

Artículo publicado en el Repositorio Institucional del IMTA

<i>Título</i>	Mecanismos no convencionales de transformación y remoción del nitrógeno en sistemas de tratamiento de aguas residuales.
<i>Autor / Adscripción</i>	Marco Antonio Garzón Zúñiga Instituto Mexicano de Tecnología del Agua
<i>Publicación</i>	Ingeniería Hidráulica en México, 20(4): 137-149
<i>Fecha de publicación</i>	2005
<i>Resumen</i>	Se presenta una revisión temática sobre las transformaciones del nitrógeno en los sistemas de tratamiento de agua residual, haciendo énfasis en aquellos mecanismos no convencionales que conllevan a la eliminación de este elemento. La observación principal que condujo a su descubrimiento en los sistemas de tratamiento de aguas residuales fue el hecho de que, bajo condiciones aerobias, una fracción del nitrógeno se pierde durante la etapa de nitrificación. En este artículo se describen cada uno de los mecanismos anteriores, se hace una reseña de los estudios que los descubrieron y los reportes que se han hecho en diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales.
<i>Identificador</i>	<a href="http://hdl.handle.net/123456789/795">http://hdl.handle.net/123456789/795</a>

# Mecanismos no convencionales de transformación y remoción del nitrógeno en sistemas de tratamiento de aguas residuales

Marco Antonio Garzón-Zúñiga

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua

*Se presenta una revisión temática sobre las transformaciones del nitrógeno en los sistemas de tratamiento de agua residual, haciendo énfasis en aquellos mecanismos no convencionales que conllevan a la eliminación de este elemento. Los mecanismos no convencionales toman día con día mayor importancia. La observación principal que condujo a su descubrimiento en los sistemas de tratamiento de aguas residuales fue el hecho de que, bajo condiciones aerobias, una fracción del nitrógeno se pierde durante la etapa de nitrificación. Los procesos descubiertos hasta ahora que explican este comportamiento "extraño" se pueden dividir en tres grupos: 1) la nitrificación y desnitrificación simultánea (NDS), 2) la desnitrificación por microorganismos nitrificantes (autótrofos y heterótrofos) y 3) el fenómeno de co-respiración de  $\text{NO}_x$  y de  $\text{O}_2$  que se presenta entre las bacterias desnitrificantes. Además, se han descrito otros dos mecanismos de eliminación del nitrógeno no convencionales: 1) la desnitrificación autótrofa por microorganismos desnitrificantes anóxicos y 2) la quimio-desnitrificación, que es un proceso de óxido-reducción. En este artículo se describen cada uno de los mecanismos anteriores, se hace una reseña de los estudios que los descubrieron y los reportes que se han hecho en diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales. Además, ya que lo más importante de haber descubierto estos mecanismos alternos es cómo poder aprovecharlos, en el presente artículo también se describen dos procesos que emplean estos metabolismos alternos como principal o único mecanismo de remoción del nitrógeno: el proceso Sharon-Anammox y el proceso Biosor. Una conclusión relevante de este trabajo es que los mecanismos no convencionales tienen un gran potencial para optimizar los procesos ya existentes o para desarrollar nuevos y mejores, para lo cual es necesario seguir realizando investigación en este sentido.*

**Palabras clave:** transformaciones no convencionales del nitrógeno, nitrificación y desnitrificación simultánea (NDS), desnitrificación por microorganismos nitrificantes, oxidación anaerobia del amoníaco (Anammox), desamonificación aerobia/anóxica, quimio-desnitrificación.

## Introducción

El estudio de las transformaciones del nitrógeno es un tema complejo, ya que dependiendo del medio ambiente en que ocurran pueden intervenir diferentes mecanismos físicos, químicos y biológicos. En los sistemas de tratamiento, la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo) es un tema relativamente reciente y, por lo tanto, día con día se presentan nuevos conocimientos que

modifican nuestra percepción sobre los mecanismos involucrados. En particular, con respecto a los mecanismos de transformación biológica del nitrógeno, poco a poco se descubren nuevas vías metabólicas, diferentes a la vía convencional de nitrificación-desnitrificación. Estas modificaciones representan una estrategia (genética) de selección y sobrevivencia de los seres vivos ante condiciones medioambientales diferentes. Normalmente, estas vías de transformación

se han reportado como vías metabólicas alternas, poco significativas o de incidencia esporádica en los sistemas de tratamiento. Sin embargo, se ha visto que es posible favorecer dichos metabolismos hasta hacerlos predominantes dentro de un sistema de tratamiento, y así aprovechar las ventajas que ofrecen. La información sobre las vías de transformación del nitrógeno se ha generado en grupos heterogéneos de investigación: grupos taxonómicos, bioquímicos, de producción de alimentos, de tratamiento de aguas residuales y de recuperación de suelos y ambientes contaminados. Desafortunadamente, no existen muchos trabajos que presenten de forma global estos resultados y todavía menos enfocados hacia el tratamiento de las aguas residuales. El objetivo del presente documento es hacer una recopilación de la información que existe sobre las transformaciones del nitrógeno que pueden presentarse en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Entre los alcances del trabajo se incluye presentar los reportes que existen sobre la ocurrencia de estas transformaciones no convencionales del nitrógeno en los sistemas de tratamiento y también presentar algunas tecnologías nuevas que basan su funcionamiento en estas vías metabólicas para la remoción del nitrógeno.

### Revisión del ciclo del nitrógeno

El ciclo biológico del nitrógeno incluye cinco procesos principales: la asimilación, la mineralización (o amonificación), la nitrificación, la desnitrificación y la fijación (ilustración 1).

La asimilación es el uso de las formas inorgánicas del nitrógeno para el crecimiento de microorganismos. La principal forma asimilable del nitrógeno es el  $\text{NH}_4^+$ , pero ciertos microorganismos son capaces de asimilar

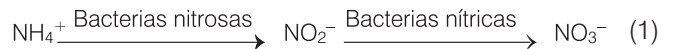
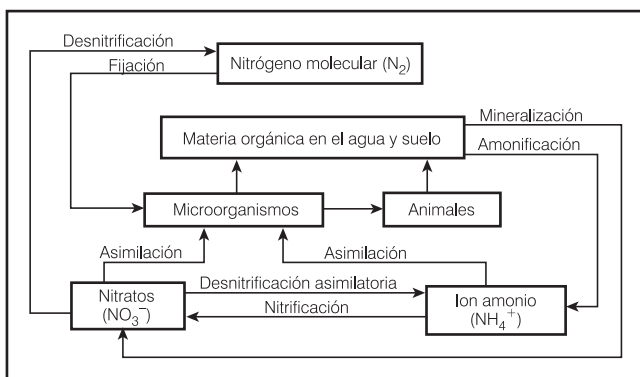
los iones de óxido de nitrógeno ( $\text{NO}_3^-$ ) (Ralph, 1974; Knowles, 1982).

La mineralización se refiere a la generación de formas inorgánicas del nitrógeno a partir de la degradación de compuestos orgánicos tales como urea, proteínas, aminoácidos, etcétera. Las formas inorgánicas así generadas pueden entonces ser asimiladas. Cuando el producto final de la mineralización es el ion  $\text{NH}_4^+$ , el proceso se conoce como amonificación (Ralph, 1974; Knowles, 1982).

La fijación implica la transformación del nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ) del aire en  $\text{NH}_4^+$  para su asimilación e incorporación (fijación) a la biomasa. Este proceso está limitado a un grupo de microorganismos: 1) las bacterias fijadoras de nitrógeno, entre las cuales los géneros más importantes son *Azotobacter* y *Clostridium*, 2) las algas verde-azules o cianobacterias, cuyos géneros principales son *Annabaena* y *Nostoc*, y 3) las bacterias simbióticas del género *Rhizobium*, que viven en simbiosis con algunas plantas, por ejemplo, las leguminosas.

