

114
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO DE LOS PROTOZOARIOS CILIADOS PRESENTES EN UN SISTEMA DE
TRATAMIENTO POR MEDIO DE "BIODISCOS"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

PRESENTA

LUNA PABELLO VICTOR MANUEL

MEXICO, D.F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTUDIO DE LOS PROTOZOARIOS CILIADOS PRESENTES EN UN SISTEMA DE TRATAMIENTO POR MEDIO DE "BIODISCOS"

RESUMEN

Uno de los problemas más serios que enfrentan las industrias en México es el tratamiento de sus aguas residuales. En el caso de la industria alimentaria, las aguas de desecho son biodegradables ya que no contienen sustancias tóxicas. Los métodos tradicionales de tratamiento biológico involucran comunidades aerobias para la etapa secundaria de tratamiento. Con objeto de estudiar las comunidades que proliferan en efluentes (del latín *effluere*, fluir hacia afuera) con altas cantidades de sustancias orgánicas disueltas (demanda bioquímica de oxígeno de aproximadamente 1500 mg O₂/l) y su capacidad para degradar esas sustancias se emplearon parámetros saprobiológicos en los diferentes estadios de un sistema en cascada de tratamiento aerobio. El sistema usado es un reactor biológico rotatorio de cuatro cámaras, conocido como reactor de "biodiscos", que trata aguas residuales diluidas de un molino de nixtamal. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: A pesar de que, de acuerdo con la escala saprobia, estas aguas residuales se consideran dentro de los niveles hiper, meta e isosaprobios, el tipo de microorganismos encontrados corresponden a las escalas poli, alfa y betamesosaprobios. Esto indica que es posible tratar aguas de desecho con concentraciones mayores de las que actualmente se alimentan al reactor, con la ventaja de disminuir la relación de dilución que se emplea.

INDICE

1.	INTRODUCCION	1
1.1	GENERALIDADES SOBRE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	1
1.1.1	PROCESOS SECUNDARIOS O BIOLÓGICOS	2
1.1.2	APLICACION DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	4
1.2	REACTORES BIOLÓGICOS ROTATORIOS (RBR)	5
1.2.1	USO DE LA ESTRUCTURA Y FUNCION DE COMUNIDADES DE MICROORGANISMOS PARA EXAMINAR EL GRADO DE CONTAMINACION DEL AGUA	8
1.2.2	SISTEMA SAPROBIO	12
1.3	OBJETIVOS Y METAS	16
2.	MATERIALES Y METODOS	18
2.1	DISEÑO EXPERIMENTAL	18
2.2	EXPERIMENTACION PREVIA EN EL RBR-250	26
3.	RESULTADOS	28
3.1	CONDICIONES FISICOQUIMICAS DEL RBR-250	28
3.2	ANALISIS BIOLÓGICO	35
4.	DISCUSION	42
4.1	FACTORES FISICOQUIMICOS	42
4.2	ANALISIS BIOLÓGICO	45
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
5.1	CONCLUSIONES	58
5.2	RECOMENDACIONES	59
	BIBLIOGRAFIA	60
	APENDICE A	64
	APENDICE B	72

1. INTRODUCCION

La Ciudad de México se localiza en una cuenca cerrada a 2,240 m.s.n.m., sin salidas naturales, lejos de los ríos caudalosos, asentándose en suelos que se hunden a causa de la excesiva extracción del agua subterránea lo cual hace difícil y costoso el abastecimiento de agua potable y la eliminación de los líquidos residuales que genera.

De los 40 m³/S de agua potable captada de las diversas fuentes, aproximadamente 8 m³/S se pierden en fugas. El resto del suministro se distribuye para uso: doméstico 22 m³/S; en servicios 4 m³/S; con fines comerciales 1 m³/S e industriales 5 m³/S (D.G.C.O.H. 1982).

En el caso del sector industrial sólo es justificable la utilización de agua potable en un 10% de los casos, ya que su funcionamiento podría realizarse empleando aguas residuales tratadas (Pedroza, 1985).

La composición química de los efluentes residuales (del latín *fluere*, fluir; *efluere*, fluir hacia afuera) produce diversas alteraciones en el ambiente, desde su vertimiento en los drenajes, hasta su descarga en los cuerpos receptores tanto acuáticos como terrestres, en los cuales al alterar sus características fisicoquímicas y biológicas originales ocasiona en un tiempo relativamente corto la salinización de los suelos y el abatimiento del oxígeno disuelto en los cuerpos de agua entre otros disturbios, lo que trae como consecuencia la muerte de la flora y fauna original, además de la creación de focos de infección.

El problema que causan los efluentes residuales, así como el déficit en el suministro de agua potable, han conducido a que se desarrollen y profundicen estudios relacionados con el tratamiento de las aguas de desecho con dos objetivos fundamentales: Disminuir el efecto contaminante de las mismas y una vez tratadas reutilizarlas, así como reutilizar los subproductos obtenidos del tratamiento (Montesinos y Durán, 1986).

1.1 Generalidades sobre tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales es una combinación de procesos primarios, secundarios y terciarios, los cuales pueden ser aplicados independientemente aunque siempre de manera secuencial y acorde con la finalidad que se persiga, aumentando su costo de manera proporcional al grado de descontaminación que se desee alcanzar (Duncan, 1976).

Los procesos primarios consisten en eliminar el material de mayor tamaño, así como el más fácilmente sedimentable. Para lograrlo se usan métodos como la sedimentación, la flotación, la

filtración, etc. Este proceso aunque no efectúa ningún tipo de eliminación de material contaminante disuelto en el agua, si evita que posteriormente se interfiera en la degradación de ésta.

Los procesos secundarios o biológicos, involucran la intervención de diversos microorganismos, tales como: bacterias, algas, hongos y protozoarios entre otros, quienes se encargan de transformar porciones considerables, de material orgánico disuelto de fácil biodegradación a sólidos biológicos fácilmente sedimentables (Pedroza, 1985). Dentro de estos procesos se tienen las lagunas de estabilización, los filtros percoladores, los discos biológicos, etc.

Los procesos terciarios se basan en principios físicos y químicos y son aplicados cuando se desea obtener agua de mejor calidad que la lograda en los tratamientos secundarios convencionales. Los procesos terciarios permiten la remoción de material orgánico no biodegradable o de difícil biodegradación, la eliminación de los microorganismos presentes no sedimentables y la coloración del agua. Dichos procesos son, entre otros, la adsorción, el intercambio iónico y la coagulación (Pedroza, 1985).

Dada la importancia de los procesos biológicos, a continuación se dará una somera descripción y aplicación de éstos.

1.1.1 Procesos secundarios o biológicos

Los procesos biológicos en general pueden dividirse con base en el metabolismo de los microorganismos que en él intervienen en:

1) Anaerobios.

Se desarrollan microorganismos que no requieren oxígeno molecular libre en solución, ya que las necesidades para su subsistencia, las obtienen de compuestos inorgánicos aceptores de electrones como son los nitritos y nitratos. Mediante la digestión, filtros y lagunas anaerobias se consigue remover la materia orgánica soluble.

2) Aerobios.

Al igual que el anterior, remueve material orgánico soluble, pero por medio de microorganismos que se desarrollan en soluciones con suficiente oxígeno molecular libre (cuando menos 2 ppm). Procesos biológicos de estas características son los lodos activados convencionales, filtros percoladores, aireación extendida, lagunas de aireación, reactores de lecho empacado, digestión aerobia y reactores biológicos rotatorios (discos biológicos).

3) Mixtos o facultativos.

Consisten en una combinación de los dos procesos anteriores, en el cual intervienen organismos aerobios, anaerobios y de tipo facultativo. Como ejemplo de este proceso están las lagunas facultativas (Escárcega y Pulido, 1986).

Por otro lado, cada uno de estos procesos puede a su vez originar diferentes formas de crecimiento microbiano:

- Microorganismos en suspensión, en el cual presentan la mayor superficie de contacto posible.
- Película biológica activa fija, en la que el crecimiento se realiza mediante la adhesión a algún medio inerte que sirve de soporte, como son rocas, materiales plásticos, o cerámicos según sea el tipo de tratamiento. La película realiza la conversión de materia orgánica disuelta u otros constituyentes presentes en las aguas de desecho a gases y sólidos biológicos.
- Película biológica activa fija combinada con el crecimiento microbiano en suspensión. Durante el proceso de descontaminación se llevan a cabo fenómenos de difusión de sustancias químicas y gases de manera reciproca entre el líquido y la película o flóculos biológicos, los cuales no son activos en todo su espesor, sino únicamente en un intervalo que va de 21 μm hasta 150 μm , dependiendo de los sustratos o nutrientes limitantes (Famularo, 1978).

La eficiencia de descontaminación por parte de la película activa alcanza su máximo cuando existe una capa delgada completamente aerobia y la eficiencia de ésta puede decaer ligeramente al incrementarse su espesor, haciéndose las zonas profundas de la biocapa inactivas o anaerobias (Kornegay, 1975; en Escárcega y Pulido, 1986).

De estos tres tipos de crecimiento, el de película biológica activa, ha tenido mucho auge en los últimos diez años. Su uso se ha enfocado a los llamados "filtros percoladores" y a los reactores biológicos rotatorios. Estos últimos presentan varias ventajas con respecto a los otros sistemas, como son (Antonie, 1971; Friedman, 1979; Rushbrook, 1980; en Pedroza, 1985):

- 1) Se requieren periodos cortos de contacto, debido a la gran superficie expuesta.
- 2) Pueden operar en un amplio intervalo de gastos (m^3/seg).
- 3) No requiere recirculaciones.
- 4) Los costos de operación y mantenimiento son bajos debido a la sencillez de operación.

3) Mixtos o facultativos.

Consisten en una combinación de los dos procesos anteriores, en el cual intervienen organismos aerobios, anaerobios y de tipo facultativo. Como ejemplo de este proceso están las lagunas facultativas (Escárcega y Pulido, 1986).

Por otro lado, cada uno de estos procesos puede a su vez originar diferentes formas de crecimiento microbiano:

- Microorganismos en suspensión, en el cual presentan la mayor superficie de contacto posible.
- Pellicula biológica activa fija, en la que el crecimiento se realiza mediante la adhesión a algún medio inerte que sirve de soporte, como son rocas, materiales plásticos, o cerámicos según sea el tipo de tratamiento. La pellicula realiza la conversión de materia orgánica disuelta u otros constituyentes presentes en las aguas de desecho a gases y sólidos biológicos.
- Pellicula biológica activa fija combinada con el crecimiento microbiano en suspensión. Durante el proceso de descontaminación se llevan a cabo fenómenos de difusión de sustancias químicas y gases de manera reciproca entre el líquido y la pellicula o flóculos biológicos, los cuales no son activos en todo su espesor, sino únicamente en un intervalo que va de 21 μm hasta 150 μm , dependiendo de los sustratos o nutrientes limitantes (Famularo, 1978).

La eficiencia de descontaminación por parte de la pellicula activa alcanza su máximo cuando existe una capa delgada completamente aerobia y la eficiencia de ésta puede decaer ligeramente al incrementarse su espesor, haciéndose las zonas profundas de la biocapa inactivas o anaerobias (Kornegay, 1975; en Escárcega y Pulido, 1986).

De estos tres tipos de crecimiento, el de pellicula biológica activa, ha tenido mucho auge en los últimos diez años. Su uso se ha enfocado a los llamados "filtros percoladores" y a los reactores biológicos rotatorios. Estos últimos presentan varias ventajas con respecto a los otros sistemas, como son (Antonie, 1971; Friedman, 1979; Rushbrook, 1980; en Pedroza, 1985):

- 1) Se requieren periodos cortos de contacto, debido a la gran superficie expuesta.
- 2) Pueden operar en un amplio intervalo de gastos (m^3/seg).
- 3) No requiere recirculaciones.
- 4) Los costos de operación y mantenimiento son bajos debido a la sencillez de operación.

Sus desventajas son las siguientes:

- 1) Requiere periodos largos para alcanzar la estabilidad.
- 2) La inversión inicial de capital es muy alta.

1.1.2 Aplicación de los procesos biológicos en el tratamiento de aguas residuales

En México una de las principales industrias de alimentos es la de la nixtamalización* del maíz, cuyo proceso consiste en poner a cocer maíz seco en un recipiente con agua y cal, obteniéndose al final del proceso dos productos:

- 1) El nixtamal o maíz cocido, el cual después de ser lavado con agua es molido para la elaboración de masa y fabricación de tortillas, principalmente.
- 2) El nejayote*, que es el líquido residual del proceso y contiene altas concentraciones de materia orgánica disuelta y en suspensión, provenientes tanto del material biológico del alimento como del material inorgánico aportado al proceso (Durán, 1983; Pedroza y Durán, 1985).

De acuerdo con Pedroza y Durán (1985) las características fisicoquímicas por unidad de volumen (litro), del nejayote procedente de los molinos de nixtamal es: pH 11.5; alcalinidad 2700 mg CaCO₃; sólidos 1940 mg; nitrógeno Kjeldahl 291 mgN; fósforo total 178 mgP; conductividad 1500 µ mho/cm; demanda química de oxígeno (DQO) 21,280 mgO₂; demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO₅) 7875 mgO₂, observándose una relación DQO:N:P de 512:1:0.25 respectivamente, lo que indica que son efluentes de tipo carbonáceo.

La demanda química de oxígeno (DQO) es una medida de la cantidad de oxígeno equivalente a la porción de materia orgánica e inorgánica presente en una muestra susceptible de ser oxidada con un fuerte oxidante químico.

La demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO₅) es una prueba empírica para determinar la cantidad relativa de oxígeno requerido por determinados microorganismos para degradar la materia orgánica presente en las aguas contaminadas, estandarizada en un tiempo de cinco días a 20 °C.

Desde 1979 se han realizado pruebas para depurar las aguas residuales provenientes de la cocción del maíz (nejayote) a partir de sistemas biológicos de tratamiento a nivel laboratorio.

* Nota: Las palabras nixtamalización y nejayote, provienen del Náhuatl: *nexlli*, cenizas de cal; *tamalli*, masa de maíz cocido; *ayoh*, caldo o cosa aguada y *atl*, agua.

Entre los sistemas empleados se encuentran:

Lodos activados.- Está compuesto de un tanque donde se deposita el agua de desecho por tratar, la que es aireada mecánicamente por agitación. Después de un determinado tiempo, el líquido aireado pasa a un sedimentador secundario, donde se separa por gravedad el agua tratada como sobrenadante y los lodos de desecho por el fondo del sedimentador. Parte de estos lodos son recirculados nuevamente al tanque y el resto son eliminados.

Contacto anaerobio.- Consta de un recipiente herméticamente cerrado, el agua por tratar es depositada en su interior y mezclada mecánicamente. Este tipo de sistema tiene dos salidas, una superior para gases y otra inferior que comunica con el sedimentador secundario, donde se separan los lodos de desecho y el agua tratada.

Reactor anaerobio empacado o filtros anaerobios.- Son de forma generalmente cilíndrica, cerrados herméticamente, con tipos de empaque variable. Comúnmente el agua residual se introduce por la parte inferior del cilindro (película ascendente), aunque también pueden alimentarse las aguas residuales por la parte superior (película descendente). En el mismo reactor se realiza la separación del agua tratada y los gases producidos, así como los lodos generados, si resulta necesario.

Reactores biológicos rotatorios (RBR) o reactores de discos biológicos.- Este sistema está formado por una serie de cámaras intercomunicadas entre sí por la parte superior. Cada cámara contiene un conjunto de discos y aproximadamente el 40% de su superficie se encuentra sumergida en las aguas de desecho por tratar. El líquido tratado pasa a un sedimentador secundario en donde se separan por gravedad los lodos de desecho y el agua tratada.

De acuerdo con los resultados experimentales, el sistema aerobio de discos biológicos resultó ser el más eficiente para la remoción de materia orgánica presente, así como para generar lodos densos fácilmente sedimentables (Hartmann y Durán, 1981; Durán 1983; Cívot et al., 1984, Escárcega y Pulido, 1986; González, 1986).

En consecuencia, a continuación se señalan algunos aspectos de interés con referencia al sistema de reactores biológicos rotatorios.

1.2 Reactores biológicos rotatorios (RBR)

Moreno (1985) considera que la eficiencia de remoción de materia orgánica podría superarse si se comprendieran no sólo los principios físicos y mecánicos del funcionamiento, sino también la ecología de los diversos microorganismos que integran la comunidad, los cuales a su vez permitirían identificar los posibles factores que inhiben o aceleran el proceso de degradación biológica.

Al respecto se han realizado estudios del desarrollo global de la biopellicula en este sistema (RBR), el cual ha sido dividido en tres fases: Inducción, acumulación y estabilización (Trulear, 1982; en Pedroza, 1985).

Ease de inducción. - Comprende la adsorción de los compuestos orgánicos en la superficie de la pellicula microbiana a medida que los discos se están sumergiendo en el liquido por tratar. Se considera que la adsorción de los compuestos orgánicos en la superficie del soporte es un requisito previo para la fijación de la biomasa (Norouzián y Deloya, 1984). Es decir, los microorganismos colonizan las superficies sólidas cuando cantidades adecuadas de nutrientes orgánicos, sales minerales y oxígeno, están disponibles sobre dichas superficies (Hoehn y Ray, 1973; en Pedroza, 1985).

Ease de acumulación. - Durante ésta hay un crecimiento logarítmico de los microorganismos y continua hasta que el soporte está completamente cubierto (Norouzián y Deloya, 1984). Se observa un periodo de acumulación constante, el cual termina por efecto de esfuerzos de cizalla entre la biopellicula y la superficie del liquido. Este proceso previene la acumulación de mayor cantidad de microorganismos.

El "alimento" (substratos disueltos) y el oxígeno son suministrados a través de la pellicula por difusión (Hoehn y Ray, 1973; en Pedroza 1985).

Ease de estabilización o "Plateau" (meseta). - En esta fase la pellicula biológica desprendida y la producida se encuentran en equilibrio dinámico, manteniéndose así un espesor constante. El mantenimiento de la estructura de la biopellicula es el efecto combinado de la reproducción celular y la producción extracelular microbiana de polímeros de polisacáridos que mantienen la cohesión de la biomasa (Trulear y Charactelis, 1982; en Norouzián y Deloya, 1984).

La condición de estabilidad persiste hasta que los nutrientes difundidos a través de la biopellicula se terminan. En ese momento los organismos de las capas basales mueren. La integridad estructural de la base de la pellicula se pierde y ocurre un desprendimiento masivo (Hoehn y Ray, 1973; en Pedroza, 1985).

Considerando que en el sistema RBR, la degradación de la materia orgánica disuelta se realiza de manera secuencial por microorganismos con diferentes características (Durán y Hartmann, 1980; Durán y Pedroza, 1984; Montesinos y Durán, 1986), es válido suponer que los organismos que se encuentran en cada etapa del tratamiento, son reflejo de ciertas condiciones del medio (Saavedra, 1984; Norouzián y Deloya, 1984), y por tanto partiendo del hecho de que un organismo se desarrolla bajo ciertas condiciones o factores específicos, es factible inferir las características fisicoquímicas de un liquido mediante la

identificación de los microorganismos que en él viven.

En los cuerpos de agua que existen en la naturaleza se han estudiado estos sistemas de microorganismos con objeto de determinar o estimar la contaminación acuática provocada por diferentes fuentes. A esos sistemas de microorganismos se les conoce como sistemas saprobios (del griego *sapros*, podrido; sistemas que viven de la pudrición). Las condiciones bajo las cuales pueden usarse estos sistemas con algún grado de acierto son cuando los efluentes contaminados están dados por residuos biodegradables (como las aguas de albañal o domésticas) y cuando el cuerpo receptor (generalmente un río) fluye lentamente y sin turbulencias. Este sistema indica comúnmente el grado de contaminación por presencia de materia orgánica disuelta altamente biodegradable, ya que los microorganismos que conforman el sistema no pueden utilizarse para "detectar" metales pesados o cualquier otro tipo de substancias tóxicas. La ausencia de un microorganismo no siempre va a indicar lo desfavorable del ambiente, ya que es posible que no hayan tenido oportunidad de llegar a colonizar esta zona (Sladeczek, 1975, Saavedra, 1984).

De acuerdo con estos lineamientos, el sistema saprobio puede utilizarse cuando

1. Los efluentes se encuentran contaminados con materia orgánica soluble biodegradable
2. Existe un control de los factores fisicoquímicos, tales como temperatura, oxígeno disuelto, etc.

Para el caso del RBR, que es un sistema artificial de tratamiento, puede decirse que es susceptible de ser caracterizado mediante microorganismos debido a que cumple con los requisitos planteados en esos dos puntos. Esto no significa necesariamente que puedan analogarse los sistemas de tratamiento y, en particular, el RBR, con los fenómenos que ocurren en un sistema microbiológico presente en un cuerpo de agua natural, como un río, ya que generalmente las condiciones son distintas, pero sí pueden usarse los criterios del sistema saprobio para caracterizar el grado de contaminación de los efluentes que circulan por el RBR.

Los microorganismos que se desarrollan a lo largo de un sistema de tratamiento o de un cuerpo natural acuático pueden ser bacterias, algas, hongos y protozoarios, específicamente dentro de estos últimos los ciliados han sido los más ampliamente estudiados.

La microbiología característica de los reactores biológicos rotatorios ha sido poco estudiada. Sin embargo, se menciona que los microorganismos de los sistemas de película fija son semejantes a aquellos de lodos activados y que la diferencia, estriba en la sucesión de comunidades ecológicas que se generan en los sistemas de película fija, a diferencia de las poblaciones uniformemente mixtas de los lodos activados (Josephson, 1972, en

Moreno, 1985).

En los siguientes párrafos se hará una descripción somera de estos y su importancia en la clasificación saprobiológica.

1.2.1 Uso de la estructura y función de comunidades de microorganismos para examinar el grado de contaminación del agua

De acuerdo con la adaptabilidad a las condiciones ambientales, es posible dividir a los organismos en dos tipos: "euri" y "esteno" (del griego *eury*s, amplio y *sten*s, estrecho). Los primeros presentan un intervalo muy amplio de supervivencia y los segundos uno muy estrecho (Odum, 1971).

Los organismos esteno son comúnmente empleados en métodos biológicos para evaluar la calidad del agua. Esto se debe a que sólo se desarrollan en medios con características fisicoquímicas particulares, lo cual permite utilizarlos para estimar los efectos integrados de diversos parámetros ambientales indicadores.

Los cambios en la diversidad de especies son confiables y generalmente utilizados para tasar los efectos biológicos de la contaminación. En esencia, la diversidad de especies es una manera de caracterizar la estructura de la comunidad. El modelo de respuesta de una comunidad ante diferentes formas de tensión extrema por contaminación se ve expresada en la reducción del número de especies presentes, a unado a una amplia desproporción en la densidad de la población, por lo menos en las primeras etapas de tensión. Esto es, en una comunidad "normal" (no afectada por tensión contaminante) la diferencia en el número de individuos por especie es muy poca si se compara con una comunidad afectada por la contaminación. Cuando la tensión contaminante aumenta, un cierto número de especies del sistema acuático desaparece o declina en el tamaño de la población, concurrente con un incremento en abundancia del número de individuos de pocas especies. De este modo, el intervalo de individuos por especie se amplía. Este rasgo de cambio en la estructura de la comunidad ha sido demostrada en cultivos de comunidades algales en laboratorio (Bozniak, 1969).

Si las fuertes tensiones son estables, usualmente más especies resultan afectadas pudiendo desaparecer o declinar en densidad. Un medio puede no tener especies de algas o protozoarios, pero esta etapa extrema podría ser poco común para la mayoría de las situaciones de contaminación inorgánica, orgánica y térmica, debido a la gran variedad de nichos ocupados por protozoarios y algas. Por ejemplo, el alga verde *Prasiola crisp*a prospera en guano de pájaro, donde los niveles de amonio, fosfato y otros compuestos son tóxicos para la mayoría de las algas. También existen tanto algas como protozoarios que pueden encontrarse presentes en aguas termales donde la temperatura puede ser tan alta como la producida por el vapor generado en plantas de generación eléctrica.

Sin embargo, se obtienen condiciones casi estériles cuando se tiene la presencia de toxicidad química como en corrientes de efluentes ricos en ácidos o álcalis, con metales pesados, con compuestos organoclorados, etc. La razón de mencionar el "casi" es que aún en ellas puede observarse la presencia de alguna especie particularmente adaptada a las nuevas condiciones. Dado que estas condiciones pueden ser toleradas por muy pocas especies, el modelo básico de respuesta puede mantenerse. De este modo, la comunidad frecuentemente sigue el mismo tipo de respuesta que la población. Esto es, una población muestra poca o nula respuesta a bajas concentraciones de tóxicos o a la suma de las tensiones por contaminación, luego exhibe un grado inhibitorio de respuesta a un intervalo de concentraciones y, finalmente, alcanza el punto de inhibición máxima.

