



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO DE LA FACULTAD DE
INGENIERÍA**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA**

**ORGANISMOS FILAMENTOSOS Y SU RELACIÓN
CON LA DEGRADACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA
Y NUTRIENTES BAJO CONDICIONES ESPECÍFICAS
DE OPERACIÓN.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN INGENIERÍA
(A M B I E N T A L)
P R E S E N T A

I. Q. MA. DEL CARMEN VELÁZQUEZ RODRÍGUEZ

**DIRIGIDA POR:
DRA. GABRIELA E. MOELLER CHÁVEZ**

MÉXICO, D.F. 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	4
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVO PARTICULAR	5
OBJETIVO ESPECÍFICO	5
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS	6
2.2 CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS	8
2.3 LODOS ACTIVADOS	10
2.4 ANÁLISIS BIOLÓGICO DE LODOS ACTIVADOS	12
2.5 MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS (M. O. F.)	13
2.5.1. ESPONJAMIENTO DEL LODO	19
2.5.2. OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	20
2.5.2.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	21
2.5.2.2. TINCIONES EMPLEADAS	22
2.5.2.3. IDENTIFICACIÓN	22
2.5.3. DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS MAS FRECUENTES EN LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	23
2.6 PARÁMETROS DE OPERACIÓN PARA EL CONTROL DEL PROCESO DE LODOS ACTIVADOS	27
2.6.1. TIEMPO DE RETENCIÓN HIDRÁULICO	27
2.6.2. TIEMPO DE RETENCIÓN CELULAR	27
2.6.3. RELACIÓN ALIMENTO MICROORGANISMO (A/M)	27
2.6.4. FLUJO DE AIRE	28
2.6.5. ÍNDICE VOLUMÉTRICO DE LODOS (IVL)	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	33
3.1.1. ASPECTOS GENERALES	33
3.1.2. PLANTA PILOTO	33
3.2 DESARROLLO EXPERIMENTAL	37
3.2.1. CONDICIONES INICIALES DE REFERENCIA DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	37
3.2.2. CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LA PLANTA PILOTO	39
3.2.3. MUESTREO Y PARÁMETROS	44
4. RESULTADOS	47

4.1 ETAPAS DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL	47
4.1.1. ETAPA 1 (ARRANQUE)	47
4.1.2. ETAPA 2 (ESTADO ESTABLE)	47
4.2 CALIDAD DEL AGUA INFLUENTE Y EFLUENTE	51
4.3 ANÁLISIS DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN (TRC) Y LOS PARÁMETROS	53
4.3.1. MATERIA ORGÁNICA	53
4.3.1.1. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	53
4.3.1.2. DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO	54
4.3.2. NUTRIENTES	55
4.3.2.1. NITRÓGENO TOTAL	55
4.3.2.2. FÓSFORO TOTAL	56
4.3.3. SÓLIDOS TOTALES	58
4.3.3.1. COMPORTAMIENTO DEL OXÍGENO DISUELTO Y EL IVL	58
4.3.3.2. COMPORTAMIENTO DE LOS SÓLIDOS SEDIMENTABLES	60
4.3.4. MICROORGANISMOS	62
4.3.4.1. ROTÍFEROS Y CILIADOS	62
4.3.4.2. MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	65
4.4 COMPORTAMIENTO DE LOS ORGANISMOS FILAMENTOSOS CON LA ADICIÓN DE CLORO	70
V. CONCLUSIONES	77
RECOMENDACIONES	79
ANEXOS	81
BIBLIOGRAFÍA	114