La nitrificación es la utilización y transformación de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_3^-$  por la acción de microorganismos aerobios que utilizan el oxígeno disuelto en el agua como aceptor de electrones. La nitrificación se lleva a cabo en dos etapas: a) las bacterias nitrosas (del género *Nitrosomonas*) utilizan y transforman el ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) en nitritos (fenómeno conocido como nitrificación); b) las bacterias nítricas utilizan y transforman los nitritos en nitratos (fenómeno conocido como nitratación) (ecuación 1). Tradicionalmente, se aprendía que la nitratación es catalizada por microorganismos del género *Nitrobacter*; mas algunos autores han reportado recientemente que en varios sistemas de tratamiento de aguas residuales la nitratación sería efectuada por el género *Nitrospira* y no por *Nitrobacter* tanto en sistemas con biomasa suspendida (Wagner *et al.*, 1996; Burrell *et al.*, 1998) como en sistemas con biopelícula (Schramm *et al.*, 1998; Okabe *et al.*, 1999; Daims *et al.*, 2000 y 2001; Kim *et al.*, 2004).

**Ilustración 1. Ciclo biológico del nitrógeno (esquema adaptado de Ralph, 1974).**



La nitrificación es efectuada principalmente por bacterias autótrofas que utilizan como fuente de energía iones inorgánicos (organismos quimiolitotrofos), pero también existe un grupo de bacterias nitrificantes heterótrofas que pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nocardia* y *Streptomyces* (Knowles, 1982). Sin importar si son bacterias autótrofas o heterótrofas, todas ellas tienen un metabolismo aerobio estricto. En general, su requerimiento de oxígeno ha sido calculado en 4.57

mg de O<sub>2</sub> por mg de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> oxidado y transformado en óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) (Henze, 1995).

La desnitrificación es la reducción no asimilatoria de las formas oxidadas de nitrógeno (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en nitrógeno molecular (ecuación 2). Este proceso se lleva a cabo por bacterias aerobias facultativas que utilizan el oxígeno molecular como aceptor final de electrones. Cuando se encuentran en ausencia de O<sub>2</sub> y en presencia de nitratos o de nitritos (medio anóxico), estos microorganismos son capaces de cambiar su metabolismo y de utilizar los óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) como aceptores finales de electrones (Ralph, 1974; Knowles, 1982).



La desnitrificación puede recaer en un grupo de bacterias muy diverso, pero, en general, se trata de microorganismos heterótrofos. Por ello es necesaria una fuente de carbono fácilmente asimilable en condiciones anóxicas para llevar a cabo una desnitrificación heterótrofa. Sin embargo, aunque menos frecuentes, también existen algunos microorganismos desnitrificantes autótrofos (como *Thiobacillus denitrificans* y *Micrococcus denitrificans*), entre los cuales la desnitrificación es más lenta (Knowles, 1982).

### Eliminación biológica del nitrógeno

De los cinco procesos descritos, la nitrificación y la desnitrificación son considerados como la vía principal y convencional de eliminación de nitrógeno en suelos y en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. La eliminación de nitrógeno y fósforo de las aguas residuales es un tratamiento terciario de pulimento, que comenzó a desarrollarse a partir de los años ochenta. El nitrógeno de las aguas residuales se elimina mediante una nitrificación autótrofa (aerobia), seguida de una desnitrificación heterótrofa (anáxica). Estos procesos se llevan a cabo convencionalmente en dos reactores separados (aerobio/anóxico), o bien, en un solo reactor operado por etapas secuenciales aerobia/anóxica, que son controladas por la aireación del sistema.

Después de que algunas de estas plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) fueron construidas y puestas en operación, en algunas de ellas se comenzaron a reportar ciertos comportamientos que no correspondían con el proceso convencional de nitrificación-desnitrificación, que hasta el momento se consideraba el único proceso de transformación y eliminación del nitrógeno.

### Observaciones atípicas

El descubrimiento de procesos no convencionales de transformación del nitrógeno se debe a que se observó que una fracción del nitrógeno se pierde bajo condiciones aerobias durante la etapa de nitrificación. Desde finales de los años ochenta, se formularon reportes en este sentido y en el transcurso de los noventa se multiplicaron. Los estudios que explican este comportamiento llevaron al descubrimiento, en unos casos, y al redescubrimiento, en otros, de diversos procesos no convencionales de transformación del nitrógeno.

### Procesos diferentes al de nitrificación y desnitrificación convencional

Los procesos descubiertos que explican este comportamiento "extraño" de desaparición del nitrógeno en fase aerobia se pueden dividir en tres: 1) la nitrificación y desnitrificación simultánea (NDS), 2) la desnitrificación por microorganismos nitrificantes (autótrofos y heterótrofos) y 3) el fenómeno de co-respiración de NO<sub>x</sub> y de O<sub>2</sub> que se presenta entre las bacterias desnitrificantes.

### Nitrificación y desnitrificación simultánea

De todos los procesos no convencionales de transformación del nitrógeno a formas gaseosas, la nitrificación y desnitrificación simultánea (NDS) es el que más se ha difundido y estudiado. En él, las condiciones aerobias y de anoxia para activar el metabolismo de nitrificación y de desnitrificación (respectivamente), están dadas no por reactores diferentes ni por una aireación secuencial dentro del mismo reactor, sino por la formación de microzonas anóxicas en el interior de los consorcios bacterianos presentes en un reactor en aireación. En dichas microzonas, el oxígeno no es capaz de penetrar, pero los NO<sub>x</sub> generados por las bacterias nitrificantes sí penetran (Masuda *et al.*, 1991).

La nitrificación y desnitrificación simultánea puede presentarse en sistemas con biomasa fija (Masuda *et al.*, 1991; Santos *et al.*, 1993; Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996; Muller, 1998; Menoud *et al.*, 1999; Puznava *et al.*, 2001; Pearce, 2004), y también en sistemas con biomasa suspendida, al interior de los flóculos biológicos (Hansen, 1997; Beline *et al.*, 1998; Leslie-Grady *et al.*, 1999).

De acuerdo con Garzón-Zúñiga y González-Martínez (1996), los nitratos producidos por las bacterias nitrificantes en las capas (aerobias) más superficiales de la biopelícula pueden penetrar hacia las capas

más profundas por un gradiente de concentración o bien difundirse hacia la capa de agua en tratamiento. Cuando penetran hacia las capas más profundas, en donde la concentración de oxígeno es muy pequeña o no hay oxígeno disuelto (ya que éste es consumido en las capas más superficiales) ocurre que las bacterias desnitrificantes utilizan los nitritos y nitratos como aceptores de electrones y los transforman en nitrógeno molecular ( $N_2$ ) (ilustración 2), el cual escapa del sistema con el efluente gaseoso.

Hansen (1997) reporta un comportamiento similar para los flóculos de lodos activados en una planta de tratamiento poco aireada y con concentraciones muy bajas de oxígeno disuelto. En este caso, coexisten en el interior de los flóculos una zona aerobia (exterior) para la nitrificación y una zona anaerobia (más bien anóxica), que se encuentra en el interior del flóculo en donde ocurre la desnitrificación. El autor llama a este sistema de tratamiento: *the Symbio process*.