Una forma de ver los cambios en la estructura y función de la comunidad es visualizar a la comunidad como un sistema de información para un ambiente. De aquí podría darse una definición de contaminación: algún cambio en el ambiente por el cual las especies o comunidades tienen información inadecuada y son, por tanto, incapaces de dar una respuesta apropiada. Esta definición podría incluir la introducción de sustancias que no tienen contraparte en la naturaleza (como los compuestos organoclorados) o un cambio físico o biológico no previamente experimentado en el "habitat", tal como cambios de temperatura. La respuesta inadecuada de los cambios ambientales podría resultar de la falta de exposición previa, ocurrencia de tiempo o concentraciones inapropiadas o de exposición a una nueva combinación de condiciones.

Las comunidades siguen la misma forma general dosis-respuesta si se substituyen especies por individuos, en la secuencia anterior (Cairns, 1972).

En los procesos biológicos de depuración aerobia de las aguas residuales, los protozoarios desempeñan un papel importante entre la remoción de la materia orgánica sólida y en la clarificación de los efluentes (Sleigh, 1979; Curds et al., 1968).

En especial, se ha estudiado más el papel de los protozoarios ciliados, siendo su actividad descontaminadora consecuencia de su consumo de bacterias y se atribuye también su probable intervención en el proceso de floculación (formación de grumos bacterianos). El papel principal corre a cargo de algunas especies de peritricos e hipotricos, con abundancia variable (Fernández-Galiano, 1985).

Los peritricos son ciliados, en su mayoría sesiles. Pueden ser solitarios o coloniales, se encuentran adheridos a diferentes objetos y poseen cilios en el peristoma (periferia de la boca), el cual está unido a un tallo o pedicelo.

Los hipotricos son ciliados libres nadadores y tienen una

distribución ciliar no homogénea. Como característica distintiva poseen cirros o grupos de cilios especializados que actúan como soporte durante su lenta marcha.

Por otro lado, los holotricos, también ciliados libres nadadores pero con cilios de igual tamaño y distribuidos uniformemente sobre el cuerpo, han sido propuestos y utilizados junto con los hipotricos y peritricos como organismos indicadores de saporiedad o contaminación, tanto para cuerpos de agua natural (ríos, lagos) como para sistemas de tratamiento como filtros percoladores, lodos activados y, más recientemente, discos biológicos rotatorios (Curds *et al.*, 1970; Bick, 1967; Sladeczek, 1975; López-Ochoterena, 1965; Moreno, 1985).

Cairns *et al.* (1972) proponen a su vez utilizar la diversidad de especies y estructura de la comunidad microbiana como una prueba del grado de contaminación presente en un cuerpo de agua.

Antes de elaborar más la idea de cambios en la estructura y función de la comunidad microbiana en registros de contaminación, se enfatizarán las relaciones entre su aprovechamiento y el concepto de ecosistema.

La utilización de unidades de ecosistemas trasciende los límites taxonómicos. El traslape entre algas y protozoarios claramente demuestra este reciente punto de vista.

Una de las desventajas de compartimentalizar el estudio biológico en base a grupos taxonómicos particulares ha llegado a ser especialmente obvia como un resultado de la contaminación ambiental. Los microorganismos transportados por el aire viajan grandes distancias y, frecuentemente, hay nuevas introducciones tanto por desagües como atravesando océanos.

Los microbiólogos, incluyendo ficólogos y protozoólogos, tienen un conocimiento amplio de la sucesión de los organismos. Frecuentemente, una meticulosa identificación de especies en el campo o laboratorio sobre colecciones diarias proveen poca información para ordenar el rápido cambio en contenido de especies. Existen pocos informes sobre las tasas de procesos y otros aspectos cuantitativos de cambios sucesionales en sistemas acuáticos naturales y sobre la estructura de comunidades microbianas de laboratorio. Por supuesto, no se subestima la investigación disponible desempeñada en esta área, pero hay que enfatizar la necesidad de mayor información acerca de los procesos naturales. Obviamente, deben mejorarse los conocimientos de las características sucesionales de algas, protozoarios y otras comunidades microbianas para distinguir entre cambios "naturales" y por la contaminación.

En la Fig. 1 se demuestra claramente, tanto la reducción en especies como en incremento en el número de individuos por especie en la comunidad como respuesta a la tensión por contaminación (riachuelo Ridley, Condado Chester, Pennsylvania,

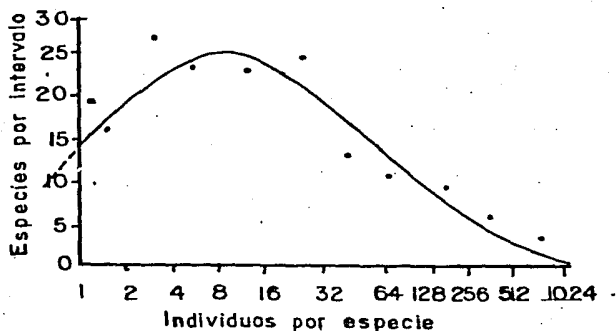


Fig.1 Número de individuos por especie vs. especies por intervalo. (Tomado de Patrick et al. 1954, En Cairns, 1972).

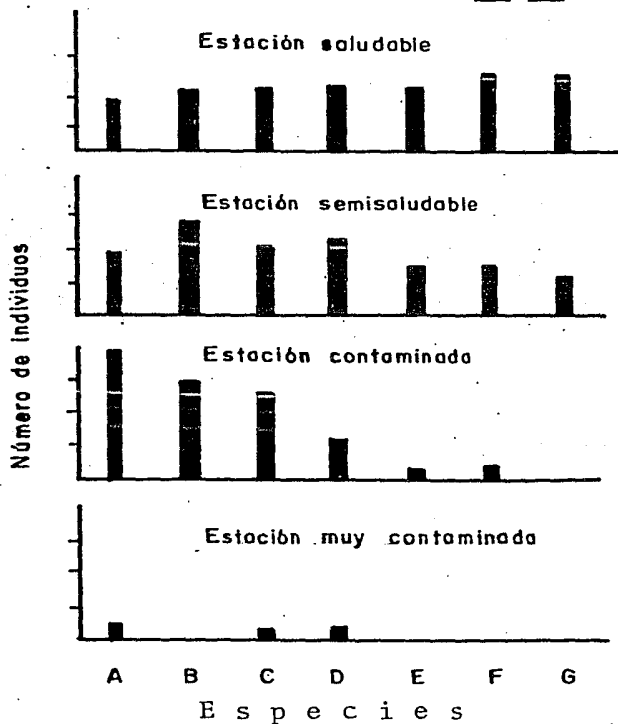


Fig.2 Especie vs. número de individuos. (Tomado de Patrick et al. 1954, En Cairns, 1972).

A- Algas ; B- Gusanos ; C- Protozoarios ; D- Algas ;
E- Rotíferos ; F- Crustáceos ; G- Peces.

EUA; Patrick, 1949).

En la Fig. 2 pueden observarse diferentes grados de contaminación, desde uno que es "saludable" hasta uno altamente contaminado, donde todas las especies han desaparecido virtualmente.

La calidad del agua no es un término científico sino técnico. El agua se clasifica desde el punto de vista del uso que el hombre le da: Agua potable, agua para recreación, agua para servicio industrial (enfriamiento, calderas, etc.) y sus consecuentes descargas: albañal, residuales industriales, aguas tóxicas, radiactivas, etc.

Un factor importante de la calidad del agua es la saprobiedad. Esto significa que la materia orgánica de desecho presente sea capaz de descomponerse completamente de manera bioquímica por organismos degradadores (bacterias y hongos). Los organismos saprobios muestran una relación con los procesos de descomposición y ellos forman parte del mismo, lo toleran o lo evitan, de aquí que puedan ser utilizados para clasificar la contaminación por materia orgánica

1.2.2 Sistema saprobio

El sistema saprobio (Fig. 3) se desarrolla a partir de la siguiente observación: Después de que un cuerpo de agua recibe una carga de contaminación orgánica ocurren procesos de purificación o depuración. La autopurificación resulta en una sucesión de zonas corriente abajo, donde cada zona sucesora muestra condiciones de contaminación menos severas, a medida que se encuentre más alejada de la descarga.

El sistema saprobio puede dividirse en cuatro partes:

1. Catarobiedad (Del griego *kataros*, puro).

Son las aguas más limpias o potables, aptas para beber. En ellas no se encuentra vida.

2. Limnosaprobiedad (Del griego *Limne*, pantano).

Aguas superficiales y/o subterráneas aerobias, pueden ser limpias, moderada o altamente contaminadas. Está caracterizado por la presencia de los tres grupos fisiológicos de organismos: Productores, consumidores y degradadores. Es el nivel más utilizado en la caracterización biológica de las aguas y comprende cinco subdivisiones o niveles:

(a) Xenosaprobio (x) (Zelinka, 1960)

Agua de buena calidad para cualquier tipo de usos (no se encuentra contaminada)

(b) Oligosaprobio (o) (Kolkwitz y Marsson, 1902)

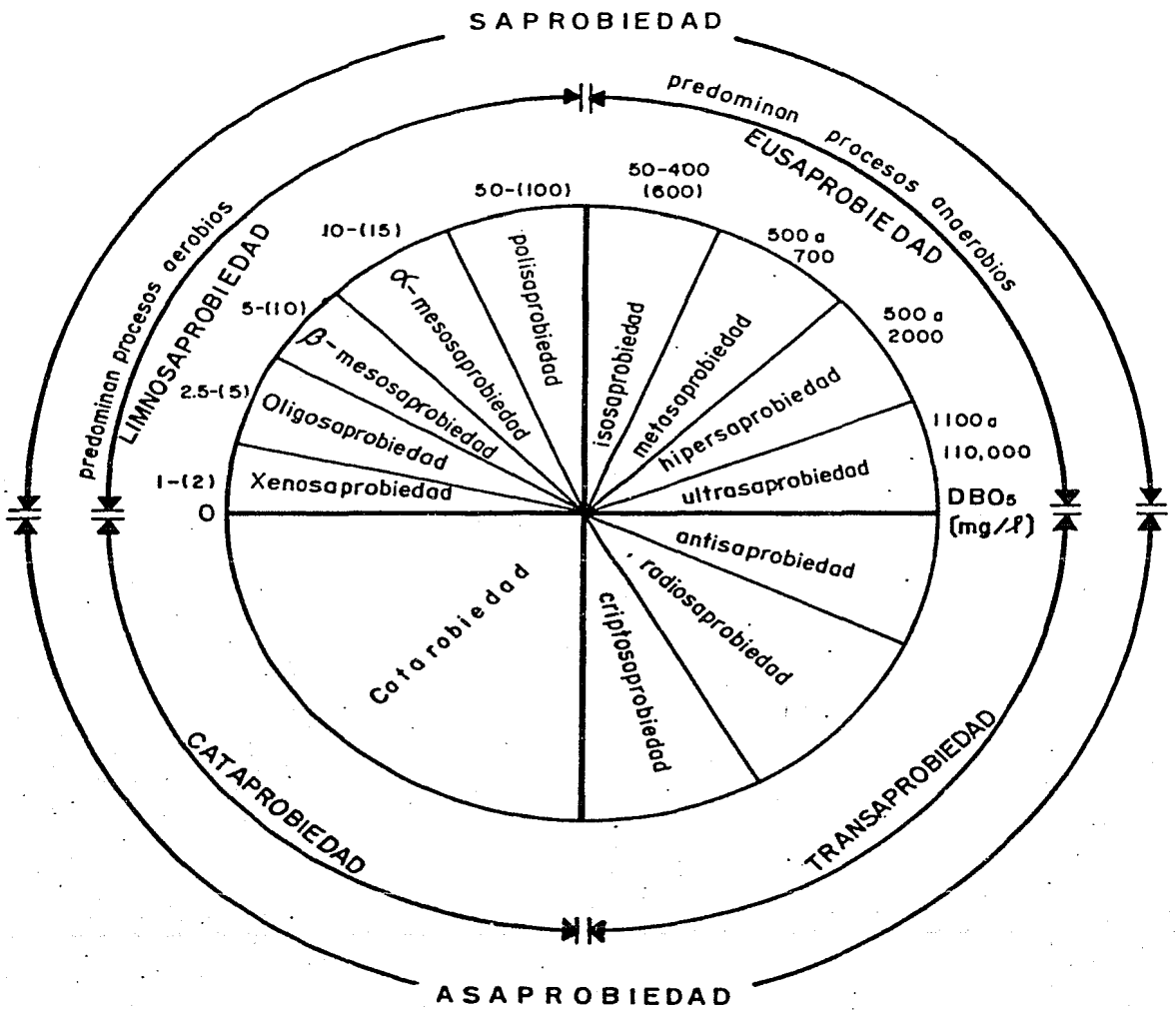


Fig. 3 Esquema del Sistema Saprobio (Sládeček, 1973).

Agua poco contaminada, oxígeno disuelto normal, mineralización completa, materia orgánica degradada completamente, agua clara, presencia de algas, insectos y larvas

- (c) Beta-mesosaprobio (b) (Kolkwitz y Marsson, 1908)
Agua moderadamente contaminada, oxidación y mineralización de compuestos orgánicos complejos significativa, presencia de algas y pocas plantas con raíz
- (d) Alfa-mesosaprobio (a) (Kolkwitz y Marsson, 1908)
Agua altamente contaminada, área en descomposición activa con compuestos de menor peso molecular (respecto al polisaprobio), poco oxígeno disuelto, los procesos oxidativos comienzan a transformar compuestos que contienen sulfuros.
- (e) Polisaprobio (p) (Kolkwitz y Marsson, 1902)
Agua más contaminada con materia orgánica que el anterior, contenido mínimo de oxígeno disuelto, prevalecen compuestos orgánicos de alto peso molecular como proteínas y carbohidratos.

3. Eusaprobiedad (Del griego eu, verdadero).

Son aguas residuales con material diluido y/o concentrado, bajo descomposición por medio de procesos anaerobios. Los niveles en que se subdivide son los siguientes:

- (a) Isosaprobio (i) (Sladeczek, 1961)
La descomposición de la materia orgánica del agua residual la llevan a cabo ciliados (comunidad: Colpidietum colpodae). Los principales indicadores son Paramecium putrinum, Colpidium colpoda, Colpidium campylum, Glaucoma scintillans, Tetrahymena pyriformis, Dexiotrichides centralis, Vorticella microstoma, Polytoma uvella, Zooglea.
Máximo número de ciliados: 50 000 individuos/ml
Flagelados y bacterias: muy abundantes
Medio con muy poco oxígeno disuelto (microaerobio)
" " " H₂S
DBO₅: 40-400 pero puede llegar hasta 600 mg/l

Es necesario un tratamiento de las aguas por un método biológico oxidativo. Biofiltros, lodos activados, lagunas de oxidación. El tratamiento es posible con o sin tratamiento primario.

- (b) Metasaprobio (m) (Sladeczek, 1959)
Equilibrio de flagelados. Principales indicadores: Cercobodo longicauda, Bodo putrinus, Oicomonas mutabilis, Trepomonas compressa, Tetramitus pyriformis, Hexamitus spp., Spirillum, Lamprocystis, Peloploca.
Flagelados: aproximadamente 300,000 individuos/ml
Condiciones anaerobias, fuerte formación de H₂S
DBO₅: entre 200 y 700 mg/l

Antes de la aplicación de métodos biológicos, el H₂S debe ser eliminado por aereación. Índice de coliformes: Aproximadamente 10,000,000,000/l. Gran peligro de enfermedades infecciosas, licor séptico, probable presencia de componentes tóxicos para el hombre.

- (c) Hipersaprobiedad (h) (Sladeczek, 1973)
Proceso de descomposición de las aguas residuales por bacterias y hongos, que sirven también como indicadores.
Bacterias psicofílicas: 50,000,000/ml
Anaerobios, trazas de H₂S
DBO₅: de 500-1500, aún 2000 mg/l

En la mayoría de los casos el tratamiento biológico no es posible. Es necesario un pretratamiento químico o llevar a cabo una dilución o bien llevar a cabo procesos anaerobios.
Índice de coliformes: Aproximadamente 1,000/ml
Alto peligro de enfermedades infecciosas, en algunos casos envenenamientos por ptomainas.

- (d) Ultrasaprobiedad (u) (Sladeczek, 1973);
Nivel abiótico en aguas industriales, principalmente antes de los procesos de degradación.
Sin organismos indicadores, aunque pueden encontrarse quistes y esporas, pocos gérmenes por mililitros.
DBO₅: de 1000-120,000 mg/l

Únicamente son aplicables los procesos anaerobios. Los métodos de oxidación biológica son aplicables con dificultad y únicamente después de un tratamiento químico y previa dilución.

Índice de coliformes: Cero.

4. Transaprobiedad (del Griego trans. más allá).

Son aguas con características especiales e independientes de la saprobiedad, como toxicidad, radiactividad y factores físicos que impiden prácticamente la proliferación de cualquier ser vivo.

Las pruebas aplicables para conocer el grado de contaminación debido a la presencia de materia orgánica disuelta, de acuerdo con el nivel de saprobiedad correspondiente son:

- Demanda Química de Oxígeno (DQO) para cataprobiedad y transaprobiedad.
- Demanda Bioquímica de Oxígeno en cinco días (DBO₅), para limnosaprobiedad y eusaprobiedad.

Con objeto de estudiar las diversas comunidades que proliferan en las diferentes etapas de un sistema biológico rotatorio es necesario mantener constantes, dentro de lo posible, las condiciones de operación de este sistema.

Para ello se ha planteado como finalidad el alcanzar las condiciones de régimen permanente debido a que durante ellas se podría suponer que las variables de operación no cambian con respecto al tiempo. Asimismo, se podrían efectuar de manera simultánea el registro de las características fisicoquímicas del agua por tratar (pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto) y realizar los análisis químicos (DQO) y biológicos (DBO5), así como las observaciones al microscopio de los ciliados presentes. Esto en su conjunto permitirá dar una interpretación más adecuada a los fenómenos que ocurren en el sistema de tratamiento, haciendo factible además la posibilidad de establecer una correlación entre ambos registros (fisisicoquímicos y microbiológicos).

Un análisis biológico a partir de equipo relativamente sencillo y barato, puede proporcionar información valiosa, como la resolución espacio-temporal en un cuerpo de agua (Wiederholm, 1980 en Saavedra, 1982). Aunado a esto, podría constituir un complemento de los estudios comúnmente aplicados a las aguas residuales durante su tratamiento, pues ayudaría a detectar, describir y sugerir una solución a un determinado problema y, en algunos casos y bajo ciertas circunstancias, permitiría el ahorro de tiempo y dinero, al reducir los análisis de laboratorio (Norouzian y Deloya, 1984).

De acuerdo a lo anterior, resulta adecuado evaluar la eficiencia del sistema de tratamiento biológico por discos biológicos mediante el conocimiento de las comunidades establecidas en las condiciones de régimen permanente fijadas, para lo cual el presente trabajo tendría los objetivos y metas que a continuación se detallan, en el marco del proyecto global de tratamiento de aguas residuales en sistemas biológicos de discos rotatorios.

1.3 Objetivos y metas

Dentro de los objetivos de esta fase experimental se encuentran los siguientes:

*Identificar los protozoarios ciliados presentes en cada etapa del sistema de tratamiento RBR y establecer su correlación con los parámetros fisicoquímicos registrados, con la finalidad de evaluar el sistema.

*Describir la ecología del proceso de tratamiento, siguiendo la metodología descrita en la literatura.

Para alcanzar estos objetivos se establecieron las siguientes metas:

*Evaluar la eficiencia de remoción de materia orgánica lograda por el sistema de tratamiento biológico con reactores biológicos rotatorios, a través de la identificación de los

protozoarios ciliados y la correlación de su diversidad con los parámetros fisicoquímicos.

*Utilizar el sistema propuesto por Cairns (1972), sobre la diversidad de especies y la estructura de la comunidad microbiana como una prueba del grado de contaminación presente en un sistema de tratamiento de aguas de tipo rotatorio (reactor de "biodiscos").

En los siguientes capítulos se presentan, tanto la metodología de trabajo experimental empleada, como los resultados alcanzados, su discusión y las conclusiones y recomendaciones propuestas.

2. MATERIALES Y METODOS.

2.1 Diseño Experimental

- Equipo.

El diseño de la presente investigación fue desarrollado en un RBR o sistema de tratamiento por discos biológicos. Este sistema posee capacidad para tratar un total de 243 litros de aguas residuales (nejayote) en un tiempo aproximado de 67 horas. Consta de cuatro cámaras de acero inoxidable, intercomunicadas entre sí en la parte superior; un tanque de alimentación de 110 litros, y por último un sedimentador secundario de acrílico de 15 litros, como se muestra en la Figura 4.

Cada cámara contiene un tren de discos con veinticuatro unidades ensambladas en una flecha central, la cual se apoya en los extremos de la cámara. Esto permite el giro del conjunto de los discos y la flecha, con ayuda de un motor pequeño tipo Groschopp 4060, Viersem de 220 Volts (Figura 5).

Los discos son de 50 cm de diámetro y de 0.4 cm de grosor. Están hechos de cloruro de polivinilo y aproximadamente el 40% del área se encuentra sumergida en el agua a tratar.

El nejayote contenido en el tanque de alimentación está diluido convenientemente a una carga orgánica permanente de 5000 mg O₂/l (medidos como DQO). Pasa a la primera cámara (Cámara 1) por medio de una bomba peristáltica, la cual además dosifica de manera constante el volumen que entra. Las siguientes tres cámaras, conectadas en serie, se van llenando con el agua tratada de la cámara anterior, siendo finalmente colectada en el sedimentador secundario, en donde el efluente tratado es separado. La biomasa sedimentada se colecta en el fondo del sedimentador y el líquido sobrenadante tratado sale por la parte superior.

-Establecimiento del régimen permanente.

Para iniciar el funcionamiento del sistema de tratamiento y formar la película biológica activa, se proporcionó a cada cámara todos aireados obtenidos de otro reactor y líquidos residuales por tratar en forma intermitente, propiciando así un desarrollo más rápido, de la película biológica activa. Se evitó el flujo continuo (incorporación de más líquido) al sistema durante una semana, facilitando así el desarrollo de la fase de inducción.

Durante la segunda fase o fase de acumulación, se mantuvo al sistema en condiciones de operación constante: carga orgánica de 5000 mg O₂/l (medida como DQO); velocidad de rotación, 22 rpm y flujo de aguas residuales, 3 l/h. Se registró rutinariamente conductividad con un conductímetro Presto-Tek, modelo DP-05; temperatura y pH del licor mediante un multímetro Poly-Pran, modelo PA-22, de acuerdo con el manual de operación.

