



Vol. 3, No. 1, 74-85, 2010

ISSN 0718-378X

# REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:  
Investigación, desarrollo y práctica.

## **METANO COMO FUENTE DE CARBONO Y ENERGÍA PARA LA DENITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS RESIDUALES**

Margarita Elizabeth  
Cisneros Ortiz <sup>1</sup>  
Adalberto Noyola Robles <sup>1\*</sup>

### *METHANE AS CARBON SOURCE AND ENERGY FOR BIOLOGICAL WASTE WATER DENITRIFICATION*

#### ABSTRACT

In Mexico, waste water treatment does not focus in the elimination of nutrients (nitrogen and phosphorous). Nevertheless, Mexican legislation, NOM-001-ECOL-1996 establishes maximum permissible limits of 40 total nitrogen mg/l for water discharged into receiving bodies (Diario Oficial de la Federación, 1997). In order to overcome this requirement, it is necessary to develop biological processes for nutrient removal. In the last 30 years, a limited number of works has been published where it is considered to use the methane as carbon source and energy in the biological denitrification. The reported works defer in their results leaving a filed for developing research studies on this subject, methane being the main by-product of anaerobic digestion. Biogas is an attractive option of cheap substrate capable of achieving reasonable rates of nitrate removal. In this study, methane was used as energy and carbon source for biological denitrification under anoxic conditions. During 152 days, a reactor with capacity of 2.5L was fed with synthetic (denitrifying) water and a concentration of 35 mg/l of N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Pure methane (99.0%) was introduced to the system until reaching a partial pressure of 4.41lb/in<sup>2</sup>. Although the obtained denitrifying activity is low, 14.6g N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV\*d (0.61g N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV\*h) it may be concluded that it is feasible to use methane as carbon source and energy for wastewater denitrification.

Key Words: Anoxic, denitrification, methane, nitrate, wastewater treatment.

---

<sup>1</sup>Instituto de Ingeniería, UNAM.

\* *Contact* Circuito Escolar sin número Edificio 5, Cubículo 413. Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, CP 04510, México, D.F. MEXICO. Coordinación de Bioprocesos e Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. Tel (++) (525) 56 23 36 00 extensión 8700, Fax (++) (525) 56 16 27 98.

E-mail: mec@pumas.iingen.unam.mx y noyola@pumas.iingen.unam.mx

## Resumen

En México los procesos de tratamiento de agua residual poco se enfocan en la eliminación de nutrientes (nitrógeno y fósforo). Sin embargo, la legislación mexicana vigente, NOM-001-ECOL-1996 establece como límite máximo permisible un valor de 40 mg/L de nitrógeno total para descargas de aguas a cuerpos receptores (Diario Oficial de la Federación, 1997). Ante esta problemática es necesario desarrollar procesos biológicos de tratamiento de aguas para la eliminación de estos nutrientes. En los últimos 30 años, se ha publicado un número limitado de trabajos donde se considere usar el metano como fuente de carbono y energía en la desnitrificación biológica. Los trabajos reportados difieren en sus resultados dejando una línea de investigación por demás interesante aún por investigar debido a que el metano por ser el principal subproducto de la digestión anaerobia; es una opción atractiva de sustrato barato y del que se pueden obtener tasas razonables de remoción de nitrato. En este estudio se aborda el uso de metano como fuente de carbono y energía para la desnitrificación biológica bajo condiciones anóxicas. Durante 152 días se operó un reactor con capacidad de 2.5L que contenía agua sintética (medio desnitrificante) y una concentración de 35 mg/L de  $\text{N-NO}_3^-$ . Metano puro (99.0%) se introdujo al sistema hasta alcanzar una presión parcial de 4.41lb/pulgada<sup>2</sup>. Si bien la actividad desnitrificante obtenida es baja, 14.6g  $\text{N-NO}_3^-$ /g SSV\*d (0.61g  $\text{N-NO}_3^-$ /g SSV\*h) se concluye que es factible utilizar metano como fuente de carbono y energía para la desnitrificación de aguas residuales.

