

00381  
8  
20



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Estudio comparativo de las poblaciones de protozoarios  
ciliados en un reactor de biodiscos alimentado con  
diferentes substratos

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO  
DE DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P R E S E N T A

VICTOR MANUEL LUNA PABELLO

MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.

# INDICE

RESUMEN .....	i
I INTRODUCCION .....	1
I.1 Antecedentes .....	2
I.2 Marco teórico .....	4
I.2.1 Tratamiento de aguas residuales .....	4
I.2.2 Procesos biológicos .....	5
I.2.3 Reactores biológicos rotatorios (RBRs) .....	7
I.2.4 Protozoarios .....	11
I.2.4.1 Aspectos globales .....	11
I.2.4.2 Aspectos taxonómicos .....	12
I.2.4.3 Aspectos ecológicos .....	14
I.2.4.4 Aspectos relativos a contaminación acuática .....	20
I.2.4.5 Evaluación de la calidad del agua usando ciliados ..	21
II OBJETIVOS .....	30
II.1 Objetivo general .....	30
II.2 Objetivos particulares .....	30
III MATERIALES Y METODOS .....	31
III.1 Estrategia de trabajo .....	31
III.2 Partes, especificaciones y operación de los RBRs .....	32
III.3 Aguas residuales seleccionadas para el estudio .....	35
III.3.1 Aguas residuales de molinos de nixtamal .....	36
III.3.2 Aguas residuales de un ingenio azucarero/alcoholero.	36
III.3.3 Aguas residuales de una fábrica de papel a partir de papel de desecho .....	39
III.4 Actividades y consideraciones preliminares a la experimentación con RBRs .....	39
III.4.1 Arranque y operación de los RBRs .....	39

III.4.2	Estabilización funcional o fase pseudopermanente de un RBR .....	42
III.5	Experimetación en RBRs con diferentes substratos ...	43
III.5.1	Análisis fisicoquímico y bioquímico del RBR en fase pseudopermanente .....	44
III.5.2	Observaciones al microscopio .....	45
IV	RESULTADOS .....	49
IV.1	Caracterización fisicoquímica, bioquímica y ciliatológica de las aguas residuales en estudio ...	49
IV.2	Experimentación en RBRs con diferentes substratos ..	51
IV.2.1	Resultados obtenidos del RBR alimentado con nejayote .....	52
IV.2.2	Resultados obtenidos del RBR alimentado con vinazas .....	56
IV.2.3	Resultados obtenidos del RBR alimentado con aguas blancas .....	60
IV.2.4	Ubicación taxonómica y descripción de los ciliados encontrados en nejayote, vinazas y aguas blancas ...	64
V	ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS .....	87
V.1	Comparación de la calidad fisicoquímica y de diversidad de ciliados en las aguas residuales estudiadas .....	87
V.2	Respuesta de la comunidad de ciliados al cambio de substrato en el proceso depurativo de reactores biológicos rotatorios .....	92
V.3	Análisis de la diversidad y abundancia de microorganismos y su relación con algunos parámetros abióticos .....	93
VI	CONCLUSIONES .....	119
VII	BIBLIOGRAFIA .....	124
VIII	ANEXOS .....	135
	Anexo I Técnicas de análisis químico y bioquímico de materia orgánica .....	136
	I.1 Demanda química de oxígeno (DQO) .....	137

I.2 Demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO <sub>5</sub> ) .....	141
Anexo II Técnicas para determinación y cuenta de microorganismos .....	146
II.1 Preparaciones permanentes .....	147
II.2 Técnica para la cuenta de microorganismos ...	150

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS POBLACIONES DE PROTOZOARIOS CILIADOS  
EN UN REACTOR DE BIODISCOS ALIMENTADO CON DIFERENTES SUBSTRATOS

R E S U M E N

Este trabajo tiene como objetivo realizar el estudio comparativo de las poblaciones de protozoarios ciliados presentes en un reactor biológico rotatorio (RBR) empleando diferentes aguas residuales como sustrato. Las aguas empleadas fueron las de un molino de nixtamalización de maíz, las de un ingenio azucarero/alcoholero y las de una fábrica de papel reciclado. Sus contenidos de materia orgánica disuelta, medida como demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno en cinco días ( $DBO_5$ ) fueron de 2040 mg DQO/L y 585 mg  $DBO_5$ /L para las aguas residuales de molinos de nixtamal (nejayote), 2000 mg DQO/L y 640 mg  $DBO_5$ /L para las de los ingenios azucareros/alcoholeros (vinazas) y 960 mg DQO/L y 120 mg  $DBO_5$ /L para aguas blancas de la industria papelerera. Los reactores tenían un volumen de trabajo de 20 L y 20 discos de 30 cm de diámetro, con una velocidad de rotación de 20 rpm, divididos en 10 cámaras o etapas. El tiempo de residencia hidráulico fue de un día. Las eficiencias de remoción obtenidas en estos reactores fueron, para DQO y  $DBO_5$ , respectivamente, de 80% y 92% para vinazas, de 40% y 83.8% para nejayote y de 59.4% y 75% para aguas blancas. Acorde con los resultados obtenidos, puede decirse de manera general que, en los tres tipos de aguas residuales estudiadas, crecen protozoarios y micrometazoarios a lo largo del proceso depurativo. Ambos grupos presentaron su mayor abundancia cuando se emplearon vinazas, después nejayote y por último aguas blancas. Esto puede asociarse directamente con la cantidad de materia orgánica disuelta biodegradable contenida en cada tipo de agua residual, que como se ve está presente en ese mismo orden, siguiendo la cadena trófica, para la totalidad de las comunidades microbianas que en ella proliferan. Se determinaron para los experimentos en los RBRs, 19 especies de ciliados, resultando tres de ellas comunes para las tres aguas residuales en tratamiento. Los ciliados libres nadadores presentaron mayor riqueza de especies que los de tipo pedunculado. La heterogeneidad o diversidad de la comunidad de ciliados, fue mayor cuando se alimentó al RBR con aguas blancas, después con nejayote y, por último, con vinazas. Esta misma secuencia se dio para el caso de la equidad u homogeneidad de los ciliados, lo cual significa que el número de especies encontradas fue más similar a la que potencialmente pudieran presentarse, primero para las aguas blancas, después para nejayote y finalmente para las vinazas. De aquí que la factibilidad de encontrar nuevas especies sea en un orden inverso (primero en vinazas y al último en aguas blancas). Desde el punto de vista de evaluación biológica, se observó que a partir de la estructura comunitaria de los ciliados, es viable conocer, de manera cualitativa, el grado de depuración de contaminantes orgánicos logrado en un RBR. Para ello, debe tenerse en consideración que a medida que dicha comunidad se haga más compleja y homogénea la calidad del agua será mejor y viceversa.

Respecto a la evaluación cuantitativa del nivel de saprobiidad, no se encontró una especie de ciliado que pudiera ser considerada de manera indistinta, respecto al tipo de agua, como indicadora de un determinado intervalo de concentración. Sin embargo, se observó que es posible encontrar, para cada uno de los tipos de agua residual estudiada, algunas especies de ciliados distribuidos en intervalos de saprobiidad relativamente más estrechos (especies "estenosaprobias"), siendo Colpidium campylum, C. colpidium y Glaucoma scintillans para el caso del nejayote (DBO<sub>5</sub> entre 255 a 535 mg/L); C. colpoda y Podophrya fixa cuando se emplean vinazas (DBO<sub>5</sub> entre 50 a 120; y Litonotus lamella (DBO<sub>5</sub> entre 30 a 45 mg/L), y Vorticella striata (DBO<sub>5</sub> entre 50 a 120 mg/L) cuando se usan aguas blancas. La aplicación de este método implica el estudio simultáneo del contenido de materia orgánica biodegradable con la diversidad de los ciliados predominantes, operando los RBRs bajo condiciones conocidas y relativamente constantes.

## COMPARATIVE STUDY OF THE CILIATES POPULATIONS IN ROTATING BIOLOGICAL REACTORS FEEDING WITH DIFFERENT SUBSTRATES

### ABSTRACT

The comparative study of the ciliates populations present in rotating biological reactors (biodiscs reactors) treating three different wastewaters is the aim of this project. Wastewaters chosen were those of a maize mill, of a sugarcane/ethyl alcohol plant, and of a recycled paper mill. Its dissolved organics contents, measured as soluble chemical oxygen demand (COD) and biochemical oxygen demand in five days (BOD<sub>5</sub>), were 2040 mg COD/L and 585 mg BOD<sub>5</sub>/L for maize mill effluents (nejayote), 2000 mg COD/L and 640 mg BOD<sub>5</sub>/L for sugarcane/ethanol effluents (vinasses), and 960 mg COD/L and 120 mg BOD<sub>5</sub>/L for whitewaters of the paper industry. Reactors had a working volume of 20 L, and 20 discs of 30 cm diameter, rotating at 20 rpm, divided into ten chambers or stages. Hydraulic residence time was one day. Results obtained indicate that protozoa and micrometazoa proliferate in all chamber of reactors treating these wastewaters. Both groups were more abundant in vinasses, followed by nejayote, and then, whitewaters. Removal efficiencies for dissolved organics, measured as COD and BOD<sub>5</sub>, were 80% and 92% for vinasses, 40% and 83.8% for nejayote, and 59.4% and 75% for whitewaters, respectively. These data roughly correspond to the abundance of these groups, and thus, a possible relationship seems to exist between biodegradable dissolved organic matter and organisms, via trophic chain. Among protozoa, ciliates were present as follows: 19 species in total. Three of them were common for the three

systems. Free swimming ciliates showed in higher proportion than pedunculated ones. Its diversity (heterogeneity) was higher for the whitewaters system, then for nejayote, and finally, for vinasses, corroborating the fact that less polluted waters have higher organisms diversity. Its equity (homogeneity) followed the same pattern as diversity. Therefore, communitary ciliates structure may qualitatively indicate the pollution removal efficiency reached in the reactors. Saprobity indices, as a quantitative evaluation parameter, indicate that there are no ciliates species that can be considered as water quality indicators for specific BOD<sub>5</sub> concentrations. However, for each wastewater some stenoprobic ciliates were found. Colpidium campylum, C. colpidium, and Glaucoma scintillans were the ones for nejayote (BOD<sub>5</sub> 255-535 mg/L); C. colpoda, and Podophrya fixa for vinasses (BOD<sub>5</sub> 50-120 mg/L); and Litonotus lamella (BOD<sub>5</sub> 30-45 mg/L), and Vorticella striata (BOD<sub>5</sub> 50-90 mg/L) for whitewaters. It can be concluded that, if simultaneous determinations of dissolved organic matter content and ciliates diversity are carried out at relatively constant reactors operating conditions, the performance of the systems may be determined with a fair degree of accuracy.

#### PALABRAS CLAVE/KEYWORDS

Protozoarios ciliados, reactor biológico rotatorio (reactor de biodiscos), aguas residuales de molinos de nixtamalización de maíz (nejayote), aguas residuales de ingenios azucareros/alcoholeros (vinazas), aguas residuales de fábricas de papel reciclado (aguas blancas).

Ciliates populations, rotating biological reactors (biodiscs reactors), wastewaters from a maize mill (nejayote), wastewaters from a sugarcane/ethyl alcohol plant (vinasses), wastewaters from a recycled paper mill (whitewaters).



## I INTRODUCCION

La contaminación ambiental es un fenómeno generalizado a nivel mundial. Actualmente es cotidiano enterarse por los medios de difusión masiva de los alarmantes niveles de deterioro ambiental alcanzados en los diferentes ecosistemas. El aire, el agua y el suelo presentan detrimento en su calidad, cuya recuperación se torna difícil no sólo por el tipo de contaminantes que contienen, sino también por las concentraciones en que estos se encuentran.

México es un país que enfrenta una grave y creciente problemática ambiental. Un punto importante a considerar es el volumen de aguas contaminadas generadas debido a su uso en actividades domésticas e industriales.

En la tabla 1 se muestran algunos datos que a pesar del tiempo transcurrido, no han perdido vigencia. De acuerdo con esta información es posible inferir, cuales son las principales ramas industriales que constituyen una carga considerable para los recursos hídricos de la nación.

**Tabla 1. Volumen de aguas residuales para algunos sectores industriales comprendidos en la zona ubicada entre los paralelos norte 18° y 22° y los meridianos 96° y 105° (SRH, 1974)**

Industria	Unidades de producción		Volumen de agua descargado m3/d	% del total nacional
Refinerías petroleras	686,500	Barriles/d	967,965	17.56
Azucarera	259,900	Ton/d	811,250	14.35
Siderúrgica	4,440,599	Ton/d	744,629	13.53
Celulosa y papel	483,591	Ton/a	271,742	4.94
Textil	154,890	Ton/a	211,939	3.85
Petroquímica	349,262	Ton/a	153,595	2.79
Cervecera	1,467,210	m3/a	66,901	1.22
Alimentaria	209,311	Ton/a	10,850	0.19

El agua una vez usada en las diversas actividades humanas e industriales, es usualmente desechada al drenaje, suelo o cuerpos naturales de agua. Su disposición o desalojo no se encuentra restringida a un espacio pequeño sino, por el contrario trasciende a niveles inicialmente insospechados. Por un lado, al ser descargados los efluentes líquidos residuales en cuerpos de agua naturales como ríos y lagos, deterioran la calidad fisicoquímica del agua, evitando así su uso potencial como fuente

de agua potable. Provocan, además, la muerte masiva de la flora y la fauna acuáticas preexistentes y propician la generación de focos de infección dañinos para asentamientos humanos aledaños. Por otra parte, al descargarse sobre suelos, pueden ocasionar condiciones limitantes en su uso como tierras de cultivo, debido no sólo al incremento de su salinidad, sino de la potencialidad en la presencia de microorganismos patógenos (Fernández-Galiano, 1985; Saavedra, 1982). Además, por infiltración, pueden inducir la contaminación de mantos freáticos, principalmente de los más someros (Durán de Bazúa, 1987a).

Por lo anterior se hace necesario que, además de estudiar los mecanismos conducentes a disminuir tanto el consumo de agua potable, como la alta generación de volúmenes de aguas contaminadas, se realice el tratamiento de los líquidos residuales o usados, con dos ideas principales: 1) disminuir el efecto contaminante de los mismos, antes de su descarga en colectores municipales, superficies terrestres o cuerpos de agua naturales y 2) una vez tratados reutilizarlos, así como reutilizar los subproductos obtenidos de su tratamiento (Curds y Cockburn, 1970a; DDF, 1981; Duncan, 1976; Durán de Bazúa, 1987b).

El presente trabajo tiene como objetivo general estudiar las poblaciones de ciliados que se desarrollan en un reactor de biodiscos a escala laboratorio, durante la fase de régimen pseudopermanente, empleando por separado tres tipos de aguas residuales industriales. Para ensayar la factibilidad de los métodos de evaluación biológica se hizo la selección de las aguas residuales a estudiar considerando dos aspectos: por un lado que estuvieran entre las principales ramas industriales que, por el volumen de aguas de desecho generadas, su carga contaminante y el hecho de que son biodegradables crean problemas de contaminación de las cuencas del país y de las zonas urbano-industriales y por otro, en función de la relativa facilidad para la obtención y manejo de volúmenes periódicos. Las aguas residuales seleccionadas fueron las de un molino de nixtamalización de maíz para consumo humano, las provenientes de un ingenio azucarero/alcoholero y las de una fábrica que produce papel a partir de papel reciclado.

### I.1 ANTECEDENTES

Hasta hace relativamente pocos años el estudio de las aguas residuales era abordado casi con exclusividad por ingenieros sanitarios y sus aplicaciones se limitaban a la depuración de las aguas domésticas (albañales y colectores municipales). Sin embargo, debido a la presencia de efluentes industriales en esas aguas residuales y al aumento de problemas técnicos en las plantas de tratamiento biológico, asociados a la presencia de substancias tóxicas o recalcitrantes, se ha ido tendiendo a instrumentar la interdisciplinariedad en la búsqueda de soluciones idóneas para el tratamiento de esas aguas residuales mixtas.

Tradicionalmente, se han empleado sistemas biológicos para eliminar el material contaminante presente en las aguas residuales, ya que estos sistemas son los menos costosos y prácticamente todos los efluentes líquidos contenían una parte considerable de material orgánico biodegradable.

A principios de la década de los ochenta, se iniciaron en la UNAM estudios con reactores biológicos a escala de laboratorio y planta piloto, particularmente usando sistemas de tratamiento denominados reactores biológicos rotatorios (RBR) o de biodiscos, un sistema patentado por la UNAM, y ahora, al inicio de esta década puede decirse que representan una alternativa efectiva para el tratamiento de aguas residuales de la industria de proceso, tanto por su diseño compacto como por su sencillez de operación (Durán de Bazúa et al., 1982; Pedroza y Durán 1986; Vázquez-García et al., 1990). Para el caso específico del tratamiento de las aguas residuales de la industria de proceso, donde la composición y carga orgánica son variables, este tipo de equipos resulta más adecuado por el efecto amortiguador de las diferentes cámaras de las que consta (Durán de Bazúa, 1983; Luna-Pabello, 1987, 1990; Pedroza y Durán 1986; Vázquez-García et al., 1990; Zámamo-Pérez et al., 1991).

Los RBRs al ser sistemas de tratamiento de tipo biológico, requieren de la participación de diversas comunidades microbianas. De entre los diferentes grupos microbianos que intervienen en la depuración de las aguas residuales, la participación de los protozoarios es importante, debido a la versatilidad de sus actividades y a su efecto directo en el mejoramiento de la calidad de los efluentes obtenidos. Estos microorganismos ejercen un control natural, por depredación directa, de las bacterias suspendidas. También contribuyen a la mineralización de la materia orgánica, induciendo además a la floculación y/o aglomeración de las bacterias circundantes. Adicionalmente, es posible ensayar su aplicación para evaluar la calidad del agua por métodos biológicos directos, ya sea con microorganismos (poblaciones y/o comunidades) indicadores de saproiedad (del griego Sapros, podrido), o bien a partir de la estructura comunitaria presente en aguas contaminadas con compuestos orgánicos biodegradables (Bick, 1963; Cairns et al., 1972; Sládecek, 1973, 1985a, b).

Existen algunos estudios sobre el tipo de comunidades de micrometazoarios y protozoarios (particularmente de los ciliados) que se desarrollan en aguas residuales provenientes de molinos de nixtamalización de maíz, conocidas como nejayote, cuando éstas son tratadas en un RBR (Luna-Pabello, 1987; Luna-Pabello et al., 1988). Los resultados obtenidos han permitido ampliar la visión de la aplicación del estudio de estos microorganismos en la evaluación de la calidad saprobia del agua, pudiendo emplear no solo organismos indicadores, sino la estructura de la comunidad presente. También se han estudiado los cambios en abundancia y distribución de estos microorganismos como consecuencia de variaciones en la temperatura (Luna-Pabello, 1990, 1992; Torreblanca, 1992). De aquí que se plantee la realización de un

estudio del comportamiento fisicoquímico del reactor y sus efectos sobre la densidad y composición de las comunidades microbianas de interés, con diferentes aguas residuales industriales, bajo condiciones de operación similares.

De los resultados obtenidos sobre la diversidad específica de ciliados, así como del conocimiento de los intervalos ambientales del líquido en donde proliferan, puede estudiarse su aplicación, con la finalidad de lograr el control manual o automático de plantas de tratamiento biológico empleadas en la depuración de aguas residuales domésticas y de algunos sectores industriales, a través del empleo de la digitalización y análisis de imágenes por computadora (Chacón-Torres, 1991; Gómez y Solís, 1992).

De poderse constatar la viabilidad de analizar el grado de contaminación del agua por compuestos biodegradables, a partir de la aplicación de métodos biológicos directos, como el de indicadores de saptobiedad o el de estructura comunitaria, se podría contar con una alternativa de evaluación, para los sistemas de tratamiento biológico aerobios, más rápida y menos contaminante que reduzca las empleadas frecuentemente en su control monitorio (p. ej. la de demanda química de oxígeno o DQO). Esto es importante, dado que la DQO al ser un análisis químico representa una fuente de contaminación inorgánica debido a los reactivos agregados para llevar a cabo la evaluación, los cuales una vez que han cumplido con su cometido, son desechados sin tratamiento alguno al drenaje, contribuyendo de esta manera a agravar el problema de contaminación o debiendo ser tratados in situ para evitar esta fuente de contaminación.

## I.2 MARCO TEORICO

### I.2.1 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 los sólidos de mayor tamaño, así como los más fácilmente sedimentables y los de densidad menor que la del agua. Para lograrlo se usan métodos como cribado, sedimentación, flotación y filtración. Estos procesos aunque no efectúan ningún tipo de eliminación de material contaminante disuelto en el agua, sí evitan que haya una incorporación posterior por disolución, lo cual retardaría la depuración de ésta.

Los procesos secundarios químicos o biológicos, son comúnmente empleados para eliminar el material orgánico disuelto (MOD).

Cuando dichos materiales son biodegradables, puede involucrarse la intervención de organismos de tipo procarionte, como las bacterias y de tipo eucarionte, como algas, hongos microscópicos, protozoarios y rotíferos y nemátodos. Estos organismos se encargan de transformar porciones considerables de MOD de fácil biodegradación, a sólidos biológicos (aglomeraciones de comunidades microbianas) que pueden separarse por procedimientos físicos. Dentro de estos procesos se encuentran reactores anaerobios de lecho empacado, lagunas facultativas, lagunas aerobias, lodos activados, filtros percoladores (lechos empacados de oxidación biológica) y reactores biológicos rotatorios.

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 previos (primarios o secundarios) o inclusive sin que el agua de interés haya sido sometida a un tratamiento preliminar o secundario biológico. Lo anterior va a depender del grado y tipo de contaminación inicial del agua por tratar. A partir de los procesos terciarios es posible la remoción de material orgánico no biodegradable o de difícil biodegradación y de compuestos de amonio generados por los microorganismos. También pueden eliminarse microorganismos suspendidos, diversos iones y la coloración del agua. Dichos procesos son, entre otros, filtración, adsorción, cloración, carbón activado, coagulación, ósmosis inversa e intercambio iónico (Duncan, 1976; Eckenfelder y Ford, 1970; Fernández, 1986).

En términos generales, los efluentes industriales contienen material biodegradable, acompañado de material recalcitrante o tóxico a los microorganismos usados para la depuración biológica. De manera especial, para los efluentes de ciertas ramas industriales como la alimentaria, que presentan una alta concentración de materia orgánica biodegradable, tanto disuelta como suspendida, los sistemas de tratamiento biológicos resultan ser los más adecuados, especialmente porque los costos de tratamiento son de uno a cinco órdenes de magnitud menores que los de los sistemas químicos de remoción.

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

### I.2.2 Procesos biológicos

Este tipo de procesos puede dividirse de acuerdo al metabolismo de los microorganismos que participan en la depuración del agua, así como por la forma de crecimiento predominante en que se presentan las comunidades microbianas dentro del sistema de tratamiento.

#### División metabólica:

Los procesos biológicos de acuerdo con el tipo de metabolismo empleado por los microorganismos que en él intervienen y el aceptor final de electrones presente en el líquido bajo

tratamiento pueden, en términos generales, subdividirse en procesos anaerobios, aerobios y facultativos.

### 1) Procesos anaerobios

En ellos 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, nitratos y sulfatos, entre otros. Mediante la digestión en filtros y lagunas anaerobias se consigue remover la materia orgánica soluble (Kennedy et al., 1985).

### 2) Procesos aerobios

Al igual que el proceso anterior, es posible remover el material orgánico soluble pero, por medio de microorganismos que requieren para su desarrollo de suficiente oxígeno molecular libre en solución (cuando menos 2 mg/L). Procesos biológicos de estas características son los lodos activados convencionales, filtros percoladores, aireación extendida, lagunas de aireación y reactores biológicos rotatorios (discos biológicos), entre otros (Curds et al., 1968; Durán de Bazúa, 1983).

### 3) Procesos facultativos

Consisten en una combinación de los dos procesos anteriores e intervienen microorganismos aerobios, microaerofílicos, anaerobios y de tipo facultativo. Como ejemplo de este proceso están las lagunas facultativas.

### División por forma de crecimiento microbiano:

Por otro lado, cada uno de los procesos biológicos anteriormente mencionados, puede a su vez presentar diferentes formas de crecimiento microbiano:

#### 1) Crecimiento en suspensión

En este tipo de crecimiento, los microorganismos se reproducen suspendidos en el líquido bajo tratamiento, formando aglomerados o flóculos de diversos tamaños y consistencias. Bajo esta estructura, logran una mayor superficie de contacto con los nutrientes en los que se encuentran inmersos, eliminando a la vez aquellos compuestos que no les son útiles. Un ejemplo de estos sistemas de tratamiento es el denominado de lodos activados.

#### 2) Crecimiento adherido

En esta forma de crecimiento microbiano los organismos se adhieren a alguna superficie que les sirve de soporte formando una capa de microorganismos o película biológica. Cuando estos microorganismos se encuentran en fase trófica activa (película biológica activa fija) es cuando realizan la conversión de la

materia orgánica disuelta y otros constituyentes presentes en las aguas residuales, a bióxido de carbono, agua y otros metabolitos de desecho. A partir de esa conversión metabólica, es posible que los microorganismos obtengan suficiente energía para mantener, por un lado, su metabolismo basal y, por otro, mediante el proceso reproductivo, incorporar nuevos individuos al medio de soporte. En términos generales se puede decir que es recomendable emplear, como medio de soporte para sistemas de película fija, material inerte y barato. Entre los comúnmente usados están las rocas y los plásticos. Un ejemplo de este tipo de sistemas de tratamiento es el conocido como filtro percolador (reactor de lecho empacado).

### 3) Crecimiento mixto

Esta denominación se aplica para hacer referencia a la combinación de las dos formas de crecimiento anteriormente descritas, es decir, que se presentan de manera simultánea microorganismos adheridos a un soporte y en suspensión dentro del sistema de tratamiento. Como ejemplo de este tipo de plantas depuradoras está el reactor biológico rotatorio (RBR) o reactor de biodiscos.

A partir de la década de los ochenta los sistemas de película biológica activa fija ha tenido mucho auge. Su uso se ha enfocado principalmente a los reactores biológicos rotatorios, los cuales han sido empleados a escala de laboratorio y planta piloto de manera satisfactoria en la depuración de efluentes industriales con concentraciones de materia orgánica biodegradable relativamente altas (entre 10 y 100 veces la contenida en aguas residuales domésticas, las que usualmente tienen de 300 a 400 mg DQO/L y 200 a 250 mg DBO<sub>5</sub>). Esta característica, aunada a la facilidad para realizar estudios de la composición microbiológica prevaeciente bajo determinadas condiciones de operación, hace a los RBRs idóneos para efectuar experimentos relacionados con sucesión microbiana y calidad fisicoquímica del agua que contienen, lo cual es justamente el tema de este estudio. En consecuencia, se dará a continuación mayor información sobre dichos sistemas de tratamiento (Durán de Bazúa 1987a).

#### I.2.3 Reactores biológicos rotatorios (RBRs)

La funcionalidad de un sistema de tratamiento biológico depende de lograr que la comunidad de microorganismos y su medio estén bien controlados. Las condiciones ambientales pueden controlarse mediante regulación del pH, de la temperatura, adición de nutrientes o elementos traza, adición o exclusión de oxígeno y también mediante la mezcla correcta. El manejo adecuado de las condiciones ambientales asegurará que los microorganismos tengan el medio indicado donde puedan desarrollarse y, consecuentemente, logren la depuración deseada del agua en tratamiento. Esto puede lograrse en un reactor. En general el término reactor hace referencia a un recipiente, tanque o depósito en el que se lleva a cabo una reacción química o bioquímica.

Existen cuatro principales tipos de reactores utilizados para el tratamiento biológico de residuos líquidos. Estos se pueden dividir de acuerdo a sus características de flujo hidráulico en: reactores de flujo discontinuo, de flujo pistón, de mezcla completa (también conocido como reactor de tanque agitado y flujo continuo) y de flujo disperso (Metcalf y Eddy, 1987).

Un reactor de flujo discontinuo es aquél en el que, como lo dice su nombre, el flujo no entra ni sale de forma continua. El reactor es llenado, las reacciones llevadas a cabo y, posteriormente, es vaciado para llevar un nuevo lote a operación.

Un reactor de flujo pistón, es aquel en el cual las partículas pasan a través del tanque y son descargadas en el mismo orden que entran. Las partículas teóricamente conservan su identidad y permanecen en el tanque durante un tiempo igual al tiempo teórico de residencia hidráulica. Este tipo de flujo es aproximadamente el que se produce en tanques alargados con una alta relación longitud/anchura y en los que se supone que no existe dispersión longitudinal sino axial.

Un reactor de mezcla completa es aquel en donde las partículas que entran al tanque son inmediatamente dispersadas por todo el recipiente. Las partículas del tanque salen en proporción a su población estadística. La mezcla completa se lleva a cabo en tanque redondos o cuadrados si el contenido de aquellos está uniforme y continuamente distribuido.

Un reactor de flujo disperso es aquel que presenta cualquier grado de mezcla parcial comprendido entre el flujo pistón y el de mezcla completa. Este tipo de flujo se produce con frecuencia en los tanques de sedimentación y de aeración.

Cabe mencionar que, en la práctica, se tienen aquellos sistemas continuos en los que se combinan los dos tipos de comportamiento de flujo (dispersos).

Los RBRs son reactores que están formados por una serie de cámaras intercomunicadas entre sí, lo que permite depurar secuencialmente y de manera continua el líquido en tratamiento. Cada cámara contiene un conjunto de discos ensamblados a un eje central, los cuales le proporcionan al líquido un mezclado completo. Aproximadamente, el 40% de la superficie de dichos discos se encuentra sumergida en las aguas de desecho por tratar. De esa manera es posible mantener una parte de la película biológica activa dentro del líquido y otra en contacto con el aire, lo cual a su vez facilita el intercambio biótico-abiótico de sustancias y gases. El líquido una vez tratado pasa a un sedimentador secundario ya sin agitación, en donde los lodos de desecho y el agua tratada se separan por gravedad.

Considerando lo anteriormente expuesto, puede decirse que un RBR es un reactor que de manera global funciona como uno de flujo pistón, pero cada una de las cámaras que lo componen, funciona como un reactor completamente mezclado.



Los reactores de biodiscos han ido demostrando paulatinamente su importancia en el tratamiento de aguas que contengan material orgánico biodegradable, tanto en concentraciones altas como bajas. Necesitan tiempos de residencia hidráulicos cortos debido a la gran área superficial expuesta; pueden operar en un amplio intervalo de gastos volumétricos; no requieren de tuberías de recirculación y sus costos de operación y mantenimiento son bajos, dada su sencillez de operación y considerando su tamaño y funcionamiento. Sin embargo, requieren períodos largos para alcanzar la estabilidad y la inversión de capital inicial asociado a su construcción y arranque es alta, lo cual representa una gran desventaja para los países del tercer mundo. Por otro lado, su uso se restringe a volúmenes relativamente pequeños de aguas residuales, entre 3,500 y 75000 metros cúbicos por día (Antonie y Van Aacken, 1971; Durán de Bazúa, et al., 1982; Friedman et al., 1979; Klemetson y Rogers, 1982; Rushbrook y Wilke, 1980).

Dentro del contexto de la problemática que representa la depuración de las aguas residuales, con alto contenido de MOD, resulta de gran importancia el conocimiento claro de los procesos biológicos que se realizan para dicho efecto. Dentro de la literatura de sistemas artificiales para tratamiento biológico de aguas residuales, existen diversos trabajos relacionados con el papel depurador de los microorganismos. La mayor información está centrada sobre las bacterias y su interacción con substratos de relativamente fácil biodegradación y/o baja concentración como son las aguas residuales de origen doméstico.

Los estudios encaminados a la optimización estructural y de operación de sistemas de tratamiento de aguas residual han sido abundantes (Duncan, 1976; Durán de Bazúa, 1983; Famularo et al., 1978; Gólcz, 1984; Hamoda y Wilson, 1989; Montesinos y Durán, 1986; Norouzian y Deloya, 1984; Pano y Middlebrooks, 1982; Pedroza, 1985; Pedroza y Durán, 1986; Poon y Chao, 1979; Rittman et al., 1983; Shariff y Hassan, 1984; Starkey y Karr, 1984). Sin embargo, los realizados desde la perspectiva biológica han sido abordados con menor frecuencia. La realización de estudios con un enfoque microbiológico permitiría entender con mayor claridad la importancia de las diferentes comunidades microbianas durante el fenómeno de depuración biológica. Lo anterior permitiría identificar los posibles factores que inhiben o aceleran el funcionamiento de dichos sistemas de tratamiento. No obstante, aunque se han realizado avances respecto a la microbiología de plantas de tratamiento biológico de tipo convencional que tratan aguas residuales domésticas, son pocos los estudios publicados con este enfoque (Bick, 1971; Curds et al., 1968; Mc Kinney y Gram, 1956; Wiggins y Alexander 1988; Yuhei et al., 1989) por lo cual resulta necesario que, a la vez que dichos estudios aumenten, los conocimientos generados se apliquen, tanto en sistemas de tratamiento biológico convencional que depuren aguas residuales industriales (cuando proceda) o mixtas, como en los tratamientos biológicos no convencionales de las mismas aguas.

Por otra parte, son diversos los investigadores que consideran que la eficiencia de remoción de materia orgánica en sistemas de tratamiento biológico podría aumentar si se comprendieran no sólo los principios físicos y mecánicos de su 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 (Curds, 1975; Curds et al., 1968; Curds y Vandyke, 1966; Finaly, 1977; Moreno, 1985).

A pesar de que las comunidades bacterianas son las principales transformadoras de material orgánico disuelto a sólidos suspendidos, es importante estudiar también las demás comunidades microbianas relacionadas con el proceso de biodegradación aerobia. Lo anterior puede inferirse debido a que la presencia de otros microorganismos, como protozoarios y micrometazoarios, es crucial durante este proceso biológico en la naturaleza. En consecuencia, puede suponerse que en los sistemas de tratamiento biológico aerobios, también desempeñen un papel importante, pues estos sistemas se diseñaron a partir de la simulación de los procesos de autodepuración de los cuerpos naturales de agua.

En resumen, para aumentar la eficiencia de un sistema de tratamiento biológico aerobio es necesario proporcionar las condiciones fisicoquímicas y biológicas que favorezcan el adecuado equilibrio entre los microorganismos "depuradores" (transformadores de MOD) y de aquellos que regulan sus poblaciones y que son conocidos como "depredadores" (Curds y Vandyke, 1966; Curds et al., 1968; Duncan, 1976; Wiggins y Alexander, 1988; Yuhei et al., 1989). Los principales factores a considerar pueden dividirse en dos tipos:

- 1.- Dependientes de la estructura y operación del sistema de tratamiento, como son la mezcla homogénea del sustrato con los microorganismos; proporcionamiento de un tiempo adecuado de interacción microorganismo-sustrato y concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 2 mg/L (Cairns et al., 1979; Famularo et al., 1978; Pitter, 1976; Poon y Chao, 1979; Reiber y Stensel, 1985; Sack et al., 1986; Starkey y Karr, 1984).
- 2.- Dependientes del ambiente (factores bióticos y abióticos), como la no toxicidad del agua; la concentración de alimento (sustrato y nutrientes); pH; salinidad; temperatura; luz; concentración de oxígeno y de otros gases disueltos; presión atmosférica; tipo y concentración de microorganismos inoculados y las interacciones biológicas de las especies presentes (Fenchel, 1987; Finaly, 1977; Fiolitakis et al., 1987; Kinner y Curds, 1988; Margaleff, 1975; Pano y Middlebrooks, 1982; Särner, 1986; Vavilin, 1982).

## I.2.4 Protozoarios

### I.2.4.1 Aspectos globales

La palabra "protozoo", de acuerdo con Corliss (1984), fue empleada por Goldfuss en 1817 con la acepción de "animales primitivos" y, posteriormente definida por Von Siebold en 1845, quien dió pie a que se les tomara en cuenta como si se tratase de un grupo sistemático de "animales" de una sola célula. Corliss (1984) afirma categóricamente que la palabra "protozoa" es un término de conveniencia y no el nombre de un "respetable taxón", por lo que debe ser escrita siempre con minúscula.

A manera de descripción, se puede decir que los protozoarios son organismos unicelulares, que no forman órganos ni tejidos, ni presentan desarrollo embrionario. Su tamaño oscila de 10 micras a tres milímetros y pueden ser solitarios o coloniales. Se les puede encontrar en ambientes tanto acuáticos como terrestres y aéreos, pero preferentemente en aquellos lugares donde existe humedad o por lo menos una película de agua. Existen varios grupos con especies parásitas de invertebrados y de vertebrados superiores, pasando por todos los constituyentes del Reino Animal (Bick, 1972; Fenchel, 1987; Martínez y Gutiérrez, 1985).

Entre los factores abióticos que determinan la presencia, abundancia o ausencia de los protozoarios se encuentran los siguientes (Curds, 1975):

**Oxígeno disuelto.**- La mayoría de los protozoarios requiere de oxígeno libre para sobrevivir. Existen algunos de tipo anaerobio y un gran número de anaerobios facultativos, pero el número de especies aerobias obligadas es comparativamente mucho mayor.

**Temperatura.**- Este parámetro afecta la actividad metabólica de los organismos, aumentando su tasa de crecimiento de manera positiva, hasta el límite inferior cercano en el que su reproducción es posible. En términos generales se ha reportado que los protozoarios pueden sobrevivir en un intervalo de temperatura que va de 0 a 51 grados centígrados (Bick, 1972).

**Concentración de iones hidrógeno y dióxido de carbono.**- El valor de pH límite para el crecimiento y sobrevivencia de los protozoarios varía entre 3.8 y 12.0 (Bick, 1972), siendo el intervalo más adecuado para la mayoría de las especies entre 6 y 8 unidades. En la naturaleza, el valor de pH está estrechamente relacionado con la concentración de dióxido de carbono y la reserva alcalina del agua, pudiendo modificar su valor debido a la presencia de organismos vivos. El dióxido de carbono es una fuente de carbono para los protozoarios fotosintéticos, sin embargo, en altas concentraciones les resulta tóxico. Este mismo parámetro limita la distribución de los ciliados, los cuales sobreviven según su tolerancia específica.

Luz.- La luz es la fuente de energía para los organismos fotosintéticos por lo cual su ausencia imposibilita que estos se desarrollen, no obstante, se ha observado que algunas especies pueden sobrevivir cambiando su fuente de energía.

Salinidad.- Se ha observado que los protozoarios se encuentran presentes en aguas con diferentes intervalos de salinidad que van desde aguas dulces hasta marinas.

Elementos tóxicos.- Algunas sustancias como los fenoles, detergentes y los metales pesados son, en determinadas concentraciones, letales para los protozoarios. Sin embargo, se ha observado que dicha toxicidad es relativa y que depende en gran medida de las condiciones bióticas y abióticas en las que los protozoarios se estén desarrollando.

Nutrimientos.- La composición química del medio es importante para que los protozoarios se desarrollen. De manera general estos organismos requieren de aminoácidos, vitaminas, elementos como C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S, y de elementos traza como el B, Bo, Cu, Fe, Mn y Zn (Puytorac, et al., 1987). Dichos requerimientos están en función del tipo nutricio al que pertenezcan, pudiendo ser autótrofos, saprozoicos, fagótrofos o depredadores.

De acuerdo al tipo de organelo que emplean para su desplazamiento, pueden distinguirse tres grupos de protozoarios: los flagelados, quienes emplean estructuras a manera de látigo o flagelo; las amibas, las cuales se desplazan mediante pseudópodos o proyecciones citoplasmáticas y, por último, los ciliados que emplean pequeños organelos denominados cilios.

#### I.2.4.2 Aspectos taxonómicos

La pertenencia de los organismos protozoarios a un determinado Reino ha sido tema de mucha discusión e, incluso en la actualidad, no existe una aceptación ampliamente convincente al respecto. Existen investigadores que los ubican dentro del Reino de los Protocistas (Margulis y Schwartz, 1981), y otros como pertenecientes al Reino Protista (Corliss, 1984), llegando incluso a darles la categoría taxonómica de Subreino Protozoa (Lee et al., 1985), lo cual contraviene lo expresado en el párrafo anterior. De manera complementaria cabe mencionar que de las diferentes propuestas de dividir a los seres vivos en Reinos, la de mayor aceptación general ha sido la de Whittaker (1969) que los separa en: Monera, Protista, Plantae, Fungi y Animalia. Este autor fue también el primero en separar en diferentes Reinos a los seres unicelulares, ubicando a los procariontes dentro del Reino Monera y a los eucariontes dentro del Reino Protista (Whittaker y Margulis, 1978).

