

11661  
2<sup>29.</sup>



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN  
DIVISION POSGRADO

EVALUACION DEL EFECTO DEL FENOL  
SOBRE UNA POBLACION HETEROTROFA  
BACTERIANA PRESENTE EN UN SISTEMA  
DE LODOS ACTIVADOS

**T E S I S**

QUE PRESENTA

**Q. F. B. ROSA ELENA HERNANDEZ HERNANDEZ**

DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

(MICROBIOLOGIA)

MEXICO. D. F.

1998



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al M. en C. Vicente López Mercado, por el gran apoyo recibido para la realización de este trabajo.**

**Al M. en C. Rafael Inocencio Madrid Ríos, por su asesoría proporcionada para la realización del análisis estadístico.**

**Al Sr. Ismael Mora Cervantes, por su valiosa apoyo en la redacción y escritura de este trabajo.**

**Asimismo al Departamento de Becas del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara, por su apoyo para la impresión de esta tesis.**

# INDICE

<b>I.</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>i</b>
<b>II.</b>	<b>INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>2.1</b>	<b>RECURSOS HIDRAULICOS Y DEMANDA</b> .....	<b>1</b>
<b>2.2</b>	<b>USOS DEL AGUA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Doméstico</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Agrícola</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Industrial</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Energético</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3</b>	<b>CONTAMINACION DEL AGUA</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Fuentes de la contaminación</b> .....	<b>7</b>
2.3.1.1	Sector Urbano .....	7
2.3.1.2	Sector Industrial .....	8
2.3.1.3	Sector Agrícola .....	8
<b>2.3.2.</b>	<b>Tipos de contaminantes</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4</b>	<b>COMPUESTOS FENOLICOS COMO CONTAMINANTES</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Uso Industrial del fenol</b> .....	<b>10</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Carácter tóxico del fenol</b> .....	<b>11</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Susceptibilidad de los compuestos fenólicos a ser degradados</b> ..	<b>12</b>
2.4.3.1	Respiración aerobia .....	13
2.4.3.2	Fermentación .....	13
2.4.3.3	Respiración anaerobia .....	13
<b>2.4.4</b>	<b>Degradación aerobia</b> .....	<b>13</b>
2.4.4.1	Vía meta .....	14
2.4.4.2	Vía orto .....	16
<b>2.4.5</b>	<b>Fermentación</b> .....	<b>16</b>
<b>2.4.6</b>	<b>Degradación anaerobia</b> .....	<b>18</b>
2.4.6.1	Fotometabolismo anaerobio .....	18
2.4.6.2	Respiración nitrato .....	19
2.4.6.3	Sulfato reducción .....	19
2.4.6.4	Fermentación metanogénica .....	19

<b>2.5</b>	<b>SISTEMA DE LODOS ACTIVADOS</b>	<b>23</b>
2.5.1	Saprófitos	25
2.5.2	Depredadores	25
2.5.3	Organismos no deseados	25
2.5.4	Microbiología de lodos activados	25
2.5.4.1	Bacterias	25
2.5.4.2	Hongos	26
2.5.4.3	Protozoarios	27
2.5.4.4	Rotíferos	27
2.5.4.5	Crustáceos	27
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>29</b>
<b>IV.</b>	<b>MATERIALES Y METODOS</b>	<b>30</b>
<b>4.1</b>	<b>CARACTERISTICAS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES</b>	<b>30</b>
4.1.1	Funcionamiento de la unidad	31
4.1.2	Modelo de lodos activados empleado	31
<b>4.2</b>	<b>EXPERIMENTOS REALIZADOS</b>	<b>35</b>
4.2.1	Experimento-testigo	36
4.2.2	Experimentos con fenol	36
<b>4.3</b>	<b>ANALISIS MICROBIOLÓGICO</b>	<b>38</b>
4.3.1	Cuenta viable	38
4.3.2	Aislamiento e identificación	39
<b>4.4</b>	<b>TECNICAS DE ANALISIS DE LOS PARAMETROS EMPLEADOS</b>	<b>40</b>
4.4.1	Temperatura	40
4.4.2	Conductividad	40
4.4.3	pH	40
4.4.4	Oxígeno disuelto	40
4.4.5	Sólidos suspendidos	41
4.4.6	Sólidos suspendidos volátiles	41
4.4.7	Sólidos sedimentables	42
4.4.8	Índice volumétrico de lodos	42
4.4.9	Demanda química de oxígeno	42
4.4.10	Fenoles	44
4.4.11	Respiración	44

4.4.12 Flujo de desecho .....	48
4.3.13 Tiempo de residencia celular .....	48
4.3.14 Rendimiento celular en base a sustrato .....	49

**V. RESULTADOS Y DISCUSION ..... 50**

5.1 PRIMERA ETAPA .....	50
5.2 SEGUNDA Y TERCERA ETAPAS .....	56
5.3 ANALISIS ESTADISTICO .....	80

**VI. CONCLUSIONES ..... 85**

**VII. BIBLIOGRAFIA ..... 87**

## INDICE DE TABLAS

No.		Página
1.	Distribución del agua en la Tierra .....	4
2.	Características de los diversos tipos de agua residual .....	8
3.	Concentración de materia orgánica ( $S_0$ ) para cada una de las unidades .....	34
4.	Agua residual sintética .....	35
5.	Muestras .....	37
6.	Valores promedio de los parámetros del sistema de lodos activados sin fenol .....	50
7.	Géneros bacterianos encontrados durante el muestreo sin fenol (mesófilos aerobios) .....	51
8.	Géneros bacterianos encontrados durante el muestreo sin fenol (anaerobios facultativos) .....	52
9.	Valores promedio de los parámetros del sistema de lodos activados con fenol .....	61
10.	Eficiencia de remoción del fenol .....	62
11.	UFC/ml mesófilos aerobios .....	63
12.	UFC/ml anaerobios facultativos .....	64
13.	UFC/ml hongos filamentosos .....	65
14.	UFC/ml levaduras .....	66
15.	Géneros bacterianos encontrados durante el muestreo con fenol (mesófilos aerobios) .....	67

<b>No.</b>		<b>Página</b>
16.	Géneros bacterianos encontrados durante el muestreo con fenol (anaerobios facultativos) .....	68
17.	Transformaciones de los porcentajes de disminución de las poblaciones bacterianas .....	81
18.	Valores de F .....	82
19.	Comparaciones múltiples .....	83



## INDICE DE FIGURAS

No.		Página
1.	Representación esquemática del ciclo hidrológico . . . . .	3
2.	Ruta bioquímica de la vía meta en el catabolismo del fenol . . . . .	15
3.	Vía orto del catabolismo del fenol . . . . .	17
4.	Ruta metabólica del fenol en condiciones metanogénicas . . . . .	21
5.	Ruta metabólica del fenol vía ácido benzóico . . . . .	22
6.	Esquema de la unidad experimental para lodos activados . . . . .	32
7.	Esquema del sistema de lodos activados tipo mezcla completa con recirculación interna . . . . .	33
8.	Esquema del método de la 4-aminoantipirina . . . . .	45
9.	Analogía de una gráfica empleada para el cálculo de respiración . . . . .	47
10.	Comportamiento del sistema de lodos activados sin fenol $S_0$ :300 mg/l . . . . .	53
11.	Comportamiento del sistema de lodos activados sin fenol $S_0$ :600 mg/l . . . . .	54
12.	Comportamiento del sistema de lodos activados sin fenol $S_0$ :900 mg/l . . . . .	55
13.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol $S_0$ :300 mg/l 0.5 mg/l fenol . . . . .	69
14.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol $S_0$ :300 mg/l 1.0 mg/l fenol . . . . .	70

<b>No.</b>		<b>Página</b>
15.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :300 mg/l 35.0 mg/l fenol .....	71
16.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :600 mg/l 0.5 mg/l fenol .....	72
17.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :600 mg/l 2.5 mg/l fenol .....	73
18.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :600 mg/l 20 mg/l fenol .....	74
19.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :600 mg/l 50 mg/l fenol .....	75
20.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :900 mg/l 0.5 mg/l fenol .....	76
21.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :900 mg/l 5.0 mg/l fenol .....	77
22.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :900 mg/l 20.0 mg/l fenol .....	78
23.	Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol S <sub>0</sub> :900 mg/l 65.0 mg/l fenol .....	79

## I. RESUMEN

El agua es un factor indispensable para el hombre, tanto porque resulta esencial para su ciclo vital, como por las ingerencias que tiene prácticamente en todas las actividades que el mismo realiza. México cuenta con suficientes volúmenes de agua como para satisfacer las demandas de abastecimiento de todos los sectores, sin embargo, su distribución geográfica es completamente adversa para casi la mitad del territorio nacional, ya que existen zonas con precipitación pluvial de 2,500 mm o más y zonas con menos de 500 mm de lluvia anual. Aunado a esto, se tiene que los asentamientos humanos e industriales se localizan en lugares donde el agua es escasa, lo que ha generado problemas de disponibilidad del agua y de contaminación. Entre los múltiples contaminantes existentes en el agua, se encuentran los compuestos fenólicos.

El fenol es un compuesto orgánico sintético que constituye uno de los contaminantes industriales de mayor importancia debido a su toxicidad. Entre los métodos más empleados para remover el fenol se encuentran los sistemas de tratamiento biológico, y entre estos el sistema de lodos activados, el cual es bastante eficiente.

En este trabajo se estudió el efecto que diferentes concentraciones de fenol tienen sobre los microorganismos presentes en el sistema; la degradación del fenol, y al mismo tiempo fueron aislados e identificados los microorganismos que predominaron en estas condiciones de trabajo.

Para el desarrollo experimental, se utilizaron 3 unidades tipo Eckenfelder con mezclado completo de 10 litros de capacidad. Como alimento base se empleó agua residual sintética (ARS), la cual reproduce las características del agua residual doméstica, y al mismo tiempo permite un mayor control sobre las variables. Los lodos activados fueron facilitados por las plantas de tratamiento de aguas residuales de San Juan de Aragón y San Juan Ixhuatepec. Las unidades fueron operadas con una concentración celular de 2.0 g/l, medida como sólidos suspendidos volátiles (SSV), un tiempo de residencia hidráulico de 7.35 horas y se manejaron tres concentraciones de materia orgánica, medida como DQO, 300 mg/l, 600 y 900 mg/l. Se probaron 8 concentraciones de fenol (0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 20.0, 35.0, 50.0 y 65.0 mg/l).

Para el recuento de microorganismos se utilizó la técnica de vaciado en placa. El medio del cultivo usado para el recuento de organismos mesófilos aerobios fue Casitona, Glicerol, Extracto de levadura (CGY), para organismos anaerobios facultativos, Agar Infusión Cerebro Corazón (BHI), y Agar Dextrosa Papa (ADP) para hongos filamentosos y levaduras. La identificación bacteriana se realizó por medio de tarjetas usando un analizador automatizado (Sistema Vitek 120 de Bio Merieux).

La eficiencia de remoción de materia orgánica ( $\mu$ ), descendió en las unidades sometidas al fenol, como consecuencia del aumento que experimentó el tiempo de residencia celular ( $\theta_c$ ).

La respiración experimentó un incremento como respuesta a la presencia del fenol, esto indica intoxicación del sistema microbiano, el cual aumenta su capacidad degradativa como una manera de desintoxicarse; lo que sugiere que el fenol favoreció el desarrollo de especies capaces de degradarlo. Los incrementos en la concentración de fenol originaron una disminución de la velocidad específica de crecimiento, lo que dio como consecuencia una disminución en el número de las poblaciones bacterianas presentes en el sistema, este efecto fue mayor para altas concentraciones del tóxico. No obstante esta disminución, no se presentó un descenso en la remoción de fenol, lo que significa que la actividad degradativa no siempre se sustenta en el gran número de bacterias degradadoras de fenol, sino que esta actividad de los lodos se debe a la habilidad de cada especie para degradar al fenol y no al número de microorganismos.

El sistema disminuyó su rendimiento en base a sustrato, lo que dió como resultado una menor producción de células indicando que existe cierto grado de intoxicación.

Fueron identificados 11 géneros bacterianos (*Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Comamonas*, *Flavobacterium*, *Morganella*, *Pasteurella*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*).

La presencia de hongos filamentosos y levaduras no fue significativa, por lo que se puede afirmar que estos microorganismos no tuvieron un papel importante en el sistema.

Es posible remover un 99.9% de fenol bajo las condiciones experimentales ensayados para una concentración de 65.0 mg/l de fenol, sin que se presente una caída en el sistema.

## II. INTRODUCCION

El agua era, según los antiguos, uno de los cuatro elementos esenciales que formaban el mundo. En los umbrales del siglo XXI nuestras sociedades continúan situando sus posibilidades de vida y de trabajo en el nivel en que disponen del líquido en la cantidad y calidad requeridas. Hoy, cuando en el planeta existen más de 5,000 millones de seres humanos, miles mueren de sed y de hambre a causa de las sequías. Muchos padecen las consecuencias de las inundaciones. En el presente casi tres cuartas partes de la humanidad viven pendientes de la ocurrencia oportuna de la lluvia, suficiente o escasa y en algunos casos devastadora, y del comportamiento no controlado de ríos y arroyos (SARH, 1988).

Constituye el 70% o más del peso de la mayor parte de los organismos, es inerte en un gran número de casos, representa el medio ideal para que se verifiquen la mayor parte de las reacciones de los seres vivos. (Lehninger, 1975). Asimismo es un factor indispensable para el hombre, tanto porque resulta esencial para su ciclo vital, como por las ingerencias que tiene prácticamente en todas las actividades que él mismo realiza. Como resultado de los usos a los que es sometida el agua, tanto su calidad como su cantidad se han alterado, cambiando con ello su disponibilidad y distribución geográfica. Dichos cambios a su vez han originado otros efectos como modificaciones y afectaciones en las actividades humanas preestablecidas, el clima, ecosistemas acuáticos y terrestres (SARH, 1982).

La naturaleza polar del agua es la responsable de las propiedades características que ésta presenta con respecto a otros compuestos; dichas propiedades se deben a los puentes de hidrógeno, los cuales proporcionan eficazmente al agua las propiedades de una molécula mucho mayor y más pesada, explicando en parte su punto de fusión, ebullición, calor de fusión y de evaporación relativamente elevados. (Hein, 1992).

### 2.1 RECURSOS HIDRÁULICOS Y DEMANDA.

Desde las primeras formas de vida hasta la época actual, el volumen general del agua en el planeta ha permanecido aproximadamente constante merced al ciclo hidrológico; en cuyo transcurso ocurren la evaporación, condensación, la precipitación, percolación y el

---

escurrimiento; parte del agua cae directamente sobre la superficie acuática, otra fluye sobre la tierra haciendo ruta en ríos, arroyos, estanques y océanos; parte de ésta agua retorna a la atmósfera por evaporación, desde las superficies acuáticas y terrestres, así como por evaporación y transpiración de la vegetación, mientras que otra parte se percola al subsuelo. En la Figura 1 se muestra el ciclo hidrológico (Gordon, 1995).

Se calcula que la cantidad de agua en la Tierra es de aproximadamente  $1,385 \times 10^5 \text{ m}^3$ ; la distribución a nivel mundial del volumen total del agua en la Tierra se muestra en la Tabla I, en ella se puede apreciar la pequeña proporción de agua dulce que está disponible para ser empleada en las distintas actividades que el hombre realiza (Dugan, 1972).

México cuenta con suficientes volúmenes de agua, como para satisfacer las demandas de abastecimiento de todos los sectores, sin embargo, su distribución geográfica es completamente adversa para casi la mitad del territorio nacional. El país se encuentra dividido en 320 cuencas hidrológicas, con un escurrimiento medio anual de 410,000 millones de metros cúbicos en promedio, cifra que representa prácticamente el total disponible como recurso renovable.

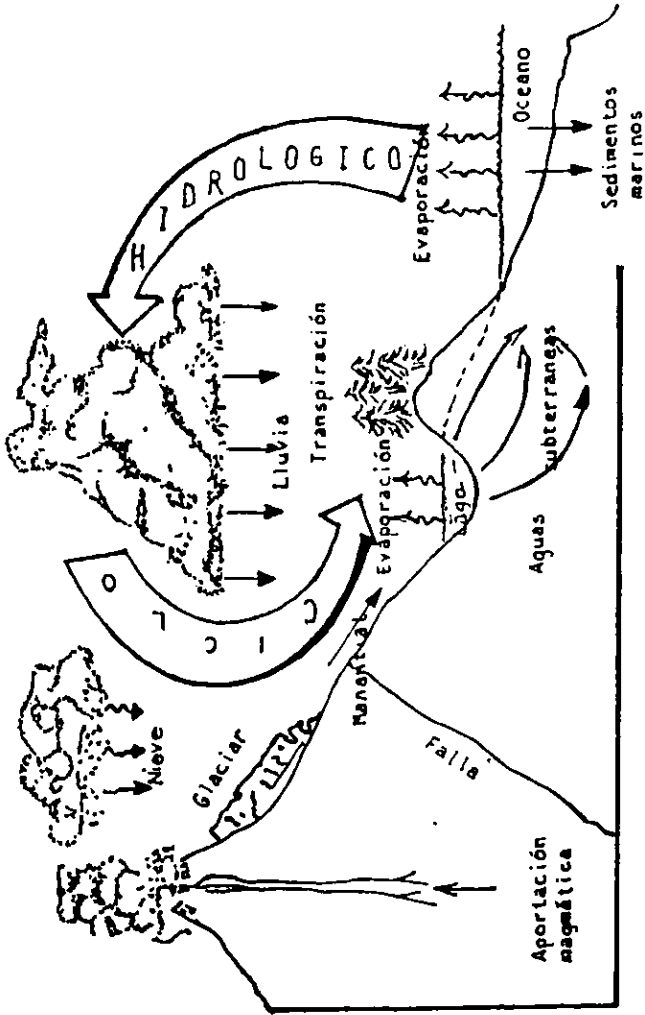


Figura 1. Representación esquemática del ciclo hidrológico (Davies, 1971)

**Tabla 1**  
**Distribución del agua en la Tierra**

TIPO	%
Agua Oceánica	97.30
Agua Dulce	2.70
<b>Localización del Agua Dulce</b>	
Casquetes polares y glaciares	72.20
Aguas subterráneas y humedad del suelo	22.40
Lagos y Pantanos	0.35
Atmósfera	0.04
Corrientes	0.01

Dugan, 1972

Con respecto a la distribución geográfica, el norte del país tiene un escurrimiento reducido, 12,300 millones de metros cúbicos, representa 3% del total en un área equivalente al 30% del país, mientras que para el sureste es de 205,000 millones de metros cúbicos, que representan el 50% de la disponibilidad total en un área no mayor al 20% del territorio nacional (SEDUE, 1988).

La mayor disponibilidad del agua se encuentra por debajo de los 500 m sobre el nivel del mar. Si se comparan las zonas de disponibilidad del agua con las de asentamientos humanos e industriales, existen situaciones contrastantes, tales como que más del 85% del agua del país se encuentra en la zona baja, es decir, por debajo de la cota 500, mientras que más del 70% de la población y 80% de la planta industrial se localizan en la zona alta; arriba de 500 m, de esta última el 55% se encuentra en el Valle de México, que sufre graves problemas de agua (SEDUE, 1988).



En la zona alta, como consecuencia de ser la más densamente poblada y con escasa disponibilidad de agua para abastecimiento, las aguas de los ríos sufren ya algunos casos de contaminación.

Por lo anterior podemos observar que el desequilibrio entre la oferta y la demanda de agua se debe principalmente a la inadecuada distribución de los asentamientos humanos en relación a las fuentes superficiales, motivo por el cual, los grandes polos de desarrollo no cuentan con un abastecimiento adecuado a sus necesidades, en contraste con algunos núcleos de menor densidad demográfica que disfrutaban de volúmenes abundantes.

## **2.2 USOS DEL AGUA.**

En nuestros días entre los usos a los que se destina el recurso hidráulico se encuentran los siguientes:

### **2.2.1 Doméstico.**

Este tiene preferencia sobre las otras clases de usos y su abastecimiento va de acuerdo con la importancia política, económica y grado de desarrollo de la población. En las localidades rurales que tienen un número menor de 5,000 habitantes la dotación de agua suele ser apenas la necesaria para satisfacer las necesidades primarias de los pobladores, mientras que en las grandes ciudades, se suministra agua en cantidades suficientes para satisfacer con holgura las necesidades de sus habitantes, incluyendo usos doméstico, industriales y comerciales.

El consumo anual de agua para uso doméstico en el año de 1990 se estimó en 7,558 millones de metros cúbicos y para el año 2000 se espera un consumo anual de 10,958 millones de metros cúbicos (SEDUE, 1988).

### **2.2.2 Agrícola.**

Debido a la diversidad de climas que presenta el país, el riego es un factor de primera importancia para el desarrollo agrícola de la nación. El 36% de la superficie cultivable es

---

árida o semiárida y sin riego no es posible la agricultura; el 33% es semiárida y en estos terrenos sólo puede obtenerse una cosecha temporal al año, durante la época de lluvias, el 5% de la superficie es semihúmeda y permite obtener cosechas todo el año.

El consumo anual de agua destinada a este rubro en 1990 se estimó en 74,400 millones de metros cúbicos, para una superficie de 6.6 millones de hectáreas. En el año 2000 se espera contar con 8.4 millones de hectáreas de riego y el consumo de agua se espera sea de 95,200 millones de metros cúbicos anuales (SEDUE, 1988).

### **2.2.3 Industrial.**

La planta industrial en México se ha desarrollado de manera acelerada y con un alto grado de concentración. Las consideraciones sobre costo y dificultades de abastecimiento de agua se relegaron a segundo término, lo cual ha provocado entre otras cosas, la sobreexplotación de acuíferos, la competencia por fuentes de abastecimiento y la elevación por concepto del servicio del agua. Se estima que en 1990 la industria requirió de 9,500 millones de metros cúbicos y para el año 2000 se espera un consumo anual de 22,700 millones de metros cúbicos (SEDUE, 1988).

### **2.2.4 Energético.**

No se puede concebir la existencia de las sociedades modernas sin el uso de la energía eléctrica. La capacidad instalada en México es de 4,175 millones de Kw, el 59% es generada en plantas hidroeléctricas, el 39% en termoeléctricas y el 2% restante en plantas de combustión interna y geotérmicas. El agua utilizada para este propósito es de paso y empleada posteriormente en otras actividades (SEDUE, 1988).

## **2.3 CONTAMINACIÓN DEL AGUA.**

Desde la más remota antigüedad, el agua ha sido la base de la implantación y evolución de los primeros núcleos de población, siendo hasta la época actual, el motor que impulsa el desarrollo y el crecimiento económico; razón por la cual, a diferencia de otros recursos, no

---

tiene sustituto en las diferentes actividades urbanas, agropecuarias e industriales. Su relevante importancia ha creado la necesidad de construir sistemas de captación, conducción, almacenaje y distribución para su mejor aprovechamiento, teniendo como complemento indispensable obras de protección contra inundaciones, encauzamientos de corrientes, drenaje y desagüe (SEDUE, 1988).

Se puede definir la contaminación del agua, como todas las alteraciones desfavorables que ésta sufre, al incorporársele una serie de sustancias que alteran sus condiciones naturales de calidad, ocasionando grandes riesgos para la salud y el bienestar de la población (Winkler, 1996).

Por un lado los desperdicios, producto de la vida urbana, sea doméstica, agrícola o industrial que no son adecuadamente dispuestos, ocasionan en el agua alteraciones físicas, químicas y biológicas, deteriorando los recursos naturales. Por otro lado, la utilización de sustancias complejas, algunas de ellas tóxicas, con el tiempo llegan a afectar las funciones fisiológicas y psicológicas del hombre, y llegan a provocarle hasta la muerte.

Los factores que agravan los problemas de contaminación son: el crecimiento de la población, el incremento de la actividad de los diferentes sectores y los costos asociados al establecimiento de mecanismos de control. Un 80% de la contaminación del agua en el país proviene de la industria manufacturera, principalmente de las ramas de la explotación y refinación del petróleo, fabricación de papel, celulosa, textil, química y siderúrgica (SEDUE, 1988).

