

Evaluación de la eficiencia en desnitrificación de efluentes agrícolas mediante el uso de un biorreactor en el centro de Illinois

Mariam Gabriela Valladares Castellanos

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Honduras

Noviembre, 2013

ZAMORANO
DEPARTAMENTO DE AMBIENTE Y DESARROLLO

Evaluación de la eficiencia en desnitrificación de efluentes agrícolas mediante el uso de un biorreactor en el centro de Illinois

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Mariam Gabriela Valladares Castellanos

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2013

Evaluación de la eficiencia en desnitrificación de efluentes agrícolas mediante el uso de un biorreactor en el centro de Illinois

Presentado por:

Mariam Gabriela Valladares Castellanos

Aprobado:

Erika Tenorio, M. Sc.
Asesora principal

Laura Suazo, Ph. D.
Directora
Departamento de Ambiente y
Desarrollo

Raúl Espinal, Ph. D.
Asesor

Raúl H. Zelaya, Ph. D.
Decano Académico

Evaluación de la eficiencia en desnitrificación de efluentes agrícolas mediante el uso de un biorreactor en el centro de Illinois

Mariam Gabriela Valladares Castellanos

Resumen: Los biorreactores construidos a partir de sustratos forestales son una tecnología innovadora para la remoción de los nitratos provenientes de los drenajes agrícolas. El objetivo del estudio fue evaluar el desempeño de un biorreactor localizado en una zona predominantemente agrícola mediante la determinación de la composición física y química de su sustrato después de un año de funcionamiento en términos de la densidad, la concentración del nitrógeno, el carbono, el fósforo y la relación C:N. Se evaluó la eficiencia del biorreactor en la remoción de los nitratos, los fosfatos y el carbono del efluente. La concentración del nitrógeno del sustrato incrementó significativamente durante el primer año de operación. Por otra parte, la relación C:N del sustrato disminuyó significativamente en relación a su composición original. La densidad en la capa superior de sustrato del biorreactor disminuyó en relación a la capa inferior cuya densidad incrementó significativamente. La tasa de remoción de los nitratos entre las muestras del influente y el efluente fue de $13.6 \text{ g NO}_3\text{-N m}^{-3}$. La liberación de los fosfatos mediante los procesos de descomposición natural del sustrato alcanzaron una tasa máxima de 0.3 g P m^{-3} . La concentración del carbono en el efluente incrementó significativamente con COD máximas de 118 mgL^{-1} . El biorreactor removió los nitratos del efluente sin embargo, debido a procesos de descomposición incrementó las concentraciones de COD y P en el efluente.

Palabras clave: Carbono orgánico disuelto, drenajes agrícolas, fosfatos, tasa de remoción de nitratos.

Abstract: Woodchip bioreactors are an innovative technology for the removal of nitrate by denitrification from agricultural tile drainage water. The objective of this study was to evaluate the performance of a bioreactor located in an agricultural area by measuring the chemical and physical composition of two layers of woodchips in the bioreactor after a year of operation in terms of woodchip density, nitrogen, phosphorus, carbon concentrations and C:N ratio. In addition, the efficiency of nitrate removal rate by the bioreactor, and the phosphorus and carbon release into drainage waters were evaluated. Nitrogen concentrations increased and the C:N ratio decreased in the woodchips during the first year of operation. The relation C:N of the woodchips decreased significantly when compared to its original composition. The density in the top layer of the bioreactor decreased whereas the density of the bottom layer increased. The nitrate removal rate between the tile inlet and outlet was $13.6 \text{ g NO}_3\text{-N m}^{-3}$. Phosphate was released from the woodchips by decomposition processes with about 0.3 g P m^{-3} . In addition, the outlet DOC concentration was significantly increased compared to the inlet water, with maximum DOC concentration of 118 mg L^{-1} . The bioreactor was efficient in nitrate removal, however decomposition processes increased DOC and P concentrations in the effluent.

Key Words: Carbon release, nitrate removal rate, phosphate, tile drainage.

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Página de firmas	ii
	Resumen	iii
	Contenido	iv
	Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
4	CONCLUSIONES	15
5	RECOMENDACIONES	16
6	LITERATURA CITADA.....	17
7	ANEXOS	20

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de la nomenclatura de las muestras de campo dependiendo de la posición (A o B) y el lugar (R o L) del sustrato en el biorreactor.	6
2. Comparación de la capa superior e inferior de las muestras de sustrato del año 2012 y 2013 en términos de volumen y densidad de las astillas.	12
3. Promedio de las fluctuaciones en el nivel del agua en el período marzo-junio de 2012.	13
4. Descripción estadística general del influente y el efluente del biorreactor.	14

Figuras	Página
1. Reacción de reducción por las bacterias desnitrificantes de nitrato (NO_3^-) a nitrógeno gaseoso (N_2).	2
2. Ubicación de la cuenca del río Embarras donde se encuentra el biorreactor de las astillas.	4
3. Diagrama y dimensionamiento del biorreactor.	5
4. Muestreo sistemático puntual con un diseño experimental completamente al azar.	6
5. Comparación del porcentaje de carbono entre las capas superiores e inferiores del biorreactor.	10
6. Composición de las astillas en términos del porcentaje del nitrógeno (%N) y el nitrógeno total por Kjeldahl (TKN) entre las muestras de 2012 y 2013.	11
7. Comparación de la relación carbono: nitrógeno (C:N) entre las muestras del sustrato del 2012 y 2013.	11
8. Comparación física entre capas de sustrato del año 2012 y 2013.	12

Anexos	Página
1. Análisis de correlación entre los nutrientes del influente y efluente del biorreactor.	20
2. Curva de degradación de nitratos en los primeros 15 de operación del biorreactor...	21

1. INTRODUCCIÓN

Las actividades agrícolas que requieren el uso intensivo de los fertilizantes aplicados al suelo producen altas concentraciones de nutrientes lixiviados a través de drenajes agrícolas (Greenan *et al.* 2009). La adición de los nitratos, provenientes de las actividades de la fertilización, puede afectar seriamente las características físicas y químicas de los drenajes naturales de los cuerpos de agua receptores. La cuenca del río Mississippi ha sido afectada varias décadas por esta situación, lo cual ha resultado en condiciones hipóxicas que han degradado la calidad del agua en el Golfo de México (Robertson 2009).

En las últimas décadas diferentes iniciativas de investigación se han enfocado en el desarrollo de alternativas para resolver este problema. Los humedales naturales y artificiales utilizados como captadores de los nitratos han surgido como una opción de tratamiento de los efluentes provenientes de los drenajes agrícolas. Adicionalmente, el diseño de nuevos sistemas de drenajes agrícolas que consideren los métodos de captación de lixiviados más eficientes se ha convertido en una meta específica de la investigación en las universidades del medio este de los Estados Unidos (David 2010, Schmidt y Clark 2012). Particularmente, la desnitrificación de los drenajes agrícolas ha sido un objetivo muy importante para la Universidad de Illinois en Urbana- Champaign (Arancibia y Day 2004, David 2010).