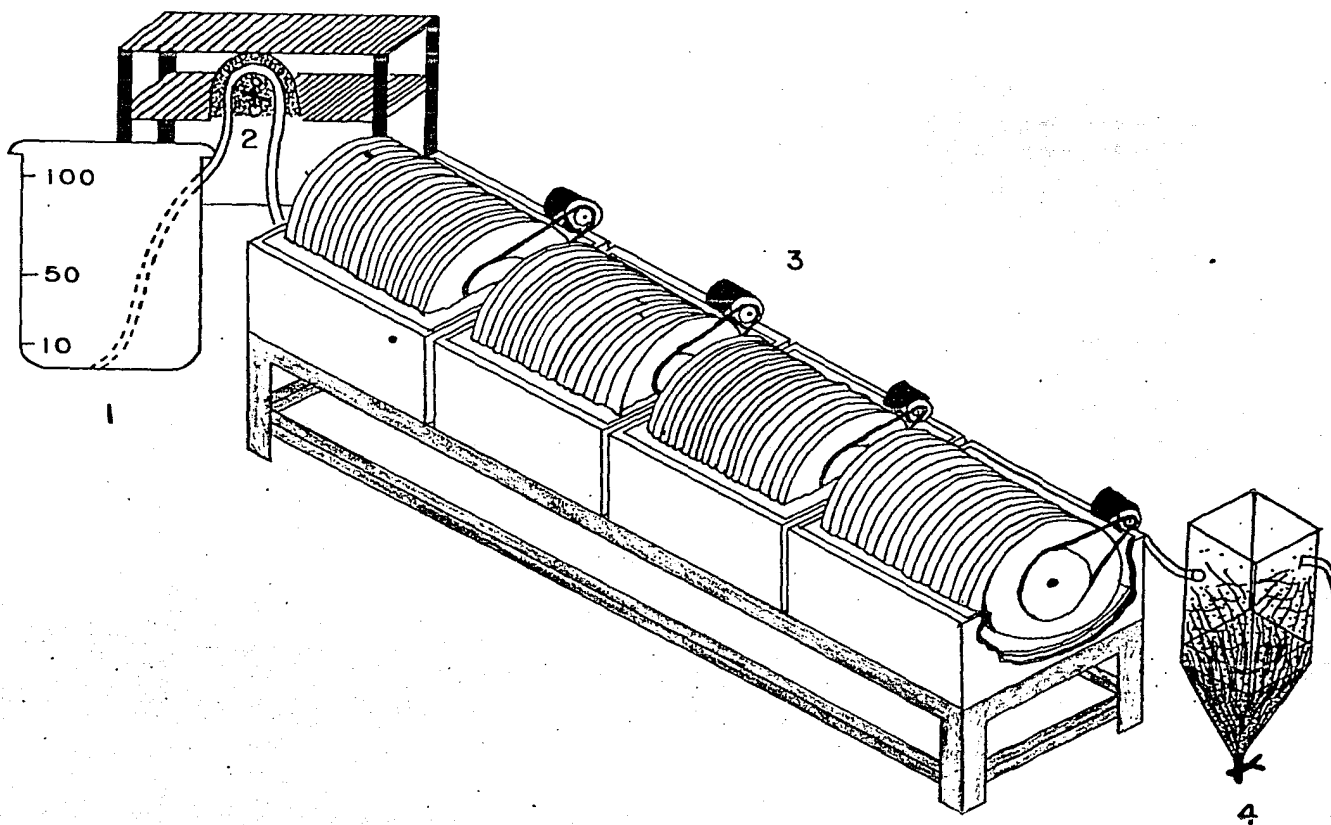


Fig.4: Reactor biológico rotatorio (RBR)

- 1- Tanque de alimentación
- 2- Bomba peristáltica (dosificadora)
- 3- Cámaras o compartimientos del RBR
- 4- Sedimentador secundario

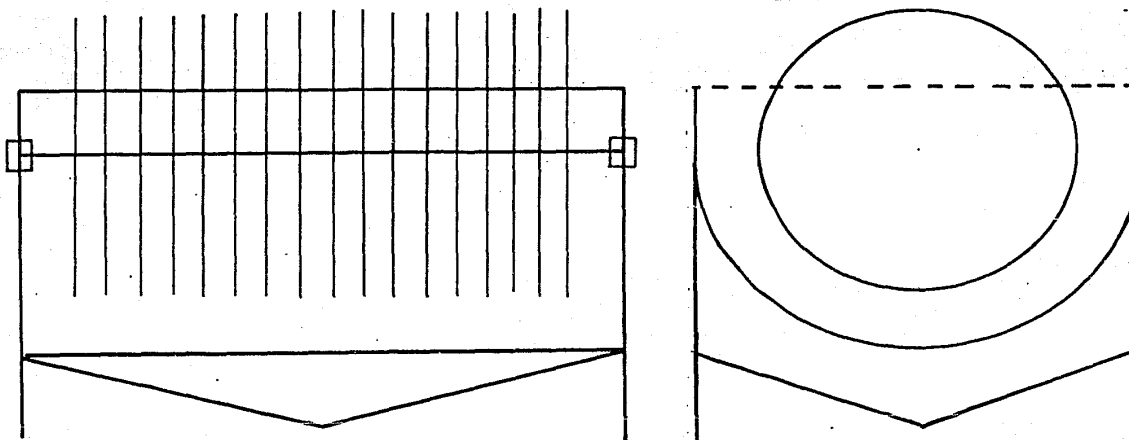


Fig. 5 . Vista lateral y frontal de una cámara del RBR250

Para estimar la fase de estabilización o de régimen permanente se procedió de la siguiente forma:

- (a) Considerar de manera subjetiva, que la película biológica adherida a los discos se encuentre distribuida homogéneamente y con grosor o espesor constante y que, además, presente resistencia al desprendimiento por contacto.
- (b) Realizar un análisis preliminar de demanda química de oxígeno (DQO), ya que su aplicación sistemática y consuetudinaria permite conocer el porcentaje de remoción de materia orgánica disuelta después de que las aguas residuales han permanecido dentro del sistema de tratamiento.
- (c) Mantener constante la carga orgánica suministrada al sistema. Para verificar que esta variable permanezca constante, se toman muestras del licor mezclado (líquido por tratar) proveniente de cada una de las etapas que compongan el sistema, se determina la carga orgánica soluble que presentan, registrando los datos obtenidos. Después de cuatro o cinco días, se repite el análisis y si los resultados son semejantes (menos de $\pm 10\%$ de variación), se puede pensar que el sistema ha alcanzado la estabilidad esperada.

Durante esta fase realizaron dos tipos de registros: fisicoquímicos y biológicos.

Registros fisicoquímicos.- Se continuaron los registros *in situ* de conductividad, temperatura y pH. Se incorporó el de oxígeno disuelto (con el mismo multímetro), con una frecuencia de cinco veces por semana.

Los análisis de demanda química de oxígeno se realizaron con una frecuencia de dos a tres veces por semana, previa toma y centrifugación de muestra, de acuerdo con el método aprobado por la APHA (1980). La técnica se describe en el Apéndice A.

Registros biológicos.- Se efectuaron pruebas de demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), mediante el aparato Voith-Sapromat, de acuerdo con las instrucciones del fabricante, una vez a la semana.

Para realizar la determinación de los protozoarios ciliados presentes en cada etapa del sistema, se procedió de la siguiente manera:

-Análisis microbiológico de muestra.

Con ayuda de un microscopio American Optical Twenty-One con cámara acoplada a su parte superior, se llevaron a cabo observaciones preliminares de la película biológica adherida al disco y de la biomasa en suspensión presente en el licor mezclado de cada cámara. Se compararon ambos bioecosistemas de manera cualitativa para evaluar posibles diferencias en cuanto a

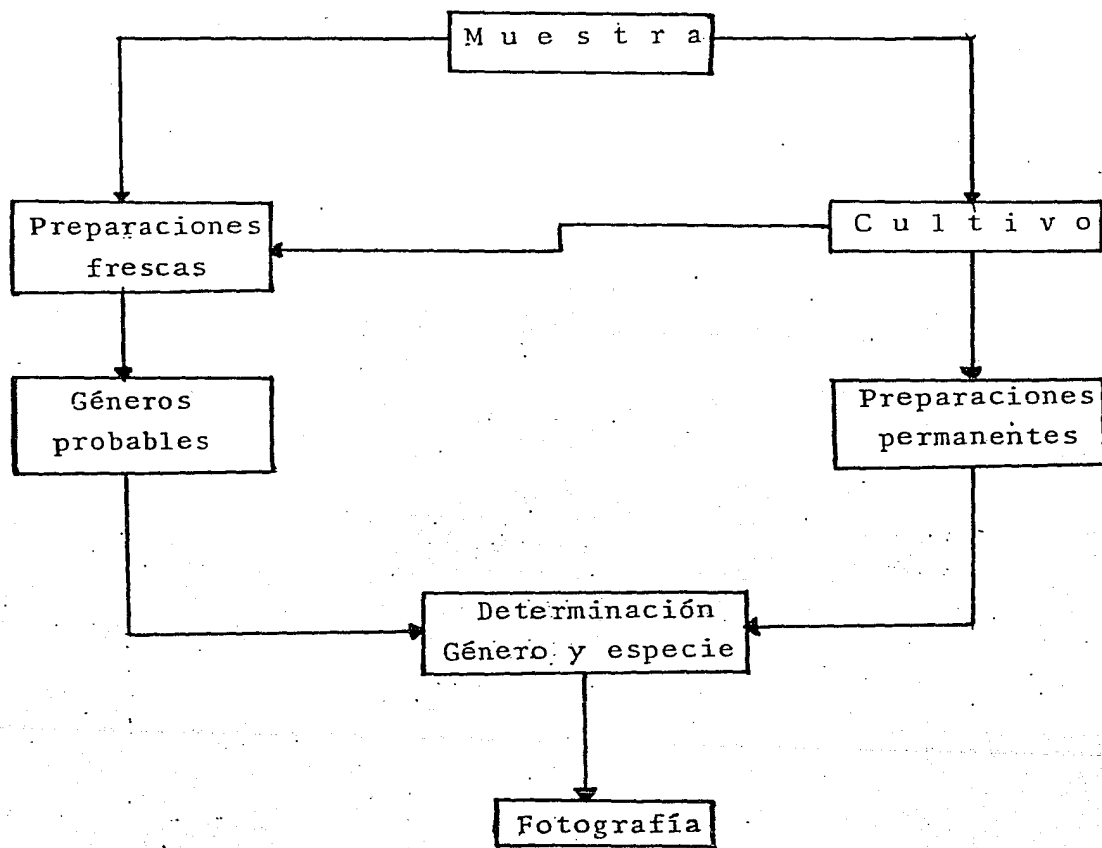


Fig. 6 Diagrama de flujo para análisis biológico de la muestra.

protozoarios ciliados se refiere.

Las observaciones preliminares consistieron en tomar muestras de aproximadamente 10 ml en frascos de vidrio (con una capacidad de 15 ml) para cada cámara que compone al sistema.

Dado que el sistema tiene en conjunto 96 discos, el análisis de una muestra por disco requeriría el empleo de un enorme esfuerzo de infraestructura y tiempo, lo cual resulta inconveniente y agotador. Debido a esto se optó por muestrear únicamente los discos inicial, intermedio y final de cada cámara, además de una muestra de licor mezclado. Con este número y distribución de muestras se consideró que la población de ciliados estaba suficientemente representada. Cada muestra se observó inmediatamente al microscopio registrándose los probables géneros de ciliados presentes, tanto adheridos como nadadores libres.

Posteriormente se compararon de manera cualitativa, tanto la diversidad encontrada entre la película adherida al disco inicial, intermedio y final como la diversidad de éstas con la presente en el licor mezclado. En ambos casos (discos entre sí y de éstos con el licor mezclado) no se observó diferencia en la diversidad. Esto último indicaba que las poblaciones de ciliados estaban uniformemente distribuidas a lo largo de cada cámara.

Lo anterior redundó en un análisis más rápido de los protozoarios presentes en cada cámara ya que redujo el número de muestras de 16 (4 por cámara) a 4 (una por cámara).

Con base en lo anterior, se estimó que era suficiente tomar una muestra por cámara del licor mezclado (líquido en suspensión) en un frasco previamente marcado, con volumen aproximado de 10 ml. Inmediatamente después se procedió a su análisis biológico (Figura 6).

Para determinar las especies de protozoarios ciliados presentes se utilizaron preparaciones frescas y permanentes.

-Preparaciones frescas.

En la elaboración de este tipo de preparaciones se utilizaron colorantes vitales en solución acuosa, como azul de metileno, verde de metilo y nigrosina, los que ayudan a resaltar estructuras citoplasmáticas, nucleares, y ciliares, correspondientemente, sin causar o causando la mínima alteración posible desde el punto de vista fisicoquímico del protoplasma, es decir, en cierta manera se deja intacta la vitalidad celular. Se siguieron las técnicas de acuerdo con las indicaciones de Kudo (1969), Gaviño (1972) y Wilkinson (1976).

-Preparaciones permanentes.

Para poder realizar este tipo de preparaciones fue necesario elaborar medios de cultivo. Las muestras procedentes del sistema

de tratamiento se depositan en cajas petri etiquetadas previamente y se le añaden de 3 a 5 ml de infusión de chicharo, para proporcionar un medio rico en bacterias. Después de cuatro días, cuando la abundancia de ciliados es adecuada, se elaboran las preparaciones permanentes. Las técnicas empleadas en el presente trabajo fueron la de hematoxilina de Delafield (con mordente incorporado) para dar coloración al núcleo; y la de Klein (1926) con el fin de resaltar estructuras argentófilas como cinetosomas, las cinetias, los poros de las vacuolas contráctiles, el citostoma, el citoprocto. Ambas técnicas se encuentran descritas en el Apéndice B.

Se anotaron características relevantes de los ciliados presentes como son: longitud total del organismo, ciliatura somática y bucal, posición y forma del macronúcleo. Finalmente, se fotografiaron las muestras.

La elección de estas técnicas se hizo en función de su relativa sencillez en la aplicación, los buenos resultados que se obtienen y al poco tiempo que se emplea en su ejecución.

La identificación de los protozoarios ciliados se efectuó con ayuda de la literatura especializada (Bick, 1972; Corliss, 1966; Czapik, 1968; Edmonson, 1952; Jahn, 1979; Kahl, 1930-1935; Kudo, 1969; López-Ochoterena, 1965).

-Cuenta de protozoarios ciliados.

Aunque se estimó que no existe diferencia entre la diversidad de protozoarios ciliados presentes en la película adherida al disco con la observada en el licor mezclado, el análisis cuantitativo de una muestra representativa se ve altamente dificultado por:

- (1) La alta movilidad que presentan los ciliados libres, lo cual impide contar certeramente la cantidad que de estos se encuentran presentes. Dicha movilidad no fue atenuada satisfactoriamente pese al uso de anestésicos como nicotina; solución de yodo, gliceraldehído, cloruro de magnesio, todos en solución acuosa a bajas concentraciones. Los efectos obtenidos, eran en su mayoría extremos ya que, o no les afectaba o causaba su rápida destrucción. Cabe mencionar que, ocasionalmente, detenían el movimiento de algunos ciliados pero los deformaba inmediatamente.
- (2) La presencia de flóculos de diversos tamaños no permite realizar un pipeteo homogéneo de la muestra ya que, o se obstruye el orificio de entrada o bien sólo pasa el líquido y los flóculos de menor tamaño, por lo cual sólo se obtendrían en su mayoría ciliados libres nadadores y no aquellos adheridos a los flóculos.
- (3) Volumen de muestra por analizar.- El uso del hemocitómetro o cámara de Neubauer (APHA, 1981) con un volumen de 0.1 mm³ o 0.001 ml, presenta altas dificultades en su aplicación

para este tipo de muestras, ya que sólo sería útil para contar ciertos ciliados libres presentes en el líquido sobrenadante (sin considerar el problema de la alta movilidad de estos). En cuanto a los ciliados sesiles adheridos a los flóculos, no podrían ser contados ya que su tamaño es mayor que el orificio de entrada y por tanto no penetrarían.

El uso de la cámara de Sedwick-Rafter (APHA, 1981), con un volumen de 1 ml, tiene como ventaja sobre la anterior la de poder introducir flóculos de diversos tamaños, causando poco daño. Pese a esto continúan presentes los problemas de:

- * Alta movilidad de los ciliados libres.
- * Obstrucción en la cuenta de ciliados libres por la presencia de flóculos de gran tamaño.
- * Obstrucción en la cuenta de ciliados en varios estratos o capas a consecuencia del propio volumen de la cámara.

Considerando lo anteriormente expuesto, se optó por la siguiente metodología para contar los ciliados presentes en una muestra dada. Esta metodología se conoce como cuenta microdiagonal de goteo de Lackey (APHA, 1981), la cual consiste en:

- Tomar una muestra de 0.1 ml
- Colocarla sobre el portaobjetos
- Colocar un cubreobjetos de 22x22 mm cuidando de no crear burbujas.
- Contar los organismos en tres o cuatro franjas (o bien la totalidad de área). El área por observar es menor que la de la cámara de Sedwick-Rafter.

La cuenta puede facilitarse añadiendo antes de poner el cubreobjetos, un poco de solución de yodo.

La ecuación para calcular el número de organismos por mililitro de muestra es la siguiente:

$$\text{Organismos/ml} = \frac{C (TA)}{(A) (S) (V)}$$

donde:

- C= Número de organismos contados.
- TA= Área del cubreobjetos en mm²
- A= Área de una franja en mm²
- S= Número de franjas contadas
- V= Volumen de la muestra debajo del cubreobjetos

Los inconvenientes que presenta esta metodología son los

siguientes:

- Aunque se conoce aproximadamente el volumen de muestra con que se está trabajando, ésta fluctúa, debido a la presencia de floculos de gran tamaño lo que impide un pipeteo adecuado.
- Para observar la muestra con floculos es necesario realizar presión sobre el cubreobjetos con la finalidad de expanderla sobre toda su área para realizar una observación y cuenta más certera.

2.2 Experimentación previa en el RBR-250

Este reactor está hecho de acero inoxidable, con discos de cloruro de polivinilo (PVC). Tiene las características presentadas en la Tabla 1. Una descripción más detallada, así como las razones de las modificaciones de diseño que ha sufrido, se presentan en la literatura (Alvarez, 1986; Alvarez et al, 1985).

Se evaluaron tres diferentes cargas orgánicas en este equipo y los resultados aparecen en las Tablas 2 y 3.

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos para este trabajo.

Tabla 1. Características del RBR-250

Característica	Diseño	Actual	Unidades
Cámara o etapa	4	4	
Reactor por cámara	1	1	
Discos por cámara	25	25	
Diámetro de los discos	500	500	mm
Espesor de los discos	5	5	mm
Area superficial total	37.7	37.7	m ²
Volumen de trabajo total	0.460	0.249	m ³
Relación área:volumen	82	152	m ² /m ³
Velocidad rotacional	0.3, 10.9, 15	11, 19, 25	1/min

Tabla 2. Condiciones de operación y resultados obtenidos en el RBR-250

Experimento	Velocidad rotacional, 1/min	DQO, mg/l	Tiempo retención, h	% Remoción DQO
1	25	2000	49.5	59
2	25	5000	49.5	70
3	25	8000	49.5	70

Tabla 3. Factores fisicoquímicos registrados en el RBR₂₅₀. (Tomado de Escárcega y Pulido(1986)).

PUNTO DE MUESTREO **	TEMPERATURA (°C)	p H	CONDUCTIVIDAD (μ mhos/cm)	OXIGENO DISUELTTO (mg/l)	D Q O (mg/l)	% * REMOCION	DBO ₅ (mg/l)	% * REMOCION
A	-----	6.0 _± 0.3	1933 _± 502	-----	5094 _± 177	-	2400	-
1	15.6 _± 0.7	7.6 _± 0.1	1087 _± 188	2.7 _± 0.5	1620 _± 94	68	673	72
2	15.6 _± 0.7	7.7 _± 0.1	1033 _± 188	3.8 _± 0.3	1568 _± 100	69	609	74.6
3	15.6 _± 0.7	7.8 _± 0.1	1010 _± 194	4.1 _± 0.3	1516 _± 139	70	---	?
4	15.6 _± 0.7	7.8 _± 0.2	1005 _± 230	4.3 _± 0.3	1504 _± 84	70.5	---	?

Variables controladas:

** A= líquido de alimentación.

1-4= cámaras del RBR₂₅₀.

-Concentración de sustrato medido como DQO= 5000 mg/l.

-Gasto = 5 l/h.

-Velocidad de rotación = 25 r.p.m.

$$* \%R = \frac{D_i - D_p}{D_i} \times 100$$

Donde:

D_i = DQO ó DBO inicial y D_p = DQO ó DBO parcial.

3. RESULTADOS

3.1 Condiciones fisicoquímicas del RBR-250

En la Tabla 4 se presentan los valores promedio de los registros fisicoquímicos obtenidos en cada etapa del RBR, durante la fase de régimen permanente, la cual comprendió aproximadamente seis semanas, teniendo controladas las siguientes variables:

- Gasto de alimentación, 3 l/h (tiempo de retención, 83.3 h),
- Concentración de sustrato, 5200 mg/l, medida como DQO,
- Velocidad de rotación de los discos, 21-22 rpm (1/min).

Las características de estas variables se establecieron con base en estudios previamente realizados por Escárcega y Pulido (1986) en este mismo sistema (ver capítulo anterior), modificando la posición del RBR de horizontal a ligeramente inclinado (6°), con la finalidad de evitar el retromezclado del líquido entre las diferentes etapas.

El comportamiento de los valores fisicoquímicos registrados se aprecia más claramente en las Gráficas 1-6:

Gráfica 1.

En la Gráfica 1 se presenta la fluctuación de los valores de temperatura a lo largo del sistema de tratamiento. La variación más brusca de temperatura (3°C) ocurre entre el líquido de alimentación y la etapa o cámara 1. De manera general y considerando únicamente las cuatro cámaras del RBR, los valores de temperatura son muy similares (cerca de 10°C), lo que indica que el sistema presenta una relativa estabilidad térmica, aunque con una ligera tendencia a disminuir la temperatura (por la evaporación de agua al ambiente).

Gráfica 2.

En la Gráfica 2 se muestran los valores promedio de pH en el RBR, los cuales tienen un comportamiento similar a los de temperatura. Es decir, la mayor variación (1.8 unidades) se observa entre el pH del líquido de alimentación y la cámara 1, mientras que al comparar únicamente los valores de pH de las cuatro cámaras la variación es mínima (de 0.1 a 0.2 unidades), siendo el pH promedio de 8 unidades. A medida que el licor mezclado avanza en la cascada de reactores, se aprecia una ligera tendencia hacia la basificación del líquido.

Gráfica 3.

En la Gráfica 3 se encuentra la variación de conductividad del líquido en tratamiento (nejayote diluido), la cual presenta una disminución a lo largo del sistema de discos rotatorios, principalmente en las primeras dos etapas (aproximadamente se reduce 450 µmho/cm). La conductividad del agua residual disminuyó alrededor de un 40% del total en la cascada completa.

Tabla 4. Factores fisicoquímicos registrados en el RBR₂₅₀

PUNTO DE MUESTREO **	TEMPERATURA (°C)	p H	CONDUCTIVIDAD (μ mhos/cm)	OXIGENO DISUELTO (mg/l)	D Q O (mg/l)	% * REMOCION	DBO ₅ (mg/l)	% * REMOCION
A	13.2 ± 1.4	7.8±2.03	2127±276	0	5200±900	-	1500±200	-
1	10.3 ± 2.0	8.0±0.08	1986±279	3.43±0.35	4300±300	17	900±100	40
2	10.0 ± 1.9	8.1±0.08	1562±267	4.20±0.69	4000±300	23	650±200	56.6
3	9.8 ± 2.0	8.2±0.06	1338±125	4.80±0.69	3500±400	32.7	490±100	67
4	9.7 ± 2.0	8.2±0.08	1296±118	5.11±0.04	3400±300	34.6	400±100	73

Variables controladas:

** A= líquido de alimentación.

1-4= cámaras del RBR₂₅₀

$$* \%R = \frac{D_i - D_p}{D_i} \times 100$$

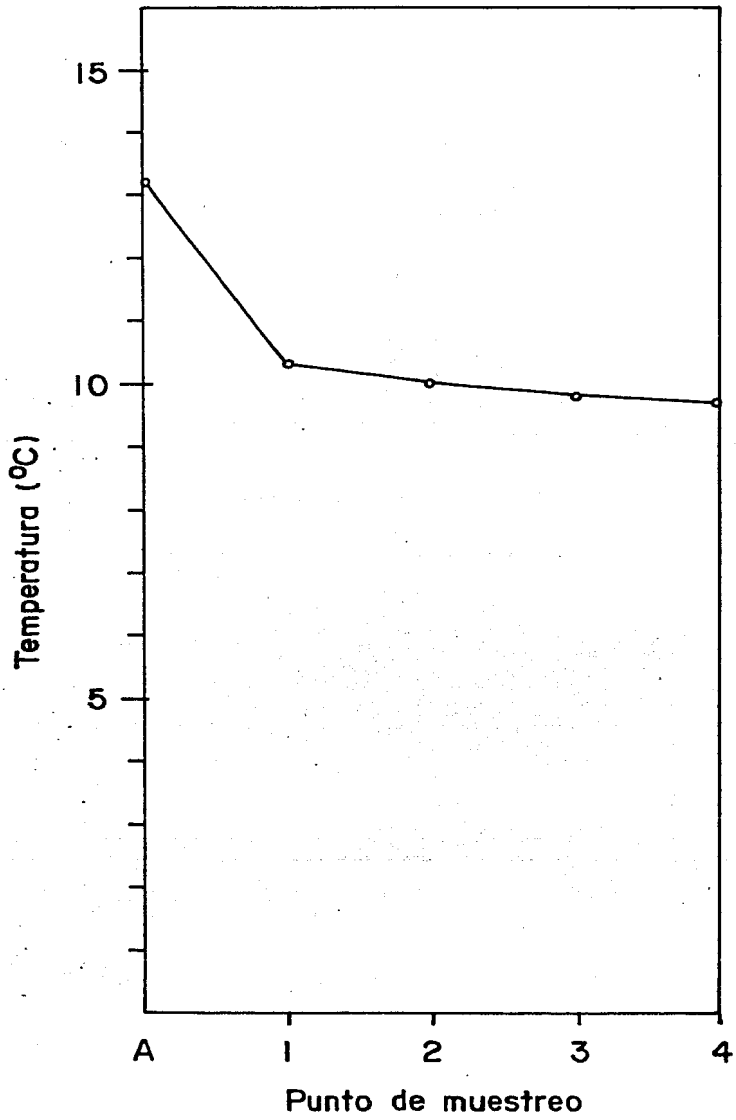
Donde:

D_i = DQO ó DBO inicial y D_p = DQO ó DBO parcial.

