aguas residuales saludable tenga alteraciones que conduzcan a una eliminación deficiente de amoníaco en lugar de una eliminación deficiente de DBO. Las tasas de duplicación de los nitrificantes suelen ser de entre 22 y 48 horas (según el contexto), mientras que las tasas de duplicación heterótrofas suelen ser de entre 20 y 30 minutos (Leech, 2019). El aumento de la población de bacterias nitrificantes mediante productos complementarios como los nitrificadores VitaStim es la forma más rápida de mejorar la nitrificación en las plantas de aguas residuales.

## Resultados

Debido a la fragilidad de las bacterias nitrificantes en comparación con las bacterias heterótrofas de las aguas residuales, Aquafix Inc. ha trabajado en numerosas ocasiones con operadores que han luchado por preservar la nitrificación en sus sistemas de aguas residuales para desarrollar su propio cultivo de bacterias nitrificantes, VitaStim Nitrifiers. Este documento tiene como objetivo proporcionar información de referencia sobre las bacterias nitrificantes, los parámetros operativos ideales para el crecimiento de los nitrificantes y

los resultados de las pruebas de laboratorio y de campo de los nitrificadores VitaStim.

La nitrificación es uno de los dos mecanismos primarios para la eliminación del amoníaco en los sistemas aeróbicos de aguas residuales. La nitrificación es un proceso de dos etapas realizado por dos tipos de bacterias, las oxidantes de amoníaco y las oxidantes de nitrito. Las bacterias oxidantes de amoníaco (AOB) convierten el amoníaco en nitrito a través de la vía de oxidación de este. A ello le sigue la transformación del nitrito en nitrato a través de las bacterias oxidantes de nitrito (NOB).

Se cree que la oxidación del amoníaco y la oxidación del nitrito se producen a través de varias enzimas diferentes. La oxidación del amoníaco comienza cuando la enzima amoníaco monooxigenasa (AMO) cataliza una reacción en el amoníaco hasta llegar al  $\text{NH}_2\text{OH}$ , que luego se traslada fuera de la célula donde se convierte en nitrito utilizando la enzima hidroxilamina oxidorreductasa (HAO) (Costa, 2006). El nitrito se convierte entonces en nitrato mediante una reacción catalizada por la enzima nitrito oxidorreductasa. Estas reacciones proporcionan la energía necesaria para que los nitrificantes crezcan y se reproduzcan.

Las bacterias nitrificantes se definen cada vez con mayor exactitud, pero a menudo se descubren más especies capaces de llevar a cabo el proceso de nitrificación. Históricamente, las *Nitrosomonas* (AOB) y las *Nitrobacter* (NOB) han sido consideradas las principales bacterias nitrificantes presentes en los sistemas de aguas residuales, pero cada vez existen más pruebas de que esto no es necesariamente así. Cada tipo de bacteria nitrificante tiende a predominar en ciertas condiciones. Esto significa que las diferentes plantas de aguas residuales tienden a presentar poblaciones muy diferentes de bacterias nitrificantes en función del tipo de planta, las condiciones de funcionamiento y la composición de las aguas residuales. Algunos géneros de nitrificantes comúnmente estudiados son las bacterias oxidantes del amoníaco *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* y *Nitrosovibrio*. Otros géneros comúnmente estudiados son los de las bacterias oxidantes de nitrito *Nitrospira*, *Nitrospina* y *Nitrococcus*.