## Introducción

Las actividades industriales, comerciales, agrícolas y domésticas son fuentes generadoras de aguas residuales, las cuales presentan características físicas, químicas y biológicas tan diversas como las materias primas y los productos involucrados en tales actividades. El impacto negativo que pueden causar sobre el medio ambiente estas descargas incontroladas tiene implicaciones no solo ecológicas, sino también económicas y sociales cada vez más graves. Debido a esto, el control de las descargas, la remoción y la disposición adecuada de las aguas residuales, ha tomado un papel relevante dentro del campo del control ambiental. Esto hace necesario recolectar los residuales para darles un tratamiento efectivo antes de devolverlas al ambiente. Además en muchos casos las aguas residuales tratadas pueden ser reusadas en la agricultura y la industria.

El nitrógeno es uno de los principales contaminantes comúnmente encontrados en aguas residuales, con impactos potencialmente importantes en cuerpos acuíferos (ríos, lagos, lagunas etc.). Este elemento presenta diferentes formas contaminantes al ser humano como el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ).

Los procesos biológicos ofrecen alternativas potenciales a los relativamente costosos y en algunas veces ineficientes procesos de tratamiento fisicoquímicos para la eliminación de especies nitrogenadas. Estos procesos han sido usados por años en el tratamiento de aguas, son altamente selectivos para remover nitrato y la eficiencia del proceso es muy alta. Tienen el inconveniente de requerir una fuente de carbono orgánico (sustrato) para que se lleve a cabo.

En 1994 Morgan-Sagastume *et al.* desarrollaron el Sistema Anaerobio-Anóxico-Aerobia (Sistema triple A) para la remoción de nitrógeno. La diferencia del triple A con otros sistemas radica en que la mayoría poseen un sistema de remoción de nitrógeno en lodos activados con zona anóxica, esto genera el uso de sedimentadores y de recirculación de lodos lo cual eleva el costo del sistema de tratamiento.

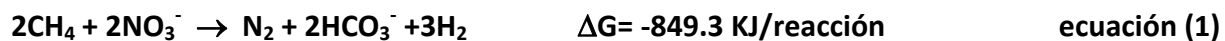
En el proceso triple A, el agua residual entra al reactor anaerobio en donde se elimina el 60-80% del contenido de materia orgánica y se transforma el nitrógeno orgánico en amoniacal. El agua evacuada se mezcla con la corriente de recirculación proveniente del tercer reactor (nitrificador), la cual contiene nitrógeno oxidado en forma de nitratos principalmente. En el segundo reactor, los nitratos son transformados en nitrógeno molecular que es inocuo al medio ambiente y se consume el contenido de materia orgánica biodegradable evacuada por el reactor anaerobio. El nitrógeno amoniacal que pasa sin cambios a través de este reactor se oxida a nitratos en el tercer reactor y al ser recirculados al reactor desnitrificador se convierten en nitrógeno molecular y así se entrega un agua tratada con un mínimo de compuestos nitrogenados. Este arreglo puede ser complementado con un segundo reactor desnitrificador (cuarto de la serie), con el fin de incrementar la eficiencia de remoción del nitrógeno sobre un 95%.

Quezada *et al.*, (1993) implementaron una sencilla metodología en lote que permitió observar la actividad desnitrificante de los microorganismos presentes en un lodo usando metano como única fuente de carbono y energía. Probaron 4 diferentes temperaturas (13, 20, 27 y 30°C) y 16 concentraciones de nitrato (16, 20, 30, 40, 60, 80, 90, 100, 120, 140, 150, 200, 250, 300, 400 y 500 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L). Los resultados mostraron que es factible utilizar metano como donador de electrones en el proceso de desnitrificación aun cuando las tasas fueron bajas (0.16 a 0.52 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L\*h) comparadas con las que se reportan usando metanol.