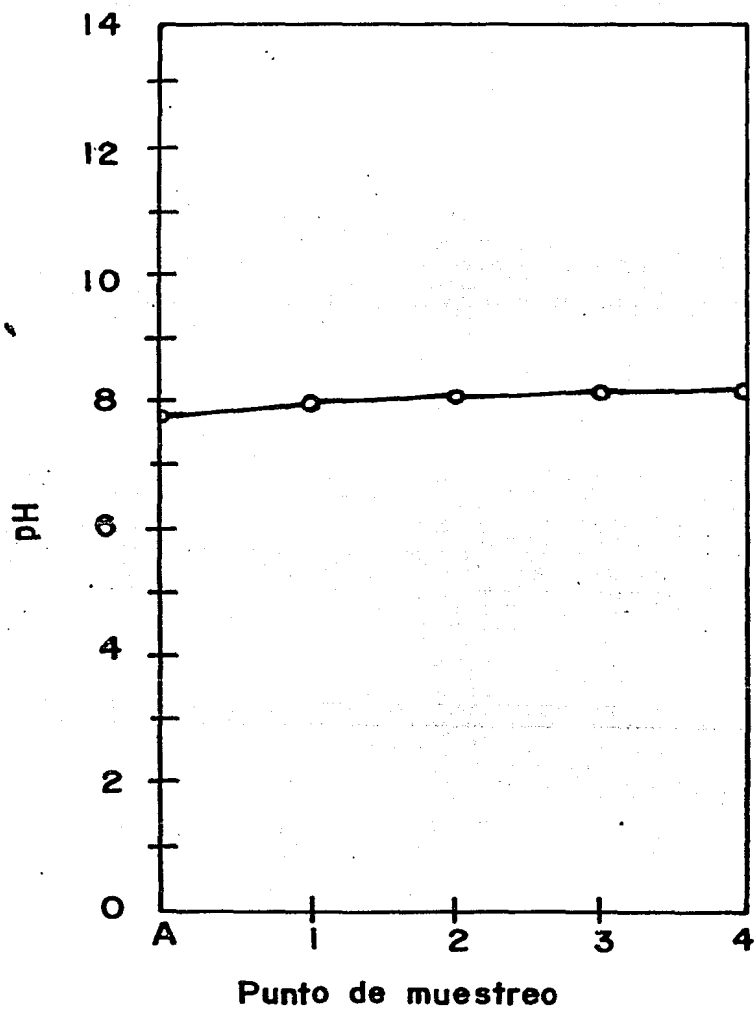
-Concentración de sustrato medido como DQO= 5200 mg/l.

-Gasto = 3 l/h.

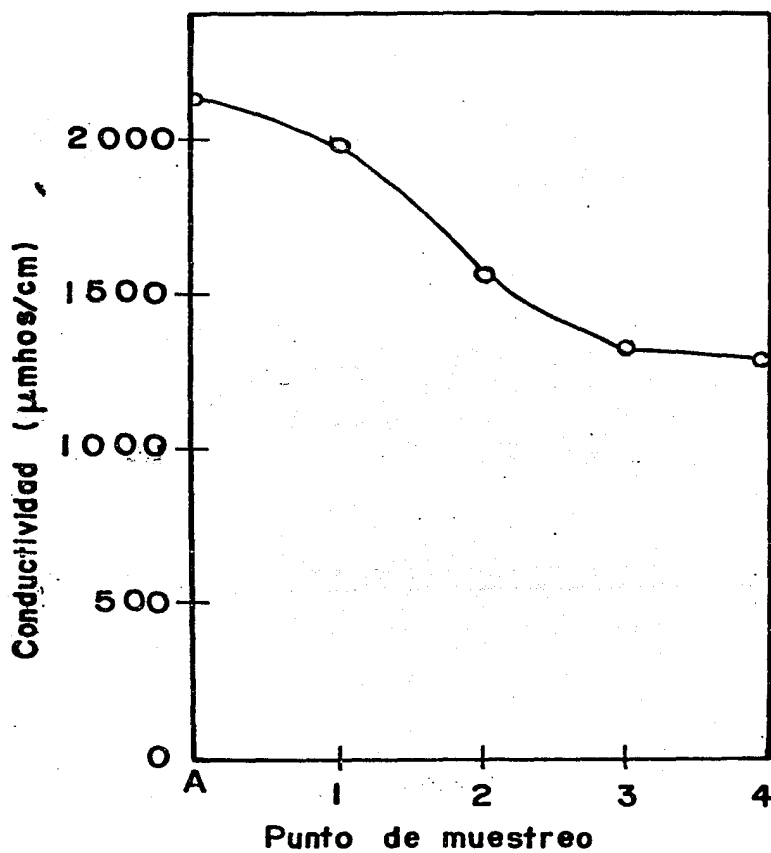
-Velocidad de rotación = 21 - 22 r.p.m.



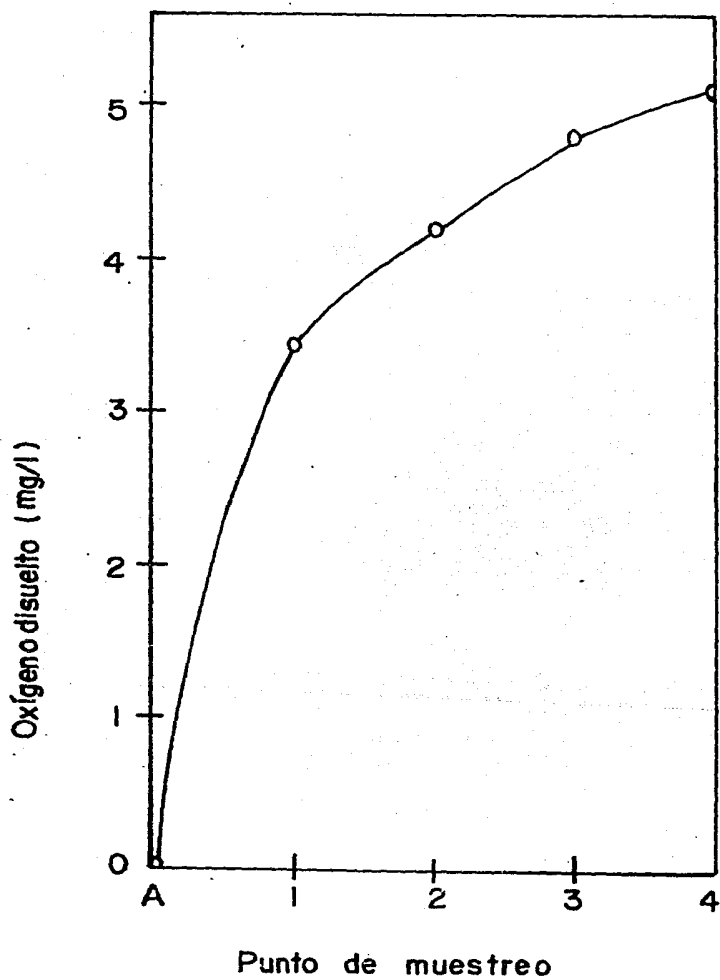
Gráfica 1. Punto de muestreo del RBR₂₅₀vs. Temperatura



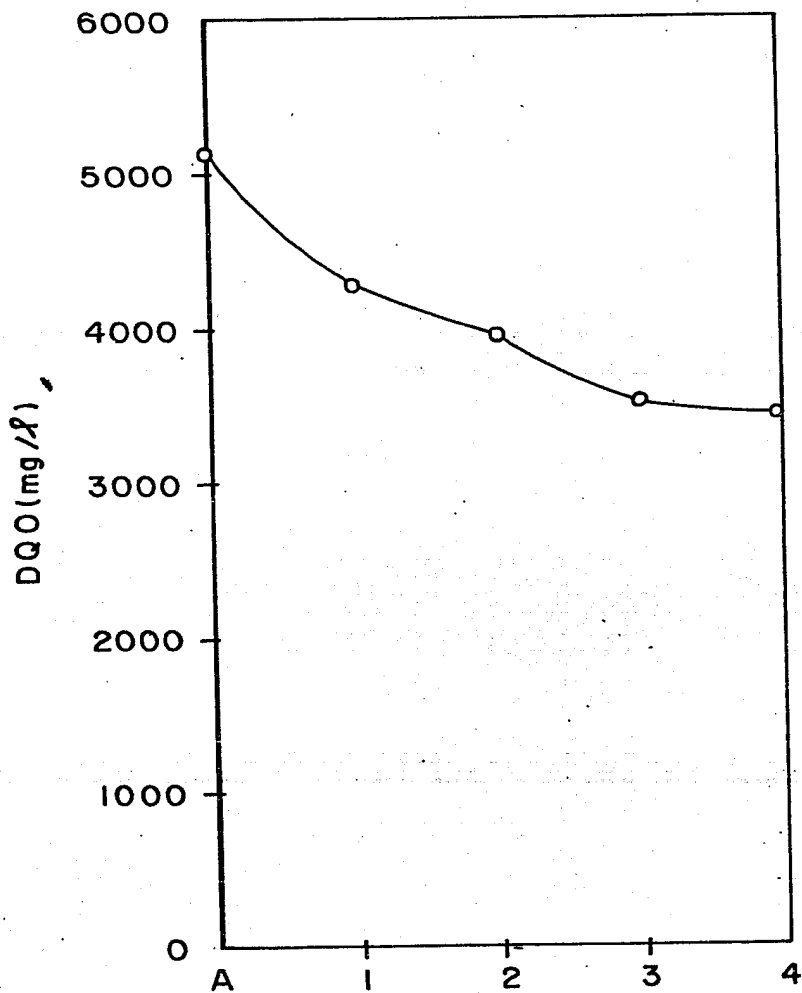
Grafica 2. Punto de muestreo del RBR 250 vs. pH



Gráfica 3. Punto de muestreo del RBR₂₅₀ Vs. conductividad

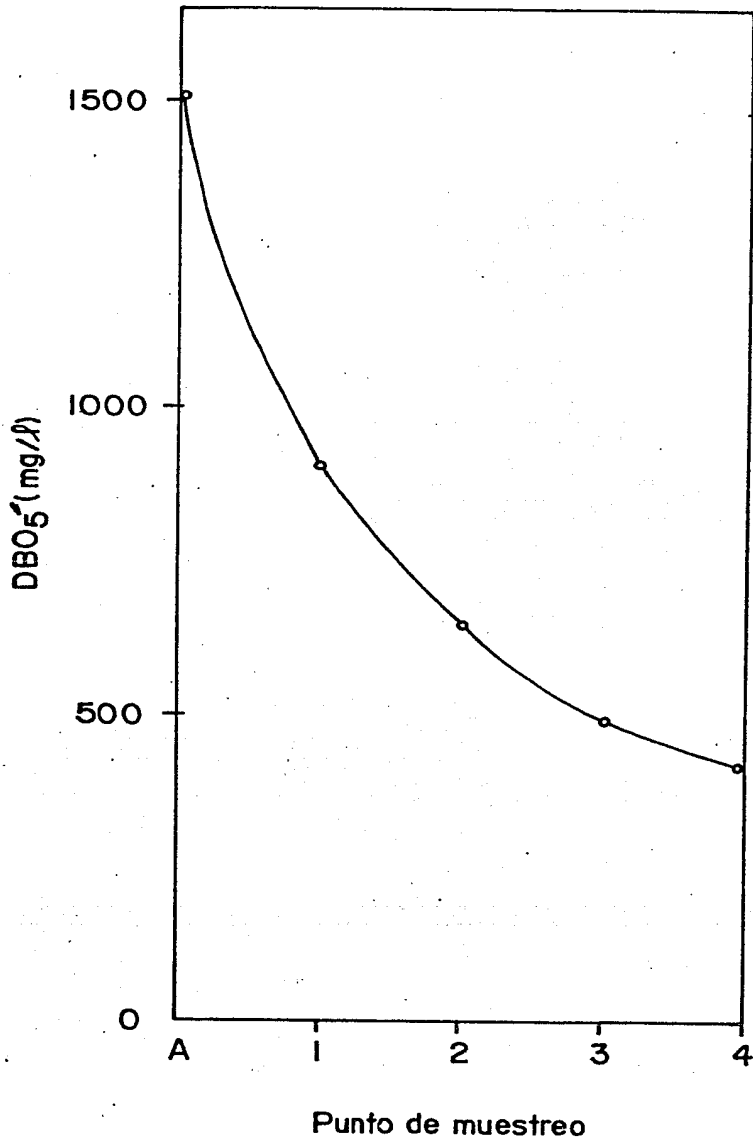


Gráfica 4. Punto de muestreo del RBR250 vs. oxígeno disuelto



Punto de muestreo

Gráfica 5. Punto de muestreo del RBR₂₅₀ vs. DQO



Gráfica 6.. Punto de muestreo del RBR₂₅₀vs. DBO₅

Gráfica 4.

En la Gráfica 4 se observa la variación en la concentración de oxígeno disuelto en los diferentes puntos de registro. De manera general el contenido de oxígeno aumenta a lo largo del sistema, notándose un incremento mayor entre el líquido contenido en el tanque de alimentación (0 mg/l) y el contenido en la cámara 1 (3 mg/l). Al final del RBR (cámara 4) se obtienen valores mayores de 6 mg/l de oxígeno disuelto.

Gráfica 5.

La Gráfica 5 ilustra los cambios en la demanda química de oxígeno (DQO) para cada punto de muestreo del RBR. La máxima diferencia de concentraciones (900 mg/l) se presenta entre el líquido de alimentación y el licor mezclado de la cámara 1. En términos generales los valores de DQO para las cuatro cámaras disminuyen paulatinamente a medida que avanzan en la etapa de tratamiento, siendo menos evidente entre la cámara 3 y 4. La diferencia total entre la DQO que entra al sistema de tratamiento y la que sale es de aproximadamente 1800 mg/l (34.6%).

Gráfica 6.

La Gráfica 6 presenta los diferentes valores de demanda bioquímica de oxígeno (DBO5) para cada punto de muestreo. La variación máxima de DBO5 se encuentra también entre el líquido de alimentación y el licor mezclado contenido en la cámara 1 (600 mg/l). La DBO5 disminuyó de manera paulatina a través del RBR siendo menos evidente al final del proceso. La diferencia entre la DBO5 antes del tratamiento y después de éste, fue de 110 mg/l, lo cual representa cerca del 74% de la concentración original.

3.2 Análisis biológico

Se determinó la presencia de doce protozoarios ciliados a lo largo del sistema de tratamiento RBR-250, durante la fase de "meseta". Las doce especies se encuentran ubicadas en diez géneros, siete familias, cuatro subórdenes, cinco órdenes, cuatro subclases y dos clases pertenecientes al Phylum Ciliophora.

La ubicación taxonómica de las especies está basada en la clasificación de los protozoarios realizada por Levine *et al.* (1980).

A continuación se presenta la ubicación taxonómica de cada especie, así como una breve descripción morfológica y al final, en la Tabla 5, se dan algunos datos referentes a su valencia ecológica.

Phylum	CILIOPHORA Doflein, 1901
Clase	KINETOPHAGINOPHOREA de Puytorac <i>et al.</i> , 1974.
Subclase	GYMNOSTOMATIA Bütschli, 1889.

Orden PLEUROSTOMATIDA Schewiakoff, 1896.
Familia AMPHILEPTIDAE Bütschli, 1889.

1. *Hemiophrys bivacuolata* forma *typica*, Kahl, 1933.
(Lámina 1, Fig. 1; Lámina 2, Fig. 1)

Morfología: Longitud 90-110 μm . Cuerpo aplanado y en forma lanceolada; cilios únicamente del lado derecho. El citostoma anterior, en la parte ventral, tiene forma de hendidura. Posee dos macronúcleos esféricos y un micronúcleo entre ambos; dos vacuolas contráctiles en posición posterior.

Alimento: detritos, bacterias, flagelados y ciliados (Bick, 1976). El consumo de este tipo de alimento se pudo observar mediante preparaciones frescas.

Comentario: Habitan frecuentemente en aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición como las aguas residuales domésticas, se han observado en asociación con *Colpidium campylum* (Bick, 1976). Además, se observó en compañía de *Colpidium colpidium* y *Tetrahymena pyriformis*, principalmente.

2. *Litonotus lamella* (Ehrenberg, 1838).
(Lámina 1, Fig. 2; Lámina 2, Fig. 2)

Morfología: Longitud 80-110 μm . Cuerpo alargado lanceolado, con el extremo anterior ligeramente truncado y el posterior redondeado. La región anterior en forma de "cuello" corto y ligeramente contráctil. El citostoma anterior en forma de hendidura. En el borde del citostoma y en el extremo posterior presenta tricocistos. Posee dos macronúcleos esféricos centrales y un micronúcleo entre ellos. Vacuola contráctil en el extremo posterior.

Alimento: Flagelados y ciliados (Bick, 1976).

Comentario: Su distribución es cosmopolita, es común en aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición, ha sido registrada en filtros percoladores (Bick, 1972; Curds, 1975). Se observó en compañía de *Hemiophrys bivacuolata*.

Subclase SUCTORIA Claparède y Lachmann, 1858.
Orden SUCTORIDA Claparède y Lachmann, 1858.
Suborden EXOGENINA Collin, 1912.
Familia PODOPHRYIDAE Haeckel, 1866.

1. *Podophrya fixa* (Quennerstedt, 1867).
(Lámina 1, Fig. 3; Lámina 3, Fig. 3)

Morfología: Diámetro 20-38 μm . Cuerpo de forma esférica. Presenta un pedúnculo de aproximadamente 37 μm . Tiene de doce a quince tentáculos suctores, distribuidos regularmente y de tamaño uniforme. Aparato nuclear constituido por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos localizados en el centro. Una vacuola

contráctil en posición anterior.

Alimento: ciliados (Bick, 1976). Se observaron adheridos a los tentáculos *Cyclidium glaucoma* y flagelados.

Comentario: Distribución cosmopolita, presente en aguas contaminadas con material biodegradable (Bick, 1972). Se han registrado en filtros percoladores y lodos activados (Bick, 1972; Curds, 1975). Se observó adherido a grumos bacterianos y detritos.

Clase OLIGOHYMENOPHOREA de Puytorac et al., 1974.
Subclase HYMENOSTOMATIA Delage y Hérouard, 1896.
Orden HYMENOSTOMATIDA Delage y Hérouard, 1896.
Suborden TETRAHYMENINA Fauré-Fremiet, en Corliss, 1956.
Familia TETRAHYMENIDAE Corliss, 1952.

1. *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenberg, 1831)
(Lámina 1, Fig. 4; Lámina 3, Fig. 4)

Morfología: 30-50 μm . Cuerpo ovoide, con el extremo anterior puntiagudo y el posterior redondeado. Ciliatura somática uniforme, con dos a veintidós cinetias. El citostoma se localiza al centro de la línea media ventral y en posición anterior. La ciliatura bucal es tetrahiménica, constituida por tres membranelas que forman la zona adoral de membranelas, colocadas del lado izquierdo del ciliado y una membrana ondulante del lado derecho. Aparato nuclear formado por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos centrales. Vacuola contráctil en el extremo posterior.

Alimento: detritos, bacterias y algas (Bick, 1976). Se le observó alimentándose de detritos y bacterias pero no de algas ya que éstas no se encontraban presentes.

Comentario: Distribución cosmopolita, habita aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Prolifera en filtros percoladores, lagunas de oxidación y canales de aguas residuales domésticas (Bick, 1976; Curds, 1975).

2. *Colpidium campylum* (Stokes, 1886)
(Lámina 1, Fig. 5; Lámina 4, Fig. 5)

Morfología: Longitud 45-50 μm . Cuerpo alargado reniforme. Ciliatura uniforme constituida por veinte a veinticuatro cinetias, con cilios más largos en el extremo posterior. Sutura preoral ligeramente desplazada a la derecha. Cavidad bucal anterior pequeña y cerca del lado derecho del cuerpo, aproximadamente a 1/4 de longitud total de éste. Ciliatura bucal tetrahiménica. Un macronúcleo esférico y un micronúcleo en la parte central del cuerpo. Una vacuola contráctil posterior y cerca del margen derecho, dentro de la región de la cinetia cinco.

Alimento: detritos, bacterias, flagelados y algas (Bick, 1976).

En el presente estudio se observó el consumo de lo antes mencionado, excepto el de algas, ya que éstas no se presentaron.

Comentario: Distribución cosmopolita, proliferan en aguas ricas en materia orgánica en descomposición (Bick, 1976). Se han encontrado en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975). Se observó en asociación con *Colpidium colpidium*, *Cyclidium glaucoma* y *Tetrahymena pyriformis*.

3. *Colpidium colpidium* (Schewiakoff, 1889)
(Lámina 1, Fig. 6; Lámina 4, Fig. 6)

Morfología: Longitud del cuerpo 50-60 µm. Elongado reniforme, ciliatura uniforme excepto por un grupo de cilios largos en el polo posterior, tiene de 24 a 35 cinetias. Sutura preoral desplazada hacia el lado ventral. Cavidad bucal pequeña localizada en la porción media del polo anterior, aproximadamente a 1/4 de la longitud total del cuerpo. Ciliatura bucal tetrahiménica. Aparato nuclear formado por un macronúcleo esférico y un micronúcleo en la parte central del cuerpo. Una vacuola contráctil localizada cerca de la cinetia 5, en el último tercio del cuerpo.

Alimento: Se observó la ingestión de bacterias, detritos y flagelados.

Comentario: Probablemente cosmopolita. Se observó acompañado de *Colpidium campylum*, *Cyclidium glaucoma* y *Tetrahymena pyriformis*.

Orden SCUTICOCILIATIDA Small, 1967.
Suborden PLEURONEMATINA Fauré-Fremiet en Corliss, 1956.
Familia CYCLIDIIDAE Ehrenberg, 1838.

1. *Cyclidium glaucoma* O.F. Muller, 1786.
(Lámina 1, Fig. 7; Lámina 5, Fig. 7)

Morfología: Longitud 20-30 µm. Cuerpo ovoide con la región anterior ligeramente truncada y la posterior redondeada. Ciliatura somática dispuesta en diez cinetias regularmente espaciadas, presenta un cilio caudal largo. La cavidad bucal se extiende desde el extremo anterior hasta la región ecuatorial. Aparato nuclear constituido por un macronúcleo esférico y un micronúcleo ubicados en el polo anterior. Vacuola contráctil posterior.

Alimento: Bacterias y algas (Bick, 1972). En las observaciones realizadas se apreció que consumían bacterias junto con detritos.

Comentario: Distribución amplia, se desarrolla en aguas con materia orgánica en proceso de descomposición (Bick, 1976). Se ha reportado que habita en filtros percoladores, lodos activados y tanques Imhoff (Curds, 1975).

Subclase PERITRICHIA Stein, 1859.
Orden PERITRICHIDA Stein, 1859.

Suborden SESSILINA Kahl, 1933
Familia VORTICELLIDAE Ehrenberg, 1838.

1. *Carchesium polypinum* Linnaeus, 1758.
(Lámina 1, Fig. 8; Lámina 5, Fig. 8)

Morfología: Longitud del zooide 80-100 μm . Longitud de las ramas 120 μm . Forma colonias de aproximadamente 2 mm. Zooides en forma de cono invertido. Ciliatura bucal en el polo apical. Un macronúcleo en forma de banda, extendido a lo largo del eje longitudinal. Vacuola contráctil cercana a la cavidad bucal. Ramificación dicotómica. Los tallos se contraen de manera independiente.

Alimento: Bacterias y algas (Bick, 1976). El consumo de algas no se verificó debido a la ausencia de éstas. Probablemente los detritos sean también parte de su dieta, ya que los ingieren junto con las bacterias.

Comentario: Distribución cosmopolita, se desarrolla en aguas con materia orgánica disuelta (Bick, 1972). Se presenta en sistemas de tratamiento como filtros percoladores, lodos activados y lagunas de oxidación (Curds, 1975). Se adhiere a detritos y grumos bacterianos.