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos	7
Tabla 2. Causa y efectos de problemas de separación de lodos activados	18
Tabla 3. Condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos filamentosos	26
Tabla 4. Características de los parámetros de operación del sistema de lodos activados	29
Tabla 5. Condiciones del proceso y consecuencias de las relaciones de TRC y A/M	32
Tabla 6. Parámetros prevalentes de operación	38
Tabla 7. Predominancia de protozoarios como parámetro biológico	39
Tabla 8. Condiciones de operación de la planta piloto en la primera etapa	40
Tabla 9. Tinción de Gram (Método Hucker modificado)	42
Tabla 10. Tinción Neisser	44
Tabla 11. Análisis y puntos de muestreo	45
Tabla 12. Métodos y normas de análisis	46
Tabla 13. Condiciones de operación promedio de la planta piloto (etapa de arranque)	47
Tabla 14. Condiciones de operación promedio obtenidas en los modelos	48
Tabla 15. Resumen de resultados promedio de la calidad del agua efluente de la planta Piloto	51
Tabla 16. Etapas predominantes de protozoarios	64
Tabla 17. Características del reactor 1	65
Tabla 18. Características del reactor 2	66
Tabla 19. Características del reactor 3	66
Tabla 20. Características del reactor 4	67
Tabla 21. Factores de ocurrencia y crecimiento para los filamentosos	69
Tabla 22. Predominancia de los microorganismos filamentosos antes de la cloración	72
Tabla 23. Resultados de la adición de cloro	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de lodos activados convencional	11
Figura 2. Formación de flóculos esponjados en el sedimentador secundario	14
Figura 3. Microorganismos filamentosos	15
Figura 4. Microorganismo filamentosos dentro de los flóculos de biomasa celular	16
Figura 5. Microorganismos filamentosos vistos por microscopio óptico	21
Figura 6. Correlación típica entre el IVL con la relación A/M	30
Figura 7. Diagrama de flujo de la planta piloto	34
Figura 8. Licor mezclado en el reactor (reactor 1) de la planta piloto	35
Figura 9. Reactores 1 y 2	36
Figura 10. Planta piloto de ECCACIV S. A. de C. V.	36
Figura 11. Vista superior del clarificador de la planta piloto de	37
ECCACIV	
Figura 12. Predominancia relativa de rotíferos y ciliados	38

Figura 13. Intervalos de clase con mayor número de datos para cada reactor	48
Figura 14. Análisis de varianza de TRC en los reactores.....	49
Figura 15. Número de datos de la relación A/M	50
Figura 16. Análisis de varianza de la relación A/M	50
Figura 17. Porcentajes de remoción promedio relacionados con las condiciones establecidas	52
Figura 18. Demanda Bioquímica de Oxígeno	53
Figura 19. Demanda Química de Oxígeno	54
Figura 20. Nitrógeno Total	55
Figura 21. Fósforo	56
Figura 22. Sólidos totales	58
Figura 23. Oxígeno disuelto	59
Figura 24. Índice volumétrico de lodos	60
Figura 25. Sólidos sedimentables	61
Figura 26. Rotíferos y ciliados en un TRC bajo (10 a 20 d)	62
Figura 27. Rotíferos y ciliados en un TRC alto (30 a 40 d)	63
Figura 28. Microorganismos filamentosos en los reactores 2 y 4	67
Figura 29. Microorganismos filamentosos en los reactores 1 y 3	68
Figura 30. Nata de la superficie del clarificador secundario en la planta piloto	71
Figura 31. Calidad del lodo	73
Figura 32. Observación microscópica de los microorganismos filamentosos tipo 021N	73
Figura 33. Oxidación Parcial de los microorganismos filamentosos	74
Figura 34. Microorganismos filamentosos presentes en el reactor 2	74
Figura 35. Tinción Gram, muestra microorganismos filamentosos del reactor 1	75
Figura 36. Oxidación y ruptura de los flóculos provocada por la adición de cloro	75

INTRODUCCIÓN

El Inventario Nacional de Plantas de Tratamiento de aguas Residuales Municipales en Operación reporta 1,182 plantas de tratamiento mayores a un litro por segundo ($> 1/s$). Con un gasto de operación de 60, 242.55 l/s, sin incluir las plantas de tratamiento con descargas de industrias, hospitales y centros comerciales entre otros. El proceso de lodos activados es el tratamiento que predomina con 259 plantas tratando el 22%. (CNA; 2004).