El término "Protocista" fue introducido por John Hogg en 1861 para designar a "todas las criaturas inferiores o a los seres orgánicos más primitivos, tanto protophyta (de naturaleza más parecida a las plantas), como protozoa (de naturaleza relacionada

con los animales)". Posteriormente, Copeland en 1956, propone la creación del Reino de los Protocistas, para acomodar, tanto a organismos unicelulares cuyos descendientes son iguales a los organismos paternos, como a algunos organismos multicelulares (Margulis y Schwartz, 1981).

En cuanto al término "Protista", éste fue propuesto por Haekel en 1866, para reunir a todos los organismos que no podían figurar en el Reino Animal ni Vegetal, constituyendo así un nuevo Reino "neutro" (Corliss, 1984).

Junto a los términos de "protozoo" y "protozoología" deben considerarse los de "protista" y "protistología", que se emplean para un conjunto de eucariontes unicelulares en el que, indudablemente figuran todos los protozoos, pero también algunos más (Fernández-Galiano, 1990).

De manera reciente, en 1990, apareció un libro denominado "Handbook of Protoctista" del cual son editores Margulis, Corliss, Melkonian y Chapman. Esto resulta interesante ya que los dos primeros autores, defendían posturas diferentes como se deduce de los párrafos anteriores, prevaleciendo al parecer, el empleado por Margulis y Schwartz (1981), es decir el de Reino Protocista y no el Protista defendido por Corliss (1984). No obstante, en este libro se deja entrever la persistencia de ambos términos al mencionar que los microorganismos tradicionalmente conocidos como "protozoarios" están incluidos dentro de los protistas que a su vez forman parte del Reino Protocista.

Con respecto a la clasificación de los protozoarios, puede decirse que en los últimos años, a raíz del extraordinario desarrollo producido en el conocimiento de los seres unicelulares eucariontes, se ha generado mayor información sobre su citología y su evolución, que han llevado inevitablemente al diseño de nuevas clasificaciones sistemáticas. La clasificación de los protozoarios realizada por Honigberg *et al.*, en 1964, fue adoptada durante más de 16 años por los estudiosos de estos microorganismos. En ella se agrupaba a los protozoarios en cuatro Subphyla: Sarcomastigophora, Sporozoa, Cnidospora y Ciliophora. Posteriormente, como consecuencia de nuevos datos de significancia taxonómica, se hizo necesaria una nueva revisión de la sistemática del grupo, dando pie a que el Comité de Sistemática y Evolución de la Sociedad de Protozoología propusiera una nueva clasificación (Levine *et al.*, 1980). Esta clasificación comprende siete Phyla: Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Ascetospora, Myxozoa y Ciliophora. Este esquema de clasificación, al igual que el anterior, no considera las relaciones evolutivas que existen entre los organismos, sino que tiene por objetivo el de facilitar su estudio.

Corliss, en un trabajo publicado en 1984, intitulado "El Reino Protista y sus 45 Phyla", hace una redefinición de los cuatro Reinos de organismos eucariotas y propone una ordenación taxonómica y nomenclatorial del Reino Protista donde reconoce 45

Phyla reunidos en 18 agrupaciones suprafiléticas las cuales, convenientemente traducidas al idioma español, según Fernández-Galiano (1990), se enuncian a continuación: Rizópodos, Mastigomicetos, Clorobiontes, Euglenozoos, Rodofitas, Crisomonádidos, Coanoflagelados, Cromobiontes, Labirintomorfos, Polimastigotos, Paraflagelados, Actinópodos, Dinoflagelados, Ciliados, Esporozoos, Microsporidios, Haplosporidios y Mixosporidios.

En 1985, apareció una nueva clasificación de los protozoarios, publicada por la Sociedad de Protozoólogos, en el libro "An Illustrated Guide to the Protozoa" (Lee et al., 1985), la cual contempla seis Phyla: Sarcomastigofora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Myxozoa y Ciliophora. En esta clasificación es omitido, sin ninguna explicación por parte de los autores, el Phylum Ascetospora.

En 1987, en un libro llamado "Precis de Protistologie" apareció una distribución de los Protistas en 13 Phyla: Karyoblasta, Rizopoda, Labyrinthomorpha, Actinópoda, Dinoflagellata, Mastigophora, Opalinata, Pseudociliata, Sporozoa, Microspora, Myxozoa, Ascetospora y Ciliophora (Puytorac, et al., 1987).

De manera reciente, la clasificación de los protozoarios y su ubicación dentro un determinado Reino fue abordada por un connotado grupo de investigadores (Margulis et al., 1990), el cual decidió ubicarlos en el Reino Protocista. Esta decisión conllevó a una nueva distribución de los grupos tradicionalmente reconocidos como protozoarios. En esta clasificación se dividen los Phyla del Reino Protocista en función de las siguientes características:

- 1.- No undulipodia; ciclo sexual complejo ausente.
- 2.- No undulipodia; ciclo sexual complejo presente.
- 3.- Formación reversible de undulipodia; ciclo sexual complejo ausente.
- 4.- Formación reversible de undulipodia; ciclo sexual complejo presente.

Considerando lo anterior, de tener aceptación esta nueva propuesta, los diferentes Phyla de protozoarios tendrían que ser estudiados conforme a la nueva organización jerárquica.

#### I.2.4.3 Aspectos ecológicos

Los protozoarios son un grupo de organismos microscópicos que presentan una gran interacción con el ambiente que les circunda. Este fenómeno se explica teniendo presente, por un lado, que el tamaño de los organismos está estrechamente relacionado con su metabolismo y, por otro, que como una consecuencia inmediata de ser pequeños, los microorganismos obtienen una relación muy

grande de superficie a volumen. Esta relación es importante, dado que es a través de la superficie corporal por donde los microorganismos intercambian materiales con su ambiente. Es así que, para una masa dada de células, una mayor superficie significa un cambio más rápido de substancias y, por consecuencia, un metabolismo más rápido dentro del organismo. Si bien intervienen otros factores, el alto metabolismo y la división celular rápida, característicos de los microorganismos, derivan principalmente de la elevada relación de área superficial a volumen inherente a su tamaño pequeño (Sistrom, 1973). De aquí que las células microbianas sean notoriamente sensibles a su ambiente y que su composición química y comportamiento sufran cambios evidentes cuando el ambiente es modificado (Levandowsky y Hutner, 1980). Por tanto, su uso real y potencial como indicadores de calidad fisicoquímica de ambientes acuáticos, queda justificado.

La fisiología estudia las funciones de los seres vivos con objeto de explicar cómo y porqué realizan sus actividades (Burdon y Williams 1985). Mediante estudios fisiológicos es posible conocer cómo un organismo transforma su entorno para obtener energía y las condiciones necesarias para promover o inhibir su crecimiento. La presencia de los seres vivos en un determinado ambiente está influenciada por factores bióticos (interacciones con otros seres vivos) y parámetros abióticos (como temperatura, humedad, pH, salinidad y oxígeno disuelto). La aplicación práctica de estos conocimientos puede hacerse con la intención de acelerar el proceso depurativo, tanto en cuerpos naturales de aguas contaminadas, como plantas de tratamiento biológico diseñadas por el hombre. En estas últimas es posible, incluso, optimizar su funcionamiento, dando la condiciones ambientales adecuadas que favorezcan la proliferación de microorganismos depuradores que beneficien la calidad inicial del agua en tratamiento (bacterias de fácil sedimentación, protozoarios y micrometazoarios) y evitando que se desarrollen organismos perjudiciales (bacterias y hongos filamentosos que floten).

En general, los procesos fisiológicos ocurren a distintas rapideces o velocidades y acordes, con el tipo de condiciones prevalientes. La mayor parte de los procesos fisiológicos, como la tasa de movimiento y la fotosíntesis, dependen de la temperatura. Otros procesos varían con la disponibilidad de distintos materiales como agua, dióxido de carbono, nitrógeno e iones hidrógeno (pH). Las denominadas curvas de crecimiento o de tolerancia, presentan típicamente forma de campana y son unimodales. En ellas, los picos representan las condiciones óptimas para un proceso fisiológico determinado y sus colas los límites de tolerancia. Algunos individuos y algunas especies presentan curvas de tolerancia con picos muy estrechos; en otros, estas curvas son considerablemente más anchas. Las curvas de tolerancia anchas se describen mediante el prefijo auri que significa en griego amplio (p. ej. euritéricas, eurihalinas y euribiontes), mientras que el prefijo esteno, del griego steno = estrecho, se usa para curvas de tolerancia estrechas (p. ej. estenófagas y estenosaprobias). El uso por parte de un organismo

de los recursos ambientales como alimentos y microhábitats puede considerarse de modo análogo y el rendimiento puede medirse con una amplia variedad de unidades, como supervivencia, éxito reproductivo, eficiencia en la obtención del alimento y eficiencia reproductora.

Es importante mencionar que las curvas de rendimiento pueden alterarse durante la vida de un individuo, a medida que éste se expone a distintas condiciones ambientales extremas. Esta alteración a corto plazo de los óptimos fisiológicos se denomina aclimatación. De aquí que sea importante no solamente considerar la presencia de un determinado organismo bajo ciertas condiciones ambientales sino, además, la abundancia a la que éste se presente.

Por otra parte, dentro de ciertas limitaciones de diseño, es evidente que las curvas de tolerancia deben cambiar con el tiempo evolutivo a medida que la selección natural las moldea para reflejar las condiciones ambientales cambiantes. No obstante, se sabe muy poco de la evolución de la tolerancia, la mayor parte de la información se refiere a la mera descripción de la gama o gamas de condiciones toleradas o explotadas por organismos determinados, bajo condiciones ambientales particulares. Comúnmente las curvas de tolerancia se toman como vienen y se interpretan como inmutables, con poca o nula consideración acerca de las fuerzas ecológicas y evolutivas que les dan forma. El rendimiento o tolerancia de un organismo son frecuentemente sensibles a dos o más variables ambientales (Pianka, 1982). Por lo tanto, es posible que una determinada curva de tolerancia encontrada para una especie, bajo condiciones ambientales particulares, no sea exactamente la misma en condiciones ambientales parecidas, dada la posibilidad de no controlar la totalidad de las variables que promuevan o inhiban su crecimiento.

La adaptación fisiológica o fenotípica, representa la respuesta de los organismos a los cambios temporales. Esta adaptación o ajuste se fija dentro de los límites del genotipo. También se caracteriza porque ocurren modificaciones en todos los individuos de una población expuestos a los cambios del ambiente. Desde el punto de vista ecológico las interacciones del genoma y el ambiente se agrupan convenientemente en:

#### 1.- Genoma fijo en ambiente variable

En este caso la adaptación debe llevarse a cabo de manera fisiológica o fenotípica. Los organismos deben adaptarse a las variaciones ambientales, como cambios de temperatura, pH, tipo y cantidad de alimento disponible, contenido de humedad en el medio, suplemento de oxígeno y otros (Brock *et al.*, 1987).

#### 2.- Genoma variable en ambiente fijo

En esta interacción, el genoma es el factor variable y los factores externos permanecen constantes. La variación ocurrida se



efectúa por medio de mutación, que es la transmisión hereditaria de un gen modificado y estable. La mutación puede ser espontánea o inducida, pudiendo realizarse también por transducción, transformación y conjugación (heterocariosis).

### 3.-Genoma variable en ambiente variable

Esta interacción genoma-ambiente es una adaptación evolutiva. La reacción de un genoma variable al ambiente variable es, en sí, una medida de la adaptabilidad del sistema genético propio de cada grupo de seres vivos. Los mecanismos para el cambio del genoma son los mismos a los mencionados en el párrafo anterior.

Por otra parte, la naturaleza y la magnitud de las actividades metabólicas de los microorganismos son tales que frecuentemente producen cambios en el ambiente. Los cambios iniciales son transformaciones del sustrato, seguido por el agotamiento de los alimentos y la elaboración de productos finales. Siempre y cuando las condiciones ambientales no sean tan extremas que sobrevivan sólo poco organismos especializados, habrá competencia entre los miembros de una comunidad por las fuentes de nutrimentos y energía, que son limitantes. Si los factores abióticos y los suministros de nutrimentos son favorables, entonces los microorganismos se multiplicarán y competirán por el espacio. La cantidad total de espacio disponible por lo general no está limitada, pero casi siempre hay un número limitado de microhábitats apropiados que contienen nutrimentos. En tales situaciones puede haber competencia por el espacio utilizable más que por el espacio total.

Entre las principales características de los microorganismos que les permiten ser buenos competidores, se incluyen las siguientes (Campbell, 1987):

1. Requerimientos moderados de nutrimentos y una amplia tolerancia de condiciones ambientales, de manera que continúe creciendo y reproduciéndose en una amplia variedad de sustratos y en una variedad de condiciones.
2. Tasas de crecimiento y reproducción rápidas, de modo que ocupen rápidamente cualquier microhábitat disponible, tienen etapas de latencia en casi todos los lugares y se diseminan ampliamente; por ejemplo, un alto potencial de inóculo.
3. La capacidad de producir toxinas; por ejemplo, antibióticos, para excluir a los competidores del microhábitat que está colonizado y, al mismo tiempo, tolerancia a las toxinas de otros organismos, de modo que puedan colonizar microhábitats ocupados.

Cuando ocurre la competencia puede haber varios resultados. El más obvio es que el organismo se adapte mejor al medio y crezca mejor que otros, excluyendo a todas las demás especies de ese medio, lo cual se conoce como exclusión competitiva. En situaciones relativamente sencillas, en las que esto se ha

estudiado, tales como quimiostatos, sobrevivirán las poblaciones con la más alta tasa de crecimiento. No obstante, si las condiciones ambientales cambian, entonces esto puede dar a un organismo distinto la más alta tasa de crecimiento y, por lo tanto, conducir a una nueva especie dominante. Puede haber coexistencia de poblaciones que compitan por un sustrato, si están separadas en cuanto a espacio, por ejemplo, en lodo y en agua. Algunos organismos pueden escapar a la competencia; hay microbios que desarrollan tolerancia extrema a las condiciones ambientales, de manera que pueden evitar la competencia por vivir en hábitats que otros organismos no usan o pueden usar sustratos que no pueden ser degradados por la mayor parte de la población.

Los microorganismos que habitan un ecosistema tienen muchos tipos de asociaciones o interacciones (Atlas y Bartha, 1981; Campbell, 1987). Algunas de estas asociaciones son indiferentes o neutrales; otras son benéficas o positivas y otras perjudiciales o negativas. Conforme cada uno de los tipos de asociación se ha ido dilucidando, se les han dado nombres específicos (Pelczar et al., 1983). Como cabe suponer, muchas de estas asociaciones no caen en categorías definidas.

Por otra parte, se ha observado que en la literatura afín a este campo de estudio existe confusión e incluso contradicción en el uso de los términos. Por ejemplo, el término simbiosis, inicialmente se propuso para referirse a "la convivencia mutua de organismos distintos" y fue usado como término general. Después, el término simbiosis tomó uno o más significados específicos, es decir, la asociación biológica en la cual los dos organismos obtienen beneficio. Anaya (1985) señala que la simbiosis representa un paso más que el mutualismo, hacia el proceso de mutua cooperación y beneficio entre dos organismos de diferente especie. Define al mutualismo como una relación que representa cierto beneficio para ambos asociados. De manera general, cabe destacar que actualmente existe una tendencia en el sentido de retomar el uso del término simbiosis en su sentido original.

De manera general puede decirse que el grupo de los protozoarios tiene representantes en los diversos tipos de interacciones reconocidas, lo que permite efectuar con ellos interesantes estudios ecológicos (Curds, 1977; Equihua y Benítez, 1987).

Para el estudio de la ecología de comunidades es necesario conocer su diversidad o heterogeneidad, es decir tanto el número de especies (riqueza) como la abundancia relativa de las mismas. De acuerdo con Peet (en Krebs, 1985), la heterogeneidad de una comunidad será mayor en la medida que haya más especies y de que estas últimas sean igualmente abundantes.

De acuerdo con Krebs (1985), una forma ampliamente aceptada para medir la heterogeneidad de una comunidad (dada su independencia de cualquier distribución hipotética), es la función de Shannon y Wiener, la cual en sentido estricto sólo debe emplearse con muestras aleatorias extraídas de un gran comunidad en que se conoce el número total de especies. El valor obtenido, como

resultado de la aplicación de esta función es directamente proporcional al grado de diversidad presente en la comunidad bajo estudio.

La función de Shannon-Wiener combina dos componentes de la diversidad: 1) el número de especies, y 2) la proporción relativa de los individuos en las diferentes especies (Lloyd y Ghelardi, 1964 en Krebs, 1985).

La función de Shannon-Wiener es la siguiente:

$$H = - \sum_{i=1}^S (p_i) (\log_2 p_i)$$

donde:

H = cantidad de información de la muestra (bits/individuo) = índice de diversidad de la especie

S = número de especies

$p_i$  = proporción del total de la muestra que corresponde a la especie i

Por otra parte, la medición de la igualdad, equidad u homogeneidad de una comunidad, puede calcularse de acuerdo con la siguiente proporción:

$$E = \frac{H}{H_{\text{máx}}}$$

donde:

E = equidad o igualdad (gama de 0 a 1)

H = diversidad de especies observada

$H_{\text{máx}}$  = diversidad de especies máxima

$$H = -S \left( \frac{1}{S} \log_2 \frac{1}{S} \right) = \log_2 S$$

S = número de especies de la comunidad

El valor de diversidad máxima ( $H_{\text{máx}}$ ) es un parámetro que permite inferir el número máximo de especies que potencialmente pudieran incorporarse a la comunidad registrada en un determinado hábitat.

#### I.2.4.4 Aspectos relativos a contaminación acuática

Usualmente, los cambios poblacionales que se presentan en una comunidad acuática están directamente asociados con los factores fisicoquímicos y biológicos que les rodean. La sucesión en comunidades de protozoarios es un fenómeno bien establecido. Los cambios en la dinámica y composición pueden resultar de cambios en la carga orgánica o en la comunidad planctónica en una pequeña laguna como una consecuencia de cambios estacionales. De entre los protozoarios, el grupo de los flagelados representan las principales comunidades pioneras, llegan a establecerse en una amplia variedad de substratos, alcanzando su equilibrio antes que otros grupos taxonómicos (Cairns, 1982). Existen diversos estudios encaminados a describir las comunidades prevaecientes bajo condiciones ambientales particulares. De hecho, se han empleado incluso estas asociaciones para determinar diversos grados de contaminación tanto en cuerpos acuáticos naturales (Cairns *et al.*, 1972; Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976a, b; Saavedra, 1982; Sládecek, 1979), como de sistemas de tratamiento empleados para la depuración de aguas residuales domésticas (Bick, 1971, 1972; Curds, 1983; Kinner, 1984; Kinner y Curds, 1988; Landon-Arnold, 1984).

Los protozoarios presentan diversas ventajas respecto a otros organismos, tanto micro como macroscópicos, en su aplicación para estudiar la calidad del agua (Cairns, 1982), como son:

- Distribución cosmopolita
- El muestreo representativo no daña de manera drástica la estructura de la comunidad
- Su presencia refleja el resultado del ambiente fisicoquímico y biológico en el que se encuentra
- Facilidad en el transporte y almacenaje de la muestra
- Relativa facilidad en su cultivo
- Tamaño pequeño
- Identificación morfológica directa con ayuda de técnicas preliminares relativamente sencillas
- Ciclo reproductivo corto, permite observar varias generaciones en poco tiempo
- Estructura comunitaria con niveles de organización complejos

Los protozoarios representan un eslabón muy importante dentro de la cadena o trama alimentaria presente a lo largo del proceso de biodegradación de la materia orgánica existente tanto en cuerpos de agua natural como aquellos sometidos a tratamiento biológico en plantas. Estos microorganismos son los responsables de disminuir de manera considerable la cantidad de bacterias en suspensión presentes en los líquidos residuales parcialmente tratados, lo cual redundará en la disminución del grado de turbiedad, debido al efecto depredador y de aglomeración que los protozoarios ejercen sobre las bacterias. Adicionalmente, los protozoarios inciden de manera directa sobre la mineralización de los compuestos orgánicos, es decir, que propician la estabilidad del material contaminante, lo cual reduce la interacción de éste con el ambiente (Wiggins y Alexander, 1988).

De manera particular, los protozoarios ciliados son responsables de una considerable proporción de la purificación de aguas residuales. Resultados experimentales a nivel de laboratorio, empleando agua residual doméstica, tratada en ausencia y en presencia de ciliados, evidenciaron que cuando los ciliados están presentes existe mayor remoción de contaminantes. Los porcentajes de remoción logrados son superiores en 40% para el material orgánico disuelto (medido como demanda química de oxígeno), 50% en contenido de nitrógeno orgánico y de 70%, tanto en sólidos suspendidos como en bacterias (Duncan, 1976).

Entre los protozoarios, los del Phylum Ciliophora, llamados comúnmente ciliados, con 7 200 especies conocidas (Corliss, 1966), son los más ampliamente estudiados desde el punto de vista de contaminación de cuerpos de agua tanto naturales como artificiales, particularmente aguas residuales en drenajes domésticos, aguas negras sin tratar y en sistemas de tratamiento biológico. Algunos de los trabajos realizados en este sentido han sido encaminados a asociar a las poblaciones de protozoarios ciliados encontradas de manera frecuente, con el nivel de contaminación por materia orgánica biodegradable, susceptible de ser cuantificado química y/o bioquímicamente (Bick, 1963, 1968, 1971, 1972, 1976a, b; Cairns, 1969, 1982; Cairns *et al.*, 1972, 1979; Curds, 1969, 1975, 1983; Curds y Cockburn, 1970a, b; Curds y Vandyke, 1966; Curds *et al.*, 1968, 1983; Fernández-Galiano, 1985; Henebry y Ridgeway, 1979; Kinner y Curds, 1988; Kinner *et al.*, 1988; Landon-Arnold, 1984, López-Ochoterena, 1965; Luna-Pabello, 1987; Luna-Pabello *et al.*, 1988, 1990 a, b; McKinney y Gram, 1956; Norouzian, 1984; Pratt y Cairns 1985; Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976 a, b; Rivera *et al.*, 1987, 1988; Sládeček, 1973, 1976, 1977, 1979, 1985a, b; Wiggins y Alexander, 1988, Yuhei *et al.*, 1989). De manera general pueden distinguirse dos métodos biológicos directos para abordar el uso de ciliados en la evaluación de contaminación orgánica del agua, de lo cual a continuación se hará referencia.

#### I.2.4.5 Evaluación de la calidad del agua usando ciliados

Para poder llevar a cabo esto, es necesario hacer dos consideraciones preliminares. La primera, que el término "calidad de agua", no es de tipo científico sino técnico y que el hombre la clasifica desde el punto de vista del uso que le da, como agua, potable, para recreación, para servicio industrial (p. ej. enfriamiento y generación de vapor en calderas) y sus consecuentes descargas tales como albañales, residuales industriales, aguas tóxicas y radioactivas. La segunda, que los microorganismos denominados ciliados debido a que presentan una amplia distribución geográfica; ocupan diferentes niveles tróficos y pueden desarrollarse en muchos hábitats dada su gran tolerancia o adaptabilidad a diferentes condiciones fisicoquímicas del ambiente, son susceptibles de ser empleados en la caracterización de ambientes contaminados. Antes de abordar este punto, se dará una breve descripción sobre la biología de los ciliados.

Los ciliados son seres unicelulares que miden de 10 micrómetros a 4 milímetros, y caracterizan por la presencia de cilios simples u organoides ciliares compuestos, cuando menos en un estado de su ciclo de vida; pueden ser libres nadadores, sedentarios o sésiles solitarios o coloniales. Sus formas corporales pueden ser esféricas, ovoides, alargadas con aplanamiento lateral o dorsoventral, existiendo especies en las que incluso se distinguen secciones a manera de "cabeza", "cuello" y "cola".

En los ciliados, la infraciliatura es universal y se localiza abajo de la película. Está representada por gránulos basales o cinetosomas, por las fibrillas y los microtúbulos asociados (p.e. la cinetodesma y los microtúbulos transversales y posciliares). La cinétida, está compuesta por uno, dos u ocasionalmente más cinetosomas, sus fibrillas asociadas y el cilio; la hilera longitudinal de cinétidas se conoce con el nombre de cinetia. Presentan de manera frecuente, bajo su película organoides como las vacuolas contráctiles o vesículas de expulsión de agua; el citoprocto o citopigio por donde se descargan los materiales indigeribles y varios tipos de extrusomas (organoides de expulsión) como los mucosistos, tricosistos y toxicistos. Su aparato nuclear es heterocarionte, es decir, que está formado por uno o más macronúcleos y micronúcleos, siendo los del primer tipo los responsables de la regulación metabólica y los segundos de lo relacionado con su genética y recombinación sexual. Su fisión es homotetogénica percinética (transversal cortando las cinetias). La estomatogénesis puede ser telocinetal, paracinetal, bucocinetal o apocinetal. Los procesos sexuales son la conjugación y la autogamia, la primera puede ser isogamónica o anisogamónica y temporal o total.

En general, los ciliados tienen boca o citostoma, variando su posición en los diferentes grupos; pudiendo ser muy simple en su estructura o ser una zona compleja asociada con una cavidad bucal que contiene organoides ciliares complejos como la membrana paroral y las membranelas (zona adhoral de membranelas). Son heterótrofos con métodos y preferencias alimenticias ampliamente variadas, pudiendo ser bacterívoros, alguívoros, fungívoros, herbívoros, carnívoros, omnívoros y consumidores de materia orgánica (Aladro-Lubel *et al.*, 1990).

De acuerdo con su adaptabilidad o tolerancia a la concentración de materia orgánica disuelta biodegradable, los ciliados pueden dividirse en dos grupos: eurisaprobios y estenosaprobios (del griego sapros, putrecible). Los primeros presentan un intervalo amplio de tolerancia a la saprobiidad y los segundos uno estrecho (Odum, 1971). Lo anterior, aunado al hecho de que los organismos que se desarrollan en un determinado ambiente acuático, son el reflejo directo de la calidad fisicoquímica prevaeciente en ese medio, hace factible el poder inferir dichas características fisicoquímicas a partir de la identificación de los organismos que en él viven. En este sentido es posible discernir dos métodos para estimar de manera directa la calidad del agua, en cuanto a materia orgánica se refiere, empleando ciliados. Uno basado en la determinación de las especies predominantes y sus intervalos de

tolerancia (sistema saprobio) y otro fundamentado en la riqueza y abundancia de las especies presentes (estructura comunitaria). Ambas formas de evaluación biológica se describirán a continuación.

### El sistema saprobio

Un factor importante de la calidad del agua es la saprobiedad. Esto significa que la materia orgánica de desecho presente en disolución acuosa, sea capaz de descomponerse completamente de manera bioquímica por organismos degradadores (bacterias, hongos y protozoarios). 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 pueden ser utilizados para clasificar la contaminación por materia orgánica.

El sistema saprobio o sistema de organismos que viven en la pudrición, es un procedimiento mediante el cual se pretende, a partir de determinadas especies de microorganismos, evaluar el grado de contaminación que, por materia orgánica disuelta altamente biodegradable, presenta un cuerpo de agua. Los organismos comúnmente empleados son los de tipo esteno. 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.

El sistema de saprobiedad, se desarrolló 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. De aquí que las condiciones bajo las cuales pueden usarse estos sistemas con algún grado de acierto son cuando las aguas residuales están contaminadas con residuos biodegradables (como las aguas residuales domésticas y las de procesamiento de alimentos) y cuando el cuerpo receptor (generalmente un río) fluye lentamente y sin turbulencia. Este sistema de evaluación no puede utilizarse para "detectar" metales pesados o cualquier otro tipo de sustancias tóxicas. Adicionalmente, debe considerarse que la ausencia de una determinada especie de microorganismo, no siempre va a indicar lo desfavorable del ambiente, ya que es posible que dicho microorganismo no haya tenido siquiera la oportunidad de llegar a colonizar esa zona (Sládecek, 1975; Saavedra, 1982).

El sistema saprobio puede dividirse en cuatro partes (figura 1):

#### 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. Se caracteriza 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, en Sládecek, 1973)

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

b) Oligosaprobio (o) (Kolkwitz y Marsson, 1902, en Sládecek, 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, en Sládecek, 1973)

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, en Sládecek, 1973)

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, en Sládecek, 1973)

Agua más contaminada con materia orgánica que el anterior, contenido mínimo de oxígeno disuelto, prevalecen compuestos orgánicos de alto peso molecular como carbohidratos y proteínas.

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) (Sládecek, 1961, en Sládecek, 1973)

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, C. campylum, Glaucocoma scintillans, Tetrahymena



pyriformis, Dexiotricha centralis, Vorticella microstoma, Polytoma uvella y Zoooglea. Máximo número de ciliados: 50,000 individuos por mililitro. Flagelados y bacterias muy abundantes. Medio con muy poco oxígeno disuelto. Medio con muy poco H<sub>2</sub>S. DBO<sub>5</sub> entre 40 y 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) (Sládecek, 1959, en Sládecek, 1973)

Equilibrio de flagelados. Principales indicadores: Cercobodo longicauda, Bodo putrinus, Oicomonas mutabilis, Trepomanas compressa, Tetramitus pyriformis, Hexamitus, Spirillum, Lamprocystis y Peloploca. Flagelados: aproximadamente 300,000 individuos por mililitro. Condiciones anaerobias, fuerte formación de H<sub>2</sub>S. DBO<sub>5</sub> entre 200 y 700 mg/L. Antes de la aplicación de métodos biológicos, el H<sub>2</sub>S debe ser eliminado por aeración. Índice de coliformes de aproximadamente 10,000,000/L. Gran peligro de enfermedades infecciosas, licor séptico, probable presencia de componentes tóxicos para el hombre.

c) Hipersaprobiedad (h) (Sládecek, 1973)

Proceso de descomposición de las aguas residuales por bacterias y hongos, que sirven también como indicadores. Bacterias psicrófilas: 50,000,000 por mililitro. Condiciones anaerobias, trazas de H<sub>2</sub>S. DBO<sub>5</sub> entre 500 y 1,500 e inclusive 2,000 mg/L. En la mayoría de los casos el tratamiento biológico aerobio directo no es posible. Es necesario un pretratamiento químico, llevar a cabo una dilución, o bien aplicar procesos anaerobios. Índice de coliformes de aproximadamente 1,000/mL. Alto peligro de enfermedades infecciosas, en algunos casos envenenamiento por ptomainas.

d) Ultrasaprobiedad (u) (Sládecek, 1973)

Nivel abiótico en aguas industriales, principalmente antes de los procesos de biodegradación. Sin organismos indicadores, aunque pueden encontrarse quistes y esporas, pocos gérmenes por mililitro. DBO<sub>5</sub> entre 1000 a 120,000 mg/L. Únicamente son aplicables los procesos anaerobios. Los métodos de oxidación biológica son aplicables con dificultad. Índice de coliformes: cero.

4.- Transaprobiedad (del griego trans, más allá)

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

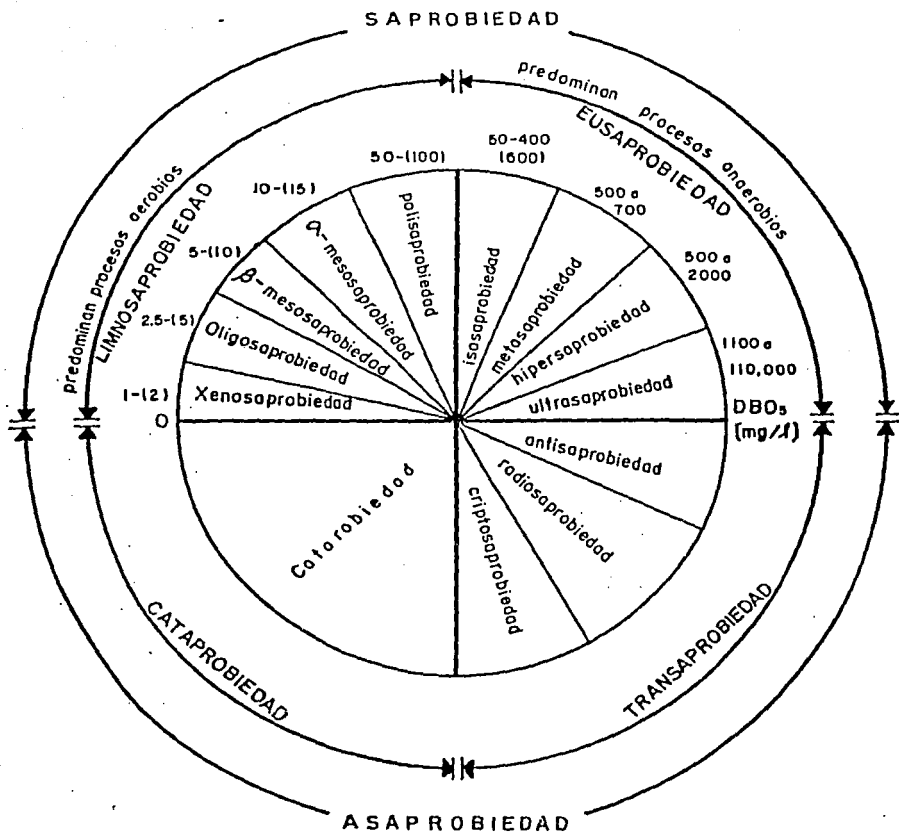


Figura 1. Esquema del sistema saprobio (Sládeček, 1973)

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 preferentemente:

- Demanda química de oxígeno (DQO) para catarobiedad y transaprobiedad.
- Demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO<sub>5</sub>), para limnosaprobiedad y eusaprobiedad.

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

Debido a que, en general, los cambios en la diversidad de especies son confiables pueden ser utilizados para medir 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 por la reducción del número de especies presentes aunado 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 (figura 2). De este modo, el intervalo de individuos de especies se amplía (figura 3). Este rasgo de cambio en la estructura de la comunidad ha sido demostrado en cultivos de comunidades algales en laboratorio (Bozniak, 1969, en Cairns et al., 1972).

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 crispera 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 producido en plantas de generación de energía 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 y con compuestos organoclorados, entre otros. 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

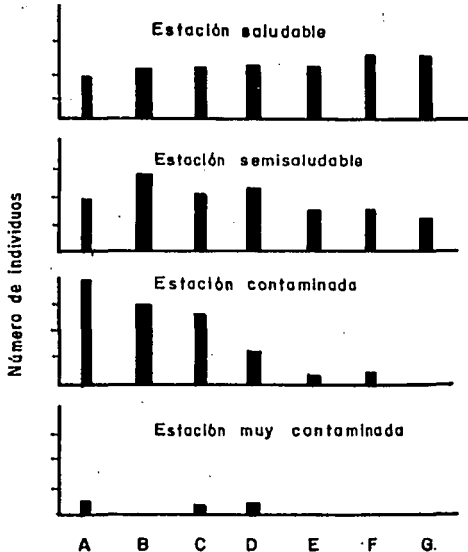


Figura 2. Especies vs. número de individuos (Tomado de Patrick et al., 1954).

A= Algas verde-azules; B= Gusanos; C= Protozorios;  
 D= Algas verdes; E= Rotíferos; F= Crustáceos; G= Peces.

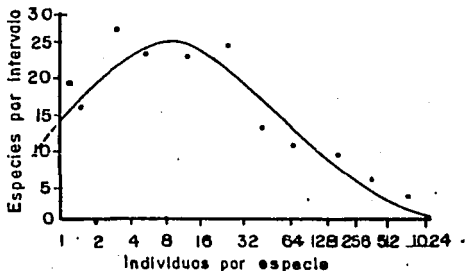


Figura 3. Número de individuos por especie vs. especie por intervalo (Tomado de Patrick et al., 1954, en Cairns, 1972)

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.

De acuerdo con Cairns et al. (1972), 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 substancias 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 a 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.

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 punto de vista. Una de las desventajas de compartamentalizar el estudio biológico con base en 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 las especies en el campo o laboratorio sobre colecciones diarias provee poca información para ordenar el rápido cambio en contenido de especies. Existen pocos informes sobre las medidas de los procesos microbianos, así como de los aspectos cuantitativos relacionados con los cambios sucesionales en sistemas acuáticos naturales y en la estructura de comunidades microbianas a nivel laboratorio. Por supuesto, no se subestima la investigación disponible desempeñada en esta área, pero hay que enfatizar la necesidad de mayor información al respecto. Obviamente, deberán conocerse mejor las características sucesionales de algas, protozoarios y otros microorganismos para poder distinguir entre cambios "naturales" y por contaminación (Cairns et al., 1972).

## II OBJETIVOS

Tomando en consideración lo anteriormente expresado, se llevó a cabo el planteamiento de los objetivos del presente estudio, los cuales se enuncian a continuación.

### II.1 Objetivo general

Estudiar de manera comparativa las poblaciones de ciliados, que se desarrollan a lo largo de un reactor de biodiscos a escala de laboratorio, durante la fase de equilibrio dinámico o régimen pseudoestable (independiente del tiempo), empleando por separado tres tipos de aguas residuales.

### II.2 Objetivos particulares

- \* Caracterizar fisicoquímicamente y microbiológicamente las aguas residuales en estudio.
- \* Seleccionar las técnicas microscópicas para determinar los ciliados presentes durante la fase pseudoestable del reactor.
- \* Determinar las condiciones permanentes de operación del RBR para la experimentación con diferentes sustratos.
- \* Registrar los parámetros fisicoquímicos y biológicos elegidos para controlar y evaluar el comportamiento del RBR en su fase pseudoestable.
- \* Comparar la diversidad de ciliados (riqueza de especies y abundancia relativa) presente en cada uno de los períodos pseudoestables experimentales con diferente sustrato y su asociación con la concentración del mismo.

### III MATERIALES Y METODOS

#### III.1 Estrategia de trabajo

Este estudio está enfocado a comparar las comunidades de protozoarios ciliados presentes en reactores biológicos rotatorios que depuran diferentes aguas residuales industriales. Los principales parámetros biológicos a comparar son el número de especies, su abundancia relativa y su distribución en las diferentes cámaras que conforman cada uno de los reactores de biodiscos. De manera complementaria se medirá el pH, la temperatura y la concentración de materia orgánica (medida como DQO y DBO<sub>5</sub>) de las aguas residuales, antes y durante su recorrido a través de los RBRs.

El uso de los ciliados, como parámetro en la evaluación de calidad de agua, es factible debido a que son organismos que por su tamaño presentan una gran interacción con el ambiente que les circunda. Esta característica trae como consecuencia una alta sensibilidad a la calidad fisicoquímica del medio que les rodea. De aquí que, tanto su composición química como su comportamiento, se vean afectados de manera evidente cuando el ambiente es modificado. Por consiguiente, su uso real y potencial en la evaluación de la calidad fisicoquímica de ambientes acuáticos se justifica.

Por otra parte, de acuerdo con las curvas de tolerancia ambiental de los ciliados y, en particular, a las diferentes concentraciones de materia orgánica biodegradable disuelta (saprobiidad), es factible encontrar especies eurisaprobias y estenosaprobias. Las primeras a su vez podrían ser catalogadas como especies depuradoras, dado que se mantienen activas tróficamente dentro de un amplio intervalo de saprobiidad y las segundas como indicadoras de saprobiidad, como consecuencia de su estrecho intervalo de tolerancias para esa misma variable.

Por lo tanto, resulta interesante evaluar los posibles cambios en la composición de las comunidades de ciliados (riqueza de especies y abundancia relativa) y la distribución que de éstas se presente a lo largo de los RBRs durante la depuración de diferentes aguas residuales. Los resultados obtenidos permitirán inferir la factibilidad de generalizar o no, para las diferentes aguas residuales existentes, el uso de métodos biológicos para evaluar la calidad saprobial del agua, a partir del empleo de los ciliados vía estructura comunitaria o bien, indicadores de saprobiidad. Es importante mencionar que la realización de los experimentos se hará enfocada a obtener una interacción ecológica de tipo genoma fijo en ambiente variable. En este sentido, se supondrá que las especies de ciliados presentes no tendrán cambios genéticos significativos y que su presencia en un determinado ambiente (agua residual en tratamiento) será el resultado directo de su capacidad de adaptación fisiológica al tipo y cantidad de alimento disponible. Cabe mencionar que el alimento (como variable) no constituye el único parámetro que

incide en la presencia y proliferación de las especies observadas (de lo cual ya se hizo hincapié anteriormente), sin embargo, dada la finalidad de esta investigación, se le considerará como el que permite o no la presencia de las especies y que, además, limita tanto su distribución como su abundancia.