Familia EPISTYLIDIDAE Kahl, 1933.

1. *Epistylis plicatilis* (Ehrenberg, 1838)
(Lámina 1, Fig. 9; Lámina 6, Fig. 9)

Morfología: Longitud del zooide de 70-100 μm . Longitud de las ramas aproximadamente de 90-100 μm . Forma colonias de 2-3 mm. Cuerpo en forma de campana invertida, con pliegues característicos en la porción final. Película ligeramente anillada. Ciliatura alrededor del peristoma apical. Aparato nuclear compuesto de un macronúcleo en forma de banda ubicado en posición anterior. Vacuola contráctil cercana a la cavidad bucal. Ramificación dicotómica. No hay contracción de los tallos.

Alimento: Bacterias (Bick, 1972). Se observó ingestión de bacterias, junto con detritos y ocasionalmente flagelados.

Comentario: Se encuentra en aguas con materia orgánica disuelta (Bick, 1972). Presente en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975). Se observó adherido a detritos y agregados bacterianos.

2. *Rhabdostyla vernalis* Stokes, 1887.
(Lámina 1, Fig. 10; Lámina 6, Fig. 10)

Morfología: Individuos de 48-56 μm . Cuerpo similar a *Epistylis*. Son organismos solitarios y con un tallo no contráctil, surco peristomal somero. Citoplasma denso. Macronúcleo en la porción media anterior. Vacuola contráctil cercana a la boca. Vacuolas digestivas en el polo posterior.

Alimento: Bacterias (Bick, 1972). Se observó que, junto con las bacterias se ingerían detritos y flagelados.

Comentario: Probablemente cosmopolita, prolifera en aguas contaminadas con materia orgánica. Se presenta en sistemas de lodos activados (Curds, 1975). Se encuentra adherido a detritos y grumos bacterianos.

Familia OPERCULARIIDAE, Fauré y Fremier, 1961.

1. Opercularia coarctata Claparède y Lachmann, 1858.
(Lámina 1, Fig. 11; Lámina 7, Fig. 11)

Morfología: Individuos de 60-75 µm. Tallo de 60-100 µm, no contráctil. Forma colonias pequeñas de tres a seis individuos. Cuerpo en forma de campana. Disco epistomial de aproximadamente 1/5 parte de la longitud total del cuerpo. Macronúcleo en forma de herradura, ubicado en la porción anterior. Vacuola contráctil en el extremo anterior. Ramificación dicotómica.

Alimento: Bacterias (Bick, 1976). Además de bacterias ingería detritos y flagelados.

Comentario: Distribución cosmopolita. Se desarrolla en aguas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Han sido registrados en lagunas de oxidación, lodos activados, filtros percoladores y tanques Imhoff (Curds, 1975). Se adhieren a detritos y grumos bacterianos.

2. Opercularia microdiscum (Fauré-Fremiet, 1961).
(Lámina 1, Fig. 12; Lámina 7, Fig. 12)

Morfología: Individuos de 50-60 µm. Tallo de 60-70 µm, no contráctil. Forma colonias de regular tamaño (0.5 a 1 mm). Cuerpo en forma de campana con película ligeramente anillada. Disco epistomial de aproximadamente 1/5 de la longitud total del cuerpo. Macronúcleo en forma de herradura, localizado en la porción anterior del cuerpo. Vacuola contráctil en la parte media del organismo. Ramificación dicotómica.

Alimento: Se observó que ingería bacterias, detritos y flagelados.

Comentario: Son organismos que, al igual que los anteriores, se desarrollan en cuerpos de agua con materia orgánica en descomposición. Se han registrado en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975). Se adhiere a detritos y grumos bacterianos.

Tabla 5. Valencia ecológica según Bick (1976) de los protozoarios ciliados encontrados en el RBR₂₅₀

P R O T O Z O A R I O C I L I A D O	Intervalo de tolerancia		
	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno disuelto (mg/l)
<u>Carchesium polypinum</u>	0 - 25	6.4-8.3	0.2 - 14
<u>Colpidium campylum</u>	4 - 30	4.0-8.9	0.0 - 11
<u>Colpidium colpidium</u>	- - - -	- - - -	- - - -
<u>Cyclidium glaucoma</u>	1 - 51	5.7-9.8	0.0 - 16
<u>Epistylis plicatilis</u>	4 - 25	6.4-8.3	0.2 - 14
<u>Hemiophrys bivacuolata</u>	- - - -	- - - -	- - - -
<u>Litonotus lamella</u>	0 - 35	6.0-9.4	0.0 - 13
<u>Opercularia coarctata</u>	10 - 22	5.0-8.0	9.0 - 11
<u>Opercularia microdiscum</u>	- - - -	- - - -	- - - -
<u>Podophrya fixa</u>	4 - 19	- - - -	- - - -
<u>Rhabdostyla vernalis</u>	- - - -	- - - -	- - - -
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	1 - 40	7.0-8.9	0.0 - 10

En el presente trabajo los registros de temperatura, pH y oxígeno disuelto del líquido en tratamiento permanecieron relativamente constantes y dentro del intervalo reportado por Bick.

Valores registrados: -Temperatura = 9.7 - 10.3 ± 2
 - pH = 8.0 - 8.2 ± 0.08
 -Oxígeno dis.= 3.4 - 5.1 ± 0.5

4. DISCUSION

Como se mencionó en el Capitulo 1 es importante considerar durante el tratamiento de un líquido residual contaminado con materia orgánica, como el nejayote, tanto los parámetros fisicoquímicos como los microorganismos que en este tipo de agua se desarrollan, sin olvidar que ambos se encuentran en una continua interacción consigo mismos y entre sí, los primeros permitiendo y/o limitando el desarrollo de los microorganismos y estos a su vez modificando las características fisicoquímicas de su medio (nejayote diluido). Con base en lo anterior se analizarán los resultados obtenidos durante la etapa de régimen permanente. La separación parcial de cada factor y el orden en que se abordará tiene como finalidad facilitar su interpretación.

4.1 Factores fisicoquímicos

Temperatura

Este factor permaneció relativamente constante a lo largo del RBR, presentando valores promedio de 10 °C, esta temperatura puede considerarse baja, si se toma en cuenta que en general la temperatura óptima para el crecimiento de los protozoarios es de 16 a 25 °C (Kudo, 1969). La baja temperatura produce diversos efectos sobre el sistema, por un lado permite una mayor concentración de oxígeno disuelto en el agua, mientras que por otro, disminuye la tasa de crecimiento microbiano. Lo anterior ocasiona que aún cuando haya consumo de oxígeno por respiración de los microorganismos, el oxígeno suministrado mecánicamente por la rotación de los discos mantiene al líquido en condiciones aerobias. El bajo metabolismo microbiano redundaba en un bajo consumo de material orgánico disuelto y por consiguiente en una menor depuración o descontaminación del agua tratada. Un incremento en la temperatura conduciría a invertir los efectos anteriormente mencionados, es decir, que mientras la tasa metabólica aumenta al doble cada 10 C, los niveles de oxígeno disminuyen (Moreno, 1985). Si dicho incremento de temperatura sobrepasa los límites máximos permisibles (30 °C) para la actividad enzimática microbiana y/o la concentración mínima de oxígeno requerido (2 mg/l) para su metabolismo, se ocasionaría un cambio metabólico de aerobio a microaerofílico e incluso anaerobio, propiciando así el mal funcionamiento del RBR, produciéndose en consecuencia un aumento en la viscosidad del líquido, pH ácido, mal olor y desprendimiento de la biopelícula (Margaleff, 1975; Escárcega y Pulido, 1986).

pH

Los registros de pH en las 4 cámaras del RBR permanecieron relativamente estables, con valores cercanos a 8 unidades, lo anterior resulta interesante sobre todo en la etapa inicial (cámara 1) la cual a pesar de recibir de manera indistinta líquido con pH básico (10 unidades) y ácido (6 unidades) logra

mantenerse con poca variación y dentro del intervalo adecuado para su funcionamiento que va de 6.5 a 8.5 (Norouzian, 1984).

La alcalinidad del nejayote se debe principalmente a la presencia de carbonatos y bicarbonatos en solución. Aunado a esto, dicha alcalinidad permite que el CO₂ del aire se absorba ocasionando que el pH del líquido disminuya a valores cercanos a la neutralidad e inferiores. Al ir disminuyendo el pH, la solución llega a estar en condiciones de permitir la reproducción de microorganismos facultativos anaerobios cuya acción metabólica hace que el pH disminuya más al producir ácidos orgánicos volátiles (Pedroza, 1985). La acidez del nejayote en la etapa de pretratamiento se ve modificada a partir de la aereación mecánica del líquido, el cual al presentar niveles adecuados de oxígeno disuelto permite que mediante el metabolismo aerobio se consuman los ácidos orgánicos generados previamente, lo que redundará no sólo en la disminución de la acidez hacia niveles de pH neutros o ligeramente básicos, sino en permitir el desarrollo de mayor número de especies de protozoarios (Curds, 1975).

Conductividad

Los valores de conductividad registrados en las diferentes etapas del RBR disminuyeron conforme el líquido avanzaba en el proceso. La conductividad constituye un parámetro importante para evaluar la calidad fisicoquímica del agua, sin embargo, la interpretación biológica de sus efectos resulta complicada ya que para hacerlo es necesario realizar diversas correlaciones en cuanto al tipo y concentración de los iones que la ocasionan.

Oxígeno Disuelto

La concentración de oxígeno disuelto presente en las cuatro cámaras del sistema de tratamiento, se mantuvo como medio aerobio. Esto indica que el suministro mecánico de oxígeno al agua residual fue suficientemente alto como para compensar la deficiencia inicial de oxígeno, así como el consumido por la actividad microbiana en cada cámara.

La oxigenación conseguida en la etapa final de tratamiento (poco más de 5 mg/l, es muy buena si se considera que la solubilidad (100%) de oxígeno atmosférico en agua dulce es de 6.7 mg/l a 20 °C en la Ciudad de México.

Desafortunadamente los niveles de oxigenación del agua alcanzados a lo largo del tratamiento se ven rápidamente abatidos al dejar reposar el líquido, en el sedimentador secundario, esto es consecuencia de alto contenido tanto de materia orgánica disuelta como de los microorganismos, sobre todo bacterias, que al estar todavía activas lo consumen rápidamente induciendo las alteraciones correspondientes como son pH ácido, alta viscosidad y malos olores. Cabe hacer mención que pueden presentarse protozoarios ciliados aerobios bajo condiciones anaerobias, pero solo por periodos limitados y con actividad metabólica reducida

(Curds, 1975).

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO disminuyó a lo largo del sistema de tratamiento, principalmente en la cámara 1, lo cual puede deberse a que al inicio del proceso el material orgánico utilizado por los microorganismos es el más fácilmente biodegradable, haciéndose su degradación más lenta en las etapas siguientes (cámaras 2, 3, y 4) a causa de la mayor complejidad del material que no ha sido degradado (Margaleff, 1975).

El porcentaje de remoción alcanzado (35%) resulta bajo si se considera que es posible lograr por lo menos el 70% (Escàrcega y Pulido, 1986).

Es muy probable que el poco porcentaje de remoción logrado se deba a que el líquido en tratamiento presentaba temperaturas limitantes para un mayor metabolismo microbiano, por lo que aumentar la temperatura a niveles óptimos conllevaría a lograr un mejor porcentaje de remoción de materia orgánica por parte del sistema (Paenoa y Middlebrooks, 1982).

Demanda Bioquímica de Oxígeno

Los valores de DBO5 disminuyen constantemente a lo largo del sistema. La etapa inicial fue la que presentó un mayor porcentaje de remoción de materia orgánica disuelta, esto probablemente se deba a que al inicio del tratamiento el material consumido es el de más fácil biodegradación, quedando para las etapas finales compuestos orgánicos complejos.

La remoción total alcanzada por el RBR fue de 74%, lo cual representa una buena proporción del total. Es muy probable que el porcentaje de remoción aumente al incrementarse la temperatura y disminuir ligeramente el pH ya que esto propiciaría un mayor metabolismo microbiano y por tanto un mayor consumo de material orgánico disuelto.

Comparando los valores iniciales de DQO y DBO5 se aprecian diferencias notables, siendo aproximadamente tres veces superior la primera medida respecto a la segunda, lo que indica que hay mayor cantidad de material más resistente a la oxidación biológica (Margaleff, 1975). De aquí la diferencia respecto a los porcentajes de remoción alcanzados para cada medida. Lo anterior permite suponer que si los porcentajes de remoción medidos como DBO5 aumentan de manera notable (al mejorar las condiciones de operación) los de DQO lo harán en menor grado ya que se seguira cuantificando el material de más difícil biodegradación.

Cabe hacer mención que, en términos generales, es la cámara 1 la que resulta de mayor interés dado que, a la vez que se estabilizan las características fisicoquímicas el líquido que entra (pH, T y O.D.), se efectúa el mayor porcentaje de remoción

(parcial) del material orgánico disuelto.

Al comparar los resultados de los análisis fisicoquímicos del presente estudio (Tabla 4) respecto a los obtenidos previamente por Escárcega y Pulido (1986) en el mismo RBR (Tabla 3) y, bajo condiciones de operación similares, anexando una variante en la posición del sistema, pasando de horizontal a ligeramente inclinado (6°), se deduce que el factor temperatura está en estrecha relación con la actividad microbiana que es transformada y degradada en el sistema de biodiscos. Dicha relación es directamente proporcional dentro de un intervalo de temperatura.

La temperatura promedio del líquido en tratamiento fue de 10 C en este trabajo y de 15.6 C en el realizado previamente, esta diferencia de temperatura explica hasta cierto punto el porqué se lograron diferentes porcentajes de remoción en cada etapa dentro del sistema de biodiscos, es decir, en el estudio previo la cámara inicial realizó un porcentaje de remoción de materia orgánica (como DBO5) semejante al efectuado en el presente estudio pero para las cuatro cámaras, lo cual sugiere que se biodegradó igual cantidad de material orgánico en menor tiempo, debido a una mayor temperatura.

En cuanto al efecto ocasionado por la inclinación del RBR, fue el esperado. Por un lado se eliminó el retromezclado y por otro la degradación se realizó paulatinamente a lo largo del sistema y no solo en la cámara inicial. El hecho de conseguir al final del tratamiento niveles semejantes en la disminución del material orgánico biodegradable, indica que el RBR, bajo las condiciones en que está siendo operado, difícilmente podrá lograr mayores porcentajes de remoción, aún cuando el líquido en tratamiento permanezca mayor tiempo dentro del sistema.

Con base en lo anterior y considerando algunos factores fisicoquímicos importantes para el desarrollo de los microorganismos, es muy probable que el funcionamiento del sistema sea mejor al aumentar la temperatura, con valor máximo permisible para la actividad metabólica microbiana cercano a 30 C (para organismos mesófilos) y cuidando de mantener la concentración de oxígeno disuelto superior a 2 mg/l y el pH cercano a la neutralidad.

4.2 Análisis biológico

Los protozoarios ciliados encontrados durante la etapa de régimen permanente muestran una densidad y distribución variable a lo largo del RBR, como puede apreciarse en la Tabla 6. La mayor densidad se localiza en la cámara 2 y la menor en la cámara 4, presentando más abundancia relativa los holotricos, sobre todo los del género *Colpidium* y *Tetrahymena*. La mayor riqueza de especies se localizó en la cámara 3, en donde además las poblaciones presentaron una abundancia semejante. Las cámaras 1 y 2 tuvieron una buena riqueza de especies pero, a diferencia de la cámara 3, la abundancia poblacional no fue uniforme. En la

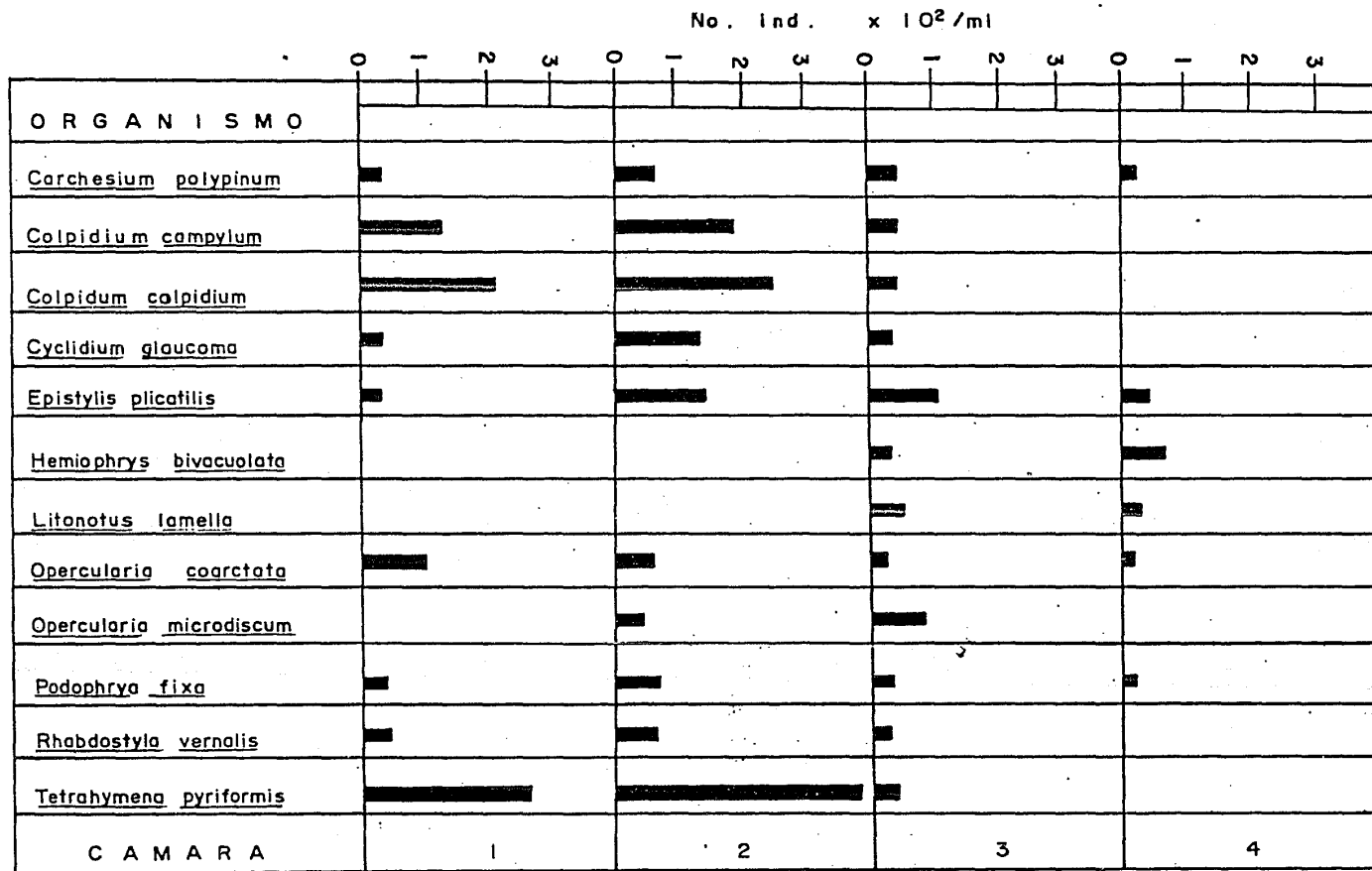


Tabla. 6. Distribución y abundancia de protozoarios ciliados en el RBR250 .

cámara 4 la riqueza de especies fue menor que en las cámaras anteriores y el número de individuos por especie resulta homogéneo.

Es importante hacer notar que al menos en las tres primeras cámara se presentó casi de manera indistinta la misma cantidad de especies y que la diferencia estuvo en función de la abundancia de cada una de estas. Lo anterior puede explicarse si se considera que además de presentarse especies "indiferentes", existe la posibilidad de cuantificar especies "accidentales" cuya presencia obedece no sólo al continuo aporte de líquido y flóculos (grumos bacterianos) que los contienen, sino además a su relativa resistencia a cambios ambientales adversos. Esto es más evidente en los peritricos, los cuales al colapsarse evitan su destrucción permitiendo, por tanto, su cuantificación.

Aunado a lo anterior, deben considerarse las especies "exclusivas" de una determinada cámara, sin olvidar que realmente su presencia se debe a las características fisicoquímicas y biológicas del líquido en tratamiento. Este tipo de organismos se presentó de manera más evidente en las últimas cámaras (3 y 4) y corresponden a ciliados holotricos cuyo tamaño es superior a los anteriores y son *Hemiophrys bivacuolata* y *Litonotus lamella*.

Los métodos biológicos empleados para estimar el nivel de contaminación orgánica del agua fueron los siguientes:

1. Estructura y función de la comunidad
2. El sistema saprobio

A continuación se desglosan estos dos puntos.

1. Estructura y función de la comunidad

Este método se basa en la riqueza y abundancia de las especies (diversidad) para inferir el grado de contaminación por materia orgánica presente en un cuerpo de agua. La diversidad aumenta a medida que hay mayor número de especies presentes, con densidad de población homogénea (entre las especies). En condiciones de contaminación orgánica reducida debe existir una gran riqueza de especies, con aproximadamente igual número de individuos. En condiciones de contaminación en altas concentraciones, la riqueza de especies debe ser menor y la densidad por especies heterogénea, de aquí que la diversidad sea inversamente proporcional a la concentración de materia orgánica disuelta.

De acuerdo con los resultados obtenidos respecto a la distribución y abundancia de los protozoarios ciliados (Tabla 6). La diversidad de especies fue disminuyendo en el siguiente orden de cámara: 3, 2, 1 y 4. Lo anterior indicaría que en ese mismo orden es el grado de contaminación presente, siendo menor en las etapas intermedias (3 y 2) que en los extremos (1 y 4). Esta primera apreciación resulta errónea si se considera que el sistema efectúa la biodegradación de manera continua. Esto es, a

medida que el líquido avanza en el RBR de la cámara 1 a la 4, se reduce su grado de contaminación, lo cual es corroborado con los análisis químicos realizados.

Una explicación parcial de lo ocurrido en el sistema (RBR) puede ser que:

- La baja diversidad relativa encontrada en la cámara inicial sea consecuencia de que el líquido que inicialmente está siendo incorporado presente características fisicoquímicas diferentes a las que contiene el líquido de la cámara. Esto ocasionaría una aclimatación más lenta de los protozoarios ciliados debido a las fluctuaciones fisicoquímicas del agua. Debe tenerse presente que, concentraciones altas de materia orgánica constituyen por sí mismas una limitante de la diversidad. Sólo se presentan aquí ciliados bacteriófagos, siendo los más abundantes *Tetrahymena pyriformis*, *Colpidium colpidium* y *C. campylum*.

- La relativamente mayor diversidad encontrada en las cámaras intermedias probablemente se deba por un lado a la continua incorporación de los ciliados generados en la cámara anterior, así como a una mayor estabilidad fisicoquímica del líquido. Por otro lado debe también considerarse la diversidad propia del líquido contenido en estas cámaras cuya concentración en materia orgánica es menor. Hay que hacer notar que algunos de los ciliados libres nadadores como *Colpidium colpidium* y *Tetrahymena pyriformis*, sufren alteraciones morfológicas. Por ejemplo, aparecen gran cantidad de vacuolas contráctiles y ruptura de la membrana celular. Los ciliados como *Epistylis plicatilis* y *Opperularia microdiscum* al pasar de la cámara inicial a las intermedias se contraen, permaneciendo inactivos por algún tiempo, después del cual su estructura se pierde.

Con base en lo anterior puede modificarse hasta cierto punto la apreciación de la diversidad hecha inicialmente, debido a que no todos los organismos presentes son propios de la calidad de agua en que se encuentran.

La última etapa (cámara 4) presenta baja diversidad, contrariamente a lo esperado para una mayor remoción de materia orgánica, quizás porque la fisicoquímica del agua resulte menos propicia para el desarrollo o permanencia de los ciliados provenientes de etapas anteriores. De los factores fisicoquímicos registrados, el pH y la relativa baja concentración de material orgánico biodegradable podrían ser los limitantes para su presencia. En esta cámara se desarrollan ciliados libres nadadores como *Litonotus lamella* y *Hemiophrys bivacuolata*, los cuales además de alimentarse de bacterias y flagelados lo hacen también de ciliados peritricos como *Opperularia* y *Epistylis*. Esto implica que la complejidad de la estructura trófica aumenta.