El conocimiento de estos datos ayuda a valorar la importancia de erradicar disfunciones en las plantas de tratamiento de lodos activados, por medio de la observación y control del proceso.

La aplicación de los sistemas de lodos activados, está dirigida a la remoción de la materia orgánica y a la estabilización de los lodos. La materia orgánica contenida en el agua residual es degradada en forma aerobia. Los principales biodegradadores son las bacterias, pero también es importante el papel de otros microorganismos, como son los protozoarios, rotíferos y otros organismos.

En las plantas biológicas de tratamiento de aguas residuales, principalmente por el proceso de lodos activados, se desarrollan microorganismos filamentosos habitualmente por motivos de operación, calidad del influente, clima y el diseño de las instalaciones, presentando dos tipos de problemas biológicos, el **Esponjamiento filamentoso** o el **Espumamiento biológico**. La frecuencia de aparición de estos dos problemas, juntos o por separado, obligan a utilizar la observación microscópica como método de detección de estos microorganismos.

En el proceso de lodos activados, el requisito principal para el funcionamiento eficaz es la sedimentación y la compactación rápida del lodo, que es esencialmente la biomasa. La relación alimento/microorganismo (A/M) tiene que estar dentro de los intervalos que propicien una buena floculación y fuera del intervalo propicio para el crecimiento de microorganismos filamentosos.

El desbalance de la población en el sistema de lodos activados de los microorganismos filamentosos por encima de los niveles necesarios en el lodo activado puede generar problemas biológicos como el llamado **esponjamiento filamentosos y espumamiento**, dificultando la sedimentación de los residuos, que se quedan suspendidos impidiendo la remoción de materia orgánica y nutrientes (nitrógeno y fósforo). Los nutrientes influyen en el crecimiento y desarrollo excesivo de algas y plantas acuáticas, produciendo efectos nocivos de la hiperfertilización de los cuerpos de agua que reciben aguas residuales, tanto domésticas como industriales (Amezcuca J., 1976).

En esta investigación se estudió el comportamiento de la materia orgánica y de los nutrientes en un sistema de lodos activados utilizando diferentes condiciones de operación, y se estudió el predominio de los microorganismos del tipo filamentosos. La bibliografía reporta que bajo ciertas condiciones de operación (tiempo de retención celular mayor de 18 días, relación alimento/microorganismo (A/M) 0.20 mg DBO/día mg SSTLM y oxígeno disuelto mayor de 4 mg/l) se ha observado que los microorganismos filamentosos tienen una gran versatilidad para utilizar compuestos simples y complejos como fuente de carbono, nitrógeno y fósforo. (Eikelboom *et al.*, 1997).

En algunas plantas de tratamiento de aguas residuales de influente combinado (doméstico - industrial), predominan diferentes tipos de microorganismos, esto podría estar asociado a la composición del sustrato, baja carga en el influente y factores como pH y temperatura (Scruggs., Randall., 1997). Los organismos filamentosos se observan cuando hay formación de espumas tanto en el tanque de aireación de la planta de tratamiento así como en los sedimentadores secundarios, los sólidos suspendidos se incrementan en el efluente, la baja concentración de oxígeno disuelto también influye provocando el aumento de sólidos. (Andoni *et al.*, 1994).

Se sabe también, que a bajas concentraciones de sustrato y altos tiempos de residencia hay un crecimiento desmesurado de los microorganismos filamentosos, por existir una mayor tasa de crecimiento específico a bajas concentraciones de sustrato limitante. El mezclado del reactor también favorece a este fenómeno de crecimiento. (García *et al.*, 1998).