En este contexto, y considerando los trabajos publicados sobre el tema (Davies, (1973), Mason, (1977), Sollo *et al.*, (1976), Rhee y Wolfgang (1978), Werner y Kayser (1990), Wisotzky y Bardtke (1992), Quezada *et al.*, (1993), Thalasso *et al.*, (1996), Houbron *et al.*, (1999), Rajapakse y Scutt (1999), Costa *et al.*, (2000), Eisentraeger *et al.*, (2001), Islas-Lima *et al.*, (2004), Gavazza dos Santos *et al.*, (2004), Khin y Annachhatre (2004), Waki *et al.*, (2005), Cuba y Foresti (2006) y Modin *et al.*, (2008)), pero sobre todo por la discrepancia existente en la necesidad o no de adicionar pequeñas cantidades de oxígeno durante el desarrollo del proceso, se considera importante definir claramente si el metano puede ser usado como la única fuente de carbono

para llevar a cabo la desnitrificación biológica ya sea en ausencia o presencia de oxígeno. Las implicaciones son importantes, ya que en ciertos procesos de tratamiento, como el descrito anteriormente (Sistema triple A), el metano es un subproducto que puede ser aprovechado en la desnitrificación, sin costos adicionales de operación por motivo de un reactivo como metanol.

Termodinámicamente la oxidación del metano con el nitrato como aceptor de electrones es favorable como lo muestra la reacción de la ecuación (1):



El objetivo de este trabajo fue determinar si el metano puede ser usado como única fuente de carbono y energía en un proceso de desnitrificación biológica.

### Metodología

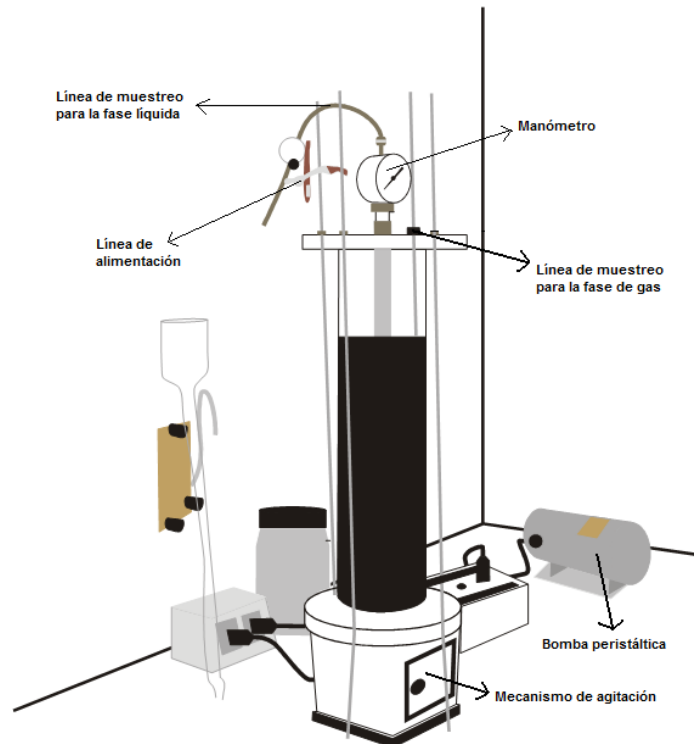
Para caracterizar el inóculo desnitrificante se hicieron las siguientes pruebas: Sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), sólidos suspendidos fijos (SSF), índice volumétrico de lodos (IVL) y velocidad de sedimentación (VS) conforme a los métodos descritos en APHA-AWWA-WPCF, (1989). Además se realizaron cinéticas de desnitrificación para comprobar la efectividad de estos lodos para remover nitratos.

### Descripción del dispositivo experimental

El dispositivo experimental consistió en un reactor cilíndrico de vidrio de 40cm de altura y 9cm de diámetro cerrado herméticamente con capacidad nominal de 2.5L. La tapa tenía insertado un manómetro de 2 pulgadas de carátula con entrada inferior de ¼ de pulgada, rango de 0 a 1 atmósfera (0 a 14.5 lb/pulgada<sup>2</sup>) marca METRON MR además de una entrada para alimentación y una toma de muestra como se puede observar en la figura 1. En la parte central de la tapa había un dispositivo para tomar la muestra de la fase gaseosa. Para homogenizar el sistema se usó una placa de agitación Cole - Parmer y dentro del reactor se colocó una barra agitadora de teflón modelo polygon de 2 x 3/8 de pulgada marca spinbar.