Un biorreactor es una fosa que contiene en su interior un sustrato y cuyas dimensiones dependen del volumen de efluente a tratar. El biorreactor capta un influente proveniente de los drenajes agrícolas con una alta concentración de nitratos como resultado de la lixiviación de los fertilizantes aplicados a los suelos (Christianson *et al.* 2011). Las condiciones internas dentro del biorreactor promueven la actividad microbiana especialmente de los microorganismos facultativos. Las bacterias desnitrificantes trabajan de forma heterotrófica, aerobia y facultativa, es decir que requieren de condiciones específicas para su funcionamiento y desarrollo (Moorman *et al.* 2010). Las bacterias desnitrificantes utilizan el oxígeno contenido en la molécula del nitrato, disuelto en los efluentes agrícolas, para sus procesos de respiración. Adicionalmente, el sustrato de origen forestal proporciona una fuente de carbono para las actividades metabólicas de las bacterias, a través de las cuales se obtiene como resultado una reducción considerable en la concentración de nitratos en el efluente (Schipper *et al.* 2010).

Diferentes sustratos han sido estudiados como fuente constante de carbono en procesos de desnitrificación. Los sustratos de residuos forestales, conocidos como las astillas y referidos en el presente documento como astillas, son utilizados como fuente de alimento para las bacterias porque su disponibilidad de carbono es más constante en el proceso de remoción de nitratos por períodos prolongados. Las astillas están compuestas

generalmente por 50% carbono, 42% oxígeno, 6% hidrógeno y 2% nitrógeno (Paz 2008). La descomposición de las astillas se debe a la actividad microbiana interna del biorreactor. A través del tiempo, este proceso natural cambia la composición química y física del sustrato, lo cual reduce la tasa de remoción de los nitratos de las bacterias y la eficiencia del proceso de desnitrificación en general (MC Clauguerty *et al.* 1985).

Los factores que intervienen en el proceso de la desnitrificación son el tiempo de retención del efluente dentro del biorreactor, las características químicas del sustrato, la concentración del oxígeno disuelto en el agua (OD), la temperatura y la actividad microbiana (Schipper *et al.* 2010). Bajo las condiciones adecuadas, las bacterias desnitrificantes convierten el nitrato (NO_3^-) disuelto en el efluente en nitrógeno gaseoso (N_2) (Figura 1). Durante este proceso, las bacterias especializadas, controladas por diversos factores como la temperatura, liberan la energía por lo cual se eleva la temperatura interna del biorreactor, el cual se desempeña apropiadamente en climas tropicales y templados. Por otra parte, cuando las condiciones internas no son apropiadas, las bacterias convierten el nitrato (NO_3^-) en óxido nitroso (N_2O), el cual es un peligroso gas de efecto invernadero (Schipper *et al.* 2010).

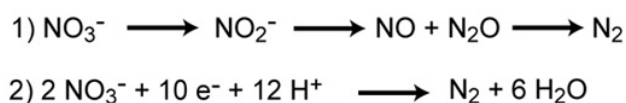


Figura 1. Reacción de reducción por las bacterias desnitrificantes de nitrato (NO_3^-) a nitrógeno gaseoso (N_2). La reacción 1 representa los pasos para la reducción de nitrato a nitrógeno gas. La reacción 2 representa la reacción completa de óxido-reducción de la desnitrificación.

Fuente: Nature Education 2010.

La concentración de nitrógeno y de carbono en el sustrato es de gran importancia en el proceso de la desnitrificación. La tasa de remoción del nitrógeno y la relación de conversión final de $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$ dependen de la relación carbono-nitrógeno (C:N) del sustrato y del efluente captado (Christianson *et al.* 2010). Los gases predominantes que se liberan en el proceso de la desnitrificación son el nitrógeno gaseoso (N_2), el dióxido de carbono (CO_2) y el bicarbonato (HCO_3^-) (Korom 1992). Bajo las condiciones inapropiadas como un pH bajo, bajas temperaturas, altas concentraciones de oxígeno disuelto y relaciones C:N bajas, el óxido nitroso es liberado. Adicionalmente, no todas las bacterias desnitrificantes tienen la capacidad de reducir la molécula de NO_3^- a N_2 ; algunas liberan gases intermediarios como el óxido nitroso. Existen impactos potenciales en emisión de gases de efecto invernadero si el manejo del sistema es deficiente o si el sustrato utilizado no es el adecuado (Chapin III *et al.* 2002).

Este estudio es parte de una investigación en proceso realizada por los científicos de la Universidad de Illinois para determinar las condiciones ideales que promueven las mayores eficiencias en los sistemas de biorreacción. A través de este estudio se provee la

información clave acerca del uso de un biorreactor de las astillas como una tecnología para la remoción de nitratos provenientes de efluentes de drenajes agrícolas. En el estudio se evaluó la composición química y física de las capas de sustrato del biorreactor después de un año de implementación, en términos de densidad, volumen del sustrato, el nitrógeno, el fósforo, el carbono y la relación C:N. Adicionalmente, se evaluaron los cambios físicos del sustrato luego de un año de implementación y finalmente se evaluó la eficiencia en remoción del nitratos, el fósforo y el carbono de los efluentes de drenajes agrícolas a través de un biorreactor de las astillas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El biorreactor se encuentra ubicado en el área norte de la cuenca del río Embarras en el centro este de Illinois (Figura 2). La agricultura con sistemas de drenaje subterráneo es la actividad económica principal de la zona, cuyos cultivos predominantes son el maíz y la soya. La zona es plana (2-5% de pendiente) con una elevación de 200 msnm.

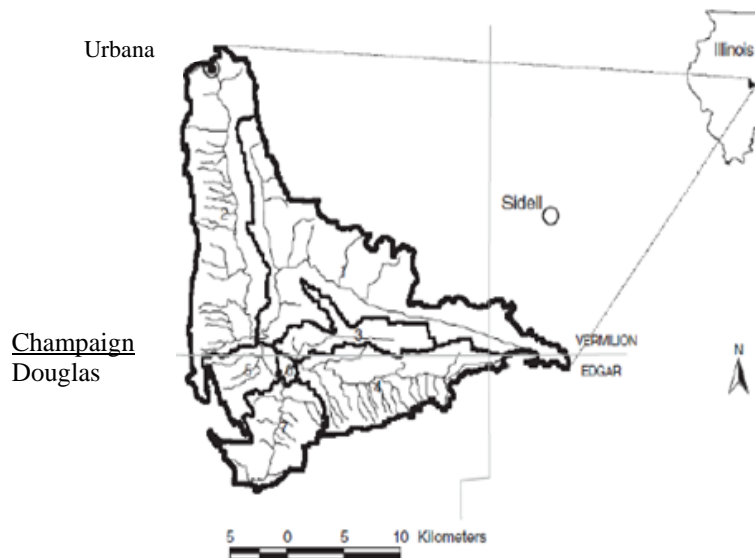


Figura 2. Ubicación de la cuenca del río Embarras donde se encuentra el biorreactor de las astillas.