Tomando en consideración lo anteriormente expuesto, se realizará el estudio comparativo de las poblaciones de ciliados, que se desarrollan a temperatura ambiente (20°C) en un reactor de biodiscos a escala de laboratorio, bajo condiciones de operación controladas, empleando tres diferentes aguas residuales como sustrato. Los efluentes líquidos residuales seleccionados son los provenientes de un molino de nixtamal (nejayote), los de un ingenio azucarero/alcoholero (vinazas) y los de una fábrica de papel (aguas blancas). El procedimiento a seguir se describe en las siguientes secciones.

### **III.2 Partes, especificaciones y operación de los RBRs**

Los tres reactores biológicos rotatorios (RBRs) empleados en estos experimentos, se construyeron con semicilindros huecos, colocados horizontalmente sobre una estructura metálica a la cual se le dió una ligera pendiente de inclinación.

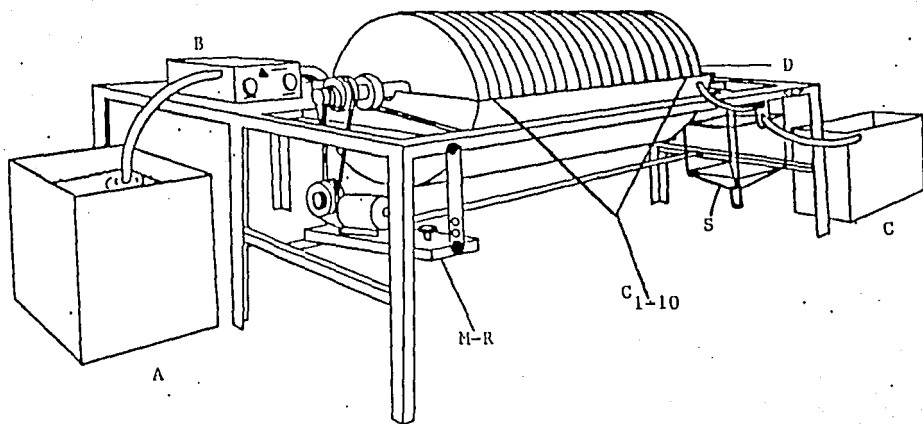
El recipiente semicilíndrico o tina contiene el líquido residual por tratar y también los aglomerados microbianos generados durante el proceso de biodegradación. La base de cada reactor, se subdividió en 10 compartimentos transversales de igual tamaño, los cuales se separaron por medio de mamparas de acrílico. Las cámaras de cada reactor, se intercomunican mediante un par de ranuras laterales localizadas en la parte superior extrema de cada mampara. Estas ranuras permiten el paso, tanto del líquido como de los flóculos microbianos, hacia la siguiente cámara, cuando éste ha llegado al nivel máximo de capacidad (figura 4). Esta particularidad hace que en este tipo de sistemas, el proceso de degradación biológica se lleve a cabo de manera secuencial.

Cada una de las cámaras tiene un volumen de trabajo de aproximadamente 2 litros. Además, contiene dos discos de 0.3 m de diámetro y 3 mm de espesor, sumergidos aproximadamente 40% de su área superficial total (tabla 2). Los discos están sujetos a un sólo eje de acero inoxidable, el cual es movido a partir de un juego de poleas, acopladas a un motor eléctrico (figura 5). El motor es de 1/10 HP de potencia y funciona con corriente directa, su velocidad de rotación es regulada por un circuito electrónico, lo que permite obtener un intervalo en la rotación de los discos entre 6 y 30 rpm.

Una vez que el líquido en tratamiento ha pasado por las 10 cámaras de cada reactor, es vertido en su respectivo sedimentador secundario, los cuales están fabricados en material acrílico y cuantan con una capacidad total de 18 litros cada uno.







**Figura 5. Reactor biológico rotatorio (RBR) experimental**

A Tanque de alimentación; B Bomba peristáltica;  
 C Tanque colector; C<sub>1-10</sub> Cámaras del RBR;  
 D Discos; M-R Motor-reductor; S sedimentador secundario

**Tabla 2. Resumen de las características de los reactores biológicos rotatorios (RBRs) experimentales**

Parámetro	Valor
Número de etapas	10
Número de discos por etapa	2
Diámetro de los discos, cm	30
Espesor de los discos, cm	0.3
Área superficial total por etapa, m <sup>2</sup>	0.2827
Volumen de agua por etapa, m <sup>3</sup>	0.002
Relación área/volumen	141.4
Porcentaje sumergido	40
Velocidad de rotación, rpm	6 a 30

El arreglo estructural de los RBRs, permite obtener de manera relativamente fácil muestras de sus diferentes etapas. Esta particularidad, aunada a su capacidad para tratar de manera secuencial el agua residual suministrada (degradando al inicio del reactor aquellos compuestos de más fácil disposición y en las últimas cámaras los de difícil metabolización), los hace idóneos para efectuar estudios sucesionales de comunidades microbianas y su asociación con gradientes de contaminación.

### III.3 Aguas residuales seleccionadas para el estudio

En este trabajo se abordará el estudio de tres efluentes líquidos industriales (del latín fluere, fluir y efluere, fluir hacia afuera) o aguas residuales generadas por la industria, para evaluar la viabilidad de su tratamiento por métodos aerobios. Como se mencionó con anterioridad, los métodos biológicos son recomendables para eliminar el material orgánico biodegradable disuelto presente en esas aguas residuales. De manera particular, los de tipo aerobio permiten lograr una mejor calidad de agua tratada, siendo recomendables para aquellos casos en que se haya efectuado un tratamiento anaerobio previo. Los casos de estudio fueron seleccionados a partir de las ocho principales ramas industriales que, por el volumen de aguas de desecho generadas y su carga contaminante, son las que crean mayores problemas de contaminación en las cuencas del país y en las zonas urbano-industriales. Dichas aguas residuales son las provenientes de un molino de nixtamalización de maíz (conocidas como nejayote), las de un ingenio azucarero/alcoholero (denominadas vinazas) y las de una fábrica que produce papel "tissue" a partir de papel de desecho (llamadas aguas blancas).

A continuación se dará información somera sobre este tipo de aguas residuales industriales Durán de Bazúa y Hartmann, 1980; Durán de Bazúa et al, 1988; Fernández-Villagómez et al, 1988).

### III.3.1 Aguas residuales de molinos de nixtamal

Los molinos de nixtamalización (del Náhuatl: nextli cenizas de cal y tamalli masa de maíz cocido) para la producción de masa para tortillas, forman parte de la rama de la industria alimentaria más importante en México. Un esquema simplificado del proceso convencional empleado en la nixtamalización puede observarse en la figura 6.

Las aguas residuales generadas durante el proceso de la nixtamalización del maíz, son conocidas como nejayote (del Náhuatl: nextli, cenizas de cal; ávoch, caldo y atl, agua). Presentan coloración amarilla y, en ocasiones, consistencia viscosa, asimismo algunos lotes de agua, principalmente los provenientes del lavado del grano, tienen apariencia lechosa, debido a la cantidad de cal agregada durante el proceso. Las cargas de materia orgánica (tabla 3) representan aproximadamente 100 veces más concentración que las contenidas, para un mismo volumen, en aguas residuales de tipo doméstico. Consecuentemente, su envío a los colectores municipales representa una severa carga en las urbes y en las zonas suburbanas y rurales, donde se encuentran innumerables molinos de nixtamal. El tratamiento biológico de estos efluentes ha sido ya ampliamente estudiado desde 1977 y, a raíz del análisis de la información generada, ha podido constatarse la bondad del sistema de biodiscos para su depuración (Durán de Bazúa, 1983; 1987; Luna-Pabello, 1987; Pedroza, 1985; Pedroza-Islas y Durán de Bazúa, 1990).

### III.3.2 Aguas residuales de un ingenio azucarero/alcoholero

En los ingenios azucareros/alcoholeros hay dos corrientes líquidas que, por su volumen y carga orgánica representan un problema muy serio de contaminación ambiental. Estas son las aguas de lavado de la caña de azúcar y las que provienen de las torres de destilación del alcohol de caña, conocidas como vinazas. Un esquema simplificado del proceso se puede observar en la figura 7.

Para las vinazas, las cuales tienen una apariencia pardo negruzca, la carga orgánica contaminante (tabla 3) es comparativamente equivalente a 200 veces las aguas residuales domésticas. Esto, aunado al hecho de que por cada litro de alcohol etílico producido se generan 10 litros de vinazas y que la producción para 1989 fue de 115 millones de litros de etanol, da una idea de la magnitud del problema (Zámano-Pérez et al, 1991).

En años recientes, se han realizado pruebas para el tratamiento biológico de las vinazas, encontrándose muy buenos resultados,

principalmente cuando se emplea una secuencia de tratamiento anaerobia-aerobia, siendo el reactor de biodiscos el más recomendable para la fase aerobia (Durán de Bazúa *et al.*, 1988; Zámamo-Pérez *et al.*, 1991).

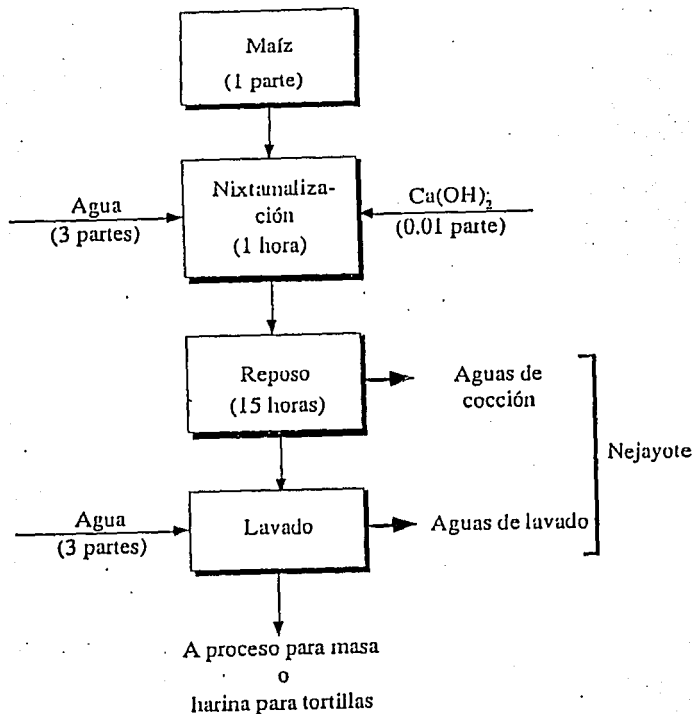
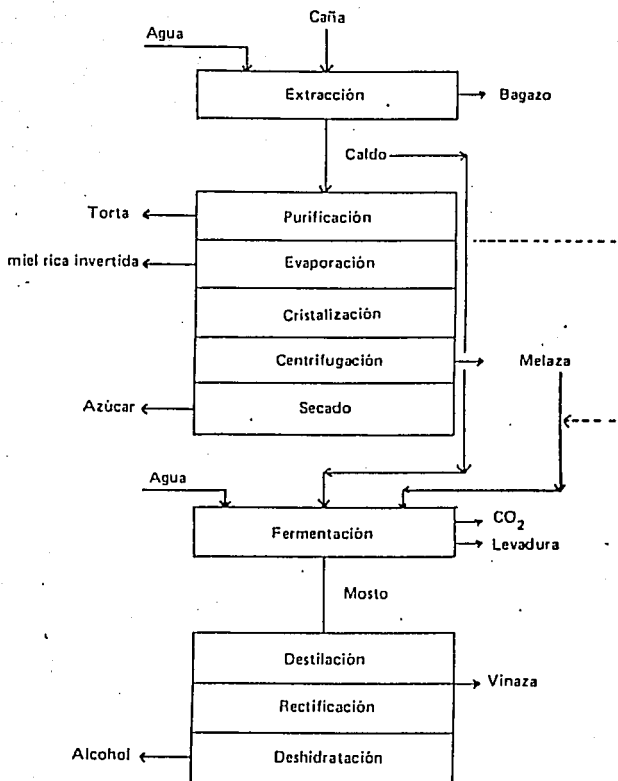


Figura 6. Proceso de nixtamalización tradicional y la generación de aguas residuales conocidas como nejayote (tomado de Durán de Bazúa, 1987a).



**Figura 7. Diagrama simplificado de producción simultánea de azúcar, alcohol, miel rica invertida y subproductos (tomado de Zámano-Pérez et al., 1991).**

### III.3.3 Aguas residuales de una fábrica de papel a partir de papel de desecho

En México, debido a la escasez de celulosa virgen, el papel de desecho es reciclado para la producción de papel higiénico. Las aguas residuales generadas, por su apariencia, son conocidas con el nombre de aguas blancas y tienen una carga orgánica similar o ligeramente superior a las domésticas (de una a dos veces), aunque no son tan biodegradables como en los casos anteriores (tabla 3). Un esquema simplificado del proceso que da origen a este tipo de aguas residuales se muestra en la figura 8. Por otra parte, se han realizado experimentos sobre su tratabilidad mediante sistemas biológicos encontrándose que mediante reactores de biodiscos a nivel de laboratorio el tratamiento es altamente promisorio (Vázquez-García et al., 1990).

**Tabla 3. Algunas características fisicoquímicas y bioquímicas del nejayote, aguas blancas y vinazas almacenadas**

Parámetro	Nejayote *	Aguas blancas **	Vinazas ***
Temperatura, °C	10-30	10-25	25-30
pH	5.0-11.5	7.1-7.3	4.5-5.5
Sólidos totales, mg/L	17640	1120	47700
Materia orgánica soluble medida como			
DBO <sub>5s</sub> , mgO <sub>2</sub> /L	6750	460-590	27500
DQO <sub>5</sub> , mgO <sub>2</sub> /L	18560	700-1160	64000
Nitrógeno Kjeldahl, mgN/L	274	-	1300
Nitrógeno amoniacal, mgN/L	-	0.151	500

\* Pedroza-Islas, 1985 y Durán de Bazúa, 1987a

\*\* Vázquez-García et al., 1991

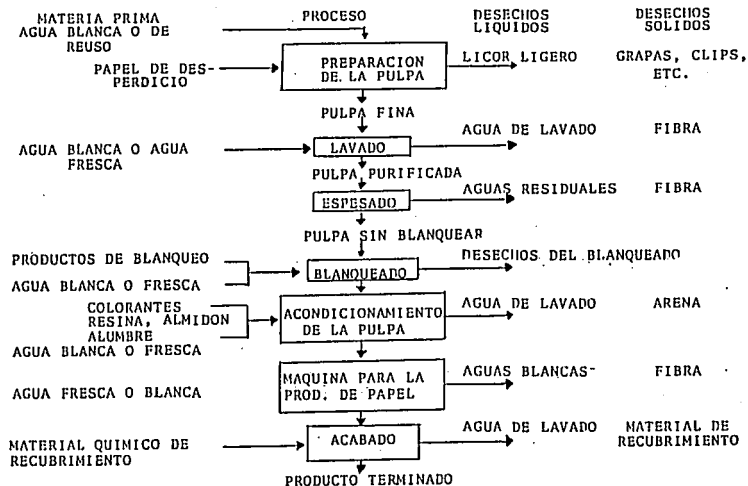
\*\*\* Durán de Bazúa et al., 1988 y Zámano-Pérez et al., 1991

- Valores por debajo del nivel de detección

### III.4 Actividades y consideraciones preliminares a la experimentación con RBRs

#### III.4.1 Arranque y operación de los RBRs

El arranque o inicio de operación de los reactores se hizo con agua corriente para detectar posibles fugas entre mamparas, medir el volumen real de trabajo de cada cámara y total (con discos inmersos), así como posibles fallas en los motores y en los controles de velocidad de rotación de los discos. También se realizaron algunos ajustes en la separación de los discos en cada cámara, con objeto de optimizar el mezclado del licor en la totalidad de las cámaras de los RBRs.



**Figura 8. Diagrama general de proceso, materia prima y desechos de una planta que produce papel "tissue" a partir de papel de desecho (tomado de Vázquez-García, et al., 1990).**



## Fase pseudoestable de la película biológica activa

Para acortar el tiempo requerido para la formación de la película biológica activa, en su fase pseudoestable, se aceleraron en lo posible las fases previas de inducción y acumulación, con lo cual se redujo el tiempo empleado, de tres meses a un mes (Luna-Pabelló, 1987, 1990). El procedimiento empleado fue el siguiente:

- Se incorporó, en todas las cámaras de cada reactor, líquido residual a una concentración de materia orgánica constante, medida como mg/L de demanda química de oxígeno (DQO). El líquido influente se elaboraba a partir de nejayote, vinazas o aguas blancas.
- Se mantuvo la rotación de los discos a seis rpm durante una semana, con la finalidad de facilitar la adsorción de los compuestos orgánicos y la adhesión de los microorganismos al soporte.
- Se inocularon las 10 cámaras de cada reactor, al inicio de la operación y de manera periódica, con microorganismos obtenidos, tanto de otro reactor de biodiscos, como con microorganismos cultivados a partir de suelo y agua estancada.
- Durante este período (una semana), solamente se suministró de manera intermitente el líquido necesario para compensar el volumen evaporado, tratando así de evitar un cambio brusco de las características fisicoquímicas del agua contenida en el sistema. Lo anterior favorece la aclimatación más rápida, aunque paulatina, de los microorganismos sembrados y, consecuentemente, su crecimiento y reproducción dentro del RBR.
- Una vez lograda la inducción de la película, se suministró a los RBRs, líquido residual en forma continua, mediante bombas peristálticas Masterflex (Cole-Parmer Inc.), aumentando gradualmente el gasto (volumen incorporado por unidad de tiempo), hasta llegar a 0.833 L/h en las siguientes dos semanas. El líquido sirve como fuente de alimento permanente para los microorganismos establecidos, tanto en la superficie de los discos, como en el líquido contenido en las cámaras (licor mezclado). Lo anterior promueve que se incremente no sólo el área y grosor de la película biológica activa, sino también el número y tamaño de los flóculos suspendidos (grumos microbianos). Esto último conlleva al aumento en el consumo de los compuestos biodegradables disueltos y consecuentemente la disminución de los contaminantes del agua en tratamiento.

## Evaluación del comportamiento fisicoquímico de los RBRs

De los diversos parámetros existentes para evaluar la calidad de las aguas, se seleccionaron aquellos que se consideraron fundamentales para evaluar el funcionamiento de los RBRs, como temperatura, pH, oxígeno disuelto y demandas solubles química y

bioquímica de oxígeno (DQO y DBO<sub>5</sub>, respectivamente). Se registraron rutinariamente in situ, la temperatura y pH mediante un multímetro poly-Pram modelo PA-22 y el oxígeno disuelto empleando un medidor de oxígeno Presto-Tek, modelo HI-8043. También se realizaron de manera periódica, análisis de la demanda química de oxígeno (DQO), de acuerdo con el procedimiento establecido por la APHA (1981), de muestras procedentes de las cámaras del RBR. Esta prueba química permite, en términos generales, conocer la concentración de materia oxidable (orgánica e inorgánica) presente en una muestra de agua. La metodología se basa en el empleo de un fuerte oxidante químico en medio ácido a 150°C durante dos horas y para su realización se utilizó un equipo Behr. La técnica de DQO y el equipo empleado se describen en el anexo I. Los análisis de DBO<sub>5</sub> se llevaron a cabo empleando un respirómetro automático Voith-Sapromat B-6 y se efectuaron únicamente cuando el RBR se encontraba en fase pseudopermanente. El análisis de DBO<sub>5</sub>, consiste en estimar, durante un período de cinco días a 20°C, la cantidad de oxígeno requerido, consecuencia de la actividad metabólica de los microorganismos inoculados. A partir de dicho metabolismo, los microorganismos efectúan la transformación de sustrato (material orgánico disuelto utilizable), en energía metabólicamente disponible. El equipo empleado fue un respirómetro Voith-Sapromat B-6, el cual se apega a los requerimientos establecidos por la APHA (1981). El procedimiento de su uso y una descripción más detallada del equipo se encuentra en el anexo I.

Cabe mencionar que las evaluaciones de DBO<sub>5</sub> y DQO, se hicieron únicamente para la fracción soluble de las muestras analizadas, por lo que a lo largo de este trabajo, los valores se refieren justamente a la materia disuelta.

#### III.4.2 Estabilización funcional o fase pseudopermanente de un RBR

Para conseguir la estabilización de los reactores de biodiscos usados, previa obtención de una película biológica activa constante, se procedió de la siguiente manera:

- 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.
- Realizar análisis periódicos de concentración de materia orgánica disuelta mediante la prueba de DQO a muestras provenientes de la alimentación y del efluente. La aplicación sistemática de esta prueba permite conocer el porcentaje de remoción logrado en las aguas residuales después de un determinado tiempo de permanencia dentro del sistema de tratamiento, conocido como tiempo de residencia hidráulico (TRH).
- Mantener constante la concentración y el volumen del influente

suministrado a los reactores. Esto permite que las cámaras de los RBRs reciban permanentemente y de manera secuencial la misma concentración de sustrato. Para verificar que estos parámetros no presenten variaciones considerables se hacen, cada tercer día, análisis de DQO, de muestras centrifugadas tanto de los tanques de alimentación como de cámaras intercaladas de los reactores (1, 3, 5, 7 y 10).

- Cuando los valores obtenidos, no presentan diferencias significativas (menos del 10% de variación), se toma una muestra de todas las cámaras. Si no se encuentra variación estadísticamente significativa, se considera que el sistema ha alcanzado la estabilidad esperada.

#### Establecimiento de las condiciones de operación de los RBRs

Para establecer las condiciones de operación de los RBRs, que garantizaran la biodegradación aerobia del agua residual en tratamiento, se consideraron los experimentos realizados con anterioridad, en RBRs de características estructurales similares (Luna-Pabello, 1990), los cuales incluían la variación tanto de la velocidad rotacional de los discos, como de la concentración de materia orgánica contenida en el influente. De acuerdo con los resultados obtenidos, puede decirse que el RBR funciona con el 80% de las cámaras en condiciones aerobias, es decir, con concentraciones de oxígeno disuelto superiores a dos miligramos por litro, bajo las siguientes condiciones de operación: tiempo de residencia hidráulico de un día; velocidad rotacional de los discos de 30 rpm y carga orgánica de aproximadamente 2000 mg/L medidos como demanda química de oxígeno (DQO).

Durante el desarrollo de la fase experimental del presente trabajo se adoptaron las condiciones de operación mencionadas en el párrafo de arriba, modificando solamente el tipo de agua residual alimentada (nejayote, vinazas o aguas blancas).

### III.5 Experimentación en RBRs con diferentes sustratos

De acuerdo con los objetivos planteados, referentes a realizar el estudio de las comunidades de protozoarios ciliados en RBRs, con diferentes sustratos, es necesario llevar a cabo los experimentos bajo condiciones de operación similares, variando solamente el tipo de sustrato o agua residual. Consecuentemente, la metodología de análisis fisicoquímico, bioquímico y de observaciones al microscopio, empleada durante la fase de régimen pseudopermanente, es la misma, para los tres tipos de sustratos seleccionados, nejayote, vinazas y aguas blancas.

La realización de los experimentos con diferentes sustratos, con objeto de obtener valores comparativos del comportamiento fisicoquímico del reactor y de la diversidad (número de especies y abundancia específica) de ciliados en las diferentes aguas residuales en tratamiento, se hizo a una temperatura de aproximadamente 20°C.

Los resultados experimentales del RBR operado a 20°C y empleando nejayote como sustrato, se obtuvieron de estudios previamente realizados (Luna-Pabello, 1990). Para ello se ubicó al RBR a temperatura ambiente dentro de un cuarto cerrado. Para prevenir fluctuaciones bruscas de temperatura ambiental, principalmente por las noches, se anexó al reactor un calentador de aire autorregulable, cuyo intervalo de temperatura oscila entre 15 y 40°C, el cual se ajustó convenientemente para mantener la temperatura deseada.

Para la obtención de los resultados experimentales a 20°C, en los RBRs alimentados uno con vinazas y otro con aguas blancas, se acomodaron en un laboratorio a temperatura ambiente, que resultó estar entre 7 y 15°C. Dado que el ambiente resultaba frío, se requirió incorporar un aditamento para lograr obtener la temperatura seleccionada. Por cuestiones prácticas, se eliminó la alternativa empleada en el experimento con nejayote y se optó por colocar en la base del reactor, una lámina de calefacción con regulador de temperatura autoajutable.

Es necesario mencionar que en el experimento realizado en el RBR alimentado con aguas blancas, se requirió adoptar un valor de concentración de materia orgánica en el líquido alimentado, menor al preestablecido (2000 mg DQO/L). Esto ocurrió debido a que no fue posible obtener, con la frecuencia requerida, dadas las condiciones de operación prevalecientes durante esa época en la planta de producción de papel, aguas residuales con esa concentración. Consecuentemente, se tuvo que realizar la experimentación alimentando al RBR con aguas residuales cuyo valor promedio de DQO en el líquido residual generado por la planta durante esa etapa de producción de papel era de 900 mg/L.

### III.5.1 Análisis fisicoquímico y bioquímico del RBR en fase pseudopermanente

Durante esta etapa de la experimentación, se registraron los valores de temperatura, pH y oxígeno disuelto de manera rutinaria empleando el equipo mencionado con anterioridad y sólo con objeto de constatar que el reactor operara dentro de los límites que permitieran el desarrollo de los microorganismos de interés, es decir, de los ciliados, los cuales, de acuerdo con la literatura especializada y experimentos anteriores afines, son los siguientes: pH entre seis y nueve; temperatura de cero a 35°C; oxígeno disuelto entre cero y 14 mg/L.

Por otra parte, tomando en cuenta que los parámetros DQO y DBO<sub>5</sub>, son de los más frecuentemente empleados para determinar el grado de contaminación orgánica en muestras de aguas procedentes, tanto de cuerpos de agua naturales y de aguas residuales domésticas e industriales, como para plantas depuradoras, se hace notorio su requerimiento para conocer el grado de remoción de contaminantes logrado en las diferentes cámaras de los RBRs. La aplicación de las técnicas de análisis químico y bioquímico de materia orgánica, fueron realizadas únicamente para estimar la

contaminación presente en la fracción soluble de las muestras analizadas.

Los análisis de DQO soluble, se realizaron durante cada período de régimen pseudopermanente, con una frecuencia de tres veces por semana, previa toma y centrifugación de las muestras, siguiendo la metodología antes mencionada.

La prueba de DBO<sub>5</sub> a 20°C durante cinco días, se realizó acorde al procedimiento previamente citado, efectuándose únicamente durante la fase pseudopermanente del reactor, una vez por semana, aplicándola solamente al líquido alimentado al RBR y a cinco de las 10 cámaras, las cuales se seleccionaron de manera alternada. Este procedimiento se hizo debido a las propias limitaciones del equipo empleado (Voith-Sapromat B-6), el cual consta de sólo seis compartimientos, uno por muestra, que funcionan de manera simultánea (ver anexo I) y a que el almacenamiento de las muestras faltantes produce resultados erróneos para esta prueba en particular. No obstante lo anterior, es posible visualizar, con los resultados de las muestras tomadas, el comportamiento global del reactor.

Para verificar que la temperatura a la que se realizaba cada experimento fuera acorde con la seleccionada, se efectuaron registros de temperatura del líquido contenido en el recipiente de alimentación y de cada una de las cámaras de los reactores en estudio, haciendo los ajustes necesarios según el caso.

### III.5.2 Observaciones al microscopio

Para determinar la diversidad, abundancia y distribución de protozoarios ciliados presentes a lo largo de las diferentes etapas (10 cámaras) de cada RBR, se realizaron previamente, observaciones al microscopio de cultivos elaborados con las aguas residuales en estudio contenidas en cajas Petri. Esto tuvo como finalidad facilitar su posterior reconocimiento y cuenta, durante la etapa experimental en que el reactor operara en régimen pseudopermanente. La especies de ciliados se determinaron usando preparaciones temporales y permanentes. De ambas observaciones se registraron algunas de las características morfológicas relevantes, como son largo y ancho total del organismo, ciliatura somática y bucal, además de la posición y forma del macronúcleo. Finalmente, se fotografiaron ejemplares de los organismos observados. Los microscopios utilizados fueron un American Optical Twenty-One, con contraste de fases y cámara fotográfica acoplados, un Karl Zeiss y un Olympus BH-2 con contraste de fases, cámara fotográfica y sistema de videgrabación.

En la elaboración de los cultivos, se empleó por separado cada una de las aguas residuales seleccionadas para el estudio. Estas aguas, una vez ajustada de manera aproximada la concentración de materia orgánica requerida, fue vertida en cajas Petri de 50 mL. Posteriormente se inocularon con pequeñas porciones de suelo y agua estancada y se aerearon de manera constante. La aereación se

hizo con la finalidad de permitir la proliferación de aquellos ciliados que toleraran esas condiciones ambientales particulares.

Se efectuaron observaciones periódicas y se aplicaron para su determinación las técnicas vitales y supravitales seleccionadas con anterioridad. Cabe recordar que la realización de los cultivos en cajas Petri tuvo la finalidad de conocer, de manera aproximada, la riqueza de especies susceptible de ser encontrada durante los experimentos programados con RBRs a los que se alimentarían las mismas aguas residuales industriales.

#### Preparaciones temporales

Para la observación preliminar de los ciliados *in vivo* se colocó en un portaobjetos una gota de la muestra o cultivo en estudio, depositando cuidadosamente sobre ella un cubreobjetos. Se utilizó la técnica contraste con el fin de observar con mayor claridad varias de sus estructuras de importancia taxonómica. La utilización de diversos colorantes vitales, como el verde de metilo y azul de metileno en solución acuosa (0.5 a 1%), permitió destacar el macronúcleo y algunas estructuras citoplásmicas y corticales útiles en la determinación de las especies. También se empleó la solución acuosa de nigrosina (0.5 a 1%) como contrastante del medio, con objeto de resaltar elementos peliculares.

Se aplicaron las técnicas de campo claro, campo oscuro y contraste de fases, siguiendo lo indicado por Gaviño *et al.* (1972), Kudo (1969), Langeron y Locquin (1985) y Wilkinson (1976).

#### Preparaciones permanentes

Por otra parte se llevaron a cabo varios cultivos con el fin de aumentar el número de individuos por especie y realizar preparaciones permanentes. Las técnicas empleadas fueron la impregnación argéntica de Klein (1958) y la de protargol (Lee *et al.*, 1985). Ambas técnicas permiten resaltar las estructuras argentófilas como cinetosomas, cilios, tricocistos, mucocistos, poros de las vacuolas contráctiles, citostoma, citoprocto y argiroma. La primera tiene como ventaja sobre la segunda, su relativa sencillez de aplicación, los buenos resultados que se obtienen y el poco tiempo empleado en su ejecución. La segunda técnica es importante, dado que permite la observación de estructuras adicionales como son el aparato nuclear, las fibras citoplásmicas y los gránulos corticales (Foisner, 1991), pero su aplicación es más lenta y complicada. La descripción de estas técnicas se encuentra en el anexo II.

Resulta conveniente mencionar que debido a que solamente se pudo contar hasta la última fase del estudio con el microscopio BH-2 y cámara de videograbación, no se pudo tener un registro completo grabado en video, de las diferentes comunidades microbianas y particularmente de los ciliados que se desarrollan en las composiciones acuosas estudiadas.

Para la determinación de las especies de protozoarios ciliados, se empleó literatura especializada (Bick, 1972; Corliss, 1966; Curds, 1969, 1983; Curds et al., 1983; Czapik, 1968; Edmonson, 1959; Kahl, 1930-1935; Kudo, 1969; Wagtendonk, 1974 y Wu y Curds, 1979).

La ubicación taxonómica de las especies de protozoarios ciliados identificados, se realizó de acuerdo al esquema propuesto por Small y Lynn (Lee et al., 1985).

#### Metodología empleada para la cuenta de microorganismos protozoarios y micrometazoarios

Para estimar la cantidad de microorganismos en un volumen de muestra conocido, se tomó como base la metodología propuesta por Lackey, la cual está aprobada a nivel internacional (APHA, 1981). Dicha metodología fue modificada y aplicada en estudios previos (Anaya-Huertas, 1992; Luna-Pabello, 1987, 1990; Luna-Pabello et al., 1990a, b; Torreblanca, 1992). De manera abreviada se puede decir que consiste en depositar 0.1 mL de muestra en un portaobjetos y taparlo con un cubreobjetos, cuidando que el agua no desborde. Posteriormente se revisa el área completa del cubreobjetos, contando la totalidad de protozoarios presentes. Para facilitar dicha cuenta y disminuir la probabilidad de contar por duplicado a los organismos, puede añadirse una gotita de solución acuosa de yodo, Bouin o gluteraldehído diluidos, lo cual no obstante, ocasiona en poco tiempo, acorde a la concentración empleada, la deformación de los ciliados más sensibles. A la fecha no se cuenta con alguna substancia que permita el adormecimiento o retardo del movimiento ciliar para la totalidad de especies de ciliados. Esto al parecer se debe, entre otras cosas, a sus diferencias estructurales y de sensibilidad ambiental. Consecuentemente, al emplear substancias que eviten su movimiento, surtirán efecto para algunas especies mientras que para otras no, pudiendo no afectarles o afectarles en demasía, ocasionando la ruptura celular y consecuente pérdida de su morfología. La descripción más amplia de la metodología de cuenta se encuentra en el anexo II.

Cabe hacer mención que el empleo de la metodología de Lackey, está estrechamente relacionada con el tiempo invertido en la revisión al microscopio de la preparación. Este tiempo a su vez depende de la abundancia y diversidad de microorganismos existentes en el volumen observado, así como de la tolerancia que estos tengan respecto a las soluciones anestésicas y/o retardadoras de movimiento.

De acuerdo con estudios previos (Anaya-Huertas, 1992; Luna-Pabello et al., 1990a, b; Torreblanca, 1992) así como de observaciones cuantitativas preliminares se estableció que la frecuencia de muestreo y el número de preparaciones temporales por muestra, factible de ser observado de manera periódica durante la fase pseudopermanente o de equilibrio dinámico del RBR y que aportara datos representativos de la composición de

protozoarios y micrometazoarios prevaeciente, fuera de tres veces por semana, revisando tres etapas por sesión, observando en promedio, una preparación temporal por cada etapa.

Esta metodología se siguió en todas las observaciones realizadas al microscopio y se complementó, para el caso de los estudios con aguas residuales de la industria del papel, con la filmación (usando el microscopio BH-2 con cámara de video incorporada) de algunas de las muestras analizadas. Conviene destacar que esta frecuencia de observación, se ve considerablemente modificada, cuando es posible filmar la cantidad de microorganismos presentes en un determinado volumen de muestra, dado que el tiempo requerido se reduce a aproximadamente un tercio (20 minutos) del empleado normalmente cuando no se tiene la posibilidad de grabar las imágenes. En consecuencia es posible efectuar mayor número de observaciones durante el período de evaluación del sistema de tratamiento con menor riesgo de desecamiento prematuro de la muestra en observación y sin la necesidad de emplear anestésicos para eliminar el movimiento de los ciliados. Además, presenta como ventajas adicionales el poder cotejar las cuentas realizadas y que las mismas no resulten tan agotadoras, así como de tener un registro de las observaciones realizadas para efectos demostrativos y/o comparativos entre diferentes muestras de agua.

Por otra parte, a partir de los valores numéricos obtenidos de la cuenta de ciliados, es posible conocer el índice de diversidad y la igualdad de la comunidad que de este tipo de organismos se presenta, aplicando las siguientes ecuaciones:

$$H = - \sum_{i=1}^S (p_i) (\log_2 p_i)$$

donde:

- H= índice de diversidad
- S= número de especies
- $p_i$  = proporción del total de la muestra que corresponde a la especie i

Por otra parte, para la medición de la igualdad o equidad, se emplea la siguiente proporción.

$$E = \frac{H}{H_{\max}}$$

donde:

- E= equidad o igualdad
- H= diversidad de especies observada
- $H_{\max}$  = diversidad de especies máxima
- $H = -S \left( \frac{1}{S} \log_2 \frac{1}{S} \right) = \log_2 S$
- S= número de especies de la comunidad



#### IV RESULTADOS

##### IV.1 Caracterización fisicoquímica, bioquímica y ciliatológica de las aguas residuales en estudio

A continuación, se presentan los resultados de los intervalos de valores de DQO, DBO<sub>5</sub> y pH, para nejayote, vinazas y aguas blancas, obtenidos antes de la experimentación en los reactores de biodiscos (tabla 4). También se presenta el listado de las especies de ciliados encontrados para cada tipo de agua residual (tabla 5).

**Tabla 4. Resultados de la caracterización fisicoquímica y bioquímica de las aguas residuales en estudio**

Parámetro	Agua residual		
	Nejayote	Vinazas	Aguas blancas
Demanda química de oxígeno soluble, mg/L	16000 a 20000	50000 a 69000	400 a 2100
Demanda bioquímica de oxígeno, soluble, mg/L	6000 a 8000	22800 a 31500	125 a 650
pH	5.0 a 13.0	4.5 a 5.5	6.3 a 7.2

De la tabla anterior, puede destacarse que las aguas residuales que presentan mayor concentración de contaminantes orgánicos, tanto oxidables químicamente como biodegradables, son las denominadas como vinazas, posteriormente el nejayote y, por último, las aguas blancas.

De acuerdo con el diseño experimental descrito en la metodología, se procuró tener controladas las principales variables de operación de los RBRs, modificando únicamente el tipo de agua suministrada a los mismos. Lo anterior incluyó dosificar en igual volumen y concentración, medida como DQO, el agua residual aportada a los reactores. Cabe recordar que la máxima concentración orgánica a la que puede operar con 80% de las cámaras de manera aerobia, es aproximadamente 2000 mg DQO/L. Esto aunado a la limitación en cuanto a la concentración máxima posible de obtener en las aguas blancas (2,100 mg DQO/L), definió la concentración base con la cual se trabajó. En consecuencia, se hizo necesario plantear el conveniente ajuste, por dilución con agua corriente, de la concentración inicial del nejayote y de las vinazas, con objeto de obtener la concentración deseada.

Como resultado de las observaciones realizadas en muestras procedentes de las cajas Petri, que contenían los diferentes tipos de aguas residuales por separado, las cuales fueron inoculadas con muestras de cultivos previamente elaborados a partir de suelo "fertil", muestras de agua estancada y agua residual, se encontraron en total 22 especies de ciliados (tabla 5). De éstas, 15 nadan libremente y siete se adhieren, mediante un pedúnculo, a diversos objetos o materiales. Del total de esas especies, 14 se desarrollaron en cultivos con nejayote, 14 en los de aguas blancas, y solamente 11 en los de vinazas. La ubicación taxonómica, descripción e información adicional de estas especies se da en el siguiente capítulo.

**Tabla 5. Protozoarios ciliados encontrados durante su cultivo en cajas Petri, empleando diferentes aguas residuales**

PROTOZOARIO CILIADO	P R E S E N C I A E N		
	cultivo con:		
	Aguas		
	Nejayote Vinazas blancas		
<u>Blepharisma americanum</u> v. <u>dawsoni</u>	-	-	+
Christie y Hirsfield			
<u>Oxytricha fallax</u> Stein	+	+	+
<u>Litonotus lamella</u> (Mueller)	+	+	+
<u>Chilodonella uncinata</u> (Ehrenberg)	-	-	+
<u>Podophrya fixa</u> (Mueller)	+	+	+
<u>Paramecium aurelia</u> Ehrenberg	+	+	+
<u>Paramecium caudatum</u> Ehrenberg	-	+	+
<u>Aspidisca cicada</u> (Mueller)	+	-	+
<u>Glaucoma scintillans</u> Ehrenberg	+	-	-
<u>Tetrahymena pyriformis</u> (Ehrenberg)	+	-	-
<u>Colpidium campylum</u> (Stokes)	+	-	-
<u>Colpidium colpidium</u> (Schewiakoff)	+	-	-
<u>Colpidium colpoda</u> (Losana)	-	+	-
<u>Dexiotricha plagia</u> Stokes	-	-	-
<u>Uronema nigricans</u> Mueller	-	+	+
<u>Cyclidium glaucoma</u> Mueller	+	+	+
<u>Epistylis plicatilis</u> Ehrenberg	+	+	-
<u>Opercularia coarctata</u> (Claparède y Lachmann)	+	+	-
<u>Opercularia microdiscum</u> (Fauré-Fremiet)	+	-	+
<u>Vorticella campanula</u> Ehrenberg	+	-	-
<u>Vorticella convallaria</u> Linnaeus	-	-	+
<u>Vorticella striata</u> Dujardin	-	+	+
-----			
Especies totales = 22			
Especies por cultivo =	14	11	14
-----			
+ Presencia	- Ausencia		

## IV.2 Experimentación en RBRs con diferentes substratos

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la experimentación realizada en RBRs alimentados con diferentes aguas residuales como substrato. De un trabajo experimental previo (Luna-Pabello, 1990) en donde se estudió la diversidad de ciliados a diferentes temperaturas empleando nejayote como medio de cultivo, se extrajeron los resultados de los parámetros bióticos y abióticos registrados durante la etapa pseudoestable del RBR, alimentado con nejayote y operado a 20°C. Esta información se empleó de manera complementaria y con fines comparativos a efecto de estudiar la diversidad de ciliados presente en reactores biológicos rotatorios alimentados con otras aguas residuales. Para lo cual, acorde con la metodología planteada anteriormente, se emplearon reactores de estructura parecida y se mantuvieron funcionando bajo condiciones de operación similares, cambiando únicamente de agua residual, es decir que en lugar de nejayote se les suministraron vinazas o aguas blancas.