Algunos investigadores han estudiado el comportamiento de los microorganismos filamentosos observando que tienen una capacidad fisiológica comparable a las bacterias formadoras de flóculos para la remoción de materia orgánica y nutrientes, por

lo que los organismos filamentosos pueden competir con ventaja en la biodegradación (Knoop *et al.*, 1997, Mamais *et al.*, 1997). En plantas de remoción de nutrientes, se han realizado estudios sobre desnitrificación utilizando el licor mezclado y las espumas con microorganismos filamentosos obteniéndose mayores velocidades de desnitrificación (Wanner *et al.*, 1997).

Se sugiere que para evaluar acciones remediadoras contra el crecimiento de microorganismos filamentosos en una planta de tratamiento de aguas residuales con un proceso de lodos activados, es conveniente utilizar un método basado en la observación microscópica. Usando este método un observador experimentado, puede revelar la tendencia al espumamiento y/o esponjamiento filamentosos antes que el índice volumétrico de lodos, ayudando a validar acciones apropiadas por adelantado; ya sea en el ajuste de parámetros del proceso o en el rediseño de las unidades.

HIPÓTESIS

LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS; DEPENDIENDO DE DICHAS CONDICIONES VARÍA EL TIPO DE ORGANISMO FILAMENTOSO PREDOMINANTE Y LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTES (NITRÓGENO – FÓSFORO) EN EL AGUA RESIDUAL TRATADA.

OBJETIVO GENERAL

ESTUDIAR LA PRESENCIA DE LOS MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS Y EL COMPORTAMIENTO DE LOS NUTRIENTES Y MATERIA ORGÁNICA BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE OPERACIÓN EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE TIPO COMBINADO.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

IDENTIFICAR LOS MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS PREDOMINANTES BAJO LAS DIFERENTES CONDICIONES DE OPERACIÓN ESTUDIADAS.

ESTABLECER BAJO CONDICIONES ESPECÍFICAS, EL COMPORTAMIENTO DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTES (NITRÓGENO – FÓSFORO).

DETERMINAR LA RELACIÓN QUE EXISTE ENTRE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO Y LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS.

IMPLEMENTAR LA TÉCNICA DE IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS PARA SU USO EN EL LABORATORIO.

OBJETIVO PARTICULAR

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE CLORO (Cl_2) SOBRE LOS MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS

Los principales grupos de organismos presentes tanto en aguas residuales como superficiales son microorganismos que se clasifican según la estructura y funcionamiento celular en eucariotes, eubacterias y archae bacterias. Los grupos procariotes (eubacterias y archae bacterias) se les denomina simplemente bacterias y son primordiales en el tratamiento biológico. El grupo de los eucariotes incluye las plantas, animales y los protistas. Los organismos eucariotes importantes en el tratamiento biológico de las aguas residuales incluyen los hongos, los protozoos, los rotíferos y las algas (Holt, Krieg, Sneoth, Staley., *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 1990).

El examen microscópico de los lodos activados revela que estos están formados por una población heterogénea de microorganismos. Los microorganismos presentes son una variedad de bacterias, hongos, algas, protozoos y rotíferos, que cambian continuamente en función de la diversidad en la composición del agua residual y de las condiciones ambientales.

Las bacterias son las más importantes, responsables de la eliminación de la contaminación, por una parte, y de la formación de flóculos, por otra; encontrándose en todos los tipos de procesos de tratamiento biológico, las bacterias se agrupan en flóculos, en su mayor parte son heterótrofas (es decir, que requieren una fuente externa de materia orgánica); que utilizan la contaminación orgánica como nutrientes y para formar biomasa celular nueva al reproducirse.

Otro grupo importante, junto a las bacterias, es el de los protozoos, que no afectan directamente en la contaminación orgánica sino que actúan como depredadores frente a la flora bacteriana.