### **2.3.1 Fuentes de la contaminación.**

Las principales fuentes que conducen a la contaminación del agua se agrupan en tres sectores:

#### **2.3.1.1 Sector Urbano.**

Correspondiente a las descargas de residuo de origen doméstico y público que constituyen las aguas residuales municipales (SEDUE, 1988).

### 2.3.1.2 Sector Industrial.

Este sector está constituido por las descargas de aguas residuales originadas en las actividades correspondientes a la extracción y transformación de recursos naturales en bienes de consumo y satisfactores para la población (SEDUE, 1988).

### 2.3.1.3 Sector Agrícola.

Comprende los afluentes de instalaciones dedicadas a la crianza y engorda de ganado mayor y menor, así como por las aguas de retorno de los campos agrícolas (SEDUE, 1988).

De estas fuentes, las dos primeras son las que contaminan en mayor grado el agua, ya que más del 60% de la población habita en zonas urbanas; en la Tabla 2 se aprecian las características de los diversos tipos de agua residual (SEDUE, 1988).

**Tabla 2**  
**Características de los diversos tipos de agua residual**

Urbanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grandes volúmenes.</li> <li>- Alto contenido de materia orgánica.</li> <li>- Patógenos.</li> <li>- Poca variación en la composición.</li> <li>- Variación horaria.</li> </ul>
Industriales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grandes volúmenes.</li> <li>- Gran variación en la composición.</li> <li>- Continuas o periódicas.</li> </ul>
Agrícolas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Volumen dependiente de la precipitación y permeabilidad del suelo.</li> <li>- Componentes del suelo, fertilizantes y plaguicidas.</li> </ul>

### 2.3.2 Tipos de contaminantes.

Los contaminantes han sido clasificados en los siguientes grupos (López, 1988): sustancias orgánicas, organismos microbianos, sustancias radioactivas, sustancias inorgánicas y contaminación térmica; de éstos, los más complicados para propósito de tratamiento son las sustancias orgánicas e inorgánicas; en las sustancias inorgánicas están incluidos los metales pesados, los cuales destacan por su toxicidad. Dentro de la materia orgánica se encuentran los compuestos orgánicos naturales y los compuestos orgánicos sintéticos; en el primer grupo se encuentran todos los compuestos orgánicos que han sido tomados de la naturaleza (polisacáridos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos), usados con un cierto objetivo (alimento, abrigo, empaques, etc.) y agregados como desechos al agua. Estos compuestos han estado en contacto con los microorganismos por millones de años, por lo que estos últimos han aprendido a vivir con ellos desarrollando la capacidad enzimática para degradarlos y utilizarlos como alimento dando como resultado su no muy difícil remoción. El grupo de los compuestos sintéticos incluye a todos los compuestos de fabricación humana, que se han producido para cubrir las necesidades que los compuestos naturales no eran capaces de hacer o lo hacían en forma parcial o deficiente. El número de estos productos ha aumentado enormemente después de la finalización de la segunda guerra mundial, entre estos se encuentran: los detergentes sintéticos, los plásticos, plaguicidas, etc.

No hay duda de los beneficios que este tipo de productos le han proporcionado al hombre; sin embargo, estos materiales son relativamente nuevos en la naturaleza; por esta razón no son reconocidos por los microorganismos, por lo que no se degradan fácilmente, son tóxicos, se bioacumulan; esto unido a los miles de toneladas que de ellos se emplean les confiere el término de problema prioritario en el tratamiento del agua residual, destacando entre ellos los compuestos fenólicos.

## 2.4 COMPUESTOS FENÓLICOS COMO CONTAMINANTES.

El fenol y sus derivados son moléculas constituidas fundamentalmente por un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático (bencénico). Uno ó más del resto de los átomos de carbono pueden estar unidos a un grupo halógeno, alquídico, aldehído, arilo, nitro o nitroso. La nomenclatura comúnmente utilizada para describir a los fenoles usa el fenol

como la unidad más simple y a los compuestos relacionados como derivados de éste. Es común encontrar en la literatura algunos fenoles llamados por su nombre común. Por ejemplo, los metil fenoles reciben el nombre de cresoles (Brewster *et al.* 1975).

Los fenoles más sencillos son líquidos o sólidos que presentan bajo punto de fusión; presentan elevados puntos de ebullición, debido a que tienden a formar puentes de hidrógeno. Son solubles en solventes orgánicos tales como: tetracloruro de carbono, metanol, ácido acético, benceno y glicerol. Son incoloros salvo que tengan algún grupo capaz de producir coloración. Presentan una solubilidad en agua muy variable, la cual va desde 123 g/100 g de agua a 25° (en el caso del resorcinol) a 0.2 g/100 g de agua a 25° (para el O-nitrofenol) (Brewster *et al.* 1975).

De la misma manera que el benceno, el fenol es capaz de formar un número importante de derivados por sustitución con la acción de los halógenos; del ácido nítrico, y del ácido sulfúrico (Brewster *et al.* 1975).

El benceno y sus derivados, incluidos los compuestos fenólicos, se encuentran comúnmente en la naturaleza teniendo una distribución ubicua. Se les puede encontrar en el suelo, agua, atmósfera. También se les puede hallar constituyendo la orina de algunos animales; las plantas expulsan fenoles como una forma de defensa contra ataques microbianos que pudieran dañarlas. Sin embargo, las actividades humanas, en especial los procesos industriales (extracción y uso de combustibles fósiles, petroquímicas e industrias derivadas, producción de compuestos sintéticos, etc.), han generado graves problemas de contaminación con hidrocarburos aromáticos (CINVESTAV-SEDUE, 1991).

#### 2.4.1 Uso industrial del fenol.

No obstante que los fenoles son compuestos altamente tóxicos se emplean de manera abundante en la industria, dada su amplia versatilidad. A continuación se mencionan algunos de los usos más importantes de estos compuestos (CINVESTAV-SEDUE, 1991).

El fenol se emplea en la fabricación de resinas fenólicas, las cuales pueden destinarse para la fabricación de productos de la fundición, tratamiento para maderas, pinturas y barnices. También se usan en la síntesis de bifenol A y Caprolactano. El Bifenol A es el principal

ingrediente utilizado en la elaboración de las resinas epóxicas, mientras que el Caprolactano se usa en la fabricación de nylon, plásticos, poliuretanos, etc. (CINVESTAV-SEDUE, 1991).

Los derivados halogenados del fenol se utilizan en la fabricación de agentes desinfectantes, fungicidas, pesticidas, herbicidas, antisépticos, aditivos para cosméticos. Otros productos importantes que se obtienen por medio de los compuestos fenólicos son los siguientes: detergentes, antioxidantes, ácido adípico, ácido pícrico, ciclohexanol y algunas drogas (Brewster *et al.*, 1975).

En la industria petroquímica el fenol es utilizado como disolvente en la extracción de compuestos policíclicos de los aceites lubricantes.

Los compuestos fenólicos se encuentran en las aguas de desechos de las industrias mencionadas. También se encuentran fenoles en las descargas de las plantas siderúrgicas y todas aquellas que tienen que ver con la extracción y la transformación del petróleo. En la industria del acero, los fenoles provienen de la combustión del carbón en los altos hornos, del taller de laminado y del baño químico para la limpieza de metales. La industria del carbón y del papel también generan grandes cantidades de desechos que contienen compuestos fenólicos.

#### 2.4.2 Carácter tóxico del fenol.

El interés sobre la estructura y propiedades fisiológicas de los hidrocarburos aromáticos puede rastrearse hasta el año de 1761, en el que se reporta el primer caso de carcinogénesis química. Cien años después se estableció de manera definitiva la relación entre el cáncer de la piel y el contacto con aceites minerales y el hollín. En 1930, Kennaway y Heiger demostraron que el antraceno produce cáncer en la piel de los ratones. En la actualidad, el carácter tóxico de los compuestos fenólicos está bien establecido (Méndez, 1991).

Los fenoles constituyen un gran número de compuestos que por sus cualidades moleculares representan grandes peligros de toxicidad, los cuales son muy dañinos para la salud. El fenol absorbido por vía digestiva o a través de la piel es tóxico prácticamente a cualquier

concentración; la ingestión del agua o alimentos contaminados con fenol producen irritación renal y conmoción. En casos graves se presenta náusea, vómito, dolor abdominal, edema pulmonar y congestión cardiovascular y en algunas ocasiones puede causar la muerte, aunque la posibilidad de que esto suceda es remota ya que hasta en concentraciones muy bajas, los fenoles imparten al agua un sabor tan desagradable que no es probable que se consuman grandes cantidades perjudiciales sin darse cuenta (Méndez, 1991).

Los compuestos fenólicos poseen una fuerte acción bactericida, lo cual dificulta el tratamiento biológico de las aguas residuales que los contienen; presentan una elevada toxicidad para la vida acuática, y confieren olor y sabor desagradable al agua aún a bajas concentraciones.

El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) considera a los fenoles (junto con otros 12 grupos de sustancias) como prioritarios para ser estudiados y tomar acciones para su disposición (CINVESTAV-SEDUE, 1991).

#### **2.4.3 Susceptibilidad de los compuestos fenólicos a ser degradados.**

Los avances en la biotecnología permiten la remoción de casi cualquier contaminante que se encuentre en las aguas residuales, siempre y cuando se presenten las condiciones necesarias. Durante la remoción de los contaminantes, los sistemas de tratamiento utilizan ya sea fenómenos químicos o biológicos para la depuración. De los sistemas existentes, se prefieren los que utilizan fenómenos biológicos para el tratamiento de desechos que involucren compuestos tóxicos, como lo es el fenol y sus derivados.

El benceno y sus derivados forman un grupo de compuestos muy estables, debido a que el núcleo aromático posee una elevada energía de resonancia. Sin embargo, a pesar de la estabilidad del núcleo aromático, existen microorganismos que pueden degradarlos completamente; siempre y cuando el compuesto bencénico se encuentre presente en concentraciones moderadas (Gibson, 1968). Entre los microorganismos que son capaces de degradar a los compuestos fenólicos se encuentran: *Trichosporon cutaneum* (Yang and Humphrey, 1975), *Pseudomonas putida* ATCC 11172 (Molin and Nilsson, 1985), *Sphingomonas* (Nohynek et al., 1996), *Comamonas testosteroni* (Bae et al., 1996), *Aeromonas*, *Flavimonas* (Buitrón et al, 1997).



---

Existen tres mecanismos generales para el catabolismo de los compuestos orgánicos (Evans, 1977).

#### 2.4.3.1 Respiración aerobia.

La oxidación ocurre a expensas del oxígeno molecular que actúa como aceptor terminal de electrones; el oxígeno es también un reactante para las enzimas oxigenasas dado que es incorporado a los productos. La disponibilidad del oxígeno es a menudo un factor limitante en la mineralización.

#### 2.4.3.2 Fermentación.

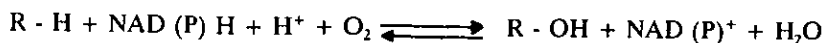
No son requeridos los aceptores externos, la fuente de carbono es degradado en forma anaerobia por una serie de reacciones que liberan energía para la fosforilación a nivel de sustrato.

#### 2.4.3.3 Respiración anaerobia.

Las bacterias usan aceptores inorgánicos de electrones para la metabolización de los sustratos en ausencia de aire. Así el nitrato es reducido a nitrógeno gaseoso o amoníaco; el sulfato a sulfuro; y el  $\text{CO}_2$  a metano. Aunque las vías de degradación son usualmente idénticas en la respiración aerobia y anaerobia, éste no es el caso para los compuestos aromáticos.

#### 2.4.4 Degradación aerobia.

Es aceptado generalmente que la dihidroxilación es un prerrequisito para la ruptura enzimática del anillo bencénico. Los microorganismos poseen enzimas que catalizan la hidroxilación del anillo aromático denominadas monooxigenasas y dioxigenasas; las cuales contienen una variedad de cofactores entre los cuales se encuentran: FAD,  $\text{NADH}_2$ ,  $\text{NADPH}_2$ , dimetiltetrapteridina, Cu, manganeso, grupo hemo (Grady, 1985). Las monooxigenasas llevan a cabo reacciones que pueden ser representadas por la ecuación:



donde R - H representa la molécula de sustrato.

La función principal de las dioxigenasas es abrir el anillo bencénico, insertando ambos átomos del oxígeno molecular: El anillo puede ser abierto en la posición orto o meta. La mayoría de las bacterias utilizan el fenol a través de la vía meta, en tanto que las levaduras operan a través de la vía orto (Yang and Humphrey, 1975; Grady, 1985).

#### 2.4.4.1 Vía meta.

La figura 2 ilustra la ruta bioquímica de la vía meta en el catabolismo del fenol precedida por la hidroxilación del anillo. La primer enzima involucrada en la vía es la catecol-2,3-dioxigenasa, la cual cataliza la ruptura del anillo bencénico, dando como producto al semialdehído 2-hidroxiacético. La vía diverge en las rutas hidrolítica y deshidrogenativa; la ruta hidrolítica convierte directamente al semialdehído 2-hidroxiacético en el ácido 2-oxopent-4 enoico, mientras que la ruta deshidrogenativa involucra la formación de la forma enólica del ácido 4 oxalacetonato, el cual es convertido en ácido 2-oxopent-4 enoico a través de dos pasos enzimáticos, catalizados por la enzima 4 oxalacetonato isomerasa y la 4 oxalacetonato descarboxilasa. El ácido 2-oxopent-4 enoico es metabolizado a ácido pirúvico y acetil CoA por acción de las enzimas 2-oxopent-4 enoato hidratasa, 4-hidroxi-2 oxoalacetonato aldolasa y la aldehído deshidrogenasa (Harayama *et al*, 1989; Powlowski, 1994).

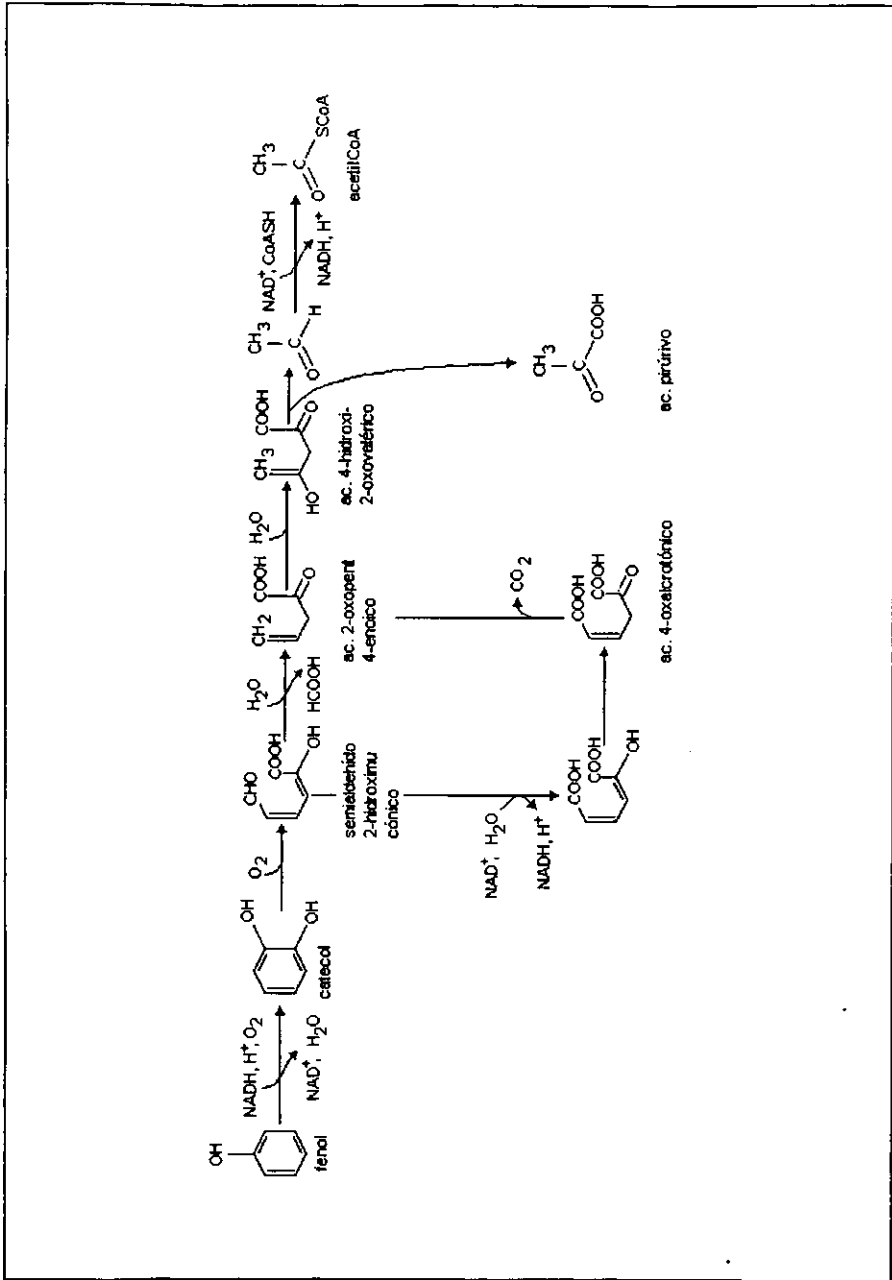


Figura 2. Ruta bioquímica de la vía meta en el catabolismo del fenol. (Powlowski, 1994).

#### 2.4.4.2 Vía orto.

En la vía orto la enzima catecol-1,2-dioxigenasa cataliza la ruptura del anillo bencénico dando como producto ácido cis, cis-mucónico, el cual es catabolizado a ácido  $\beta$ -oxoadípico enol-lactona por acción de las enzimas cis, cis muconato cicloisomerasa y muconolactona isomerasa. El metabolismo que le sucede a este compuesto se lleva a cabo por la hidrólisis del anillo lactona para formar ácido  $\beta$ -oxoadípico, el cual se rompe después de su activación rindiendo acetil CoA y ácido succínico.

La Figura 3 esquematiza la vía orto en el catabolismo del fenol (Powlowski and Dagley, 1985; Powlowski *et al*, 1985).

#### 2.4.5 Fermentación.

Se han aislado varios microorganismos con la capacidad de degradar diferentes tipos de compuestos aromáticos, entre estos se encuentran:

- *Pelobacter acidigallici*, es capaz de fermentar el ácido gálico, el pirogalol, el floroglucinol, y el 2,4,6-trihidroxibenzoato dando tres moles de acetato y un mol de dióxido de carbono. Cuando este microorganismo es cultivado en presencia del ácido siríngico no es capaz de degradarlo; pero en un cultivo mixto con *Acetobacterium woodii*, microorganismo que posee la capacidad de dimetilar, el ácido siríngico es transformado entonces en acetato y dióxido de carbono.
- Diversas especies del género *Clostridium* pueden fermentar el resorcinol y los resorcilatos en acetato y butirato (ocasionalmente también en dióxido de carbono); se requiere la presencia del formato o el hidrógeno como donadores de electrones (Evans, 1988).

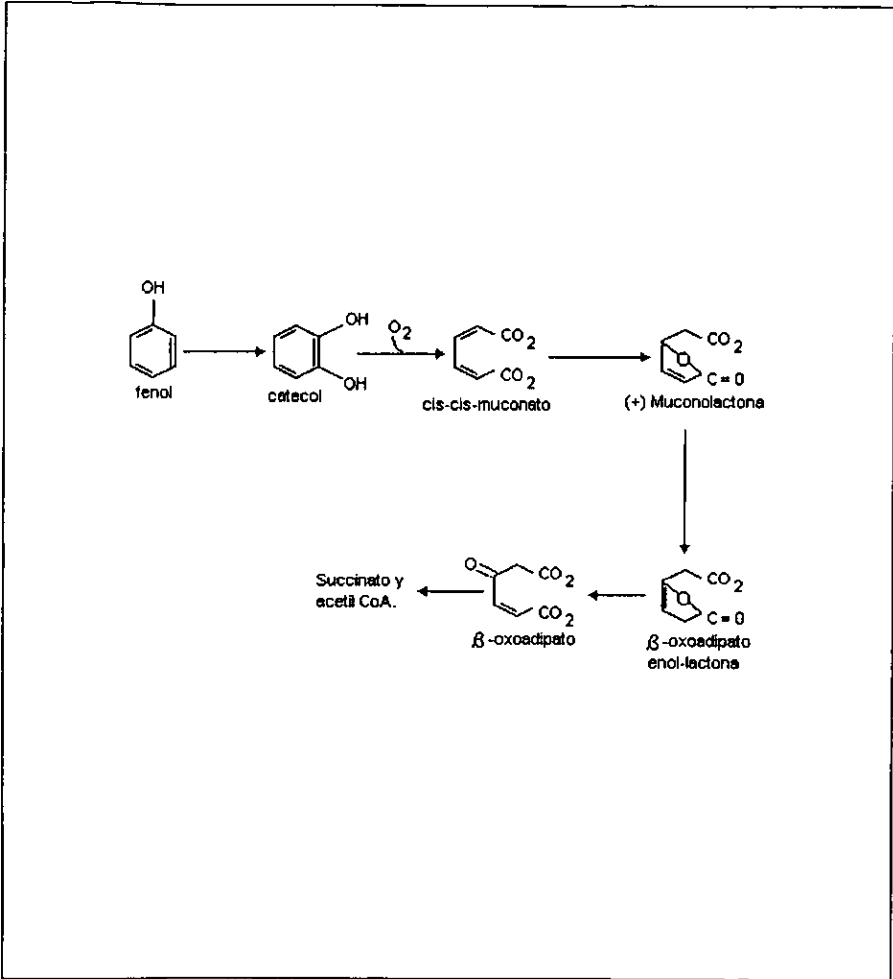


Figura 3. Vía orto del catabolismo del fenol.(Powlowski and Dagley, 1985).

### 2.4.6 Degradación anaerobia.

Las primeras indicaciones de que existen en la naturaleza procesos anaerobios para el metabolismo del anillo aromático, los cuales permiten su rompimiento sin la participación del oxígeno molecular, datan de 1934. En esta fecha se reportó que el benzoato, fenilacetato, fenilpropionato, y cinamato fueron degradados completamente por un inóculo de lodos de agua residual, en condiciones estrictamente anaerobias, con producción de dióxido de carbono y metano.

Durante la década de los sesenta se realizaron avances en el entendimiento de la bioquímica de este fenómeno; estos estudios dejaron en claro que el catabolismo del núcleo del benceno se produce al menos por tres series diferentes de condiciones biológicas: fotometabolismo, respiración nitrato y fermentación metanogénica (Evans, 1988).

#### 2.4.6.1 Fotometabolismo anaerobio.

Varias especies de la familia de las bacterias púrpuras sulfurosas *Rhodospirillaceae*, que son capaces de obtener su energía de la luz o de la respiración aerobia, crecen en condiciones anaerobias en presencia de luz utilizando compuestos aromáticos simples como fuente de carbono.

Los estudios bioquímicos realizados con *Rhodopseudomonas palustris* han conducido a proponer la siguiente secuencia catabólica para el ácido benzoico:

1. El primer producto formado dentro de la célula es el benzoil CoA.
2. El siguiente paso es la reducción del núcleo del benceno para producir ciclohexano-carboxil-CoA.
3. La reacción siguiente es una Beta-oxidación, formándose después por deshidrogenación el ciclohexeno-1-carboxil-CoA.
4. Se introduce una molécula de agua para producir 2-hidroxiciclo hexanocarboxil-CoA.
5. Por deshidrogenación, este último compuesto se transforma en 2-oxo-ciclohexano-carboxil-CoA.
6. A este nivel el anillo se rompe para dar lugar al ácido pimélico, y acetil CoA (Evans, 1988).

#### 2.4.6.2 Respiración nitrato.

Las bacterias nitrato reductoras oxidan la materia orgánica utilizando el nitrato como aceptor final de electrones, produciendo nitritos o nitrógeno.

El mecanismo de degradación es muy similar al propuesto para el fotometabolismo anaerobio, excepto que el 2-oxo-ciclohexano-carboxil-CoA es descarboxilado para producir ciclohexanona, seguida por la ruptura del anillo alicíclico, rindiendo ácido adípico (6 átomos de carbono) (Evans, 1988). *Pseudomonas* PN-1 también es capaz de crecer en estas condiciones con ácido benzoico.