Fuente: David *et al.* 2011.

El biorreactor fue construido en marzo del 2012, con una dimensión horizontal de 6.1×15.2 m, con una profundidad de 1.2 m (Figura 3). El biorreactor fue construido con dos capas de sustrato forestal por la disponibilidad del recurso y el volumen de compra requerido. Las capas del sustrato poseen un tamaño de partícula diferente debido a que las partes del árbol y las especies utilizadas para ambas capas fueron diferentes. Los sustratos fueron colocados en el biorreactor en la superficie del suelo en el mes de marzo del año 2012. A lo largo del año de operación la compactación y los procesos de descomposición natural han producido una reducción en la profundidad del biorreactor de 20-30 cm para el mes de marzo de 2013. La capa superficial fue colocada en los primeros 50 cm de profundidad y la capa inferior en los 50 cm restantes. El proceso de muestreo se realizó al dividir la superficie del biorreactor en seis secciones, se muestreó el punto central de cada sección. Se colectaron dos muestras de cada punto de muestreo: 15-45 cm y 60-90 cm

para las cuales se utilizó un barreno de cubo para obtener un total de 12 muestras de campo. Cada muestra tenía un peso aproximado de 0.45 kg de sustrato (Muestreo de campo basado en la metodología estándar de muestreo de “Royal Geographical Society”).

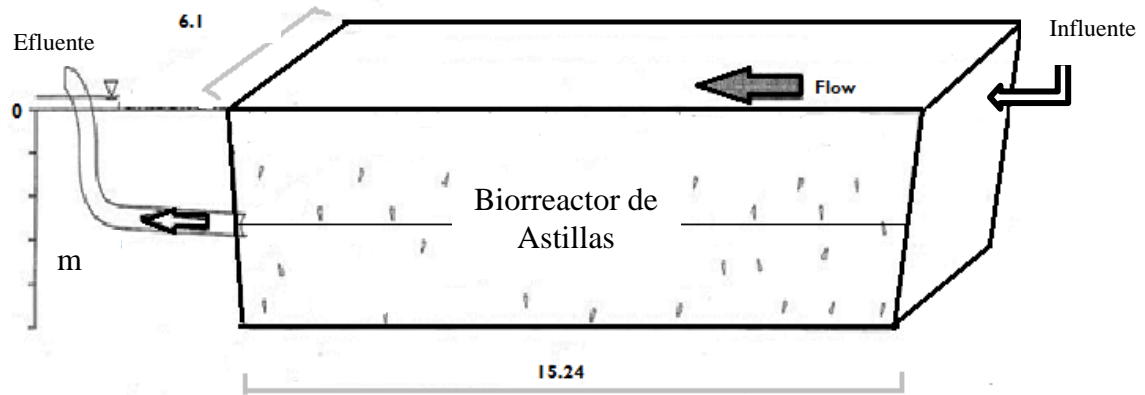


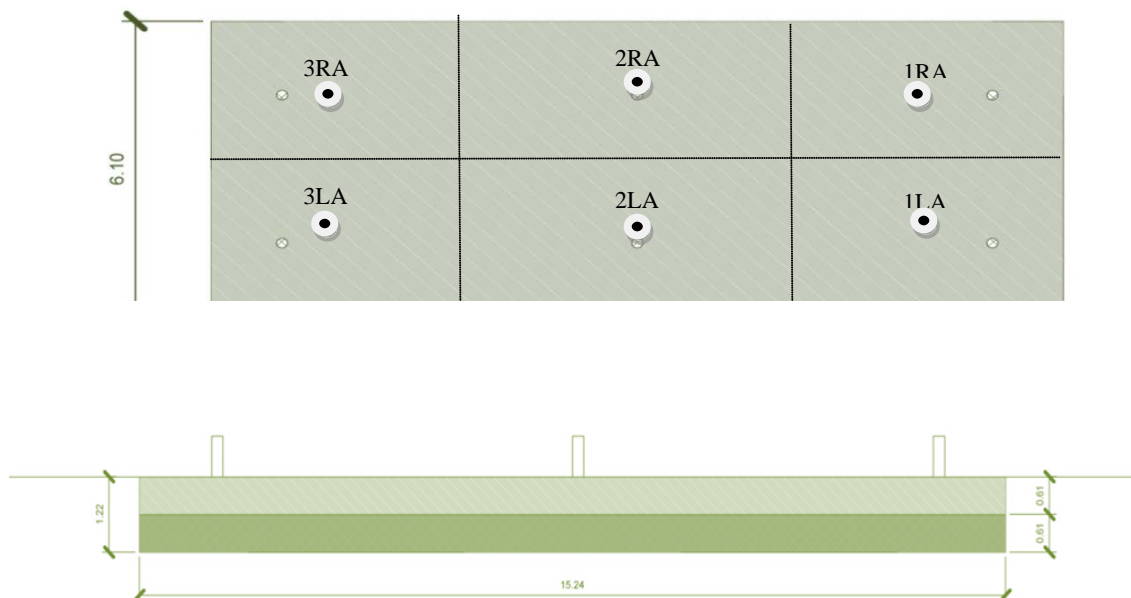
Figura 3. Diagrama y dimensionamiento del biorreactor.

Los cambios en la composición física y química de las capas del sustrato en el biorreactor se evaluaron a través de un sustrato control. Las muestras control fueron colectadas en el año 2012 antes de la construcción del biorreactor. Las muestras control estaban compuestas por el material original del cual fue extraído el sustrato del biorreactor. Las muestras control nunca fueron colocadas en la superficie del biorreactor, lo cual significa que su composición inicial permaneció constante a lo largo del año de implementación.

Composición y dinámicas del sustrato. En el estudio se utilizó un diseño experimental completamente al azar. El método de muestreo fue sistemático puntual, en el cual se dividió la superficie del biorreactor en seis secciones, se tomó la muestra en el punto central de cada sección (Figura 4). En cada punto de muestreo se colectaron dos muestras: 15-45 cm y 60-90 cm, se obtuvo un total de 12 muestras de campo (Cuadro 1) a las cuales se les adicionó las 2 muestras control. Adicionalmente, para cada análisis químico se subdividió cada muestra de campo en tres submuestras, obteniendo un total de 46 muestras: 36 muestras de campo, seis muestras control y cuatro muestras estándar compuestas por agujas de pino y hojas de durazno.