Los valores de los parámetros abióticos monitoreados que aquí se presentan, son el promedio de los obtenidos a partir de la evaluación fisicoquímica y bioquímica del líquido contenido, tanto en el tanque de alimentación, como de cada una de las 10 cámaras del RBR, durante la fase de régimen pseudopermanente, a 20°C. Cabe mencionar que inicialmente se seleccionó trabajar a temperatura ambiente, pero como ésta resultó muy cambiante, se decidió fijar su valor en 20°C. Por otra parte, la calidad fisicoquímica del efluente del reactor no se registró rutinariamente, debido a que ésta cambia conforme pasa el tiempo que permanece el líquido en el sedimentador. Además con base en la observación realizada en experimentos pasados y corroborada durante la fase previa a la estabilización de los reactores en estos experimentos, se conoce que los valores del efluente, presentan mayor diferencia, respecto de la cámara diez, conforme transcurre el tiempo en que se analizan. Los parámetros que se afectan más rápidamente son el oxígeno disuelto y, posteriormente, los de pH, DBO<sub>5</sub> y DQO. Esto puede deberse en gran medida a la actividad metabólica microbiana y la baja transferencia de oxígeno de la atmósfera hacia el líquido contenido en el sedimentador. Consecuentemente, el registro de sus valores no aportaría información relevante, pero sí un esfuerzo adicional, por lo cual no se procedió a su análisis rutinario.

Con relación a la información referente al resultado de las cuentas de protozoarios y micrometazoarios, realizadas al microscopio, en muestras de licor mezclado proveniente de las diferentes cámaras del RBR, éstas se presentan de manera tabulada en su respectiva sección de resultados. De esta forma es posible visualizar de manera rápida la distribución y abundancia que de esos microorganismos se presenta a lo largo del RBR.

Su ubicación taxonómica, descripción e información relevante de los ciliados encontrados en los experimentos realizados, se encuentra ubicada al principio del siguiente capítulo.

#### IV.2.1 Resultados obtenidos del RBR alimentado con nejayote

##### Resultados fisicoquímicos y bioquímicos del RBR

Durante la fase pseudoestable del RBR, se evaluó de manera fisicoquímica y bioquímica, tanto el líquido de alimentación, como las 10 cámaras de que consta el reactor de biodiscos (tabla 6). Acorde con los resultados obtenidos, se puede decir que la temperatura a la que se realizó el experimento no varió de manera drástica (19.4 a 21.5±1.1°C). También se puede ver que el valor promedio de pH del líquido suministrado al RBR pasa de ácido (5.4±0.2) a neutro-alkalino (7.3 a 8.1±0.2) a partir de la primera cámara del reactor.

En cuanto al oxígeno disuelto, éste se incrementa paulatinamente conforme el líquido avanza a través de las cámaras del reactor (0.45 a 6.00±0.6 mg OD/L), logrando concentraciones superiores a 2 mg/L a partir de la tercera cámara.

Finalmente, la concentración promedio de materia orgánica disuelta de cada punto muestreado (alimentación y cámaras uno a 10), evaluada como DQO y DBO<sub>5</sub>, permite constatar que en el RBR se lleva a cabo una disminución gradual de ambos parámetros, ocurriendo la mayor remoción de DQO y DBO<sub>5</sub>, entre las cámaras uno y cinco del reactor.

**Tabla 6. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos registrados en el RBR alimentado con nejayote y porcentajes de remoción por etapa**

Etapa	Temp. (°C)	pH	O D (mg/L)	D Q O (mgO <sub>2</sub> /L)	% Rem	D B O <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	% Rem
A	21.5±0.7	5.4±0.2	0.45±0.15	2040±150	0	585±5	0
1	19.9±0.9	7.3±0.5	0.35±0.29	1760±130	13.7	535±10	8.5
2	19.7±1.0	7.8±0.2	1.36±0.49	1600±100	21.6	-	-
3	19.6±1.1	7.9±0.1	2.48±0.24	1470± 80	27.9	255±20	56.4
4	19.5±1.1	7.9±0.1	3.17±0.28	1420± 90	30.4	-	-
5	19.6±1.2	8.0±0.1	5.08±0.51	1290± 50	36.8	140±10	76.1
6	19.5±1.2	8.0±0.3	5.06±0.66	1250± 30	38.7	-	-
7	19.4±1.1	8.1±0.1	5.51±0.39	1200± 20	41.2	110±5	81.2
8	19.5±1.1	8.1±0.1	5.70±0.40	1160± 40	43.1	-	-
9	19.7±1.0	8.0±0.1	5.41±0.18	1080± 60	47.1	-	-
10	20.0±1.0	8.1±0.1	6.00±0.16	1040±100	49.0	95±5	83.8

Considerando los valores contenidos en la tabla anterior se aprecia que la temperatura, tanto del líquido de alimentación como de las diez cámaras del RBR, durante el régimen pseudopermanente, osciló para el líquido de alimentación, entre

20 y 22.8°C, con valor medio de 21.5± 0.7°C, mientras que a lo largo del reactor fue entre 17.1 y 21.5°C, con valor promedio de 19.6±1.2°C. De acuerdo con esto, los intervalos de variación fueron inferiores al 10%, lo cual no implica una afectación significativa para el comportamiento del reactor.

## Resultados de las observaciones al microscopio

En las tablas 7, 8, 9 y 10, pueden observarse los resultados de la cuenta de protozoarios y micrometazoarios durante el período de régimen pseudopermanente del RBR empleando nejayote como sustrato. El número de organismos presentes por mililitro, de acuerdo con la técnica de Lackey (en APHA, 1981) descrita en el anexo II, se obtiene de multiplicar el valor de cada cifra individual por 10.

En términos generales, se observa que existe un aumento paulatino en la abundancia de protozoarios y micrometazoarios durante las tres primeras etapas, empezando a disminuir gradualmente a partir de la cuarta etapa del reactor (tabla 9). Es decir la distribución a lo largo del proceso depurativo es de tipo normal o curva gaussiana. Cabe destacar de manera global que los protozoarios fueron más abundantes que los micrometazoarios.

De acuerdo con las tablas 7 y 10, se determinaron 11 especies de ciliados, siete libres nadadoras y cuatro pedunculadas, resultando más abundantes estas últimas. De las especies libres nadadoras, la que presentó mayor número de individuos y más amplia distribución en el RBR fue Cyclidium glaucoma, mientras que para las pedunculadas lo fue Vorticella campanula.

Tablas 7, 8, 9 y 10. Tipo y abundancia de microorganismos registrados en las diferentes etapas del RBR alimentado con nejayote como sustrato

Tabla 7

MICROORGANISMO	E T A P A RBR									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<u>Colpidium campylum</u>	87	34	16	0	0	0	0	0	0	0
<u>Colpidium colpidium</u>	176	87	44	0	0	0	0	0	0	0
<u>Cyclidium glaucoma</u>	1039	1215	555	85	315	80	25	36	34	0
<u>Glaucoma scintillans</u>	2	5	1	0	0	0	0	1	0	0
<u>Paramecium aurelia</u>	3	23	15	4	1	0	10	4	16	0
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	35	197	12	0	2	1	1	0	0	8
Suma de ciliados libres nadadores	1342	1561	643	89	318	81	36	41	50	8
<u>Epistylis plicatilis</u>	1	35	11	10	0	61	148	15	9	0
<u>Opercularia coarctata</u>	0	3	12	16	13	11	51	95	47	35
<u>Opercularia microdiscum</u>	0	23	14	5	7	0	37	10	31	22
<u>Vorticella campanula</u>	0	2	797	45	88	30	189	44	84	29
Formas móviles de peritrico	1	1	0	0	0	0	0	3	5	0
<u>Podophrya fixa</u>	0	3	7	6	6	29	12	7	0	0
Suma de ciliados pedunculados y formas móviles de peritrico	2	62	841	82	114	131	437	174	176	86
Flagelados	155	350	1284	797	167	103	83	79	41	81
Amibas	0	0	6	3	7	0	0	0	0	1
Nemátodos	2	5	11	17	3	37	70	164	44	60
Rotíferos	0	3	146	10	30	98	113	300	104	118
T O T A L	1501	1986	2931	998	639	450	739	758	415	354

Tabla 8

MICROORGANISMO	E T A P A RBR										TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Ciliados	1344	1628	1484	171	432	212	473	215	226	94	6279
Flagelados	155	350	1284	797	167	103	83	79	41	81	3140
Amibas	0	0	6	3	7	0	0	0	0	1	17
Nemátodos	2	5	11	17	3	37	70	164	44	60	413
Rotíferos	0	3	146	10	30	98	113	300	104	118	922
T O T A L	1501	1986	2931	998	639	450	739	758	415	354	10771

Tabla 9

MICROORGANISMO	E T A P A RBR										TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
PROTOZOARIOS	1499	1978	2774	971	606	315	556	294	267	176	9436
MICROMETAZOARIOS	2	8	157	27	33	135	183	464	148	178	1335
T O T A L	1501	1986	2931	998	639	450	739	758	415	354	10771

Tabla 10

C I L I A D O	A B U N D A N C I A
<u>Libres nadadores:</u>	
<i>Colpidium campylum</i>	137
<i>Colpidium colpidium</i>	307
<i>Cyclidium glaucoma</i>	3384
<i>Glaucoma scintillans</i>	9
<i>Paramecium aurelia</i>	76
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	256
Subtotal	4169
<u>Pedunculados:</u>	
<i>Epistylis plicatilis</i>	290
<i>Opercularia coarctata</i>	283
<i>Opercularia microdiscum</i>	149
<i>Vorticella campanula</i>	1308
<i>Podophrya fixa</i>	70
Subtotal	2100
T O T A L	6269

#### IV.2.2 Resultados obtenidos del RBR alimentado con vinazas

##### Resultados fisicoquímicos y bioquímicos obtenidos del RBR

A continuación se presentan los valores promedio obtenidos durante la fase de régimen pseudopermanente del RBR alimentado con vinazas a temperatura de 20°C.

De acuerdo con lo planteado en la metodología, se registraron los valores de temperatura, pH, oxígeno disuelto y demanda química de oxígeno, tanto del líquido de alimentación como de cada una de las 10 cámaras que componen el reactor. En cuanto a la prueba de DBO<sub>5</sub>, ésta se efectuó únicamente para el líquido de alimentación y cinco de las cámaras (tabla 11). Los valores muestran que la temperatura del líquido contenido en el reactor no varió de manera drástica (20.0 a 20.5±0.2°C). También se puede ver que el valor promedio de pH del líquido suministrado al RBR pasa de ácido (5.4±0.1) a neutro-alkalino (6.9 a 8.4±0.1) a partir de la primera cámara del reactor. En cuanto al oxígeno disuelto, éste se incrementa paulatinamente conforme el líquido avanza a través de las cámaras del reactor (0.35 a 6.00±0.16 mg OD/L), logrando concentraciones superiores a dos miligramos por litro a partir de la tercera cámara. Finalmente, la concentración promedio de materia orgánica disuelta de cada punto muestreado (alimentación y cámaras uno a 10), evaluada como DQO y DBO<sub>5</sub>, permiten constatar que en el RBR se lleva a cabo una disminución gradual de ambos parámetros, realizándose la mayor remoción en las primeras cinco cámaras del reactor.

**Tabla 11. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos registrados en el RBR alimentado con vinazas y porcentajes de remoción logrados por etapa**

Etapa	Temp. (°C)	pH	O D (mg/L)	D Q O (mgO <sub>2</sub> /L)	% Rem	D B O <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	% Rem
A	17.4±1.2	5.4±0.1	0.00±0.00	2000±20	0	640±60	0
1	20.5±0.3	6.9±0.1	0.35±0.29	1790±30	10.5	400±40	37.5
2	20.3±0.2	7.2±0.1	1.36±0.49	1580±20	21.0	-	-
3	20.2±0.1	7.3±0.1	2.48±0.24	1310±10	34.5	320±30	50.0
4	20.1±0.1	7.5±0.1	3.17±0.28	1230±40	38.5	-	-
5	20.0±0.1	7.6±0.2	5.08±0.51	1000±10	50.8	120±10	81.3
6	20.0±0.2	8.0±0.1	5.06±0.66	790±20	60.5	-	-
7	20.0±0.1	8.2±0.1	5.51±0.39	610±20	69.5	80±10	87.5
8	20.0±0.1	8.3±0.1	5.70±0.40	400±10	80.0	-	-
9	20.0±0.1	8.3±0.1	5.41±0.18	400±10	80.0	-	-
10	20.0±0.2	8.4±0.1	6.00±0.16	400±10	80.0	50±5	92.2



## Resultados de las observaciones al microscopio

Durante esta fase experimental se efectuó la cuenta de protozoarios y micrometazoarios a lo largo del RBR. Dicha cuenta se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento empleado en los estudios realizados con nejayote, es decir con la técnica de Lackey (en APHA, 1981) modificada y descrita en el anexo II. La información sobre la distribución y abundancia de los organismos observados, pueden apreciarse en las tablas 12, 13 y 14.

Tablas 12, 13 y 14. Tipo y aundancia de microorganismos registrados en las diferentes etapas del RBR, empleando vinazas como substrato

Tabla 12

MICROORGANISMO	E T A P A RBR									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Colpidium colpoda</i>	0	1	0	0	30	0	0	0	1	12
<i>Cyclidium glaucoma</i>	0	1	21	27	5	68	55	53	9	5
<i>Litonotus lamella</i>	3	38	328	155	229	363	420	572	878	501
<i>Paramecium aurelia</i>	0	1	282	11	2	6	8	9	0	0
<i>Paramecium caudatum</i>	2	7	6	15	20	32	11	3	7	36
<i>Oxytricha fallax</i>	0	6	39	5	0	18	0	0	1	0
Suma de ciliados libres nadadores	5	54	676	213	286	487	494	637	894	554
<i>Epistylis plicatilis</i>	0	21	0	28	0	8	1	8	6	22
<i>Vorticella striata</i>	71	288	1217	679	1109	821	553	568	402	452
Formas móviles de peritrico	6	254	517	95	249	312	152	224	132	74
<i>Podophrya fixa</i>	0	0	0	0	9	0	0	1	1	17
Suma de ciliados pedunculados y formas móviles de peritrico	77	542	1734	774	1367	1133	705	793	535	543
Flagelados	4523	5660	783	2402	275	731	490	1744	575	222
Amibas	0	18	19	60	96	189	98	150	200	29
Nemátodos	0	7	59	33	106	58	59	20	172	60
Rotíferos	0	1	2	1	10	33	9	0	29	26
T O T A L	4605	6282	3273	3483	2140	2631	1855	3344	2405	1434

Tabla 13

MICROORGANISMO	1	2	3	4	E	T	A	P	A	RBR	10	TOTAL
					5	6	7	8	9			
Ciliados	82	596	2410	987	1653	1620	1199	1430	1429	1097	12503	
Flagelados	4523	5660	783	2402	275	731	490	1744	575	222	17405	
Amibas	0	18	19	60	96	189	98	150	200	29	859	
Nemátodos	0	7	59	33	106	58	59	20	172	60	574	
Rotíferos	0	1	2	1	10	33	9	0	29	26	111	
TOTAL	4605	6282	3273	3483	2140	2631	1855	3344	2405	1434	31452	

Tabla 14

MICROORGANISMO	1	2	3	4	E	T	A	P	A	RBR	9	10	TOTAL
					5	6	7	8					
PROTO-ZOARIOS	4605	6274	3212	3449	2024	2540	1787	3324	2204	1348	30767		
MICRO META-ZOARIOS	0	8	61	34	116	91	68	20	201	86	685		
TOTAL	4605	6282	3273	3483	2140	2631	1855	3344	2405	1434	31452		

De las tablas anteriores, puede destacarse que el comportamiento global a lo largo del RBR, considerando la suma total de protozoarios y micrometazoarios por cámara, es oscilatoria, con tendencia a disminuir conforme avanza en las etapas del reactor. Por otra parte, considerando la cuenta de microorganismos, puede decirse que el grupo de los protozoarios es el de mayor abundancia relativa. De ellos a su vez, los flagelados representan la mayor porción y las amibas la menor.

Por otra parte, considerando de manera exclusiva a los ciliados, puede decirse que se presentaron en total, bajo estas condiciones experimentales, nueve especies, seis libres nadadoras y tres sésiles. La especie que resultó con mayor abundancia relativa fue Vorticella striata, la cual además se presentó en todas las cámaras del reactor (tablas 12 y 15).

Tabla 15. Número total de individuos, por especie de ciliado, presentes en el RBR alimentado con vinazas

C I L I A D O	A B U N D A N C I A
<u>Libres nadadores:</u>	
<i>Colpidium colpoda</i>	44
<i>Cyclidium glaucoma</i>	242
<i>Litonotus lamella</i>	2915
<i>Paramecium aurelia</i>	319
<i>Paramecium caudatum</i>	139
<i>Oxytricha fallax</i>	69
Subtotal	3728
<u>Pedunculados:</u>	
<i>Epistylis plicatilis</i>	94
<i>Vorticella striata</i>	6160
Forma móvil de peritrico	2015
<i>Podophrya fixa</i>	28
Subtotal	8297
T O T A L	12025

#### IV.2.3 Resultados obtenidos del RBR alimentado con aguas blancas

##### Resultados fisicoquímicos y bioquímicos

Los valores promedio del comportamiento fisicoquímico del RBR durante esta fase experimental, pueden observarse en la tabla 16. Al respecto, es posible afirmar que la temperatura del agua contenida en el reactor, permaneció relativamente constante oscilando entre 20.0 y 20.5°C. El valor del pH se mantuvo en intervalos ligeramente alcalinos (7.5 a 7.9±0.2). El oxígeno disuelto presentó una tendencia global a incrementarse, pasando de 2.90 a 5.90±0.60, conforme avanzó en la etapa depurativa. Por último, la concentración de materia orgánica medida como DQO y como DBO<sub>5</sub>, fue decreciendo paulatinamente, logrando alcanzar en la última cámara del reactor 59.4% y 75% de remoción, respectivamente. Cabe mencionar que, al igual que en los experimentos realizados con nejayote y vinazas, la máxima remoción ocurrió en las primeras cinco etapas. Sin embargo, debe recordarse que durante ésta experimentación, sólo fue posible obtener aguas blancas con valores de concentración inferiores, en aproximadamente 50%, de la concentración pre-establecida. Por tanto, la comparación con los otros dos experimentos realizados debe hacerse con esta consideración.

**Tabla 16. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos registrados en el RBR alimentado con aguas blancas y porcentajes de remoción por etapa**

Etapa	Temp. (°C)	pH	O D (mg/L)	D Q O (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem	D B O <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	% Rem
A	18.3±0.8	6.4±0.2	0.25±0.05	960±200	00.0	120±10	00.0
1	20.0±0.4	7.5±0.1	2.90±0.30	730± 50	23.9	90±10	25.0
2	20.1±0.4	7.8±0.1	4.35±0.40	650± 70	32.3	-	-
3	20.1±0.4	7.8±0.1	4.80±0.50	600± 60	37.5	65±10	45.8
4	20.1±0.4	7.9±0.2	5.20±0.50	540± 30	43.8	-	-
5	20.2±0.3	7.9±0.1	5.20±0.50	500± 30	47.9	50±10	58.3
6	20.2±0.3	7.8±0.3	5.10±0.50	450± 30	53.1	-	-
7	20.1±0.3	7.9±0.1	4.95±0.50	430± 10	55.2	45±5	62.5
8	20.1±0.4	7.9±0.1	5.20±0.50	400± 20	58.3	-	-
9	20.0±0.3	7.9±0.1	5.55±0.55	410± 20	57.3	-	-
10	20.0±0.4	7.9±0.2	5.90±0.60	390± 20	59.4	30±5	75.0

Resultados de las observaciones al microscopio:

En las tablas 17, 18, 19 y 20, se presentan los resultados de la distribución y abundancia de los protozoarios y micrometazoarios observados en muestras provenientes de las diferentes etapas del RBR, durante su fase de operación pseudoestable. Puede decirse, en términos generales, que presentaron una abundancia diez veces menor a la encontrada en los experimentos efectuados tanto con nejote, como con vinazas.

Tablas 17, 18 y 19. Tipo y abundancia de microorganismos registrados en las diferentes etapas del RBR empleando aguas blancas como sustrato

Tabla 17

MICROORGANISMO	RBR										
	1	2	E	T	A	P	A	7	8	9	10
<u>Cyclidium glaucoma</u>	9	0	5	1	21	0	6	114	4	14	
<u>Dexiotricha plagia</u>	4	6	8	2	0	2	1	10	13	0	
<u>Litonotus lamella</u>	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	
<u>Paramecium aurelia</u>	16	4	32	3	13	13	4	15	0	10	
<u>Paramecium caudatum</u>	10	0	28	0	3	1	3	3	1	11	
<u>Aspidisca cicada</u>	0	0	14	1	6	10	20	27	6	0	
<u>Oxytricha fallax</u>	3	1	6	0	4	0	5	0	0	0	
Suma de ciliados libres nadadores	42	11	93	7	47	26	39	172	24	39	
<u>Opercularia microdiscum</u>	0	7	0	0	0	0	0	0	3	0	
<u>Vorticella convallaria</u>	0	0	0	6	20	28	41	37	9	1	
<u>Vorticella striata</u>	0	35	2	0	12	0	0	0	0	0	
Formas móviles de peritrico	0	35	38	60	125	57	34	24	35	0	
<u>Podophrya fixa</u>	0	1	6	0	3	7	5	1	2	4	
Suma de ciliados pedunculados y formas móviles de peritrico	0	78	46	66	160	92	80	62	49	5	
Flagelados	407	58	46	98	204	45	42	219	77	72	
Nemátodos	0	5	66	18	13	60	31	40	1	13	
Rotíferos	6	2	11	0	0	3	17	20	5	5	
T O T A L	455	154	262	189	424	226	209	513	156	134	

Tabla 18

MICROORGANISMO	E T A P A R B R										TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Ciliados	42	89	139	73	207	118	119	234	73	44	1138
Flagelados	407	58	46	98	204	45	42	219	77	72	1268
Nemátodos	0	5	66	18	13	60	31	40	1	13	247
Rotíferos	6	2	11	0	0	3	17	20	5	5	69
T O T A L	455	154	262	189	424	226	209	513	156	134	2722

Tabla 19

MICROORGANISMO	E T A P A R B R										TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
PROTO-ZOARIOS	449	147	185	105	411	163	161	453	150	116	2406
MICRO-META-ZOARIOS	6	7	77	18	13	63	48	60	6	18	316
T O T A L	455	154	262	189	424	226	209	513	156	134	2722

Los microorganismos más abundantes fueron los protozoarios, los cuales se presentaron a lo largo de todo el reactor en concentraciones fluctuantes. De los protozoarios, el grupo con mayor abundancia relativa fue el de los flagelados.

Por otra parte, con relación a los protozoarios ciliados (tablas 17 y 20), se determinaron 11 especie totales, de las cuales siete son libres nadadoras y las cuatro restantes de tipo pedunculado. De manera comparativa, se aprecia que la abundancia de los libres nadadores fue superior a la de tipo pedunculado, siendo Cyclidium glaucoma, la especie que presentó mayor abundancia total.

**Tabla 20. Número total de individuos, por especie de ciliado, presente en el RBR alimentado con aguas blancas**

C I L I A D O	A B U N D A N C I A
<u>Libres nadadores:</u>	
<i>Cyclidium glaucoma</i>	174
<i>Dexiotricha plagia</i>	46
<i>Litonotus lamella</i>	7
<i>Paramecium aurelia</i>	110
<i>Paramecium caudatum</i>	60
<i>Aspidisca cicada</i>	84
<i>Oxytricha fallax</i>	19
Subtotal	500
<u>Pedunculados:</u>	
<i>Opercularia microdiscum</i>	10
<i>Vorticella convallaria</i>	142
<i>Vorticella striata</i>	49
Formas móviles de peritrico	408
<i>Podophrya fixa</i>	29
Subtotal	638
T O T A L	1138

#### IV.2.4 Ubicación taxonómica y descripción de los ciliados encontrados en nejayote, vinazas y aguas blancas

De acuerdo con las observaciones realizadas, tanto en preparaciones temporales como permanentes, se identificaron en total, considerando de manera conjunta los ciliados determinados en las cajas de Petri y los encontrados en los RBRs, 22 especies distribuidas en 16 géneros, 16 familias, siete órdenes, seis clases y tres subphyla, pertenecientes al Phylum Ciliophora. Cabe mencionar que algunas de las especies encontradas en la presente investigación, han sido recientemente revisadas (Foissner 1992; Foissner et al., 1991, 1992) y acorde con esa información, el nombre de algunos investigadores, que frecuentemente aparecían como los autores reconocidos de algunas especies, han sido substituidos por otros que cronológicamente les antecedieron y que, a raíz de dicha revisión, han salido a la luz. Por tal motivo, para cada una de las especies de ciliados determinadas, se optó por citar la literatura más especializada con la que se contara para cada caso, señalando mediante uno o más asteriscos (\*), la fuente bibliográfica tomada, cuya relación es la siguiente:

- \* Curds, 1975
- \*\* Czapik, 1968
- \*\*\* Foissner 1992 y Foissner et al., 1991, 1992
- \*\*\*\* Giesse, 1973
- \*\*\*\*\* Wagtendonk, 1974 y Madrazo-Garibay, 1972
- \*\*\*\*\* Warren, 1986
- \*\*\*\*\* Wilbert, 1986
- \*\*\*\*\* Wu y Curds, 1979

A continuación se proporciona la información referente a la ubicación taxonómica de las especies de ciliados, su descripción morfológica (complementada con esquemas y fotografías) y algunos comentarios sobre sus hábitos alimenticios y su presencia en aguas residuales de tipo doméstico sin tratar y bajo tratamiento en plantas de depuración biológica.



Ubicación taxonómica y descripción de los protozoarios ciliados

Small y Lynn (en Lee, et al., 1985)

Phylum CILIOPHORA Doflein, 1901

Subphylum POSTCILIODESMATOPHORA Gerassimova y Seravin, 1976

Clase SPIROTRICHEA Bütschli, 1889

Subclase HETEROTRICHIA Stein, 1859

Orden HETEROTRICIDA Stein, 1859

Suborden HETEROTRICHINA Stein, 1859

Familia BLEPHARISMIDAE Jankowski, en Small y Lynn, 1985

1.- Blepharisma americanum v. dawsoni Christie y Hirsfield, 1967

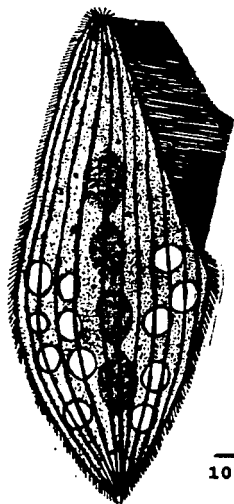
\*\*\*\*

Tamaño: 80-130  $\mu\text{m}$  X 40-50  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo alargado, piriforme o elipsoidal, más angosto en la parte anterior. Presenta una ciliatura somática uniforme. El peristoma está provisto por una zona adoral de membranelas localizada en el lado izquierdo, la cual en su extremo posterior sufre un giro hacia el lado derecho, conectándose con el citostoma y por una membrana paroral (ondulante) muy prominente localizada en el lado derecho. El macronúcleo va de tres a cinco nódulos, el nódulo terminal es de mayor tamaño. Consta de ocho a 13 micronúcleos de uno a dos  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Alimento: Bacterias.

Comentario: No ha sido registrado como habitante común de sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales domésticas, ni aguas negras sin tratar (Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b; Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$

Subclase STICHOTRICHIA Small y Lynn, 1985  
Orden STICHOTRICHIDA Fauré-Fremiet, 1961  
Suborden SPORADOTRICHINA Fauré-Fremiet, 1961  
Familia OXYTRICHIDAE Ehrenberg, 1838

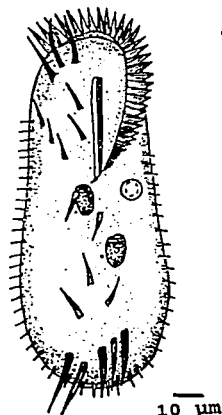
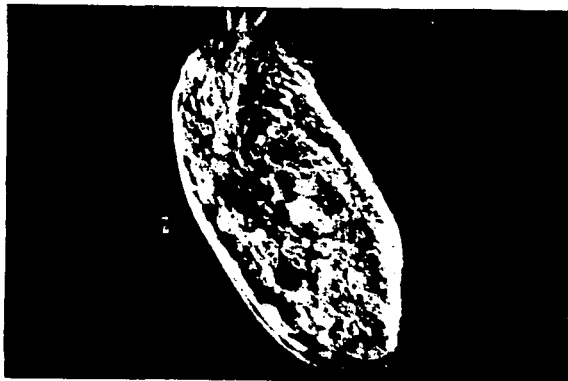
2.- *Oxytricha fallax* Stein, 1859 \*\*\*

Tamaño: 150 µm.

Cuerpo elipsoide, con la región posterior ligeramente redondeada y lateralmente flexible. La superficie dorsal es convexa, la parte ventral es aplanada y con cirros: ocho frontales, cinco ventrales, cinco transversales y varios cirros marginales en ambos lados, los cuales convergen en la parte posterior. La cavidad bucal presenta en su lado izquierdo la zona adoral de membranelas y en el derecho una membrana endoral y una paroral (ondulante). El citostoma está localizado en la parte terminal posterior del área bucal. Tiene dos macronúcleos, cada uno de ellos con un micronúcleo lateral cercano. La vacuola contráctil está aproximadamente en la parte media del organismo y desplazada hacia el margen izquierdo del mismo.

Alimento: Bacterias, algas y flagelados.

Comentarios: Prolifera en lodos activados, filtros percoladores, tanque Imhoff y aguas negras sin tratar (Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b; Rivera *et al.*, 1989).



Subphylum RHABDOPHORA Small, 1976  
Clase LITOSTOMATEA Small y Lynn, 1981  
Subclase HAPTORIA Corliss, 1974  
Orden PLEUROSTOMATIDA Schewiakoff, 1896  
Familia AMPHILEPTIDAE Bütschli, 1889

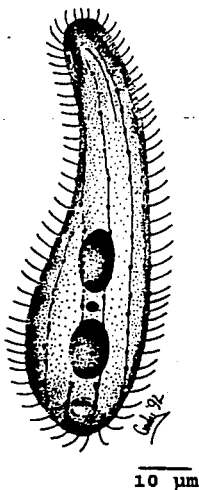
3.- Litonotus lamella (Mueller, 1773) \*\*\*

Tamaño: 80-100  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo alargado lanceolado, con el extremo anterior ligeramente truncado y el posterior redeondeado. 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. La vacuola contráctil se localiza en el extremo posterior.

Alimento: Flagelados y ciliados.

Comentario: Su distribución es cosmopolita, es común en aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición, ha sido registrado en filtros percoladores (Bick, 1972; Curds, 1975) y en RBRs que tratan aguas residuales domésticas (Rivera et al., 1989).



Subphylum CYRTOPHORA Small, 1976

Clase PHYLLOFARYNGEA de Puytorac et al., 1974

Orden CYRTOPHORIDA Fauré-Fremiet, en Corliss, 1956

Suborden CHLAMIDODONTINA Deroux, 1976

Familia CHILODONELLIDAE Deroux, 1970

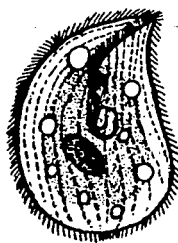
4.- Chilodonella uncinata (Ehrenbreg, 1838) Strand, 1928 \*\*\*

Tamaño: 50-90  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo ovoide con la cara ventral aplanada y la dorsal convexa. En la superficie ventral presenta aproximadamente 11 hileras de cilios de diferente longitud distribuidos de la siguiente manera: cinco del lado derecho y cinco del lado izquierdo. La mayoría de las cinetias convergen en la sutura preoral localizada en la parte anterior izquierda. En la superficie dorsal anterior se localiza una hilera corta de cilios transversales. El citostoma presenta una cinetia preoral completa, la canasta faríngea conformada por varias varillas microtubulares, las cuales presentan en su parte anterior, unos dientes que rodean al citostoma y en la parte posterior se unen formando una espiral. El aparato nuclear consta de un macronúcleo ova, colocado en el tercio posterior del cuerpo y un micronúcleo cercano a este. Presenta dos vacuolas contráctiles localizadas una en la parte anterior y otra en la posterior.

Alimento: Bacterias, diatomeas y algas azul-verdosas.

Comentario: Distribución cosmopolita, prolifera en filtros percoladores y lodos activados, RBRs, aguas negras y lagunas de oxidación (Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b; Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$

Subclase SUCTORIA Claparède y Lachmann, 1858  
Orden EXOGENIDA Collin, 1912  
Familia PODOPHRYIDAE Haeckel, 1866

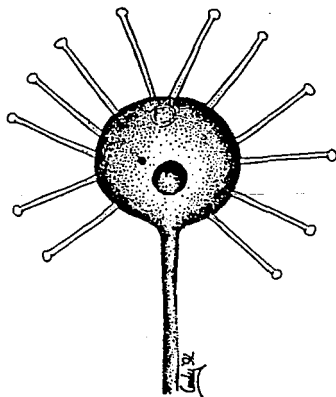
5.- Podophrya fixa (Mueller, 1786) \*\*\*

Tamaño: 20-38  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo de forma esférica, Presenta un pedúnculo de aproximadamente 37  $\mu\text{m}$  de largo. Tiene de 12 a 15 tentáculos suectores, cuyos extremos terminales presentan una prominencia, distribuidos regularmente y de tamaño similar. El aparato nuclear está constituido por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos localizados en el centro. La vacuola contráctil se localiza en la posición anterior.

Alimento: Ciliados.

Comentario: Distribución cosmopolita, presente en aguas contaminadas con material biodegradable (Bick, 1972). Se han encontrado en filtros percoladores y lodos activados (Bick, 1972; Curds, 1975) y en drenajes de aguas negras (Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b). Se observó adherido a grumos bacterianos y detritos.



10  $\mu\text{m}$

Clase NASSOPHOREA Small y Lynn, 1981  
Subclase NASSOPHORIA Small y Lynn, 1981  
Orden PENICULIDA Fauré-Fremiet en Corliss, 1956  
Suborden PARAMECIINA Jankowski, en Small y Lynn, 1985  
Familia PARAMECIIDAE Dujardin, 1840

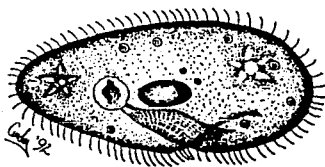
6.- Paramecium aurelia Ehrenberg, 1831 \*\*\*\*\*

Tamaño: 80-170  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo alargado, en forma de huso, con la parte anterior redondeada y la posterior en forma de un cono amplio (ángulo de 90° aproximadamente). El aspecto superficial de la película corresponde a celdillas hexagonales. Ciliatura somática uniforme dispuesta en 91-97 cinetias conectadas a partir del lado derecho del citostoma que se presenta ventralmente. Está delimitada anterior y posteriormente por las suturas pre y post-orales respectivamente. Presenta una ciliatura vestibular formada por siete cinetias. Las estructuras infraciliares de los organoides bucales corresponden a la membrana endoral que presenta 22 cinetosomas espaciados regularmente, cada uno de los penículos está formado por cuatro hileras de cinetosomas, estando más separadas en el tercer penículo (cuádrulo). Con un macronúcleo central ovoide y dos micronúcleos pequeños, cercanos a éste. Presenta dos vacuolas contráctiles con canales radiales cortos, el poro de la vacuola anterior se encuentra entre las cinetias dorsales 23-24 y el poro de la vacuola posterior, entre las cinetias dorsales 22-23.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Prolifera en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975) y en aguas negras (Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976a).



10  $\mu\text{m}$

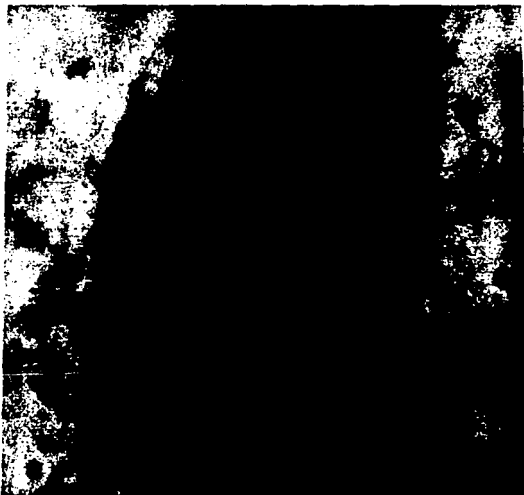
7.- *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833 \*\*\* y \*\*\*\*\*

Tamaño: 180-300  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo alargado cuya forma recuerda la huella de un pie. El extremo anterior es ligeramente agudo y el posterior redondeado, con varios cilios "caudales" más largos. La ciliatura somática es uniforme, formada por 116 a 120 cinetias conectadas a partir del lado derecho del citostoma que se presenta ventralmente. Presenta una ciliatura vestibular formada por nueve cinetias. Las estructuras infraciliares bucales comprenden una membrana endoral y tres penículos cada uno de ellos formado por cuatro hileras de cinetosomas, presentándose más separadas en el tercero (cuádrulo). La membrana endoral está formada por 30 cinetosomas y se localiza a la derecha de la abertura bucal. Con un macronúcleo central ovoide y un micronúcleo compacto cercanos a éste. Presenta dos vacuolas contráctiles localizadas dorsalmente. El poro de la vacuola anterior se encuentra entre las cinetias 39-40, y el de la posterior, entre la 40-41.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Es cosmopolita. Prolifera en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975), RBR que tratan aguas residuales domésticas (Rivera et al., 1989). y aguas negras sin tratar (Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976a, b).



10  $\mu\text{m}$

Subclase HYPOTRICHA Stein, 1859  
Orden EUPLOTIDA Small y Lynn, 1985  
Suborden EUPLOTINA Small y Lynn, 1985  
Familia ASPIDISCIDAE Ehrenberg, 1838

8.- Aspidisca cicada (Mueller, 1786) \*\*\*

Tamaño: 24.5 a 40  $\mu\text{m}$  X 16 a 32  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo ovoide, con el extremo anterior redondeado y el posterior ligeramente truncado. La cara dorsal convexa y la ventral plana. Provisto de seis pliegues o costillas en la parte dorsal. La ciliatura somática está representada por siete cirros frontales y cinco transversales, tiene la zona adoral dividida en dos. Citoplasma con granulaciones finas. El macronúcleo tiene forma de herradura, el micronúcleo se localiza en el extremo izquierdo anterior. la vacuola contráctil posterior.

Alimento: Bacterias

Comentario: Distribución cosmopolita, se ha encontrado en lodos activados, (Bick, 1975; Curds, 1975; Pike y Curds, 1971), filtros percoladores (Bick, 1975; Curds y Cokburn, 1970). La presencia de este ciliado se asocia con una buena eficiencia en la depuración de aguas, es decir con aguas poco contaminadas. Entre los principales sinónimos de esta especie de ciliado se encuentra Aspidisca costata.