Los protozoarios y otras formas superiores de vida constituyen el 5 % de la biomasa de los lodos activados y están representados por más de 200 especies (Curd, 1973; Curds, 1975 *op cit* Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming, 1993). El rango total va de 100 a > 100,000/ml. Los protozoarios predominan, con 500 a varios miles/ml. Estos organismos realizan varias funciones importantes en los lodos activados, la más importante de ellas es la remoción de bacterias no floculantes del agua residual, a través de sus actividades de alimentación, produciendo así un efluente clarificado. (Jenkins, *et al*, 1993)

La tabla 1 presenta los diversos microorganismos y las condiciones que favorecen el crecimiento y desarrollo de los protozoarios y otras formas superiores de vida en el licor mezclado del sistema de lodos activados, se puede apreciar que de acuerdo a los parámetros y condiciones de alta y baja carga orgánica (relación A/M en kg DBO₅/kg MLVSS – día) del proceso de tratamiento, se ve favorecido el desarrollo de cierto tipo de organismos.

Tabla 1. Condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos.

GRUPOS PREDOMINANTES	CONDICIONES
Ciliados libres, rotíferos y especialmente nemátodos.	Baja carga orgánica (A/M < de 0.1)
Gran diversidad de organismos, dominados por ciliados libres y ciliados fijos	Carga orgánica óptima (A/M > 0.3 y < 0.6)
Ciliados libres, flagelados y amoebas	Alta carga orgánica (A/M > 0.6)

FUENTE: Michael Richard, Ph. D. The Bench Sheet Monograph on Activated Sludge Microbiology, Water Pollution Control Federation, 1991

El rendimiento óptimo de los lodos activados tiene lugar cuando hay un balance de ciliados de nado libre, ciliados adheridos y rotíferos. Una considerable cantidad de flagelados, amoebas o ciliados de nado libre es un indicador de que existe una relación alta de alimento/microorganismos y un tiempo de retención celular bajo, mientras que una importante cantidad de ciliados fijos, rotíferos y otras formas superiores de vida,

especialmente nemátodos son indicadores de una relación alimento/microorganismo baja, y un tiempo de retención celular alta.

2.2 CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

Todas las células vivas, incluyendo los microorganismos, requieren ciertos nutrientes para su crecimiento y desarrollo. Los nutrientes deben contener los elementos químicos que constituyen los materiales y estructuras celulares, así como aquellos elementos que son requeridos para el transporte a través de la membrana, la actividad enzimática y la generación de la energía necesaria para los procesos biosintéticos.

En un medio de cultivo para el crecimiento adecuado, los microorganismos unicelulares aumentan de tamaño y, por último se dividen en dos por un proceso de fisión binaria o gemación. De hecho, una célula microbiana no viable se define como aquella que, incubada en medio de cultivo para el crecimiento por un periodo suficientemente largo, es incapaz de aumentar su tamaño o de multiplicarse. Es importante entender que una célula que aparentemente no crece, puede ser viable, pero el medio es incapaz de apoyar el crecimiento debido a la disminución de nutriente esencial, la presencia o producción de materiales tóxicos o un cambio en el medio físico como la disminución de oxígeno, pH o temperatura. A menudo, las células pueden vivir en este estado de decadencia sin crecimiento, particularmente como esporas o quistes, por periodos largos.

Las células microbianas requieren un alto grado de adaptabilidad para responder a cambios tanto en el medio físico como en el químico. A diferencia de las formas de vida diferenciadas, multicelulares, los organismos unicelulares responden a cambios en el medio al exhibir un conjunto diferente de actividades metabólicas.

Un microorganismo facultativo inducirá las enzimas necesarias para el metabolismo oxidativo (respiratorio), cuando el oxígeno sea suministrado a un medio anaerobio. Los organismos unicelulares son capaces de existir en una variedad de estados fisiológicos y puede cambiar rápidamente de un estado a otro.

El crecimiento se puede considerar como el aumento ordenado de todos los constituyentes químicos de un organismo, lo cual, para los organismos unicelulares, conduce a un aumento en el número de individuos en la población.