El preprocesamiento de las muestras se realizó antes de los análisis físicos y químicos donde se utilizó los estándares del sistema de digestión Kjeldahl (APHA c1998). El pretratamiento se realizó con el objetivo de llevar todas las muestras al mismo porcentaje de humedad y tamaño de partícula similar. Las muestras fueron filtradas en una malla de 53 μm número 270 con 0.021 cm de espesor. Posteriormente las muestras fueron colocadas dentro de bolsas de papel y secadas a 60°C por diez días. Finalmente las muestras fueron molidas en una moladora semindustrial Retsch para reducir el tamaño de

partícula a 40 mesh. Para cada muestra se molieron 227 g utilizados para el desarrollo de los análisis químicos, el sustrato restante se utilizó en la caracterización física del mismo.



Fi,
az

Cuadro 1. Descripción de la nomenclatura de las muestras de campo dependiendo de la posición (A o B) y el lugar (R o L) del sustrato en el biorreactor.

Muestra	Número	Lugar	Posición
1RA	1	Derecha	Arriba
2RA	2	Derecha	Arriba
3RA	3	Derecha	Arriba
1LA	1	Izquierda	Arriba
2LA	2	Izquierda	Arriba
3LA	3	Izquierda	Arriba
1RB	1	Derecha	Abajo
2RB	2	Derecha	Abajo
3RB	3	Derecha	Abajo
1LB	1	Izquierda	Abajo
2LB	2	Izquierda	Abajo
3LB	3	Izquierda	Abajo

Se desarrolló un análisis de digestión Kjeldahl para determinar el porcentaje del nitrógeno y el fósforo del sustrato en términos del nitrógeno total por Kjeldahl (TKN) y el fósforo total por Kjeldahl (TKP). Se utilizaron dos materiales estándares de concentración conocida como referencias para este análisis: agujas de pino y hojas de durazno. Para cada tubo de digestión se utilizaron 0.2 g del sustrato molido, 1.5 g de sulfato de potasio (K_2SO_4), 0.125 g de sulfato pentahidratado de cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), tres capsulas de “hengar” (Alundum) y 3.5 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Previamente al proceso de digestión las muestras fueron precalentadas a $160^\circ C$ posteriormente la temperatura fue incrementada a $390^\circ C$ durante tres horas. Finalmente, las muestras concentradas fueron diluidas en un volumen de 55 ml con agua destilada (DDW) para posteriormente ser analizadas en el sistema de inyección Lachat para muestras de agua (APHA c1998).

El análisis de la combustión se realizó en un sistema “Elemental Analyzer” (Vario Micro cube, Elementar), para calcular el porcentaje de carbono y nitrógeno de las muestras. El sistema fue calibrado a través del estándar Acetanilida al 10.36% de nitrógeno y 71.09% de carbono.

Los análisis físicos fueron realizados con las muestras previamente secas. La densidad del sustrato fue calculado a través del uso una bolsa de papel rectangular. Donde se relleno una porción con el sustrato (control y las muestras de campo). El sustrato fue comprimido dentro de la bolsa de papel a través de una prensa metálica para crear una superficie plana y una muestra totalmente compactada. Posteriormente se midió la altura de la capa superficial del sustrato dentro de la bolsa para finalmente pesar y dimensionar la misma. La densidad se calculó a partir del volumen y el peso de cada muestra obtenido en esta medición.

Muestras de los efluentes agrícolas. El departamento de Recursos Naturales y Ciencias Ambientales (NRES) ha colectado desde el mes de marzo del año 2012 muestras de agua del biorreactor estudiado. Los datos fueron compilados para analizar la concentración de los nitratos en el influente y el efluente del biorreactor en el periodo estudiado.

Las muestras de agua fueron extraídas a través de dos sistemas de muestreo basados en los métodos estándar de APHA AWWA WEF y USGS (c1998): muestreo continuo automático y muestreo manual. El muestreo continuo para los años 2012 y 2013 fue realizado a través de la recolección de muestras cada 30 minutos a través de un sistema ISCO “water sampler”. El muestreo manual fue realizado semanalmente durante el periodo comprendido entre enero y abril 2013. Ambos muestreos fueron utilizados para medir la concentración de los nitratos, el fósforo reactivo disuelto y el carbono orgánico disuelto del influente y efluente del biorreactor. Adicionalmente ambos a través de métodos de muestreo se midieron la altura del agua y el caudal en $L s^{-1}$.

Las muestras de agua fueron filtradas en un filtro de membrana de celulosa de $0.45 \mu m$, donde se dividió cada muestra en tres alícuotas dependiendo el análisis: 60 ml para nitratos y dos de 125 ml para COD y PRD. La alícuota de 60 ml fue almacenada a $-20^\circ C$ y las de 125 ml a $4^\circ C$ (APHA AWWA WEF y USGS c1998). Las concentraciones de los nitratos en las muestras de agua fueron analizadas utilizando un cromatógrafo iónico (IC).

Las concentraciones de PRD fueron analizadas donde se utilizó un sistema de inyección “Lachat Flow Analyzer” (APHA c1998). Finalmente, las concentraciones de COD fueron medidas a través de un sistema Auto Sampler IV DOC Analyzer (EPA LG211).

Análisis Estadístico. Los datos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.1[®]). Las diferencias en la composición química de las muestras del sustrato fueron evaluadas a través de un análisis de varianza con separación de medias de Duncan donde se catalogó la posición arriba, abajo, derecha o izquierda como factor de comparación. La eficiencia del biorreactor en la desnitrificación de los efluentes se analizó a través de un análisis de regresión lineal y un análisis de varianza con separación de medias Duncan, en el cual se evaluó el caudal, la altura, la concentración de fosfatos, los nitratos y el carbono en el efluente. Adicionalmente, la relación entre el caudal, los nitratos, los fosfatos, el carbono y la altura se evaluó a través de un análisis de correlación de Pearson.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La desnitrificación en los ecosistemas naturales es afectada por diferentes factores, la profundidad del suelo es uno de los más importantes. A medida que se incrementa la profundidad del suelo se reduce la habilidad de los microorganismos para desnitrificar agua dentro del mismo. Es decir, se disminuye la eficiencia en la remoción de los nitratos de las bacterias como resultado de la disminución del carbono orgánico disponible como fuente de alimento (Moorman *et al.* 2010). Por otra parte, dentro del biorreactor, el sustrato funciona como una fuente de alimento constante para los microorganismos que promueve los procesos de desnitrificación (Paz 2008).