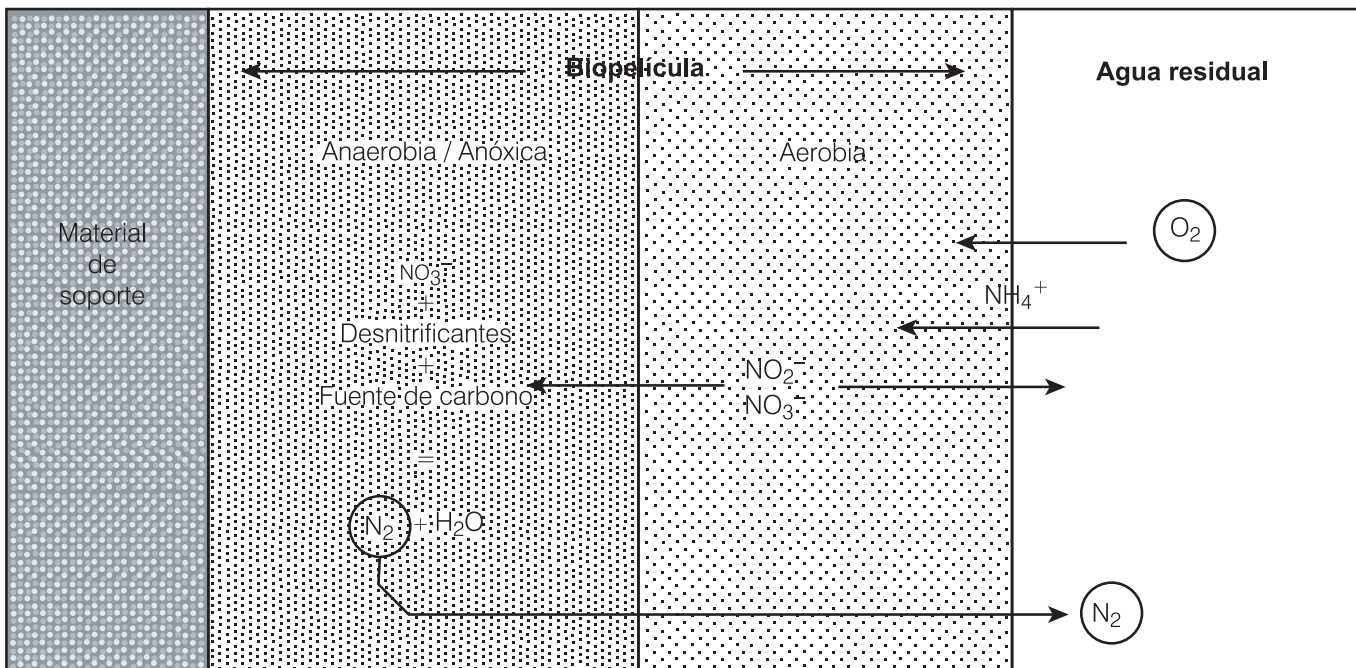
Por otra parte, Helmer y Kunst (1998) reportan que hasta esa fecha no se había publicado ninguna evidencia tangible de la presencia de NDS. Sin embargo, es necesario decir que con frecuencia se reportó (sospechó) la presencia de este proceso con base únicamente en la observación de una pérdida de  $NO_x$  en condiciones aerobias, es decir, en la imposibilidad de cerrar el balance de masa del nitrógeno. La existencia

de un proceso de NDS es difícil de demostrar debido a: 1) la dificultad para medir las emisiones gaseosas ( $N_2O$  y  $N_2$ ); 2) la complejidad para medir los procesos físico-químicos al interior de los consorcios bacterianos; 3) el gran trabajo que implica la identificación de los microorganismos participantes, y 4) en el caso de biopelícula, la dificultad para manipularla (por ejemplo, desadherirla del material de soporte).

#### Reportes de NDS en sistemas de agua residual

A pesar de las dificultades descritas para probar la existencia de un proceso de NDS, algunos autores lo han logrado midiendo las formas gaseosas del nitrógeno ( $N_2O$  y  $N_2$ ), producto final del proceso de desnitrificación que ocurre simultáneamente a la nitrificación, bajo condiciones aerobias dentro de los sistemas de tratamiento. Tal es el caso de Masuda *et al.* (1991), quienes midieron la producción de  $N_2$  en un sistema de biodiscos y además identificaron la actividad nitrificante en las capas más superficiales de la biopelícula y la actividad desnitrificante en las zonas más profundas. Por su parte, Garrido *et al.* (1997) identificaron y midieron la producción de  $N_2O$  en un sistema de lecho fluidizado aerobio, asociado con una reducción del nitrógeno total presente en el efluente líquido, luego de añadir una fuente de carbono, y observaron también que el

**Ilustración 2. Esquema teórico de la nitrificación y desnitrificación simultánea en una biopelícula aireada (tomado de Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996).**



N<sub>2</sub>O desaparece cuando se interrumpe la adición de la fuente de carbono, lo cual prueba que ocurre un proceso de desnitrificación heterótrofa de forma simultánea con la nitrificación. Más tarde, Garzón-Zúñiga *et al.* (2002) midieron la producción de N<sub>2</sub>O y N<sub>2</sub> en un sistema de biofiltración (percolación por infiltración) sobre cama orgánica y observaron que, bajo condiciones aerobias, después de aproximadamente cuarenta días, se presenta un proceso de nitrificación, evidenciado por la acumulación de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el efluente. Posteriormente, se detectó y midió una importante producción de N<sub>2</sub> y se observó, además, que cuando los nitratos disminuían (o incluso desaparecían del efluente líquido), se presentaba un aumento de N<sub>2</sub>, así como un comportamiento inverso, lo cual probaba la existencia de un proceso de nitrificación y desnitrificación simultánea.

### Desnitrificación por microorganismos nitrificantes

#### *Estudios en suelos.*

A lo largo de muchos años, se han descubierto, estudiado y descrito procesos no convencionales de transformación y reincorporación del nitrógeno a la atmósfera, principalmente como parte de investigaciones realizadas en suelos. Sólo veinte años después de dichos estudios, se comenzó a reportar que estos metabolismos microbianos también existen en la biocenosis de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

En los años sesenta, como consecuencia del crecimiento de la población mundial, se hicieron grandes esfuerzos por conservar la fertilidad (productividad) de los suelos de cultivo y forestales, y para evitar la erosión. A partir de estudios realizados, se observó que dicho problema estaba relacionado con la pérdida de nitrógeno del suelo, y desde entonces, los estudios sobre las transformaciones de dicho elemento comenzaron a desarrollarse rápidamente. La nitrificación y la desnitrificación convencionales fueron identificadas como la principal causa de eliminación del nitrógeno. Más tarde, en los años setenta, se probó que una fracción del nitrógeno presente en los suelos se elimina hacia la atmósfera a través de una serie de reacciones biológicas diferentes de la desnitrificación convencional (Nelson y Bremner, 1970; Yoshida y Alexander, 1970; Nelson, 1982). Este fenómeno fue más evidente en los suelos fertilizados (Bremner y Blackmer, 1978). Las investigaciones que se llevaron a cabo a partir de dichas observaciones demostraron que existe un grupo de microorganismos nitrificantes que transforman los óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) en N<sub>2</sub>O y posteriormente en

N<sub>2</sub> (Bremner y Blackmer, 1978; Smith y Zimmerman, 1981). Estos microorganismos nitrifican parcialmente el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y posteriormente realizan una desnitrificación. Hasta la fecha, se han identificado dos grupos de microorganismos nitrificantes que desnitrifican: unos son autótrofos y los otros, heterótrofos. A continuación se describe cada uno de ellos.

#### Desnitrificación autótrofa aerobia por microorganismos nitrificantes autótrofos

Algunos autores (Yoshida y Alexander, 1970; Ritchie y Nicholas, 1972; Goreau *et al.*, 1980; Lipschultz *et al.*, 1981; Robertson, 1988) han observado que diversos microorganismos nitrificantes u oxidadores de amonio (aislados del suelo) tienen la capacidad de desnitrificar sin necesidad de degradar materia orgánica (es decir, son microorganismos autótrofos) cuando se encuentran bajo condiciones limitantes de oxígeno (aproximadamente 1.0 mg O<sub>2</sub>/l). Se trata de bacterias autótrofas nitrificantes facultativas, entre las cuales se encuentran *Nitrosomonas europaeae* y *Nitrosomonas eutropha*. Se ha comprobado que ambas transforman los nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) en nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en presencia de una alta concentración de oxígeno disuelto (OD) (nitratación). Sin embargo, bajo condiciones limitantes de oxígeno (1.0 mg/l), estos microorganismos utilizan el ion amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) como fuente de energía (donador de electrones) y los nitritos NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (generados luego de una nitrificación parcial) como aceptores de electrones, los cuales son reducidos a formas gaseosas del nitrógeno, como el N<sub>2</sub> (Bock *et al.*, 1995) y el N<sub>2</sub>O (Ritchie y Nicholas, 1972; Poth y Focht, 1985; Robertson, 1988) (ver ecuación 3).