De manera general, los cambios en la comunidad de ciliados fueron en el sentido de ascender por los niveles tróficos, lo cual coincidió con un aumento en el tamaño de las nuevas especies

desarrolladas en cada cámara a medida que el líquido avanza por el RBR. En la cámara inicial las especies de ciliados presentes se alimentaban de detritos y bacterias, en las cámaras intermedias las especies encontradas consumían, además de lo anterior, flagelados y en la última cámara, aunado a los bacteriófagos se presentaron ciliados libres nadadores predadores de peritricos sésiles. La red alimenticia simplificada puede verse en la Figura 7.

2. El sistema saprobio

La razón de utilizar el sistema saprobio en el estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema artificial para depuración del agua, se debe a que éste reúne la mayor cantidad de información referente a la ecología de organismos presentes en aguas contaminadas con materia orgánica biodegradable, lo cual de alguna manera refleja el comportamiento global del ecosistema acuático en estudio.

Las objeciones al uso del sistema saprobio como método biológico para estimar el grado de contaminación por materia orgánica biodegradable en un cuerpo de agua, se ven por lo menos parcialmente reducidas a medida que se tiene una mayor cantidad de variables controladas. Por otro lado la información generada por Bick (1967, 1972, 1976) y por Curds *et al.* (1968, 1970) así como por Sládeček (1973, 1985) (Tabla 7), ha contribuido a reforzar la validez y utilidad de este sistema.

Entre los principales aportes realizados por los investigadores, anteriormente mencionados y que apoyan la evaluación biológica mediante ciliados están:

- El conocimiento de la valencia ecológica para una cantidad considerable de ciliados característicos de efluentes contaminados con materia orgánica biodegradable
- La compilación respecto a la diversidad de ciliados presentes en sistemas artificiales de tratamiento aerobio
- La determinación del nivel de sprobiedad más común para el desarrollo de una especie, lo cual está en función de su grado de tolerancia a la concentración de materia orgánica en solución (medida como DBO5), pudiendo existir: organismos con una amplia adecuación (Euri) a diferentes concentraciones de DBO5 denominados "malos indicadores", organismos que sólo se desarrollan en intervalos de DBO5 estrechos (Esteno) y que son considerados "muy buenos" indicadores y organismos intermedios o "buenos" indicadores.

Un líquido como el nejayote diluido, con una DBO5 de 1500 mg/l, de acuerdo con lo reportado en el sistema saprobio, no podría ser tratado por métodos biológicos aerobios sin pretratamiento químico. Esto sugiere que, de estar presente en dicha concentración en un río, el tipo de biodegradación que se efectuaría sería anaerobia, debido a que el metabolismo

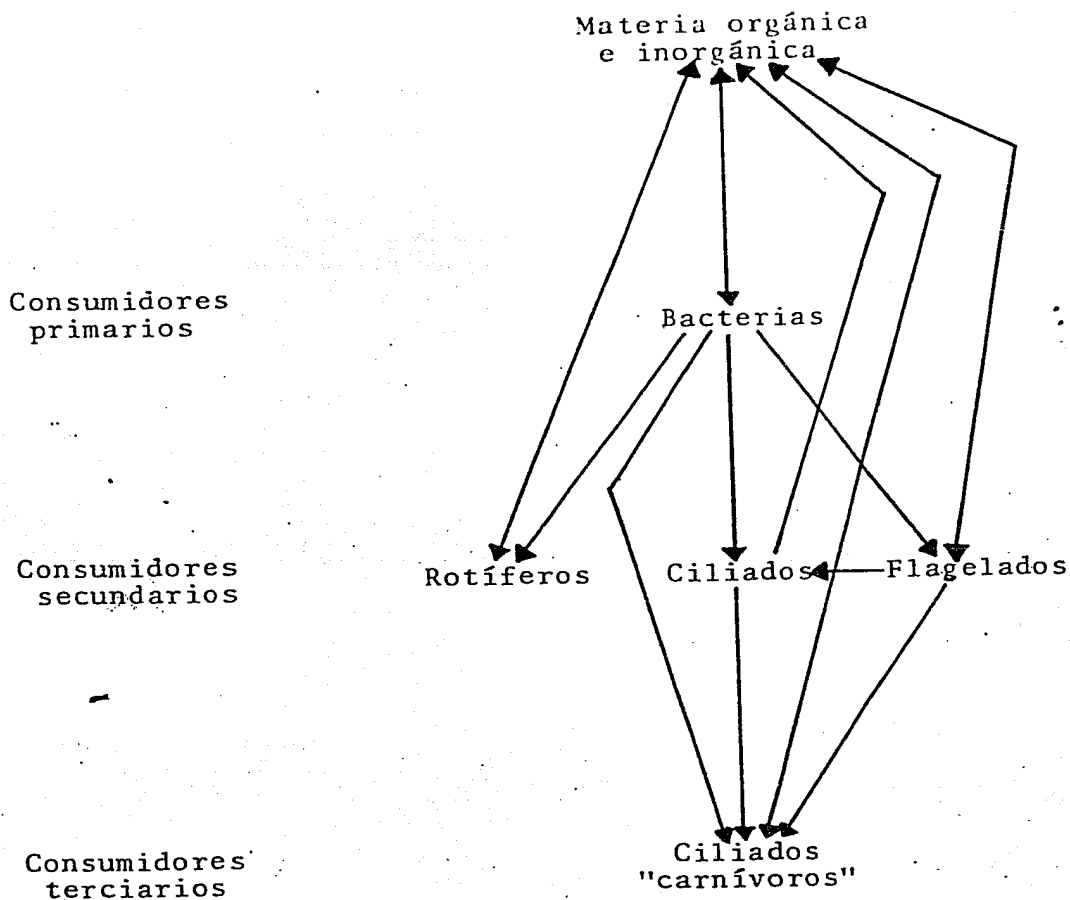


Fig. 7 Red alimenticia simplificada, presente en el RBR₂₅₀

Tabla 7. Datos ecológicos relevantes en relación a los protozoarios ciliados identificados en el RBR₂₅₀

ORGANISMO	F.P.*	L.A.*	T(°C)**	pH**	O.D.** (mg/l)	D.B.O.** (mg/l)	***
<u>Carchesium polypinum</u>	+	+	0 - 25	6.4-8.3	0.2-14	10 15	α
<u>Colpidium campylum</u>	+	+	4 - 30	4.0-8.9	0.0-11	50-100	p
<u>Colpidium colpidium</u>	-	-	- - -	- - -	- - -	- - -	-
<u>Cyclidium glaucoma</u>	+	+	1 - 51	5.7-9.8	0.0-16	10-15	α
<u>Epistylis plicatilis</u>	+	+	4 - 25	6.4-8.3	0.2-14	10 15	α
<u>Hemiophrys bivacuolata</u>	-	-	- - -	- - -	- - -	5 10	B
<u>Litunotus lamella</u>	+	-	0 - 35	6.0-9.4	0.0-13	5 10	B
<u>Opercularia coarctata</u>	+	+	10 - 22	5.0-8.0	9.0-11	10 100	α-p
<u>Opercularia microdiscum</u>	+	+	- - -	- - -	- - -	5 15	α
<u>Podophrya fixa</u>	+	+	4 - 19	- - -	- - -	10 - 100	p
<u>Rhabdostyla vernalis</u>	-	+	- - -	- - -	- - -	- - -	-
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	+	+	1 - 40	7.0-8.9	0.0-10	50 100	p

* Tomado de Curds, 1975.

** Tomado de Bick, 1976.

F.P. = filtros percoladores.

T. = temperatura.

L.A. = lodos activados.

O.D. = oxígeno disuelto.

+ = presencia de la especie.

*** Tomado de Sladeczek, 1973.

- = no reportada.

s = saprobiedad; B = beta-mesosaprobiedad;
α = alfa-mesosaprobiedad.

microbiano facultativo consumiría rápidamente el oxígeno disuelto aportado por difusión atmosférica a la capa superior del líquido. Por otro lado, el tener condiciones anaerobias en el medio acuoso resultarían limitantes para el desarrollo de los protozoarios ciliados (Curds, 1975). La utilización de estos microorganismos no podría efectuarse en la estimación de la concentración de materia orgánica presente. La presencia de bacterias permite, a su vez, la aparición de organismos bacteriófagos como los ciliados. La mayoría de los ciliados encontrados en el RBR250 han sido reportados presentes en sistemas de tratamiento de agua residual doméstica, como son lodos activados y filtros percoladores (Curds, 1975). Lo relevante en cuanto a su presencia en el sistema de biodiscos radica en que estos se encuentran a una concentración de material orgánico biodegradable (medido como DBO5) aproximadamente de 3 a 4 veces mayor que en los otros sistemas.

Las características estructurales del sistema de biodiscos y su relativo control y/o estabilidad fisicoquímica permitieron el desarrollo continuo de determinadas especies de ciliados. La distribución y abundancia de estos a lo largo del RBR aparecen en la Tabla 6. De los doce ciliados determinados, sólo cinco tuvieron alto peso indicativo ("muy buenos" indicadores), cinco un peso indicativo medio ("buenos" indicadores), mientras que para los dos restantes su peso indicativo es desconocido (Tabla 8).

Respecto a los ciliados "muy buenos" indicadores, dos corresponden al nivel polisaprobio (ρ), dos al nivel alfa-mesosaprobio (α) y uno al nivel beta-mesosaprobio (β). En cuanto a los "buenos" indicadores, se distribuyen uno para el nivel ρ , tres para el α y uno para el β (Tabla 9).

Hay que recordar que el grado de contaminación no constituye de manera real una variable discreta sino continua, por lo cual no es posible hacer una separación tajante en los niveles de saprobiedad. La división que se presenta obedece a fines prácticos.

Desde el punto de vista biológico, se lleva a cabo una sucesión de comunidades a lo largo del RBR (Tabla 10). Al inicio (cámara 1), la presencia de bacterias y flagelados, pero principalmente de cierto tipo de ciliados, sitúa al líquido que los contiene en el nivel polisaprobio (DBO5 entre 50 y 100 mg/l) a pesar de tener una DBO5 de 1500 mg/l (hipersaprobio). La cámara 2 tiene una comunidad semejante a la etapa inicial, excepto la presencia de algunos ciliados característicos del nivel alfa-mesosaprobio, por lo que su DBO5 correspondería a un intervalo entre 15 y 50 mg/l, lo cual es sumamente inferior a la concentración real (DBO5 de 900 mg/l). De manera similar la cámara 3 no presenta correspondencia entre los niveles reales de DBO5 (650 mg/l) respecto a los que con base en la comunidad microbiana, debería haber (DBO5 de 10 a 15 mg/l). Por último, la presencia de flagelados y amibas aunada a la de ciliados del nivel beta-mesosaprobio (DBO5 entre 5 y 10 mg/l) contrasta con

Tabla 8. Protozoarios ciliados indicadores de saprobiedad, presentes en el RBR₂₅₀

Protozoario ciliado	s	0	1	2	3	4	G	S
		x	o	B		p		
<u>Carchesium polypinum</u>	α			2	7	1	3	2.85
<u>Colpidium campylum</u>	p-i				1	9	5	4.7
<u>Colpidium colpidium</u>	-						--	----
<u>Cyclidium glaucoma</u>	α				9	1	5	3.1
<u>Epistylis plicatilis</u>	α			1	7	2	3	3.15
<u>Hemiophryis bivacuolata</u>	B			10			5	2.0
<u>Litonotus lamella</u>	B			8	2		4	2.2
<u>Opercularia coarctata</u>	α -p				4	6	3	3.6
<u>Opercularia microdiscum</u>	α				10		5	3.0
<u>Podophrya fixa</u>	p			1	2	7	3	3.65
<u>Rhabdostyla vernalis</u>	-						--	----
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	p-i					10	5	5.0

Tomado de Sladeczek, 1973.

s= indicación de saprobiedad por letra simple.

G= peso indicativo por especie (intervalo entre 1 y 5).

S= indice saprobio (intervalo de 0 a 5).

Tabla 9. Nivel de saprobiedad (DBO₅) y peso indicativo (G) para los protozoarios ciliados presentes en el RBR₂₅₀

Nivel de saprobiedad (DBO ₅)	Protozoario ciliado	G * peso indicativo
B (5-10)	<u>Hemiophrys bivacuolata</u>	5
	<u>Litonotus lamella</u>	4
α (10-15)	<u>Cyclidium glaucoma</u>	5
	<u>Carchesium polypinum</u>	3
	<u>Epistylis plicatilis</u>	3
	<u>Opercularia microdiscum</u>	5
	<u>Opercularia coarctata</u>	3
P (50-100)	<u>Podophrya fixa</u>	3
	<u>Tetrahymena pyriformis</u>	5
	<u>Colpidium campylum</u>	5

*

G= 5 , organismo "muy buen" indicador.

G= 3-4, organismo "buen" indicador.

G 3 , organismo "mal" indicador.

los altos contenidos de material orgánico presente (DBO5 cercana a 500 mg/l). El desarrollo de ciliados indicadores de beta-mesosaprobiedad indica que el sistema esta llegando al estadio climax de la sucesión saprobia (Sládeček, 1985), es decir, el estado estable o maduro de la sucesión de comunidades, lo cual indica que biológicamente y bajo iguales circunstancias de operación, difícilmente se podrá lograr un mayor porcentaje de remoción de material orgánico disuelto.

Desde el punto de vista químico, la concentración de materia orgánica biodegradable del líquido en tratamiento, presenta para cada etapa o cámara un nivel de contaminación superior al indicado por el tipo de ciliados que se desarrollan.

En las cámaras 1 y 2 el líquido contenido presenta DBO5 de 900 a 1500 mg/l lo cual las ubica dentro del nivel de hipersaprobiedad (500 a 2000 mg/l). La cámara 3 tiene una DBO5 cercano a 650 mg/l por lo que corresponde al nivel de metasaprobiedad. En cuanto a la cámara 4 su DBO5 está cercana a 500 mg/l, lo que la ubica entre los niveles de metasaprobiedad e isosaprobiedad (Tabla 10).

En síntesis, el fenómeno observado en el RBR es que al airear mecánicamente el líquido de alimentación, cuya concentración de material orgánico lo sitúa en el nivel eusaprobio, se permite el desarrollo de comunidades de ciliados característicos de líquidos limnosaprobios. Esto sugiere que los ciliados encontrados pueden desarrollarse en un líquido con mayor concentración de material orgánico, si se encuentra presente oxígeno disuelto en la solución. Con base en lo anterior, la aplicación del sistema saprobio a líquidos bajo tratamiento artificial hace que se aprecie un "desfasamiento" de las comunidades de ciliados respecto a la DBO5 en que han sido originalmente reportadas.

Por otro lado, considerando únicamente a los ciliados "muy buenos" indicadores que de manera continua se presentan en determinada etapa o cámara y la DBO5 en que estos se desarrollan, se puede establecer una correlación (Tabla 11): Para DBO5 entre 900 y 1500 se presentan *Colpidium campylum* y *Tetrahymena pyriformis*, mientras que para concentraciones entre 650 y 900 mg/l de DBO5 lo hacen *Cyclidium glaucoma* y *Opercularia microdiscum*. Respecto a concentraciones de DBO5 entre 400 y 500 mg/l los ciliados encontrados son *Hemiophrys bivacuolata* y *Litonotus lamella*.

C A M A R A	EN ESTE ESTUDIO			SISTEMA SAPROBIO (SLADECEK, 1973) *		
	DBO ₅ (mg/l)	ORGANISMOS	SAPROBIEDAD	DBO ₅ (mg/l)	ORGANISMOS	SAPROBIEDAD
1	1508 + 208	Bacterias Flagelados Ciliados	Polisaprobio	500 a 2000	Bacterias Hongos	Hipersaprobiedad
2	903 + 100	Bacterias Flagelados Ciliados	Polisaprobio Alfamesosa - bia	500 a 2000	Bacterias Hongos	Hipersaprobiedad
3	648 + 179	Bacterias Flagelados Ciliados Amibas	Alfa - meso saprobia Beta - meso saprobia	50 + 700	Bacterias Flagelados	Metasaprobiedad
4	488 + 110	Bacterias Flagelados Ciliados Amibas	Beta - meso saprobiedad	50 a 400 y 500 a 700	Bacterias Flagelados Ciliados	Metasaprobiedad Isosaprobiedad

Tabla 10. Comparación de saprobiedad y microorganismos registrados en este estudio - respecto al sistema saprobio.

* Ver disco de saprobiedad (Fig.3).

Tabla 11. Protozoarios ciliados más característicos para diferentes concentraciones de DBO₅ en el RBR250

Protozoarios ciliados	DBO ₅ (mg/l)
<u>Colpidium campylum</u> <u>Tetrahymena pyriformis</u>	900 - 1500
<u>Cyclidium glaucoma</u> <u>Opercularia microdiscum</u>	650 - 900
<u>Hemiophrys bivacuolata</u> <u>Litonotus lamella</u>	400 - 500

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

A continuación se presentan las conclusiones obtenidas de esta fase experimental:

1. Se encuentran protozoarios ciliados a todo lo largo del sistema de biodiscos (RBR). Diez de las doce especies identificadas se encuentran reportadas dentro del sistema saprobio y como habitantes comunes de sistemas de tratamiento aerobio.
2. Las doce especies identificadas, se distribuyen de la siguiente manera: Familia Tetrahymenidae, tres especies; Familia Amphileptidae, Epistylidae y Operculariidae, dos especies cada una; Familia Podophyridae, Cyclidiidae y Vorticellidae con una especie cada una.
3. Los parámetros de temperatura y pH permanecieron estables a lo largo del RBR. La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo con niveles superiores a 2 mg/l. La concentración de materia orgánica disminuyó paulatinamente a lo largo del sistema, siendo más evidente su remoción en la primera etapa del RBR.
4. La distribución de ciliados está en estrecha relación con el contenido de materia orgánica presente (medida como DBO5).
5. El método biológico para evaluar la calidad del agua propuesto por Cairns resulta complejo en su aplicación directa al RBR, por lo cual puede conducir a interpretaciones erróneas.
6. Resulta factible estimar la concentración de material orgánico disuelto biodegradable (medido como DBO5) a partir de protozoarios ciliados, siempre y cuando se haya realizado previamente la caracterización simultánea y posterior correlación de parámetros fisicoquímicos y análisis biológicos del agua contenida en el sistema de tratamiento empleado.
7. La correlación establecida por el sistema saprobio entre protozoarios ciliados y DBO5 se ve desfasada al aplicarla al RBR. Esto se debe principalmente a la incorporación mecánica de oxígeno a la fase líquida en tratamiento.
8. La sucesión de comunidades microbianas, de manera particular las de ciliados, resulta semejante a lo indicado por el sistema saprobio. De manera general, los cambios de comunidad fueron en el sentido de ascender por los niveles tróficos, aumentando así la complejidad de la red trófica o cadena alimenticia.

9. A pesar de que, de acuerdo con la escala saprobia, las aguas tratadas en el RBR se consideran dentro de los niveles hiper, meta e isosaprobios, el tipo de microorganismos encontrados corresponden a las escalas poli, alfa y betamesosaprobios. Esto indica que es posible tratar aguas de desecho con concentraciones mayores a las que actualmente se alimentan al reactor, con la ventaja de disminuir la relación de dilución que se emplea.
10. Es posible entonces tratar, mediante el RBR, líquidos con una concentración mayor de 1500 mg DBO5/l de material orgánico disuelto biodegradable.
11. Para optimizar la eficiencia de un sistema de tratamiento biológico es indispensable el conocimiento de las comunidades que en él intervienen y su correlación con los parámetros fisicoquímicos. La continua interacción de factores fisicoquímicos y biológicos, debe contemplarse simultáneamente en la evaluación de un sistema de tratamiento.
12. Se considera que no está agotado el estudio taxonómico y ecológico en el sistema biológico de tratamiento empleado, por lo que se recomienda continuar los estudios iniciados en este trabajo, con objeto de sistematizar las metodologías instrumentadas aquí.

5.2. RECOMENDACIONES

De acuerdo con las conclusiones presentadas, se formulan las siguientes recomendaciones:

1. Continuar los estudios de caracterización de la comunidad de ciliados en condiciones de operación prácticamente iguales.
2. Realizar pruebas predictivas de concentración de materia orgánica medida como DBO5 en función de la presencia de ciliados indicadores.
3. Aumentar sistemáticamente la concentración de materia orgánica suministrada al RBR procurando mantener el líquido en condiciones aerobias.
4. Tratar de ajustar el pH del líquido entre 6.5 y 7.5 unidades.
5. Observar el comportamiento del sistema de biodiscos a temperaturas mayores a 15 °C.

BIBLIOGRAFIA

- Alvarez, A. 1986. Diseño y construcción de un reactor biológico rotatorio para tratamiento aerobio de efluentes. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM.
- Alvarez, A.; Escárcega, C.; Pulido, R. y Durán de Bazúa, C. 1985. Diseño, construcción y puesta en marcha de un reactor biológico rotatorio (RBR) para el tratamiento de aguas residuales. Análisis de su comportamiento durante el arranque y operación. Memorias del VI Encuentro Nacional de la AMIDIQ. Marzo 21-22. Universidad de las Américas y UAM-I. 19 págs.
- A.P.H.A. 1981. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 14a. Ed. 1134 págs. Washington.
- Bernis, M.T. 1968. Atlas de Microscopía. Ediciones Jover. 86 págs. Barcelona.
- Bick, H. 1963. A review of central european methods for the biological estimation of water pollution levels. *Bull. Org. Mond. Santé*, 29:401-413.
- Bick, H. 1972. An illustrated guide to ciliated Protozoa used as "Biological Indicators". En *Fresh Water Ecology*. Fasc. I-IX, W.H.O.
- Bick, H. 1976. Zusammenstellung von autökologischen und saprobiologischen Befunden. *Arch. Hydrobiol.* 20:338-384.
- Cairns, J., Lanza, R.G. y Parker, C.B. 1972. Pollution related structural and functional changes in aquatic communities with emphasis in freshwater Algae and Protozoa. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 124(5):79-127.
- Civit, E.; Durán de Bazúa, C.; Engelmann, G.; González, S. y Hartmann, L. 1984. Anaerobic treatment of maize processing wastewater (Nejayotla) in a packed-bed reactor cascade. *Environm. Technol. Letters*, 5(2):89-94.
- Corliss, J.O. 1966. The Ciliated Protozoa. Pergamon Press. 455 págs. Oxford.
- Curds, C.R. 1975. Protozoa. En *Ecological Aspects of Used-Water Treatment*. Ed. Curds, C.R. y Howkes, H.A. Academic Press, Pp. 203-268. Londres.
- Curds, C.R., Cockburn, A. and Vandyke, J.M. 1968. An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated-sludge process, *J.W.P.C.E.* 67:312-329.
- Curds, C.R. and Cockburn, A. 1970, Protozoa in biological sewage treatment process. I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated sludge plants.