El porcentaje de carbono promedio en el sustrato no fue significativamente diferente ($p>0.05$) entre el mes de marzo de 2012 (46% C) comparado con el mes de abril de 2013 (45.8% C). Esta composición confirma que los sustratos de origen forestal pueden funcionar como una fuente constante de carbono para las bacterias desnitrificantes en el primer año de operación lo cual típicamente no ocurre en los suelos de los ecosistemas naturales (Moorman *et al.* 2010) (Figura 5). En abril de 2013, el porcentaje de carbono fue significativamente diferente en la capa inferior en relación a la composición uniforme que presentó la capa superior. Esto confirma que el sustrato de la capa superior proporciona una fuente de carbono constante a lo largo del primer año de operación a través de procesos de descomposición natural desacelerados. Por otra parte, el sustrato de la capa inferior donde se presentó una mayor variabilidad en el porcentaje de carbono, lo cual puede estar relacionado a una mayor velocidad de descomposición por su menor tamaño de partícula.

La composición del sustrato en términos de fósforo no fue significativamente diferente ($p>0.05$) entre las muestras en el período comprendido entre el mes de marzo de 2012 al mes de abril de 2013. Adicionalmente, no se encontraron diferencias significativas entre la capa superior y la capa inferior del sustrato en términos de la concentración del fósforo. El porcentaje del nitrógeno en la composición del sustrato fue significativamente diferente en las muestras en el período de marzo 2012 a abril 2013 ($p<0.05$) (Figura 6). La composición del nitrógeno en la capa superior e inferior de sustrato en el año 2012 fue significativamente diferente. Posteriormente, la relación C:N fue menor en la capa inferior en el año 2012 en relación a la capa superior del mismo año. En 2013 el porcentaje de nitrógeno incrementó significativamente en ambas capas y la relación C:N disminuyó significativamente en la capa superior en relación a la inferior (Figura 7). Además, en ambas capas de sustrato se obtuvo diferencias significativas en la relación C:N en el año 2012, después de un año de implementación ambas capas presentan relaciones C:N similares. Chapin III *et al.* (2002) afirman que a bajas relaciones C:N en la concentración del sustrato en conjunto con bajas temperaturas del agua del efluente, la

reducción completa del nitrato es inhibida. Como consecuencia, el principal gas emitido podría ser el óxido nitroso en lugar del nitrógeno gaseoso.

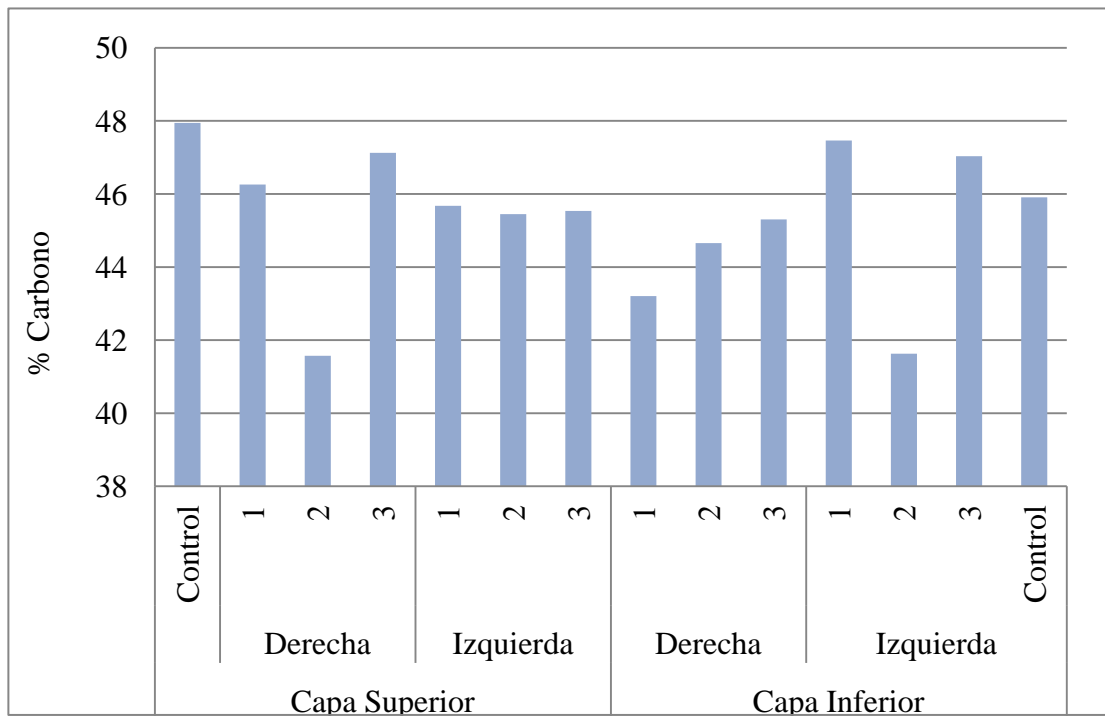


Figura 5. Comparación del porcentaje de carbono entre las capas superiores e inferiores del biorreactor.

La densidad de la capa superior en el año 2012 fue significativamente menor en comparación a la capa superior en el 2013 ($p < 0.05$). La densidad de la capa inferior en el año 2012 y 2013 fue significativamente diferente, en el 2013 se obtuvo en el sustrato un 16.6% mayor densidad en comparación al año 2012 (Cuadro 2). Los cambios en la densidad están relacionados en cambios en la porosidad del sustrato como resultado de procesos de compactación. La cama de sustrato a lo largo del primer año de implementación pasó de 1.2 m a 1 m de profundidad como consecuencia de los procesos antes mencionados.

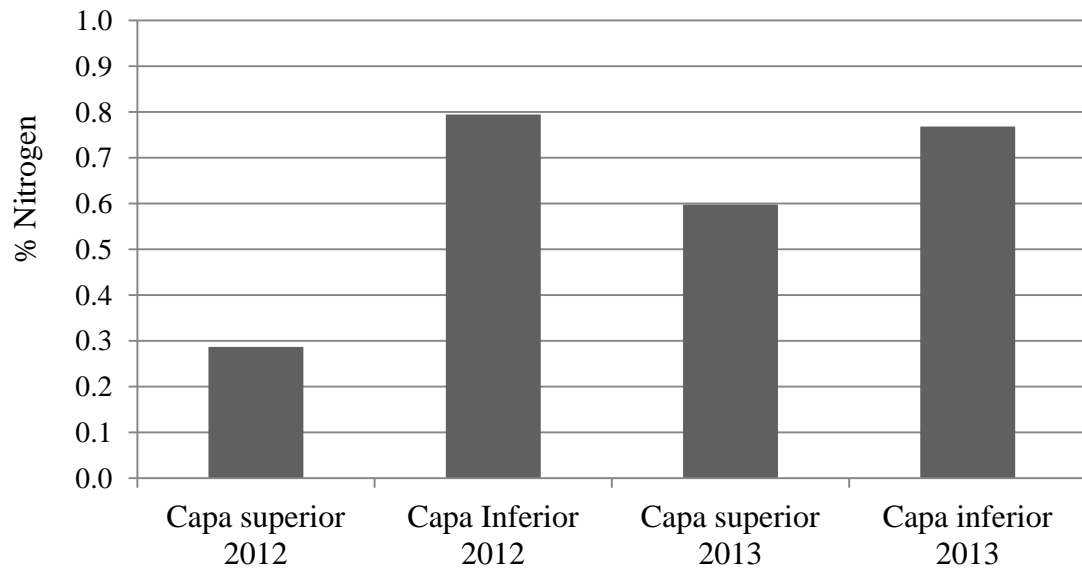


Figura 6. Composición de las astillas en términos del porcentaje del nitrógeno (%N) y el nitrógeno total por Kjeldahl (TKN) entre las muestras de 2012 y 2013.