#### *Reportes en sistemas de tratamiento de agua residual*

Helmer *et al.* (1999) reportaron que en un sistema de biodiscos que trata (nitrifica) los lixiviados de un depósito sanitario se presenta, además de una nitrificación completa de la alta carga nitrogenada (o desaparición completa del ion amonio, 300 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/l), una pérdida de aproximadamente el 60% del nitrógeno (soluble), que es transformado por la acción de microorganismos nitrificantes en N<sub>2</sub> sin consumo de DQO y bajo condiciones aerobias de aproximadamente 1.0 mg OD/l. Dichos autores han reportado también que cuando la concentración de oxígeno aumenta, la formación de N<sub>2</sub> se detiene, al tiempo que la concentración de nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) aumenta en el efluente. Estas observaciones concuerdan con el metabolismo de desnitrificación

autótrofa por microorganismos nitrificantes. Los autores dan a este proceso un nuevo nombre: desamonificación aerobia/anóxica. Al mismo tiempo, otros autores (Hippen *et al.*, 1999) reportan haber logrado este mismo comportamiento de eliminación aerobia del nitrógeno en ausencia de una fuente de carbono en una planta piloto de biopelícula con cama móvil. Más tarde, Burgess *et al.* (2002) reportaron que esta vía no convencional de eliminación del nitrógeno se presenta en una planta de lodos activados de forma temporal cuando ingresa una alta concentración de  $\text{NH}_4^+$  al tanque de aireación, lo cual hace disminuir la concentración de oxígeno disuelto e induce una acumulación de nitritos, que favorece una desnitrificación aerobia autótrofa con producción de  $\text{N}_2\text{O}$ .

Desnitrificación autótrofa aerobia por microorganismos nitrificantes heterótrofos

Algunos microorganismos oxidan el ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) en nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) solamente en presencia de una fuente de carbono diferente al  $\text{CO}_2$  (heterótrofos) y, posteriormente, bajo condiciones aerobias con alta concentración de oxígeno (5 a 7 mg OD/l), reducen los  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{N}_2\text{O}$  y consumen DQO. La bacteria de este tipo que más se ha estudiado es *Thiosphaera pantotropha* (Castignetti y Hollocher, 1984; Robertson, 1988; Robertson *et al.*, 1995; Arts *et al.*, 1995), pero este comportamiento también se ha reportado en *Alcaligenes faecalis* (Papen *et al.*, 1989).

*Reportes en sistemas de tratamiento de agua residual*

El aprovechamiento de la vía metabólica de estos microorganismos en los sistemas de tratamiento ha sido reportada por Kshirsagar *et al.* (1995), quienes adaptaron una población de *Thiosphaera pantotropha* a un sistema de lodos activados, utilizado para el tratamiento de un efluente con alta carga nitrogenada. El sistema eliminaba aproximadamente 80% del  $\text{N-NO}_x$  por desnitrificación aerobia que este microorganismo nitrificante efectuaba.

### **Desnitrificación aerobia por co-respiración de $\text{O}_2$ y de $\text{NO}_x$**

Este proceso es realizado por un grupo de microorganismos desnitrificantes heterótrofos, capaces de desnitrificar bajo condiciones aerobias debido a que pueden utilizar indistintamente el  $\text{O}_2$  y los  $\text{NO}_x$  como receptores de electrones (Lloyd *et al.*, 1987). Esta capacidad ha sido reportada en *Pseudomonas*

*nautica* (aislada del suelo) por Bonin y Gilewicz (1991), y en *Comamonas sp* cepa SGLY2 (en aguas residuales) por Patureau *et al.* (1997). A diferencia de otros microorganismos desnitrificantes aerobios, estos microorganismos no son capaces de nitrificar.

*Reportes en sistemas de tratamiento de aguas residuales*

Patureau *et al.* (1997) reportan que en un reactor aerobio operado en continuo, en el que se hace coexistir un cultivo mixto de microorganismos nitrificantes (obtenidos de un sistema de tratamiento de estiércol de puerco) y un microorganismo desnitrificante aerobio (*Comamonas sp.*), se obtiene  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{N}_2$  por un proceso de desnitrificación aerobia, siempre y cuando se adicione de forma discontinua una fuente de carbono como fuente de energía (donador de electrones).

Además de los tres grupos de microorganismos con un metabolismo alterno de transformación del nitrógeno (mismos que se acaban de describir y que están involucrados con la desaparición del nitrógeno en una fase aerobia), recientemente se descubrió y se han descrito otros dos mecanismos: 1) la desnitrificación autótrofa por microorganismos desnitrificantes anóxicos y 2) la quimio-desnitrificación, que es un proceso meramente físico-químico que se presenta en sistemas de tratamiento por infiltración sobre medio orgánico.

### **Desnitrificación autótrofa por microorganismos desnitrificantes anóxicos**

Este proceso es conocido como oxidación anaerobia del amoniaco o Anammox, del inglés *anaerobic ammonium oxidation*. Como en el caso de las bacterias nitrificantes que desnitrifican, en éste ocurre una desamonificación del  $\text{NH}_4^+$  y una desnitrificación del ion  $\text{NO}_2^-$ , que conducen a la formación de  $\text{N}_2$  (ecuación 3). La diferencia radica en que en el proceso Anammox, los microorganismos no llevan a cabo la nitrificación parcial que origina los nitritos, solamente la desnitrificación. Van Dongen *et al.* (2001a) recientemente identificaron estos microorganismos como Planctomycetos tipo bacterias, y proponen como responsable directo a *Brocadia anammoxidans*.

*Reportes en plantas de tratamiento*

Mulder (1992) describió y patentó este proceso a partir de una planta piloto de tratamiento para textiles. Posteriormente, fue reportado en sistemas para desnitrificación que emplean lecho fluidizado (Mulder

*et al.*, 1995) y en sistemas de filtro percolador (Schmid *et al.*, 2000). Más recientemente, el proceso Anammox se propuso en combinación con otro proceso para tratamiento de aguas de retorno de un sistema de deshidratación de lodos (van Dongen *et al.*, 2001b).

### **La quimio-desnitrificación**

Con excepción del proceso Anammox, los demás procesos no convencionales descritos hasta ahora fueron observados, primero, en los suelos y, después, en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Las investigaciones realizadas en suelos muestran que la pérdida de nitrógeno también está asociada con una serie de reacciones químicas agrupadas bajo el nombre de quimio-desnitrificación (Hutchinson y Davidson, 1993). La quimio-desnitrificación consiste en una serie de reacciones de óxido-reducción que llevan a la formación de  $\text{HNO}_2$ ,  $\text{NO}$  y  $\text{N}_2\text{O}$ . La reacción más importante es la destrucción de nitritos, catalizada por valores bajos de pH y que da como productos finales  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{N}_2$  (Tiedje, 1994).

#### *Reportes en sistemas de tratamiento de aguas residuales*

Hasta hace muy poco tiempo, la quimio-desnitrificación no se tomaba en cuenta en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, pero, recientemente, Garzón-Zúñiga (2001) y Garzón-Zúñiga *et al.* (2002) han reportado la participación de este proceso en la remoción del nitrógeno en un sistema de biofiltración (percolación por infiltración) sobre medio orgánico utilizado para tratar efluentes con altas cargas de nitrógeno. El material de empaque de estos particulares sistemas de tratamiento presenta condiciones ambientales similares a las que presentan los suelos en los que se ha reportado la ocurrencia de la quimio-desnitrificación. Estas condiciones son acidez, humedad, buena aireación y alto contenido de materia orgánica nitrogenada.

### **Importancia de los procesos no convencionales**

En general, los primeros autores que estudiaron y describieron los procesos físico-químicos y biológicos de transformación y remoción no convencional del nitrógeno (descritos anteriormente) estuvieron de acuerdo con afirmar que la participación de dichos procesos en los sistemas de eliminación del nitrógeno (en el suelo y el agua) era mínima comparada con la eliminación por nitrificación y desnitrificación convencional. Sin embargo, la práctica ha demostrado

que en las plantas de tratamiento de aguas residuales no es así, ya que estas vías metabólicas pueden participar de forma muy importante en los sistemas de tratamiento considerados como convencionales, por ejemplo la NDS en sistemas de lodos activados y filtros biológicos. Aún más, se han comenzado a aprovechar algunas de las vías metabólicas alternas de los microorganismos para crear nuevos sistemas de tratamiento biológico no convencionales. Quizá el caso más conocido sea el de los sistemas para la eliminación biológica de fósforo y nitrógeno, en el cual se aprovecha el metabolismo alterno de bacterias heterótrofas aerobias, a las cuales se llama acumuladoras de fosfato, para eliminar fósforo y desnitrificar. En esta misma línea se han diseñado, construido y operado sistemas para aprovechar las vías metabólicas alternas de los microorganismos para la eliminación del nitrógeno.