- Curds, C.R. and Cockburn, A. 1970. Protozoa in biological sewage treatment process. II. Protozoa as indicators in the activated sludge process. *Water Research*, 4:237-249.
- Curtis, E.J.C. and Curds, C.R. 1971. Sewage fungus in rivers in the United Kingdom: The slime community and its constituent organisms. *Water Research*, 5:1147-1159.
- Czapik, A. 1968. La famille Tetrahymenidae et son importance dans la systématique et l'évolution des ciliés. *Acta Protozool.* 5:315-357.
- D.G.C.O.H. 1982. El sistema hidráulico del Distrito Federal, un servicio público en transición. México. 1278 págs.
- Duncan, M.D. 1976. Sewage Treatment in Hot Climates. John Wiley and Sons. Londres. 168 págs.
- Durán de Bazúa, C. 1983. Tratamiento de los efluentes de la industria del maíz en México. Tesis doctoral. Universidad de Karlsruhe, R.F.A. Versión en español. Pub. Facultad de Química UNAM. 263 págs.
- Edmonson, W.T. 1959. Fresh water Biology. 2a. Ed. John Wiley and Sons, Inc. 1245 págs. Nueva York.
- Escárcega, C.A. y Pulido, R. 1986. Modelo cinético para un reactor biológico rotatorio usado en el tratamiento aerobio de efluentes. *Tesis Licenciatura*. Facultad de Química, UNAM.
- Famularo, J., Muller, J. y Mulligan, T. 1978. Application of mass transfer to rotating biological contactors. *J.W.P.C.E.*, 50:633, 671.
- Fernández-Galiano, D. 1985. Los protozoos y la contaminación de las aguas dulces. III. Curso y Simposio sobre biología de la contaminación. Pp 16-17. ENEP, Iztacala, UNAM.
- Gaviño, T.G., Juárez, L.C. y Figueroa, T.H. 1972. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo. Limusa. 251 págs.
- García, C.J. 1982. Generalidades sobre análisis de zooplancton de agua dulce. SARH. Departamento de Bioecología. 54 págs. México.
- González, S. 1986. Tratamiento de aguas de desecho de la industria del nixtamal. Instituto de Ingeniería, UNAM. 94 págs.
- Hartmann, L. y Durán de Bazúa, C. 1981. Biological treatment of maize processing effluents (Nejáyote) in batch and continuous laboratory tests. En *Proc. 2th. World Congress*

- of Chemical Engineering. Pp. 601-605. Montreal.
- Jahn, F.T., Bovee, E.C. y Jahn, T.L. 1979. How to Know the Protozoa. W.M.C. Brown Co. Dubuque, Iowa, 279 págs.
- Kahl, A. 1930-1935. Urtiere oder Protozoa. I. Wimpertiere oder Ciliata (Infusorien). Ein Bearbeitung der freilebenden und ectocommensalen Infusorien der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae. En *Die Tierwelt Deutschlands*. Ed. F. Dahl. Gustav Fisher Verlag, Jena. Teil 18 (1930), 21 (1931), 25 (1932), 30 (1935), Pp. 1-886.
- Kinner, E.N. 1984. An evaluation of feasibility of using protozoa and metozoa as indicators of RBR effluent quality. En *Proc. Second International Conference on Fixed-Film Biological Process*, 1:74-122.
- Krebs, C.J. 1985, *Ecologia*, 2a. Ed. Harla. 753 págs. México.
- Kudo, R.R. 1969. *Protozoologia*. CECSA. 905 págs. México.
- López-Ochoterena, E. 1965. Ciliados mesosapróbicos Chapultepec. Sistemática, Morfología, *Ecologia*. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat (Méx)*, 26:115-247.
- Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E.G., Deroux, G., Grain, J., Honlgberg, B.M., Leedale, G.F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynns, D., Merinfeld, E.G., Page, E.C., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J. y Wallace, F.G. 1980. A newly revised classification of the Protozoa. *J. Protozool*, 27(1):37-58.
- Margaleff, R. 1975. *Ecologia*. Omega. 951 págs. Barcelona.
- Montesinos, M.A. y Durán, C. 1987. Estudio dinámico de un reactor biológico en la producción de proteína microbiana. En publicación. *Rev. Tecnol. Aliment. (Méx.)*.
- Moreno, R.G., 1985. Análisis de protozoarios en un sistema de biodiscos empleado en la planta de tratamiento de C.U. *tesis Profesional*. Facultad de Ciencias, UNAM. 90 págs.
- Norouzian, M. 1984. La microbiología de procesos de película fija. *Inst. Ingeniería*. UNAM. 14 págs.
- Norouzian, M. y Deloya, M.M. 1984. Estudio del comportamiento de una unidad de biodiscos estructuralmente modificada. *Pub. Inst. de Ingeniería*, UNAM. Pp. 123-142.
- Odum, P. 1971. *Ecologia*. Interamericana. 3a. Ed. 693 págs. México.
- Paenaa, A. y Middlebrooks, J.K. 1982. The kinetics of rotating biological contactors at temperatures: 5 C, 15 C y 20 C. En *Proc. First International Conference of Fixed-Film*

Biological Processes, 1:261-305.

- Pedroza, R. y Durán, C. 1985. Producción de proteína unicelular de desechos (PUDC) a partir de efluentes de la industrialización del maíz para consumo humano. *Rev. Tecnol. Aliment. (Méx.)*, 20(6):3-10.
- Pedroza, R. 1985. Estudio de la degradación biológica aerobia de los efluentes de la nixtamalización. *Tesis de Maestría*, Universidad Iberoamericana. 163 págs.
- Saavedra, S.J. 1982. Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de la calidad del agua del Lago de Patzcuaro, Michoacán. *Tesis profesional*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Sládecek, V. 1973. System of water quality from the biological points of view. *Arch. Hydrobiol.* 7:1-218.
- Sládecek, V. 1985. System of Water Quality. III. Curso y Simposio sobre Biología de la Contaminación. ENEP, Iztacala, UNAM. Pp. 50-54.
- Sleigh, M.A. 1979. *Biología de los Protozoarios*. H. Blume págs. Madrid.
- Wilkinson, S.F. 1976. *Introducción a la Microbiología*. H. Blume, 161 págs. Madrid.

APENDICE A

DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO)

METODO VOLUMETRICO DE REFLUJO CON DICROMATO DE POTASIO (APHA, 1981)

FUNDAMENTOS:

El método se basa en una oxidación enérgica de la materia orgánica y la inorgánica oxidable que se encuentra en el agua, en un medio fuertemente ácido, con una solución valorada de dicromato de potasio. El exceso de agente oxidante se determina con una solución valorada de sulfato ferroso amoniacal, en presencia de un complejo ferroso de ortofenantrolina (ferroin indicador) como indicador interno.

INTERFERENCIAS:

Las sustancias inorgánicas como los iones ferroso (Fe^{++}), sulfato ($S=$), sulfitos (SO_3) y tiosulfatos (S_2SO_3) se oxidan bajo ciertas condiciones y crean una DQO inorgánica, la cual interfiere cuando se estima el contenido del agua residual.

El ión cloruro interfiere, pero se elimina al agregar el sulfato mercúrico.

Nota: Mediante esta prueba no es posible conocer el tipo de compuestos orgánicos presentes, ni diferenciar entre material biodegradable y sustancias tóxicas, por lo cual sólo constituye un análisis para la determinación de carbono orgánico total.

REACTIVOS.

- Solución acuosa de dicromato de potasio 0.25 N
- Sulfato de plata (cristales)
- Solución de sulfato de plata en ácido sulfúrico. Esta se prepara disolviendo 22 g de sulfato de plata en 4 Kg de ácido sulfúrico. La solución debe protegerse de la luz.
- Acido sulfúrico concentrado
- Solución indicadora de ferroina
- Solución de sulfato ferroso amoniacal para valoración en una concentración aproximada de 0.05 N
- Sulfato mercúrico

PROCEDIMIENTO

Tratamiento de la muestra

1. Centrifugar las muestras por analizar (3 600 rpm a 5 °C durante 15 min.)

2. Poner en el recipiente de reflujo:
 - 10 ml de muestra diluida (con agua destilada) en proporciones 1:50 para muestras concentradas y 5:50 para aquellas provenientes del sistema de tratamiento. En la preparación del blanco (testigo) se utilizaban 10 ml de agua destilada como muestra.
 - 0.2 g de sulfato mercúrico
 - 5 ml de dicromato de potasio 0.25N
3. Colocar el refrigerante y añadir lentamente 15 ml de solución de plata en ácido sulfúrico concentrado.

Reflujo:

4. Colocar los matraces en la parrilla eléctrica, manteniéndolas en reflujo durante dos horas.

Valoración de la muestra:

Al acabarse el reflujo, una parte del dicromato ya ha reaccionado con la materia orgánica. El dicromato restante se valora de la siguiente manera:

- Agregar al recipiente de reflujo 40 ml de agua destilada y dos gotas de ferroin indicador, homogeneizar.
- Titular con sulfato ferroso amoniacal 0.05 N. El punto final de la valoración (titulación) es el cambio de coloración de azul verdoso a café rojizo.

CALCULO

La fórmula empleada es la siguiente:

$$\text{mg DQO/l} = (a-b) N \cdot 8000/\text{ml muestra (f)}$$

donde:

- a= Volumen de sulfato ferroso amoniacal gastado para valorar el blanco (testigo).
- b= Volumen de sulfato ferroso amoniacal gastado para valorar la muestra.
- N= Normalidad del sulfato ferroso amoniacal.
- f= Fracción volumétrica decimal de la muestra inicial en la solución de la cual se tomó la alícuota de 10 ml para la determinación.

Normalidad del sulfato ferroso amoniaco (SFA)

En un matraz se coloca:

- 10 ml de dicromato de potasio 0.05 N
- 40 ml de agua destilada
- 10 ml de ácido sulfúrico concentrado (enfriando constantemente)

Después de enfriar se le agregan 2 gotas de ferroin indicador y se agita.

Valoración:

La solución anterior se titula con sulfato ferroso amoniaco con una normalidad aproximada de 0.05 y se anotan los ml gastados para lograr el cambio de color a café rojizo.

$$N_{\text{SFA}} = \frac{\text{ml de dicromato de potasio } 0.05\text{N} \times \text{normalidad del mismo}}{\text{ml de SFA empleados en la titulación}}$$

$$N_{\text{SFA}} = \frac{10 \times 0.05}{\text{ml SFA empleados}}$$

$$N_{\text{SFA}} = \frac{0.5}{\text{ml SFA empleados}}$$

TEMPERATURA (°C) .

Fecha	A	1	2	3	4
14-11-86	14.6	12.6	12.6	12.1	12.0
18-11-86	15.4	11.8	11.3	11.2	11.2
19-11-86	14.8	9.9	9.7	9.5	9.4
24-11-86	15.8	13.7	13.2	13.2	13.1
25-11-86	14.5	13.0	13.1	12.6	12.6
27-11-86	12.7	10.1	10.0	9.7	9.7
03-12-86	14.3	13.0	12.7	12.5	12.4
05-12-86	13.5	10.8	10.5	10.4	10.2
15-12-86	13.7	11.7	11.4	11.3	11.2
19-12-86	12.5	9.5	9.3	9.1	9.1
20-12-86	12.6	10.1	9.6	9.5	9.3
21-12-86	12.7	10.8	10.4	10.3	10.1
22-12-86	13.2	9.1	8.8	8.7	8.6
23-12-86	12.2	8.6	8.1	7.9	7.8
24-12-86	11.0	6.2	6.4	6.0	5.8
26-12-86	11.3	7.3	7.2	6.9	6.7
29-12-86	12.1	10.5	10.1	9.9	9.8
30-12-86	12.4	8.7	8.3	8.1	8.0
31-12-86	11.1	8.1	7.8	7.5	7.2
\bar{x}	13.2	10.3	10.0	9.8	9.7
σ	1.4	2.0	1.9	2.0	2.0

Fecha	A	1	2	3	4
14-11-86	6.27	7.92	8.14	8.22	8.28
18-11-86	6.67	8.01	8.15	8.21	8.27
19-11-86	4.90	7.78	7.95	8.06	8.03
24-11-86	5.67	7.94	7.98	8.08	8.14
25-11-86	9.55	7.99	7.97	8.12	8.19
27-11-86	7.42	8.02	8.04	8.06	8.15
03-12-86	7.85	8.01	8.06	8.12	8.20
05-12-86	7.73	7.95	8.06	8.12	8.20
15-12-86	13.50	7.96	8.03	8.09	8.17
19-12-86	6.43	7.98	8.16	8.19	8.15
20-12-86	5.63	7.96	8.16	8.20	8.30
21-12-86	9.18	8.05	8.17	8.20	8.29
22-12-86	5.51	8.02	8.17	8.20	8.28
23-12-86	9.00	8.03	8.14	8.17	8.28
24-12-86	8.99	8.17	8.20	8.24	8.34
26-12-86	8.96	7.98	8.15	8.20	8.27
29-12-86	9.15	8.05	8.14	8.19	8.24
30-12-86	8.80	8.06	8.17	8.22	8.27
31-12-86	6.67	7.92	8.14	8.19	8.26
\bar{x}	7.80	8.00	8.10	8.20	8.20
σ	2.03	0.08	0.08	0.06	0.08

CONDUCTIVIDAD (μ mhos/cm) a 25°C.

Fecha	A	1	2	3	4
14-11-86	2480	1677	1310	1179	1179
18-11-86	1936	1703	1197	1139	1139
19-11-86	1845	1918	1375	1242	1650
24-11-86	2375	2134	1088	1280	1280
25-11-86	1612	1920	1792	1290	1226
27-11-86	1928	1370	1233	1238	1238
03-12-86	1883	1792	1542	1290	1161
05-12-86	1890	1904	1485	1283	1224
15-12-86	1883	1841	1452	1264	1206
19-12-86	2580	1656	1251	1260	1400
20-12-86	2322	2055	1518	1242	1251
21-12-86	2185	2144	1620	1360	1233
22-12-86	2032	2240	1807	1420	1420
23-12-86	2340	2272	2885	1450	1305
24-12-86	2412	2584	1957	1520	1368
26-12-86	2128	2205	1764	1480	1332
29-12-86	1965	2025	1781	1439	1370
30-12-86	2064	2115	1716	1450	1305
31-12-86	2546	2175	1898	1600	1332
-					
X	2127	1986	1562	1338	1296
σ	276	279	267	125	118

O X I G E N O D I S U E L T O (mg/l).

Fecha	1	2	3	4
14-11-86	3.25	4.18	5.59	5.84
18-11-86	3.95	5.15	5.60	5.20
27-11-86	3.90	4.28	5.52	5.57
03-12-86	3.20	3.10	4.00	4.90
15-12-86	3.30	3.67	4.28	5.04
19-12-86	3.24	5.18	5.30	4.35
20-12-86	3.00	3.50	4.50	5.00
21-12-86	3.63	3.53	3.90	4.50
22-12-86	3.37	4.15	4.30	4.96
23-12-86	3.40	4.00	4.50	4.96
24-12-86	4.00	4.65	4.96	5.64
26-12-86	3.50	5.02	5.20	5.40
\bar{x}	3.43	4.20	4.80	5.11
σ	0.35	0.69	0.63	0.44

DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (mg/l).

Fecha	A	1	2	3	4
05-11-86	4685	4270	3518	3040	3547
21-11-86	4734	4900	4134	3300	3000
26-11-86	5300	4367	3934	3667	3400
14-12-86	4343	4032	4327	4261	3934
19-12-86	6622	4164	3770	3278	3246
22-12-86	6406	4488	4277	3642	3415
24-12-86	4250	4244	4163	3707	3642
29-12-86	4958	3768	3669	3306	3239
\bar{X}	5162	4279	3974	3525	3428
σ	899	332	298	378	285

$$\% \text{remoción total} = \frac{5162 - 3428}{5162} \times 100 = 33.6\%$$

APENDICE B

Para la identificación de algunos protozoarios es necesario aumentar la abundancia que de estos se tiene, para lograrlo se recurre a los métodos de cultivo.

Los protozoarios de vida libre se cultivan, por lo general durante un tiempo más o menor prolongado manteniéndolos en frascos, cajas petri o cristalizadores con agua de su propio medio. Posteriormente, se proporciona un medio líquido rico en materia orgánica en solución, de tal modo que permita la proliferación de bacterias y consecuentemente de protozoarios bacteriófagos.

En el presente estudio, aún cuando las muestras analizadas contenían gran abundancia de bacterias para mantener y permitir el incremento de los ciliados presentes, se proporcionó al inicio de cultivo de 10 a 15 ml de infusión de chicharo (1 grano en 100 ml de agua) con el fin no sólo de mantener suficiente materia orgánica en disolución (alimento bacteriano), sino evitar el desecamiento (por evaporación) de la muestra.

Dado que los ciliados libres nadan en forma tan activa su observación es difícil. Debido a esto, es necesario utilizar substancias que retarden sus movimientos natatorios, procurando no alterar o alterando minimamente la estructura celular.

Se utilizaron:

- Solución de cloruro de magnesio al 2.5%
- Solución de yoduro de potasio o yoduro de sodio al 1%
- Gliceraldehido 5%
- Solución yodatada de lugol:
 - 4 g de yodo metálico
 - 100 ml de solución de yoduro de potasio al 6%
 - 100 ml de agua

En general los métodos de coloración están destinados a poner de manifiesto diferentes estructuras celulares de interés taxonómico que serán observables o lo serían difícilmente sin esta operación.

De manera particular, se pueden considerar las coloraciones vitales como procedimiento intermedio entre el examen fresco y la tinción después de fijación. Tienen por objeto poner relieve detalles estructurales sin causar la muerte del organismo sometido a observación (Bernis, 1968).

A continuación se desglosan algunas de las preparaciones de colorantes y su uso específico.

Preparación de colorantes

Uso

Solución de azul de metileno
1 g de polvo azul de metileno
0.6g de cloruro de sodio
100 ml de agua destilada

Son colorantes simples básicos la concentración a la que se preparan es variable 1/500; 1/1000, ò 1/10000 según el caso, producen poca deformación en los microorganismos dada la baja concentración a la que se utilizan.

Solución de verde de Metilo
1 g de polvo verde de metilo
100 ml de agua destilada

Tiñen nucleo (verde de metilo) (Gaviño *et al*, 1972).

Solución de nigrosina
1 g de polvo de nigrosina
100 ml de agua destilada

Destaca sobre fondo obscuro detalles de ciliatura, así como vacuolas, causando poco daño a la estructura celular, puede usarse en frotis o en fresco (Kudo, 1969; Bernis, 1968).

Solución de lugol
1 g de yodo metálico
1.5g de yoduro de potasio en polvo
25 ml de agua destilada

La solución se descompone fácilmente. Permite apreciar claramente la ciliatura somática de algunos ciliados libres nadadores (Kudo, 1969).

En ocasiones, la observación de los protozoarios no puede ser inmediata por lo cual se deben emplear sustancias que permitan su preservación para algún tiempo, permitiendo así un estudio posterior. Estas sustancias se conocen como fijadores. Los líquidos fijadores más comunes son:

- Formol al 3%
- Alcohol etílico al 70%
- Acido ósmico 0.25%
- Shaudin

TECNICA DE KLEIN

Entre las técnicas más usuales para demostrar la distribución y especialización de cilios a partir de impregnación de plata en la corteza celular se encuentra la técnica de Klein (1926), la cual consiste de los siguientes pasos:

- Colocar una gota de cultivo sobre un cubreobjetos, extenderla con una aguja de disección y dejarla secar.
- Introducir el cubreobjetos en una solución de nitrato de plata al 5% durante 5 minutos.

- Lavar con agua destilada dos veces.
- Colocar el cubreobjetos en una caja de Petri con fondo blanco y agua destilada bajo una lámpara de rayos ultravioleta durante 5 minutos.
- Lavar con agua destilada.
- Dejar secar al aire.
- Montar en bálsamo de Canadá.

La técnica de Klein no utiliza ningún fijador, sino simplemente se deja secar, esto puede hacer que los organismos sufran una leve deformación. Sin embargo, es una técnica que resalta las estructuras argentófilas, tales como los cinetosomas, las cinetias, los poros de las vacuolas contráctiles, el citostoma y el citoprócto.

Hematoxilina de Delafield (Mordente incorporado)

- Colocar una gota de la muestra.
- Fijar con Shaudin hasta que seque la gota.
- Colocar en alcohol de 70%
- Hidratar en alcoholes de 50, 40 y 30% (3 min en cada uno)
- Teñir con hematoxilina durante 15-30 min
- Pasar a alcohol acidulado al 2%
- Lavar con agua de la llave
- Deshidratar con alcoholes de 30, 40, 50, 70, 100 y xilol, aclarar y montar

Este método de tinción ofrece buenos resultados con la coloración del núcleo.

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO EN CINCO DIAS (DBO5)

METODO DE INCUBACION A 20°C.

FUNDAMENTO:

El método se basa en la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de 5 días de incubación a 20°C.

INTERFERENCIAS:

Interfieren con la determinación de DBO, la acidez o alcalinidad presentes en las aguas, el cloro residual, una sobresaturación de oxígeno disuelto, la presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos y los procesos de nitrificación.

Estas interferencias pueden removerse si se le da un pretratamiento a la muestra.

Nota: La extrapolación de los resultados de DBO5 a cuerpos de agua es altamente cuestionable, debido a que el ambiente de laboratorio no reproduce las condiciones naturales tales como temperatura, luz solar, poblaciones biológicas, movimiento del agua y concentración de oxígeno.

No deben compararse resultados de DBO5 realizados en circunstancias diferentes.

En la determinación de la DBO5 se utilizó el aparato Vortin-Sapromat B6 el cual proporciona los requerimientos especificados por la APHA (1981).

DESCRIPCION DEL APARATO VOITH-SAPROMAT B6 220V, 60 Hz.

El Sapromat tipo B6 (6 unidades) consiste de un graficador directo de curvas de descomposición, una unidad de enfriamiento y un baño de agua con temperatura controlada el cual contiene seis unidades de medición (Fig. 8).

Cada unidad de medición (Fig. 9) está formada por un vaso de reacción (C), con un captador de CO₂ (3) montado en el tapón, un generador de oxígeno (B), y un indicador de presión (A), interconectadas con mangueras. El vaso del sistema de medición está sellado, así que las fluctuaciones de la presión del aire (barométricas) no afectan adversamente los resultados.

La barra magnética (1) en la muestra (2) por ser analizada, provee de agitación vigorosa, resultando así un efectivo cambio de gases.

La actividad de los microorganismos en la muestra crea un

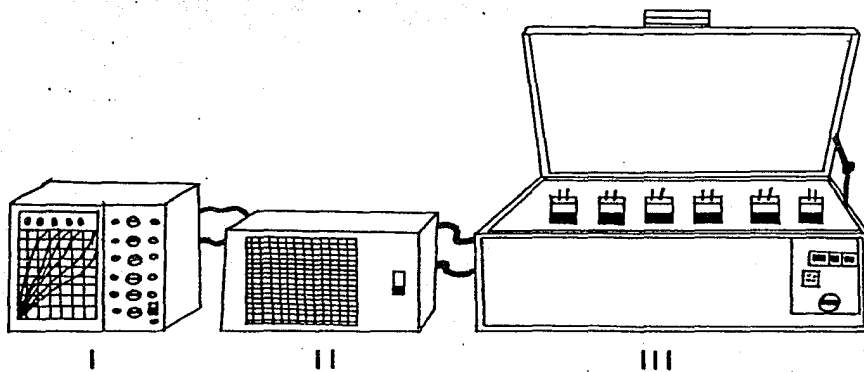


Fig. 8 Voith - Sapromat B6

I Graficador de curvas

II Unidad de enfriamiento

III Baño de agua con temperatura controlada

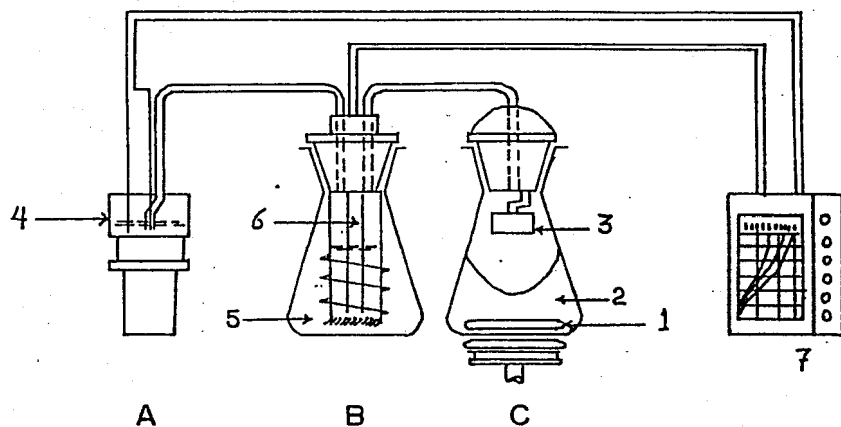


Fig. 9 Diagrama de una unidad de medición

A. Indicador de presión

B. Generador de oxígeno

C. Vaso de reacción

1. barra magnética

2. muestra (250)ml.)

3. captador de CO₂

4. indicador de presión

5. electrolito

6. electrodos

7. registro (graficador)

vacio que es registrado por un indicador de presión. Este controla tanto el oxígeno generado electrolíticamente como la indicación y grafica de los valores medidos (Puntos 5, 6 y 7 de la Fig. 9).

Cuando el análisis del efluente (por determinación de valores de KMnO_4 o de demanda química de oxígeno (DQO) indica que la DBO_5 puede exceder de 1000 mg O_2/l , entonces se diluye la muestra. En el presente trabajo la dilución empleada fue de cinco, ya que empleaban 50 ml de muestra no diluida más 200 ml de agua corriente, dado que la DQO inicial (alimentación) era de 5000 mg O_2/l .