#### 2.4.6.3 Sulfato reducción.

Se ha demostrado que algunas bacterias sulfato reductoras (BSR) son capaces de crecer en presencia de compuestos aromáticos. Estos microorganismos pertenecen a los siguientes géneros:

- *Desulfovibrio.*
- *Desulfonema.*
- *Desulfobacterium.*
- *Desulfococcus.*
- *Desulfosarcina.*

Las bacterias sulfato reductoras como *Desulfosarcina variabilis* ó *Desulfococcus multivorans* son muy versátiles y pueden oxidar varios tipos de compuestos aromáticos tales como: ácido benzoico, fenilacetato, 3-fenilpropionato y los hidroxibenzoatos. *Desulfobacterium* oxida el fenol utilizando sulfato como aceptor final de electrones (Evans, 1988).

#### 2.4.6.4 Fermentación metanogénica.

La fermentación metanogénica procede en tres etapas:

##### a) Hidrólisis y fermentación.

En esta etapa se inicia el proceso de digestión anaerobia. Los polímeros naturales como la celulosa, la pectina, las proteínas, o compuestos de menor peso molecular (aminoácidos,

---

sacáridos, lípidos, compuestos aromáticos, etc.), son transformados por hidrólisis y fermentación en ácidos carboxílicos, alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono. Los ácidos carboxílicos producidos son principalmente ácidos grasos volátiles (acetato, propionato, n-butilato, iso-butilato, ácido n-valérico e iso-valérico). (Avelar, 1994).

b) Homoacetogénesis.

Durante la acetogénesis, los productos de fermentación producidos en la primera etapa se transforman en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias denominadas "bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno" (Avelar, 1994).

c) Metanogénesis.

Es la última etapa en el proceso de la degradación anaerobia de la materia orgánica y es llevada a cabo por el grupo de las bacterias metanogénicas. Todas las bacterias de este grupo producen metano.

La formación de metano y CO<sub>2</sub> a partir de productos aromáticos naturales fue la primera observación que denotó la destrucción biológica de estructuras bencénicas en condiciones estrictamente anaerobias. Esta degradación puede ocurrir en ausencia de nitrato, sulfato y luz a través de la acción de una comunidad microbiana adaptada. Se considera que este fenómeno se da de amplia manera en la naturaleza, en el tratamiento de efluentes y en la transformación de algunos pesticidas (Evans, 1977).

Cultivos mixtos metanogénicos pueden degradar varios tipos de compuestos aromáticos tales como el benceno, el fenol, el catecol y el benzoato. El fenol puede ser metabolizado a través de dos vías.

En la primera vía el anillo bencénico es saturado produciendo ciclohexanol y ciclohexanona, la cual posteriormente sufre ruptura del anillo dando ácidos orgánicos, los que son metabolizados en los productos finales; CO<sub>2</sub> y metano. La Figura 4 esquematiza la ruta metabólica del fenol en condiciones metanogénicas (Young and Rivera, 1985).

En la segunda vía, el fenol es degradado vía ácido benzoico, requiriendo previa carboxilación. La Figura 5 ilustra esta ruta (Knoll and Winter, 1989).



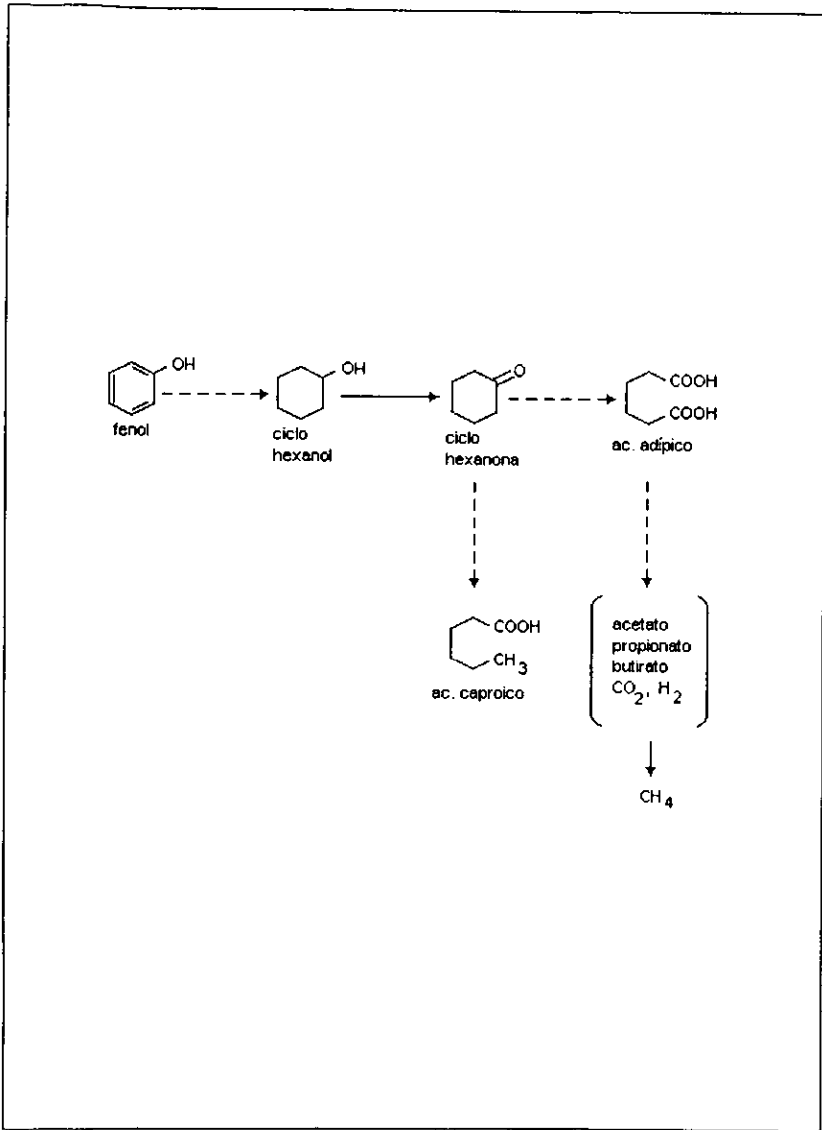


Figura 4. Ruta metabólica del fenol en condiciones metanogénicas.(Young and Rivera, 1985).

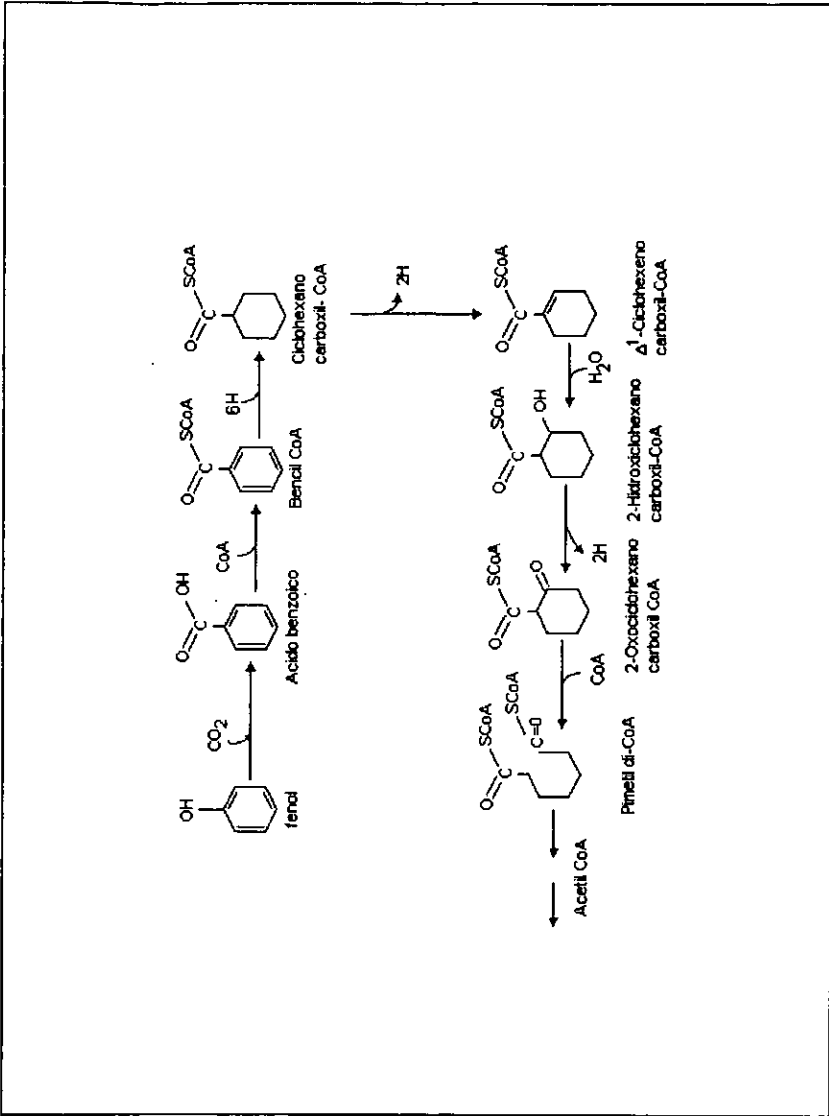


Figura 5. Ruta metabólica del fenol via ácido Benzoico.(Knoll and Winter, 1989).

El fenol y sus derivados han sido considerados por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), como compuestos tóxicos prioritarios para ser estudiados, razón por la cual muchos investigadores han dirigido su atención a estudiar los distintos procesos existentes para el tratamiento de las aguas residuales que contengan estos compuestos. Entre estos procesos se encuentra el sistema de **Lodos Activados**; el cual ha sido utilizado con éxito en el estudio de la remoción de compuestos fenólicos por diversos autores: (Kostenbader and Flecksteiner, 1969), (Hickman and Novak, 1984); (Beltrame and Beltrame, 1980); (Buitrón and González, 1996); obteniendo eficiencia de remoción del 99%.

## 2.5 SISTEMA DE LODOS ACTIVADOS.

Son muchos los sistemas que se han desarrollado para el tratamiento del agua residual, sin embargo, el número que de ellos se utiliza en la práctica se ha visto restringido por alguna de las siguientes razones: eficiencia, volumen y tipo de desecho, costo, infraestructura humana y material disponible, y en general las condiciones socioeconómicas que prevalecen en la localidad en donde se va a instalar una determinada planta (López, 1988).

Entre los métodos más empleados para reducir los contaminantes presentes en el agua residual, los sistemas biológicos de tratamiento son los más utilizados, no sólo por ser los más eficientes, sino también por ser los que menor volumen de lodo residual producen, ya que se caracterizan por aumentar la velocidad de autpurificación que se lleva a cabo en la naturaleza.

El proceso de lodos activados fue desarrollado en Inglaterra en el año de 1914 por Arden y Lockett y llamado así porque suponía la producción de una masa activada de microorganismos capaz de estabilizar un residuo por vía aerobia (Metcalf-Eddy, 1994). Los lodos activados están formados por flóculos que consisten principalmente, de materia orgánica procedente de las aguas residuales, poblados por una miriada de bacterias y otras formas de vida biológica (Winkler, 1996).

Es un proceso biológico que se desarrolla con una población microbiana que se forma al airear en forma intensiva un agua residual. La aireación tiene el triple propósito de

mantener suspendidas las partículas, mejorar la transferencia de oxígeno y crear condiciones homogéneas en el reactor (Wiley, 1969).

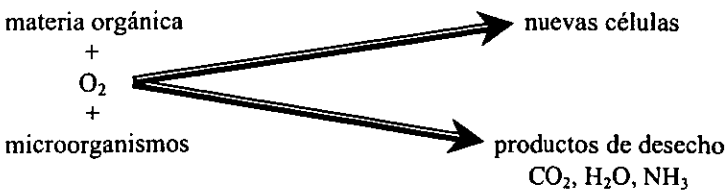
Este proceso tiene como finalidad degradar la materia orgánica suspendida, coloidal y disuelta presente en ella, siendo las dos últimas formas las más importantes, ya que la característica de los sistemas de tratamiento es el de transformar los sólidos disueltos de difícil separación, en sólidos suspendidos de fácil separación.

Para que un sistema de lodos activados funcione de manera adecuada debe cumplir con tres requisitos esenciales (Pipes, 1966):

1. Una población microbiana debe ser capaz de degradar la materia orgánica presente en el agua residual.
2. La población debe ser capaz de crecer en las condiciones ambientales impuestas en el tanque de aireación.
3. Los organismos deben de proliferar de tal manera que sedimenten en el clarificador secundario.

La población microbiana posee la maquinaria enzimática para convertir el sustrato orgánico en productos finales estables  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ; durante la transformación existe liberación de energía, la cual es utilizada para la biosíntesis, también asimilan carbón como constituyente celular y al mismo tiempo se observa un incremento tanto en el número como en la biomasa.

La degradación de residuos orgánicos se efectúa a través de una serie de reacciones químicas, las cuales se muestran a continuación (Simpson, 1960):



---

Los lodos activados poseen una población microbiana heterótrofa muy heterogénea, la cual cambia constantemente como respuesta a la variación en la composición del desecho y de las condiciones ambientales ejercidas en el sistema.

Los organismos que tienen un papel preponderante en el sistema de lodos activados se encuentran divididos en tres niveles tróficos (Pipes, 1966).

### **2.5.1 Saprófitos.**

Son los organismos que utilizan como sustrato la materia orgánica, se encuentran dentro de este grupo la mayoría de las bacterias, algunos hongos y protozoarios.

### **2.5.2 Depredadores.**

Son los organismos que se alimentan de los saprófitos y posiblemente de algo de materia particulada presente en el influente, se encuentran dentro de este grupo los protozoarios, los cuales actúan como depuradores de los efluentes.

### **2.5.3 Organismos no deseados.**

Son los organismos que interfieren en la operación del proceso cuando se encuentran presentes en grandes números. Este tipo de organismos a menudo ocasiona problemas de abultamiento en el lodo.

### **2.5.4 Microbiología de lodos activados.**

La comunidad de los lodos activados es especializada y muestra una baja diversidad. Los miembros dominantes son las bacterias heterótrofas, y éstas junto con los protozoarios forman el nivel trófico básico (Curds and Hawkes, 1975).

#### **2.5.4.1. Bacterias.**

Constituyen la parte principal de la biomasa y el nivel trófico básico en los tratamientos de agua residual. Son las responsables de la degradación y mineralización de los compuestos

orgánicos en los desechos. La principal razón para el éxito que las bacterias tienen sobre otros protistas, se encuentra directamente relacionado a su tamaño pequeño, lo que da una relación área-volumen celular muy grande comparada con organismos de mayor tamaño, aunado a esto se encuentra su capacidad mayor para intercambiar nutrimentos y catabolitos con el líquido.

Después de los experimentos realizados por Butterfield (1935), se consideró que *Zooglea ramigera* era importante dada su habilidad para formar flóculos y estabilizar los sustratos; sin embargo, se ha demostrado que una amplia variedad de bacterias que se encuentran en los lodos activados son capaces de formar flóculos y de estabilizar la materia orgánica presente (Mc Kinney and Horwood, 1952), (Mc Kinney and Wechlein, 1953), (Mc Kinney et al., 1956). entre las bacterias que se han encontrado como formadoras de flóculos de importancia se encuentran los géneros: *Escherichia*, *Alcaligenes*, *Bacillus* y *Pseudomonas*.

Entre otros géneros bacterianos que se han reportado con frecuencia se encuentran los siguientes: *Flavobacterium*, *Achromobacterium*, *Chromobacter*, *Comamonas*. También se ha reportado la presencia de *Nitrosomas* y *Nitrobacter*, así como también *Sarcina*, *Nocardia*, *Bacterium* y *Aerobacter* (Metcalf-Eddy, 1994).

Se han reportado bacterias filamentosas a las cuales se les ha asociado con el fenómeno conocido como "bulking" (abultamiento del lodo); *Sphaerotilus natans* es probablemente la bacteria filamentosa más comúnmente encontrada en el sistema de lodos activados.

Entre las bacterias anaerobias que se han reportado se encuentran los géneros *Bacteroides*, *Fusobacterium* y *Peptococcus* (Curds and Hawkes, 1975).

#### 2.5.4.2 Hongos.

Normalmente no son organismos dominantes en el proceso de lodos activados. Su presencia está asociada con efluentes industriales, y pueden afectar adversamente las cualidades de sedimentación del lodo, causando abultamiento del mismo. Los hongos que se han identificado pertenecen a los siguientes géneros: *Geotricum*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium* y *Aureobasidium*; entre las levaduras que se han reportado se

---

encuentran: *Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* y *Trichosporon* (Metcalf-Eddy, 1994).

#### 2.5.4.3 Protozoarios.

Son protistas móviles microscópicos, y por lo general unicelulares. La mayoría de los protozoarios son heterótrofos aerobios, aunque algunos pocos anaerobios. Son generalmente de un orden de magnitud mayor que las bacterias y suelen consumirlas como fuente de energía. Actúan como purificadores de los efluentes de procesos biológicos de tratamientos de aguas residuales al consumir a las bacterias y a las partículas orgánicas; entre los que se han reportado se encuentran: Rhizopodos, Flagelados, Ciliados nadadores libres (Metcalf-Eddy, 1994).

#### 2.5.4.4 Rotíferos.

El rotífero es un organismo aerobio, heterótrofo y multicelular. Los rotíferos son muy eficaces al consumir bacterias dispersas y floculadas, así como pequeñas partículas de materia orgánica. Su presencia en un efluente indica un proceso aerobio de purificación biológica muy eficiente (Metcalf-Eddy, 1994).

#### 2.5.4.5 Crustáceos.

Al igual que los rotíferos, los crustáceos son aerobios heterótrofos y multicelulares. Su presencia indica que el efluente está bajo de materia orgánica y que es rico en oxígeno disuelto (Metcalf-Eddy, 1994).

Ocasionalmente se han encontrado larvas de insectos, así como también nemátodos.

El proceso de lodos activados es muy flexible y puede adaptarse a casi cualquier tipo de problema relativo al tratamiento biológico de aguas residuales, esto ha dado lugar a un gran número de modificaciones, encontrándose entre las más importantes las que a continuación se mencionan (Winkler, 1996):

- Sistema convencional.
- Completamente mezclado.
- Aireación graduada.

- Aireación escalonada.
- Aireación modificada.
- Aireación extendida.
- Aireación de alta velocidad.
- Estabilización por contacto.
- Discos de oxidación.
- Sistemas con oxígeno.

Durante muchos años el fenol ha sido tratado usando el proceso de lodos activados, en el cual es degradado por una población microbiana heterogénea aclimatada, obteniendo una elevada eficiencia de remoción. Con la finalidad de operar de manera efectiva el proceso de lodos activados tratando este compuesto se han determinado los parámetros cinéticos que gobiernan el crecimiento bacteriano (Pawlowsky and Howell, 1973), (Kim *et al.*, 1981); se ha investigado también el efecto que tiene la temperatura, el pH, la salinidad, sobre la actividad bacteriana (Kim and Armstrong, 1981); así como también ha sido estudiada la degradación del fenol por cultivos puros y mixtos con el propósito de conocer mejor sus capacidades de degradación (Yang and Humhrey, 1975), (Buitrón and González, 1996), (Beltrame and Beltrame, 1980), (Bae *et al.*, 1996). Sin embargo, un problema que se presenta en el tratamiento del fenol, es el hecho de que los incrementos en la concentración del tóxico pueden resultar en una caída irreversible del sistema, puesto que el fenol aún a concentraciones relativamente bajas puede resultar tóxico, o inhibir el crecimiento igualmente de aquellas especies que tienen la capacidad de usarlo como sustrato para sustentar su crecimiento.



### **III. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar el efecto que los incrementos en la concentración de fenol tienen sobre los microorganismos presentes en el sistema de lodos activados.

#### **OBJETIVOS PARTICULARES**

Aislar e identificar a los microorganismos involucrados en la degradación del fenol.  
Hacer el estudio del comportamiento fisicoquímico del sistema.

## **IV. MATERIALES Y METODOS**

Con el propósito de alcanzar los objetivos que se plantearon la metodología que se siguió en la realización de este trabajo consistió de tres etapas:

### **Primera etapa.**

En esta primera etapa se determinó la población microbiana que se encontraba presente en el sistema de lodos activados en ausencia de fenol.

### **Segunda etapa.**

Se determinó el efecto que tuvieron distintas concentraciones ensayadas de fenol sobre la población microbiana presente, haciendo al mismo tiempo una comparación con el experimento de la primera etapa, utilizando este como testigo.

### **Tercera etapa.**

Se identificaron las cepas predominantes, aisladas en el transcurso de la primera y segunda fase, la identificación se realizó a nivel de género, y en algunos casos hasta especie. El propósito de esta etapa fue el de predecir la capacidad que el sistema tendrá para remover el fenol.

### **4.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES.**

En el trabajo experimental se utilizaron tres reactores (denominados Unidad I, Unidad II y Unidad III) tipo Eckenfelder (Eckenfelder, 1968), modificados por López (López, 1988) las cuales se caracterizan por contener en un mismo recipiente el tanque de aireación (7.5 l) y el de sedimentación (2.5 l), separados por una mampara deslizante que los comunica en la parte inferior, permitiendo de esta manera que el lodo que se asienta en el tanque de sedimentación sea recirculado al tanque de aireación como consecuencia de la turbulencia del mismo.

---

Los materiales usados en la construcción fueron: lucita para el reactor, acero inoxidable para los tubos de alimentación de aire, de drenaje, y vertedero, se usaron difusores de aire para pecera.

#### 4.1.1 Funcionamiento de la unidad.

La unidad funciona de la siguiente manera: el agua residual a tratar es bombeada a través de un tubo de alimentación al tanque de aireación, en donde es oxigenada y mezclada por los difusores de aire. Tras un periodo determinado de tiempo, la mezcla de las nuevas células con las viejas, circula a través de la parte inferior de la mampara hacia el tanque de sedimentación, donde las células (lodos) se separan del agua residual tratada. Una parte de las células es recirculada para mantener la concentración deseada de organismos en la unidad, mientras que la otra es purgada del sistema. La fracción purgada corresponde al crecimiento de tejido celular. El agua tratada fluye a través del tubo vertedero hacia un depósito de agua tratada. La representación esquemática de la unidad experimental de lodos activados usada en este trabajo se muestra en la Figura 6 (López, 1988).

#### 4.1.2 Modelo de lodos activados empleado.

El modelo utilizado en este estudio corresponde al tipo de mezcla completa con recirculación interna, es decir, no requiere bomba de recirculación de lodos debido a que el tanque de aireación y el tanque de sedimentación se encuentran en un mismo recipiente. El sistema de mezcla completa mantiene de manera uniforme la carga orgánica y la demanda de oxígeno de un extremo a otro del tanque de aireación, por medio de los difusores de aire. La Figura 7 muestra el esquema del sistema de lodos activados tipo mezcla completa con recirculación interna (Metcalf-Eddy, 1994)

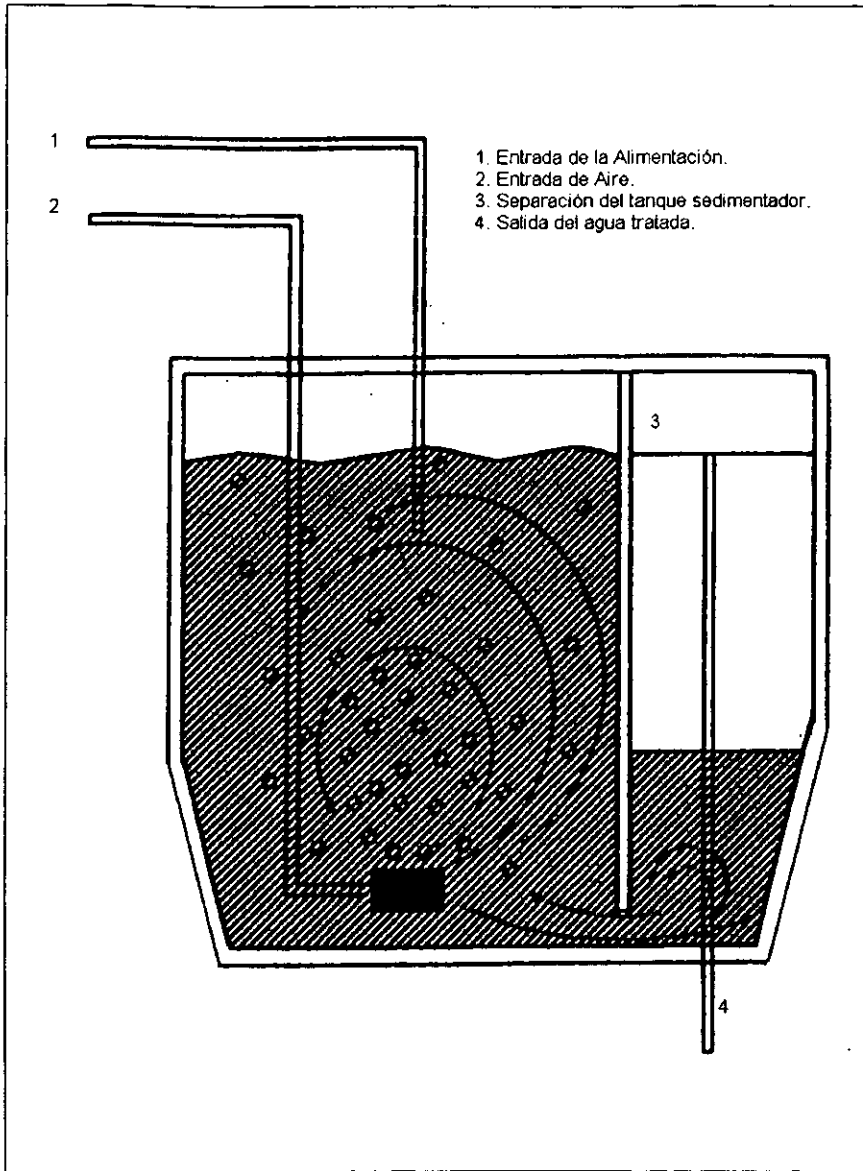


Figura 6. Esquema de la unidad experimental para lodos activados.