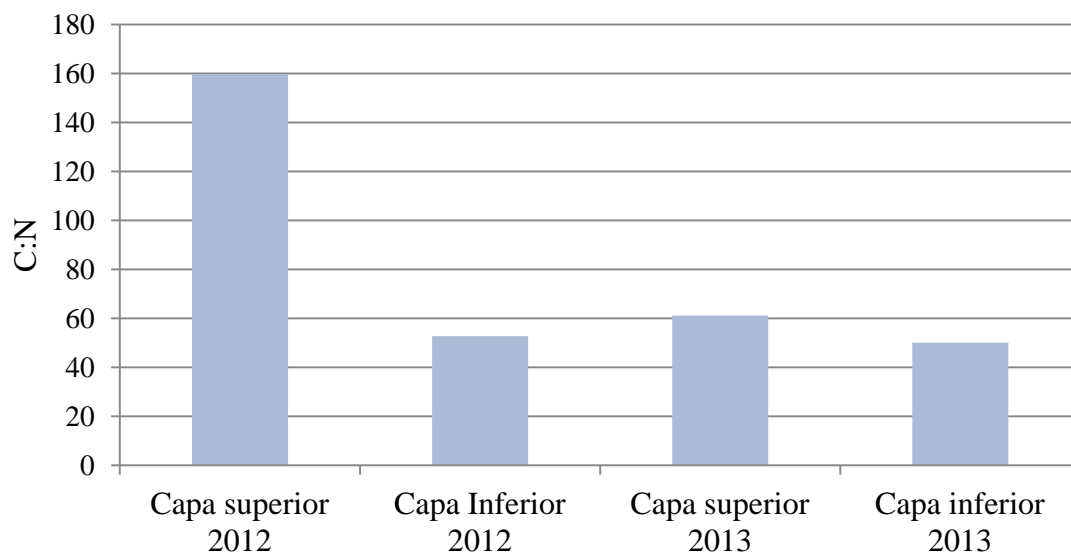


Figura 7. Comparación de la relación carbono: nitrógeno (C:N) entre las muestras del sustrato del 2012 y 2013.

Los parámetros de selección del sustrato desnitrificante deben estar basados en la relación C:N, la duración y la porosidad (Robertson *et al.* 2005). La porosidad es un factor clave porque determina la densidad del material a utilizar. Christianson *et al.* (2010) afirma que algunas de las propiedades de las astillas como el tamaño de partícula y la porosidad afectan directamente el desempeño del biorreactor debido a que a través del tiempo ambas propiedades se ven afectadas por los procesos de descomposición natural.

Cuadro 2. Comparación de la capa superior e inferior de las muestras de sustrato del año 2012 y 2013 en términos de volumen y densidad de las astillas.

Muestras	Densidad [‡] (g/cm ³)	Volumen de las astillas (Mg)
Capa superior 2012	0.26 a	14.74 a
Capa inferior 2012	0.20 b	11.85 b
Capa superior 2013	0.19 b	11.27 b
Capa inferior 2013	0.24 a	13.61 a

[‡] Valores en la misma columna I que poseen diferente letra son significativamente diferentes (p<0.05).

En los años 2012 y 2013 las muestras de sustrato presentaron la misma estructura física, a pesar de ello, el color cambió significativamente a través del primer año de implementación (Figura 8). Christianson *et al.* (2010) estableció que los cambios en la porosidad en contraste con las condiciones de saturación pueden afectar la disponibilidad del carbón como fuente de alimento para las bacterias. Esta idea es fundamentada en el pensamiento de Robertson *et al.* (2008) quién afirma que los sustratos que se encuentran bajo el nivel del agua dentro del sistema de biorreacción por períodos significantes de tiempo poseen descomposiciones desaceleradas que inmovilizan el carbono, donde se reduce su disponibilidad para las bacterias.

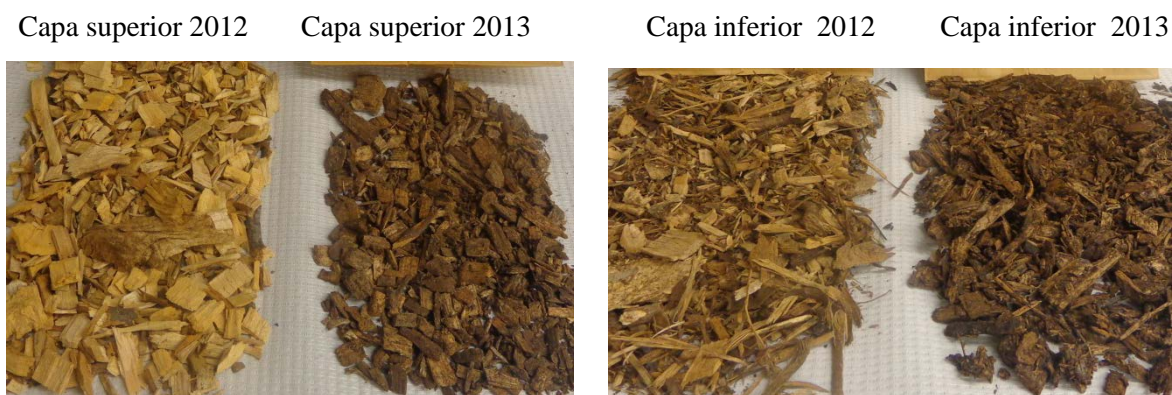


Figura 8. Comparación física entre capas de sustrato del año 2012 y 2013.

El biorreactor fue evaluado en términos del promedio de altura de agua, donde se obtuvo el mayor nivel de tabla de agua en los meses de marzo y mayo con valores sobre 10.25 m³ de agua dentro del biorreactor. Contrario a la teoría de Robertson *et al.* (2008), el porcentaje de carbono en el sustrato tiene una concentración variable en la capa inferior y

una concentración constante en la capa superior la cual no se encuentra saturada. Adicionalmente, la densidad de la capa inferior ha incrementado como consecuencia de procesos de descomposición y compactación natural. Además, Robertson explica que la lenta descomposición de carbono sucede la saturación es constante en el primer año de implementación, lo cual no sucede en el biorreactor estudiado. Durante el período estudiado, el promedio del caudal por mes es significativamente diferente, se obtuvo un máximo de 60% de variabilidad entre cada mes estudiado (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedio de las fluctuaciones en el nivel del agua en el período marzo-junio de 2012.