10  $\mu\text{m}$



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 GLAUCOMIDAE Corliss, 1971

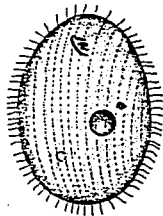
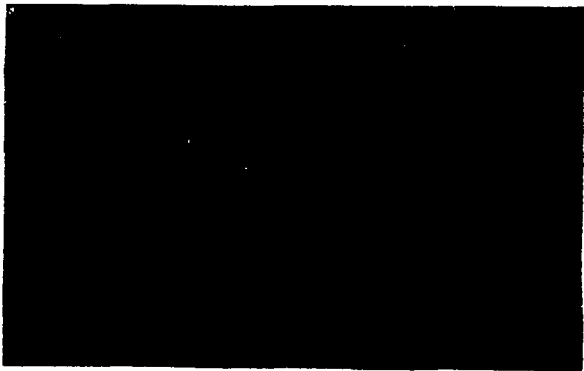
9.- Glaucoma scintillans Ehrenberg, 1830 \*\*\*

Tamaño: 40-80  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo elipsoide, ventralmente aplanado. Ciliatura somática uniforme, compuesta de 30 a 40 cinetias. El citostoma se localiza en la parte anterior ventral del cuerpo y en la cavidad bucal se encuentra una larga membrana paroral (ondulante) y tres membranas adorales paralelas a la membrana paroral. El aparato nuclear formado por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos ubicados en la parte central del cuerpo. Una vacuola contráctil en el extremo lateral posterior.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Distribución cosmopolita, Se encuentra con poca frecuencia. Habita tanto en aguas que fluyen como estancadas contaminadas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Prolifera en drenajes de aguas residuales, filtros percoladores, lodos activados y tanques Imhoff (Bick, 1976; Curds, 1975) y En RBRs que tratan aguas residuales domásticas (Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$

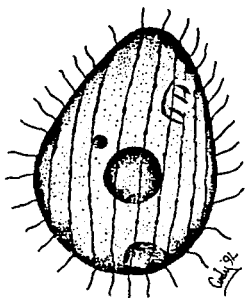
10.- *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenberg, 1831) \*\*

Tamaño: 30-60  $\mu$ m.

Cuerpo ovoide, con el extremo anterior puntiagudo y el posterior redondeado. La ciliatura somática es uniforme, con 17-25 cinetias. El citostoma se localiza en la parte anterior de la línea media ventral. La ciliatura bucal es tetrahiménica, constituida por tres membranelas paralelas entre sí que forman la zona adoral de membranelas, colocadas del lado izquierdo del ciliado y en posición oblicua respecto de la membrana paroral (ondulante) que se ubica del lado derecho. El aparato nuclear formado por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos centrales. La vacuola contráctil en el extremo posterior.

Alimento: Detritos, bacterias y algas.

Comentario: Distribución cosmopolita, es común que cambie de forma en respuesta a presiones locales. Habita aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Prolifera en filtros percoladores, reactores biológicos rotatorios, lagunas de oxidación y canales de aguas residuales domésticas (Bick, 1976; Curds, 1975, Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976 a, b; Rivera et al., 1989).



10  $\mu$ m

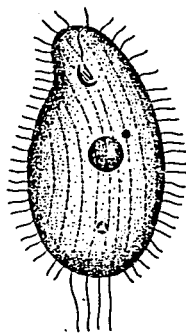
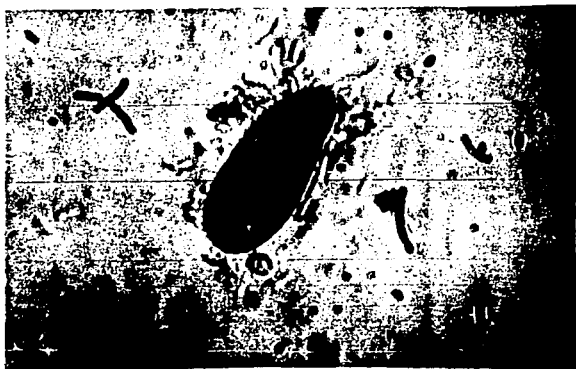
11.- *Colpidium campylum* (Stokes, 1886) \*\*

Tamaño: 45-50  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo reniforme, alargado. La ciliatura es uniforme constituida por 20 a 24 cinetias, con cilios más largos en el extremo posterior. En el extremo anterior, las cinetias ventrales del lado derecho sufren un giro a la izquierda, quedando paralelas a la sutura preoral. La cavidad bucal es pequeña y se localiza en la parte anterior del cuerpo, aproximadamente a 1/4 de su longitud total. La ciliatura bucal está formada por una aparente membrana paroral (ondulante) del lado derecho y tres membranelas ligeramente oblicuas del lado izquierdo. El macronúcleo es esférico y está ubicado en posición central, con un micronúcleo anterior a éste. Una vacuola contráctil posterior cercana al margen derecho, en la región de la cinetia cinco.

Alimento: Detritos, bacterias, flagelados y algas.

Comentario: Distribución cosmopolita, habitan aguas ricas en materia orgánica en descomposición (Bick, 1976). Proliferan en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975).



10  $\mu\text{m}$

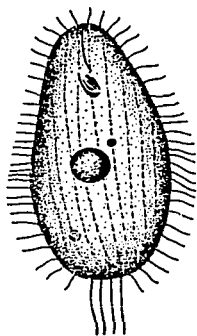
12.- Colpidium colpidium (Schewiakoff, 1889) \*\*

Tamaño: 50-60  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo reniforme, alargado. La ciliatura somática es uniforme, excepto por un grupo de cilios largos en el polo posterior, tiene de 24-25 cinetias. En el extremo anterior, las cinetias ventrales del lado derecho sufren un giro a la izquierda, quedando paralelas a la sutura preoral. La cavidad bucal es pequeña y se localiza en la parte anterior del cuerpo, aproximadamente a 1/4 de su longitud total. La ciliatura bucal es parecida a la de C. campylum. El macronúcleo es esférico y localizado en posición central, con un micronúcleo se anterior a éste. Una vacuola contráctil localizada cerca de la cinetia cinco, en el último tercio del cuerpo.

Alimento: Bacterias, detritos y flagelados.

Comentario: Probablemente cosmopolita, no ha sido registrado en aguas negras sin tratar ni en sistemas de tratamiento biológico (Curds, 1975, Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976 a, b; Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$

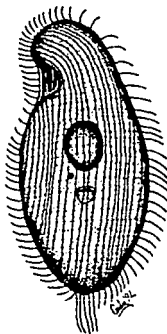
13.- Colpidium colpoda (Losana, 1829) \*\*\*

Tamaño: 100 a 150  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo reniforme alargado. El extremo posterior es ligeramente más ensanchado que el anterior. La ciliatura somática es uniforme, constituida por 50 a 60 cinetias, con cilios caudales de mayor tamaño que los presentes en el resto del cuerpo. En el extremo anterior, las cinetias ventrales del lado derecho sufren un giro a la izquierda, quedando paralelas a la sutura preoral. La cavidad bucal es pequeña y se localiza en la parte anterior del cuerpo, aproximadamente a 1/4 de su longitud total. La ciliatura bucal es parecida a la de C. campylum. Un macronúcleo oval con un micronúcleo adyacente, ambos en la parte central de cuerpo.

Alimento: Bacterias y pequeños flagelados.

Comentario: Distribución cosmopolita, habita en aguas ricas en materia orgánica en descomposición. Se han encontrado en drenajes de aguas negras, filtros percoladores, lodos activados y RBRs (Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b; Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$

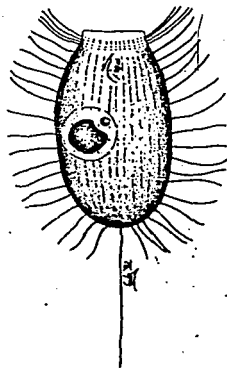
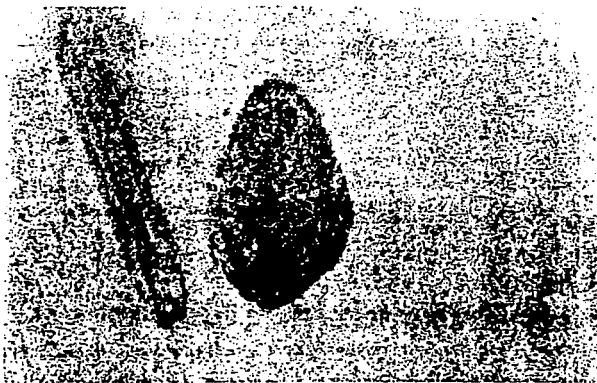
14.- Dexiotricha plagia Stokes, 1985 \*\*\*\*\*

Tamaño: 50 a 70  $\mu$ m.

Cuerpo cilíndrico, con el polo anterior redondeado desprovisto de cilios y el posterior redondeado y con un cilio caudal. La ciliatura somática es uniforme compuesta de 20 a 30 cinetias. Los cinetosomas anteriores se caracterizan porque las dos primeras hileras son dicinéticas y las siguientes monocinéticas. La ciliatura bucal conformada a la derecha por una membrana paroral (ondulante) y ala izquierda por tres membranelas, las dos anteriores (M1 y M2) rectangulares y la otra a manera de rombo. Presenta de manera adicional una hilera oblicua de cilios asociada con la cavidad bucal en el margen derecho. El macronúcleo es esférico y central con un micronúcleo ubicado cerca de él. La vacuola contráctil se localiza en la parte posterior del cuerpo.

Alimento: Bacterias y algas.

Comentario: Este ciliado, de acuerdo con Czapik (1968) está en sinonimia con Loxocephallus plagiis, el cual ha sido registrado anteriormente en aguas negras presentes en drenajes domésticos (Rico Ferrat y López Ochoterena, 1976a, b), pero no como habitante común de plantas para tratamiento de aguas residuales (Curds, 1975; Rivera et al., 1989). Otros sinónimos de Dexiotricha plagia de acuerdo con Wilbert (1986) son: Loxocephallus annulatus; L. luridus; L. simplex; Uronema simplex y Colpidium pannonicum.



10  $\mu$ m

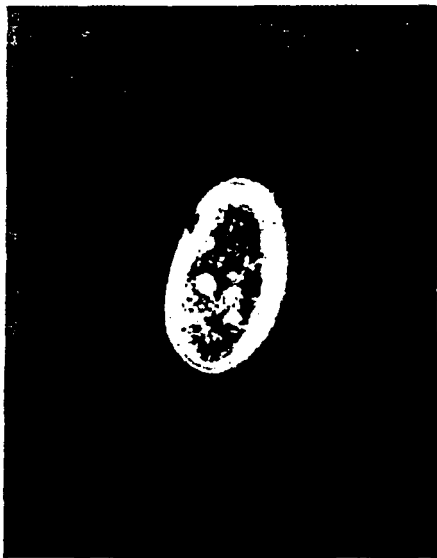
15.- *Uronema nigricans* Mueller, 1786 \*

Tamaño: 20-40  $\mu$ m.

Cuerpo ovoide alargado, ligeramente aplanado. La región anterior ligeramente truncada y la posterior redondeada. La ciliatura somática es uniforme, el polo anterior está desprovisto de cilios y el posterior presenta un cilio caudal. La cavidad bucal es inconspicua y el citostoma se localiza ligeramente anterior a la parte ecuatorial del cuerpo. La ciliatura oral está constituida por una membrana paroral (ondulante) del lado derecho y tres membranelas alargadas. El macronúcleo es esférico y central, con un micronúcleo ubicado cerca de él. La vacuola contráctil es terminal.

Alimento: Bacterias y algas.

Comentario: Distribución amplia, se desarrolla en aguas dulces, se ha encontrado en drenajes de aguas negras y en sistemas de tratamiento como filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b).



10  $\mu$ m

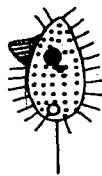
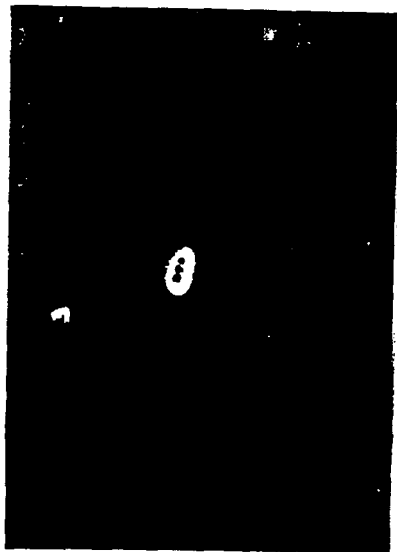
16.- Cyclidium glaucoma Mueller, 1773 \*\*\*

Tamaño: 20-30  $\mu\text{m}$ .

Cuerpo ovoide con la cara ventral plana y la dorsal convexa; la región anterior ligeramente truncada y la posterior redondeada. La ciliatura somática dispuesta en 10 cinetias regularmente espaciadas, la región anterior sin cilios y la posterior con un cilio caudal largo. La cavidad bucal ubicada en la superficie ventral del cuerpo, se extiende desde el extremo anterior, hasta la región ecuatorial del organismo. La ciliatura bucal la conforma la membrana paroral (ondulante) conspicua y tres membranelas. El aparato nuclear está constituido por un macronúcleo esférico y un micronúcleo ubicados en la parte anterior. La vacuola contráctil es posterior.

Alimento: Bacterias y algas.

Comentario: Distribución amplia, se desarrolla en aguas con materia orgánica en procesos de descomposición (Bick, 1972, 1976). Se ha registrado que habita en filtros percoladores, lodos activados y tanques Imhoff, RBRs y aguas negras sin tratar (Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b; Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$



Subclase PERITRICHIA Stein, 1859  
Orden SESSILIDA Kahl, 1933  
Familia EPISTYLIDIDAE Kahl, 1933

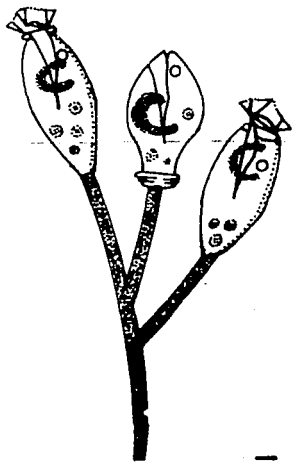
17.- *Epistylis plicatilis* Ehrenberg, 1831-\*\*\*

Tamaño: colonia de 2 a 3 mm; zooide 70-160  $\mu\text{m}$  X 30-45  $\mu\text{m}$ ; ramas 90-100  $\mu\text{m}$ .

Es un organismo que forma colonias de dos a tres mm, ramificadas dicotómicamente no estriadas, ni segmentadas y sin mionemas. El zooide es en forma de vaso o campana invertida y alargada, puede presentar ligeras contracciones. Con pliegues característicos en la porción final. La película del cuerpo ligeramente estriada. La ciliatura bucal se encuentra distribuida alrededor del peristoma apical. El infundibulo ocupa un tercio de la longitud total del zooide. El aparato nuclear compuesto de un macronúcleo en forma de C, ubicado oblicuamente en la parte anterior y un micronúcleo esférico. La vacuola contráctil anterior.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Son organismos sésiles que se encuentran en aguas con materia orgánica disuelta (Bick, 1972). Presentes en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975). Se adhieren a detritos y agregados bacterianos.



10  $\mu\text{m}$

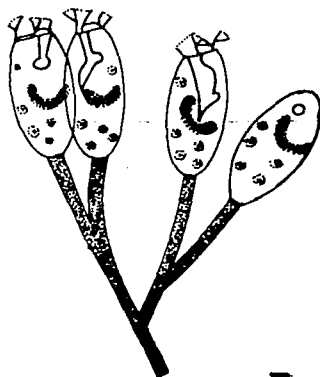
18.- *Opercularia coarctata* (Claparède y Lachmann, 1858) \*

Tamaño: colonia 0.3 a 0.8 mm; zooide 60-75  $\mu\text{m}$  X 20-25  $\mu\text{m}$ ; ramas 60-100  $\mu\text{m}$ .

Son organismos que forman colonias pequeñas compuestas de tres a seis individuos, la ramificación es dicotómica, sin mionemas. El zooide es en forma de campana invertida. El disco peristomal es pequeño y está soportado por un pequeño proceso localizado sobre el peristoma. El macronúcleo es en forma de banda y se ubica en la porción ecuatorial. La vacuola contráctil está ubicada en el extremo anterior.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Son organismos sésiles con distribución cosmopolita. Se desarrollan 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.



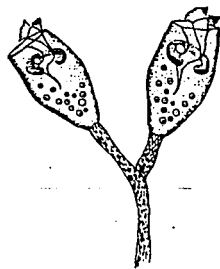
19.- *Opercularia microdiscum* (Fauré-Fremiet, 1961) \*

Tamaño: colonia de 0.5 a 1 mm; zooide 50-90  $\mu\text{m}$  X 30-40  $\mu\text{m}$ ; ramas 60-70  $\mu\text{m}$ .

Son organismos que forman colonias de aproximadamente 0.5 a 1 mm, con ramificaciones dicotómicas y sin mionemas. El pedúnculo es estriado y no segmentado. Los zooides tienen forma de barril con película ligeramente estriada. El disco peristomal es pequeño. El macronúcleo en forma de herradura, localizado en la porción anterior del cuerpo. La vacuola contráctil ubicada en la parte media anterior del organismo.

Alimento: Bacterias, detritos y flagelados.

Comentario: Son organismos sésiles 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.



—  
10  $\mu\text{m}$

20.- *Vorticella campanula* Ehrenberg, 1831 \*\*\*

Tamaño: cuerpo 50-160  $\mu\text{m}$  X 35-100  $\mu\text{m}$ ; pedúnculo 250-350  $\mu\text{m}$ .

Es un organismo solitario, de pedúnculo contráctil. El cuerpo es en forma de campana invertida, algunas veces con pliegues posteriores. El cuerpo contiene gránulos de reserva refringentes, debido a esto los organismos son muy conspicuos teniendo su cuerpo apariencia negruzca. El peristoma presenta una gran amplitud. Debajo del labio peristomal se constriñe y algunas veces el cuerpo presenta pliegues posteriores. Infundíbulo amplio. La película finamente estriada. El macronúcleo es en forma de banda, tiene un sólo micronúcleo. Una sola vacuola contráctil cerca de la cavidad bucal. La parte basal del cuerpo puede algunas veces cubrir la parte superior del pedúnculo, el cual se localiza en posición aboral.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Son individuos sésiles de distribución cosmopolita, se presenta frecuentemente a lo largo de todo el año, en todo tipo de aguas, tanto fluidas como estancadas. Evitan las aguas sucias (Bick, 1972). Usualmente se encuentran adheridos a diversos soportes. Se ha registrado que habita en filtros percoladores y lodos activados y RBRs que tratan aguas residuales domésticas (Curds, 1975; Rivera et al., 1989).



10  $\mu\text{m}$

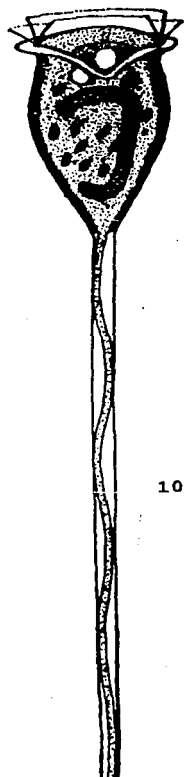
21.- *Vorticella convallaria* Linnaeus, 1758 \*\*\*\*\*

Tamaño: cuerpo 30-120  $\mu\text{m}$  X 35-70  $\mu\text{m}$ ; pedúnculo 25-460  $\mu\text{m}$ .

Es un organismo solitario, de pedúnculo contráctil. El cuerpo es en forma de campana invertida, con película estriada fácilmente visible y sin gránulos de reserva refringentes en el endoplasma. El peristoma es ciliado y mide de 55-75  $\mu\text{m}$  de anchura. El infundíbulo alcanza 1/3 de la longitud total del cuerpo. El macronúcleo es conspicuo y en forma de banda, un sólo micronúcleo esférico. La vacuola contráctil se localiza en la parte anterior.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Son individuos sésiles de distribución cosmopolita, se presenta frecuentemente a lo largo de todo el año, en todo tipo de aguas, tanto fluidas como estancadas. Evita las aguas sucias (Bick, 1972). Usualmente se encuentra adherida a diversos soportes, habita frecuentemente en grupos. Se ha registrado que habita en filtros percoladores y lodos activados y aguas negras sin tratar (Curds, 1975; Rico-Ferrat y López-Ochoterena 1976a, b).



10  $\mu\text{m}$

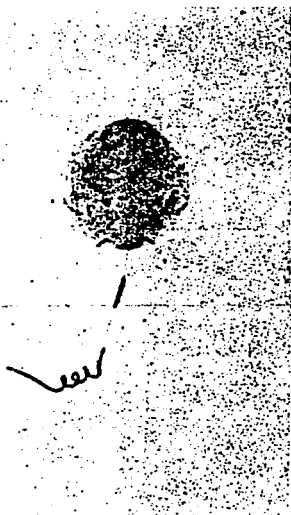
22.- *Vorticella striata* Dujardin, 1841 \*\*\*\*\*

Tamaño: cuerpo 20-60  $\mu\text{m}$  X 15-40  $\mu\text{m}$ ; pedúnculo 20-300  $\mu\text{m}$ .

Es un organismo solitario, de pedúnculo contráctil. El cuerpo tiene forma de campana invertida con 25-40 estriás y está constriñido debajo del labio peristomial. El citoplasma es transparente. El macronúcleo es en forma de C ubicado en la parte anterior, el micronúcleo es compacto localizado en la parte derecha anterior. La vacuola contráctil es anterior, cerca de la cavidad bucal.

Alimento: Bacterias.

Comentario: Son individuos sésiles de cosmopolita, con alta tolerancia a los cambios de salinidad. Está presente en aguas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Se ha registrado que habita en filtros percoladores (Curds y Cockburn, 1969) y lodos activados (Curds, 1975).



## V ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

### V.1 Comparación de la calidad fisicoquímica y de diversidad de ciliados en las aguas residuales estudiadas

Considerando los resultados analíticos del nejayote, vinazas y aguas blancas, se puede decir que presentan una relación de DBO<sub>5</sub>/DQO de 0.388; 0.4563; y 0.31, respectivamente. Esto quiere decir que las vinazas son las aguas residuales que tienen un mayor porcentaje relativo de material orgánico biodegradable y las aguas blancas el menor.

Con respecto a los valores de pH, se observó que en el caso del nejayote dichos valores variaban de básicos a ácidos, en función del tiempo de almacenamiento (en cuarto frío) del agua residual empleada para hacer la dilución con la que se alimentaba al reactor. Una explicación parcial sería que, a pesar de que se almacenaba a baja temperatura, se presentaban procesos metabólicos anaerobios con la consecuente inducción de ambientes ácidos. Respecto a las vinazas sin diluir, éstas presentaron invariablemente valores de pH ácidos, mientras que al ser diluidas tendían a valores ligeramente ácidos. Por último, los valores de pH para las aguas blancas alimentadas al reactor, oscilaron de ligeramente ácidas a ligeramente alcalinas, con predominio de los primeros. Cabe mencionar que, en algunos casos, la acidez del agua residual puede limitar e incluso inhibir la actividad microbiana, afectando en consecuencia la degradación de los contaminantes orgánicos. En esos casos, podría considerarse a la neutralización como un paso previo al tratamiento por métodos biológicos sobre todo cuando los valores de pH son fuertemente ácidos.

Por otra parte, desde el punto de vista biológico, la riqueza de ciliados encontrados en los diferentes tipos de agua, cuando éstos se cultivaron en cajas Petri, fue en total de 22, de los cuales 14 estuvieron en nejayote, 11 en vinazas y 14 en aguas blancas. Del total de estas especies, seis resultaron comunes para los tres tipos de agua residual, cinco "exclusivas" para nejayote, una para vinazas y tres para aguas blancas (tabla 21).

En cuanto a las especies de ciliados encontradas en los experimentos realizados en los RBRs, el total fue de 19 (de las 22 anteriores), de las cuales tres resultaron comunes para los tres tipos de aguas, cinco "exclusivas" de nejayote; una de vinazas y tres de aguas blancas. Las especies que no se registraron durante la fase pseudoestable de los reactores fueron Chilodonella uncinata y Uronema nigricans. Comparando las comunidades de ciliados, que se presentan para cada uno de los RBRs (tabla 21), se observa que las que tienen mayor similitud son las que crecen en las aguas blancas, con las que proliferan en las vinazas, compartiendo siete especies en común. Por otra parte, las menos similares son las que resultan de comparar las que se desarrollaron en el nejayote, respecto de las presentes tanto en las aguas blancas como en las vinazas, teniendo en común, en ambos casos, sólo cuatro especies.

De manera global puede decirse que la riqueza de ciliados encontrada en estos experimentos es menor que la registrada, tanto en aguas negras sin tratar (Rico-Ferrat y López Ochoterena 1976a, b), como cuando estas son sometidas a sistemas aerobios para su depuración (Curds, 1975; Rivera *et al.*, 1989). Lo anterior pudiera deberse, para estos experimentos en particular, a efectos fisicoquímicos como la existencia o ausencia de algún compuesto cuya calidad o cantidad inhiba o limite la presencia indiscriminada de las especies de ciliados (p. ej. sustancias tóxicas, factores de crecimiento y concentración de materia orgánica) o como consecuencia del inadecuado balance de interacciones biológicas que permitieran su desarrollo (p. ej. presas y depredadores).

**Tabla 21. Protozoarios ciliados registrados en las tres aguas residuales bajo estudio**

PROTOZOARIO CILIADO	P R E S E N C I A E N:					
	Cajas Petri			R B R s		
	N	V	AB	N	V	AB
<u>Blepharisma americanum dawsoni</u>	-	-	+	-	-	-
<u>Oxytricha fallax</u>	+	+	+	-	+	+
<u>Litonotus lamella</u>	+	+	+	-	+	+
<u>Chilodonella uncinata</u>	-	-	+	-	-	-
<u>Podophrya fixa</u>	+	+	+	+	+	+
<u>Paramecium aurelia</u>	+	+	+	+	+	+
<u>Paramecium caudatum</u>	-	+	+	-	+	+
<u>Aspidisca cicada</u>	+	-	+	-	-	+
<u>Glaucoma scintillans</u>	+	-	-	+	-	-
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	+	-	-	+	-	-
<u>Colpidium campylum</u>	+	-	-	+	-	-
<u>Colpidium colpidium</u>	+	-	-	+	-	-
<u>Colpidium colpoda</u>	-	+	-	-	+	-
<u>Dexiotricha plagia</u>	-	-	+	-	-	+
<u>Uronema nigricans</u>	-	+	+	-	-	-
<u>Cyclidium glaucoma</u>	+	+	+	+	+	+
<u>Epistylis plicatilis</u>	+	+	-	+	+	-
<u>Opercularia coarctata</u>	+	+	-	+	-	-
<u>Opercularia microdiscum</u>	+	-	+	+	-	+
<u>Vorticella campanula</u>	+	-	-	+	-	-
<u>Vorticella convallaria</u>	-	-	+	-	-	+
<u>Vorticella striata</u>	-	+	+	-	+	+
<b>TOTAL</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>11</b>

Nota: N= Nejayote; V= Vinazas y AB= Aguas blancas  
+ Presencia - Ausencia

La explicación anterior se ve apoyada si se considera que, de las 22 especies de ciliados encontrados en los RBRs, la mayoría han sido registradas como habitantes típicos, ya sea de aguas residuales domésticas sin tratar o bajo tratamiento biológico, siendo en los filtros percoladores (19 especies) y los lodos activados (18 especies), en donde han sido observadas el mayor



número de éstas (tabla 22). De acuerdo con la información anterior, es factible suponer que el número de especies que se puedan desarrollar tanto en el nejayote, las vinazas y las aguas blancas, de no existir alguna limitante como las arriba señaladas, aumente al doble al ensayar nuevas condiciones experimentales. Esto se hace factible debido al hecho de que el registro de especies de ciliados en sistemas de tratamiento para aguas residuales domésticas es más numeroso, que el obtenido en la presente experimentación, lo que implica que dichas especies en general, poseen una amplia tolerancia y adecuación a medios acuosos no sólo respecto al contenido de substratos orgánicos disueltos, sino de otros parámetros ambientales como la concentración de oxígeno disuelto y el valor de pH, los cuales presentan variación en función del tipo de tratamiento al que estén sujetas las aguas contaminadas.

**Tabla 22. Protozoarios ciliados registrados en las tres aguas residuales industriales y su presencia en aguas negras sin tratar y bajo tratamiento biológico**

PROTOZOARIO CILIADO	P R E S E N C I A E N				
	AN	TI	FP	LA	RBR
	*	-----	***		***
<u>Blapharisma americanum</u> v. <u>dawsoni</u>	-	-	-	-	-
Christie y Hirshfield					
<u>Oxytricha fallax</u> Stein	-	-	+	+	-
<u>Litonotus lamella</u> (Mueller)	-	-	+	-	+
<u>Chilodonella uncinata</u> (Ehrenberg)	+	-	+	+	+
<u>Podophrya fixa</u> (Mueller)	+	-	+	+	-
<u>Paramecium aurelia</u> Ehrenberg	+	-	+	+	-
<u>Paramecium caudatum</u> Ehrenberg	+	-	+	+	+
<u>Aspidisca cicada</u> (Mueller)	-	+	+	+	-
<u>Glaucoma scintillans</u> Ehrenberg	-	+	+	+	+
<u>Tetrahymena pyriformis</u> (Ehrenberg)	+	-	+	+	+
<u>Colpidium campyllum</u> (Stokes)	-	-	+	+	-
<u>Colpidium colpidium</u> (Schewiakoff)	-	-	-	-	-
<u>Colpidium colpoda</u> (Losana)	+	-	+	+	+
<u>Dexiotricha plagia</u> Stokes	+	-	-	-	-
<u>Uronema nigricans</u> Mueller	+	-	+	+	-
<u>Cyclidium glaucoma</u> Mueller	+	+	+	+	+
<u>Epistylis plicatilis</u> Ehrenberg	-	-	+	+	-
<u>Opercularia coarctata</u> (Claparède y Lachmann)	-	-	+	+	-
<u>Opercularia microdiscum</u> (Fauré-Fremiet)	-	-	+	+	-
<u>Vorticella campanula</u> Ehrenberg	-	-	+	+	+
<u>Vorticella convallaria</u> Linnaeus	+	+	+	+	-
<u>Vorticella striata</u> Dujardin	-	-	+	+	-
Especies totales = 22					
Especies por sistema de tratamiento=	10	4	19	18	8

Nota: - = Ausencia; + = Presencia; AN= Aguas negras (\* Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976). TI= Tanques Imhoff; FP= Filtros percoladores y LA= Lodos activados (\*\* Curds, 1975). RBR= reactores biológicos rotatorios (\*\*\*) Rivera et al., 1989).

De manera alternativa y/o complementaria, es posible suponer que la no detección de esas especies en esta investigación, se deba a que proliferan en ambientes menos agresivos que los obtenidos en los reactores. También es probable que no hayan sido inoculadas o bien, que si estuvieran presentes pero con muy baja abundancia específica como para ser detectadas. Por último, existe la posibilidad de atribuir su aparente ausencia (al menos para algunas de ellas) a que si estén detectadas como habitantes de aguas negras sin tratar o en tratamiento biológico, pero bajo otro nombre. Esto último puede ejemplificarse con lo ocurrido en el caso de Loxocephallus plagiatus, uno de cuyos sinónimos es Dexiotricha plagia (Czapik, 1968), siendo la primera denominación y no la segunda, la que ha sido registrada como habitante de aguas negras sin tratar (Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976a, b). Situación similar ocurre con la especie Aspidisca cicada (Wu y Curds, 1979), la cual tradicionalmente había sido registrada con el nombre de Aspidisca costata (Bick, 1972; Curds, 1975; Sládeček, 1973), por lo cual la información sobre su presencia en sistemas de tratamiento y tolerancia ambiental sólo puede encontrarse cuando se busca bajo este último nombre.

En la tabla 23 se puede observar que existe, para 18 de las 22 especies de ciliados, información relevante sobre sus intervalos de tolerancia para algunos parámetros ambientales. Las especies de las que no se obtuvo esta información son Blepharisma americanum v. dawsoni; Colpidium colpidium; Uronema nigricans y Apercularia microdiscum. De acuerdo con los datos de esa misma tabla, la mayoría de las especies determinadas se desarrollan en intervalos amplios de pH, temperatura y oxígeno disuelto, por lo que en términos generales, se les pueden considerar como organismos euribiontes. Esto, aunado a la estrecha variación que de dichos parámetros se observó durante los experimentos realizados, permite inferir que, en general, esas variables no constituyen un factor limitante para su proliferación. Es importante destacar que, para el caso de la DBO<sub>5</sub>, los valores encontrados en la literatura son considerablemente inferiores al compararlos con los registrados en este trabajo. Lo anterior podría deberse en parte, a que existe un importante aporte de oxígeno a través de la rotación de los discos, lo cual trae como consecuencia, la modificación de las condiciones ambientales prevalecientes en el líquido cuando éste está siendo tratado, respecto a las que presenta cuando se encuentra en reposo. Al forzar artificialmente el cambio fisicoquímico del agua residual se propicia la modificación de la estructura de la comunidad acuática microbiana prevaleciente, induciendo la inactivación de algunas especies, pero promoviendo la presencia trófica de otras. Cabe mencionar que las especies que permanecerán mayor tiempo de manera activa, dentro del proceso depurativo del agua, serán las que requieran cantidades moderadas de nutrientes y que presenten amplia tolerancia a las condiciones ambientales, de manera que continúen "creciendo" y reproduciéndose en una amplia variedad de sustratos y condiciones con tasas de crecimiento y reproducción rápidas que les permitan habitar cualquier microhábitat disponible, teniendo amplia diseminación, con etapas de latencia en casi todos los lugares.

Tabla 23. Especies de ciliados encontradas en las tres aguas residuales bajo estudio y sus intervalos de tolerancia a diferentes factores ambientales

C I L I A D O	T(°C)**	pH**	OD(mg/L)**	DBO <sub>5</sub> * (mg/L)	S*
<u><i>Blepharisma americanum</i></u>	-	-	-	-	-
<u><i>Oxytricha fallax</i></u>	2-56	6.8-7.5	3.0- 5.0	10-15	a
<u><i>Litonotus lamella</i></u>	0-35	6.0-9.4	0.0-13.0	5-10	B
<u><i>Chilodonella uncinata</i></u>	0-50	4.0-9.5	0.0-14.0	10-15	a
<u><i>Podophrya fixa</i></u>	4-19	-	-	50-100	p
<u><i>Paramecium aurelia</i></u>	1-42	6.0-9.0	0.1-12.5	5-15	B-a
<u><i>Paramecium caudatum</i></u>	1-40	4.0-9.4	0.0-12.0	10-15	a
<u><i>Aspidisca cicada</i></u>	0-30	5.4-9.4	0.1-12.0	10-15	a
<u><i>Glaucoma scintillans</i></u>	0-35	3.8-8.6	0.0-14.2	50-600	p-i
<u><i>Tetrahymena pyriformis</i></u>	1-41	7.8-8.9	0.0-10.4	50-600	p-i
<u><i>Colpidium campylum</i></u>	4-30	4.0-8.9	0.0-11.0	50-600	p-i
<u><i>Colpidium colpidium</i></u>	-	-	-	-	-
<u><i>Colpidium colpoda</i></u>	2-30	6.2-8.3	0.0-16.0	50-600	p-i
<u><i>Dexiotricha plagia</i></u>	5-25	6.4-8.5	0.0- 8.0	10-15	a
<u><i>Uronema nigricans</i></u>	-	-	-	-	-
<u><i>Cyclidium glaucoma</i></u>	1-51	5.7-9.0	0.0-16.0	10-15	a
<u><i>Epistylis plicatilis</i></u>	4-27	6.5-12.0	0.2-14.0	10-15	a
<u><i>Opercularia coarctata</i></u>	10-22	5.0-8.0	9.0-11.0	10-100	a-p
<u><i>Opercularia microdiscum</i></u>	-	-	-	10-15	a
<u><i>Vorticella campanula</i></u>	0-25	6.9-9.5	4.5-12.0	5-10	B
<u><i>Vorticella convallaria</i></u>	2-23	5.5-9.0	1.0-13.0	5-15	B-a
<u><i>Vorticella striata</i></u>	0-27	5.0-8.0	3.0-14.0	2.5-100	o-p

Tomado de: \*\* Bick, 1972, 1976a, b. \* Sládeček, 1973  
 DBO<sub>5</sub>= Demanda bioquímica de oxígeno en cinco días  
 S = Índice de saprobiedad (figura 1)

Con relación a su índice de saprobiedad (S), se observa que de las especies detectadas una es beta-mesosaprobia (B); dos beta-alfa-mesosaprobias (B-a); ocho alfa-mesosaprobias (a); una alfa-meso-poli-saprobia (a-p); una poli-saprobia (p); una poli-oligo-saprobia (p-o); cuatro poli-isosaprobias (p-i) y tres de las que no se tiene información (figura 1). De acuerdo con lo anterior, la mayoría de las especies observadas (B y a) son las que podrían equipararse con las susceptibles de ser encontradas en ambientes acuáticos naturales como un río o una laguna altamente contaminados y con microaerobicidad. De manera complementaria, la presencia de ciliados de tipo p-i, equivale a pensar en aquellas especies que proliferan en aguas residuales bajo condiciones anaerobias (Sládeček, 1985). No obstante, la similitud entre la comunidad de ciliados registrada en los RBRs y la observada en ambientes naturales contaminados, debe tenerse en cuenta que existe una considerable diferencia entre ambos, respecto de la concentración de materia orgánica que cada uno de ellos contiene. Esta, en términos generales, fue para el líquido suministrado a los RBRs, durante el período experimental, de cinco a veinte veces mayor que la contenida en los cuerpos acuáticos naturales con la que se está comparando. En consecuencia, podría decirse que son ambientes que, en

condiciones naturales, no darían cabida al desarrollo de ciliados de tipo oligo, beta y alfasaprobios, sino exclusivamente a los iso y metasaprobios, en cuanto a ciliados registrados dentro del sistema saprobio se refiere, ya que son solamente estos últimos, los que toleran concentraciones tan altas de DBO<sub>5</sub>, como las encontradas en los RBRs alimentados con vinazas y nejayote.

#### V.2 Respuesta de la comunidad de ciliados al cambio de substrato en el proceso depurativo de reactores biológicos rotatorios

Durante la fase pseudoestable de los RBRs, para cada una de las aguas residuales empleadas, se evaluó su comportamiento físico, químico y bioquímico, realizando de manera simultánea observaciones sobre la distribución y abundancia de los protozoarios y micrometazoarios en cada cámara. No se tomaron muestras periódicas del recipiente de alimentación debido a que durante las observaciones preliminares solamente se apreció la presencia, en el líquido almacenado, de bacterias y flagelados pero no de ciliados, nemátodos o rotíferos. Además, para evitar la eventual acumulación de protozoarios y micrometazoarios en el recipiente de alimentación, este se lavaba diariamente.

#### Parámetros fisicoquímicos y bioquímicos

Un resultado observado de la operación de los RBRs, diseñados con una relación área/volumen de  $141 \text{ m}^2/\text{m}^3$ , es que es posible tratar en ellos líquidos residuales con una concentración inicial de aproximadamente 2,000 mg DQO/L, siempre y cuando la velocidad de rotación de los discos sea de 30 rpm y el tiempo de residencia hidráulico de un día. Bajo estas condiciones de operación se alimentaron a los reactores, de manera independiente, nejayote, vinazas y aguas blancas las cuales no obstante su acidez inicial, presentan (durante su depuración) un proceso de autorregulación de pH, a través del aumento en la cantidad de carbonatos y bicarbonatos producidos por el CO<sub>2</sub>, generado principalmente por las bacterias.

Es importante resaltar que la acidez inicial de los líquidos residuales suministrados a los reactores, es prácticamente neutralizada en la primera cámara, la cual a su vez es en donde se tiene una mayor rapidez de reacción, tendiendo de manera paulatina y constante a un pH neutro-alcalino en las cámaras subsecuentes. Debido a esto no es necesario dar un pretratamiento de neutralización a este tipo de líquidos para su incorporación al RBR (Poon y Chao, 1979).

Otro aspecto importante de notar en el caso del nejayote y las vinazas, es que en las primeras tres cámaras de los RBRs no se logra alcanzar su total aerobiosis, lo cual sí ocurre en el RBR alimentado con aguas blancas. Lo anterior está asociado, nuevamente, con la concentración de material orgánico biodegradable presente al inicio de la depuración, la cual es mayor en las vinazas y en el nejayote con respecto de las aguas

blancas. Dicho material biodegradable, al ser metabolizado por los microorganismos aerobios, propicia el rápido consumo del oxígeno disponible en solución, cuya concentración se agota debido a que la rapidez de su consumo es mayor que la de su disolución (paso del oxígeno del aire a la fase líquida).

De manera global, puede decirse que la concentración de oxígeno disuelto en los líquidos bajo tratamiento, tiende a aumentar conforme disminuye la concentración de material orgánico biodegradable. Esto se debe a que el fenómeno descrito en el párrafo anterior se invierte, es decir, la rapidez de disolución de oxígeno en el agua residual supera a la de su consumo, conforme ésta avanza hacia la etapas finales de los reactores (Starkey y Karr, 1984; Vavilin 1982). Cabe mencionar que para los experimentos con nejayote y vinazas, se presentó microaerobiosis (0.06 a 1.85 mg OD/L) en las dos primeras etapas y aerobiosis (2.24 a 6.16 mg OD/L) a partir de la tercera, mientras que para el de aguas blancas, la totalidad de las cámaras del reactor permaneció en franca aerobiosis (2.9 a 6.5 mg OD/L).