## Pruebas de laboratorio de los nitrificadores Aquafix Dynamic Duo:

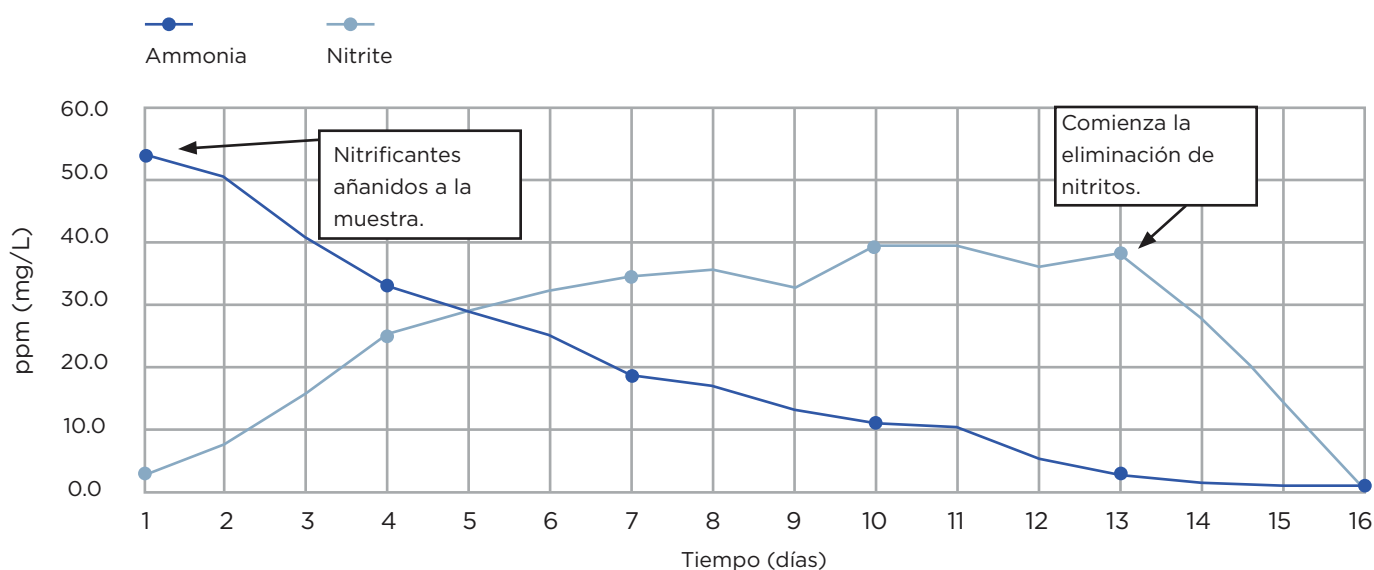
Aquafix lleva a cabo pruebas y estudios de casos para confirmar la eficacia de nuestros productos nitrificadores. Es importante señalar que los resultados de laboratorio y de campo pueden variar ampliamente en función de la razón de la pérdida de nitrificación, el tipo de sistema existente y las condiciones ambientales.

Las pruebas de absorción de amoníaco consisten en añadir una dosis de nuestros nitrificadores VitaStim a un medio de cultivo de nitrificantes. Las pruebas se realizan con luz limitada para prevenir la fotoinhibición de los nitrificantes en

una placa agitadora orbital a 90 RPM en matraces de Erlenmeyer de 500 ml que contienen 100 ml de nuestro material nitrificador. Cabe destacar que el amoníaco, el nitrito y el nitrato son medidos a diario. El pH se mantiene alrededor de 7.5 al utilizar el rojo de fenol como indicador de pH en nuestras instalaciones y al añadir de forma manual carbonato de sodio y ácido clorhídrico como titulantes. Las pruebas, en este caso, se realizaron con nitrificantes que fueron almacenados en refrigeración durante aproximadamente 6 meses luego del cultivo, a fin de determinar si los nitrificantes continuaban activos después de este período. Los reactores de nitrificación se realizaron por triplicado, mientras que los reactores de control (sin nitrificadores) se realizaron por duplicado.