### **Sistemas de tratamiento biológico no convencionales**

Todavía son pocos los sistemas de tratamiento que utilizan como componente principal de depuración del nitrógeno algún proceso no convencional. La nitrificación y desnitrificación simultánea, por ejemplo, se presenta con frecuencia en los sistemas de tratamiento, mas de manera circunstancial, ya que los sistemas no se diseñan para favorecer estos mecanismos. Este poco aprovechamiento de las diferentes vías metabólicas se debe a que los avances en dicha área son muy recientes y se necesitan más estudios. A la fecha, existen al menos dos sistemas que se emplean a escala industrial y que funcionan con procesos no convencionales: el proceso Sharon-Anammox y el proceso Biosor, que se describen brevemente a continuación.

#### *Sistema Sharon-Anammox*

Se trata de la combinación de un proceso de nitrificación parcial o nitrificación (Sharon) autótrofa con un proceso de oxidación anóxica del ion amonio (Anammox), también autótrofa. Inicialmente, el sistema Sharon surgió como respuesta al problema de tratamiento de las aguas de retorno de los espesadores de lodos. Más tarde, se propuso combinarlo con el proceso Anammox para tratar aguas que presentan altas concentraciones de nitrógeno, y baja o ninguna concentración de materia orgánica; es decir, descargas que presentan elevadas concentraciones de nitrógeno amoniacal con una relación C/N baja.

El proceso Sharon consiste en un tratamiento aerobio para la degradación de la DQO existente y, sobre todo,



para obtener una nitrificación del 50% del  $\text{NH}_4^+$  a nitritos  $\text{NO}_2^-$ . Esto se logra utilizando una baja concentración de oxígeno ( $0.7 \text{ mgO}_2/\text{l}$ ), que se obtiene mediante una aireación intermitente; además, la combinación de un tiempo de retención celular corto (de un día) con una temperatura de  $35^\circ \text{C}$  permite que los organismos que oxidan los nitritos a nitratos sean lavados del sistema (van Dongen *et al.*, 2001a). Estudios realizados por Logemann *et al.* (1998) indican que la primera etapa de nitrificación parcial puede ser realizada por microorganismos del género *Nitrosomonas*, con una posible predominancia de *Nitrosomonas eutropha*. Posteriormente, el efluente del proceso Sharon (con aproximadamente 50% del N como  $\text{NH}_4^+$  y el otro 50% como  $\text{NO}_2^-$ ) es alimentado al proceso Anammox, en el que organismos del género *Planctomycetes* emplean el  $\text{NH}_4^+$  como donador de electrones y el oxígeno de los  $\text{NO}_2^-$  como aceptor de electrones, formando así nitrógeno molecular. El proceso Anammox se ha realizado en reactores intermitentes (tipo *batch*), ya que los microorganismos involucrados tienen una tasa de crecimiento (tiempo de duplicación) de 11 días y una tasa de productividad ( $0.11 \text{ g SSV/g N-NH}_4^+$ ) muy baja, por lo que requieren de sistemas que favorezcan tiempos de retención celular largos. El sistema es empleado con TRH de 0.5 d y ofrece como ventaja adicional una baja producción de lodos (van Dongen *et al.*, 2001b).

El desarrollo de esta tecnología ha servido como punto de partida para que se realicen varias investigaciones con la finalidad de optimizarla o desarrollar otros sistemas que utilicen alguno de estos dos mecanismos de transformación y eliminación del nitrógeno: la nitrificación y la oxidación anóxica del amonio. A continuación se describen los trabajos que se han hecho hasta ahora:

- a) Nitritación. Algunos autores se han dedicado a estudiar el proceso de nitritación (formación de nitritos) con inhibición de la nitratación (formación de nitratos). Por ejemplo, Gil *et al.* (2002) proponen, a partir de experimentos en un reactor SBR, que el tiempo de residencia celular (TRC) es el parámetro clave para obtener una nitritación estable y, por lo tanto, para ser utilizado como parámetro de diseño. Los autores utilizan nomogramas para determinar el tamaño del reactor y la concentración de oxígeno que se requiere de acuerdo con la concentración de nitrógeno que recibe. Por otra parte, algunos autores han evaluado la posibilidad de llevar a cabo el proceso de nitritación en sistemas de tratamiento diferentes a los reactores secuenciales, como son los reactores fluidizados (Botrous *et al.*, 2004), y probar la eficiencia del uso de biomasa granular (Tokutomi *et al.*, 2004), o bien en sistemas de lecho expandido con aire (Kim *et al.*, 2003). De estos estudios, se ha encontrado que en los lechos fluidizados, la concentración de oxígeno es el parámetro que determina el buen funcionamiento (inhibición de la formación de nitratos), mientras que en el lecho expandido es la concentración de amonio libre (que debe ser de al menos  $0.2 \text{ mg/l}$ ), la que inhibe la nitratación.
- b) Nitritación + desnitrificación. Otro grupo de autores ha combinado, en un sistema de reactor discontinuo (SBR), el proceso de nitritación con un proceso de desnitrificación heterótrofa, añadiendo una fuente de carbono externa (Fux *et al.*, 2003; Gee y Kim, 2004; Jenicek *et al.*, 2004). El sistema ha resultado ser eficiente cuando el TRC oscila entre 2.5 y 3.0 d (puede llegar hasta 5 d, siempre y cuando se encuentre la relación de tiempo óptima entre las fases de aireación y no aireación). Choi *et al.* (2004) han aplicado esta nueva alternativa para tratar el estiércol de granjas de puerco: modificaron una planta convencional de lodos activados en un sistema SBR con etapas aerobia-anóxica para llevar a cabo la nitritación y desnitrificación. Lograron que la eficiencia de la planta pasara del 20-40% al 90%.
- c) Nitritación + Anammox. Otro grupo de investigadores evaluó la posibilidad de llevar a cabo el proceso Anammox en sistemas UASB (Imajo *et al.*, 2004; Schmidt *et al.*, 2004) mediante la incorporación de bacterias tipo Anammox en el lodo granular y alimentando los reactores con una mezcla 50%  $\text{NO}_2^-$  y 50%  $\text{NH}_4^+$ . Se obtuvieron buenas eficiencias de remoción de nitrógeno: entre  $2.9$  y  $6.4 \text{ kg N/m}^3 \text{ d}^{-1}$ . Por otro lado, Ahn *et al.* (2004) determinaron la eficiencia de un reactor UASB para llevar a cabo un proceso de oxidación anóxica del amonio y así tratar el estiércol de puerco. Añadieron al influente una carga de nitritos en una relación 0.8 a 1.0 de  $\text{N-NO}_2^-$  –  $\text{N-NH}_4^+$  y obtuvieron una tasa de conversión de  $0.59 \text{ kg NT /m}^3 \text{ de reactor d}^{-1}$ .
- d) Nitritación + desamonificación simultánea. Helmer *et al.* (2001) demostraron que un proceso de nitritación y uno de desamonificación anóxica (muy similar al Anammox, pero catalizado por bacterias nitrificantes) pueden ocurrir de forma simultánea en un sistema de biopelícula con cama móvil, con lo que se elimina el nitrógeno en una sola etapa, es decir, utilizando un solo reactor, a diferencia de lo que se propone al combinar las tecnologías Sharon y Anammox (que realizan la eliminación