Respecto a la remoción de materia orgánica disuelta total medida como DQO y como DBO<sub>5</sub>, respectivamente, fue posible remover 49 y 83.8% en el RBR alimentado con nejayote; 80 y 92% para el que se operó con vinazas; y 59.4 y 75% para el que trató aguas blancas. Lo anterior concuerda con lo esperado en función de las relaciones DBO<sub>5</sub>/DQOs obtenidas para las vinazas (0.4563), el nejayote (0.3880) y las aguas blancas (0.3100) (figura 9). Las concentraciones de protozoarios y micrometazoarios registradas para cada uno de los RBRs (por cámara y total) guardan una estrecha proporción (tabla 24), como se verá más adelante, con esta razón DBO<sub>5</sub>/DQO.

Cabe hacer mención que, en términos generales, el 70 y 85% de la remoción total, medida como DQO y como DBO<sub>5</sub> respectivamente, realizada en los RBRs (para los tres tipos de aguas residuales), ocurrió en las primeras cinco etapas (figura 9). En consecuencia, es factible, a partir del uso de RBRs como los aquí empleados, disminuir el tiempo requerido para depurar el agua contaminada, vía RBRs de menos etapas. También sería posible tratar aguas residuales con concentraciones de materia orgánica superiores a 2,000 mg/L como DQO y 580 mg/L como DBO<sub>5</sub>, a tiempos de residencia hidráulicos iguales o mayores, sin detrimento en el grado de remoción alcanzado. Conviene enfatizar que los valores de DBO<sub>5</sub> solamente representan una porción del material orgánico disuelto (el biodegradable) en un determinado intervalo de tiempo. Por lo tanto, sólo constituyen una porción de la totalidad del material oxidable químicamente (medido como DQO).

### V.3 Análisis de la diversidad y abundancia de microorganismos y su relación con algunos parámetros abióticos

De acuerdo con los registros de pH a lo largo del proceso depurativo en los tres experimentos realizados, se puede afirmar que, en general, esos valores (6.4 a 8.4 unidades) no representan

un factor limitante para la proliferación de ciliados (tablas 6, 11 y 16). Reflejo de lo anterior es la alta densidad poblacional de protozoarios y micrometazoarios registrada en las cámaras iniciales de los RBRs (figuras 9 y 10).

En cuanto a los niveles de aerobiosis del sistema, se puede decir que, para los RBRs alimentados con nejayote y con vinazas, 8 de las 10 cámaras presentaron de manera permanente concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 2 mg/L, lo cual no impidió la presencia de microorganismos tróficamente activos en las etapas iniciales (figura 10). Una situación similar se presentó en el RBR alimentado con aguas blancas, excepto que en éste la totalidad de las cámaras permaneció en concentraciones superiores a 2 mg/L. Cabe resaltar que gran parte de los microorganismos presentes en plantas depuradoras, incluidas las de discos biológicos rotatorios, han sido registrados como de tipo facultativo (bacterias principalmente) o bien que toleran bajas concentraciones de oxígeno disuelto durante intervalos de tiempo variables (protozoarios y micrometazoarios) (Bick, 1971, 1972; Burdon y Williams, 1985; Fenchel, 1987; Sládeček, 1973).

Tomando los valores de  $DBO_5$  removidos en las 10 etapas de cada uno de los RBRs y la abundancia total de protozoarios y micrometazoarios por mililitro estimada para cada uno de ellos, se observa lo siguiente: Para el caso del nejayote, se removieron aproximadamente 490 mg/L y se presentó una concentración de microorganismos de 10,771 ind/mL; en esa misma secuencia, pero empleando vinazas, los valores fueron 590 mg/L y 30,767 ind/mL y por último, cuando se usaron aguas blancas, dichos valores fueron de 90 mg/L y 2,722 ind/mL. De acuerdo con lo anterior, se puede decir que, bajo las condiciones experimentales establecidas, la mayor eliminación de  $DBO_5$  ocurre en donde existe mayor abundancia de microorganismos, los cuales inciden directa o indirectamente en su abatimiento.

Por otra parte, considerando de manera conjunta los valores de DQO y  $DBO_5$ , se observa que, en los tres casos experimentales, existe una clara tendencia a disminuir sus concentraciones conforme el líquido avanza hacia las últimas cámaras de los reactores, presentando en las primeras cinco etapas un alto porcentaje de remoción que disminuye con comportamiento asintótico, en la porción final de los mismos (figura 9). Al relacionar estos resultados con los registros de abundancia total por etapa, empleando diferentes substratos (figura 10, tabla 24), es posible inferir, aunque sea parcialmente, por qué hay mayor abundancia de microorganismos en la parte media del reactor con respecto a sus últimas cámaras.

En parte la situación anterior se debe a la existencia de concentraciones de material orgánico disponible mayores en las primeras etapas, lo que constituye, en primera instancia, el alimento fundamental de los microorganismos saprófagos, principalmente bacterias (consumidores directos), las cuales a su vez servirán de alimento a aquellos organismos denominados bacterívoros (consumidores indirectos), entre los que se tardan

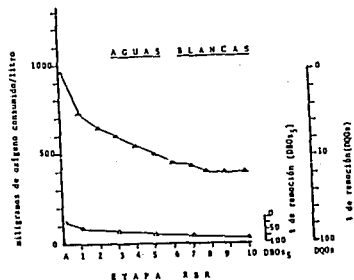
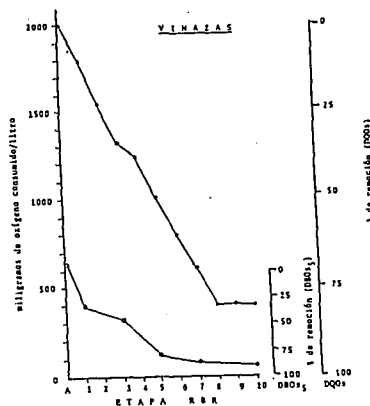
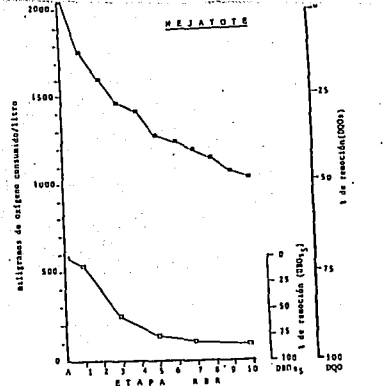


Figura 9. Concentración de material orgánico disuelto, medido como demanda química (símbolos oscuros) y bioquímica (símbolos blancos) de oxígeno de las diferentes cámaras del RBR en fase de régimen pseudopermanente, empleando nejayote (■ □); vinazas (●, ○) y aguas blancas (▲, △) como substrato

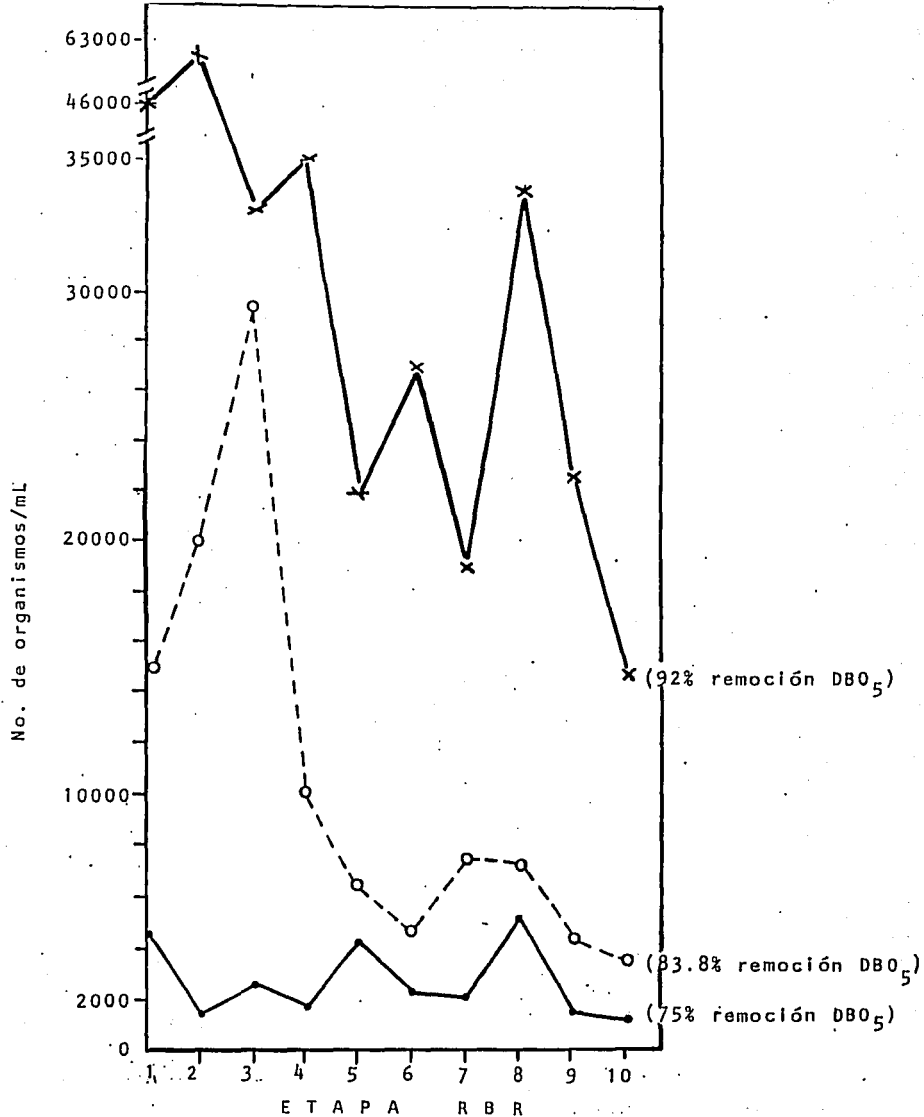


Figura 10. Distribución y abundancia de microorganismos totales (protozoarios y micrometazoarios) registrados a lo largo del RBR, alimentados con: nejajote (o); vinazas (x) y aguas blancas (●).



encuentran los protozoarios y micrometazoarios. Estos últimos mayor tiempo en presentarse tróficamente activos, y tienen una tasa de crecimiento y reproducción menor que la de las bacterias, así como menor tolerancia a fluctuaciones ambientales. De aquí que al iniciarse la depuración en la primera cámara de los RBRs, en donde se presentan fenómenos de amortiguamiento de los valores de pH, incremento de oxígeno en solución y alta tonicidad de medio (concentración de materia orgánica e inorgánica), la abundancia de protozoarios y micrometazoarios sea menor que en las etapas inmediatas posteriores. Por consiguiente, dada la fuerte tensión ambiental, sólo se presentarán especies con mayor intervalo de tolerancia a cambios ambientales (euribiontes) y cuya adecuación fisiológica les permita manifestarse primero de manera trófica y después reproductiva, lo cual se ilustró con anterioridad (figura 3).

En la etapas intermedias del RBR, al ser menos agresivas para aquellas especies de protozoarios y micrometazoarios que habían permanecido latentes y contener suficiente alimento disponible de manera directa (materia orgánica) e indirecta (bacterias), permite su alta proliferación. La aparición de dichos microorganismos presenta en términos globales una marcada secuencia. Después de que las bacterias se han establecido es posible que otros microorganismos, como los flagelados, proliferen. Posteriormente, se presentan los ciliados y las amibas y por último los nemátodos y los rotíferos, estableciendo así diferentes cadenas tróficas. Cabe hacer mención que la secuencia descrita anteriormente no lleva intrínseca la exclusión de grupos microbianos, ya que pueden estar interaccionando en un mismo volumen de agua, sino más bien la predominancia de los mismos, bajo determinadas condiciones, siendo en consecuencia más abundantes unos que otros según la variable ambiental de que se trate. En el caso particular de la variable concentración de materia orgánica, los flagelados se presentan con mayor abundancia que los ciliados, cuando la concentración es alta, mientras que los rotíferos abundan más cuando es baja. Los microorganismos restantes, se presentan de manera general con mayor abundancia en etapas de concentración media.

**Tabla 24. Resumen del número total de microorganismos contados por cada etapa de los RBRs empleando diferentes aguas residuales como substrato**

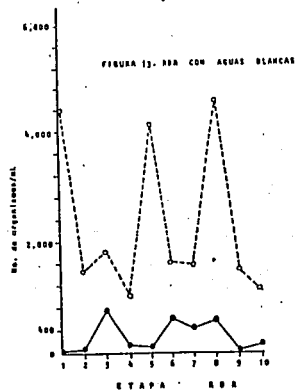
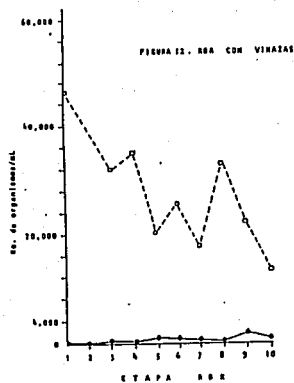
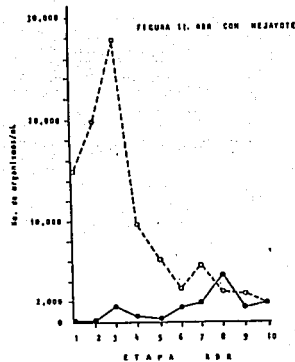
-----											
TOTAL DE PROTOZOARIOS Y MICROMETAZOARIOS											
POR CADA ETAPA DEL R B R											
AGUA											
RESIDUAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TOTAL
-----											
NEJAYOTE	1501	1986	2931	998	639	450	739	758	415	354	10771
-----											
VINAZAS	4605	6274	3212	3449	2024	2540	1787	3324	2204	1348	30767
-----											
AGUAS											
BLANCAS	455	154	262	189	424	226	209	513	156	134	2722
-----											

De acuerdo con las figuras 11 a 13, la distribución de protozoarios abarca toda las cámaras de los tres RBRs, lo cual no ocurre con los micrometazoarios ya que estos se encuentran ausentes, al menos en los RBRs con nejayote y con vinazas, al inicio del proceso depurativo. La amplia distribución que presentan los protozoarios permite que se les considere como un grupo de alto interés para la caracterización y evaluación biológica en este tipo de sistemas, a partir de la composición que de sus comunidades se presente. En todos los registros de abundancia realizados en las 10 cámaras empleando diferentes tipos de substratos (aguas residuales), la abundancia de protozoarios siempre fue superior a la de micrometazoarios, tendiendo a ser menor la diferencia en densidades al final del proceso, lo cual es un indicio de estabilidad en la estructura comunitaria y de un sistema o cuerpo de agua más estable y menos contaminado. Es decir, que a medida que existan en un cuerpo de agua más grupos de organismos representados y que sus abundancias por grupo sean más homogéneas, el grado de contaminación por materia orgánica biodegradable será menor y viceversa. Esto concuerda con los estudios realizados en 1954 por Patrick et al. (en Cairns et al., 1972) los cuales se comentaron anteriormente (figuras 2 y 3).

Lo anteriormente descrito, puede aplicarse para comparar de manera global la totalidad, por grupo de microorganismos, de cada reactor entre sí. Dichos porcentajes totales por grupo son el resultado de la suma de organismos contados en las 10 cámaras de cada uno de los RBRs alimentados con diferente agua residual (figura 12). De acuerdo con esos valores, las tres aguas presentaron un comportamiento similar, en el cual predominaron los grupos de flagelados y ciliados, manteniéndose como minoría los nemátodos y rotíferos. De esta composición estructural, puede inferirse que, no obstante los porcentajes de remoción logrados en los tres RBRs, es factible alcanzar una mayor depuración biológica. Esto podría realizarse a partir del manejo adecuado de las comunidades microbianas involucradas. El límite máximo de depuración biológica posible de ser alcanzado, está dado en función de la obtención de una mayor homogeneidad poblacional por grupo de microorganismos.

Subdividiendo la cuenta de microorganismos, efectuada para cada uno de los experimentos, en protozoarios (ciliados, flagelados y amibas) y en micrometazoarios (nemátodos y rotíferos) (tabla 25, figura 14), se aprecia que el grupo de los flagelados fue el más abundante, tanto en vinazas como en aguas blancas, mientras que el de los ciliados lo fue para el nejayote. Las amibas presentaron su mayor abundancia en el RBR alimentado con vinazas. Respecto a los nemátodos, éstos se presentaron en mayor número durante el proceso depurativo de las aguas blancas, en tanto que los rotíferos lo fueron para el nejayote.

En las figuras 15, 16 y 17, se observa que las comunidades de micrometazoarios y protozoarios subdivididas las primeras en rotíferos y nemátodos y las segundas en flagelados ciliados y amibas, presentan abundancias oscilatorias descendentes a todo lo



Figuras 11, 12 y 13. Distribución y abundancia de protozoarios (O--O) y micrometazoarios (●--●) a lo largo del RBR alimentado con nejayote, vinazas y aguas blancas, respectivamente

largo de los RBRs, con una clara tendencia a homogeneizar sus abundancias hacia el final del proceso, que es justamente donde el agua tratada presenta menor contaminación orgánica, confirmando lo propuesto por Patrick *et al.*, 1954 (en Cairns *et al.*, 1972). De aquí que sea posible estimar de manera cualitativa la calidad saprobia del agua y/o conocer cuando una muestra está más o menos contaminada respecto de otra de procedencia similar (tomada de un mismo sistema de tratamiento a diferentes tiempos o de manera simultánea de etapas secuenciales de un mismo sistema) a partir del conocimiento de las abundancias a nivel de grupos microbianos de fácil reconocimiento.

**Tabla 25. Porcentajes relativos, por grupos de organismos, presentes en los RBRs alimentados con diferentes aguas residuales**

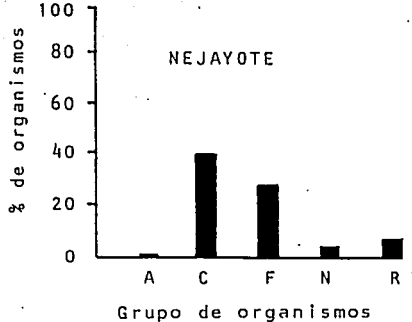
MICROORGANISMO (%)	A G U A S R E S I D U A L E S		
	NEJAYOTE	VINAZAS	AGUAS BLANCAS
Ciliados	58.3	39.6	41.8
Flagelados	29.2	55.3	46.6
Amibas	0.1	2.7	0.0
Nemátodos	3.8	1.8	9.1
Rotíferos	8.6	0.6	2.5
T O T A L	100.00	100.00	100.00

A continuación, dado el interés particular que existe en el grupo de los protozoarios ciliados, sobre todo como posibles organismos útiles en la evaluación de la calidad del agua, se analizará su diversidad y abundancia con respecto de la depuración de las aguas residuales en los RBRs.

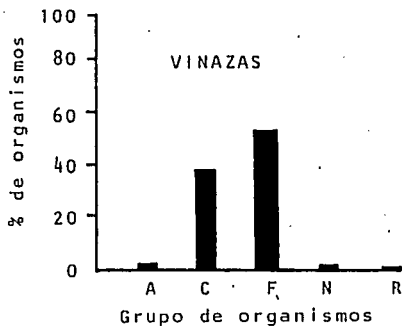
En términos generales puede decirse que el grupo de los ciliados es el que presenta mayor abundancia por unidad de volumen cuando el RBR opera con vinazas como substrato (12,503 ind/mL); posteriormente, con nejayote (6279 ind/mL) y, por último, con aguas blancas (1,138 ind/mL) (tablas 8, 13 y 18). Lo anterior podría interpretarse, si se considera al RBR como unidad, que es en la experimentación con vinazas donde existen mejores condiciones para la proliferación de los ciliados, después lo es el nejayote y en último término, las aguas blancas. La cantidad de ciliados observada en cada agua residual guarda una estrecha relación (en cuanto a proporcionalidad se refiere), con la concentración de material orgánico biodegradable disponible y consumido, medido como DBO<sub>5</sub> (mgO<sub>2</sub>/L), en cada tipo de agua residual. Para las vinazas es de 640 y 590; para el nejayote de 585 y 490 y para las aguas blancas de 120 y 90, respectivamente.

Por otra parte, al transformar los resultados de la cuenta a

Número total  
de individuos  
= 10 771



Número total  
de individuos  
= 31 452



A= Amibas  
C= Ciliados  
F= Flagelados  
N= Nemátodos  
R= Rotíferos

Número total  
de individuos  
= 2 722

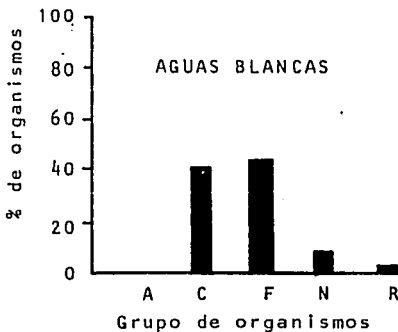


Figura 14. Porcentajes relativos de protozoarios (amibas, ciliados, flagelados), nemátodos y rotíferos en cada RBR alimentado con diferente agua residual

porcentajes relativos, se observa que para los ciliados, el mayor porcentaje se presenta cuando se emplea nejayote (58.3%), después con aguas blancas (41.8%) y por último con vinazas (39.6%) (figura 14). Lo anterior implica que, no obstante, el mayor soporte poblacional que tienen las vinazas, la abundancia relativa que se presenta de los ciliados es menor. En consecuencia, a partir del análisis de los porcentajes relativos de los ciliados, no es posible inferir la concentración de material biodegradable presente en una determinada agua residual, lo cual sí puede ser cuando se considera a la totalidad de protozoarios y micrometazoarios presentes.

Para la aplicación de los porcentajes relativos debe tomarse en cuenta la totalidad de los grupos microbianos involucrados. De esta manera, es viable inferir cualitativamente, qué tan contaminado está un cuerpo de agua respecto de otro que se encuentre en circunstancias similares, correspondiendo al menos contaminado la mayor riqueza de especies con porcentajes poblacionales relativos más similares y al más contaminado una relación inversa. Este punto de vista será retomado más adelante. Con el ejemplo anterior, se hace evidente la necesidad de considerar ambas formas de presentar los resultados con objeto de realizar el correcto análisis e interpretación de la información obtenida, ya que de hacerlo de una sola manera se corre el riesgo de incurrir en graves errores.

Dividiendo a los protozoarios ciliados en dos grupos: ciliados pedunculados y ciliados libres nadadores, es posible notar que ambos se distribuyen a lo largo de todas las cámaras de los RBRs, presentando abundancias variables pero con tendencia a disminuir al final del proceso depurativo. En el caso del RBR alimentado con nejayote, predominan los de tipo libre nadador sobre los pedunculados (tablas 7 y 10 y figura 18), mientras que en los experimentos tanto con vinazas (tablas 12 y 15 y figura 19), como con aguas blancas (tablas 17 y 20 y figura 20), el predominio correspondió a los ciliados pedunculados.

La predominancia del grupo de ciliados pedunculados, puede ser explicada parcialmente, en términos de la energía metabólica empleada para la obtención de alimento. En este sentido, puede decirse que estos microorganismos al no tener que desplazarse para conseguirlo, gastan menos energía, lo que en consecuencia los hace altamente competitivos en ambientes en donde no hay excesiva abundancia de alimento. Tal es el caso de las etapas finales de los RBRs en donde la depuración es mayor.

Respecto al número de especies de protozoarios ciliados, éste fue mayor en el RBR alimentado con vinazas, siendo aproximadamente la mitad de su abundancia la encontrada en el RBR alimentado con nejayote y la décima parte la encontrada cuando se alimentaron aguas blancas (tablas 10, 15 y 20). Lo anterior, en parte pudiera deberse a la disponibilidad de alimento presente en cada tipo de agua residual, la cual como se mencionó anteriormente, es relativamente mayor para las vinazas, luego para el nejayote y por último para las aguas blancas.

De acuerdo con la tabla 26, el ciliado que se presentó con mayor abundancia durante la experimentación con nejayote y aguas blancas, fue Cyclidium glaucoma (53.89% y 15.29%, respectivamente), mientras que cuando se alimentaron vinazas, fue Vorticella striata (51.23%). Como información complementaria puede mencionarse que, tanto en el caso de las vinazas como de las aguas blancas, se presentaron de manera abundante formas móviles de peritrico, las cuales se contaron de manera global, debido a la gran dificultad que existe para distinguir las posibles diferentes especies presentes. Dichas formas móviles se presentan con mayor frecuencia como respuesta a condiciones ambientales poco propicias para su establecimiento como colonias o como individuos solitarios pedunculados.

**Tabla 26. Porcentajes relativos de los protozoarios ciliados registrados en los RBRs alimentados con diferentes aguas residuales**

MICROORGANISMO	NEJAYOTE	VINAZAS	AGUAS BLANCAS
<b>Libres nadadores:</b>			
<u>Colpidium campylum</u>	2.18	0.00	0.00
<u>Colpidium colpidium</u>	4.89	0.00	0.00
<u>Colpidium colpoda</u>	0.00	0.37	0.00
<u>Cyclidium glaucoma</u>	53.89	2.01	15.29
<u>Dexiotricha plaqia</u>	0.00	0.00	4.04
<u>Glaucoma scintillans</u>	0.14	0.00	0.00
<u>Litonotus lamella</u>	0.00	24.24	0.62
<u>Paramecium aurelia</u>	1.22	2.65	9.66
<u>Paramecium caudatum</u>	0.00	1.16	5.27
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	4.08	0.00	0.00
<u>Aspidisca cicada</u>	0.00	0.00	7.38
<u>Oxytricha fallax</u>	0.00	0.57	1.67
Subtotal	66.40	31.00	49.93
<b>Pedunculados:</b>			
<u>Epistylis plicatilis</u>	4.62	0.78	0.00
<u>Opercularia coarctata</u>	4.51	0.00	0.00
<u>Opercularia microdiscum</u>	2.37	0.00	0.88
<u>Podophrya fixa</u>	1.11	0.23	2.55
<u>Vorticella campanula</u>	20.83	0.00	0.00
<u>Vorticella striata</u>	0.00	51.23	4.31
Formas móviles de peritrico	0.16	16.76	38.35
Subtotal	33.60	69.00	56.07
T O T A L (100%)	100.00	100.00	100.00

Por otra parte, considerando que a partir del cálculo numérico del índice de diversidad de Shannon y Wiener (H), es posible conocer la magnitud de orden o desorden de un sistema, éste se aplicará a los resultados obtenidos de la cuenta de ciliados, con objeto de asociarlo con el grado de contaminación presente en el cuerpo de agua de donde fueron extraídas las muestras.

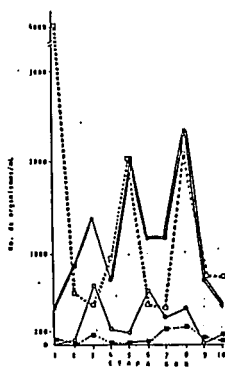
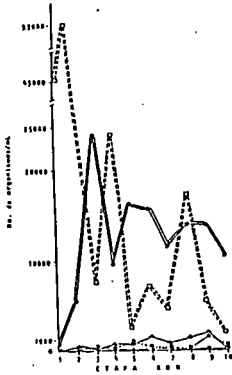
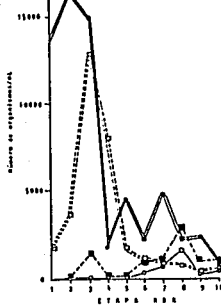
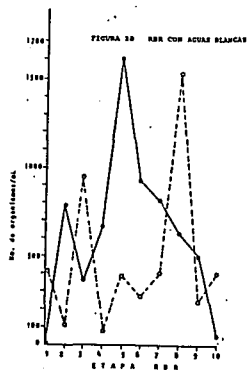
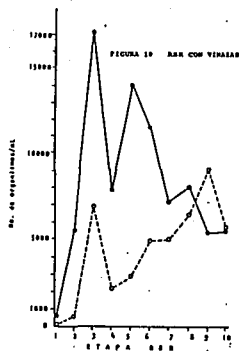
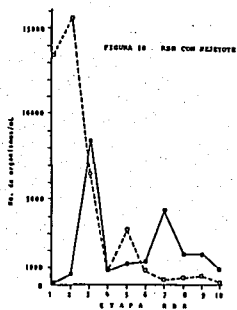


Figura 15, 16 y 17. Distribución y abundancia de: Flagelados (□====□); Ciliados (●====●); Amibas (▲——▲); Rotíferos (■-----■) y Nemátodos (O——O) en las diferentes etapas del RBR, alimentado con nejayote, vinazas y aguas blancas, respectivamente





Figuras 18, 19 y 20. Distribución y abundancia de protozoarios ciliados libres (---o---) y pedunculados (---●---) a lo largo del RBR alimentado con nejayote, vinazas y aguas blancas, respectivamente

Cabe mencionar que el valor de H, relaciona tanto el número de especies presente en una comunidad, como la abundancia relativa de las mismas. De manera complementaria, debe considerarse que la diversidad o heterogeneidad de una comunidad será mayor cuando existan mayor número de especies (riqueza) y que dichas especies sean igualmente abundantes (homogeneidad).

Numéricamente el valor del índice (H), es directamente proporcional a la diversidad de la comunidad a la que le fue aplicado. De acuerdo con los cálculos realizados del índice de diversidad (tablas 27, 28 y 29), en el experimento realizado con nejayote, se obtiene un valor de  $H=2.1722$ ; con vinazas de  $H=1.8267$  y para aguas blancas de  $H=3.0602$ . En consecuencia la mayor diversidad de ciliados se encuentra en el RBR alimentado con las aguas blancas y la menor con el alimentado con vinazas.

Otra forma de analizar los resultados obtenidos de la cuenta de ciliados, para cada tipo de agua residual, es a partir del empleo del valor de equidad (E). Cabe recordar que el valor numérico de E, puede considerarse como directamente proporcional al grado de depuración del agua en la que se presentó dicha comunidad. Los valores obtenidos en los experimentos realizados son, para nejayote de  $E=0.6059$ , para vinazas de  $E=0.5499$  y para aguas blancas de  $E=0.8846$ . Por lo tanto, puede decirse que en el RBR alimentado con aguas blancas, la homogeneidad de la comunidad de ciliados fue mayor que en los alimentados con nejayote y vinazas, lo que a su vez confirma numéricamente que el grado de depuración logrado en los RBRs (considerado cada uno de ellos de manera global) está estrechamente asociado con la comunidad que en él prolifera. Es decir, que la diversidad es superior en medios acuáticos con menor concentración de contaminantes orgánicos disueltos.

Tabla 27. Datos requeridos para la obtención del índice de diversidad (H) de Shannon y Wiener, para la comunidad de protozoarios ciliados presente en el RBR alimentado con nejayote

C I L I A D O	No. total	$P_i$	$-P_i(\log_{10} P_i)$
<u>Colpidium campylum</u>	137	0.0219	0.0362
<u>Colpidium colpidium</u>	307	0.0491	0.0642
<u>Cyclidium glaucoma</u>	3384	0.5398	0.1445
<u>Glaucoma scintillans</u>	9	0.0014	0.0041
<u>Paramecium aurelia</u>	76	0.0121	0.0232
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	256	0.0408	0.0567
<u>Epistylis plicatilis</u>	290	0.0463	0.0618
<u>Opercularia coarctata</u>	283	0.0453	0.0607
<u>Opercularia microdiscum</u>	149	0.0238	0.0386
<u>Podophrya fixa</u>	70	0.0112	0.0218
<u>Vorticella campanula</u>	1308	0.2086	0.1420
T O T A L	6269	1.0	0.6539

Para los experimentos con nejayote  $H=2.1722$

Tabla 28. Datos requeridos para la obtención del índice de diversidad (H) de Shannon y Wiener, para la comunidad de protozoarios ciliados presente en el RBR alimentado con vinazas

C I L I A D O	No. total	$P_i$	$-P_i(\log_{10} P_i)$
<u>Colpidium colpoda</u>	44	0.0044	0.0104
<u>Cyclidium glaucoma</u>	242	0.0241	0.0390
<u>Litonotus lamella</u>	2915	0.2912	0.1560
<u>Paramecium aurelia</u>	319	0.0318	0.0476
<u>Paramecium caudatum</u>	139	0.0138	0.0224
<u>Oxytricha fallax</u>	69	0.0069	0.1187
<u>Epistylis plicatilis</u>	94	0.0094	0.0190
<u>Vorticella striata</u>	6160	0.6154	0.1297
<u>Podophrya fixa</u>	28	0.0028	0.0071
T O T A L	10010	1.0	0.5499

Con vinazas  $H=1.8267$

Tabla 29. Datos requeridos para la obtención del índice de diversidad (H) de Shannon y Wiener, para la comunidad de protozoarios ciliados presente en el RBR alimentado con aguas blancas

C I L I A D O	No. total	$P_i$	$P_i(\log_{10} P_i)$
<u>Cyclidium glaucoma</u>	174	0.2384	0.1484
<u>Dexiotricha plagia</u>	46	0.0630	0.0756
<u>Litonotus lamella</u>	7	0.0096	0.0194
<u>Paramecium aurelia</u>	110	0.1507	0.1239
<u>Paramecium caudatum</u>	60	0.0822	0.0892
<u>Aspidisca cicada</u>	84	0.1551	0.1255
<u>Oxytricha fallax</u>	19	0.0260	0.0412
<u>Opercularia microdiscum</u>	10	0.0136	0.0254
<u>Vorticella convallaria</u>	142	0.1945	0.1383
<u>Vorticella striata</u>	49	0.0671	0.0787
<u>Podophrya fixa</u>	29	0.0397	0.0556
T O T A L	730	1.0	0.9212

Con aguas blancas  $H=3.0602$

Nota:

Para convertir los datos de  $\log_{10}$  a  $\log_2$  basta con multiplicar por el factor 3.321928095. A partir de la anterior conversión es como se obtiene el valor final de la H

$P_i$  = proporción total de la muestra que corresponde a la especie i

Como se mencionaba en el inciso III.4.2 de materiales y métodos, para el cálculo de la igualdad o equidad (E) de la comunidad de ciliados presentes en los RBRs alimentados con diferentes aguas residuales, se aplica la siguiente fórmula:

$$E = \frac{H}{H_{\text{máx}}}$$

Donde:

E= Igualdad o equitatividad (0 a 1)

H= Diversidad de especies observada

$H_{\text{máx}}$  = Diversidad de especies máxima  
 =  $\log_2 S$

S= Número total de especies

Para los experimentos con nejayote (12 especies), vinazas (9 especies) y aguas blancas (11 especies), los valores de  $H_{\text{máx}}$  respectivos son: 3.585; 3.1699 y 3.459.

En consecuencia, la equidad o igualdad presente en cada una es:

$$\text{Nejayote } E = \frac{2.1722}{3.5849} = 0.6059$$

$$\text{Vinazas } E = \frac{1.8267}{3.1699} = 0.5762$$

$$\text{Aguas blancas } E = \frac{3.0602}{3.4594} = 0.8846$$

A continuación se dan los valores de  $H_{\text{máx}}$  o diversidad máxima de especies que son susceptibles de ser encontradas, como integrantes de las comunidades de ciliados presentes en cada uno de los RBRs, según el agua residual alimentada. Con nejayote (12 especies),  $H_{\text{máx}} = 3.5849$ ; con vinazas (9 especies),  $H_{\text{máx}} = 3.1699$  y con aguas blancas (11 especies),  $H_{\text{máx}} = 3.4594$ . Al comparar estos valores con los de la diversidad encontrada en el RBR con nejayote,  $H = 2.11722$ ; con vinazas  $H = 1.8267$  y con aguas blancas,  $H = 3.0602$ , es posible conocer la proporción o porcentaje de especies de la comunidad potencial es la que se encuentra de

manera real en cada uno de los sistemas de tratamiento. En el caso del RBR con nejayote, esta proporción fue de aproximadamente el 61%; con vinazas de 58% y con aguas blancas de 88%. De lo anterior pueden inferirse dos posibilidades. La primera, que la comunidad real de ciliados se manifiesta de manera más cercana a la que potencialmente pudiera desarrollarse para el caso de las aguas blancas, después para el nejayote y, por último, para las vinazas. En otras palabras, es en las vinazas en donde pueden llegar a encontrarse o nuevas especies de ciliados o bien desarrollarse algunos de los ya detectados en los otros reactores alimentados con diferente agua residual. La segunda es que en las vinazas, es donde existen más limitantes para la proliferación de mayor número de especies de ciliados, segundo por el nejayote y, finalmente, por las aguas blancas.

Por otra parte, los intervalos de distribución de los organismos dentro del sistema de tratamiento, permiten dar una idea clara de la función que desempeñan, pudiendo ser consideradas dos alternativas. La primera, si el organismo en cuestión presenta una distribución amplia, puede considerarse como de tipo "eurisapobio" (del griego Euri= amplio y Sapros= podrido), es decir, que tolera amplios intervalos de concentración de material orgánico factible de descomponerse biológicamente. En este caso dichos organismos son importantes desde el punto de vista de depuración, ya que permanecen tróficamente activos durante más tiempo, lo cual redunda en la obtención de líquidos tratados de mejor calidad al realizar, tanto el consumo directo de bacterias suspendidas como procesos de mineralización de material orgánico biodegradable. La segunda alternativa es que el organismo en cuestión presente una distribución limitada, en cuyo caso será estenosaprobio (del griego Stenos= estrecho y Sapros= podrido), lo cual permite emplearlos como organismos indicadores de calidad de agua en cuanto a concentración de material orgánico disuelto, preferentemente de aquél cuantificable bioquímicamente (DBO<sub>5</sub>).

Para el caso específico de la distribución de los protozoarios ciliados dentro de los RBRs alimentados con diferentes aguas residuales, se tiene lo siguiente:

En el RBR alimentado con nejayote, solamente tres especies (Colpidium campyllum; C. colpidium y Glaucoma scintillans) presentaron una distribución relativamente estrecha, entre la cámara uno y la tres, mientras que las especies restantes lo hicieron abarcando casi la totalidad de las etapas del reactor (tabla 30). En consecuencia solamente estas tres especies resultarían útiles para ser empleadas como especies indicadoras de sprobiedad y las restantes como depuradoras. En el caso del RBR alimentado con vinazas, únicamente se observaron dos especies (Colpidium colpoda y Podophrya fixa) distribuidas con menor amplitud, entre la cámara 1 a 5, por lo que solo ellas podrían usarse como especies indicadoras (tabla 31). Por último, cuando el RBR fue alimentado con aguas blancas, también se encontraron dos especies con poca distribución. La primera (Litonotus lamella) entre las cámaras 8 a 10 y la segunda (Vorticella striata) entre las cámaras 2 a 4 (tabla 32).

Tabla 30. Distribución y abundancia\* de protozoarios ciliados a lo largo del reactor biológico rotatorio alimentado con nejayote y algunos parámetros ambientales.  
 \* El área de cada cuadro en blanco equivale a 12,000 organismos/mL.

E T A P A R B R

CILIA DO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<u>Colpidium campylum</u>	■	■	■							
<u>Colpidium colpidium</u>	■	■	■							
<u>Cyclidium glaucoma</u>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
<u>Glaucoma scintillans</u>										
<u>Paramecium aurelia</u>		■	■	■	■		■	■	■	
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	■	■	■		■	■				■
<u>Oxytricha fallax</u>										
<u>Epistylis plicatilis</u>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
<u>Opercularia coarctata</u>		■	■	■	■	■	■	■	■	■
<u>Opercularia microdiscum</u>		■	■	■	■		■	■	■	■
<u>Vorticella campanula</u>		■	■	■	■	■	■	■	■	■
Formas móviles de peritrico.										
<u>Podophrya fixa</u>		■	■	■	■	■	■	■		
Oxígeno disuelto (mg/L)	0.35 ±0.29	1.36 ±0.49	2.48 ±0.24	3.17 ±0.28	5.08 ±0.51	5.06 ±0.66	5.51 ±0.39	5.70 ±0.40	5.41 ±0.18	6.00 ±0.16
Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)	535 ±10	---	255 ±20	---	140 ±10	---	110 ±5	---	---	95 ±5
Demanda química de oxígeno (mg/L)	1760 ±130	1600 ±100	1470 ±80	1420 ±90	1290 ±50	1250 ±30	1200 ±20	1160 ±40	1080 ±60	1040 ±100

Tabla 30. Distribución y abundancia\* de protozoarios ciliados a lo largo del reactor biológico rotatorio alimentado con nejayote y algunos parámetros ambientales.