**Figura 1:**

Relación entre el amoníaco y el nitrito con nitrificación



Nuestra prueba de absorción de amoníaco (Figura 1) muestra cómo el desarrollo de los nitrificantes ocurre en un cultivo controlado. El amoníaco se convirtió en nitrito y luego en nitrato. Puesto que en esta prueba se utilizó un medio a base de agua de grifo sin carbono ni crecimiento heterótrofo, la variación del pH tendió a provocar un crecimiento lento de los nitrificantes y los oxidantes del nitrito. Estas pruebas confirmaron que incluso tras 6 meses en refrigeración, los nitrificadores fueron capaces de eliminar el amoníaco en una solución. En nuestros cultivos también se confirmó la presencia de bacterias nitrificantes (AOB y NOB) en función de la acumulación encontrada de nitrato.

## Pruebas de los nitrificadores Aquafix VitaStim: Recuperación de la toxicidad

Esta prueba fue diseñada para evaluar si los nitrificadores VitaStim sirven para reducir los niveles de amoníaco en nuestros reactores de laboratorio de aguas residuales cuando se produce un evento tóxico que lleva a la pérdida de nitrificación. Las pruebas se realizaron en matraces de Erlenmeyer de 500 ml en una placa agitadora orbital a 160 RPM a temperatura ambiente (22 °C). El licor mixto y el afluente de aireación utilizados en las pruebas fueron obtenidos de una instalación lechera local. El afluente de aireación provino de dos fuentes. Por un lado, una descarga de desechos de baja concentración y, por otro lado, el efluente de la sección anaeróbica del sistema que trata los desechos de alta concentración de la instalación.

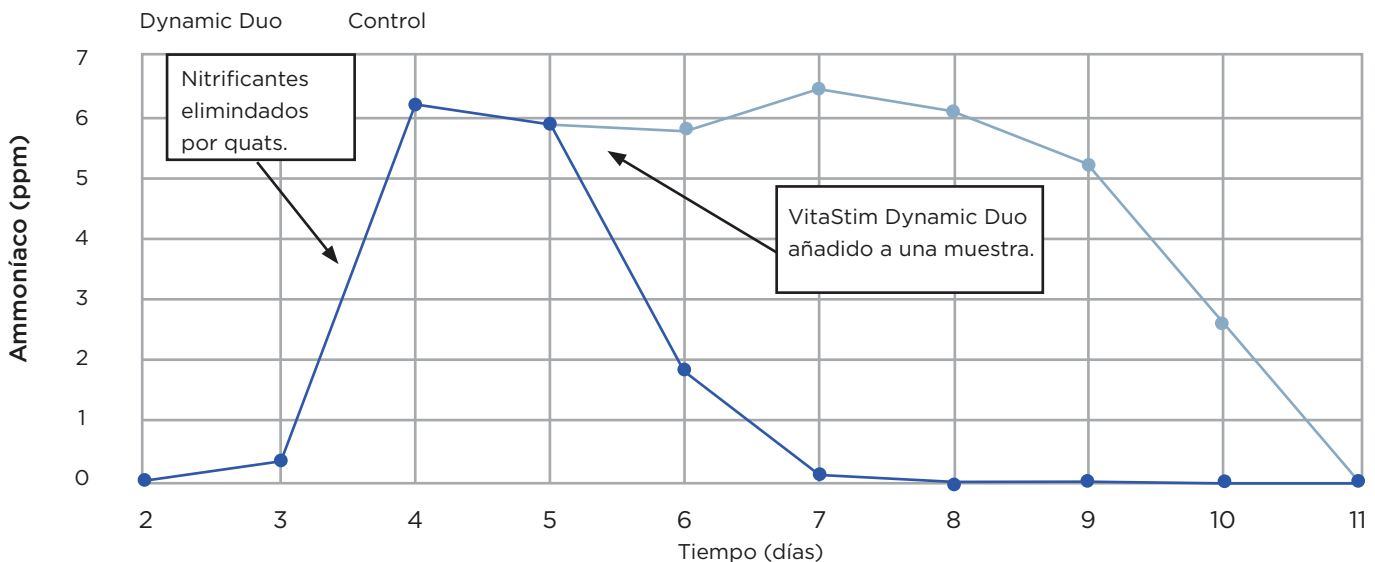
El afluente fue sometido a un autoclave para prevenir la proliferación de bacterias en las muestras durante las pruebas. El afluente de baja concentración y el efluente de alta concentración fueron mezclados con agua de grifo desclorada para