Mes	Altura (cm)	Volumen de agua (m ³)	Caudal (L s ⁻¹)
Marzo	9.83	9.14	2.68
Abril	6.48	6.03	1.14
Mayo	11.02	10.25	3.50
Junio	8.05	7.48	1.88

Las muestras de sustrato en el año 2012 tienen un tamaño de partícula y composición diferente (Figura 8). Wildman (2001) encontró que la tasa de remoción de los nitratos entre el material fino y grueso no es significativamente diferente. Por otra parte, las partículas de tamaño grueso proveen mayor facilidad del flujo del agua dentro del biorreactor al compararse con el material fino el cual se lava con altos volúmenes de caudal, es fácil de compactar y pierde porosidad.

Las concentraciones de nitratos (NO₃⁻-N) fueron significativamente diferentes entre el influente y el efluente de las muestras de agua del biorreactor (Cuadro 4). La tasa de remoción de nitratos fue de 13.62 g NO₃-N m⁻³, lo cual se encuentra dentro de valores esperados de remoción de nitratos entre 2-22 g NO₃-N m⁻³ reportado por Schipper *et al.* (2010). La concentración de fosfato (PRD) fue significativamente mayor en el efluente en relación al influente. En el estudio se mostró que el agua influente no es una fuente que aporta fosfatos. Es decir que los fosfatos están siendo liberados por el sustrato dentro del biorreactor por los procesos de descomposición natural se obtuvo un máximo de liberación de 0.3 g m⁻³ (Cuadro 4). Taylor *et al.* (1996) indica que los biorreactores desnitrificantes liberan la mayor parte del tiempo carbono disuelto en su efluente de agua como consecuencia de procesos de descomposición acelerada. Esto se confirma a través de los datos donde la concentración de carbono en el influente estaba bajo el límite de detección. En cambio, la concentración de carbono (COD) en el efluente fue significativamente mayor con tasas máximas de liberación de 118 mg l⁻¹. Las concentraciones de COD y PRD tienen una alta correlación positiva (86%), lo cual significa que existe una liberación directamente proporcional entre el fósforo y el carbono en el efluente (Anexo 1).

Cuadro 4. Descripción estadística general del influente y el efluente del biorreactor.

Muestra de agua	Media (g m⁻³)	Mediana (g m⁻³)	Desviación Estándar
Influente NO ₃ -	15.59	15.40	0.60
Efluente NO ₃ -	1.96	0.80	2.46
Influente COD [¥]	0.83	0.88	0.23
Efluente COD	29.17	16.44	29.91
Influente PRD [§]	0.01	0.01	0.00
Efluente PRD	0.11	0.11	0.10

[¥] Carbono orgánico disuelto.

[§] Fósforo reactivo disuelto.

El tiempo de retención estimado del efluente dentro del biorreactor desde el ingreso del agua de drenaje en el sistema hasta la descarga del efluente desnitrificado en el río Embarras fue de 1.1 hora. Greenan *et al.* (2009) indicó que cortos tiempos de retención del efluente dentro del biorreactor resultan en condiciones ineficientes para la reducción del oxígeno disuelto en el mismo, lo cual produce un ambiente negativo para el proceso de desnitrificación, se redujo la eficiencia del sistema. Adicionalmente, Chun *et al.* (2009) afirmó que la reducción de NO₃⁻-N es 10-40% eficiente en tiempos de retención de cinco horas en contraste con 100% de eficiencia en remoción alcanzado en tiempos de retención de 15.6-19.2 horas. Además Greenan *et al.* (2009) explica que largos períodos de retención facilitan la degradación de la molécula de nitratos pero que cuando estos son muy prolongados, la reducción de los nitratos estimula los procesos secundarios indeseables como la reducción de los sulfatos o la metilación del mercurio. Ambos procesos resultan en un incremento en las lixiviaciones del carbono que podría ser utilizado como alimento para las bacterias, lo que reduce la viabilidad del sustrato.

El caudal es significativamente variable en el período estudiado, alcanzó la mayor variación entre los meses de mayo (3.5 L s⁻¹) y abril (1.14 L s⁻¹) con una temperatura promedio de 5°C. Christianson *et al.* (2011) encontraron que las fluctuaciones en el caudal por periodos de tiempo prolongados disminuyen la eficiencia del proceso de desnitrificación. Adicionalmente, diversos estudios explican que existe una correlación entre la temperatura del agua y la tasa de remoción de nitratos. Warneke *et al.* (2011) explica que la eficiencia en la desnitrificación es cuatro veces mayor a temperaturas mayores a 27.1°C en relación a 16.1°C.

4. CONCLUSIONES

- Los análisis de composición confirmaron que el sustrato (las astillas) puede trabajar como una fuente constante de carbono para las bacterias desnitrificantes en el primer año de operación del biorreactor estudiado. Los cambios en la composición del sustrato están relacionados con la descomposición orgánica y condicionan los procesos de óxido-reducción en el biorreactor.
- La densidad entre las capas de sustrato en el período comprendido entre marzo de 2012 y abril de 2013 fue significativamente diferentes. Estos cambios en la densidad están relacionados con los cambios en la porosidad como resultado de los procesos de compactación y las características físicas iniciales del sustrato. Entre los años 2012 y 2013, no hubo cambios significativos en la estructura y el color del sustrato.
- Las concentraciones de nitrato (NO_3^- -N) fueron significativamente diferentes entre el agua influente y efluente por lo que se comprueba que los biorreactores representan una alternativa viable para la reducción de NO_3^- -N en efluentes agrícolas en los cuales se logra reducir hasta en un 68% la concentración de este soluto en el agua tratada.
- Pese a que se redujo la concentración de nitratos en el agua, los procesos de descomposición de materia orgánica en el interior de los biorreactores pueden adicionar fósforo y carbono al agua del efluente.

5. RECOMENDACIONES

- Las variaciones de temperatura pueden afectar el metabolismo de las bacterias y reducir la tasa de remoción de los nitratos del efluente en el biorreactor. Se recomienda analizar la eficiencia en la desnitrificación de los efluentes agrícolas a través de la comparación de las cuatro estaciones a lo largo del año, lo cual permitiría observar el comportamiento de las bacterias desnitrificantes a diferentes temperaturas.
- El biorreactor estudiado posee un tiempo de retención de 66 minutos. Se recomienda incrementar el tiempo de retención ya que a través de esto la tasa de remoción de los nitratos podría aumentar considerablemente y mejorar la eficiencia del proceso de desnitrificación.
- El oxígeno disuelto (OD) es un parámetro de control importante dentro de un sistema de biorreacción. Se recomienda la medición semanal del mismo para monitorear el desempeño de las bacterias a lo largo del año.
- Las capas de sustrato fueron alteradas en el primer año de implementación por los procesos de descomposición. Se recomienda la excavación de un perfil de sustrato en el biorreactor para observar la proporción actual de ambas capas de sustrato.