El reactor fue operado por un periodo de 152 días. Durante los primeros 82 días de operación, la toma de muestra y la alimentación se realizó diariamente. Después de este periodo, y debido a la baja velocidad de remoción de nitrato observada en el sistema, posterior al día 83 de

operación, se optó por realizar el seguimiento de la fase líquida cada semana y cada tercer día de la fase gas pero siguiendo la presión interna del sistema de manera diaria con la finalidad de tener disponible el metano en la fase líquida para que los microorganismos pudieran usarlo como sustrato.



**Figura 1:** Reactor desnitrificante.

Se colocó 1 litro de lodo anóxico (2.88 g/L de SSV) y 1 litro de medio desnitrificante propuesto por Timmermans y Van Haute (1983) con el objeto de ocupar 2 litros del volumen del reactor. El reactor fue alimentado con 35 mg/L  $\text{N-NO}_3^-$  y después de cada toma de muestra se introdujo al reactor medio desnitrificante para ajustar la concentración de nitratos y mantener constante el volumen de trabajo en el sistema. Se cambió la atmósfera interna del reactor por metano durante 5 minutos (500 ml de volumen del reactor) para eliminar la presencia de oxígeno en el sistema de la siguiente forma: con una aguja de jeringa adaptada a una manguera que se conectó a un tanque de metano, se introdujo una corriente de gas metano a una presión de 0.3  $\text{kg/cm}^2$  (4.41  $\text{lb/pulgada}^2$ ) la cual era evacuado con una segunda aguja de jeringa colocada en la parte superior del reactor. Terminado el tiempo para el cambio de atmósfera se retiró la aguja de jeringa y se incrementó la presión interna con metano hasta 8  $\text{lb/pulgada}^2$  (0.56  $\text{kg/cm}^2$ )

medida con un transductor de presión Cole Palmer con rango de 0 – 15 lb/pulgada<sup>2</sup> con la finalidad de alcanzar una concentración de 52.5mg de CH<sub>4</sub> para conservar la relación C/N = 1.5. Seguimiento de la fase líquida. Para la realización de las pruebas fisicoquímicas (Tabla 1), se tomaron 10 ml de muestra de la fase líquida con la ayuda de una jeringa adaptada a la línea de muestreo del reactor (Figura 1). Seguimiento de la fase gaseosa. Durante el primer mes se tomaron muestras diarias de la fase gas y posteriormente una vez por semana, antes de tomar la muestra líquida, para cuantificar la concentración de metano presente en el reactor. Se inyectaron 0.4 ml del gas en un cromatógrafo de gases con detector de conductividad térmica (Fisher gas partitioner modelo 1200) de doble columna (Porapak Q y malla molecular SA), la temperatura de la columna se mantuvo a 50°C la corriente del puente a 150mA y el atenuador en 4. Se empleó helio como gas acarreador a un flujo de 25 ml/min. Posterior a la toma de muestra y a la alimentación del reactor se reinyectaba metano para recuperar la presión inicial del reactor. Con los datos obtenidos se calculó la concentración de metano disuelto dentro del reactor la cual se mantuvo alrededor de 206 mg/L.

La actividad de los microorganismos se calculó dividiendo la tasa máxima de desnitrificación (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> removidos por unidad de tiempo) entre la cantidad de SSV en el reactor la cual se expresa como mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> /g SSV \*d.