obtener una corriente de desechos que presentara 450 ppm de DQO y 40 ppm de amoníaco. Los reactores se prepararon inicialmente diluyendo el SSLM a 2000 ppm con agua corriente desclorada, decantando el 50 % del volumen total del reactor y rellenando el 50 % del volumen con nuestra mezcla del afluente. Los matraces recibieron diariamente esta combinación durante el tiempo de ejecución de los ensayos. El pH en esta prueba fue medido y ajustado diariamente a 7.3 (+/- 0.1).

Los reactores estuvieron funcionando durante dos días. Al tercer día del ensayo, se administró una toxina llamada amina cuaternaria al llegar a 10 ppm. Luego, se agregaron nitrificadores VitaStim a la mitad de los reactores durante dos días (día 5 del ensayo) en una dosis única de 20 ppm, junto con 1 ppm del producto asimilador de amoníaco VitaStim. Los reactores de control y de nitrificación se realizaron por triplicado y se promediaron. Se hicieron pruebas hasta que se observó la eliminación total del amoníaco tanto en los reactores de control como en los de nitrificación.

**Figura 2:**

Amoníaco frente al tiempo transcurrido con leve toxicidad de quat



La figura 2 muestra que la adición de nitrificantes logró acelerar la recuperación de la eliminación del amoníaco. En este caso, Dynamic Duo fue añadido al quinto día y la eliminación completa del amoníaco se logró en aproximadamente un tercio del tiempo en comparación con lo que les tomó a los controles recuperarse completamente. A diferencia de los resultados de esta investigación, creemos que en condiciones reales más adversas (mayor cantidad de amoníaco en el efluente, temperaturas más frías, variaciones en las tasas de carga), la recuperación de la eliminación del amoníaco probablemente tomaría más tiempo en completarse, tanto con la adición de nitrificantes como con nuestros controles.

## Estudio de caso 1: Derrame de combustible diésel en el sistema municipal de Pennsylvania

Eliminación del amoníaco al

**97%**

- 318,000 GPD
- 13 °C en SBR

Esta planta municipal de tratamiento de aguas residuales tiene una capacidad de 318 000 GPD. La DBO entrante suele ser de alrededor de 220 ppm y el amoníaco entrante se encuentra entre los 23 y 32 ppm. La planta posee dos SBR de 334 000 galones (máxima capacidad) que descienden a 279 000 galones (alrededor del 16 % del volumen) 4.5 veces al día en promedio. A principios de noviembre se produjo un derrame accidental de unos siete barriles de 55 galones de combustible diésel en la planta de aguas residuales. El sistema se limpió rápidamente, pero los niveles de amoníaco en el efluente de la planta aumentaron en aquel mes y continuaron subiendo hasta diciembre. La recuperación de la población de nitrificantes fue extremadamente difícil dado que la temperatura en el interior de ambos SBR era de unos 13 °C. A principios de enero, ambos reactores registraron en el efluente un nivel de amoníaco de aproximadamente 6 ppm, que también era el límite de amoníaco en el efluente de la planta. En ese momento, los SBR contenían un SSLM de aproximadamente 2700 ppm en ambos reactores. La planta comenzó a suministrar Dynamic Duo a una tasa de 1 galón por SBR durante la primera semana de enero. Para fines de esa semana, los niveles de amoníaco habían vuelto a los valores habituales de entre 0.2 y 0.3 ppm, valores habituales en sus efluentes.