6. LITERATURA CITADA

APHA (American Public Health Association, United States). c1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Ed. Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Eaton, A.D. 20 ed. 25-45 p.

Arancibia, A y J, Day. 2004. The Gulf of Mexico: towards an integration of coastal management with large marine ecosystem management. *Ocean & Coastal Management* 47(11): 537-563.

Bernhard, A. 2012. The nitrogen cycle: processes, players, and human impact. *Nature Education Knowledge* 3(10): 25.

Chapin III, P.A, Matson and H.A, Mooney. 2002. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer Publication. 398 p.

Chun, J.A; R.A, Cooke; J.W, Eheart and M.S, Kang. 2009. Estimation of flow and transport parameters for woodchips based bioreactors: Laboratory scale bioreactor. *Biosystems Engineer* 104(3): 384-395.

Christianson, L.E; A, Castello; R.D, Christianson; M.J, Helmers and A, Bhandari. 2010. Technical Note: hydraulic property determination of denitrifying bioreactor fill media. *Agricultural and Biosystems Engineering* 26(5): 849-854.

Christianson, L.E; A, Bhandari and M.J, Helmers. 2011. Pilot-Scale Evaluation of Denitrification Drainage Bioreactors: Reactor Geometry and Performance. *Journal of Environmental Engineering* 137: 213-220.

David, M; C, Flint; L, Gentry and R, Hudson. 2002. Reducing agricultural nitrate losses in the Embarras River Watershed through bioreactors, constructed wetlands, and outreach: proposed by the University of Illinois at Urbana-Champaign. 58 p.

David, M. 2010. Nitrogen balance in and export from agricultural fields associated with controlled drainage systems and denitrifying bioreactors (En línea). Consultado 19 de mayo de 2013. Disponible en <http://www.artificialnsinks.org/>

Greenan, C; T, Moorman; T, Parkin; T, Kaspar and D, Jaynes. 2009. Denitrification in wood chip bioreactor at different water flows. *USDA-ARS: Surface Water Quality* 3(1): 8-12.

Korom, K. 1992. Natural denitrification in the saturated zone: A review. *Water resources* 28(6): 1657-1668.

McClaugerty, C; Pastor, J and Aber, J. 1985. Forest Litter Decomposition In Relation To Soil Nitrogen Dynamics and Litter Quality. *Ecological Society of America* 66(1): 266-275.

Moorman, T.B; T.B, Parkin; T.C, Kaspar and D.B, Jaynes. 2010. Denitrification activity, wood loss, and N₂O emissions over 9 years from a wood chip bioreactor. *Ecological Engineering* 36(2010): 1567-1574.

Paz, F. 2008. Determinación de la composición química de la madera obtenida del primer clareo en árboles de melina (*Gmelina arborea* Roxb.) de una plantación proveniente del departamento de Izabal. Tesis Ing. Químico. Guatemala, Universidad de San Carlos. 122 p.

Reed, W. 1993. Standard Reference Material 1575: Pine Needles and Peach Leaves. *Standards & Technology* 12(2): 1-7.

RGS (Royal Geographic Society, USA). s.f. Sampling Techniques. Consulted April 5th, 2013. Available <http://www.rgs.org/OurWork/Schools/Fieldwork+and+local+learning/Fieldwork+techniques/Sampling+techniques.htm>

Robertson, W.D; G.I, Ford and P.S, Lombardo. 2005. Wood based filter for nitrate removal in septic systems. *ASABE* 48(1): 121-128.

Robertson, W; J, Vogan and P, Lombardo. 2008. Nitrate removal rate in 15 year old permeable reactive barrier treating septic system nitrate. *Ground Water M & R* 28(3): 65-72.

Robertson, W. 2009. Nitrate Removal rates in woodchip media of varying age. Elsevier: *Ecological Engineering* 36(11): 1581-1587.

Schmidt, C.A; M.W, Clark. 2012. Evaluation of a denitrification wall to reduce surface water nitrogen loads. *Environmental Quality* 41: 724-731.

Schipper, L; Robertson, W; Gold, A; Jaynes, D and Cameron, S. 2010. Bioreactor Land field in status. Elsevier: *Ecological Engineering* 36(13): 1532-1543.

Taylor, B.R; J.S, Goundey and N.B, Carmichael. 1996. Toxicity of aspen wood leachate to aquatic life; laboratory studies. *Environmental Toxicology Chemistry* 15: 121-128.

Warneke, S; L.A, Schipper; M.G, Matiasek; K.M, Scow; S, Cameron; D.A, Bruesewite and I, McDonald. 2011. Nitrate removal, communities of denitrifiers and adverse effects

in different carbon substrates for use in denitrification beds. *Water Resources* 45(17): 5463-5475.

Wildman, T.A. 2001. Design of field-scale bioreactors for bioremediation of nitrate in tile drainage effluent. M. Sc. Thesis. University of Illinois at Urbana-Champaign. 83 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de correlación entre los nutrientes del influente y efluente del biorreactor.

Coeficientes de la Correlación Pearson, N = 7881									
	Posición	NO ₃ [¥]	PRD [£]	COD ^β	H1 [§]	H2	F1 [£]	F2	F3
Posición [†]	1	-0.96	0.59	0.55	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02
		<.0001	<.0001	<.0001	0.02	0.02	0.04	0.04	0.04
NO ₃	-0.96	1	-0.62	-0.62	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16
	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
PRD	0.59	-0.62	1	0.86	-0.32	-0.32	-0.25	-0.25	-0.25
	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
COD	0.55	-0.62	0.86	1	-0.25	-0.25	-0.22	-0.22	-0.22
	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
H1	-0.02	0.15	-0.32	-0.25	1	1	0.96	0.96	0.96
	0.02	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
H2	-0.02	0.15	-0.32	-0.25	1	1	0.96	0.96	0.96
	0.02	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001
F1	-0.02	0.16	-0.25	-0.22	0.96	0.96	1	0.99	1
	0.04	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001
F2	-0.02	0.16	-0.25	-0.22	0.96	0.96	0.99	1	0.99
	0.04	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001
F3	-0.02	0.16	-0.25	-0.22	0.96	0.96	1	0.99	1
	0.04	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	

[¥] NO₃= Nitratos [£] PRD= Fósforo reactivo disuelto ^β COD= Carbono orgánico disuelto.

[§] H= Altura [£] F= Caudal

[†] Posición= Influyente y efluente

Anexo 2. Curva de degradación de nitratos en los primeros 15 de operación del biorreactor.