Habitualmente los microorganismos adoptan una cinética de crecimiento del tipo de Monod, pues ha sido demostrado (Ramalho, 1993) que el crecimiento de estos microorganismos utilizados en la degradación biológica de las aguas residuales se rige con estas ecuaciones.

El modelo de Monod se expresa con la siguiente ecuación:

$$\mu = \mu_{max} S / K_s + S$$

Donde:

K_s = Concentración para la cual la tasa de crecimiento tiene la mitad de su valor máximo.

μ = Rapidez específica de crecimiento

S = Sustrato

μ_{max} = Velocidad máxima de crecimiento.

Anteriormente se establecía que en el curso de la fase exponencial del crecimiento, la tasa de crecimiento era independiente de los distintos componentes del medio de cultivo. Por debajo de cierto nivel de concentración, ya no se establece como verdadero este comportamiento. Si se cultiva un microorganismo en un medio sintético que tiene exceso de algún componente, el crecimiento no se puede efectuar. Cuando se suministran los compuestos en cantidades pequeñas y variables de un ensayo a otro, la tasa de crecimiento permanece inferior a la tasa máxima, mientras la concentración de carga orgánica y nutrientes no es suficiente, y aumenta al incrementar esa concentración. Cuando el crecimiento de un cultivo en lote sólo está limitado por la cantidad inicial de sustrato, la curva de crecimiento puede expresarse en términos de los parámetros de crecimiento.

Para todas las concentraciones superiores a S (sustrato), la tasa de crecimiento es igual a la de crecimiento máxima. Esto explica porqué la tasa de crecimiento es constante en la fase exponencial, aunque las concentraciones sean superiores a S . (Ramalho., 1993).

2.3 LODOS ACTIVADOS

Los procesos biológicos; como ya se mencionó, son los métodos por los cuales se consigue la eliminación de contaminantes por la actividad de microorganismos. El tratamiento biológico se usa esencialmente para eliminar las sustancias orgánicas biodegradables (coloidales o disueltas), transformándolas en gases que escapan a la atmósfera y en tejido celular biológico que puede eliminarse por sedimentación.

El proceso de lodos activados nació de la observación realizada de que si cualquier agua residual urbana o industrial, se somete a aeración durante un periodo de tiempo, se reduce su contenido de materia orgánica formándose a la vez un lodo floculento.

El término “lodo activado” se aplica al conglomerado de microorganismos, materia orgánica y materiales inorgánicos. Las superficies de estos flóculos son altamente activas en la acción de absorber materiales coloidales suspendidos que se encuentran en el agua residual (Jiménez., 2001).

El proceso de lodos activados ha sido utilizado para el tratamiento de aguas residuales tanto industriales como urbanas desde hace aproximadamente un siglo. Este proceso depende del uso de una alta concentración de microorganismos presentes como flóculo (población microbiana mixta) que se mantiene suspendido por medio de agitación en el reactor, obteniendo el licor mezclado altas tasas de transferencia de oxígeno. El efluente de la etapa de aireación es bajo en sustancias orgánicas disueltas pero contiene una concentración elevada de sólidos en suspensión (2000 a 8000 mg/l) que deben retirarse por sedimentación. La efectividad del proceso depende del retorno de una parte de los lodos separados (microorganismos vivos) a la zona de aireación para volver a comenzar la estabilización. Este método ha probado ser útil para el tratamiento de muchos desechos industriales orgánicos, que muchas veces se pensó que eran tóxicos para los sistemas biológicos. En el sistema gran parte del aire se utiliza para la agitación, sólo una poca cantidad se utiliza para las reacciones de oxidación. Cuando no se le agita, como en el tanque de sedimentación final, los sólidos se asientan rápidamente en el fondo y pierden contacto con la materia orgánica en el líquido. Los sólidos sedimentados se convierten rápidamente en anaerobios si

no regresan a la zona de aireación. Es conveniente transferir el aire al licor mezclado para conservar un oxígeno disuelto de 1 a 2 mg/l.