del nitrógeno en dos etapas). Estos autores encontraron que en la biopelícula, las *Nitrosomonas europaea* mostraron una tasa de conversión del nitrógeno ( $1.49 \text{ kg N/m}^3 \text{ d}^{-1}$ ) muy similar a la de los microorganismos Anammox ( $1.5 \text{ kg N/m}^3 \text{ d}^{-1}$ ). Por su parte, Hippen *et al.* (2001) reportan que tres plantas de biodiscos para uso industrial (Mechernich en Alemania, Kölliken en Suiza y Pitsea en Reino Unido) que tratan lixiviados y eliminan entre un 40 y 70% de la carga de nitrógeno del influente prácticamente sin eliminar DQO, lo hacen a través de un proceso combinado de nitrificación y desamonificación anóxica en una sola etapa. Al respecto, Helmer-Madhok *et al.* (2002) utilizaron biomasa de la planta Mechernich para inocular un sistema de biopelícula sobre cama móvil y, empleando  $^{15}\text{N-NO}_2^-$  y  $^{14}\text{N-NH}_4^+$  en experimentos en discontinuo en condiciones anóxicas, determinaron que 94% del  $\text{N}_2$  se formó tras un proceso de desamonificación anóxica (oxidación anaerobia del amonio,  $^{14-15}\text{N}_2$ ), mientras que sólo 6% se formó por un proceso de desnitrificación (nitrificación y desnitrificación endógena simultánea,  $^{15-15}\text{N}_2$ ). Estos mismos autores utilizaron pruebas de hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) más PCR y determinaron la posición espacial de los microorganismos en la biopelícula. Con esto proponen un modelo muy similar al presentado por Garzón-Zúñiga y González-Martínez (1996) para nitrificación y desnitrificación simultánea (NDS), en el que las bacterias nitrificantes aerobias que oxidan el amonio se localizan en la superficie y las bacterias anaerobias autótrofas que oxidan el amonio y reducen los nitritos están en las capas más profundas, junto con bacterias desnitrificantes heterótrofas. En este esquema, los óxidos de nitrógeno que se generan en la superficie se difunden hacia las capas profundas (junto con los iones de amonio), donde son utilizados principalmente por las bacterias autótrofas oxidadoras del amonio y una mínima parte es usada por bacterias heterótrofas desnitrificantes que utilizan respiración endógena como fuente de carbono y aprovechan los nitritos como aceptor de electrones para desnitrificar. En este mismo sentido, Gaul *et al.* (2002), utilizando  $^{15}\text{N-NO}_2^-$  en un sistema de biopelícula con cama móvil, con alta carga de nitrógeno y sin añadir fuente de carbono, determinaron que se genera hasta un 10% del total del N-gaseoso del efluente en forma de  $^{15-15}\text{N}_2\text{O}$ , y que al agregar una fuente de carbono se incrementa la producción de  $^{15-15}\text{N}_2$  y desaparece

la generación de  $^{15-15}\text{N}_2\text{O}$ . Lo anterior evidencia un fenómeno de desnitrificación simultánea endógena incompleta.

#### Sistema Biosor

El proceso Biosor es una tecnología de biofiltración o de percolación por infiltración sobre medio orgánico, empleada principalmente en Canadá para el tratamiento de efluentes líquidos con altas cargas de nitrógeno, pero que también ha demostrado ser eficiente para el tratamiento de efluentes de diversas industrias. Para el caso particular del tratamiento de aguas residuales de granjas porcinas, las cuales tienen altas cargas de nitrógeno, estos sistemas operan con cargas hidráulicas bajas, entre 0.035 y 0.067  $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{d}$  (Garzón-Zúñiga, 2001) para evitar que los filtros se tapen. Ello implica largos tiempos de residencia hidráulicos (siete días), ya que la percolación se hace por infiltración sobre un material poroso. El material de empaque es orgánico (principalmente turba y madera). La importancia funcional de este material es dual: por un lado, sirve como filtro físico, con una alta capacidad de retención por filtración, y por otro, es el soporte para una comunidad microbiana que forma una biopelícula sobre la cama filtrante, la cual se encarga de utilizar, transformar y degradar los compuestos contaminantes, con lo que regenera la capacidad de filtración de la cama. Es recomendable que el material orgánico tenga una alta capacidad de retención de humedad por fenómenos de sorción. Esto, aunado a la baja carga hidráulica, permite periodos largos de contacto entre los microorganismos y los contaminantes. Las características de este tipo de material permiten la implantación exitosa de diferentes microambientes en los que se desarrollan diversos mecanismos no convencionales de remoción del nitrógeno. Algunos de estos se presentan después de un periodo de estabilización que puede durar sesenta días a partir del arranque (Garzón-Zúñiga *et al.*, 2002). Así pues, para el tratamiento de estiércol de puerco se ha visto que este sistema remueve  $6.728 \text{ kg N/m}^3 \text{ medio filtrante} \cdot \text{d}^{-1}$  de los  $7.243 \text{ kg N/m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$  que son alimentados; es decir, el 92.89% del nitrógeno es removido por procesos de desnitrificación. De los  $7.243 \text{ kg N/m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ ,  $5.645 \text{ kg N/m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$  son removidos por nitrificación y desnitrificación simultánea (se eliminan del sistema en forma de  $\text{N}_2$ ), lo que la constituye en la vía principal de eliminación del nitrógeno. Por otra parte,  $1.084 \text{ kg N/m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$  son removidos por otros dos procesos no convencionales: desnitrificación por microorganismos nitrificantes en condiciones limitantes de oxígeno y quimio-desnitrificación. El producto final de estos dos procesos es el  $\text{N}_2\text{O}$  (Garzón-Zúñiga, 2001).

## Conclusiones

- Existe una variedad de metabolismos alternos al de nitrificación y desnitrificación convencional que llevan a la eliminación biológica del nitrógeno.
- Gran parte del conocimiento sobre estos metabolismos alternos ha sido generado a partir de estudios en suelos como consecuencia de la necesidad de preservar la productividad de las tierras de cultivo.
- Los mecanismos no convencionales pueden dividirse en los siguientes grupos: nitrificación y desnitrificación simultánea (NDS); desnitrificación por microorganismos nitrificantes (autótrofos y heterótrofos); fenómeno de co-respiración de  $\text{NO}_x$  y de  $\text{O}_2$  por bacterias desnitrificantes; desnitrificación autótrofa por microorganismos desnitrificantes anóxicos, y quimio-desnitrificación.
- A pesar de que los mecanismos no convencionales suelen ser presentados con una participación muy pequeña en la remoción del nitrógeno dentro de los sistemas tradicionales, estudios recientes demuestran que, proporcionando las condiciones óptimas dentro de un proceso de tratamiento, los procesos no convencionales se tornan la vía principal de eliminación del nitrógeno.
- En la actualidad, las vías metabólicas alternas de transformación del nitrógeno no se encuentran bien aprovechadas, ya que sólo son dos los procesos patentados y que la industria explota. Sin embargo, son un campo de estudio con gran potencial para optimizar sistemas y desarrollar nuevos procesos de tratamiento, más eficientes y económicos.
- Hoy en día, gran parte de la investigación sobre mecanismos no convencionales para la eliminación del nitrógeno se encuentra enfocada en el estudio de la nitrificación, la oxidación "anaerobia" del amonio y la desamonificación anóxica del amonio. Sin embargo, no deben dejarse de lado las otras vías no convencionales.
- Es necesario realizar más trabajo de investigación sobre los mecanismos no convencionales, así como buscar formas para aprovecharlos. Por ejemplo, diseñando y evaluando sistemas que favorezcan la implantación y predominancia de estos mecanismos a cambio de beneficios notables, como ahorro de energía por consumo de oxígeno o ahorro en el suministro de una fuente de carbono, entre otros.