**TABLA 1:** Parámetros analizados durante el monitoreo del digester anóxico

<i>Parámetro</i>	<i>Método</i>	<i>Frecuencia</i>
Nitratos	Espectométrico ultravioleta selectivo y RQ-Flex (Método Reflexométrico)	Semanal
Nitritos	RQ-Flex (Método Reflexométrico)	Semanal
Nitrógeno amoniacal	APHA,AWWA,WPCF (1989)	Semanal
Nitrógeno total	APHA,AWWA,WPCF (1989)	Semanal
SST, SSV, SSF	Gravimétrico	Semanal
Metano en fase gas	Cromatográfico	Diario
Presión en el reactor	Manométrico y transductor	Diario
Alcalinidad	APHA,AWWA,WPCF (1989)	Semanal
pH	Potenciométrico	Semanal

### Pruebas Microbiológicas

Con la finalidad de dar seguimiento a los microorganismos presentes en el inoculo desnitrificante se llevaron a cabo pruebas microbiológicas usando diferentes fuentes de carbono (glucosa, etanol y metano) al inicio en la parte intermedia y al final de la fase experimental. Las pruebas efectuadas fueron: Número más probable (NMP). Prueba presuntiva, Tinción de Gram y Prueba de la catalasa.

NMP. En series de tres tubos serológicos con campana de Durham se colocaron 9 ml medio desnitrificante y se inocularon con 1 ml (2.88 g/L SSV) de lodo desnitrificante. La glucosa y el etanol fueron agregados en el medio desnitrificante y el metano inyectado por los septos de las tapas de los tubos por medio de jeringas todos a una relación C/N = 1:1.5.

Tinción diferencial de Gram. Se realizó de acuerdo a la metodología descrita en APHA-AWWA-WPCF, (1989).

Prueba de Catalasa. Se colocó una gota de inoculo en un vidrio de reloj y se puso en contacto con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Si hay presencia de burbujas la prueba se considera positiva.

### Resultados obtenidos y discusión

Los resultados de la caracterización del inoculo obtenido para esta experimentación (índice volumétrico de lodos (IVL), velocidad de sedimentación (VS) y sólidos suspendidos en sus tres formas) se muestran en la tabla 2. Estos valores indican que se trata de un lodo floculento con una velocidad de sedimentación de de 5 m/h.

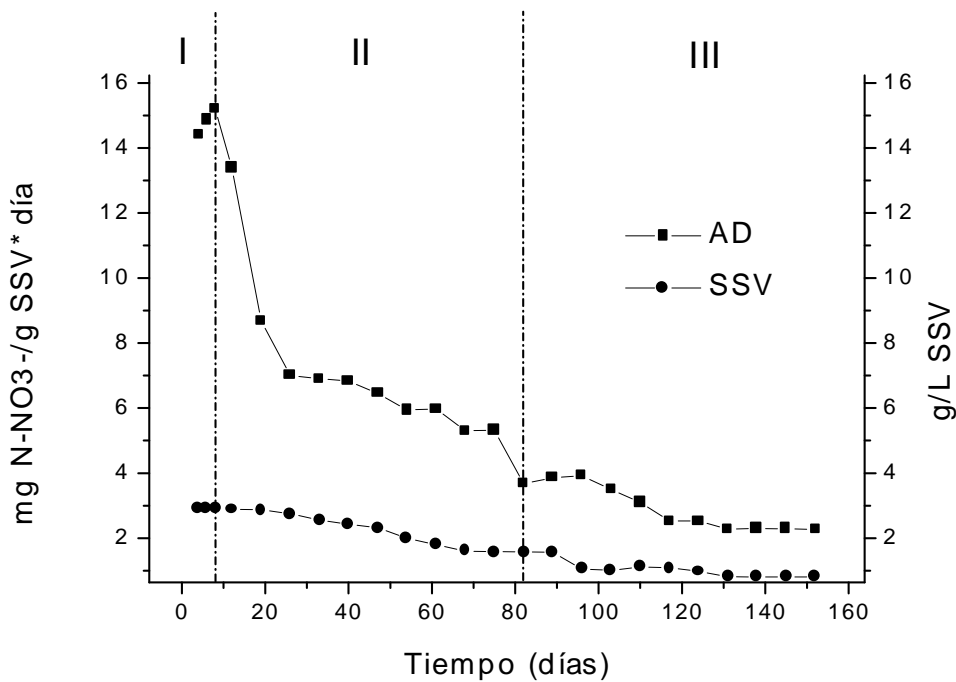
**TABLA 2:** Valores del IVL y VS del inóculo desnitrificante