## Estudio de caso 2: Sistema de limpieza de aguas residuales de barcas en Texas

Eliminación del amoníaco al

**96%**

- 80-100,000 GPD
- Industrial SBR

Este sistema industrial de lodos activados con tres biorreactores trata de 80 000 a 100 000 galones de aguas residuales de limpieza de barcas por día. Los biorreactores se encuentran dispuestos en secuencia con dos reactores de nitrificación por lote. El primer reactor de nitrificación suele tener 250 ppm de amoníaco entrante, que se reduce a unas 25 ppm. El segundo, por lo general reduce los niveles de amoníaco aún más hasta llegar cerca de 1 ppm. La planta experimentó una pérdida de nitrificación, la cual se pensó que había sido causada por una toxicidad. El amoníaco en el efluente de la planta aumentó de 1 ppm a 25 ppm. Se aplicó a diario 3.5 onzas de nitrificante Dynamic Duo en el primer reactor en un tratamiento que duró 10 días. Los niveles de amoníaco se recuperaron al cabo de 10 días hasta llegar a 1 ppm, que es lo que se observa normalmente en el efluente de la planta.

## Estudio de caso 3: Bloqueo de nitritis en en matadero de cerdos en Iowa

Eliminación de nitritos al

**99.6%**

- 900,000 GPD
- 37.3 ppm de caída de nitritos en 1 día

Este caso se produjo en un matadero de cerdos en donde hay dos lagunas anaeróbicas y un proceso de lodos activados con un gran tanque de aireación de 1.8 millones de galones con un tiempo de retención hidráulica de 2 días (capacidad de caudal de 900 000 GPD). Las aguas residuales que ingresan al tanque de aireación contienen niveles bajos de DBO (por lo general de 30 a 40 ppm), pero niveles altos de amoníaco (200 ppm). El amoníaco en el efluente de la aireación suele estar por debajo de 1 ppm, con niveles de nitritos por debajo de los límites de detección. A principios de octubre, la planta experimentó una carga más intensa de lo habitual, lo que provocó que el pH bajara a 6. Además, debido a un descuido se dejó una bomba de desperdicio encendida durante 24 horas, lo que provocó una pérdida significativa de sólidos. Inicialmente, el amoníaco aumentó hasta 5.86 ppm, pero volvió a la normalidad al cabo de un día sin tratamiento. Sin embargo, los niveles de nitritos en la cuenca aumentaron a unas 45 ppm. La planta agregó 2 galones de Dynamic Duo, y al cabo de un día sus niveles de nitritos disminuyeron a 7.7 ppm. Un cambio de temperatura la noche siguiente causó que los niveles de nitritos en el sistema volvieran a aumentar a 32 ppm. Luego de otro día de tratamiento, los niveles de nitritos en el efluente cayeron a 7.5 ppm y volvieron a subir a 0.199 ppm al cabo de tres días.



## Condiciones operativas importantes para los nitrificadores

---

La nitrificación se convierte en la principal forma de eliminación de amoníaco una vez que se agotan los niveles de DBO. Generalmente el amoníaco se libera en la descomposición de la urea, pero también suele aparecer en menores cantidades debido a la degradación de las proteínas y otras moléculas que contienen nitrógeno. Las formas orgánicas de nitrógeno, como los aminoácidos y las proteínas, tienden a ser las formas favoritas para las bacterias heterótrofas. Esto significa que en los sistemas de tratamiento de aguas residuales suele haber un exceso de amoníaco que debe ser oxidado por los nitrificantes para lograr los límites de efluentes en relación con el amoníaco. En los casos de pérdida de nitrificación, este exceso de amoníaco es lo que se observa en los vertidos de residuos.

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales, los nitrificantes tienden a ser formadores de flóculos de menor calidad en comparación con los organismos heterótrofos, ya que producen menos sustancias poliméricas extracelulares (SPE). Esto significa que la formación adecuada de flóculos por parte de las bacterias heterótrofas conduce a poblaciones de nitrificantes más estables, ya que la SPE generada por los heterótrofos ayuda a consolidar los nitrificantes en un sistema de aguas residuales.