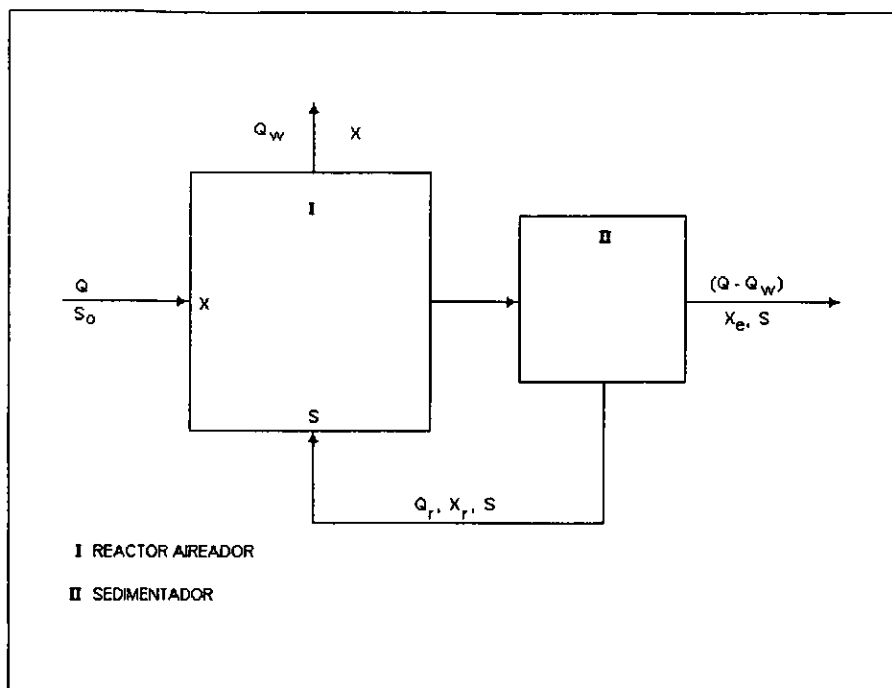


Figura 7. Esquema del sistema de lodos activados tipo mezcla completa con recirculación interna.

El sistema consta de dos tanques: uno de aireación y otro de sedimentación. El agua residual por tratar con una carga orgánica  $S_0$  (medida como DQO) y un flujo de alimentación  $Q$  (medido en l/h) es alimentada al tanque de aireación en donde entra en contacto con los microorganismos para transformarse en células con una concentración  $X$  (g/l), la concentración del sustrato disminuye hasta un valor  $S$ ; una vez que transcurre el tiempo de contacto necesario con los microorganismos, estos fluyen al tanque de sedimentación, en donde una corriente de lodos se concentra y regresa concentrada al tanque de aireación con un flujo  $Q_r$ , una concentración celular  $X_r$ , y una concentración de sustrato  $S$ ; la corriente que sale del sedimentador ha sido clarificada y se puede considerar como tratada, esta corriente lleva un flujo  $Q - Q_w$ , una concentración celular  $X_e$ , y una concentración de sustrato  $S$  (López, 1988).

Las condiciones óptimas de trabajo fueron determinadas en un estudio previo (López, 1988), para la remoción de materia orgánica en un reactor de este tipo.

Las tres unidades fueron operadas con una concentración celular de 2 g/l, medida como sólidos suspendidos volátiles, un tiempo de residencia hidráulico de 7.35 horas, en cuanto a la alimentación de materia orgánica se manejaron tres concentraciones: 300 mg/l, 600 mg/l y 900 mg/l; medidas como demanda química de oxígeno (DQO), esto con el objeto de estudiar el comportamiento del sistema a concentraciones superior e inferior a la óptima (600 mg/l).

La Tabla 3 muestra la distribución de la carga de materia orgánica para cada una de las unidades.

Tabla 3

Unidad	Concentración de materia orgánica (So) medida como DQO (mg/l)
Unidad I	900
Unidad II	600
Unidad III	300

Puesto que el agua residual real no siempre tiene una composición de nutrientes balanceada, en este trabajo se utilizó el agua residual sintética sugerida por la OECD (1976), la cual posee las características de un agua residual doméstica, y a la vez permite un mayor control sobre los parámetros fundamentales. La composición del agua residual sintética se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4**  
**Agua residual sintética**

Peptona de gelatina	160 mg
Extracto de carne	110 mg
Urea	30 mg
NaCl	7.5 mg
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4 mg
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2 mg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	33.4 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	21.75 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8.5 mg
NH <sub>4</sub> Cl	1.7 mg
Agua destilada	1,000 ml

El agua residual sintética (ARS) suministrada a cada una de las unidades, se preparó diluyendo con agua de la llave el volumen necesario de una solución madre de ARS, la cual fue esterilizada previamente con fines de preservación, para obtener un volumen de 20 litros de alimento con una carga orgánica de 300 ppm, 600 ppm y 900 ppm; suficientes para 24 horas. El flujo de alimentación se controló por medio de bombas peristálticas Masterflex (Cole-Parmer Instruments Co) modelo 7535-00, se usaron cabezales modelo 7016, tubería de Tygon Masterflex y botes de plástico.

#### 4.2 EXPERIMENTOS REALIZADOS.

Para llevar a cabo los experimentos (14 en total), cada una de las unidades fue inoculada con lodos activados (aproximadamente 10 litros) provenientes de plantas de tratamiento de aguas negras (se usó 1 lote de la planta de San Juan de Aragón y dos lotes de la de San Juan Ixhuatepec); los cuales fueron aclimatados al ARS por un periodo aproximado de 20

días; durante este periodo de aclimatación se siguió la evaluación de la eficiencia de remoción de materia orgánica ( $\mu$ ) determinando para ello la demanda química de oxígeno (DQO) del influente y del efluente, hasta que al menos 5 valores de  $\mu$  eran iguales o estaban próximos. Una vez que los lodos fueron aclimatados se procedió a la realización de los experimentos.

#### 4.2.1 Experimento testigo.

Después del periodo de aclimatación de los lodos al ARS se realizaron mediciones de los siguientes parámetros fisicoquímicos del sistema: Temperatura (T), Conductividad (C), Oxígeno Disuelto (OD), pH, Sólidos Sedimentables (S Sed), Sólidos Suspendedos Totales (SST), Sólidos Suspendedos Volátiles (SSV), Índice Volumétrico de Lodos (IVL), Respiración ( $QO_2$ ), Tiempo de Residencia Celular ( $\theta_c$ ), y Demanda Química de Oxígeno (DQO). Cada parámetro fue medido sólo una vez por día, y la metodología utilizada fue la recomendada por CIECCA (1978).

Las mediciones se realizaron hasta lograr un estado estacionario, el cual se consideró alcanzado cuando al menos 5 valores de  $\mu$ ,  $\theta_c$ , IVL y  $QO_2$  fueron iguales o estuvieron próximos; una vez logrado este estado se realizó el muestreo para el recuento de microorganismos, dando con esto por terminado el experimento.

El experimento testigo se llevó a cabo con el propósito de tener un patrón de referencia de los parámetros antes de iniciar la alimentación del fenol.

#### 4.2.2 Experimentos con Fenol.

Cada uno de los experimentos realizados consistió en alimentar a las unidades una determinada concentración de fenol, para esto se adicionó al ARS el volumen necesario de una solución madre de fenol hasta obtener la concentración deseada del tóxico, la Tabla 5 muestra las concentraciones de fenol ensayadas en cada uno de los experimentos que se llevaron a cabo en este trabajo.



Con la finalidad de que la población microbiana presente en el sistema se aclimatara al fenol, se inició con una baja concentración del tóxico (0.5 mg/l), aumentándola de manera paulatina hasta probar todas las concentraciones. Las concentraciones de fenol para cada una de las unidades se determinaron con base a los resultados obtenidos en el recuento de microorganismos.

En cada uno de los experimentos con fenol se siguió el mismo procedimiento que en el experimento testigo, es decir, los lodos eran aclimatados a la concentración de fenol que se iba a ensayar, después de este periodo de aclimatación, se realizaban diariamente las mediciones de los parámetros físicoquímicos hasta lograr el estado estacionario, siguiendo la evolución de  $\mu$ ,  $\theta_c$ , IVL y  $QO_2$ ; posteriormente se realizaba el muestreo correspondiente dando por terminado el experimento, inmediatamente después se procedía a probar una nueva concentración de fenol.

En forma paralela se realizaron determinaciones de fenol, tanto en el influente como en el efluente, con el propósito de estudiar el impacto del tóxico en el sistema.

**Tabla 5**  
**Muestreos**

Muestreo	Alimentación de Fenol mg/l		
	UNIDAD I	UNIDAD II	UNIDAD III
1	0.0	0.0	0.0
2	0.5	0.5	0.5
3	5.0	2.5	1.0
4	20.0	20.0	*
5	65.0	50.0	35.0

\* No se realizó.

### 4.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Para la realización de los análisis microbiológicos, el mecanismo empleado para la toma de muestra consistió primeramente en retirar la mampara deslizable de las unidades, permitiendo de esta manera la homogeneización de los lodos durante un tiempo de 5 minutos. Posteriormente se recolectaron alícuotas de aproximadamente 100 ml (tomadas directamente de las unidades) en matraces Erlenmeyer previamente esterilizados.

Los análisis microbiológicos realizados fueron los siguientes:

- Cuenta de mesófilos aerobios.
- Cuantificación de anaerobios facultativos.
- Cuenta de hongos filamentosos y levaduras.

En todos los casos se utilizó la técnica de vaciado en placa (Fernández, 1981).

#### 4.3.1 Cuenta viable.

Para la realización de la cuenta viable, las muestras de lodos fueron homogeneizadas en una licuadora (vaso estéril), aproximadamente durante 2 minutos, con la finalidad de liberar a las bacterias de los flóculos (la homogeneización da como resultado un incremento en la cuenta en uno o dos órdenes de magnitud sobre las cuentas obtenidas sin homogeneización (Gayford and Richards, 1970; Banks and Walker, 1977). Una vez homogeneizadas las muestras se efectuaron diluciones desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ , esto se hizo mediante la adición sucesiva de 10 ml de cada dilución a botellas de dilución, las cuales contenían 90 ml de agua destilada estéril.

De las diluciones  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  se tomaron por triplicado alícuotas de 1.0 ml y se depositaron en cajas de petri, adicionando inmediatamente el medio de cultivo. La incorporación del inóculo al medio de cultivo se llevó a cabo mediante rotación de las cajas, incubándose después de la solidificación.

La cuenta viable se realizó a través del recuento directo de colonias desarrolladas; el valor reportado es el promedio del triplicado de la dilución que presentó una menor variación.

El medio de cultivo utilizado para la cuenta de mesófilos aerobios fue casitona, glicerol, extracto de levadura (CGY), la temperatura de incubación de 35°C; se realizó una primera lectura a las 48 horas y una segunda confirmativa a las 72 horas (Pike *et al*, 1972; Avelar, 1994).

Para los organismos anaerobios facultativos se usó el medio Agar infusión cerebro-corazón (BHI), las placas fueron incubadas en jarras de anaerobiosis usando un sistema Gas Pack para generar la atmósfera libre de oxígeno. La temperatura de incubación fue 35 °C, las lecturas fueron realizadas al igual que para los mesófilos a las 48 horas y 72 horas, respectivamente (Avelar, 1994).

El medio utilizado para la cuenta de hongos filamentosos y levaduras fue Agar Dextrosa Papa (ADP). La temperatura de incubación fue de 25 °C para los hongos filamentosos y en el caso de las levaduras fue de 35 °C; las lecturas para ambos se realizaron a las 72 y 96 horas (Demain and Solomon, 1986; Avelar, 1994).

#### 4.3.2 Aislamiento e identificación.

El procedimiento para el aislamiento de cultivo puro consistió en tomar una porción de la colonia elegida y sembrarla por estrias sobre una placa de agar (medio CGY para mesófilos aerobios y BHI para anaerobios facultativos), las placas fueron incubadas a 35°C durante 24-48 horas. Posteriormente se realizó la tinción gram con el propósito de comprobar la pureza del cultivo, procediendo posteriormente a pasar el cultivo a tubos con agar inclinado, obteniendo de esta manera las cepas que posteriormente fueron identificadas.

La identificación bacteriana se realizó por medio de tarjetas, utilizando un analizador automatizado (Vitek 120 de Bio-Mérieux), el procedimiento consistió en preparar una suspensión bacteriana, el llenado de las tarjetas e incubación de las mismas. Previo a esto se realizó la tinción gram y se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

- Prueba de oxidasa para organismos gram (-).
- Prueba de catalasa para organismos gram (+).
- Prueba de indol para organismos anaerobios.

#### 4.4 TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS EMPLEADOS.

Para realizar la medición de los parámetros, las bombas de alimentación eran apagadas, la mampara era retirada, permitiendo con ello la homogeneización de los lodos. Todos los parámetros fueron medidos una sola vez por día.

##### 4.4.1 Temperatura.

Para medir la temperatura se utilizó un termómetro de mercurio de inmersión parcial, con escala subdividida en 0.5 °C y el termistor integrado en un medidor de salinidad, conductividad y temperatura marca YSI modelo 33.

##### 4.4.2 Conductividad.

Las determinaciones de este parámetro se realizaron utilizando el mismo aparato que se usó para medir la temperatura.

Las mediciones de estos dos parámetros se realizaron sumergiendo el electrodo en las unidades, esperando unos segundos para lograr la estabilización. Posteriormente se leyó en la escala correspondiente.

##### 4.4.3 pH

Las mediciones del pH en los experimentos se llevaron a cabo usando el método electrométrico. Se utilizó un potenciómetro marca Cole-Parmer modelo 60648.

Para realizar las mediciones se sumergió el electrodo en las unidades, esperando el tiempo suficiente para lograr la estabilización de la lectura, siempre que fue necesario, se utilizó ácido sulfúrico diluido (10:100), para mantener un pH neutro.

##### 4.4.4 Oxígeno disuelto.

Para la medición de este parámetro se utilizó el método electrométrico, el cual es recomendado para el monitoreo de corrientes, lagos, desembocaduras, o en aquellas muestras que contengan sustancias que interfieran con el método Winkler, como son: color intenso, turbiedad o flóculos biológicos. Se usó un oxímetro marca YSI modelo 54A.

El procedimiento para las mediciones fue el mismo que para los parámetros anteriores.

#### 4.4.5 Sólidos suspendidos.

La determinación de los sólidos suspendidos es muy valiosa en análisis de aguas contaminadas y de aguas residuales. Es uno de los mejores parámetros usados para valorar la concentración de las aguas residuales domésticas, así como para determinar la eficiencia de las unidades de tratamiento. En el control de la contaminación de corrientes se considera que todos los sólidos suspendidos son sedimentables.

Para su determinación se utilizaron crisoles Gooch, con filtro de asbesto; los crisoles fueron llevados a peso constante antes de la prueba, enseguida se filtró en ellos una alícuota de 5 ml, posteriormente los crisoles fueron secados en una estufa durante una hora a una temperatura de 103 °C. Después de secar y enfriar los crisoles, fueron pesados y la cantidad de sólidos suspendidos se calculó de la siguiente manera:

$$g/l \text{ SST} = \frac{P_1 - P_0}{\text{volumen de muestra}}$$

donde:

SST: Sólidos Suspendidos Totales.

$P_0$  : peso del crisol antes de filtrar.

$P_1$  : peso del crisol después de filtrar.

#### 4.4.6 Sólidos suspendidos volátiles.

Para determinar los sólidos suspendidos volátiles, los crisoles con muestra seca, fueron calcinados en una mufla a 550 °C durante un tiempo de 2 horas. Después de enfriarlos se pesaron y los sólidos se calcularon de la siguiente forma:

$$g/l \text{ SSV} = \frac{P_2 - P_1}{\text{volumen de muestra}}$$

donde:

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles.

P<sub>1</sub> : peso del crisol después de filtrar.

P<sub>2</sub> : peso del crisol después de la calcinación.

#### 4.4.7 Sólidos sedimentables.

Fueron determinados vertiendo un litro de lodos en un cono Imhoff, dejando que sedimentaran por un tiempo de una hora, después de este tiempo los sólidos sedimentables se leyeron directamente en ml/l.

#### 4.4.8. Índice volumétrico de lodos.

Este parámetro se calculó de la siguiente forma:

$$ml\ g\ IVL = \frac{SSed}{SST}$$

donde:

S Sed: Sólidos Sedimentables.

SST: Sólidos Suspendidos Totales.

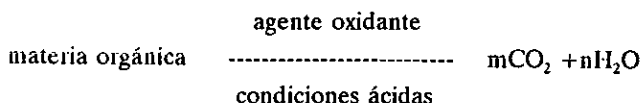
IVL: Índice Volumétrico de Lodos.

#### 4.4.9 Demanda química de oxígeno (DQO).

La demanda química de oxígeno determina la cantidad de oxígeno necesario para oxidar a la materia orgánica de un desecho por medio de un agente oxidante ( $K_2Cr_2O_7$ ), bajo ciertas condiciones de acidez y temperatura (160 °C).

El método que se utilizó se basa en la oxidación química de la materia orgánica e inorgánica con dicromato de potasio y ácido sulfúrico, mediante reflujo con una cantidad conocida de dicromato de potasio; el exceso de dicromato se valora con sulfuro ferroso amoniacal. La cantidad de materia orgánica oxidable se mide como equivalentes de

oxígeno, y es proporcional al dicromato de potasio consumido. La materia orgánica se transforma en  $\text{CO}_2$  y agua, de acuerdo a la reacción:



### Interferencias de la prueba.

Los compuestos alifáticos de cadena lineal, hidrocarburos aromáticos, no son oxidados en alguna cantidad apreciable, cuando no se emplea  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  como catalizador, sin embargo, este reacciona con cloruros dando un precipitado, esto se evita agregando  $\text{HgSO}_4$ , ya que se forman cloruros solubles que no interfieren con la oxidación de la materia orgánica.

El procedimiento utilizado fue el siguiente: En un matraz de reflujo se colocaron 0.4 g de sulfato mercúrico ( $\text{HgSO}_4$ ), se adicionaron 10 ml de la muestra y 10 ml de agua destilada; a esta mezcla se le adicionó 10 ml de dicromato de potasio 0.25 N y 30 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , enseguida el matraz se colocó en un refrigerante y fue sometido a reflujo durante dos horas; una vez frío, el dicromato residual fue valorado con sulfato ferroso amoniacal 0.1 N (39 g de  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 20 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado/l), usando ferroína como indicador (1.785 g de 1.10 fenantrolina y 0.695 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en 100 ml de agua destilada). La demanda química de oxígeno se calculó de la siguiente forma:

$$DQO \text{ mg/l} = \frac{(V_b - V_m) N \times 8000}{\text{ml de muestra}}$$

donde:

DQO: Demanda Química de Oxígeno.

$V_b$  : volumen de sulfato ferroso amoniacal usados para titular el blanco.

$V_m$  : volumen (ml) de sulfato ferroso amoniacal usado para titular la muestra.

N : normalidad del sulfato ferroso amoniacal.

#### 4.4.10 Fenoles.

El término fenoles incluye una mezcla de derivados del fenol como: orto, meta y para; sustituidos por halógenos o por un grupo alquídico, aldehído, arílico, nitro, fenilo o nitroso.

Un abastecimiento de agua, que contenga fenol usualmente estará asociado con otros compuestos fenólicos cuya sensibilidad a los reactivos usados en los métodos no sea la misma. La introducción de grupos sustituyentes en el núcleo del benceno disminuye la sensibilidad del compuesto particular para desarrollar color con el indicador. El fenol es el más sensible, por esta razón ha sido seleccionado como patrón, y por lo tanto los resultados de otros compuestos fenólicos se reportan como fenol.

El método utilizado en los análisis de fenol, fue el de la 4-amino antipirina con extracción de cloroformo, este método cubre el ámbito de concentración de fenol desde 1.0 – 250.0 µg/l con una sensibilidad de 1 µg/l. La Figura 8 muestra el procedimiento de la técnica utilizada.

#### 4.4.11 Respiración.

La respiración o velocidad de consumo de oxígeno se expresa como:

$$Q_{O_2} = -\frac{1}{X} \frac{dO_2}{dt}$$

donde:

$Q_{O_2}$  = Velocidad específica de consumo de oxígeno (mg O<sub>2</sub>/g SSV.min).

$dO_2/dt$  = Velocidad de cambio de concentración de O<sub>2</sub> por unidad de tiempo (mg O<sub>2</sub>/l.min).

X= Concentración de microorganismos expresados como SSV (g/l).

La determinación de este parámetro permite obtener información acerca del estado metabólico de la población microbiana del sistema.



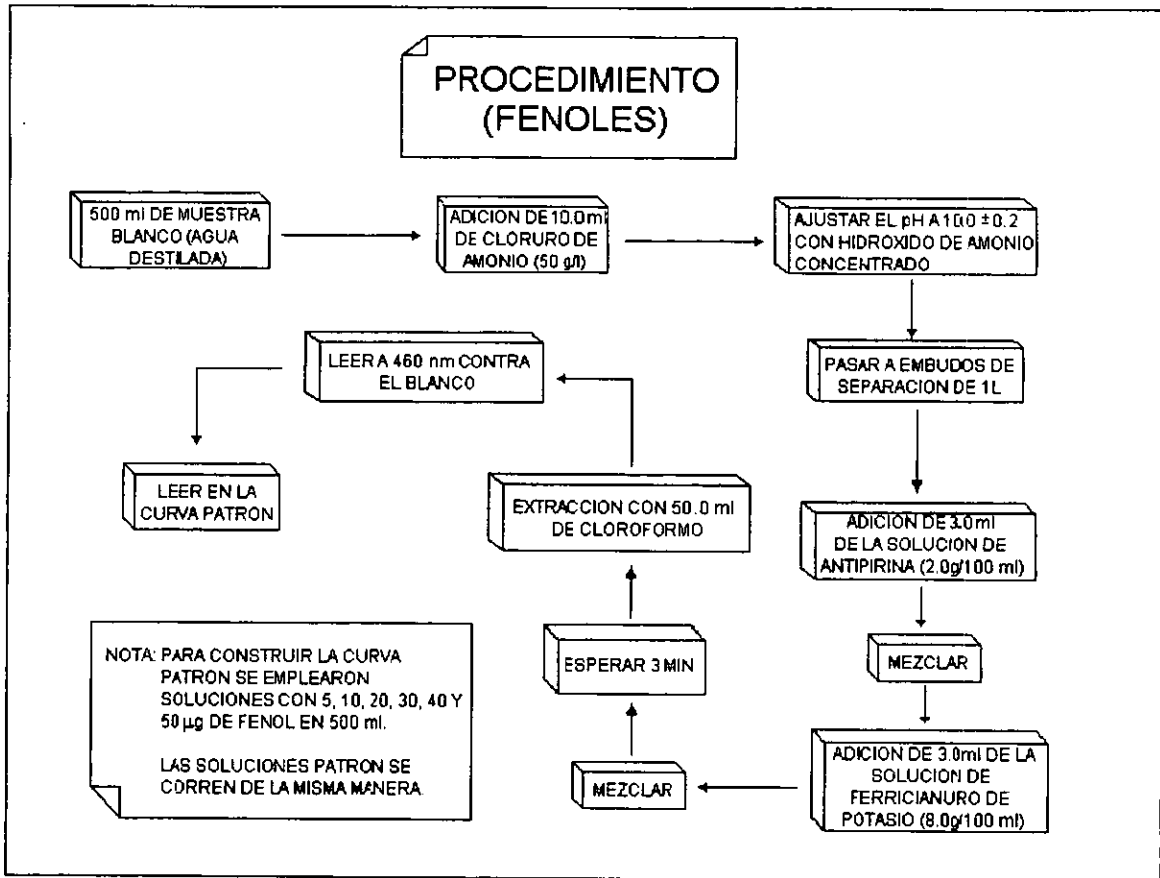


Figura 8. Esquema del método de la 4-aminoantipirina.