Parámetros	Lodo anóxico
Sólidos suspendidos totales (SST).	3.9 g/L (100%)*
Sólidos suspendidos volátiles (SSV).	2.9 g/L (74.1%)*
Sólidos suspendidos fijos (SSF).	1.0 g/L (25.9%)*
Índice volumétrico de lodos (IVL).	283 ml/g*
Velocidad de sedimentación (VS).	5.0 m/h*

\*Los valores son el promedio de tres replicas.

El dispositivo experimental fue operado por 152 días; en la figura 2 se observa que al inicio del experimento (primera semana Fase I) hubo una relativamente alta Actividad Desnitrificante (AD), la cual se atribuye a la presencia del carbono exógeno (glucosa) con que fue adaptado previamente el lodo. Una vez que el sustrato remanente fue consumido por los

microorganismos, en el día 15 se adicionó metano, observándose una reducción de la AD. A partir de ese día, la AD obtenida puede atribuirse al consumo de carbono endógeno (lisis celular) lo que se refleja en la disminución de SST y SSV (3.9 g/L a 1 g/L y 2.9 g/L a 0.81 g/L respectivamente). A pesar de que termodinámicamente la desnitrificación con metano es posible ( $\Delta G = -849.3$  KJ/reacción), esta no se desarrolló adecuadamente pues la actividad desnitrificante obtenida fue de 2.3mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV\*d (6.7 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SSV\*h).



**Figura 2.** Actividad desnitrificante y comportamiento de los sólidos suspendidos volátiles con respecto al tiempo.

Estos resultados concuerdan con algunos de los trabajos realizados en el tema donde sugieren que es necesario previo a la adición de metano como fuente de carbono y energía asegurar el consumo de todo el carbono exógeno presente (Davies (1973), Werner & Kayser (1991), Houbroun *et.al.*, (1999), Rajapakse & Scutt (1999), Eisentraeger *et.al.*, (2001), Gavazza dos Santos *et.al.*, (2004), Khin & Annachatre (2004) y Waki *et.al.*, (2005).

Para verificar si el sustrato estaba disponible para las bacterias desnitrificantes se hicieron pruebas microbiológicas (NMP) variando la fuente de carbono: glucosa, etanol y metano empleando campanas de Duham para detectar la producción de gas (N<sub>2</sub>) en el medio.



Los resultados de las pruebas de número más probable resultaron positivos a todas las diluciones para los tubos a los que se suministró glucosa y etanol como fuente de carbono y negativas para todos los tubos a los que se les inyectó metano como fuente de carbono.

Con los resultados microbiológicos obtenidos puede asegurarse que el metano estaba poco disponible en el medio líquido para ser usado como fuente de carbono por las bacterias desnitrificantes presentes o que no se podía dar la reacción a esas condiciones. Para mejorar este problema se deben implementar mecanismos que favorezcan la solubilidad del metano en el medio líquido para aumentar su contacto con los microorganismos. En este trabajo, la concentración de  $\text{CH}_4$  disuelto fue de 52.5mg de  $\text{CH}_4$  para conservar la relación C/N = 1.5

La bibliografía reporta que las bacterias desnitrificantes son positivas a la prueba de Catalasa y a la tinción de Gram. Al realizar estas sencillas pruebas al inóculo el resultado fue positivo para ambas.

Los trabajos realizados hasta el momento concluyen que el metano puede ser usado como fuente de carbono para la desnitrificación biológica pero las condiciones de operación no han sido establecidas.