Como se mencionó anteriormente, los diferentes tipos de bacterias nitrificantes pueden tener tolerancia y prosperar a pesar de las importantes variaciones en las condiciones ambientales y operacionales. Existen diversas consideraciones operacionales que pueden mejorar la diversidad de los nitrificantes y mantener una mayor población de estos para reducir al mínimo el riesgo de pérdida de nitrificación.

### 1. Tiempos de retención

Por lo general, se recomienda un TRH de más de 10 horas para la nitrificación y un TRC de más de 8 días para mantener una población de nitrificantes adecuada. Esto a menudo lleva más tiempo en sistemas con condiciones adversas, lo que hace que los operadores aumenten su TRC al

tener, por ejemplo, bajas temperaturas. Si el TRH es demasiado corto, los nitrificadores no tendrán suficiente tiempo para realizar la eliminación de amoníaco después de que los heterótrofos hayan terminado de eliminar la DBO. Un tiempo demasiado corto de TRC hace que no se logre retener una cantidad adecuada de nitrificantes en el sistema como para mantener una población adecuada. Por otro lado, si el TRC es demasiado alto, se producirá una floculación deficiente y un crecimiento filamentoso. A menudo se recomienda mantener un SSLM superior a 2000 para proteger de manera eficaz a los nitrificantes de las condiciones adversas y mantener una población que pueda tolerar factores desestabilizadores como los cambios de temperatura (Gererdi, 2002).

### 2. Temperatura

Los nitrificadores prefieren un rango de temperatura entre 15 y 30 °C. Por consiguiente, a temperaturas menores a 15 °C, los nitrificadores pueden experimentar dificultades para mantener una población adecuada. Con temperaturas superiores a 30 °C, suelen tener problemas de baja concentración de oxígeno disuelto, ya que la solubilidad del oxígeno disminuye a temperaturas más altas. Sin embargo, se ha registrado que los nitrificadores pueden funcionar de manera eficaz fuera de este rango de temperaturas, ya que la población bacteriana suele ser capaz de aclimatarse a diversas condiciones. Los cambios rápidos de temperatura también repercuten en la nitrificación, ya que los nitrificantes no son capaces de adaptarse con rapidez debido a sus tasas lentas de crecimiento. En un estudio reciente (Knight, 2019), se pudo observar que los nitrificantes son capaces de funcionar a más de 35 °C (hasta 52 °C), algo que se creía casi imposible.

### 3. Oxígeno disuelto

Los nitrificadores en las plantas de aguas residuales funcionan de manera óptima cuando el oxígeno disuelto se encuentra entre 2 y 3 ppm. La razón principal de esto es que el oxígeno disuelto en los sistemas de aguas residuales suele mantenerse en estos valores para lograr una actividad aeróbica efectiva. Se sabe que algunas especies de



nitrificantes prosperan muy por debajo de 1 ppm de OD, y que muchos nitrificantes presentes en ambientes acuáticos naturales prefieren niveles más altos de OD, ya que sus ambientes suelen tener niveles muy bajos de DBO. Debido a estos factores, si se vuelve a sembrar una población de nitrificantes, es importante utilizar nitrificantes que estén aclimatados a los niveles de OD de una planta de tratamiento de aguas residuales típica. Debido a estos factores, si se vuelve a sembrar una población de nitrificantes, es importante utilizar nitrificantes que estén aclimatados a los niveles de OD de una planta de tratamiento de aguas residuales típica.