La medición se realizó mediante un electrodo polarográfico de oxígeno (YSI Mod. 54) acoplado a un graficador (ISCO modelo 613, ISCO-Nebraska-USA). La muestra (30 ml) fue sometida a una aireación intensa con la finalidad de elevar la concentración de oxígeno hasta un valor próximo a la saturación, enseguida se tomó una alícuota de 5 ml y fue colocada en una celda del analizador, el cual previamente había sido calibrado al 0% y 100% de saturación de oxígeno. Posteriormente se calculó la pendiente de la gráfica de descenso en la concentración de oxígeno con respecto al tiempo y el valor obtenido se dividió entre la cantidad de SSV. El cálculo del valor de la respiración se llevó a cabo usando la siguiente fórmula:

$$Q_{O_2} = \frac{(V) (\%_2 - \%_1) (C_s)}{100 (L_2 - L_1) SSV}$$

donde:

V : velocidad del papel (cm/min)

$\%_2 - \%_1$  : diferencia entre los valores inicial y final del porcentaje de oxígeno.

$L_2 - L_1$ : diferencia entre la longitud (cm)

$C_s$  : concentración de saturación de OD a la temperatura de la muestra y la presión atmosférica del lugar (mg/l).

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles.

$$CO_2 = \frac{mg O_2}{g SSV \cdot \text{min}}$$

La figura 9 esquematiza la analogía de una gráfica empleada para el cálculo de la respiración.

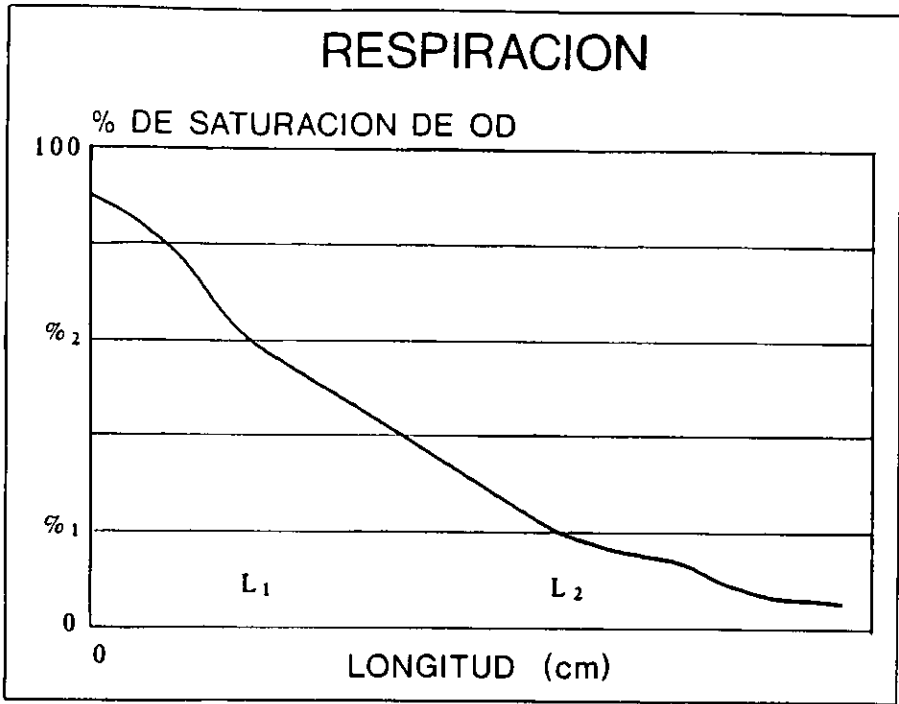


Figura 9. Analogía de una gráfica empleada para el cálculo de respiración.

#### 4.4.12 Flujo de desecho ( $Q_w$ ).

Con la finalidad de mantener una determinada concentración de células en el sistema, es necesario desechar lodos en forma periódica; el flujo de desecho se calculó como sigue:

$$\text{l / día } Q_w = V_A \cdot \frac{X \cdot V_A}{SSV}$$

Donde:

$Q_w$ : Flujo de desecho (l/d).

$V_A$ : volumen (l) del tanque de aireación.

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles.

X: Concentración celular (g/l).

#### 4.4.13 Tiempo de residencia celular ( $\theta_c$ ).

Es el tiempo que los microorganismos se mantienen dentro del sistema. Este parámetro se calculó de la siguiente forma:

$$d \theta_c = \frac{V_A}{Q_w}$$

Donde:

$\theta_c$ : Tiempo de residencia celular (días).

$V_A$ : volumen (l) del tanque de aireación.

$Q_w$ : flujo de desecho de los lodos (l).

**4.4.14 Rendimiento celular en base a sustrato (Y).**

Expresa la cantidad de células producidas por gramo de materia orgánica consumida. El cálculo de éste parámetro se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$gY = \frac{\Delta x}{CO}$$

Donde:

- Y: Rendimiento celular en base a sustrato (gSSV/gDQO)
- $\Delta x$ : concentración celular en peso seco (g).
- CO: carga orgánica (g).

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 PRIMERA ETAPA.

Los resultados obtenidos durante esta etapa se presentan en las Tablas 6-8, y las figuras 10-12. Los espacios en blanco indican que no se tomó lectura de los parámetros; en el caso de  $\theta_c$ , denotan que este parámetro fue infinito.

**Tabla 6**  
Valores promedio de los parámetros del sistema de lodos activados sin fenol

$S_o$ (mg/l)	S (mg/l)	$n$ %	$Qo_2$ (mgO <sub>2</sub> /gSSV- min.)	OD (mgO <sub>2</sub> /l)	pH	T (°C)	IVL (ml/g)	SST (g/l)	Y (gSSV/gDQO)	$\theta_c$ (días)	$\mu$ (d <sup>-1</sup> )
300	70	79.0	0.136	3.46	7.5	23.0	132	2.36	0.259	20.0	0.051
600	75	88.11	0.155	3.28	7.2	22.3	195	2.69	0.208	7.59	0.132
900	92	89.4	0.162	3.0	7.4	22.6	166	2.99	0.269	4.9	0.204

**Tabla 7**  
**Géneros bacterianos encontrados durante**  
**el muestreo sin fenol.**

**Mesófilos aerobios**

<b>Género</b>	<b>No. de Cepas</b> *	<b>Porcentaje</b>
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	10	32.26
<i>Bacillus</i>	8	25.81
<i>Vibrio</i>	4	12.90
<i>Pseudomonas</i>	5	16.13
<i>Pasteurella</i>	4	12.90
<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>100.00</b>

\* Total de cepas aisladas en las unidades I, II y III.

**Tabla 8**  
**Géneros bacterianos encontrados durante**  
**el muestreo sin fenol.**

**Anaerobios facultativos**

<b>Género</b>	<b>No. de Cepas</b> *	<b>Porcentaje</b>
<i>Bacteroides</i>	9	42.86
<i>Fusobacterium</i>	12	57.14
<b>TOTAL</b>	<b>21</b>	<b>100.00</b>

\* Total de cepas aisladas en las unidades I, II y III.



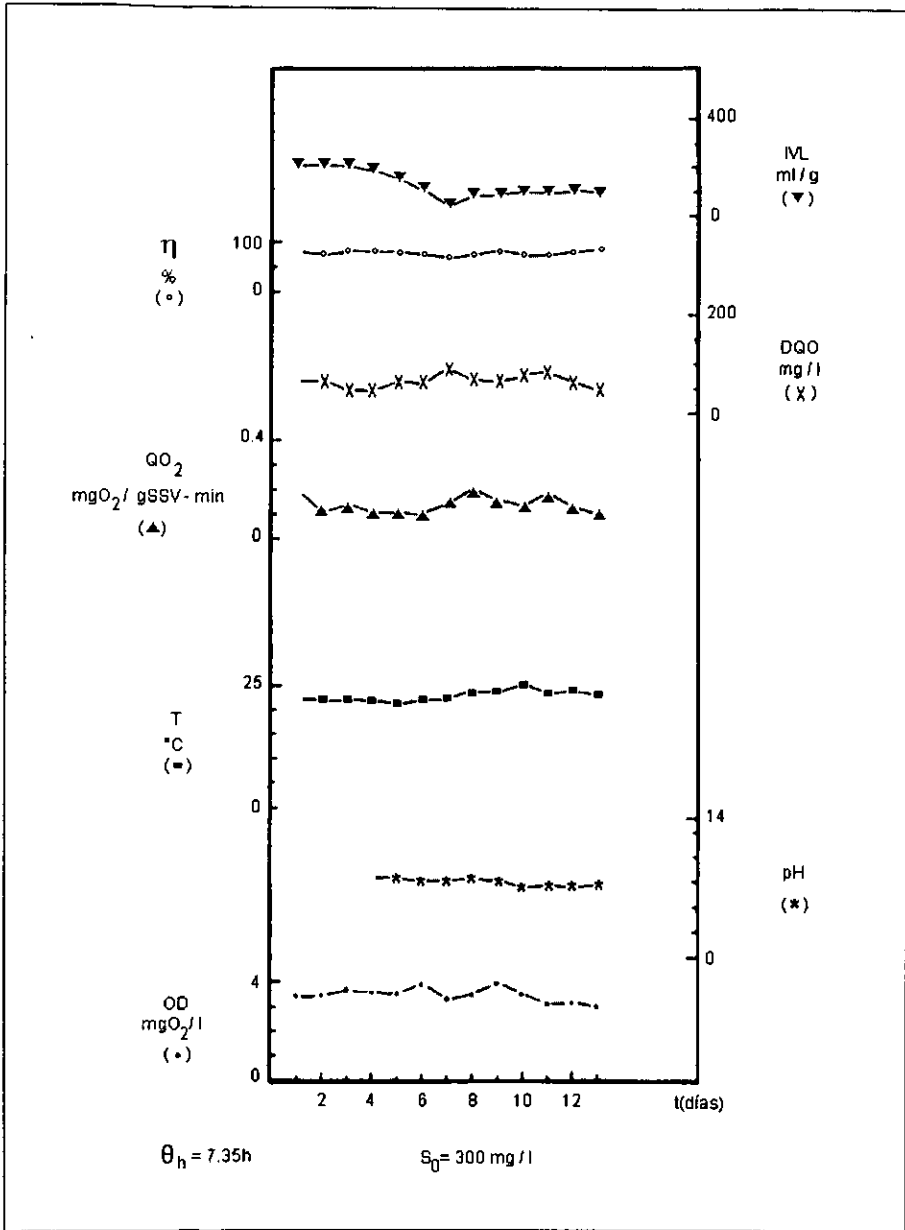


Figura 10. Comportamiento del sistema de lodos activados sin fenol.

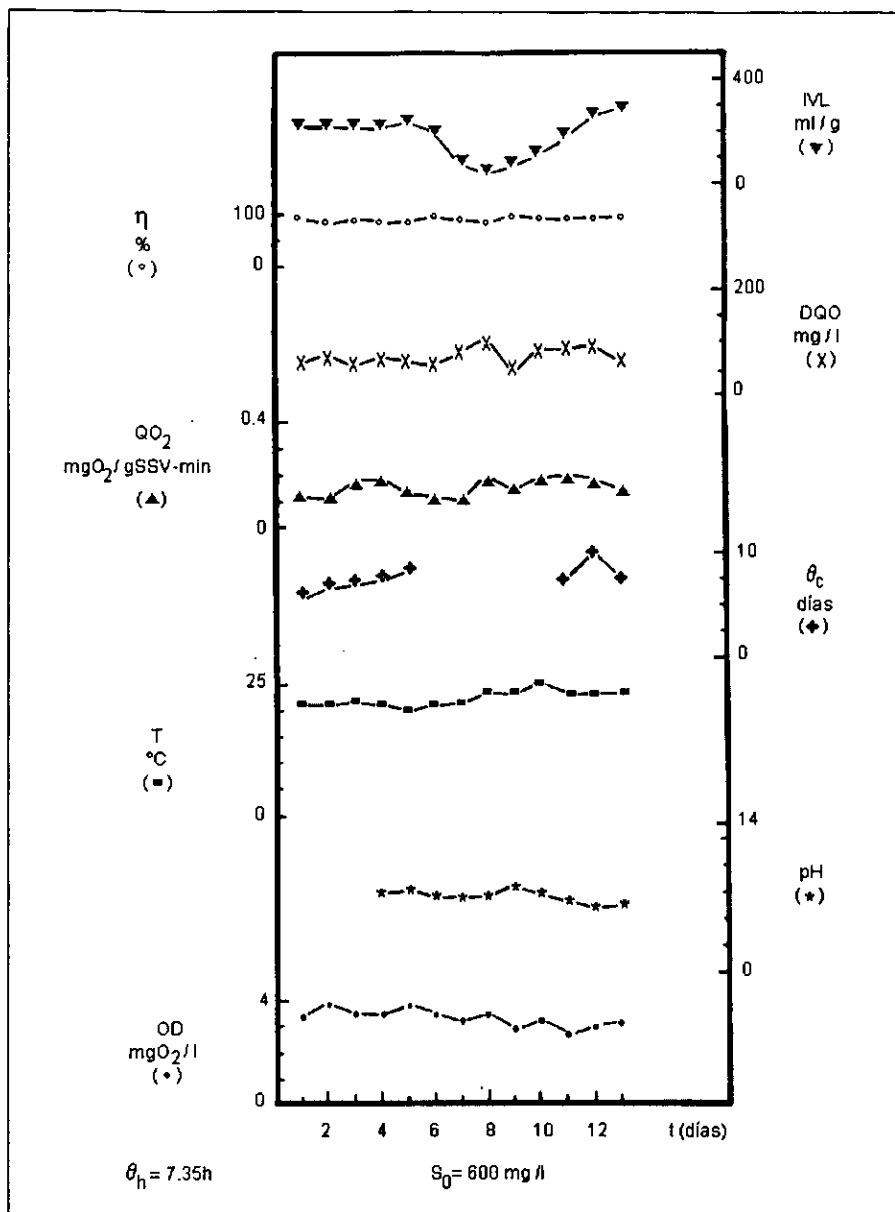


Figura 11. Comportamiento del sistema de lodos activados sin fenol.

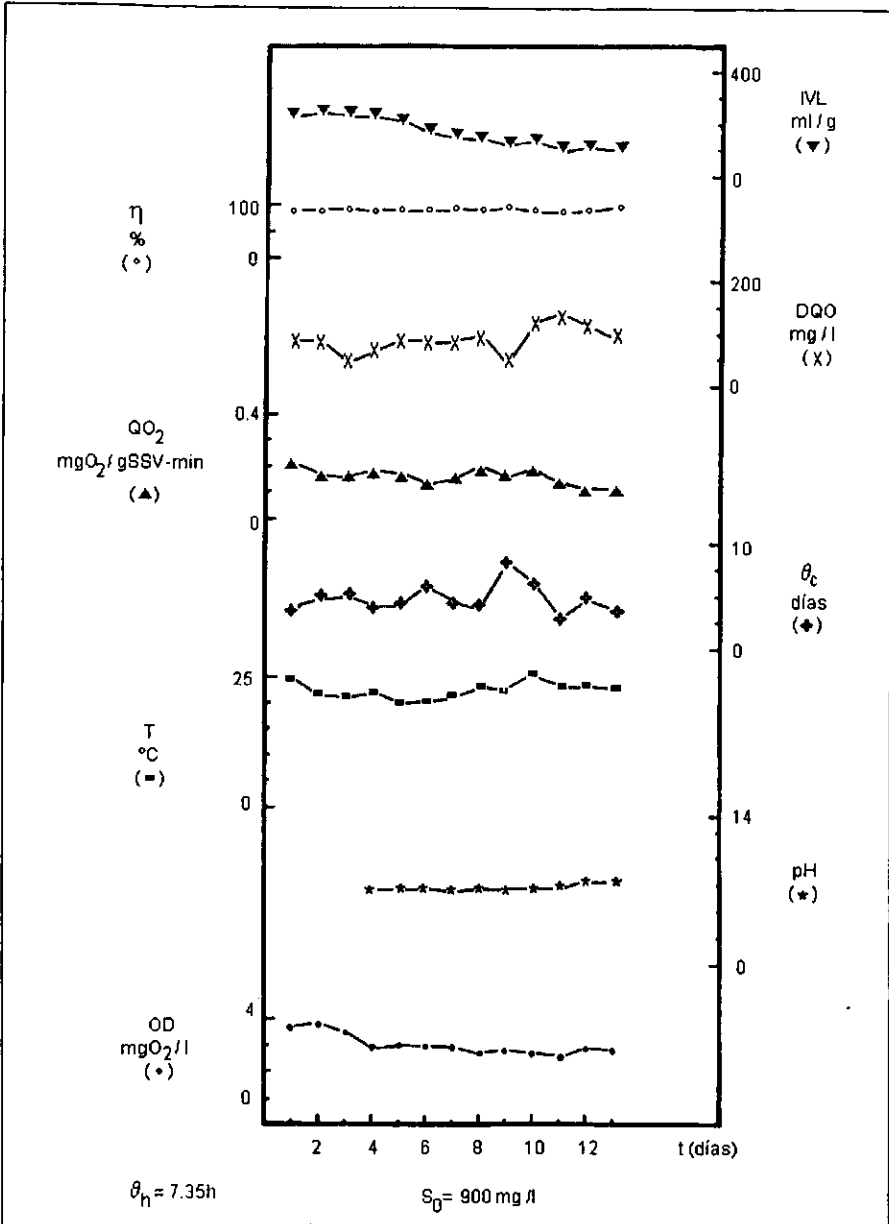


Figura 12. Comportamiento del sistema de lodos activados sin fenol.

## 5.2 SEGUNDA Y TERCERA ETAPA.

Los resultados presentados en las Tablas 9-16 y en las Figuras 13-23, muestran los cambios operados en los parámetros del sistema.

La eficiencia de remoción de materia orgánica ( $n$ ) descendió en las unidades sometidas al fenol; en la unidad I (So 900 mg/l DQO)  $n$  disminuyó desde un 89.4% (testigo) a un 86.23% cuando la concentración de fenol fue de 65.0 mg/l; la Unidad II (So 600 mg/l DQO) experimentó un descenso de 88.11% (testigo) a un 84.80% para una concentración de 50.0 mg/l de fenol; en tanto que el descenso en la Unidad III (So 300 mg/l DQO) fue de 79% a un 75.0% para la concentración final de 35.0 mg/l de fenol. Este descenso en  $n$  se obtuvo como una consecuencia directa del aumento que se presentó en el tiempo de residencia celular  $\theta_c$  así como también del incremento de  $S$ . Este  $S$  residual es atribuido a los compuestos refractarios producidos durante la lisis y degradación de microorganismos. La formación de estos productos es un fenómeno natural y la cantidad total depende no sólo de la concentración inicial de sustrato, sino también de  $\theta_c$ . Estos productos se originan como resultado del metabolismo del sustrato, crecimiento celular, lisis y degradación de microorganismos. En sistemas que son operados con valores altos de  $\theta_c$  ( $> 1$  día) prevalecen los productos liberados durante la lisis y degradación de microorganismos (Chudoba, 1985; Rittmann *et al*, 1987; Boero *et al*, 1991).

El tiempo de residencia celular ( $\theta_c$ ) expresa el tiempo que los microorganismos se mantienen dentro del sistema y corresponde al inverso de la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ), por lo que el aumento que se presentó en  $\theta_c$  se traduce en una disminución en la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ). La disminución que se presentó en la Unidad I fue de un 51%, de un 24% para la Unidad II y de hasta un 100% para la Unidad III; este descenso en  $\mu$  es explicable, puesto que cuando existe un incremento en la concentración del sustrato tóxico (fenol) en el influente, se presenta una disminución de la velocidad específica de crecimiento de acuerdo con la ecuación de Haldane:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S + S^2 / K_I}$$

la cual expresa la relación que existe entre  $\mu$  y S para un sustrato tóxico. Este descenso en  $\mu$  puede resultar en un lavado de la biomasa (Rozich and Gaudy, 1985). La disminución en  $\mu$ , afectó de manera apreciable al sistema, reflejándose en el descenso que se presentó en la eficiencia de remoción de materia orgánica ( $\mu$ ), así como también afectó a la cuenta viable de microorganismos presentes en el sistema, manifestándose en una disminución en el número de bacterias degradadoras de fenol. Como se aprecia en las Tablas 11 y 12 el número de bacterias decreció conforme la concentración de fenol fue incrementada, esto significa que si bien los microorganismos poseen la capacidad enzimática para degradar al fenol, ésta tiene un límite, de tal manera que aquellas bacterias que no pudieron tolerar y crecer bajo el estrés de las concentraciones de fenol utilizadas no sobrevivieron, dando como resultado una disminución en el número de microorganismos.

Sin embargo, a pesar de esta disminución, no se presentó un descenso en la remoción de fenol, la cual fue de un 99%, porcentaje muy similar al obtenido en otros estudios con lodos activados tratando fenol (Buitrón *et al*, 1993; Buitrón and González, 1996; Buitrón *et al*, 1997), esto es debido a que no siempre la actividad degradativa está sustentada en el gran número de bacterias degradadoras de fenol, sino que es más probable que la actividad degradativa de los lodos activados se deba a un incremento en la habilidad de cada especie para degradar y tolerar al fenol y no por un incremento en las poblaciones (Okada, *et al*, 1991).

En general, los valores del pH mostraron un aumento, el cual se vio reflejado en un descenso en la actividad microbiana, este ascenso trajo como consecuencia una caída en  $\mu$ , siendo este efecto más marcado para aquellas concentraciones de fenol en los cuales los valores de pH fueron más elevados. Se ha observado que este parámetro es el factor primario que afecta la degradación de sustrato (Kim and Armstrong, 1981) y una variación en una unidad más o menos del pH óptimo, conduce a una disminución en el valor de  $\mu$  (Lallai *et al*, 1988). En la degradación de fenol se ha observado inicialmente una disminución del pH, la cual es atribuida a la producción de los ácidos orgánicos intermediarios durante la degradación del tóxico, presentándose posteriormente un aumento en el valor del pH como resultado de la subsecuente degradación de los ácidos formados (Lallai and Mura, 1989; Watanabe(c) *et al*, 1996).

El aumento que se presentó en el valor del Índice Volumétrico de Lodos (IVL), indica que el sistema está perdiendo su capacidad de sedimentación, lo que no se considera favorable, ya que las características de compactación de los lodos son un requisito para una operación exitosa en el proceso de lodos activados. Los lodos que originalmente eran de color café cambiaron a un color amarillo y las observaciones al microscopio mostraron la presencia de organismos filamentosos. En las tres últimas concentraciones de fenol ensayadas, los lodos no sedimentaron y el número de formas filamentosas aumentó considerablemente; estos organismos, como ya ha sido señalado, son causantes del abultamiento del lodo (Bishop *et al*, 1973; Houtmeyers *et al*, 1980; Seviour *et al*, 1994). Esta conducta que presentaron los lodos fue muy similar a la observada en otros estudios cuando un cultivo mixto aclimatado al fenol fue sujeto a choques de carga, es decir, incrementos en la concentración de fenol (Rozich and Gaudy, 1985; Buitrón *et al*, 1993).