\* El área de cada cuadro en blanco equivale a 12,000 organismos/mL.

ET A P A R B R

C I L I A D O	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Colpidium campylum</i>	■	■	■							
<i>Colpidium colpidium</i>	■	■	■							
<i>Cyclidium glaucoma</i>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
<i>Glaucoma scintillans</i>										
<i>Paramecium aurelia</i>		■	■	■	■		■	■	■	
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	■	■	■		■	■				■
<i>Oxytricha fallax</i>										
<i>Edistylis plicatilis</i>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
<i>Opercularia coarctata</i>		■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Opercularia microdiscum</i>		■	■	■	■		■	■	■	■
<i>Vorticella campanula</i>		■	■	■	■	■	■	■	■	■
Formas móviles de peritrico.										
<i>Podophrya fixa</i>		■	■	■	■	■	■	■		
Oxígeno disuelto (mg/L)	0.35 ±0.29	1.36 ±0.49	2.48 ±0.24	3.17 ±0.28	5.08 ±0.51	5.06 ±0.66	5.51 ±0.39	5.70 ±0.40	5.41 ±0.18	6.00 ±0.16
Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)	535 ±10	---	255 ±20	---	140 ±10	---	110 ±5	---	---	95 ±5
Demanda química de oxígeno (mg/L)	1760 ±130	1600 ±100	1470 ±80	1420 ±90	1290 ±50	1250 ±30	1200 ±20	1160 ±40	1080 ±60	1040 ±100

Tabla 31. Distribución y abundancia\* de protozoarios ciliados a lo largo del reactor biológico rotatorio alimentado con vinazas y algunos parámetros ambientales.

\* El área de cada cuadro en blanco equivale a 12,000 organismos/mL.

E T A P A R B R .

C I L I A D O	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Colpidium colpoda</i>					■					■
<i>Cyclidium glaucoma</i>			■	■		■	■	■	■	
<i>Littonotus lamella</i>		■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Paramecium aurella</i>		■	■	■						
<i>Paramecium caudatum</i>					■	■				■
<i>Oxytricha fallax</i>			■	■		■				
<i>Epistylis plicatilis</i>		■		■				■		■
<i>Opercularia coarctata</i>										
<i>Vorticella striata</i>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Formas móviles de peritrico		■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Podophrya fixa</i>					■					■
Oxígeno disuelto (mg/L)	0.35 ±0.29	1.16 ±0.49	2.48 ±0.24	3.17 ±0.28	5.08 ±0.51	5.06 ±0.66	5.51 ±0.39	5.70 ±0.40	5.41 ±0.18	6.00 ±0.16
Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)	400 ± 40	---	320 ± 30	---	120 ± 10	---	80 ±10	---	---	50 ± 5
Demanda química de oxígeno (mg/L)	1750 ±30	1580 ±20	1310 ±10	1230 ±40	1000 ±10	790 ±20	610 ±20	400 ±20	400 ±10	400 ±10



Tabla 32. Distribución y abundancia\* de protozoarios ciliados a lo largo del reactor biológico rotatorio alimentado con aguas blancas y algunos parámetros ambientales.

\* El área de cada cuadro en blanco equivale a 1,200 organismos/mL.

ET A P A R B R

CILIA DO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Cyclidium glaucoma</i>	■		■		■		■	■	■	■
<i>Dexiotricha plagia</i>	■	■	■	■		■	■	■	■	
<i>Litonotus lamella</i>								■		■
<i>Paramecium aurelia</i>	■	■	■	■	■	■	■	■		■
<i>Paramecium caudatum</i>	■		■		■	■	■	■	■	■
<i>Aspidisca cicada</i>			■	■	■	■	■	■	■	
<i>Oxytricha fallax</i>	■	■	■		■		■			
<i>Opercularia microdiscum</i>		■							■	
<i>Vorticella convallaria</i>				■	■	■	■	■	■	
<i>Vorticella striata</i>		■	■	■						
Formas móviles de peritrico	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Podophrya fixa</i>		■	■		■	■	■	■	■	■
Oxígeno disuelto (mg/L)	+2.90 ±0.30	+4.35 ±0.40	+4.80 ±0.50	+5.20 ±0.50	+5.20 ±0.50	+5.10 ±0.50	+4.95 ±0.50	+5.20 ±0.50	+5.55 ±0.55	+5.90 ±0.60
Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)	90 ±10	---	65 ±10	---	50 ±10	---	45 ±10	---	---	30 ±5
Demanda química de	+730 50	+650 70	+600 60	+540 30	+500 30	+450 30	+430 10	+400 20	+410 20	+390 20

De acuerdo con la distribución de los ciliados observada en los tres casos experimentales, nejayote, vinazas y aguas blancas, la mayor parte de la comunidad de ciliados puede ser considerada de tipo "eurisaprobios" y solamente algunos cuantos como "estenosaprobios". Un resumen de la distribución de las especies encontradas en el RBR empleando diferentes substratos, puede observarse en la tabla 33. De acuerdo con esa tabla, la amplitud de la distribución de cada especie varía para cada tipo de agua residual, siendo en algunos casos, para la misma especie, amplia y estrecha pudiendo, inclusive, estar ausente.

**Tabla 33. Resumen de la distribución de protozoarios ciliados en el RBR para las tres aguas residuales empleadas**

PROTOZOARIO CILIADO	NUMERO DE ETAPA DEL RBR EN:		
	Nejayote	Vinazas	Aguas blancas
<u>Colpidium campylum</u>	1-3	-	-
<u>Colpidium colpidium</u>	1-3	-	-
<u>Colpidium colpoda</u>	-	5, 9-10	-
<u>Cyclidium glaucoma</u>	1-9	2-10	1, 3-5, 7-10
<u>Dextrotricha plagia</u>	-	-	1-4, 6-10
<u>Glaucoma scintillans</u>	1-3	-	-
<u>Litonotus lamella</u>	-	1-10	8, 10
<u>Paramecium aurelia</u>	1-5, 7-9	2-8	1-8, 10
<u>Paramecium caudatum</u>	-	1-10	1, 3, 5-10
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	1-3, 5-7, 10	-	-
<u>Aspidisca cicada</u>	-	-	3-9
<u>Oxytricha fallax</u>	-	2-4, 6, 9-10	1-3, 5, 7
<u>Epistylis plicatilis</u>	1-4, 6, 9	2-4, 6-10	-
<u>Opercularia coarctata</u>	2-10	-	-
<u>Opercularia microdiscum</u>	2-5, 7-10	-	2, 9
<u>Podophrya fixa</u>	2-8	5, 8-10	2-3, 5-10
<u>Vorticella campanula</u>	2-10	-	-
<u>Vorticella convallaria</u>	-	-	4-10
<u>Vorticella striata</u>	-	1-10	2-3, 5
Formas móviles de peritrico	1-2, 8-9	1-10	2-9

La presencia mayoritaria de especies de ciliados "eurisaprobios", así como la minoría de los considerados como "estenosaprobios" encontrados en los RBRs, puede explicarse si se considera por un lado la naturaleza intrínseca de ambos grupos y por otro que se están manejando aguas residuales en sistemas biológicos depuradores. Lo cual hace que las condiciones ambientales prevalecientes resulten fuertemente selectivas para aquellas comunidades microbianas que se pretendan establecer. De aquí que las especies más ampliamente distribuidas y que desempeñan el papel de organismos depuradores, tengan que adecuarse fisiológicamente, para que puedan desarrollarse y reproducirse. Consecuentemente, aquellas especies de menor capacidad de adecuación sólo podrán presentarse cuando las condiciones ambientales sean estables y propicias para permitir su presencia de manera activa, pudiendo inactivarse de manera inmediata al

haber un cambio ambiental significativo. Por lo tanto, la distribución de los ciliados a lo largo de cada uno de los RBR, puede interpretarse como el resultado visual del ambiente predominante, el cual es producto de las continuas interacciones entre los parámetros bióticos y los abióticos. Es decir que dichas comunidades constituyen el reflejo directo tanto de las condiciones fisicoquímicas del agua en tratamiento (p. ej. concentración de sustrato disponible, oxígeno y temperatura), como de las diferentes interacciones microbianas (intra e interespecificas) que en ella se llevan a cabo.

En la tablas 34, 35 y 36, se pueden apreciar, los intervalos de tolerancia para algunos parámetros ambientales, de las especies de ciliados encontradas en los RBRs, durante la operación de estos con diferentes aguas residuales. Cabe mencionar que dichos intervalos constituyen un punto de referencia para conocer la capacidad que tienen las especies de ciliados presentes, de manifestarse bajo las condiciones experimentales establecidas. Por consiguiente, es de esperar que la tolerancia ambiental a determinados parámetros fisicoquímicos, se vea afectada positiva o negativamente, cuando algún parámetro (biótico o abiótico) sea fuertemente modificado de manera directa o indirecta.

De los parámetros ambientales registrados, el de  $DBO_5$  reviste gran interés debido a que es una prueba que aporta, como se mencionó anteriormente, información valiosa sobre la calidad de agua, en cuanto a contenido de contaminantes orgánicos se refiere, pero que tiene el inconveniente de tardar cinco días para obtener los resultados respectivos.

Por consiguiente, se hace deseable establecer un mecanismo de evaluación que permita inferir la misma información pero empleando menor cantidad de tiempo, lo cual es factible de hacerse a partir del empleo de métodos biológicos de evaluación directa, tal es el caso de lo planteado a lo largo de este trabajo. De aquí que para obtener una correlación entre un determinado intervalo de  $DBO_5$  (lo más estrecho posible) y una especie de ciliado, resulte una alternativa atractiva la de ensayar con los RBRs para el caso de la evaluación de sistemas artificiales de depuración. En consecuencia, a continuación se hará un análisis en este sentido.

Tomando en cuenta que se registraron 12 especies de ciliados distribuidos a lo largo del RBR, cuando éste operaba con nejayote y su intervalo de sprobiedad de acuerdo con el sistema propuesto por Sládecek (1973), la comunidad encontrada corresponde a ambientes beta-alfa-meso-poli-iso-saprobios, con predominio de las especies beta-alfa-mesosaprobias. Sin embargo al observar la equivalencia, en cuanto a intervalo de sprobiedad, registrada a lo largo de las 10 cámaras del RBR, se aprecia que corresponden a intervalos poli-iso-meta-saprobios, con predominio de especies poli-meta-saprobias (tabla 34). En consecuencia, se puede decir que la comunidad en su conjunto, se presenta en el RBR, dentro de dos a tres intervalos de sprobiedad superiores a los que toleraría en ambientes contaminados sin aeración forzada.

Situación similar ocurre con el RBR alimentado con vinazas, en este caso, la comunidad de ciliados, compuesta por nueve especies, corresponde a un ambiente oligo-beta-alfa-meso-poli-iso-saprobio, con predominio de especies beta-alfa-meso-saprobias. De acuerdo con los niveles de saprobiedad medidos en el RBR, dichas especies se desarrollaron en medios poli-iso-saprobios (tabla 35). Por lo tanto la comunidad de ciliados se encuentra, acorde con los datos del sistema saprobio, recorrida dos niveles de saprobiedad por arriba de los que les correspondería.

En cuanto al RBR alimentado con aguas blancas, la comunidad que de los ciliados se presenta es de tipo oligo-beta-alfa-meso-poli-saprobio, es decir de ambientes menos contaminados que los arriba mencionados. En esta ocasión de las 11 especies presentes, existe predominio de las de tipo alfa-meso-saprobias (tabla 36). A pesar de ello, el ambiente registrado en el RBR equivale a uno de tipo poli-saprobio, el cual dentro del sistema saprobio es un nivel superior de contaminación.

Analizando de manera particular aquellos ciliados que presentaron, una distribución más estrecha en los RBRs alimentados con diferentes aguas residuales, se observa lo siguiente:

En el caso del RBR con nejayote, las especies que se detectaron con menores intervalos de distribución y consecuentemente de concentración y que por lo tanto pueden ser indicadores potenciales de saprobiedad, vía de  $DBO_5$ , fueron Colpidium campyllum, Colpidium colpidium y Glaucoma scintillans, las cuales se presentaron dentro del intervalo comprendido entre 255 a 535 mg  $DBO_5/L$  (tabla 34). Dicha concentración corresponde a un ambiente de tipo iso-meta-saprobio. Considerando que dichas especies han sido catalogadas dentro del sistema saprobio como indicadoras de poli-iso-saprobiedad, puede decirse que se encontraron, en el RBR, recorridas entre uno y dos niveles por arriba de lo que les correspondería. Es decir que bajo las condiciones de operación proporcionadas al RBR, estas especies resultan indicadoras pero de intervalos de saprobiedad mayores.

Para el RBR alimentado con vinazas las especies Colpidium copoda y Podophrya fixa fueron las estuvieron presentes con distribución estrecha. El intervalo de concentración en el que se registraron fue entre 50 y 120 mg  $DBO_5/L$  (tabla 35), lo que equivale a ambientes poli-iso-saprobios. En este caso los resultados obtenidos si coinciden con lo estipulado para estas especies en el sistema saprobio.

Por último, para el RBR alimentados con aguas blancas, las especies que se presentaron menor amplitud en su distribución y consecuentemente dentro de intervalos de concentración de  $DBO_5$  menores, fueron Litonotus lamella (30-40 mg/L) y Vorticella striata (65-90) (tabla 36). La primera especie ha sido catalogada como indicadora de ambientes betameso-saprobios, sin embargo se encontró en el RBR como de ambiente poli-saprobio. La segunda

especie, de acuerdo con el sistema saprobio, es indicadora de ambientes oligo-poli-saprobios, lo cual en parte es correcto, dado que se encontró en ambiente poli-saprobio.

En síntesis, de las siete especies de ciliados, que pudieran ser empleadas como indicadores de saprobiidad, solamente cinco se presentaron, tomando como referencia al sistema saprobio, dentro del intervalo registrado para su presencia. Las dos especies que no se incluyen en lo anterior son Litonotus lamella, la cual se presentó por arriba de la concentración esperada y Colpidium colpidium, cuyo nombre no se encuentra dentro del catálogo de especies indicadoras de saprobiidad y, consecuentemente, no se tiene parámetro de comparación.

Por lo tanto puede suponerse que, dentro de cierto margen de restricciones y/o condiciones, es posible aplicar en su totalidad el sistema de organismos indicadores de saprobiidad, a la evaluación de RBRs durante la depuración de aguas contaminadas orgánicamente o bien seleccionar aquellas especies indicadoras que respondan como tales cuando se trabaja en RBRs bajo condiciones particulares de operación.

Tabla 34. Protozoarios ciliados registrados en el RBR y diversos intervalos de tolerancia ambiental durante la fase con nejayote como substrato

PROTOZOARIO CILIADO	I N T E R V A L O D E					
	S*	DBO <sub>5</sub>	S**	DQO	OD	
<u>Colpidium campylum</u>	p-i	255-535	i-m	1470-1760		0.35-2.48
<u>Colpidium colpidium</u>	-	255-535	i-m	1470-1760		0.35-2.48
<u>Cyclidium glaucoma</u>	a	>95-535	p-m	1080-1760		0.35-5.41
<u>Glaucoma scintillans</u>	p-i	255-535	i-m	1470-1760		0.35-2.48
<u>Paramecium aurelia</u>	B-a	>95-535	p-m	1080-1760		0.35-5.41
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	p-i	95-535	p-m	1040-1760		0.35-6.00
<u>Epistylis plicatilis</u>	a	>95-535	p-m	1080-1760		0.35-5.41
<u>Opercularia coarctata</u>	a-p	95-<535	p-m	1040-1600		1.36-6.00
<u>Opercularia microdiscum</u>	a	95-<535	p-m	1040-1600		1.36-6.00
<u>Vorticella campanula</u>	B	95-<535	p-m	1040-1600		1.36-6.00
Formas móviles de peritrico		>95-535		1080-1760		0.35-5.41
<u>Podophrya fixa</u>	p	>95-<535	p-m	1160-1600		1.36-5.70

S\* = Saprobiidad según Sládecek

S\*\* = Saprobiidad de acuerdo con los resultados de este estudio

De manera general, en los tres RBRs, las demás especies de ciliados presentaron una distribución más amplia y, en consecuencia, un mayor intervalo de tolerancia a concentraciones de DBO<sub>5</sub>. Por lo tanto, es posible deducir que en su mayoría las poblaciones que componen las comunidades de ciliados aquí registradas, toleran mayor concentración de materia orgánica cuando se encuentran inmersas en medios acuosos contaminados, pero que están siendo depurados en sistemas artificiales como son los RBRs que, cuando esos mismos medios se dan en sistemas

naturales como ríos o lagos contaminados. Entre las principales diferencias que se perciben a primera vista, está la capacidad de oxigenación posible de lograr en cada uno de ellos, la cual usualmente es menor en el sistema natural que en el artificial.

La oxigenación del agua residual es uno de los principales parámetros ambientales que se modifica directamente al ser introducida a los RBRs. Dicha oxigenación se proporciona por medios mecánicos, a partir de la rotación de los discos, lo que también trae como consecuencia el mezclado homogéneo del agua; la disminución de zonas muertas y el mayor contacto organismo-substrato. Lo anterior en su conjunto, permite que ocurran subsecuentes modificaciones ambientales como son: amortiguamiento del pH, disminución de contaminantes orgánicos y la colonización y sucesión de microorganismos en el medio, entre otras.

**Tabla 35. Protozoarios ciliados observados en el RBR y diversos intervalos de tolerancia ambiental durante la fase experimental empleando vinazas como sustrato**

PROTOZOARIO CILIADO	I N T E R V A L O D E				
	S*	DBO <sub>5</sub>	S**	DQO	OD
<u>Colpidium colpoda</u>	p-i	50-120	p	400-1000	5.08-6.00
<u>Cyclidium glaucoma</u>	A	<50,>400	p-i	400-1580	1.36-6.00
<u>Litonotus lamella</u>	B	50-400	p-i	400-1790	0.35-6.00
<u>Paramecium aurelia</u>	B-a	<50,>400	p-i	400-1580	1.36-6.00
<u>Paramecium caudatum</u>	a	50-400	p-i	400-1790	0.35-6.00
<u>Oxytricha fallax</u>	a	50->400	p-i	400-1580	1.36-6.00
<u>Epistylis plicatilis</u>	a	<50,>400	p-i	400-1580	1.36-6.00
<u>Vorticella striata</u>	o-p	50-400	p-i	400-1790	0.35-6.00
Formas móviles					
de peritrico		50-400		400-1580	1.36-6.00
<u>Podophrya fixa</u>	p	50-120	p	400-1000	5.08-6.00

S\*= Saprobiidad según Sládecek

S\*\*= Saprobiidad de acuerdo con los resultados de este estudio

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto, puede decirse que para este tipo de aguas residuales, durante su tratamiento en RBRs y bajo las condiciones de operación pre-establecidas, no se encontró una especie de protozoario ciliado con características de indicador ideal que se presentara en un intervalo de DBO<sub>5</sub> estrecho y constante e independiente del tipo de agua residual.

Lo que sí se encontró durante la experimentación en los RBRs y que, por lo tanto, pueden ser utilizadas, son especies de ciliados con intervalos estrechos de tolerancia a diferentes concentraciones de DBO<sub>5</sub> estrechos y constantes para cada uno de los tres tipos de agua residual en estudio.

Es necesario aclarar que lo anterior es válido de aplicar con fines de evaluación biológica directa, siempre y cuando se mantengan los RBRs en condiciones de operación iguales a las establecidas cuando se obtuvieron los resultados, ya que de haber

modificaciones significativas en alguno de los parámetros bióticos o abióticos relevantes, es factible que se modifique la respuesta de las especies presentes.

**Tabla 36. Protozoarios ciliados registrados en el RBR y diversos intervalos de tolerancia ambiental, durante la fase experimental empleando aguas blancas como sustrato**

PROTOZOARIO CILIADO	INTERVALO DE				
	S*	DBO <sub>5</sub>	S**	DQOs	OD
<u>Cyclidium glaucoma</u>	a	30-90	p	390-730	2.90-5.90
<u>Dexiotricha plagia</u>	a	30-90	p	390-730	2.90-5.90
<u>Litonotus lamella</u>	B	30-40	p	390-400	5.20-5.90
<u>Paramecium aurelia</u>	B-a	30-90	p	390-730	2.90-5.90
<u>Paramecium caudatum</u>	a	30-90	p	390-730	2.90-5.90
<u>Aspidisca cicada</u>	a	30-65	p	390-600	4.80-5.90
<u>Oxytricha fallax</u>	a	45-90	p	430-730	2.90-4.95
<u>Opercularia microdiscum</u>	a	40-75	p	410-650	4.35-5.55
<u>Vorticella convallaria</u>	B-a	30-60	p	390-540	5.20-5.90
<u>Vorticella striata</u>	o-p	50-75	p	500-650	4.35-5.20
Formas móviles de peritrico		40-75		410-650	4.35-5.55
<u>Podophrya fixa</u>	p	30-75	p	390-650	4.35-5.90

S\* = Saprobiidad según Sládecek

S\*\* = Saprobiidad de acuerdo con los resultados de este estudio

En la búsqueda y uso de indicadores de calidad de agua debe tenerse en consideración no sólo los antecedentes al respecto, sino las características operacionales del sistema natural o artificial en estudio, ya que existe la posibilidad de que un organismo registrado como buen indicador de un determinado parámetro, en un estudio específico, no lo sea bajo condiciones ambientales diferentes.

En consecuencia, es recomendable si se desea aplicar el procedimiento de evaluación a partir de indicadores de saprobiidad, ya sea en RBRs con otro tipo de aguas residuales o bajo condiciones de operación diferentes o en otros sistemas de tratamiento biológico o en cuerpos acuáticos naturales contaminados y con procesos de autopurificación, realizar un estudio previo y simultáneo de los parámetros biológicos, fisicoquímicos y/o bioquímicos de interés y posteriormente observar si existe asociación y correlación entre ellos, para que su aplicación sea válida.

Finalmente, debe considerarse que, para la aplicación de métodos biológicos de evaluación directa de la calidad del agua, a partir del uso de los ciliados, se requiere contar con muestras frescas del volumen de agua de interés. Es decir que no debe aplicarse a muestras almacenadas o que se hayan obtenido después de un determinado período, en el cual la comunidad de ciliados haya sido afectada de manera considerable.

De manera particular, en el caso de las especies indicadoras de saprobiidad, se requerirá de personal especialmente entrenado para la determinación y posterior reconocimiento de las especies útiles. Esto no es tan imprescindible cuando se emplea la estructura comunitaria de las mismas, ya que en este caso basta saber que se trata de especies diferentes y no de cuales son.

## VI CONCLUSIONES

Con base en el análisis de los resultados obtenidos en esta experimentación, se concluye lo siguiente:

- 1.- La concentración de oxígeno disuelto en el licor mezclado, aún cuando en la primera cámara es menor de 2 mg/L, tiende a aumentar conforme disminuye la concentración de material orgánico biodegradable, ya que la rapidez de disolución de oxígeno es mayor que la de su consumo por parte de las diferentes comunidades microbianas, a medida que avanza hacia la parte final de los RBRs.
- 2.- Se efectúa la remoción de aproximadamente el 65% como DQO y el 85% como DBO<sub>5</sub>, en las primeras cinco cámaras de los RBRs alimentados con diferentes aguas residuales. Esto confirma que es posible tratar aguas de igual concentración en reactores de menos etapas o bien, tratar en esos mismos RBRs (10 etapas), aguas más concentradas con igual o menor tiempo de residencia hidráulico. De la tres aguas residuales, fue en las vinazas las que obtuvo mayor porcentaje de remoción total de materia orgánica, después el nejayote y, por último, las aguas blancas.
- 3.- Se encontraron protozoarios y micrometazoarios a todo lo largo de los RBRs. La abundancia de dichos microorganismos resultó mayor cuando se emplearon vinazas, seguida por nejayote y por último por aguas blancas. De manera indistinta, al tipo de agua residual usada, los protozoarios presentan mayor abundancia y distribución más amplia que los micrometazoarios. En el caso de los RBRs con vinazas y aguas blancas, los protozoarios flagelados constituyen el grupo de mayor abundancia relativa, mientras que para el nejayote, lo fueron los protozoarios ciliados. En cuanto a los nemátodos y rotíferos, estos presentaron baja abundancia cuando el RBR fue alimentado con vinazas, en tanto que con nejayote y aguas blancas su abundancia fue mayor.
- 4.- Considerando de manera particular el grupo de los ciliados, en las tres aguas residuales estudiadas, se determinaron 22 especies en las muestras provenientes de las cajas Petri y 19 de las provenientes de los RBRs. De ellas, siguiendo la misma secuencia, 14 y 11 se presentaron con nejayote; 11 y nueve en las vinazas y 14 y 11 en las aguas blancas.



- 5.- Del total de las especies de ciliados presentes en los RBR, tres resultaron comunes; cuatro exclusivas para el nejayote; una para las vinazas; y tres para las aguas blancas. Las comunidades que resultaron más similares fueron las presentes en las vinazas respecto de las de aguas blancas, compartiendo siete especies en común. El ciliado más abundante, cuando se alimentó al RBR tanto con nejayote como con aguas blancas fue Cyclidium glaucoma, mientras que para el caso de la vinazas fue Vorticella striata.
- 6.- La mayoría de los ciliados aquí encontrados son eurisaprobios, cuya diversidad (riqueza y abundancia) varía en función del tipo de substrato alimentado al reactor. Dicha diversidad fue más similar a la esperada (máxima) cuando el RBR fue alimentado con aguas blancas, después con nejayote y, finalmente, con vinazas. La mayor abundancia de ciliados se presenta, en los tres casos de estudio, en las etapas de contaminación orgánica intermedia, siendo la comunidad más heterogénea o diversa a medida que la depuración es mayor.
- 7.- A partir de la estructura comunitaria de los ciliados es posible establecer una correlación cualitativa la calidad saprobial del agua en proceso de tratamiento, siendo la comunidad más compleja y diversa, a medida que el grado de contaminación disminuye. Por lo tanto, es posible jerarquizar el nivel de contaminación presente en cada muestra de agua, a partir de los ciliados que en ella se encuentren. Lo anterior es válido cuando se aplique a muestras provenientes de un mismo sistema de tratamiento que depure el agua de manera secuencial (varias etapas) y que trabaje bajo condiciones de operación controladas.
- 8.- La mayoría de las especies de ciliados son de tipo eurisaprobio y, por consiguiente, tienen como papel principal la depuración del agua. No obstante, existen algunas especies estenosaprobias para cada una de las tres aguas residuales estudiadas, siendo para el nejayote Colpidium campylum, C. colpidium y Glaucoma scintillans (255 a 535 mg DBO<sub>5</sub>/L); para las vinazas C. colpoda y Podophrya fixa (50 a 120 mg DBO<sub>5</sub>/L) y para las aguas blancas Litonotus lamella (30 a 45 mg DBO<sub>5</sub>/L) y Vorticella striata (50 a 90 mg DBO<sub>5</sub>/L). Dichas especies pudieran ser empleadas como indicadoras de saprobiedad, en RBRs, dentro de sus respectivos intervalos de concentración de DBO<sub>5</sub>. Lo anterior es posible siempre y cuando los RBRs trabajen en condiciones de operación similares a las empleadas en estos estudios. En caso de modificar de manera drástica alguna variable, será necesario seguir el procedimiento aquí descrito, con objeto de detectar aquellas posibles especies indicadoras de saprobiedad resultantes de las nuevas condiciones de operación establecidas.

## Recomendaciones para estudios posteriores

- 1.- Efectuar estudios similares para otro tipo de aguas residuales industriales, con objeto de conocer la capacidad de extrapolación de los resultados aquí obtenidos.
- 2.- Profundizar más en la metodología de muestreo y análisis de muestra en reactores biológicos rotatorios para obtener, en menor tiempo y con menor esfuerzo, información sobre la calidad de agua en sistemas de tratamiento aerobios.
- 3.- Aplicar las metodologías aquí establecidas para el análisis biológico directo de cuerpos acuáticos naturales y terrestres contaminados, así como de otros sistemas de tratamiento biológico, con objeto de caracterizarlos, poder agilizar su recuperación y/o la optimización de su funcionamiento.
- 4.- A partir de la información obtenida sobre estructura comunitaria y organismos indicadores, intentar establecer una metodología tendiente a la optimización, manual y/o automática, de plantas de tratamiento a escala real, con ayuda del análisis de imágenes por computadora, de tal manera que se pueda hacer un mejor seguimiento y manejo de las plantas de tratamiento.
- 5.- Con base a las abundancias registradas y a su amplia tolerancia a los factores fisicoquímicos, promover las condiciones más adecuadas que favorezcan la proliferación de los ciliados depuradores, con la finalidad de aumentar la calidad del agua obtenida al final del tratamiento.
- 6.- Abordar la problemática relacionada con la posible presencia de protozoarios real o potencialmente patógenos como Entamoeba histolytica y Naegleria sp., en los subproductos del tratamiento biológico, aguas parcialmente tratadas y lodos biológicos.
- 7.- Realizar estudios complementarios sobre el proceso depurativo, particularmente sobre los metabolitos producidos durante el proceso de biodegradación aerobia de aguas contaminadas.
- 8.- Continuar con los estudios sobre la taxonomía y ecología de protozoarios y micrometazoarios y aplicar esta información a otros problemas ambientales como son la evaluación de compuesto tóxicos, biodegradación de compuestos orgánicos xenobióticos, bio-acumulación de metales pesados y control biológico de plantas de tratamiento.

## Reconocimientos

El autor agradece el apoyo económico, en forma de beca, otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM, así como el complemento de beca proporcionado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México, para la realización de los estudios de Doctorado en Ciencias (Biología), en la Facultad de Ciencias, UNAM. El trabajo experimental de la tesis doctoral se desarrolló en el Laboratorio de tratamiento biológico de aguas residuales industriales y en el Laboratorio de química ambiental, ambos pertenecientes al Programa de ingeniería química ambiental y química ambiental (PIQAYQA) de la Facultad de Química de la UNAM, en el marco de los siguientes proyectos:

"Estudio para mantener el control de calidad en sistemas de tratamiento biológico empleando microorganismos" y "Tratamiento biológico de aguas residuales de la industria de proceso. Estudio de metodologías químicas de control analítico en plantas de tratamiento con poblaciones de microorganismos indicadores", ambos a cargo de la Dra. Carmen Durán de Bazúa.

Estos proyectos contaron con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) Proyecto clave P122CCOT894272, y por la UNAM a través de la Facultad de Química; de la Dirección de Asuntos del Personal Académico, (proyecto DGAPA No. IN-302289); por el Programa de Apoyo a las Divisiones de Estudios de Posgrado (PADEP-UNAM, proyecto No. DFC9228) y por el Seminario Académico "Profesor Fernando Orózcó Dondé", patrocinado por la empresa DuPont de México, S.A. de C.V. De igual manera, se reconoce el apoyo proporcionado por la empresa Celanese Mexicana, S. A. de C. V., en el marco del proyecto de formación de personal calificado (Convenio "Investigadores en química ambiental").

El equipo analítico empleado fue donado por el gobierno de la República Federal de Alemania (Proyecto BMFT FP/0402-82-01 2280) y por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP Nairobi, proyecto BCT 252).

Se agradece el apoyo académico proporcionado por las profesoras adscritas al Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias de la UNAM. En la elaboración de las gráficas y los dibujos se contó con el apoyo del T. D. I. Sergio Luna-Pabello y del Sr. Pedro Luna-Pabello. Un reconocimiento especial a las compañeras biólogas Claudia Anaya Huertas y Rosa María Picazo Hernández y al P. de B. Andrés Rosas Molina, por el apoyo técnico en la determinación e ilustración de algunas de las especies de ciliados. También agradece el autor la ayuda proporcionada para el manejo de los RBRS y los análisis de laboratorio de las P. de I. Q. Rosalina Sánchez, Fátima Brindis, Beatriz Carrillo, Alejandra Camacho y Reyneria Pompa y de los P de I. Q. Rafael Orihuela y Rodolfo Robles.

Se agradece la colaboración, para el oportuno suministro de las aguas empleadas a lo largo de este estudio, de los I. Q. Vicente Felgueres y Fernando Cedeño, así como las facilidades brindadas por los ingenios azucareros/alcoholeros "Alianza popular" y "El Potrero", en especial al Ing. Marcos Chávez. Asimismo se hace patente el reconocimiento por el apoyo técnico y de infraestructura, brindado por las siguientes dependencias de la UNAM: Taller de Electrónica de la Facultad de Química, Centro de Investigación de Diseño Industrial, de la Facultad de Arquitectura, Centro de Diseño Mecánico e Innovación Tecnológica de la Facultad de Ingeniería y Laboratorio de Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la División de Estudios de Posgrado de la misma Facultad, así como a la Coordinación de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería.

## VII BIBLIOGRAFIA

- Aladro-Lubel, M. A., Martínez-Murillo, M. E. y Mayén-Estrada, R. 1990. Manual de ciliados psamófilos marinos y salobres de México. Cuadernos, 9. Instituto de Biología, UNAM. México D. F., México. Pp. 10-11.
- Anaya, L. A. L. 1985. Ecología 2. CECSA. 1a Ed. México D. F., México.
- Anaya-Huertas, C. C. 1992. Estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema de tratamiento biológico de un efluente industrial petroquímico. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México D. F., México.
- Antonie, R. y Van Aacken, K. 1971. Rotating discs fulfill dual wastewater role. Water and wastes engineering, 8:37-38.
- APHA. 1981. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington D. C. EUA.
- Atlas, R. M. y Bartha, R. 1981. Structure and development of microbial communities and ecosystems. En Microbial ecology fundamentals and applications. Cap. 7. Pp. 223-245.
- 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. 1968. Untersuchungen zur Verträglichkeit von Meer- und brackwasser für Ciliaten des Saprobiensystems der Wassergütebeurteilung. Helgoländer Wiss. Meeresunters, 17:257-268.
- Bick, H. 1971. The potentialities of ciliated protozoa in the biological assessment of water pollution levels. En International Symposium on Identification and Measurement of Environmental Pollutants. Ottawa, Ont. Canadá. Pp. 305-309.
- Bick, H. 1972. An illustrated guide to ciliated protozoa used as "Biological Indicators". En Fresh water ecology. Fasc. I-IX, WHO. Washington, D. C. EUA.
- Bick, H. 1976a. Ciliaten als Indikatororganismen bei der Gewässeruntersuchung. Vorträge der Tagung über Umweltforschung der Universität Hohenheim, 19:173-179.
- Bick, H. 1976b. Zusammenstellung von autökologischen und saprobiologischen Befunden. Arch. Hydrobiol., 20:338-384.
- Brock, T. D., Smith, D. W. y Madigan, M. T. 1987. Microbiología. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A. México, D.F.
- Burdon K. L. y Williams, R. P. 1985. Microbiología. Publicaciones culturales. México D. F., México.

- Cairns, J. 1969. Rate of species diversity restoration following stress in freshwater. Protozoan communities. The University of Kansas Science Bull., 48(6):209-224.
- Cairns, J. Jr. 1982. Fresh protozoa communities. En Microbial interactions and communities. A. T. Bull y A. R. K. Wateinsan eds. Academic Press Inc. Londres, Inglaterra. Vol. 1. 249-285.
- Cairns, J. Jr., Kuhn, D. L. y Plafkin, J. L. 1979. Protozoan colonization of artificial substrates. En Methods and measurements of periphyton communities: A Review. Weitzel, R. L. Ed. Am. Soc. Testing and Materials. Philadelphia, PN. EUA. Pp. 34-56.
- Cairns, J., Lanza, R. G. y Parker, C. B. 1972. Pollution related to structural and functional changes in aquatic communities with emphasis in freshwater algae and protozoa. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 124(5):79-127.
- Campbell, R. 1987. Ecología microbiana. Ed. Limusa. 1a. Ed. México D. F., México.
- Corliss, J.O. 1966. The ciliated protozoa. Pergamon Press. Oxford, Inglaterra.
- Corliss, J. O. 1984. The Kingdom Protista and its 45 Phyla. Biosystems, 17:87-126.
- Curds, C. R. 1969. An illustrated key to the British freshwater ciliated protozoa commonly found in activated sludge. Water Pollution Research Laboratory. Ministry of Technology, HMSO. Technical paper No. 12, Londres, Inglaterra.
- Curds, C.R. 1975. Protozoa. En Ecological aspects of used-water treatment. Ed. Curds, C.R. y Howkes, H.A. Academic Press. Inglaterra. Pp. 203-268.
- Curds, C. R. 1977. Microbial Interaction Involving Protozoa. En Aquatic microbiology. Skinner, F. A. y Shewan, J. M. Eds. Soc. Appl. Bact. Symp. Series No. 6. Academic Press. Londres, Inglaterra. Pp. 69-105.
- Curds, C. R. 1983. British and other ciliated protozoa. Synopses of the British fauna. Kermack, D. M. y Barnes, R. S. K. Eds. No. 22, Parte. I. Pub. The Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-Water Sciences Association. Londres, Inglaterra.
- Curds, C.R., Cockburn, A. y Vandyke, J.M. 1968. An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated-sludge process, JWPCF, 67:312-329.
- Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970a. Protozoa in biological sewage treatment processes. I. A survey of the protozoan fauna of

British percolating filters and activated sludge plants. Wat. Res., 4:225-236.

- Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970b. Protozoa in biological sewage treatment process. II. Protozoa as indicators in the activated sludge processes. Wat. Res., 4:237-249.
- Curds, C. R., Gates, M. A. y Roberts, D. M. 1983. British and other ciliated protozoa. Synopses of the British fauna. Kermack, D. M. y Barnes, R. S. K. Eds. No. 23, Part. II. Pub. The Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-water Sciences Association. Londres, Inglaterra.
- Curds, C. R. y Vandyke, J. M. 1966. The feeding habitats and growth rates of some fresh-water ciliates found in activated-sludge plants. J. Appl. Ecol., 3:127-137.
- Czapik, A. 1968. La famille Tetrahymenidae et son importance dans la systématique et l'évolution des ciliés. Acta Prot. 5:315-357.
- Chacón-Torres, A. 1991. Algunas consideraciones metodológicas para el uso de imágenes multiespectrales de satélite en la evaluación de la calidad del agua. Ciencia y Desarrollo. 27 (101):24-32.
- DDF. 1981. Evaluación de daños a la salud por el uso de aguas renovadas. Secretaría de Obras y Servicios. DGOH-DDF. Laboratorios ABC. Química, Investigación y Análisis S. A. México D. F., México. 2(1). Pp. 270-300.
- Duncan, M.D. 1976. Sewage treatment in hot climates. John Wiley and Sons Pub. Co. Londres, Inglaterra.
- Durán de Bazúa, C. 1983. Tratamiento de los efluentes de la industria del maíz en México. Tesis doctoral. Universidad de Karlsruhe, Alemania. Versión en español. Pub. Facultad de Química, UNAM. México D.F., México.
- Durán de Bazúa, C. 1987a. Reaprovechamiento de efluentes de la industria del maíz. Informe final de proyecto UNEP/BMFT-FRG/CONACYT/CONASUPO/UNAM. Pub. Facultad de Química UNAM-Universidad de Karlsruhe (Alemania).
- Durán de Bazúa, C. 1987b. Effluents of the food industry in Mexico. Environmental impacts on soil and water resources and possible solution using the biotechnological approach. Case problem: The corn industry. En Global Bioconversions Vol. II Cap. 4. CRC Press Inc. Boca Raton, EUA. Pp 75-120.
- Durán de Bazúa, C., Engelmann, G. y Hartmann, L. 1982. Aprovechamiento de efluentes de la industria alimentaria. En Seminario: Ecotecnologías para el desarrollo de México. Inst. Mex. Technol. Apropriadas e Inst. Ecología. México D.F., México. Pp. 119-123.