Recibido: 27/05/2004  
Aprobado: 01/12/2004

## Referencias

- AHN, Y., HWANG, I. y MIN, S. Anammox and partial denitrification in anaerobic nitrogen removal from piggery waste. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 145-153.
- ARTS, P.A.M., ROBERTSON, L.A. y KUENEN, J.G. Nitrification and denitrification by *Thiosphaera pantotropha* in aerobic chemostat cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 18, 1995, pp. 305-316.
- BÉLINE, F., MARTÍNEZ, J. y BURTON, C.H. Review of the aerobic treatment of pig slurry: theoretical and technical considerations. *Vecteur Environnement.* Vol. 31, núm. 2, 1998, pp. 38-48.
- BOCK, E., SCHMIDT, I., STÜVEN, R. y ZART, D. Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonia or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor. *Arch. Microbiol.* Vol. 163, 1995, pp. 16-20.
- BONIN, P. y GILEWICZ, M. A direct demonstration of "co-respiration" of oxygen and nitrogen oxides by *Pseudomonas nautica*: some spectral and kinetic properties of the respiratory components. *FEMS Microbiol. Lett.* Vol. 80, 1991, pp. 183-188.
- BOTROUS, A.E.F., DAHAB, M.F. y MIHÁLTZ, P. Nitrification of high-strength ammonium wastewater by a fluidized-bed reactor. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 65-71.
- BREMNER, J.M. y BLACKMER, A.M. Nitrous oxide: emissions from soils during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science*, Vol. 199, 1978, pp. 295-296.
- BURGESS, J.E., STUETZ, R.M., MORTON, S. y STEPHENSON, T. Dinitrogen oxide detection for process failure early warning systems. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 45, núm. 4-5, 2002, pp. 247-254.
- BURRELL, P.C., KELLER, J. y BLAKCALL, L.L. Microbiology of a nitrite oxidizing bacteria. *Appl. Env. Microb.* Vol. 64, núm. 5, 1998, pp. 1878-1883.
- BURRELL, P.C., KELLER, J. y BLAKCALL, L.L. Characterization of the bacterial consortium involved in nitrite oxidation in activated sludge. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 39, núm. 6, 1999, pp. 45-52.
- CASTIGNETTI, D. y HOLLOCHER, T.C. Heterotrophic nitrification among denitrifiers. *Appl. Env. Microbiol.* 47, 1984, pp. 620-623.
- CHOI, E., EUM, Y., GIL, K. y OA, W. High strength nitrogen removal from nightsoil and piggery wastes. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 97-104.
- DAIMS, H., NIELSEN, P.H., NIELSEN, J.L., JURETSCHKO, S. y WAGNER, M. Novel *Nitrospira*-like bacteria as dominant nitrite-oxidizers in biofilms from wastewater treatment plants: diversity and *in situ* physiology. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 41, núm. 4-5, 2000, pp. 85-90.
- DAIMS, H., PURKHOLD, U., BJERRUM, L., ARNOLD, E.,

- WILDERER, P.A. y WAGNER, M. Nitrification in sequencing biofilm batch reactors: lessons from molecular approaches. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 43, núm. 3, 2001, pp. 9-18.
- FUX, C., LANGE, K., FAESSLER, A., HUBER, P., GRUENIGER, B. y SIEGRIST, H. Nitrogen removal from digester supernatant via nitrite-SBR or SHARON? *Wat. Sci. Tech.* Vol. 48, núm. 8, 2003, pp. 9-18.
- GARRIDO, J.M., CAMPOS, J.L., MÉNDEZ, R. y LEMA, J.M. Nitrous oxide production by Nitrifying biofilms in a biofilm airlift suspension reactor. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 36, núm. 1, 1997, pp. 157-163.
- GARZÓN-ZÚÑIGA, M.A. y GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S. Biological phosphate and nitrogen removal in a biofilm sequencing batch reactor. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 43, núm. 1, 1996, pp. 293-301.
- GARZÓN-ZÚÑIGA, M.A. *Mécanismes d'enlèvement de l'azote du lisier de porc par biofiltration aérée sur tourbe*. Tesis de doctorado. Quebec, Canadá: Département du Génie Civil, Universidad de Laval, 2001.
- GARZÓN-ZÚÑIGA, M.A., LESSARD, P. y BUELNA, G. Nitrogen elimination mechanisms in an aerated peat biofilter treating pig manure. *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> Water World Congress*. Melbourne, Australia: International Water Association, 2002.
- GAUL, T., FILIPOV, E., SCHLÖSSER, N., KUNST, S. y HELMER-MADHOK, C. Balancing of nitrogen conversion in deammonifying biofilms through batch test and GC/MS. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 46, núm. 4-5, 2002, pp. 157-162.
- GEE, C.S. y KIM, J.S. Nitrite accumulation followed by denitrification using sequencing batch reactor. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 47-55.
- GIL, K., CHOI, E., YUN, Z., LEE, J., HA J., y PARK, J. The nomographic design approach to recycled water treatment by the nitrification process. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 46, núm. 11-12, 2002, pp. 85-92.
- GOREAU, T.J., KAPLAN, W.A., WOFYSY, S.C., MCELROY, M.B., VALOIS, F.W. y WATSON, S.W. Production of NO<sub>x</sub> and N<sub>2</sub>O by nitrifying bacteria at reduced concentrations of oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 40, núm. 3, 1980, pp. 526-532.
- HANSEN, B.P. Double delight. *Wat. Qual. Intern.* Mayo-junio, 1997, pp. 24-25.
- HELMER, C. y KUNST, S. Simultaneous nitrification/denitrification in an aerobic biofilm system. *Wat. Sci. Technol.* Vol. 37, núm. 4/5, 1998, pp. 183-187.
- HELMER, C., KUNST, S., JURETSCHKO, S., SCHMID, M.C., SCHLEIFER K.-H. y WAGNER, M. Nitrogen loss in a nitrifying biofilm system. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 39, núm. 7, 1999, pp. 13-21.
- HELMER, C., TROMM, C., HIPPEN, A., ROSENWINKEL, K.-H., SEYFRIED, C.F. y KUNST, S. Single stage biological nitrogen removal by nitrification and anaerobic ammonium oxidation in biofilm systems. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 43, núm. 1, 2001, pp. 311-320.
- HELMER-MADHOK, C., SCHMID, M., FILIPOV, E., GAUL, T., HIPPEN, A., ROSENWINKEL, K.-H., SEYFRIED, C.F., WAGNER, M. y KUNST, S. Deammonification in biofilm systems: population structure and function. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 46, núm. 1-2, 2002, pp. 223-231.
- HENZE, M. Basic biological process. Cap. 3, pp. 55-111. *Wastewater Treatment (biological and chemical processes)*, editores. Henze M., Harremoës P., Jansen J. C. y Arvin E. Berlín: Springer-Verlag, 1995, 383 pp.
- HIPPEN, A., HELMER, C., KUNST, S., ROSENWINKEL, K.H. y SEYFRIED, C.F. Sludge liquor treatment with aerobic deammonification. *Conference Proceedings of "Wastewater 1999"*. Teplice: 3<sup>rd</sup> International Conference of ACE CR, 1999.
- HIPPEN, A., HELMER, C., KUNST, S., ROSENWINKEL, K.H. y SEYFRIED, C.F. Six years practical experience with aerobic/anoxic deammonification in biofilm systems. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 44, núm. 2-3, 2001, pp. 39-48.
- HUTCHINSON, G.L. y DAVIDSON, E.A. Processes for production and consumption of gaseous nitrogen oxides in soil en *Agricultural Ecosystem Effects on trace Gases and Global Climate Change*. Madison, EEUU: Am. Soc. Agronomy, Crop Sic. Soc. Am. et Soil Scie. Soc. Am. 677, 1993, pp. 79-93.
- IMAJO, U., TOKUTOMI, T. y FURUKAWA, K. Granulation of Anammox microorganisms in up-flow reactors. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 155-166.
- JENICEK, P., SVEHLA, P., ZABRANSKA, J. y DOHANYOS, M. Factors affecting nitrogen removal by nitrification/denitrification. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 73-79.
- KIM, D.J., CHANG, J.S., LEE, D.I., HAN, D.W., YOO, I.K. y CHA, G.C. Nitrification of high strength ammonia wastewater and nitrite accumulation characteristics. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 47, núm. 11, 2003, pp. 45-51.
- KNOWLES, R. Denitrification. *Microbiol Rev.* Vol. 46, núm. 1, 1982, pp. 43-70.
- KSHIRSAGAR, M., GUPTA, A.B. y GUPTA, S.K. Aerobic denitrification studies on activated sludge mixed with *Thiosphaera pantotropha*. *Environ. Tech.* Vol. 16, 1995, pp. 35-43.
- LESLIE GRADY, C.P.L., DAIGGER, G.T. y LIM, H.C. *Biological wastewater treatment*. 2a ed. Nueva York: Marcel Dekker, 1999, 1076 pp.
- LIPSCHULTZ, F., ZAFIRIOU, O.C., WOFYSY, F.C., MCELROY, M.B., VALOIS, F.W. y WATSON, S.W. Production of NO and N<sub>2</sub>O by soil nitrifying bacteria. *Nature*. Vol. 294, 1981, pp. 641-643.
- LLOYD, D., BODDY, L. y DAVIES, K.J.P. Persistence of bacterial denitrification under aerobic conditions: the rule rather than the exception. *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 45, 1987, pp. 185-190.
- LOGEMANN, S., SCHANTL, J., BIJVANK, S., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., KUENEN, J.G. y JETTEN, M.S.M. Molecular microbial diversity in a nitrifying reactor system without sludge retention. *FESM Microbiol. Ecol.*