El aumento existente en la velocidad específica de consumo de oxígeno ( $QO_2$ ) indica que el sistema entró en un estado de estrés, el cual fue provocado por la presencia de fenol y que este produce intoxicación al sistema microbiano presente, aumentando la capacidad degradativa del sistema como una manera de desintoxicarse. Este incremento en  $QO_2$  es consistente si se considera que la resistencia al fenol por parte de cada una de las especies presentes en el sistema es diferente, y puesto que el fenol es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, se puede decir que el fenol favoreció el desarrollo de aquellas especies que fueran no sólo capaces de degradar tanto al fenol como a la materia orgánica presente, sino también de vencer la presión selectiva que ejerció el fenol sobre los microorganismos (Watanabe (a) *et al*, 1996).

El aumento observado en la temperatura del sistema coincidió con el incremento en la temperatura ambiental, cuando estos experimentos fueron realizados.

Las Tablas 11 y 12 muestran que en todos los experimentos realizados, las cuentas viables de hongos y levaduras para todas las unidades fueron siempre muy pequeñas, encontrándose menos de 5 unidades formadoras de colonias por mililitro. Se puede decir que estos microorganismos no tuvieron un papel importante en el sistema.

Es importante señalar la disminución que se presentó en el rendimiento en base a sustrato (Y); lo cual significa que existió una menor producción de células, y por lo tanto se tiene un sistema que produce poco lodo; esto conduce a un descenso en la contaminación por lodo residual, así como también reduce el principal problema que se tiene en el tratamiento de agua residual, que es el tratamiento y la disposición de los lodos residuales (Hernández, 1992; Metcalf-Eddy, 1994).

Los 11 géneros bacterianos aislados se muestran en las Tablas 15 y 16.

En la Tabla 15 se puede observar que algunos géneros estuvieron presentes sólo en algunas de las concentraciones de fenol ensayadas. Esta presencia o ausencia puede ser atribuido a lo siguiente:

1. La heterogeneidad de los lodos; en este estudio, como ya se mencionó en Materiales y Métodos, se trabajó con 3 lotes de lodos provenientes de 2 plantas de tratamiento de aguas negras.
2. La concentración bacteriana pudo ser tan baja que sólo se logró aislar una colonia.
3. El efecto inhibitorio del fenol sobre el crecimiento bacteriano, aquellas especies que no toleraron una cierta concentración de fenol no fueron capaces de sobrevivir.
4. Contaminación en el manejo de los lodos.
5. Las bacterias entraron en un estado no cultivable como consecuencia del estrés.

Los géneros predominantes a lo largo de todas las concentraciones de fenol ensayadas fueron: *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Fusobacterium* y *Bacteroides*. De estos, es conocido que tanto *Sphingomonas* como *Pseudomonas*, son capaces de degradar al fenol (Lallai *et al*, 1988; Buitrón *et al*, 1997; Folsom *et al*, 1990, Fredrickson *et al*, 1995; Kukor and Olsen, 1992; Nohynek *et al*, 1996). Respecto a *Fusobacterium* y *Bacteroides*, aún cuando no han sido reportados hasta ahora como bacterias degradadoras de fenol, sí han sido encontrados en sistemas de lodos activados (Curds and Hawkes, 1975).

Es conocido que los microorganismos poseen la capacidad de degradar compuestos orgánicos tóxicos (como el fenol), por lo que han sido utilizados en tratamientos de

efluentes industriales; en muchos casos la suplementación de microorganismos no ha dado buenos resultados; por ejemplo; (Wilderer *et al*, 1991; Nüblein *et al*, 1992; Watanabe (b) *et al*; 1996) reportaron que el periodo de aclimatación requerido para la completa degradación del compuesto tóxico (3-clorobenzoato; 3-clorobenzoato y 4-metil-benzoato; fenol, respectivamente), se redujo de manera significativa cuando fueron introducidos en un sistema de lodos activados cultivos puros de cepas capaces de degradar los compuestos en cuestión; en otros casos, sin embargo, el uso de cultivos puros no ha tenido éxito (Buitrón and González, 1996) determinaron la cinética de degradación del fenol por cultivos puros y por el consorcio presente en los lodos aclimatados, observando que el cultivo mixto fue más eficiente que las cepas puras. Se han sugerido diversas razones por las cuales la suplementación de microorganismo no haya resultado exitosa: la presencia de otros compuestos orgánicos, los cuales son utilizados de preferencia sobre el contaminante de interés; la cepa que posee las capacidades degradativas no es capaz de competir con los microorganismos endógenos; la depredación por protozoarios (Goldstein *et al*, 1985). (Mc Clure *et al*, 1991) han señalado la enorme importancia que tiene el escoger las cepas adecuadas si se desea que el uso del inóculo para la degradación de un contaminante en particular tenga éxito.

Para una investigación futura se recomienda además de aislar e identificar las bacterias responsables de la degradación de fenol, determinar la cinética de degradación de fenol por cada una de las cepas aisladas, con el propósito de conocer sus capacidades de degradación y determinar la posibilidad de que puedan ser utilizadas como inóculo en un proceso de lodos activados tratando fenol.



Tabla 9  
Valores promedio de los parámetros del sistema de lodos activados con fenol

Conc. fenol mg/l	S <sub>0</sub> mg/l	S mg/l	<i>n</i> %	Q <sub>O<sub>2</sub></sub> mgO <sub>2</sub> /gSSV·min.	OD mg O <sub>2</sub> /l	pH	T °C	IVL ml/g	SST g/l	Y gSSV/g DQO	θ <sub>c</sub> días	μ d <sup>-1</sup>
0.5	300	81	75.5	0.180	3.8	8.0	24.1	182	2.47	0.328	13.6	0.073
0.5	600	115	81.63	0.128	3.7	8.3	24.4	294	2.81	0.273	6.96	0.144
0.5	900	140	84.62	0.134	3.5	8.4	24.13	103.35	3.2	0.362	3.83	0.260
1.0	300	128	63.53	0.128	7.5	8.2	25.13	281.5	2.41	0.176	12.76	0.078
2.5	600	157	75.0	0.149	6.6	8.0	24.5	255	2.57	0.228	10.0	0.1
5.0	900	170	81.0	0.158	5.9	8.6	25.8	290	2.50	0.265	5.62	0.177
20.0	600	104	85.0	0.264	4.0	7.8	24.2	91.74	2.21	0.308	7.83	0.127
20.0	900	130	85.0	0.271	3.9	7.7	23.0	77.14	2.73	0.313	4.52	0.221
35.0	300	84	75.0	0.150	4.8	7.6	22.1	477.4	1.84	0.077	∞	0
50.0	600	102	84.80	0.230	6.2	7.9	22.1	303.23	2.5	0.130	9.9	0.1
65.0	900	138	86.23	0.278	5.9	7.9	22.5	241.3	2.65	0.109	10.12	0.098

**Tabla 10**  
**Eficiencia de remoción de fenol**

<b>Concentración (mg/l)</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
0.5	N.D.
1.0	97.63
2.5	100.00
5.0	100.00
20.0	99.99
35.0	99.99
50.0	99.99
65.0	99.99

**Tabla 11**  
**Mesófilos aerobios**

UFC/ml

Muestreo	mg/l Fenol	Unidad I	Unidad II	Unidad III
1	0.0	$200 \times 10^6$	$180 \times 10^6$	$20 \times 10^6$
2	0.5	$180 \times 10^6$	$160 \times 10^6$	$13 \times 10^6$
3	1.0	N.D.	N.D.	$10 \times 10^6$
3	2.5	N.D.	$110 \times 10^6$	N.D.
3	5.0	$150 \times 10^6$	N.D.	N.D.
4	20.0	$170 \times 10^6$	$150 \times 10^6$	N.D.
5	35.0	N.D.	N.D.	$5 \times 10^6$
5	50.0	N.D.	$80 \times 10^6$	N.D.
5	65.0	$15 \times 10^6$	N.D.	N.D.

**Tabla 12**  
**Anaerobios facultativos**

**UFC/ml**

<b>Muestreo</b>	<b>mg/l Fenol</b>	<b>Unidad I</b>	<b>Unidad II</b>	<b>Unidad III</b>
1	0.0	$170 \times 10^6$	$145 \times 10^6$	$7 \times 10^6$
2	0.5	$145 \times 10^6$	$120 \times 10^6$	$5 \times 10^6$
3	1.0	N.D.	N.D.	$3.3 \times 10^6$
3	2.5	N.D.	$110 \times 10^6$	N.D.
3	5.0	$120 \times 10^6$	N.D.	N.D.
4	20.0	$110 \times 10^6$	$100 \times 10^6$	N.D.
5	35.0	N.D.	N.D.	$3 \times 10^6$
5	50.0	N.D.	$80 \times 10^6$	N.D.
5	65.0	$60 \times 10^6$	N.D.	N.D.

**Tabla 13**  
**Hongos filamentosos**

UFC/ml

Muestreo	mg/l Fenol	Unidad I	Unidad II	Unidad III
1	0.0	0	0	0
2	0.5	0	0	0
3	1.0	N.D.	N.D.	0
3	2.5	N.D.	0	N.D.
3	5.0	0	N.D.	N.D.
4	20.0	4	2	N.D.
5	35.0	N.D.	N.D.	0
5	50.0	N.D.	0	N.D.
5	65.0	3	N.D.	N.D.

**Tabla 14**  
**Levaduras**

**UFC/ml**

<b>Muestreo</b>	<b>mg/l Fenol</b>	<b>Unidad I</b>	<b>Unidad II</b>	<b>Unidad III</b>
1	0.0	0	0	0
2	0.5	0	0	0
3	1.0	N.D.	N.D.	0
3	2.5	N.D.	0	N.D.
3	5.0	0	N.D.	N.D.
4	20.0	3	2	N.D.
5	35.0	N.D.	N.D.	0
5	50.0	N.D.	1	N.D.
5	65.0	1	N.D.	N.D.

**Tabla 15**  
**Géneros bacterianos encontrados durante el muestreo con fenol**  
**Mesófilos aerobios**

Concentración (mg/l)	Género	No. de Cepas	Porcentaje (%)
0.5	<i>Sphingomonas</i>	4*	33.33
	<i>Bacillus</i>	5*	41.66
	<i>Vibrio</i>	1*	8.33
	<i>Pseudomonas</i>	2*	16.66
1.0	<i>Sphingomonas</i>	1	25.0
	<i>Bacillus</i>	2	50.0
	<i>Pseudomonas</i>	1	25.0
2.5	<i>Sphingomonas</i>	1	20.0
	<i>Bacillus</i>	1	20.0
	<i>Pseudomonas</i>	2	40.0
	<i>Vibrio</i>	1	20.0
5.0	<i>Sphingomonas</i>	2	33.3
	<i>Bacillus</i>	2	33.3
	<i>Pseudomonas</i>	2	33.3
20.0	<i>Sphingomonas</i>	6**	46.15
	<i>Bacillus</i>	2**	15.38
	<i>Pseudomonas</i>	1**	7.69
	<i>Pasteurella</i>	2**	15.38
	<i>Acinetobacter</i>	1**	7.69
	<i>Morganella</i>	1**	7.69
35.0	<i>Sphingomonas</i>	1	20.0
	<i>Pasteurella</i>	1	20.0
	<i>Pseudomonas</i>	2	40.0
	<i>Flavobacterium</i>	1	20.0
50.0	<i>Sphingomonas</i>	1	16.66
	<i>Pseudomonas</i>	2	33.33
	<i>Pasteurella</i>	1	16.66
	<i>Flavobacterium</i>	1	16.66
	<i>Comamonas</i>	1	16.66
65.0	<i>Sphingomonas</i>	1	50.0
	<i>Pseudomonas</i>	1	50.0
TOTAL		53	

\* Total de cepas aisladas en las unidades I, II y III.

\*\* Total de cepas aisladas en las unidades I y II.

**Tabla**  
**Géneros bacterianos encontrados durante el muestreo con fenol**  
**Anaerobios facultativos**

Concentración (mg/l)	Género	No. de Cepas	Porcentaje (%)
0.5	<i>Fusobacterium</i>	6*	60
	<i>Bacteroides</i>	4*	40
1.0	<i>Fusobacterium</i>	1	50
	<i>Bacteroides</i>	1	50
2.5	<i>Fusobacterium</i>	2	66.66
	<i>Bacteroides</i>	1	33.33
5.0	<i>Fusobacterium</i>	3	75
	<i>Bacteroides</i>	1	25
20.0	<i>Fusobacterium</i>	6**	66.66
	<i>Bacteroides</i>	3**	33.33
35.0	<i>Fusobacterium</i>	3	75
	<i>Bacteroides</i>	1	25
50.0	<i>Fusobacterium</i>	3	60
	<i>Bacteroides</i>	2	40
65.0	<i>Fusobacterium</i>	1	50
	<i>Bacteroides</i>	1	50
<b>TOTAL</b>		39	

\* Total de cepas aisladas en las unidades I, II y III.

\*\* Total de cepas aisladas en las unidades I y II.