El valor numérico aparecido en el indicador digital y el de la línea de puntos graficada deben ser multiplicados por el factor de dilución "f"

$$f = \frac{\text{VT}}{\text{X}} \qquad f = \frac{250}{50} = 5$$

donde: VT= volumen total (ml)

X= volumen de muestra no diluida (ml)

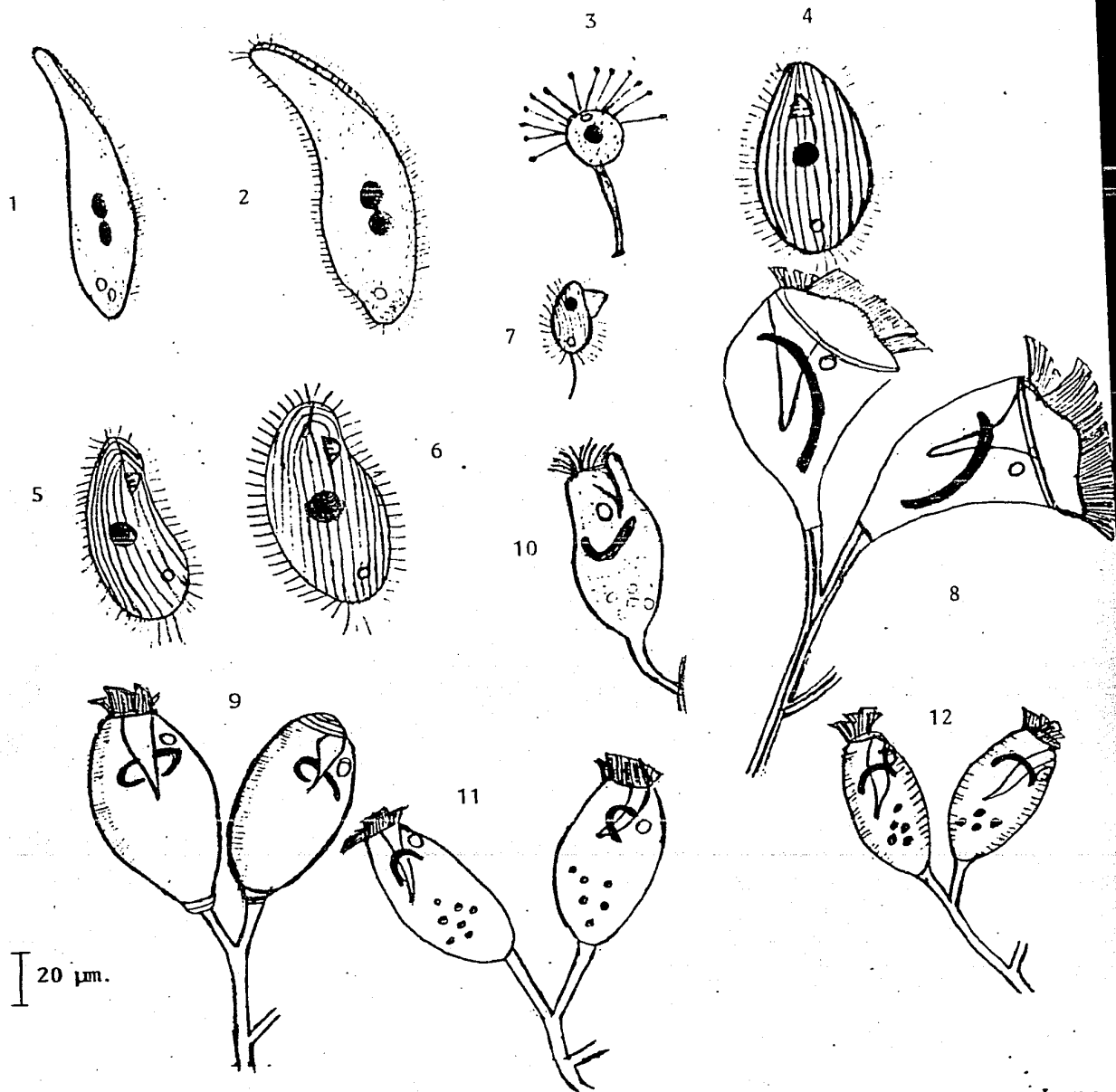
PROCEDIMIENTO:

1. Obtención de muestras centrifugadas provenientes tanto de la alimentación como de las cuatro cámaras que forman el sistema de tratamiento (3 600 rpm a 5°C, durante 15 min).
2. Depositar en el vaso de reacción 50 ml de muestra más 200 ml de agua corriente así como una barra de agitación.
3. Colocar en el tapón del vaso de reacción cal de sodio granulada (para captar CO_2 producido) previo calentamiento a 103°C durante una hora.
4. Cerrar y asegurar el tapon al vaso de reacción.
5. En el graficador realizar las anotaciones pertinentes (fecha, hora, procedencia de la muestra y color correspondiente en la gráfica) y ajustar los indicadores digitales (perillas) a cero.
6. Introducir el vaso de reacción en el baño de agua.
7. Realizar las conexiones necesarias de mangueras y electrodos.
8. Encender el mecanismo de agitación y regulación de temperatura así como el graficador.
9. Ajustar el indicador de presión.
10. Registrar después de cinco días la lectura obtenida en las perillas del graficador y retirar las muestras.

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (mg/l).
EN CINCO DIAS.

Fecha	A	1	2	3	4
05-11-86	1515	815	505	415	290
21-11-86	1430	825	460	370	300
14-12-86	1450	820	580	440	405
19-12-86	1190	1030	845	675	595
26-12-86	1670	915	605	480	420
29-12-86	1790	1015	890	550	495
\bar{x}	1508	903	648	488	418
σ	208	100	179	110	116

$$\% \text{remoción total} = \frac{1508 - 418}{1508} \times 100 = 72\%$$



L A M I N A 1. Fig. 1 Hemiophrys bivacuolata forma typica. Kahl. Long. 90-110 μ m. Fig. 2 Litonotus lamella. (Ehrenberg). Long. 80-110 μ m. Fig. 3 Podophrya fixa. (Quennerstedt). Long. 20-38 μ m. Fig. 4 Tetrahymena pyri-formis (Ehrenberg). Long. 30-50 μ m. Fig. 5 Colpidium campylum. (Stokes). Long. 45-50 μ m. Fig. 6 Colpidium colpidium. (Schewiakoff). Long. 50-60 μ m. Fig. 7 Cyclidium glaucoma. O. F. Muller. Long. 20-30 μ m. Fig. 8 Carchesium polypinum. Linnaeus. Long. 80-110 μ m. Fig. 9 Epistylis plicatilis. (Ehrenberg). Long. 70-100 μ m. Fig. 10 Rhabdostyla vernalis. Stokes. Long. 48-56 μ m. Fig. 11 Opercularia coarctata. Claparede y Lachmann. Long. 60-75 μ m. Fig. 12 Opercularia microdiscum. (Fauré-Fremiet). Long. 50-60 μ m.

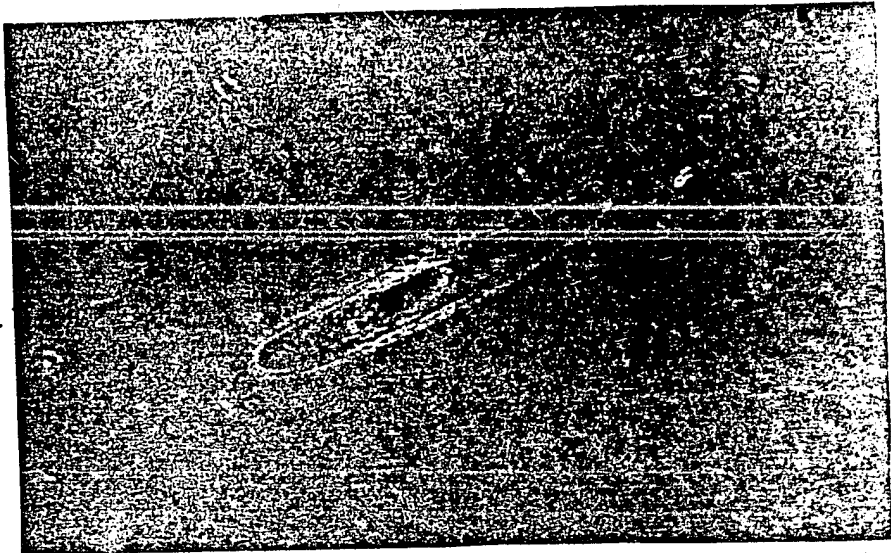


Fig. 1 Hemiophrys bivacuolata forma typica. Kahl. In vivo, con
traste de fases. 40X .

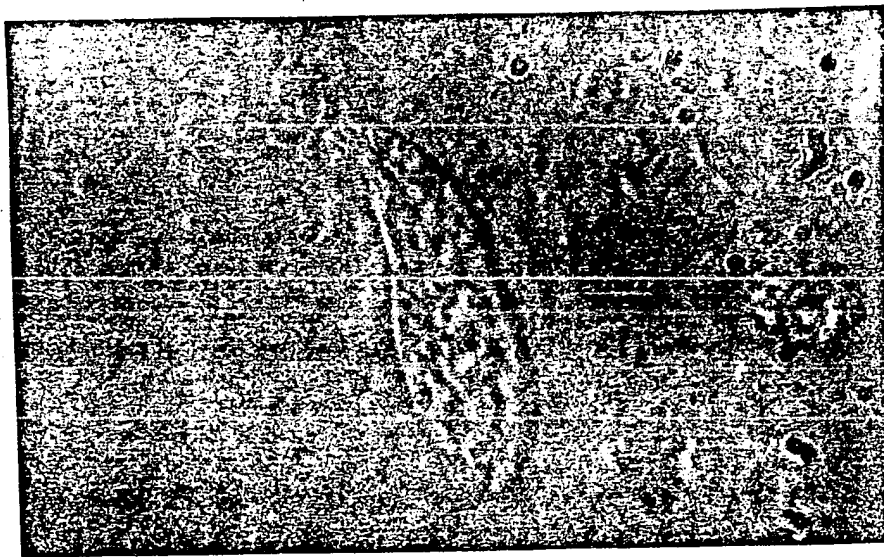


Fig. 2 Litonotus lamella Fauré-Fremiet. In vivo, contraste de
fases. 40X .

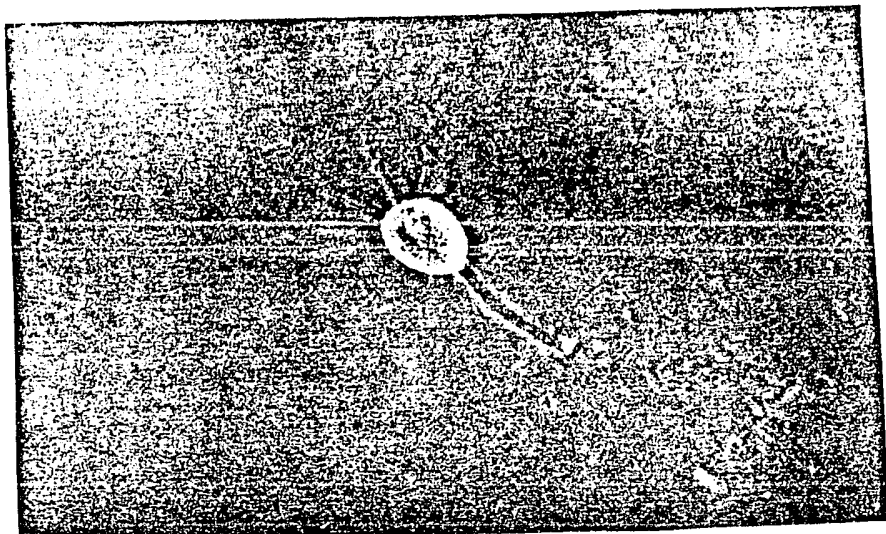


Fig. 3 Podophrya fixa (Quennerstedt). In vivo , contraste de fases. 40X .

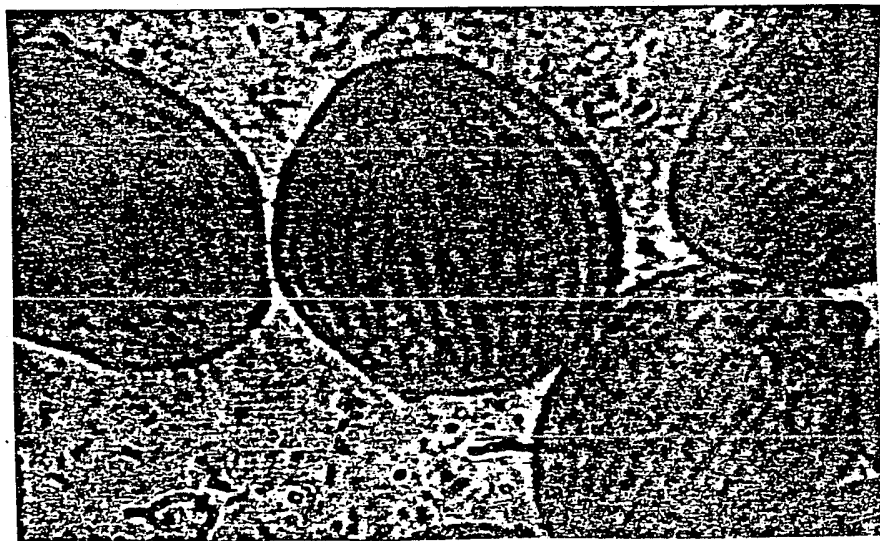


Fig. 4 Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg). Klein. 100X .

L A M I N A 3



Fig. 5 Colpidium campylum (Stokes). Klein. 100X .

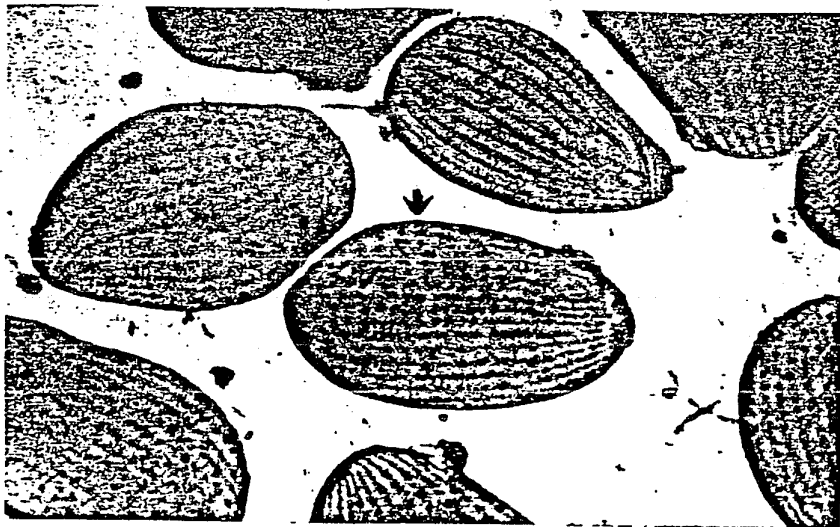


Fig. 6 Colpidium colpidium (Schewiakoff). Klein. 100X .

L A M I N A 4

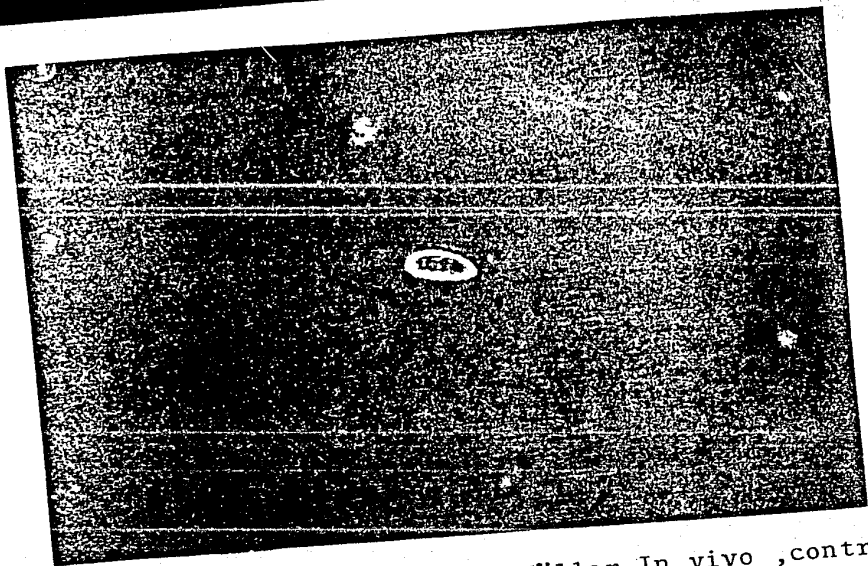


Fig. 7 Cyclidium glaucoma O.F. Müller. In vivo, contraste de fases. 40X .

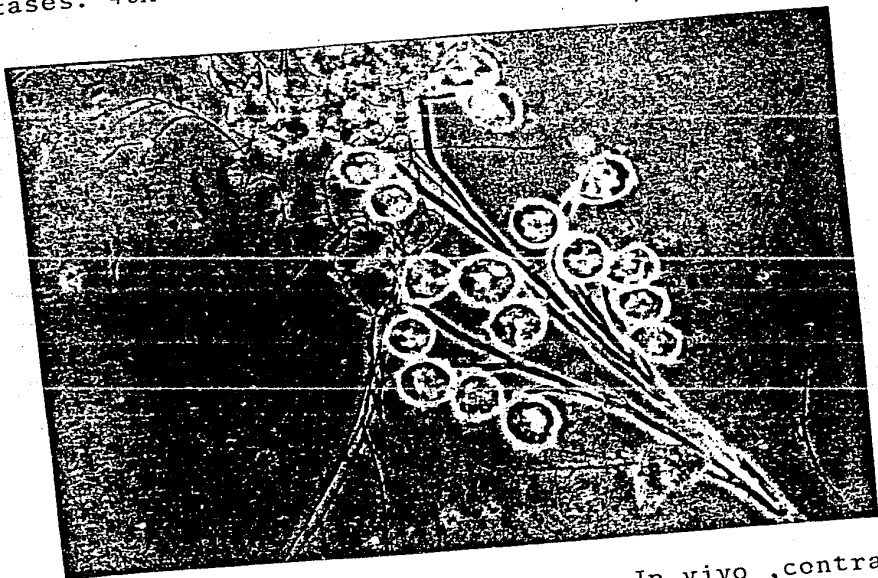


Fig. 8 Carchesium polypinum Linnaeus. In vivo, contraste de fases. 10 X .

L A M I N A 5

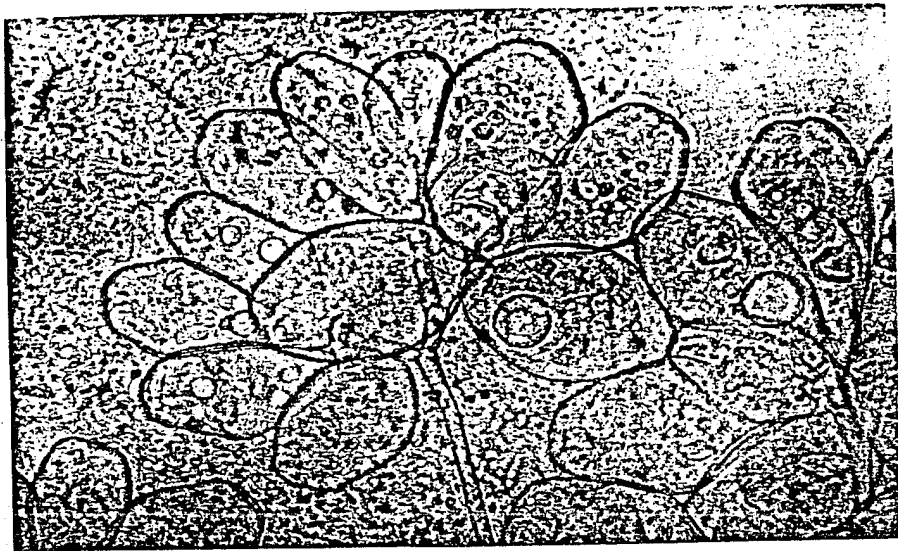


Fig. 9 Epistylis plicatilis (Ehrenberg). In vivo , desfasamiento. 40X .

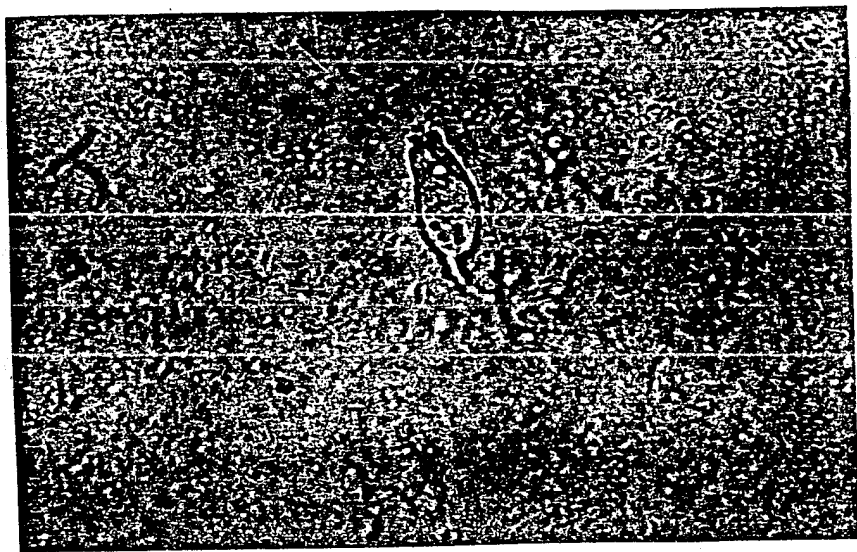


Fig. 10 Rhabdostyla vernalis Stokes. In vivo , contraste de fases. 10X .

L A M I N A 6

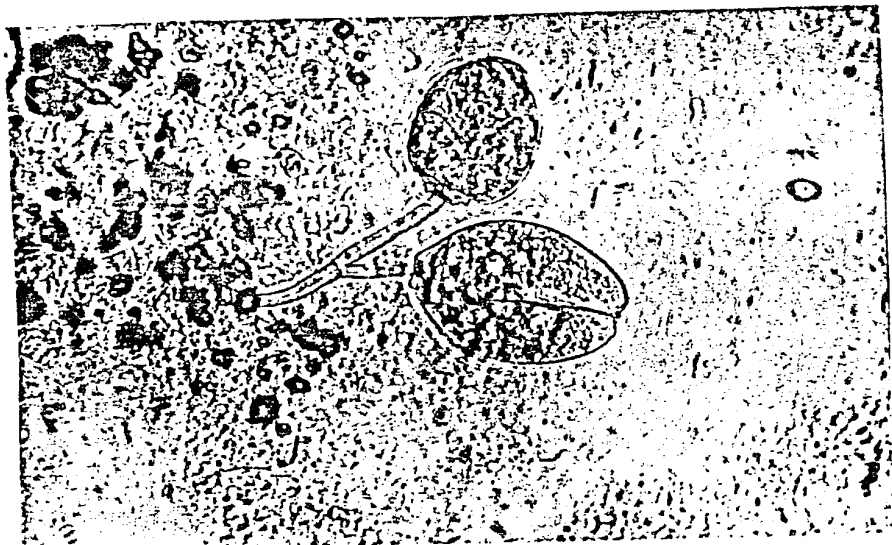


Fig. 11 Opercularia coarctata Claparède y Lachmann. In vivo, desfasamiento. 40X .

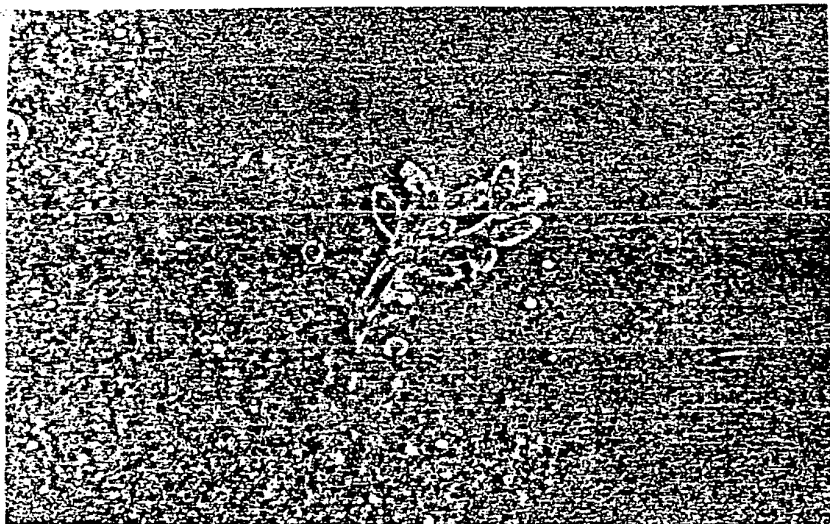


Fig. 12 Opercularia microdiscum (Fauré-Fremiet). In vivo , Contraste de fases. 10X .