Algunos de los trabajos publicados concuerdan con los resultados obtenidos en este trabajo. Davies (1973), Rhe & Wolfgang (1978) y Quezada *et. al.*, (1993), concluyen que si es posible desnitrificar con metano aún cuando las tasas de remoción son bajas.

Las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$  usadas en los trabajos reportados van de 20 a 50 mg/L de  $\text{N-NO}_3^-$  lo que da pauta para implementar este tipo de sistemas de tratamiento en aguas con bajo contenido de nitratos. Así mismo la temperatura que manejan entre 25° y 30 °C lo cual esta reportado como ideal por Quezada *et. al.*, (1993) ya que a 30°C obtuvo la máxima actividad desnitrificante.

Werner & Kayser (1991), Thalasso *et. al.*, (1996), Houbbron *et. al.*, (1999), Rajapakse & Cutt (1999), Costa *et. al.*, (2000), Eisentraeger *et. al.*, (2001), Islas *et. al.*, (2004), Gavazza dos Santos *et. al.*, (2004), Khin & Annachhatre (2004), Waki *et. al.*, (2005) y Cuba & Foresti (2006) obtuvieron tasas de remoción de bajas a moderadas pero estudiaron la influencia del oxígeno el cual parece jugar un papel importante en el proceso de desnitrificación. En efecto, podría ser necesaria una etapa de oxidación previa del metano por medio de bacterias metanotróficas a metanol u otro metabolito de más fácil asimilación para las bacterias desnitrificantes).

Para establecer las bases que ayuden a resolver la controversia del mecanismo de acción del metano debe aclimatarse el lodo que va a servir como inóculo esto con la finalidad de eliminar cualquier traza de carbono remanente que influya en la actividad desnitrificante del sistema. El medio sintético también debe estar libre de cualquier fuente de carbono externa. Davies (1973), Quezada *et. al.*, (1993), Thalasso *et. al.*, (1996), Houbbron *et. al.*, (1999), Eisentraeger *et. al.*,

(2001), Islas *et. al.*, (2004) Khin & Annachatre (2004) y Waki *et. al.*, (2005) pretrataron el inóculo durante periodos de tres días a seis meses con metano.

En todos los trabajos se reporta deficiencia en el fenómeno de transferencia de masa (disponibilidad de metano) lo cual conlleva a un déficit de sustrato en el medio.

Las condiciones de operación del sistema así como los parámetros evaluados juegan un papel sumamente importante ya que estos permitirán establecer el mecanismo de acción del metano así como el rol de la concentración y presencia de oxígeno en el medio. En los trabajos presentados estas condiciones varían ampliamente.

El dispositivo experimental usado en esta investigación debió ser controlado de manera más estricta. El inóculo obtenido debió caracterizarse de manera microbiológica para establecer si los grupos desnitrificantes y metanotróficos estaban presentes en el mismo. El metano introducido al sistema solo fue cuantificado por la presión interna del reactor y en la fase gaseosa del sistema pero no en la fase líquida del mismo. Si bien el CH<sub>4</sub> fue adicionado de manera que estuviera disponible en la concentración requerida, esto no fue determinado de manera global para cerrar el balance del sistema.

### Conclusiones

El objetivo planteado en esta investigación se cumplió parcialmente ya que no se logró establecer premisas sólidas que ayuden a resolver la controversia si el metano puede o no ser usado como donador de electrones en el proceso de desnitrificación biológica. Los trabajos reportados difieren en sus resultados por lo que es necesario profundizar en este tema debido a que el metano, al ser el principal subproducto de la digestión anaerobia; es una opción atractiva de sustrato barato para llevar a cabo el proceso de desnitrificación.