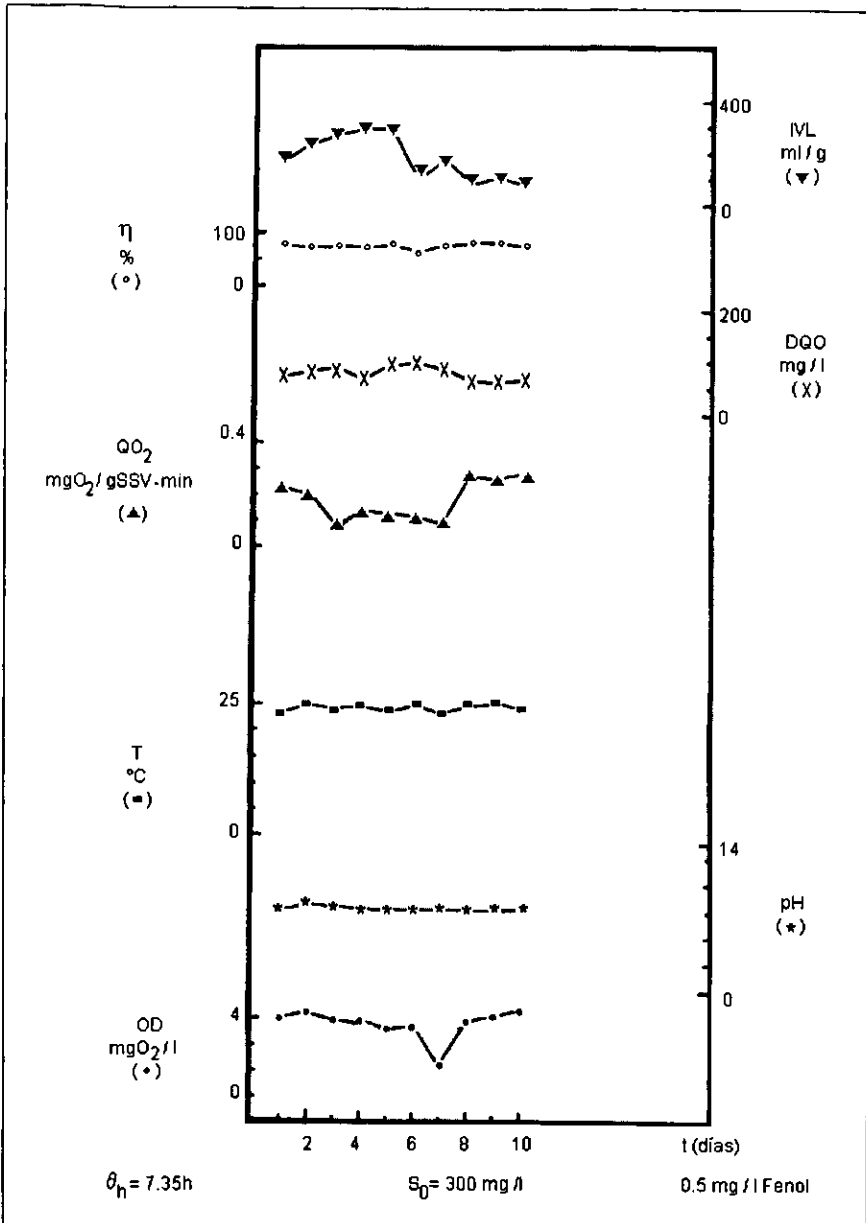


Figura 13. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

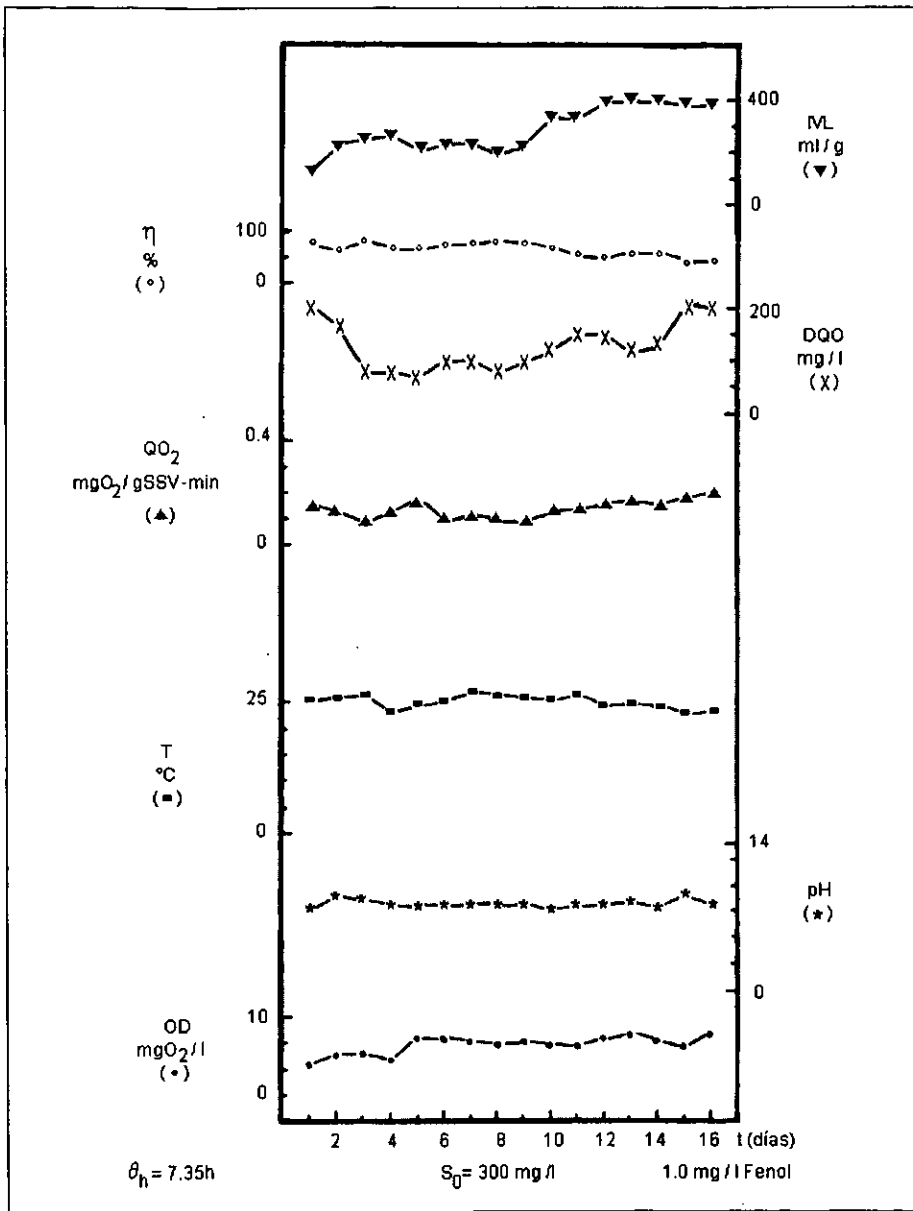


Figura 14. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

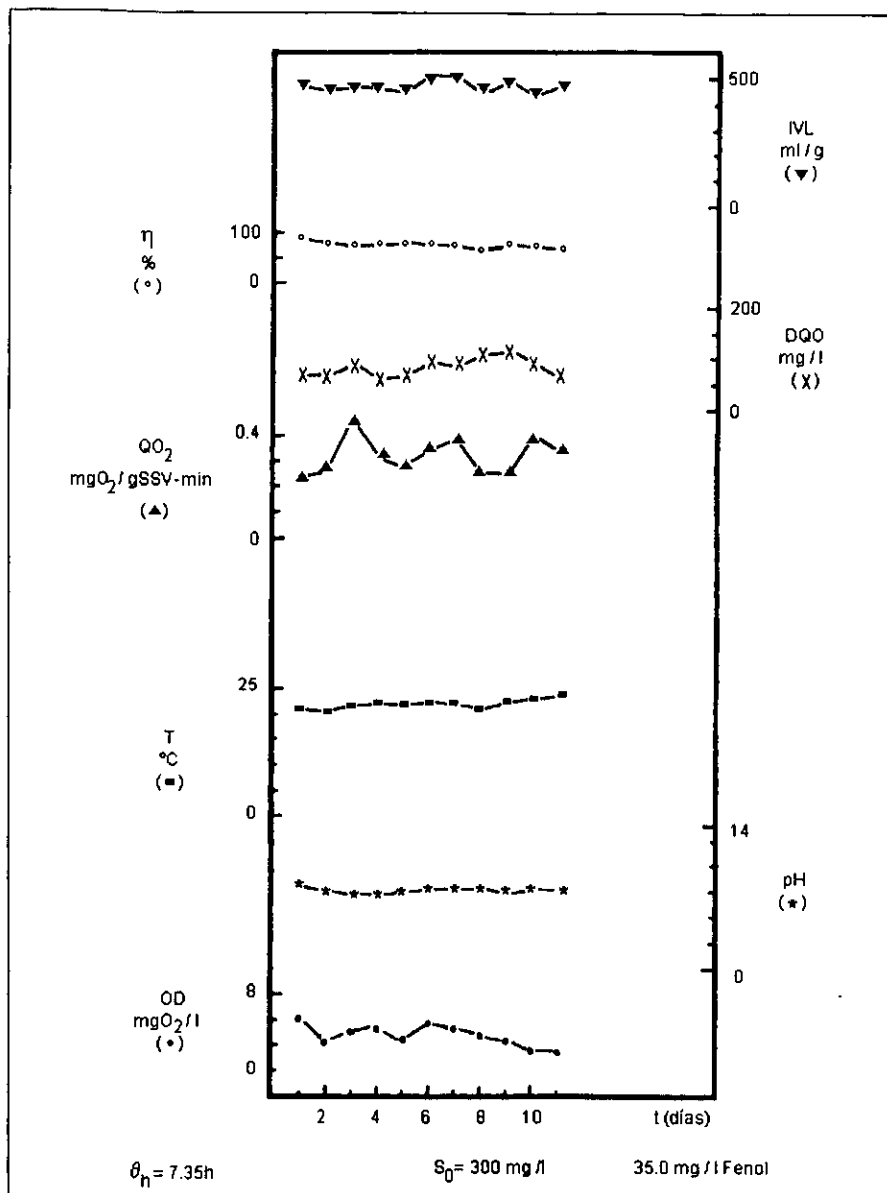


Figura 15. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

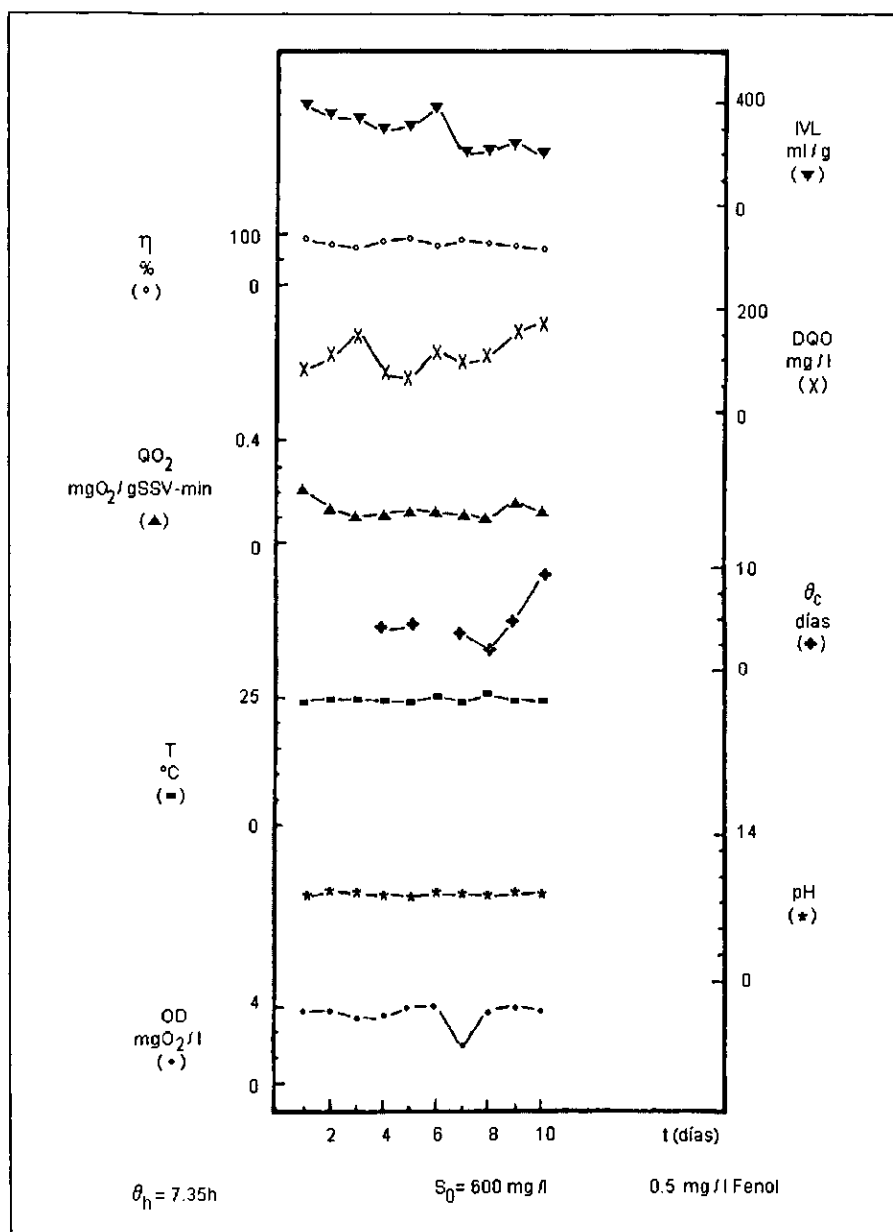


Figura 16. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

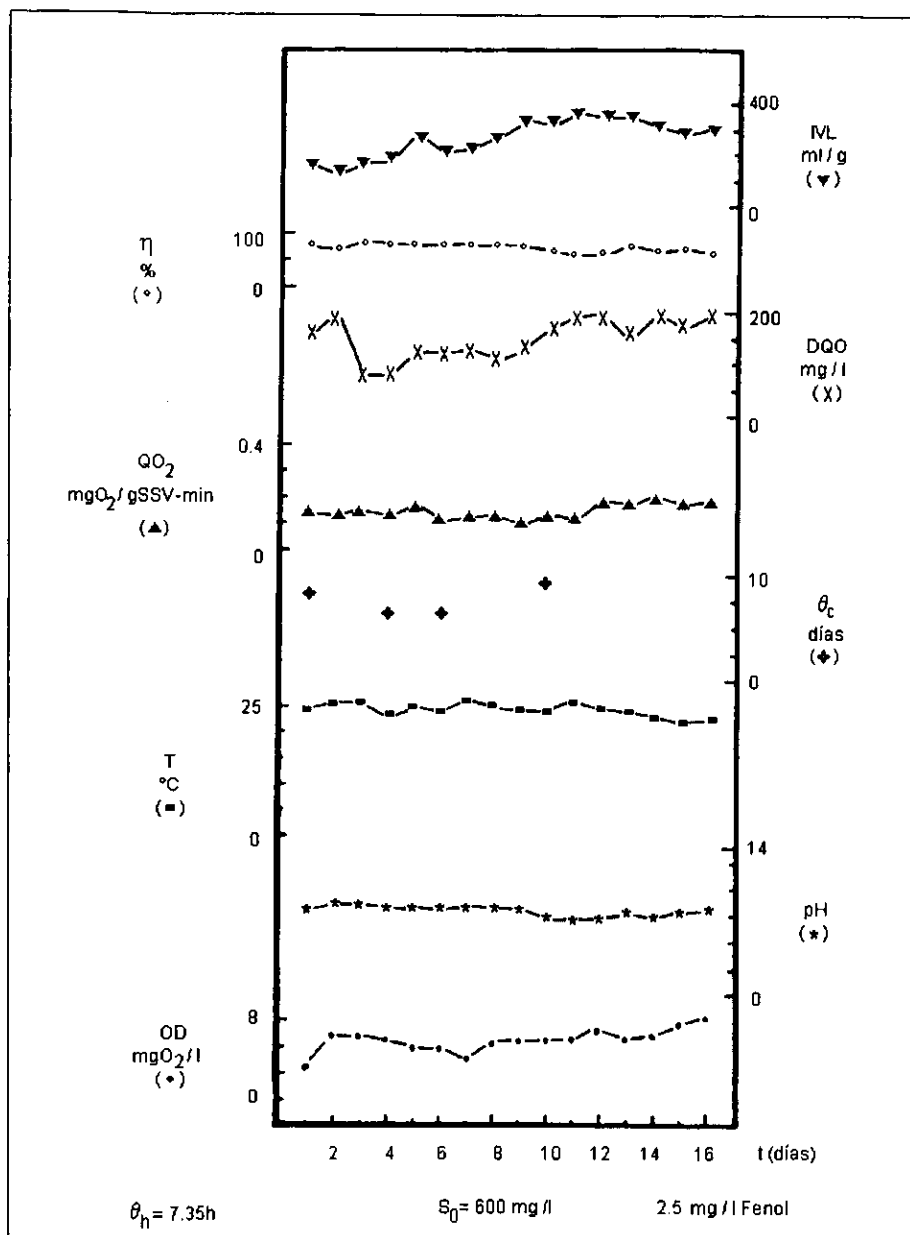


Figura 17. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

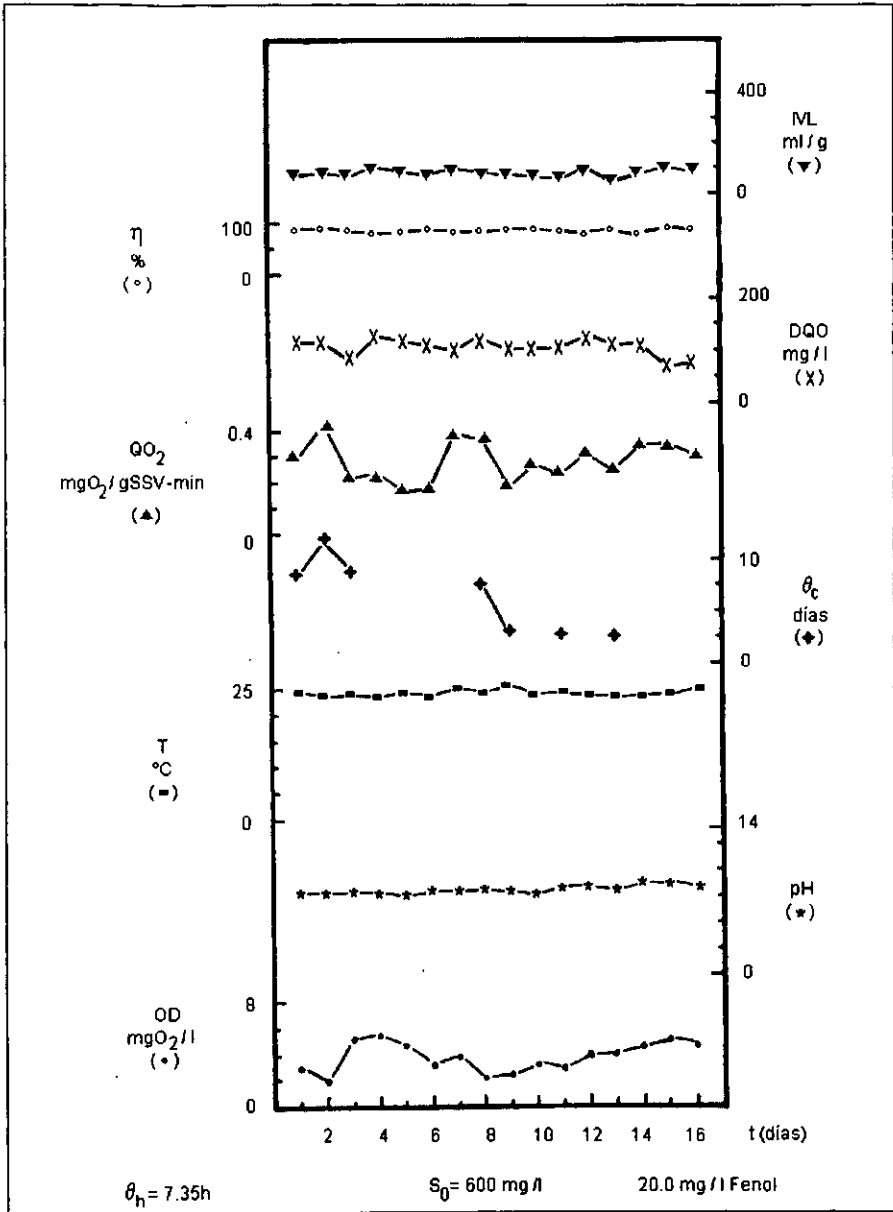


Figura 18. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

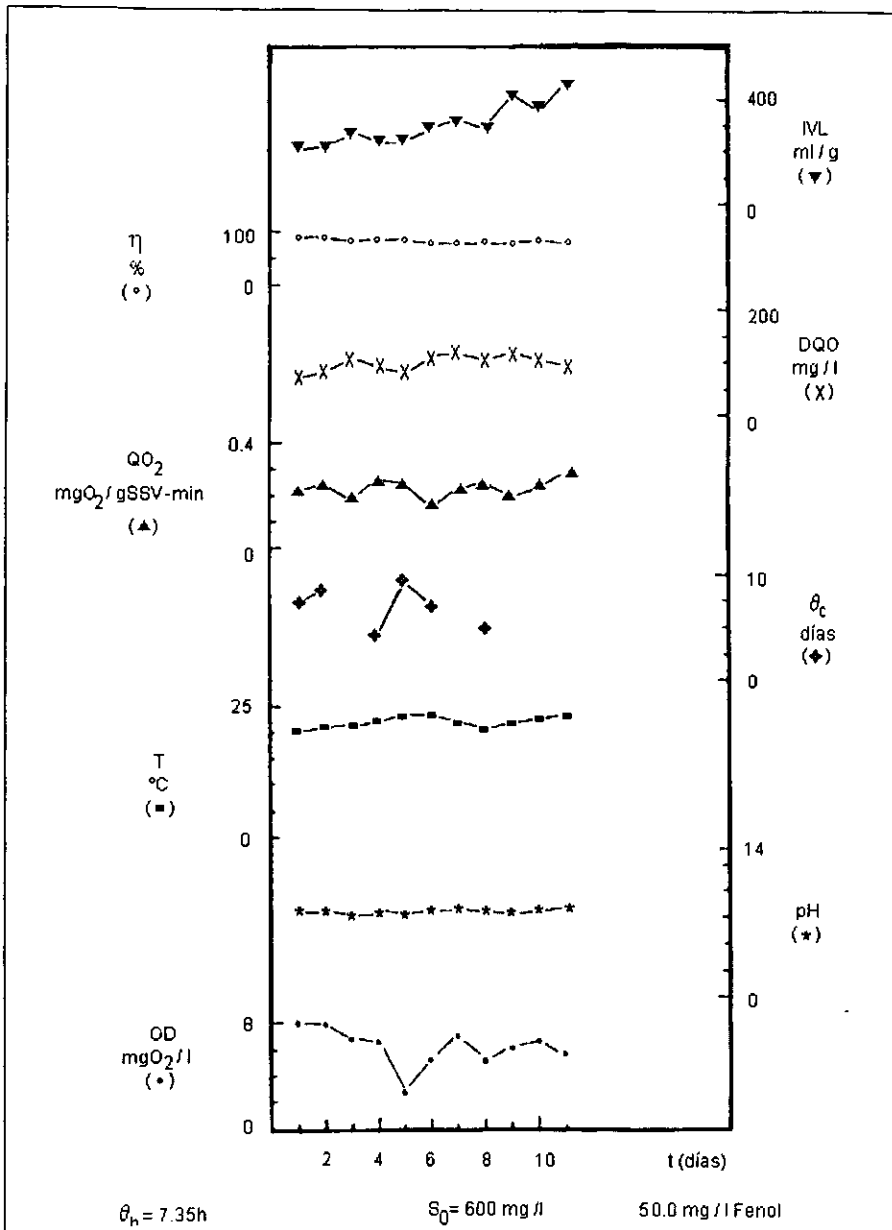


Figura 19. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

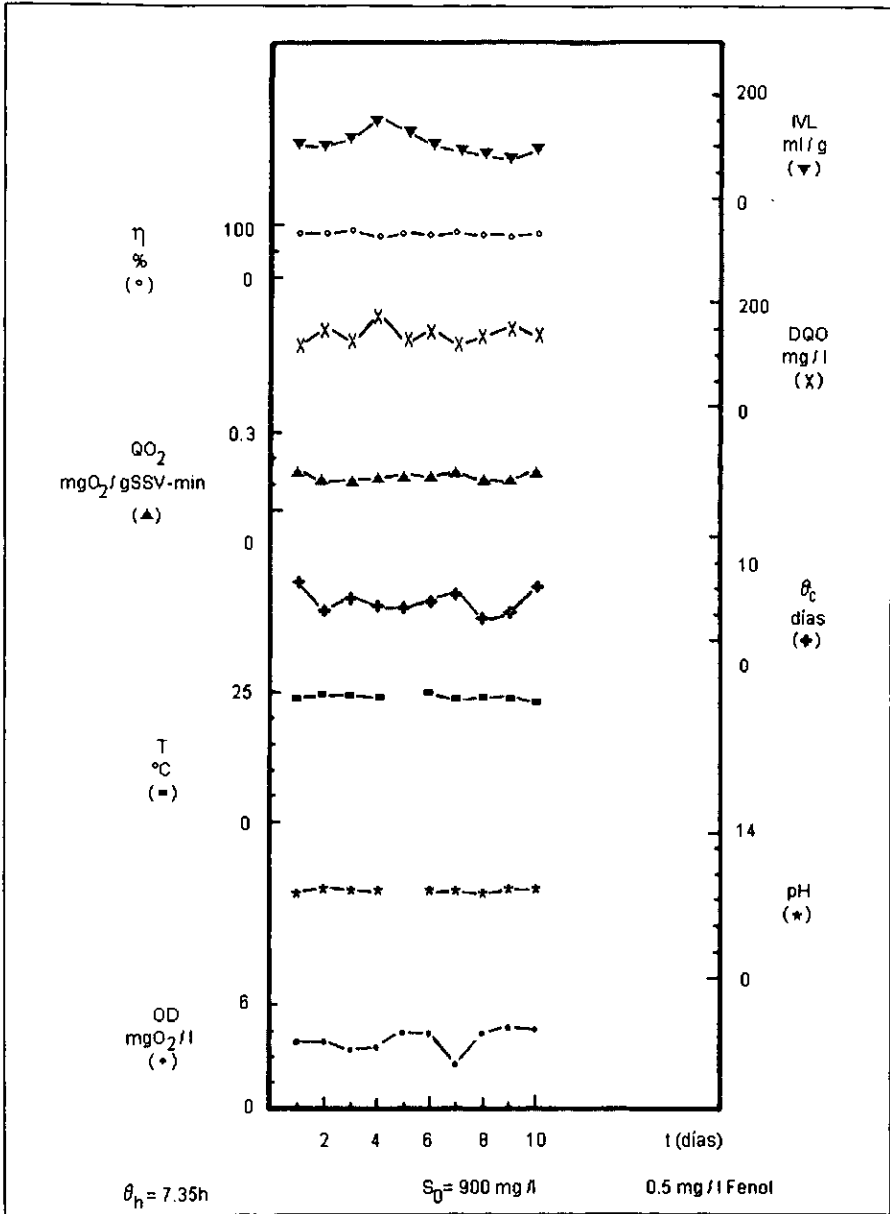


Figura 20. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.



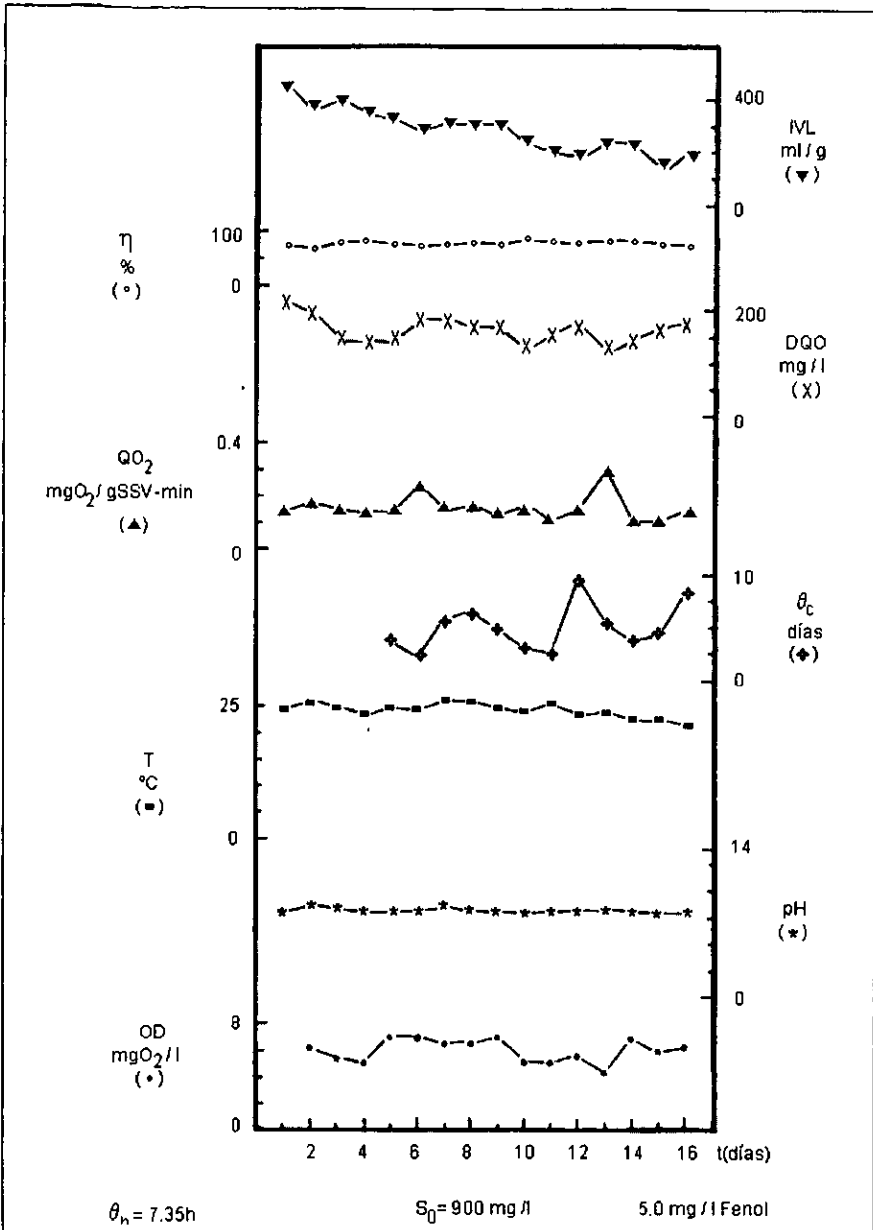


Figura 21. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

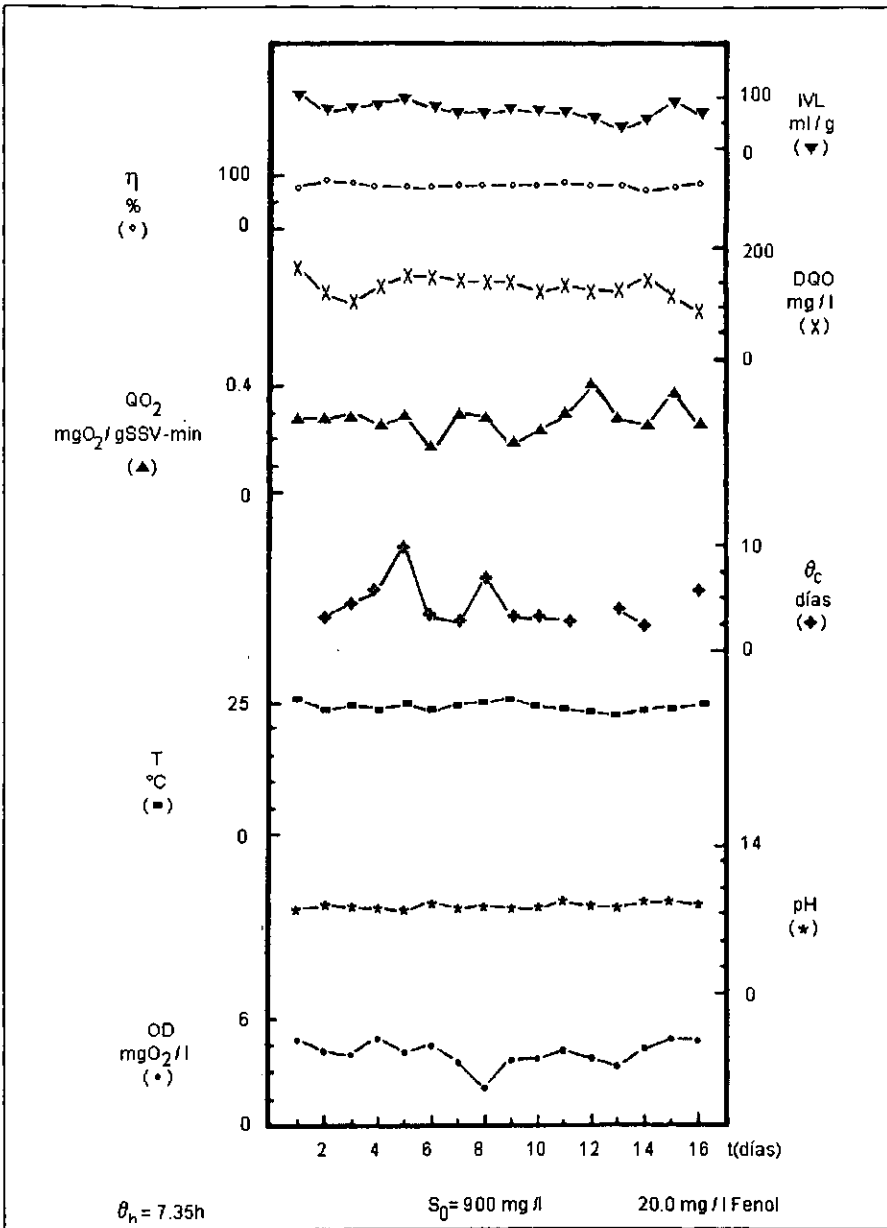


Figura 22. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

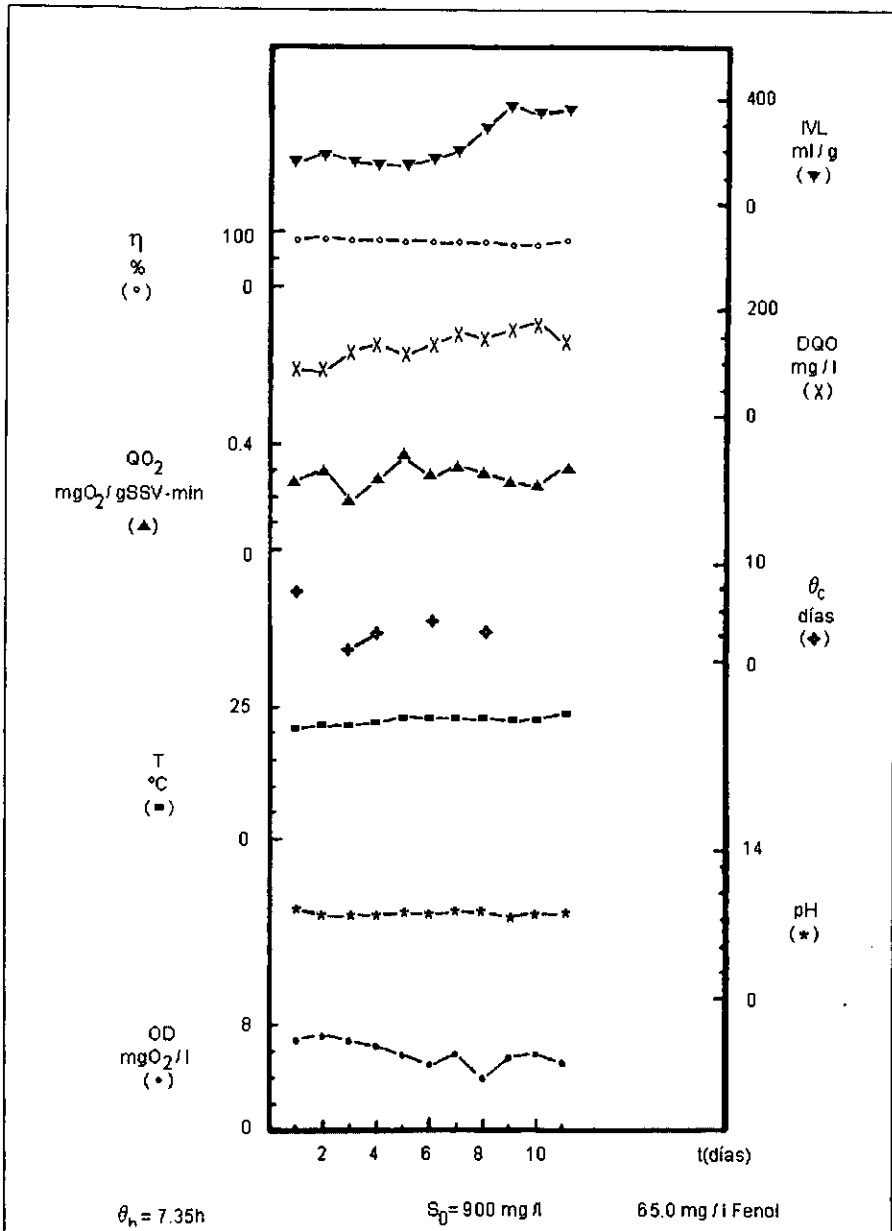


Figura 23. Comportamiento del sistema de lodos activados con fenol.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

### 5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el tratamiento estadístico de los datos obtenidos en las cuentas de mesófilos aerobios y anaerobios facultativos, se realizó un análisis de varianza de una vía para un modelo de bloques al azar, utilizando un nivel de significancia del 5%; la respuesta de interés fue el porcentaje de disminución de las poblaciones bacterianas, por lo que se aplicó la transformación arco seno de la raíz cuadrada de cada porcentaje. Para hacer las comparaciones múltiples se usó la prueba de Tukey (Wayne, 1993).