- Durán de Bazúa, C., Medellín, P., Noyola, A., Poggi-Varaldo, H., y Zedillo, L. E. 1988. Caracterización de vinazas y su degradación en un sistema combinado de tres reactores anaerobios y un reactor aerobio de biodiscos. Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ), 3 (2): 33-43.
- Durán de Bazúa, C. y Hartmann, L. 1980. Produktion und Verwertbarkeit aus Prozessabwasser der Nixtamalization. Wiss. Abschlussber, 15 Intl. Sem. Juli. Universidad de Karlsruhe, Alemania. Pp. 214-232.
- Eckenfelder, W. W. y Ford, D. L. 1970. Water pollution control. Experimental procedures for process design. Jenkins Book Pub. Co. NY, EUA. Pp. 45-90.
- Edmonson, W.T. 1959. Fresh water biology. 2a. Ed. John Wiley and Sons. Inc. NY, EUA.
- Equihua, Z. M. y Benítez, B. G. 1987. Dinámica de las poblaciones ecológicas. Trillas. ANUIES. México, D.F.
- Famularo, J., Muller, J. y Mulligan, T. 1978. Application of mass transfer to rotating biological contactors. JWPCF, 50:633-671.
- Fenchel, T. 1987. Ecology of protozoa. The biology of free-living phagotrophic protists. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience. 1a Ed. Wisconsin, EUA.
- Fernández-Galiano, D. 1985. Los protozoos y la contaminación de las aguas dulces. III Curso y simposio sobre biología de la contaminación. ENEP-Iztacala, UNAM. México D.F., México. Pp. 16-17.
- Fernández-Galiano, D. 1990. Las nuevas clasificaciones de los organismos eucarióticos unicelulares. Protistología versus Protozoología. Bol. R. Soc. Hist. Nat. (Sec. Biol.), 85(1-4): 107-125.
- Fernández, G. 1986. Apuntes de Química Ambiental. Div. Est. Posg. Fac. Ing. UNAM. México D. F., México. Pp. 172-174.
- Fernández-Villagómez, G., Poggi-Varaldo, H., Navarrete, M. E., Quintanar, H., Ramírez, M. E. y Durán de Bazúa, C. 1988. Degradación aerobia de aguas residuales de fábricas de papel en un sistema de laboratorio de lagunas aereadas. Presentado en el VI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Querétaro, Qro, México.
- Finaly, B. J. 1977. The dependence of reproductive rate on cell size and temperature in freshwater ciliated protozoa. Oecologia, 30:75-81.
- Fiolitis, E., Grobbelaar, J. U., Hegewald, E. y Soeder, C. J. 1987. Deterministic interpretation of the temperature



response of microbial growth. Biotechnol. Bioeng.,  
30:541-547.

- Foissner, W. 1991. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. Europ. J. Protistol., 27: 313-330.
- Foissner, W. 1992. Protocols in protozoology. Lee, J. J. y Soldo, A. T. Eds. Pub. the Society of Protozoologists. Allen Press, Inc. Kansas, EUA.
- Foissner, W, Berger, H. y Kohmann, F. 1991. Taxonomische und Ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems. Tomo I: Cyrtophorida, Oligotrichida, Hipotrichia, Colpodea. Informationsberichte des Bayer. Landesamt für Wasserwirtschaft. München, Alemania.
- Foissner, W, Berger, H. y Kohmann, F. 1992. Taxonomische und Ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems. Tomo II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida. Informationsberichte des Bayer. Landesamt für Wasserwirtschaft. München, Alemania.
- Friedman, A. A., Robbins, I. E. y Woods, R. C. 1979. Effect of disk rotational speed on biological contactor efficiency. JWPCF, 5:2678-2690.
- Gaviño, T. G., Juárez, L.C. y Figueroa, T. H. 1972. Técnicas selectas de laboratorio y campo. Limusa, México D. F., México.
- Giese, A. C. 1973. Blepharisma. The biology of a light-sensitive protozoan. Stanford University Press. Stanford, EUA. 366 pp.
- Gólcz, A. 1984. Novel evaluation of activated sludge process in chemical plants. Eff. Wat. Treat. J., 25:267-269.
- Gómez A. G. y Solís, G. C. A. L. 1992. Aplicaciones del procesamiento digital de imágenes a la biología. Informe proyecto DGAPA-UNAM D0301092. En Catálogo de resúmenes 1992. Programa de apoyo a proyectos de investigación y de innovación docente. P. 515. Pub. UNAM. México D. F., México.
- Hamoda, M. F. y Wilson, F. 1989. Kinetic analysis of rotating biological contactors treating high strength wastes. Comunicación personal.
- Henebry, S. M. y Ridgeway, T. B. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. Trans. Amer. Micros. Soc., 98(4):495-508.
- Honigberg, B. M., Balamuth, W., Bovee, E. C., Corliss, J. O., Godjics, M., Hall, R. P., Kudo, R. R., Levine, N. D., Loeblich, J. A. R., Weiser, J. y Wenrich, D. H. 1964. A

revised classification of the phylum protozoa. J. Protozool., 11:7-20.

- Kahl, A. 1930-1935. Urtiere Order Protozoa. I. Wimpertiere Order ciliata (Infusoria), eine Bearbeitung der freilebenden und ectocommensalen Infusorian der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae. En Dahl, F., Die Tierwelt Deutschlands. Ed. G. Fisher Verlag, Jena. Alemania.
- Kennedy, K. J., Muzar, M. y Coop, G. H. 1985. Stability and performance of mesophilic anaerobic fixed-film reactors during organic overloading. Biotechnol. Bioeng., 27:86-93.
- Kinner, N. E. 1984. An evaluation of feasibility of using protozoa and metazoa as indicators of RBR effluent quality. En Second International Conference on Fixed-Film Biological Processes. Arlington, Virginia, EUA. 1:74-122.
- Kinner, N. E. y Curds, C. R. 1988. Development of Protozoan and Metazoan Communities in Rotating Biological Contactor Biofilm. Wat. Res., 21(4):481-490
- Kinner, N. E., Curds, C. R. y Meeker, L. D. 1988. Protozoa and metazoa as indicators of effluent quality in rotating biological contactors. Wat. Sci. Tech., 20(11/12):199-204.
- Klein, B. M. 1958. The Dry Silver Method and Its Proper Use. J. Protozool., 5:99.
- Klemetson, S. L. y Rogers, G. L. 1982. The future of biological fixed-film processes and their application to environmental problems. En First International Conference of Fixed-Film Biological Processes. Kings Island, Ohio, EUA. 1:146-154
- Krebs, C. J. 1985. Ecología, 2a. ed. Harla, México D. F., México.
- Kudo, R. R. 1969. Protozoología. CECSA. México D.F., México. 905.
- Landon-Arnold, S. 1984. Correlation of microorganisms to efficiencies associated with a rotating biological contactor subjected to high organic loadings of a fluorinated fire fighting foam. En Second International Conference on Fixed-Film Biological Processes. Arlington, Virginia, EUA. 1:48-73.
- Langeron, M. y Locquin, M. 1985. Manual de microscopía. 1a. ed. Labor. Barcelona, España.
- Lee, J. J., Hutner, S. H. y Bovee, E. C. 1985. An illustrated guide to the protozoa. Society of Protozoologists. Allen Press Inc. Lawrence, Kansas, EUA.
- Levine, N. D., Corliss, J. O., Cox, F. E. G., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, 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. Traducción al español: Dra. Ma. Antonieta Aladro Lubel. Laboratorio de Protozoología. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.
- Levandowsky, M y Hutner, S. H. 1980. Biochemistry and physiology of protozoa. Academic Press. Vol. 3, 2a. Ed. Nueva York, EUA.
- López-Ochoterena, E. 1965. Ciliados mesosapróbicos de Chapultepec. Sistemática, Morfología, Ecología. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 26:115-247.
- Luna-Pabello, V. M. 1987. Estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema de tratamiento por medio de "biodiscos". Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.
- Luna-Pabello, V. M. 1990. Efecto de la temperatura en las poblaciones de protozoarios ciliados en un reactor de biodiscos. Tesis Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México D. F., México.
- Luna-Pabello, V. M., Aladro-Lubel, Ma. A. y Durán de Bazúa, C. 1992. Temperature effects on ciliates diversity and abundance in a rotating biological reactor. Bioresource Technology, 39:55-60.
- Luna-Pabello, V. M., Durán de Bazúa, C., Mayén-Estrada, R., Aladro-Lubel, Ma. A., Olvera-Viascan, V. y Saavedra-Solá, J. 1988. Estudio de los protozoarios ciliados para determinar la calidad depurativa de sistemas rotatorios biológicos para tratamiento de aguas residuales. Universidad y Ciencia, 5(10):109-132.
- Luna-Pabello, V. M., Mayén-Estrada, R., Olvera-Viascan, V., Saavedra, J. y Durán de Bazúa, C. 1990a. Ciliated protozoa as indicators of a wastewater treatment system performance. Biol. Wastes, 31(2):81-90.
- Luna-Pabello, V. M., Aladro-Lubel, Ma. A. y Durán de Bazúa, C. 1990b. Microorganismos indicadores del tratamiento biológico de aguas residuales: Efecto de la temperatura sobre la diversidad y abundancia de protozoarios ciliados. Vol. 1. Serie: Agua. Pub. PIQAYQA-FQ-UNAM. México D.F., México.
- Madrazo-Garibay, M. H. 1972. Infraciliatura comparada de las tres especies de Paramecium del grupo "Aurelia" (Protozoa, Ciliata, Hymenostomatida). Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.
- Margaleff, R. 1975. Ecología. Ed. Omega. Barcelona, España.

- Margulis, L., Corliss, J. O., Melkonian, M. y Chapman, D. J. 1990. Handbook of protoctista: The structure, cultivation, habitats, and life histories of the eucaryotic microorganisms and their descendants exclusive of animals, plants, and fungi: Guide to the algae, ciliates, foraminifera, sporozoa, water molds, slime molds, and the other protoctists. Coordinador editorial McKhann, H. I. Jones y Bartlett Publishers. Nueva York, EUA.
- Margulis, L. y Schwartz, K. V. 1981. Cinco Reinos. Guía ilustrada de los phyla de la vida en la Tierra. Ed. Labor. Barcelona, España.
- Martínez, P. J. A. y Gutiérrez, M. 1985. Introducción a la protozoología. Trillas. México D. F., México.
- McKinney, R. E. y Gram, A. 1956. Protozoan and activated sludge. Sewage and Industrial Wastes., 28:1219-1231.
- Metcalf y Eddy Inc. 1979. Wastes engineering. Treatment, disposal, and reuse. McGraw-Hill Co. N. Y. EUA.
- Montesinos Ma. A. y Durán, C. 1986. Estudio dinámico de un reactor biológico en la producción de proteína microbiana. Presentado en el XVI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Cholula, Pue., México.
- Moreno, R. G. 1985. Análisis de protozoarios en un sistema de biodiscos empleado en la planta de tratamiento de C. U. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F., México.
- Norouzian, M. 1984. La microbiología de procesos de película fija. Serie Inst. Ingeniería. UNAM. México D. F., México.
- Norouzian, M. y Deloya, M. M. 1984. Estudio del comportamiento de una unidad de biodiscos estructuralmente modificada. Serie Inst. Ingeniería. UNAM. México D. F., México. Pp. 123-142.
- Odum, P. 1971. Ecología. Ed. Interamericana. México D.F., México.
- Pano, A. y Middlebrooks, J. K. 1982. The kinetics of rotating biological contactors at temperatures of 5°C, 15°C and 20°C. En First International Conference of Fixed-Film Biological Processes. 1:261-305.
- Pedroza, R. 1985. Estudio de la degradación biológica aerobia de los efluentes de la nixtamalización. Tesis de Maestría, Universidad Iberoamericana. México D. F., México.
- Pedroza-Islas, R. y Durán de Bazúa, C. 1990. Aerobic treatment of maize processing wastewater in a 50-liter rotating biological reactor. Biol. Wastes, 32(1):17-27.

- Pedroza, R. y Durán, C. 1986. Laboratory performance of a rotating biological contactor (RBC) for nejayote (corn processing wastewater) biological degradation. En "Food Engineering and Process Applications" M. Le Maguer Ed. Elsevier Appl. Sci. Pub. Ltd. Essex, Inglaterra (Londres) Vol. 2 Cap. 29, Pp. 345-555.
- Pelczar, M. J., Reid, R. D. y Chan, E. C. S. 1983. Microbiología. 4a. Ed. Mc Graw-Hill. México D. F., México.
- Pianka, E. R. 1982. Ecología evolutiva. Omega, Barcelona, España.
- Pike, E. B. y Curds, C. R. 1971. Microbial ecology of the activated sludge process. En Microbial aspects of pollution. Society of Applied Bacteriology Symposium Series 1. Pp. 123-147.
- Pitter, P. 1976. Determination of biological degradability of organic substances. Wat. Res., 10:231-235.
- Poon, C. P. C. y Chao, Y. L. 1979. Factors controlling biological contactor performance. JWPCF, 51(3):601-611.
- Pratt, J. R. y Cairns, J. Jr. 1985. Functional groups in the protozoa: Roles in defferents ecosystems. J. Protozool., 32(3):415-423.
- Puytorac, P. de, Grain, J. y Mignot, J. P. 1987. Précis de Protistologie. Societé Nouvelle des Editions Boubée. Paris, Francia.
- Reiber, S. y Stensel, D. 1985. Biologically enhanced oxygen transfer in a fixed-film system JWPCF, 57(2):135-142.
- Rico-Ferrat, G. y López-Ochoterena, E. 1976a. Aspectos biológicos de los protozoarios de las aguas negras de la zona metropolitana de la Ciudad de México. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 37:221-227.
- Rico-Ferrat, G. y López-Ochoterena, E. 1976b. Protozoarios ciliados de México. XXIII. Frecuencia de algunas especies que habitan en el drenaje doméstico. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 37:229-232.
- Rittman, B. E., Suozzo, R. y Romero, B. R. 1983. Temperature effects on oxygen transfer to rotating biological contactors. JWPCF, 55(3):270-277.
- Rivera, F., Bonilla, P. Soriano, S., Reyes, J. L., Lares, F. e Islas, J. 1987. Bacterial analysis of Chromobacterium sp. and Flavobacterium sp. in a waste stabilization pond system. Water Air and Soil Pollut. J.: 397-406.
- Rivera, F., Castro, F., Moreno, G., Lugo, A., Gallegos, E. y Norouzian, M. 1988. Protozoa of a rotatory biological

contactor in a water treatment plant in México. Water, Air and Soil Pollut., 42:281-301.

- Rushbrook, E. L. y Wilke, D. A. 1980. Energy conservation and alternative energy sources in wastewater treatment. JWPCF, 52(10):2477-2483.
- Saavedra, S. J. 1982. Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de la calidad del agua del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.
- Sack, W. A., Cutright, J. A., Neely, R. G., Soccorsi, P. M. y Carroll, T. A. 1986. Operation of air drive rotating biological contactors. JWPCF, 58(11):1050-1056.
- Särner, E. 1986. Removal of particulate and dissolved organics in aerobic fixed-film biological processes. JWPCF, 58(2): 165-172.
- Shariff, N. y Hassan, R. S. 1984. Engineering and nutritional parameters affecting biofilm development. Effluent Wat. Treat., 25:423-425.
- Sistrom, W. R. 1973. Vida microbiana. CECSA. México D. F., México.
- Sládecek, V. 1973. System of water quality from the biological point of view. Arch. Hydrobiol., 7:1-218.
- Sládecek, V. 1976. Relation of saprobic to trophic levels. Verb. Internat Verein. Limnol., 20:1885-1889.
- Sládecek, V. 1977. Zum Verhältnis Saprobität: Trophic. Arch. Hydrobiol. Belth., 9:79-93.
- Sládecek, V. 1979. Continental system for the assessment of river water quality. En Biological indicators of water quality. J. Wiley and Sons. Londres, Inglaterra, Cap. 3, pp. 541-547.
- Sládecek, V. 1985a. System of water quality. III Curso y Simposio sobre Biología de la Contaminación. ENEP-Iztacala, UNAM. México D. F., México. Pp. 50-54.
- Sládecek, V. 1985b. Scale of Saprobity. Verb. Internat Verein. Limnol., 22:2337-2341.
- SRH. 1974. Dir. Gral. Usos del Agua y Prev. Contam. Secretaria de Recursos Hidráulicos (SRH). México D. F., México.
- Starkey, J. E. y Karr, P. R. 1984. Effect of low dissolved oxygen concentration on effluent turbidity. JWPCF, 56(7):837-843.

- Torreblanca, A. 1992. Cuantificación de comunidades microbianas a lo largo de un reactor biológico rotatorio operado a tres diferentes temperaturas. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.
- Vavilin, V. A. 1982. The effect of temperature, inlet pollutant concentration, and microorganism concentration, on rate of aerobic biological treatment. Biotechnol. Bioeng., 24:2609-2625.
- Vázquez-García, M. L., Bekris-Palafox, J. y Durán de Bazúa C. 1990. Tratamiento aerobio de aguas residuales de la industria de papel, empleando reactores biológicos rotatorios. Informe técnico de trabajo PAP-01-91. Pub. Facultad de Química. UNAM. México D. F., México.
- Wagtendonk, V. W. 1974. Paramecium. A Current Survey. Elsevier Scientific Publishing Company. Netherlands, Amsterdam. Pp. 31-38.
- Warren, A. 1986. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichida). Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool) 50(1):1-57.
- Whittaker, R. H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. Science, 163:150-159.
- Whittaker, R. H. y Margulis, L. 1978. Protist classification and the kingdoms of organisms. BioSystems, 10: 3-18.
- Wiggins, B. A. y Alexander, M. 1988. Role of protozoa in microbial acclimation for mineralization of organic chemicals in sewage. Can. J. Microbiol., 34:661-666.
- Wilbert, N. 1986. Ciliaten aus dem interstitial des Ontario Sees. Acta Protozool., 25(4):379-376.
- Wilkinson, S. F. 1976. Introducción a la microbiología. H. Blume Eds. Madrid, España.
- Winkler, M. A. 1986. Tratamiento biológico de aguas de desecho. 1a. Ed. Limusa, México D. F., México.
- Wu, H. C. I. y Curds, C. R. 1979. A guide to the species of the genus *Aspidisca*. Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool), 36(1):34.
- Yuhei, I., Yuko, K., Ryuichi, S. y Minako, K. 1989. Role of ciliated protozoa in control of the growth of filamentous microorganisms. Water Sci. Technol., 21(12):1887-1890.
- Zámano-Pérez, H. A., Zedillo Ponce de León, L. E. y Durán de Bazúa, C. 1991. Tratamiento biológico de aguas residuales de la industria alcoholera a partir de melazas de caña de azúcar. Informe técnico de trabajo VIN-01-90. Pub. Facultad de Química, UNAM. México D. F., México.

VIII A N E X O S



A N E X O I

TECNICAS DE ANALISIS QUIMICO Y BIOQUIMICO DE MATERIA ORGANICA

## I.1 Demanda química de oxígeno (DQO):

Método volumétrico de oxígeno con dicromato de potasio (APHA, 1981).

### **Fundamento:**

El método se basa en una oxidación enérgica de la materia orgánica e 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 después de un período de reflujo a 150°C durante 2 horas, se determina con una solución valorada de sulfato ferroso amoniacal, en presencia de un complejo ferroso de ortofenantrolina (ferroín indicador) como indicador interno. El valor obtenido se introduce a una ecuación, cuyo desarrollo da como resultado la concentración (mg/L) de materia oxidable químicamente.

### **Interferencias:**

Las sustancias inorgánicas como los iones ferroso ( $\text{Fe}^{++}$ ), sulfato ( $\text{SO}_4^{=}$ ), sulfitos ( $\text{SO}_3^{=}$ ) y tiosulfatos ( $\text{S}_2\text{O}_3^{=}$ ) se oxidan bajo ciertas condiciones y crean una DQO inorgánica, la cual interfiere cuando se estima el contenido del agua residual.

El ión cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) interfiere, pero se elimina al agregar el sulfato mercúrico ( $(\text{Hg})_2 \text{SO}_4$ ).

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 del total de material presente.

### **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 ferroín
- Solución de sulfato ferroso amoniacal para valoración en una concentración aproximada de 0.05 N
- Sulfato mercúrico

### **Equipo:**

El equipo empleado es un Behr, el cual consta de una parrilla, con control de temperatura y tiempo, de calentamiento para 24 muestras, 2 canastillas metálicas con 24 vasos de reacción de 200 mL de capacidad, cada uno de ellos con un tubo refrigerante que permite la condensación, mediante enfriamiento por aire, de los vapores generados durante el período de reflujo.

De manera complementaria a lo que es propiamente el equipo para la prueba de DQO, está un recipiente de PVC que contiene agua para el enfriamiento de los vasos de reacción después de haber puesto las muestras a reflujo (figura I-1).

### **Procedimiento:**

#### Tratamiento de la muestra

- 1.- Centrifugar las muestras por analizar (3,600 rpm a 5°C durante 15 minutos).
- 2.- Poner en el recipiente de reflujo:
  - 10 mL de muestra diluída (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 0.25 N
- 3.- Colocar el refrigerante y añadir lentamente 15 mL de solución de plata en ácido sulfúrico concentrado.

### **Reflujo:**

- 4.- Colocar los matraces de reacción en la parrilla eléctrica, manteniéndolos en reflujo, a 150°C, 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 ferroín 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 pardo rojizo.

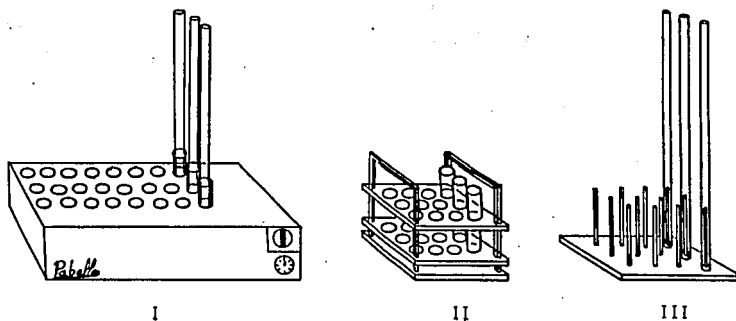


Figura I-1. Equipo Behr de 24 unidades para determinación de DQO

- I Parrilla para calentamiento
- II Gradilla con vasos de reacción
- III Soporte con tubos condensadores de gases

### Obtención de resultados:

La fórmula empleada es la siguiente:

$$\text{mg DQO/L} = (a-b) N 8000/\text{mL muestra (f)}$$

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 amoniacal (SFA)

En un matraz se colocan:

- 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 ferroína indicador y se agita.

### Valoración:

La solución anterior se titula con sulfato ferroso amoniacal con una normalidad aproximada de 0.05 y se anotan los mL gastados para lograr el cambio de color pardo rojizo.

$$N = \frac{\text{mL de dicromato de potasio 0.05 N} \times \text{Normalidad del mismo}}{\text{SFA} \quad \text{mL de SFA empleados en la titulación}}$$

$$N = \frac{10 \times 0.05}{\text{SFA} \quad \text{mL SFA empleados}}$$

$$N = \frac{0.5}{\text{SFA} \quad \text{mL SFA empleados}}$$

## I.2 Demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO<sub>5</sub>)

(APHA, 1981 y manual de operación del respirómetro  
Voith Saproimat B-6)

### **Fundamento:**

Este método se basa en estimar la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales. El consumo de oxígeno disuelto, a partir de la respiración microbiana, constituye una medida indirecta de la cantidad de materia orgánica biodegradada. Se considera que un miligramo de oxígeno disuelto consumido, equivale a un miligramo de material orgánico biodegradable. El oxígeno requerido, se determina a partir de la diferencia existente entre el oxígeno disuelto inicio de la prueba (previa inoculación de la muestra) y el oxígeno disuelto remanente al cabo de 5 días de incubación a 20°C (DBO<sub>5</sub><sup>20</sup>, de acuerdo con lo establecido por la APHA (1981). El tiempo y la temperatura de incubación, son parámetros fijos, convencionalmente establecidos a nivel internacional, que permiten establecer comparaciones confiables. En el criterio anterior, se supone que 20°C, es la temperatura media idónea para la actividad de los microorganismos, y 5 días, el tiempo aproximado para que se realice la biodegradación de aproximadamente 70% (en aguas residuales de origen doméstico) del material orgánico disuelto biodegradable (libre de tóxicos). Esta valoración de contaminantes fue adoptada como parámetro de calidad de agua por la Norma Oficial Mexicana.

### **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 adecuado a la muestra.

**Nota:** La extrapolación de los resultados de DBO<sub>5</sub> 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 DBO<sub>5</sub> obtenidos bajo circunstancias y procedimientos diferentes.

En la determinación de la DBO<sub>5</sub> se utilizó el respirómetro Voith-Saproimat B-6, el cual proporciona los requerimientos especificados por la APHA (1981).

**Equipo:** Descripción del aparato Voit-Sapromat B-6, 220.V, 60 Hz.

Este modelo, permite la evaluación simultánea de seis diferentes muestras, por un período superior a cinco días, que es el tiempo establecido como Norma Oficial para este tipo de evaluaciones. Suministra de manera continua por electrólisis, el oxígeno requerido por los microorganismos aerobios, a lo largo del proceso de biodegradación, manteniendo las muestras en continua agitación y bajo temperatura controlada.

El Sapromat tipo B-6 (6 unidades), consiste de un graficador directo de curvas de consumo de oxígeno disuelto (I), una unidad de enfriamiento (II) y un baño de agua con temperatura controlada (III), el cual contiene 6 unidades de medición (figura I-2).

Cada unidad de medición (figura I-3) está formada por un vaso de reacción (C), con un captador de  $\text{CO}_2$  (3) montado en el tapón, un generador de oxígeno (B), y un indicador de presión (A), interconectados con mangueras. El vaso del sistema de medición está sellado, así que las fluctuaciones de la presión del aire (barométricas) no afectan los resultados.

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

La actividad de los microorganismos en la muestra crea un vacío que es registrado por un indicador de presión (4). Este controla tanto el oxígeno generado electrolíticamente como la indicación y gráfica de los valores medidos (puntos 5, 6 y 7 de la figura I-3).

Cuando el análisis del agua bajo estudio, por determinación de valores de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ) o de demanda química de oxígeno (DQO) indica que la  $\text{DBO}_5$  puede exceder de 1000 mg  $\text{O}_2/\text{L}$ , entonces se diluye la muestra. En el presente estudio debido a que se trabajó con líquidos cuya DQO fue superior a 1000 mg/L y para no afectar de manera sensible el volumen del agua en tratamiento se emplearon 50 mL por muestra, adicionándole 200 mL de agua corriente, lo cual da un factor de dilución de 5.

#### **Obtención de resultados:**

El valor numérico aparecido en el indicador digital o bien el de la línea de puntos graficada de manera adjunta (mg/L de oxígeno disuelto consumido), deben ser multiplicados por el factor de dilución "f", para así obtener, el valor total de consumo de oxígeno por muestra. Este valor corresponde directamente a la cantidad (miligramos) de material orgánico disuelto biodegradable por unidad de volumen (litro), presente en la muestra analizada.

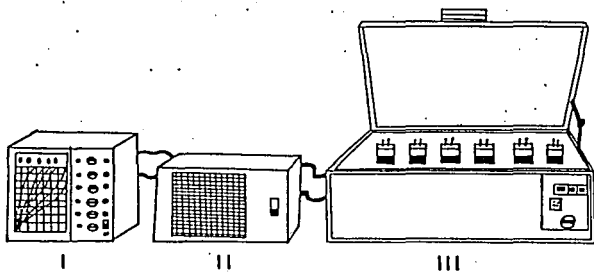


Figura I-2. Equipo Voith-Sapromat B6 de seis unidades, para determinación de  $DBO_5$

- I Graficador de curvas
- II Unidad de enfriamiento
- III Baño de agua con temperatura controlada



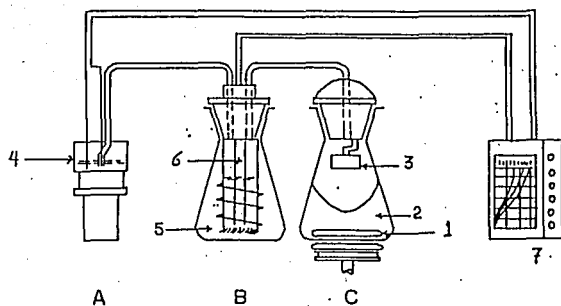


Figura I-3. Diagrama de una unidad de medición

A Indicador de presión  
 B Generador de oxígeno  
 C Vaso de reacción

1 barra magnetica  
 2 muestra (250 mL)  
 3 captador de  $\text{CO}_2$   
 4 indicador de presión  
 5 electrolito  
 6 electrodos  
 7 registro (graficador)

Cabe hacer mención que el resultado obtenido sólo constituye el contenido parcial de material orgánico biodegradable ya que únicamente se dejó interaccionar a los microorganismos con el substrato durante un período de 5 días a 20°C, lo cual permite solamente la degradación del material de más fácil consumo bajo esas condiciones.

Cálculo del factor  
de dilución (f) :

$$f = \frac{VT}{X}$$

$$f = \frac{250}{50} = 5$$

Donde:

VT= volumen total (mL)

X= volumen de muestra no diluido (mL)

### Procedimiento:

- 1.- Centrifugar las muestras provenientes tanto de la alimentación como de las diez cámaras que forman el sistema de tratamiento (3, 600 rpm a 5°C, durante 15 minutos).
- 2.- Depositar en el vaso de reacción 50 mL de muestra más 200 mL de agua corriente así como una barra de agitación y el inóculo microbiano.
- 3.- Colocar en el tapón del vaso de reacción cal de sodio granulada, para captar el CO<sub>2</sub> producido durante el metabolismo aerobio microbiano, previo calentamiento a 103°C durante una hora y posterior enfriamiento en un desecador.
- 4.- Cerrar y asegurar con el "cinturón" metálico, el tapón al vaso de reacción.
- 5.- En la hoja de papel del graficador, realizar las anotaciones pertinentes (fecha, hora de inicio de la prueba, procedencia de la muestra y color correspondiente en la gráfica).
- 6.- Ajustar los indicadores digitales (perillas) a cero y de ser necesario activar el sistema de graficación.
- 7.- Introducir el vaso de reacción en el baño de agua, previo arranque con media hora de anticipación, para calentamiento del agua.
- 8.- Realizar las interconexiones necesarias de mangueras y electrodos de los diferentes componentes de las seis unidades de medición.
- 9.- Encender el mecanismo de agitación y el graficador.
- 10.- Ajustar el indicador de presión.
- 11.- Registrar después de cinco días los valores obtenidos en las perillas del graficador (en caso necesario, retirar la gráfica).
- 12.- Apagar el equipo; abrir el tapón del vaso indicador de presión; desconectar la manguera de los vasos de reacción y de manera parcial los electrodos.
- 13.- Retirar las muestras y lavar con agua corriente los vasos de reacción y barra de agitación.

A N E X O      I I

TECNICAS PARA DETERMINACION Y CUENTA DE MICROORGANISMOS

## II.1 Preparaciones permanentes:

### Técnica de Klein

La técnica de Klein no utiliza ningún fijador, sino simplemente se deja secar, lo cual puede ocasionar que los organismos sufran una ligera 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 citoprocto.

#### Procedimiento:

- 1.- Colocar una gota de cultivo sobre el cubreobjetos, extenderla con una aguja de disección y dejar secar al aire libre.
- 2.- Introducir el cubreobjetos en una solución de nitrato de plata al 5% durante 5 minutos.
- 3.- Retirar el cubreobjetos y lavarlo dos veces con agua destilada.
- 4.- Colocar el cubreobjetos en una caja petri con agua destilada y fondo blanco. Irradiar con una lámpara de luz ultravioleta la preparación hasta que tome un color pardo claro (de 2 a 5 minutos).
- 5.- Lavar con agua destilada.
- 6.- Dejar secar al aire libre.
- 7.- Montar en bálsamo de Canadá.
- 8.- Observar los resultados al microscopio.

### Técnica de protargol

La técnica de Protargol resulta adecuada para la observación de estructuras argentófilas como son: cinetosomas, cinetias, poros de las vacuolas contráctiles, el citoprocto, el argiroma y de manera indirecta hace resaltar el aparato nuclear. Para aplicar la técnica de protargol propuesta por Lee et al. (1985) es necesario realizar previamente la adhesión de los organismos a un cubreobjetos, para lo cual se recomienda emplear el adhesivo de Haupt o bien el método de adhesión de Gates. Ambas adhesiones se describen al final de ésta técnica.

### Procedimiento:

- 1.- Colocar el cubreobjetos con los ciliados adheridos, en una solución de permanganato de potasio al 0.5% por 5 minutos. Las células se tornan color pardo.
- 2.- Lavar en agua corriente para remover el exceso de permanganato de potasio. Escurrir después de cada lavado, el agua que escurra debe ser transparente al final de este paso.
- 3.- Colocar el cubreobjetos en solución de ácido oxálico al 5% por 5 minutos y escurrir, éste removerá la coloración producida en el paso anterior.
- 4.- Lavar y escurrir de 3 a 6 veces con agua corriente, para remover el ácido oxálico, el cual inhibe la tinción por protargol.
- 5.- Colocar el cubreobjetos en una solución de protargol de 0.5 a 2% . El protargol debe espolvorearse sobre el agua destilada, dejando que se disuelva solo (no mezclar ni agitar). Medir el pH y de ser necesario ajustarlo a 8.8 con una solución 0.1 N de hidróxido de sodio. Antes de introducir el cubreobjetos en la solución de protargol debe introducirse láminas o alambre de cobre lijados, flameados y pasados por etanol al 95 por ciento.
- 6.- Extraer los cubreobjetos una vez que el protargol haya bajado a un pH entre 6.8 y 7.0, normalmente una noche, colocarlos en solución de hidroquinona al 1% disuelta en sulfito de sodio al 5% por 5 minutos (para revelar la plata).
- 7.- Lavar con agua corriente de 2 a 3 veces, escurrir después de cada lavado.
- 8.- Los cubreobjetos deben sacarse y meterse rápidamente en una solución de cloruro de oro al 1 por ciento.
- 9.- Colocar los cubreobjetos en una solución de ácido oxálico 2% por 5 minutos como máximo.
- 10.-Lavar una vez en agua corriente y escurrir. Revisar al microscopio.
- 11.-Colocar el cubreobjetos en una solución de tiosulfato de sodio 5% durante 5 minutos (para fijar la tinción).
- 12.-Lavar en agua destilada y escurrir.
- 13.-Deshidratar gradual y lentamente en isopropanoles de 15, 30, 50, 70, 95 y 100%, por 5, 6, 7, 8, 9 y 10 minutos, respectivamente.
- 14.-Trasladar el cubreobjetos a xilol durante 10 minutos.

15.-Montar en bálsamo de Canadá.

16.-Después de que la preparación haya secado, observar al microscopio.

### Técnicas de adhesión

En general, para las preparaciones permanentes, es recomendable la aplicación de alguna de las siguientes técnicas de adhesión.

#### Adhesivo de Haupt

El adhesivo de Haupt se prepara con un gramo de grenetina disuelta en 10 mL de agua destilada calentada a 30°C, cuando este completamente disuelta agregar 2 g de cristales de fenol y 15 mL de glicerina químicamente pura, homogenizar completamente y filtrar 2 veces.

#### Procedimiento:

- 1.- Colocar una gota pequeña del adhesivo sobre el cubreobjetos, extenderla completamente sobre la superficie del mismo, de tal manera que quede solamente una capa delgada y homogénea (una capa gruesa es más susceptible de desprenderse que una delgada).
- 2.- Depositar los cubreobjetos en una estufa a 40°C o sobre una plancha caliente para que seque.
- 3.- Agregar al cubreobjetos una gota de organismos previamente fijados (el fijador puede ser formol al 4% o solución de Bouin), dejar secar y agregar nuevamente otra gota.
- 4.- Proceder con los pasos de la técnica micrográfica o de tinción supravital elegida.

### Adhesión de Curds-Gates-Roberts

#### Procedimiento:

- 1.- En un recipiente pequeño, fijar los ciliados por 5 a 10 minutos con Bouin (75 mL de solución saturada de ácido pícrico, 25 mL de formol, 5 mL de ácido acético glacial). No se debe mantener a los ciliados con este fijador por períodos largos.

- 2.- Deshidratar en alcohol isopropílico de 70% y absoluto. No es necesario remover todo el fijador durante este procedimiento. Centrifugar a baja revolución (100 - 200 rpm).
- 3.- Esparcir sobre el cubreobjetos una mezcla de albumina : glicerina (2:1) y secar en una placa caliente (45-50°C) hasta que este pegajosa. Añadir una gota del cultivo y dejarlo en la placa por 1 a 2 minutos para que se evapore el alcohol y la glicerina. La albumina o clara de huevo debe ser fresca.
- 4.- Cubrir con alcohol/formol (proporción 1:1) y dejarlo de 5 a 30 minutos para que se asiente la albumina. El formol es de tipo comercial (40%) y el alcohol es etílico absoluto.
- 5.- Trasladar el cubreobjetos en la siguiente secuencia de alcoholes: isopropílico 95%, etílico absoluto (2 veces) y metílico absoluto, durante 5 minutos en cada uno, para deshidratar a los organismos.
- 6.- Sumergir en alcohol metílico absoluto con parlodión al 0.5%, hasta que tenga apariencia lechosa.
- 7.- Trasladar a la siguiente secuencia de alcoholes: Isopropílico 70%, 50%, y 30%, durante 5 minutos cada uno, para hidratar los organismos.
- 8.- Lavar rápidamente tres veces en agua destilada. Una inmersión más prolongada en el agua tiende a desprender la albúmina.
- 9.- Aplicar la técnica de tinción supravital seleccionada.

## II.2 Técnica para la cuenta de microorganismos:

La metodología empleada para la cuenta de microorganismos fue basada en la cuenta microdiagonal de gota implementada por Lackey (en APHA, 1981), incorporando alguna ligeras modificaciones, con el fin de tener mayor certeza del número de organismos de interés, presentes en el volumen de muestra observado, así como para facilitar su distinción.

### Procedimiento:

- 1.- Tomar una volumen conocido de muestra homogénea.
- 2.- Colocarla en la parte central del portaobjetos.

- 3.- Colocar un cubreobjetos de 22 X 22 mm, cuidando de no crear burbujas.
- 4.- Contar los organismos en tres o cuatro franjas.

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

$$\frac{\text{Organismos}}{\text{mililitro}} = \frac{C}{(A) (S) (V)} \quad (TA)$$

Donde:

- C = Número de organismos contados.
- TA = Área del cubreobjetos en  $\text{mm}^2$ .
- A = Área de una franja en  $\text{mm}^2$ .
- S = Número de franjas contadas.
- V = Volumen de la muestra debajo del cubreobjetos.

El empleo de ésta técnica para cuenta de microorganismos, presenta algunas ventajas de uso, sobre las basadas en la cámara de Sedwick-Rafter (1 mL de muestra) y la de Neubauer (0.001 mL de muestra), conocida también como hemocitómetro (APHA, 1981). Entre las principales ventajas destaca el volumen de muestra empleado para su observación al microscopio (de 0.01 a 0.1 mL), el cual resulta más adecuado comparativamente ya que es un volumen intermedio. Dicho volumen permite un muestreo más representativo que el obtenido mediante el hemocitómetro y no tan extenuante como el de la cámara de Sedwick-Rafter.

Por otra parte, para facilitar la cuenta de los microorganismos presentes en la muestra, se agregó ocasionalmente solución de Bouin diluído (1/1000) o solución de yodo.

Se seleccionó un volumen de muestra de 0.1 mL y se contó la totalidad de los organismos presentes en la totalidad del área bajo el cubreobjetos de 20 X 20 mm. Lo anterior permite conocer el número de microorganismos presentes por unidad de volumen. En este caso se obtiene la relación de organismos por mililitro de la siguiente forma:

$$\frac{\text{organismos}}{\text{mililitro}} = C (F)$$

Donde:

- C = Número de organismos de interés contados en 0.1 mL.
- F = Factor de conversión a mL, en este caso vale 10, dado que:

$$1\text{mL} = F (0.1 \text{ mL}), \quad F = 1 \text{ mL} / 0.1 \text{ mL}, \quad F = 10$$



A pesar de que con las modificaciones realizadas se puede obtener una relación del número de organismos por unidad de volumen de muestra, con menor incertidumbre que la obtenida al contar únicamente parte del área total del cubreobjetos, continúan presentes algunos inconvenientes como son:

- La interferencia en el muestreo homogéneo del volumen por observar, debida a la presencia de flóculos de tamaño superior al del orificio de la pipeta con que se toma la muestra.
- El rápido deterioro de los organismos presentes en la muestra observada.
- El tiempo empleado para la cuenta total de los organismos en el volumen total de muestra seleccionada.

Por lo anterior se recomienda que, para la observación cuantitativa de los microorganismos presentes en muestras de agua que contengan flóculos o grumos de comunidades microbianas mayores a la apertura de la pipeta muestreadora, se realice la cuenta separando los flóculos del líquido, mediante un tamiz (malla de 1 a 2 mm de separación). Asimismo que el volumen del líquido por observar sea entre 0.05 y 0.1 mL. Respecto a la observación cuantitativa de los grumos microbianos, ésta resulta más complicada, debido a la dificultad que implica cuantificar con precisión tanto su área como su volumen. También representa un obstáculo la observación de su estructura al microscopio, dado que son cuerpos con varios estratos y su grosor impide el paso de la luz para su correcta observación.