### Referencias Bibliográficas

- APHA-AWWA-WPCF. (1989). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 16<sup>th</sup> edition. American Public Health Association. Washington D.C. E.U.A.
- Costa C.; Dijkema C.; Friedrich M.; García-Encina P; Fernández-Polanco F and Stams J.M. (2000) Denitrification with methane as electron donor in oxygen-limited bioreactors, *Appl Microbiol Biotechnol*, **53**, 754-762
- Cuba R M F y Foresti E (2006) Utilização do metano como doador de elétrons para remoção de nitrogênio via nitrificação e denitrificação em reator aerobio/anoxico operado em batelada seqüencial. *Anais do I Seminário do Projeto Temático: Desenvolvimento de sistemas combinados de tratamento se águas residuárias visando a remoção de*

- poluentes e a recuperação de energia e de productos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre.* Universidad de São Paulo, Brasil. 11 a 13 de diciembre 2006 . Págs:184-191
- Davies, T.R. (1973). Isolation of bacteria capable of utilizing methane as a hydrogen donor in the process of denitrification, *Water Research*, **7**, 575-579
- Diario Oficial de la Federación, (1997), *Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996*, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. 01 de junio de 2007. Págs: 5-6
- Eisentraeger A; Klag P; Vansbotter B; Heymann E and Dott W. (2001) Denitrification of groundwater with methane as sole hydrogen donor, *Water Research*, **35**(9), 2261-2267
- Gavazza dos Santos S, Amâncio Varesche M B, Zaiat M and Foresti E (2004) Comparison of methanol, ethanol and methane as electron donors for denitrification, *Environmental Engineering Science*, **21**(3), 313-320
- Houbron E; Torrijos M and Capdeville B (1999) An alternative use of biogas applied at the water denitrification, *Water Science and Technology*, **40**(8), 115-122
- Islas-Lima S; Thalasso F and Gómez-Hernández J (2004) Evidence of anoxic methane oxidation coupled to denitrification, *Water Research*, **38**, 13-16
- Khin T. and Annachhatre A.P. (2004) Nitrogen removal in a fluidized bioreactor by using mixed culture under oxygen-limited conditions, *Water Science and Technology*, **50**(6), 313-320
- Mason, I. (1977). Methane as carbon source in biological denitrification, *Journal WPCF*, **49**, 855-857
- Modin O, Fukushi K, Nakajima F y Yamamoto K (2008) Performance of membrane biofilm reactor for denitrification with methane, *Bioresource Technology*, **99**, 8054-8060
- Morgan-Sagastume, JM; Jiménez, B. and Noyola A. (1994) Anaerobic-Anoxic-Aerobic Process with Recycling and Separated Biomass for Organic Carbon and Nitrogen Removal from Wastewater, *Environmental Technology*, **15**, 233-243
- Quezada, C.M, Moreno, R.G., y Noyola, R.A, (1993) Desnitrificación: Prueba en lote con Metano como fuente de carbono y energía. *IX Congreso Nacional. I Congreso Internacional de AIDIS de Norteamérica y del Caribe.* México, D.F. Págs; 152-157
- Rajapakse J and Scutt J (1999) Denitrification with natural gas and various new grown media, *Water Research*, **33** (18), 3723-3734
- Rhee G. and Wolfgang, F.G. (1978) Wastewater denitrification with one-carbon compounds as energy source, *Journal WPCF*, **50**, 2111-2119
- Sollo F. W.Müller, H.F. and Larson, T.E. (1976) Denitrification of wastewater effluents with methane, *Journal WPCF*, **48**(7), 1840-1842
- Thalasso, A. F, Vallecillo, P. García-Encina and Fdz-Polanco (1995) The use methane as a sole carbon source for water denitrification, *Water Research*, **31**, 55-60
- Timmermans, P. and Van Haute, A (1983) Denitrification with methanol, *Water Research*, **17**(10), 1249-1255
- Waki, M., Suzuki, K.; Osada T. and Tanaka, Y. (2005) Methane-dependent denitrification by a semi-partitioned reactor supplied separately with methane and oxygen, *Bioresource Technology*, **96**, 921-927



Werner, M. and Kayser, R. (1991) Denitrification with biogas as external carbon source, *Water Science and Technology*, **23**(4-6), 701-708

Wisotzky, R. and Bardke, D. (1992) Denitrification of drinking water with methane as electron donor, *gwf-Wasser/Abwasser*, **133**(10), 550-556