El rendimiento celular en base a sustrato (Y) expresa la cantidad de células producidas por gramo de materia orgánica consumida, en tanto que los sólidos suspendidos totales (SST) representan el peso de las bacterias presentes, no haciendo distinción entre células vivas y células muertas, por lo que el descenso en el número de microorganismos provocado por el efecto del fenol se refleja en una disminución de estas dos variables, por este motivo los datos obtenidos de Y y SST también fueron analizados estadísticamente.

Debido a la heterogeneidad de los lodos, se consideraron sólo los provenientes de una misma planta. Las concentraciones de fenol fueron agrupadas como dosis baja (0.5 mg/l), dosis media (2.5 y 5.0 mg/l) y dosis alta (50.0 y 65.0 mg/l).

La Tabla 17 muestra las transformaciones de los porcentajes de disminución de las poblaciones bacterianas, en tanto que las Tablas 18 y 19 presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza y de la prueba de Tukey, respectivamente.

**Tabla 17**  
**Transformaciones de los porcentajes de disminución de**  
**las poblaciones bacterianas**

	Unidad	Dosis de fenol (mg/l)		
		Baja (0.5)	Media (2.5, 5.0)	Alta (50.0, 65.0)
Mesófilos aerobios	I	18.43	30.0	74.10
	II	19.46	38.57	48.18
Anaerobios facultativos	I	22.54	32.84	53.45
	II	24.53	29.42	42.01
Rendimiento celular (Y)	I	14.75	22.20	90.0
	II	7.40	18.89	90.0
Sólidos suspendidos totales (SST)	I	12.37	22.54	33.31
	II	9.71	19.43	38.80

**Tabla 18**  
**Valores de F**

<b>Variable</b>	<b>Fc</b>	<b>F<sub>0.05</sub></b>	<b>Observaciones</b>
Mesófilos aerobios	5.6	19.0	No hay diferencia significativa.
Anaerobios facultativos	42.92	19.0	Sí hay diferencia significativa.
Rendimiento celular (Y)	547.22	19.0	Sí hay diferencia significativa.
Sólidos suspendidos totales (SST)	27.05	19.0	Sí hay diferencia significativa.

**Tabla 19**  
**Comparaciones múltiples**

Variable	$(\mu_1 \text{ y } \mu_2)$	$(\mu_2 \text{ y } \mu_3)$	$(\mu_1 \text{ y } \mu_3)$
Anaerobios Facultativos	No hay diferencia	Sí hay diferencia	Sí hay diferencia
Rendimiento Celular (Y)	No hay diferencia	Sí hay diferencia	Sí hay diferencia
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	No hay diferencia	No hay diferencia	Sí hay diferencia

En la Tabla 18 se observa que los organismos mesófilos no muestran una diferencia significativa en el porcentaje de disminución de las poblaciones, es decir, no hay evidencia del efecto del fenol. Este resultado es contradictorio con los porcentajes de disminución que se presentaron por nivel de fenol, los cuales aumentaron conforme la dosis de fenol se incrementó, como una consecuencia de la disminución en el número de microorganismos; sin embargo, cuando se utilizó un nivel de significancia del 16% (para este nivel de significancia se empleó el software SPSS), sí existió una diferencia significativa en los porcentajes de disminución; para este porcentaje, el valor de F de tablas estadísticas ( $F_{0.16} = 5.25$ ) es menor que el calculado (5.6).

Es importante hacer notar el hecho de que el resultado obtenido cuando se usó un nivel de significancia del 5%, se debe posiblemente a que exista interacción entre el efecto de los reactores y el efecto del fenol, ya que puede observarse que la diferencia entre el porcentaje de disminución de las poblaciones bacterianas para dos niveles cualesquiera de fenol no es la misma para ambos reactores, siendo mayor la diferencia en la Unidad I, sin

embargo, al promediar los efectos del fenol con los dos reactores diluye el efecto, y como en el modelo de bloques al azar se tiene como supuesto que la interacción no exista, es decir, que cualquier diferencia entre los porcentajes de dos niveles cualesquiera de fenol sea la misma aproximadamente en cada reactor, es por ello que al no cumplirse el supuesto de no interacción entre dosis de fenol y reactor, la sensibilidad para detectar al 5% diferencias significativas no ocurre, sin embargo, como este efecto de interacción es sinérgico (en ambos reactores se presenta una disminución), entonces a un nivel mayor (16%), sí se detecta la diferencia, por lo que se puede afirmar que la presencia de fenol sí modifica en una forma importante el número de microorganismos mesófilos.

En cuanto al porcentaje de disminución de las poblaciones de organismos anaerobios, del rendimiento celular (Y) y de los sólidos suspendidos totales (SST), los resultados muestran que existen diferencias significativas; esto quiere decir que las distintas dosis de fenol no tienen la misma respuesta de disminución en las poblaciones bacterianas, y que estas diferencias se presentan entre las dosis baja y alta de fenol, y entre las dosis media y alta.

Estas diferencias tienen una explicación desde un punto de vista físico, ya que en los experimentos se tienen dos factores cuyos efectos pudieran considerarse antagónicos: uno de ellos es la concentración de materia orgánica (DQO) que los microorganismos utilizan como sustrato y que de acuerdo a la ecuación de Monod:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}$$

indica que la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) aumenta conforme la concentración de sustrato se incrementa; el otro efecto es el del tóxico (fenol) que de acuerdo con la ecuación de Haldane puede actuar como un inhibidor de la velocidad de crecimiento. Puesto que el fenol a bajas concentraciones es también un sustrato, ambos efectos (el incremento y el descenso en  $\mu$  no es tan grande como para las altas concentraciones de fenol, ya que para estos últimos valores predomina el efecto inhibidor del fenol sobre el efecto activador de la materia orgánica.



## VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones más importantes de este trabajo se pueden resumir en las siguientes:

1. El fenol ocasiona un descenso en la eficiencia de remoción de materia orgánica como resultado de la disminución en la velocidad específica de crecimiento. Este efecto se debe a la toxicidad del fenol.
2. Se puede afirmar con bases estadísticas, que el efecto tóxico del fenol hace descender el número de poblaciones bacterianas presentes en el sistema, este efecto es mayor para altas concentraciones de fenol.
3. La actividad degradativa de los lodos se debe a la habilidad de cada especie para degradar y tolerar el fenol y no al número de microorganismos.
4. La respiración experimenta un incremento como una respuesta a la presencia del fenol, lo que implica una mayor velocidad de consumo de sustrato.
5. El fenol ejerce una presión selectiva sobre los microorganismos presentes en el sistema, favoreciendo el desarrollo de especies capaces de degradar tanto al fenol como a la materia orgánica.
6. El fenol provoca una disminución del rendimiento celular en base a sustrato, lo que puede ayudar a controlar la producción de lodos.
7. Las bacterias aisladas e identificadas de los lodos aclimatados al fenol pertenecen a 11 géneros bacterianos (*Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Morganella*, *Pasteurella*, *Comamonas*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*).

8. La presencia de hongos filamentosos y levaduras no fue importante en todos los experimentos.
9. Para las condiciones experimentales ensayadas en este estudio es posible remover un 99.9% de fenol para concentraciones de hasta 65.0 mg/l del tóxico.

## VII. BIBLIOGRAFIA

- Avelar, G.F.J. 1994. Estudio sobre la remoción de fenol en modelos de lagunas de estabilización de tipo facultativo. Tesis de Maestría. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. CINVESTAV.
- Bae, H.S.; J.M. Lee; Y.B. Kim and S.F. Lee, 1996. Biodegradation of the mixture of 4-chlorophenol and phenol by *Comamonas testosteroni* CPW301. *Biodegradation*. Vol. 7, pp. 463-469.
- Banks, C.J. and I. Walker, 1977. Sonication of activated sludge flocs and the recovery of their bacteria on solid media. *J. of General Microbiology*. Vol. 98, pp. 363-368.
- Beltrame, P., and P.L. Beltrame, 1980. Kinetics of phenol degradation by activated sludge in a continuous-stirred reactor. *Journal WPCF*, Vol. 52, No. 1. pp. 126-133.
- Bishop, D.F., Ch. A. Cole, J.B. Stamberg. 1973. Hydrogen peroxide cures filamentous growth in activated sludge. Environmental Protection Agency. Report number EPA-670/2-73-033.
- Boero, V.J., W.W. Eckenfelder Jr. and A.R. Bowers, 1991. Soluble microbial product formation in biological systems. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 23, pp. 1067-1076.
- Brewster, R.Q. and W.E. Mc Ewen, 1975. *Química Orgánica*. Editorial C.E.C.S.A. México-España-Argentina-Chile.
- Buitrón G., A. Koeford and B. Capdeville, 1993. Control of phenol biodegradation by using CO<sub>2</sub> evolution rate as an activity indicator. *Environmental Technology*, Vol. 14, pp. 227-236.
- Buitrón, G. and A. González. 1996. Characterization of the microorganisms from an acclimated activated sludge degrading phenolic compounds. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 34, No. 5-6, pp. 289-294.

Buitrón, G., A. González and L.M. López-Marín. 1997. Biodegradation of phenolic compounds by an acclimated activated sludge and isolated bacteria. Proc. 2nd. International Conference on Microorganisms in activated sludge and biofilm processes. University of California at Berkeley, 21-23, Julio 215-222.

CIECCA, 1978. Análisis de agua y agua residual. Vol. I. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

Chudoba Jan, 1985. Quantitative estimation in COD units of refractory organic compounds produced by activated sludge microorganisms. Wat. Res. Vol. 19, No. 1, pp. 37-43.

CINVESTAV-SEDUE. 1991. Normas Técnicas Ecológicas que establecen los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales de origen industrial en cuerpos de agua. Estudio realizado por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN para la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología.

Curds, C.R. and H.A. Hawkes, 1975. An ecological aspects of used-water treatment. Academic Press. London-N.Y. Sn. Francisco.

Davies, S.N. and R. Dewiest, 1971. Hidrogeología. Ediciones Ariel, Barcelona, España.

Demain A.L. and N.A. Solomon, 1986. Manual of industrial microbiology and biotechnology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Dugan, R.P., 1972. Biochemical ecology of water pollution. Plenum Press. N.Y. and London.

Eckenfelder W.W. and D.L. Ford. 1968. Laboratory and design procedures for waste water treatment process. The University of Texas Austin. Austin Texas, U.S.A.

Evans, W. Ch., 1977. Biochemistry of the bacterial catabolism of aromatic compounds in anaerobic environments. Nature Vol. 270, pp. 17-22.

Evans W. Ch., 1988. Anaerobic degradation of aromatic compounds. Ann. Rev. Microbiol. Vol. 42, pp. 289-317.

Fernández Escartín Eduardo, 1981. Microbiología Sanitaria Vol. I: Agua y Alimentos. EDUG. Universidad de Guadalajara.

Folsom, B.R.; P.J. Chapman and P.H. Pritchard, 1990. Phenol and Trichloroethylene degradation by *Pseudomonas cepacia* G4: Kinetics and interactions between substrates. Appl. and Environmental Microbiology, Vol. 56, No. 5, pp. 1279-1285.

Fredrickson J.K., D.L. Balkwill, G.R. Drake, M.F. Romine, D.B. Ringelberg and D.C. White, 1995. Aromatic-Degrading *Sphingomonas* isolates from the deep subsurface. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 61, No. 5, pp. 1917-1922.

Gayford, C.G. and J.P. Richards. 1970. Isolation and enumeration of aerobic heterotrophic bacteria in activated sludge. J. Appl. Bact. Vol. 33, pp. 342-350.

Gibson, D.T., 1968. Microbial degradation of aromatic compounds. Science, Vol. 161, pp. 1093-1097.

Goldstein, R.M., L.M. Mallory and A.M. 1985. Reasons for possible failure of inoculation to enhance bioremediation. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 50, pp. 477-983.

Gordon, M.F., J. Ch. Geyer y D.A. Okun, 1995. Ingeniería Sanitaria y de aguas residuales. Vol. I. Ed. Limusa, México, D.F.

Grady, L. Jr. 1985. Biodegradation: Its measurement and microbiological basis. Biotechnology and Bioengineering, Vol. 27. pp-660-674.

Harayama, S., M. Rekih, K.L. Ngai and L.N. Ornston, 1989. Physically associated enzymes produce and metabolize 2-hidroxy-2,4-dienoato, a chemically unstable intermediate formed in catechol metabolism via meta cleavage in *Pseudomonas putida*. Journal of Bacteriology, Vol. 171, No. 11, pp. 6251-6258.

Heinn Morris, 1992. Química Elemental. Editorial Iberoamericana. México, D.F.

Hernández, M.A. 1992. Depuración de aguas residuales. Colegio de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Madrid, España.

Hickman G.T. and J.T. Novak. 1984. Acclimatation of activated sludge to pentachlorophenol. *Journal WPCF*, Vol. 56, No. 4, pp. 364-369.

Houtmeyers, J. E. Vanden Eynde, R. Poffé and H. Verachtert. 1980. Relations between substrate feeding pattern and development of filamentous bacteria in activated sludge processes. *European J. Appl. Microbiol. Biotech.* Vol. 9, pp. 63-77.

Kim, J.W. and N.E. Armstrong. 1981. A comprehensive study on the biological tratibilities of phenol and methanol-II. The effects of temperature, pH, salinity and nutrients. *Wat. Res.* Vol. 15, pp. 1233-1247.

Kim, J.W., M.J. Homenick and N.E. Armstrong. 1981. Analysis of bacterial growth and substrate removal kinetics by a statistical method. *Wat. Res.* Vol. 15, pp. 1221-1231.

Knoll G. and J. Winter, 1989. Degradation of phenol via carboxilation to benzoato by a defined, obligate syntrophic consortium of anaerobic bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 30, pp. 318-324.

Kostenbader and Flecksteiner. 1969. Biological oxidation of coke plant weak ammonia liquor. *Journal WPCF*, Vol. 41, pp. 199-207.

Kukor J.J. and R.H. Olsen. 1992. Complete nucleotide sequence of *tbuD*, the gene encoding phenol cresol hydroxylase from *Pseudomonas pickettii* PK01, and functional analysis of the encoded enzyme. *Journal of Bact.*, vol. 174, No. 20, pp. 6518-6526.

Lallai A., G. Mura, R. Miliddi and C. Mastinu, 1988. Effects of pH or growth of mixed cultures in batch reactor. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 31. pp. 130-134.

Lallai A., G. Muna, 1989. pH variation during phenol biodegradation in mixed cultures of microorganisms. *Wat. Res.* Vol. 23, pp. 1335-1338.

Lehninger, L.A. 1975. *Biochemistry* 2nd. Ed. Worth Publishers Inc. N.Y. USA.

López, M.V. 1988. Estudio de la cinética de degradación de detergentes de uso doméstico en un sistema de lodos activados. Tesis de Maestría. CINVESTAV.

Mc Clure, N.C., J.C. fry, and A.J. Weightman, 1991. Survival and catabolic activity of natural and genetically engineered bacteria in a laboratory-scale activated-sludge unit. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 57, pp. 366-373.

McKinney, R.E. and M.P. Horwood, 1952. Fundamental approach to the sludge process. I. Floc-producing bacteria. *Sewage Industr. Wastes.* Vol. 24, pp. 117-123.

McKinney, R.E. and Wechlein, 1953. Isolation of producing bacteria from activated sludge. *Appl. Microbiol.* Vol. 1, pp. 259-261.

McKinney, R.E., H.D. Thompson and R.L. Wilcox, 1956. Metabolism of aromatic compounds by activated sludge. *Sewage Industr. Wastes.* Vol. 29, pp. 547-557.

Méndez, L.P., 1991. Estudio de la toxicidad y biodegradabilidad de compuestos fenólicos en aguas residuales. Tesis de Licenciatura. UNAM-FES-Cuautitlán.

Metcalf-Eddy, 1994. Ingeniería Sanitaria. Tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales. Editorial Labor, S.A. Barcelona, España.

Molin, G.M. and I. Nilsson, 1985. Degradation of phenol by *Pseudomonas putida* ATCC 11172 in continuous culture at different ratios of biofilm surface to cultura volumen. *Appl. and environment. Microbiol.* Vol. 50, No. 4, pp. 946-950.

Nohynek, L.J., E.L. Normiaho, E.L. Suhonen, H.J. Busse, M. Mahammadi, J. Hantula, F. Rainey and M.S. S-Salonen, 1996. Description of chlorophenol-degrading *Pseudomonas* sp. Strains KF1<sup>T</sup>, KF3, and NKF1 as a new species of the genus *Sphingomonas*, *Sphingomonas subartica* sp. nov. *International of Systematic Bacteriology*, Vol. 46, No. 4, pp. 1042-1055.

Nüblein, K, D. Maris, K. Timmis, and D.F. Dwyer, 1992. Expression and transfer of engineered catabolic pathways harbored by *Pseudomonas* spp. introduced into activated sludge microcosms. *Appl. environment. microbiol.* Vol. 58, No. 10, pp. 3380-3386.

OECD 1976. Proposed methods for the determination of biodegradability of surfactants used in synthetic detergents. Organization for Economic Cooperation and Developments General Distribution. Paris, Francia.

Okada, M. T. Nakamura, H. Ito and A. Murakami, 1991. Population dynamics of phenol degrading microorganisms in activated sludge process under the stress of phenolic wastewater. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 23, pp. 1001-1010.

Pawlowsky, U. and J.A. Howell, 1973. Mixed culture biooxidation of phenol I. Determination of kinetic parameters. *Biotechnology and Bioengineering.* Vol. 25, pp. 889-896.

Pike, E.B., E.G. Carrington and P.A. Ashburner, 1972. An evaluation of procedures for enumerating bacteria in Activated sludge. *J. Appl. Bact.,* Vol. 35, pp. 309-321.

Pipes O.W. 1966. The ecological approach to the study of activated sludge. *Advances Appl. Microbiol.* Vol. 8, pp. 77-103.

Powlowski, J. and V. Shingler, 1994. Genetics and biochemistry of phenol degradation by *Pseudomonas sp.* CF 600. *Biodegradation,* Vol. 5, pp. 219-236.

Powlowski, J.B. and S. Dagley, 1985.  $\beta$ -cetoacidate path way in *Trichosporon cutaneum* modified for methyl-substituted metabolites. *J. of Bact.* Vol. 163, No. 3, pp. 1126-1135.

Powlowski, J.B., J. Ingebrand and S. Dagley, 1985. Enzymology of the  $\beta$ -ketoacidate pathway in *Trichosporon cutaneum*. *J. Bacteriol.* Vol. 163, No. 3, pp. 1136-1141.

Rittmann, B.B., W. Bae, E. Namkung and C.J. Lu, 1987. A critical evaluation of microbial product formation in biological processes. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 19, pp. 517-528.

Rozich, A.F., A.F. Gaudy Jr. 1985. Response of phenol-acclimated activated sludge process to quantitative shock loading. *Journal WPCF,* Vol. 57, No. 7, pp. 795-803.

SARH, 1982. Manual de factores ambientales. Subsecretaría de Planeación. Dirección General de Usos del Agua y Prevención de la Contaminación. Subdirección de Impacto Ambiental.

SARH, 1988. Agua y Sociedad. Una Historia de las obras hidráulicas en México.

SEDUE, 1988. Control de la Contaminación en México.



- Seviour, E.M., B. DeGrey, J.A. Soddell, R.J. Seviour and K.C. Lindrea. 1994. Studies on filamentous bacteria from Australian activated sludge plants. *Wat. Res.* Vol. 28, No. 11, pp. 2335-2342.
- Simpson, R.J. 1960. Some aspects of biochemistry of aerobic organic waste treatment. In "Waste treatment". (P.G. Isaac Ed.) Pergamon Press, New York.
- Watanabe K. S. Hino, K. Onodera, S.I. Kajie and N. Takahashi, 1996. (a) Diversity in Kinetics of bacterial phenol-oxygenating activity. *Journal of fermentation and Bioengineering*, Vol. 81, No. 6, pp. 560-563.
- Watanabe, K., S. Hino and N. Takahashi. 1996. (b) Effects of exogenous phenol-degrading bacteria on performance and ecosystem of activated sludge. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. Vol. 82. No. 3, pp. 291-298.
- Watanabe K., S. Hino and N. Takahashi, 1996. (c) Responses of activated sludge to an increase in phenol loading. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 82, No. 5, pp. 522-524.
- Wayne W. Daniel, 1993. *Bioestadística*. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México-España-Venezuela-Argentina-Colombia-Puerto Rico.
- Wiley, 1969. *Manual de tratamiento de aguas negras*. Ed. Limusa, Wiley, S.A., México, D.F.
- Wilderer, P.A., M.A. Rubio and L. Davids, 1991. Impact of the addition of pure cultures on the performance of mixed culture reactors. *Wat. Res.* Vol. 25, No. 11, pp. 1307-1313.
- Winkler, M.A. 1996. *Tratamiento biológico de aguas de desecho*. Editorial Limusa, S.A. México, D.F.
- Yang, R.D. and A.E. Humphrey, 1975. Dynamics and steady state studies of phenol degradation in pure and mixed cultures. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 27, pp. 1211-1235.
- Young, L.Y. and M.D. Rivera, 1985. Methanogenic degradation of four phenolic compounds. *Wat. Res.* Vol. 19, No. 10, pp. 1325-1332.