- Vol. 27, 1998, pp. 239-249.
- MASUDA, S., WATANABE, Y. e ISHIGURO, M. Biofilm properties and simultaneous nitrification and denitrification in aerobic rotating biological contactors. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 23, 1991, pp. 1355-1363.
- MENOUD, P., WONG, C.H., ROBINSON, H.A., FARQUHAR, A., BARFORD, J.P. y BARTON, G.W. Simultaneous nitrification and denitrification using SIPO RAX™ packing. *Wat. Sci. Technol.* Vol. 40, núm. 4/5, 1999, pp. 153-160.
- MULDER, A. Anoxic Ammonium Oxidation. US patent 427849(5078884), 1992.
- MULDER, A., VAN DE GRAFF, A.A., ROBERTSON, L.A. y KUENEN, J.G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbial Ecol.* Vol. 16, 1995, pp. 177-183.
- MULLER, N. Implementing biofilm carriers into activated sludge process-15 years of experience. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 37, núm. 9, 1998, pp.167-174.
- NELSON, D.W. Gaseous losses of nitrogen other than through denitrification en *Nitrogen in Agricultural Soils*, ed. F.J. Stevenson. Agron. Monogr. 22. Madison, EEUU: ASA, 1982, pp. 327-363.
- NELSON, D.W. y BREMNER, J.M. Gaseous products of nitrite decomposition in soils. *Soil Biol. Bioche.* Vol. 2, 1970, pp. 203-215.
- PAPEN, H., VON-BERG, R., HINKEL, I., THOENE, B. y RENNENBERG, H. Heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis*: NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O and NO production in Exponentially Growing Cultures. *Appl. Env. Microbiol.* Vol. 55, núm. 8, 1989, pp. 2068-2072.
- PATUREAU, D., BERNET, N. y MOLETTA, R. Combined nitrification and denitrification in a single aerated reactor using the aerobic denitrifier *Comamonas* sp. stain SGLY2. *Wat. Res.* Vol. 31, núm. 6, 1997, pp. 1363-1370.
- PEARCE, P. Trickle filters for upgrading low technology wastewater plants for nitrogen removal. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 11-12, 2004, pp. 47-52.
- POTH, M. y FOCHT, D.D. <sup>15</sup>N Kinetic Analysis of N<sub>2</sub>O production by *Nitrosomonas europaeae*: An examination of nitrifier denitrification. *Appl. Env. Microbiol.* Vol. 49, núm. 5, 1985, pp. 1134 - 1141.
- PUZNAVA, N., PAYRAUDEAU, M. y THORNBERG, D. Simultaneous nitrification and denitrification in biofilters with real time aeration control. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 43, núm. 1, 2001, pp. 269-276.
- RALPH, M. *Introduction to environmental microbiology*. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall International Inc, 1974, 355 pp.
- RITCHIE, G.A.F. y NICHOLAS, D.J.D. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomona europaeae*. *Biochem. J.* Vol. 126, 1972, pp. 1181-1191.
- ROBERTSON, L.A. *Aerobic denitrification and heterotrophic nitrification in *Thiosphaera pantotropha* and other bacteria*. Tesis de doctorado. Delft, Países Bajos: University of Technology, 1988.
- ROBERTSON, L.A., DALSGAARD, T., REVSACH, N.-P. y KUENEN, J.G. Confirmation of aerobic denitrification in batch cultures using gas chromatography and N mass spectrometry. *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 18, 1995, pp. 113-120.
- SANTOS, V.A., TRAMPER, J. y WIJFFELS, R.H. Simultaneous nitrification and denitrification using immobilized microorganisms. *Biomat. Art. Cells & Immob. Biotechnology.* Vol. 21, núm. 3, 1993, pp. 317-322.
- SCHMID, M., TWACHTMANN, U., KLEIN, M., STROUS, M., JURETSCHKO, S., JETTEN, M., METZGER, J., SCHLEIFER, K.H. y WAGNER, M. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. *Sys. Appl. Microbiol.* Vol. 23, 2000, pp. 93-106.
- SCHMIDT, J.E., BATSTONE, D.J. y ANGELIDAKI, I. Improved nitrogen removal in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors by incorporation of Anammox bacteria into the granular sludge. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 11-12, 2004, pp. 69-76.
- SMITH, S.M. y ZIMMERMAN, K. Nitrous oxide production by nondenitrifying soil nitrate reducers. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* Vol. 45, 1981, pp. 865-871.
- TIEDJE, J.M. Denitrifiers en *Methods of soils analysis*, parte 2. Microbiological and Biochemical Properties-SSSA (*Soil Science Society of America Book*). Series núm. 5, 1994, pp. 245-267.
- TOKUTOMI, T. Operation of a nitrite-type airlift reactor at low DO concentration. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 49, núm. 5-6, 2004, pp. 81-88.
- VAN DONGEN, L.G.J.M., JETTEN, M.S.M. y VAN LLOOSDRECHT, M.C.M. *The combined Sharon /Anammox process*. Londres: IWA Publishing, 2001a, 64 pp. ISBN: 1 84339 000 0.
- VAN DONGEN, L.G.J.M., JETTEN, M.S.M. y VAN LLOOSDRECHT, M.C.M. The SHARON®-Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 44, núm. 1, 2001b, pp. 153-160.
- WAGNER, M., RAYH, G., KOOPS, H.P., FLOOD, J. y AMANN, R. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Wat. Sci. Technol.* Vol. 34, núm. 1-2, 1996, pp. 237-244.
- YOSHIDA, T. y ALEXANDER, M. Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaeae* and heterotrophic microorganisms. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.* Vol. 34, 1970, pp. 880-882.

### Abstract

GARZÓN-ZÚÑIGA, M.A. *Non-conventional nitrogen transformation and removal mechanisms in wastewater treatment systems*. Hydraulic engineering in Mexico (*in Spanish*). Vol. XX, no. 4, October-December, 2005, pp. 137-149.

A review of nitrogen transformations in wastewater treatment systems is presented, emphasizing non-conventional mechanisms, by which nitrogen is removed from wastewater. It has been observed that a fraction of nitrogen is lost under aerobic conditions in different biological processes, i.e. during the nitrification phase in biofilm systems. The mechanisms discovered until now that explain this behavior are: 1) simultaneous nitrification and denitrification (SND), 2) denitrification by autotrophic and heterotrophic nitrifying microorganisms, and 3) simultaneous co-respiration of  $\text{NO}_x$  and  $\text{O}_2$  by denitrifiers. These and other two non-conventional nitrogen transformation mechanisms are described here: anaerobic ammonium oxidation (anammox) and chemodenitrification. A bibliographic review involving the discovery of these five mechanisms is made and the reports of its occurrence in biological and physical-chemical processes of wastewater treatment are presented. Besides, two technological processes working mainly or exclusively with non-conventional nitrogen removal mechanisms are presented and described: the Sharon-Anammox process and the Biosor process. A relevant conclusion of this paper is that non-conventional mechanisms may potentially optimize existing processes and develop better ones. Research must continue in this direction.

**Keywords:** non-conventional nitrogen transformation, simultaneous nitrification and denitrification (SND), denitrification by nitrifiers, co-respiration of  $\text{NO}_x$  and  $\text{O}_2$ , Anammox, deamonification aerobic/anoxic, chemodenitrification.

### Dirección institucional del autor:

Dr. Marco Antonio Garzón-Zúñiga

Coordinación de Tratamiento y Calidad del Agua,  
Subcoordinación de Tratamiento de Aguas Residuales,  
Instituto Mexicano de Tecnología del Agua,  
Paseo Cuauhnáhuac 8532,  
Progreso, Jiutepec, Morelos,  
C.P. 62550, México,  
teléfono: + (52) (777) 329 3600, extensiones 894, 430 y 432,  
fax: + (52) (777) 319 3422,  
mgarzon@imta.tlaloc.mx