#### 4. Alcalinidad

La alcalinidad es uno de los factores ambientales más importantes para la nitrificación por dos razones principales. La primera es que los nitrificadores usan dióxido de carbono disuelto, carbonato y bicarbonato como fuente de carbono para la producción autótrofa de glucosa, en tanto que ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ) son los principales contribuyentes a la alcalinidad de un sistema. La segunda razón es que los nitrificantes producen ácido nítrico durante la oxidación del amoníaco y, si la alcalinidad es baja, el pH podría fluctuar debido a la producción de ácido, lo que podría ocasionar un crecimiento deficiente de los nitrificantes. Esto significa que, en los casos de baja alcalinidad, es mucho más beneficioso complementarla con carbonato o bicarbonato, en lugar de utilizar otros compuestos básicos comúnmente añadidos como el hidróxido de sodio o el hidróxido de magnesio. Por lo general, una alcalinidad de alrededor de 100 ppm es óptima para el funcionamiento de los nitrificadores. Sin embargo, la alcalinidad podría ser inferior o superior si el sistema mantiene un pH estable y la nitrificación funciona lo suficientemente bien como para hacer frente a la tasa de carga de amoníaco en un sistema determinado. Una dosis de 8.64 mg/l de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) es considerada adecuada para eliminar 1 ppm de amoníaco en los sistemas de aguas residuales, según un modelo de nitrificación de 1976 (USEPA, 2002). enough to handle the rate of ammonia loading in a system. 8.64 mg/L bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) is considered adequate to remove 1 ppm of ammonia in wastewater systems based on a model of nitrification from 1976 (USEPA, 2002).

#### 5. pH

Los nitrificadores prefieren un flujo de residuos que sea neutro a ligeramente alcalino (pH de 7 a 8). A valores de pH más bajos (6 a 5.5), los nitrificadores crecen y funcionan a un ritmo menor, y a valores de pH más altos (9 a 9.5) los nitrificadores suelen morir dentro del sistema, lo que dificulta la conservación de una población efectiva. Si se mantiene adecuadamente la alcalinidad, es poco probable que los valores de pH en la mayoría de los sistemas de aguas residuales estén fuera de este rango.

## Conclusión

Las bacterias nitrificantes son esenciales para lograr la eliminación casi completa del amoníaco en los sistemas de lodos activados. En muchos casos, los sistemas de aguas residuales con una nitrificación eficaz pueden alcanzar niveles de amoníaco y nitrito por debajo de los límites de detección. Los nitrificantes requieren condiciones operativas específicas para funcionar de forma eficaz, y son más susceptibles a la toxicidad y a otras condiciones adversas que la mayoría de los heterótrofos de aguas residuales. Si en una planta de aguas residuales se presentan condiciones óptimas, las poblaciones de nitrificantes serán más robustas y menos susceptibles de sufrir alteraciones. Si aparecen condiciones adversas y se pierde la nitrificación, los nitrificadores VitaStim y los asimiladores de amoníaco VitaStim ayudarán a recuperar la población de nitrificantes de manera rápida para evitar infracciones en los límites de los efluentes.

## Referencias bibliográficas

- Costa, E., Perez, J., & Kreft, J.U. (2006). Why is metabolic labor divided in nitrification? *TRENDS in Microbiology*, 14(5), 212–219.
- Gerardi, M. H. (2002). *Nitrification and denitrification in the activated sludge process*. New York, NY: Wiley-Interscience.
- Knight, M., Hameon-Denis, N., Lund, S., McIlwain, B., Watkins, S., & Schmidt, J. (2019). How hot is too hot? reviewing the treatment performance of refinery WWTP biological treatment systems operating at high temperatures. Unpublished manuscript.
- Leach, S. (2019). *Nitrification and denitrification, the role of microorganisms in wastewater treatment* USEPA. (2002). Office of Ground Water and Drinking Water Distribution System Issue Paper: Nitrification. Washington, DC: USEPA.
- Yao, Q., & Peng, D. C. (2017). Nitrite oxidizing bacteria (NOB) dominating in nitrifying community in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants. *AMB Express*, 7(25), 3–11.
- Zhang, J., Wu, P., Hao, B., & Yu, Z. (2011). Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001. *Bioresource Technology*, 102, 9866–9869.



Trabajo de investigación elaborado y completado por

**Laboratorios Aquafix**