El licor mezclado debe ser de una concentración y actividad adecuadas para proporcionar adsorción y oxidación rápidas al desecho, así como producir un lodo que sedimente fácilmente y pueda producir con rapidez un efluente clarificado y el lodo pueda retornarse a la zona de aireación.

La figura 1 presenta el diagrama del proceso convencional de lodos activados.

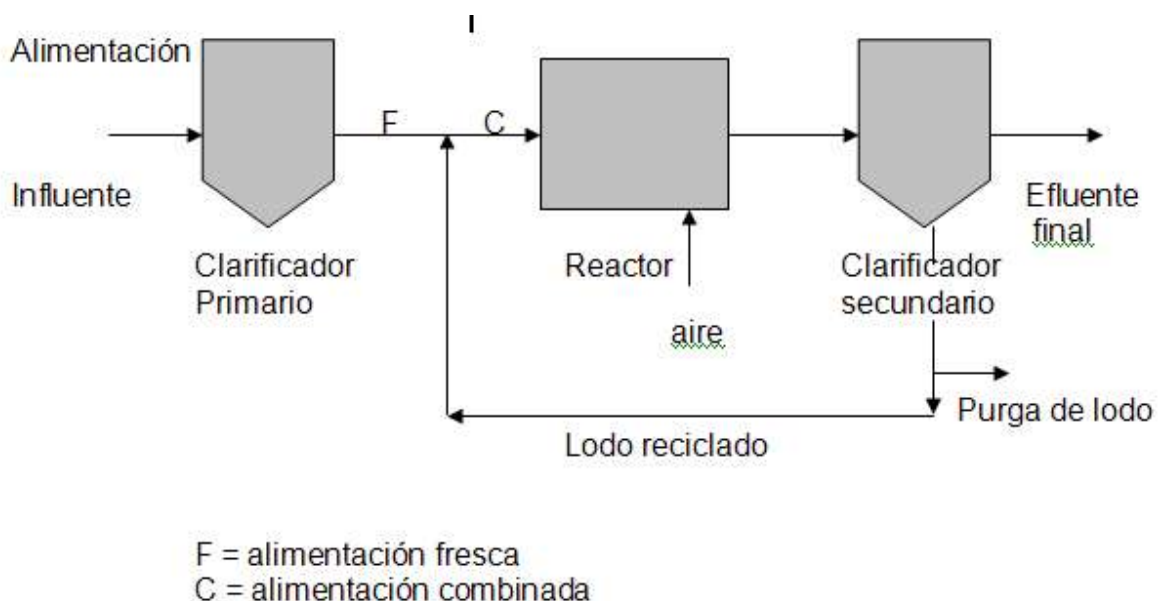


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de Lodos Activados Convencional

Si la cantidad de lodo que se regresa es insuficiente, los sólidos suspendidos del licor mezclado serán bajos y la estabilización resultante será pobre. Por el contrario, el regreso de cantidades excesivas de lodos dará como resultado que los sólidos suspendidos del licor mezclado sean muy altos y que no sedimenten bien, en cuyo caso pueden ejercer demandas de oxígeno más altas que las que se pueden satisfacer. Si los lodos no se quitan rápidamente de los tanques de sedimentación, éstos emergen debido a la producción de nitrógeno por la reducción de nitratos en condiciones anaerobias; cuando esto ocurre, el efluente que se obtiene es muy pobre.

La materia en suspensión y la coloidal se eliminan rápidamente de las aguas residuales por adsorción y aglomeración en los flóculos microbianos. Esta materia y los nutrientes disueltos se descomponen más lentamente por el metabolismo microbiano, proceso conocido como **estabilización**. En este proceso, parte del material nutriente se oxida a sustancias simples como el anhídrido carbónico, un proceso denominado **mineralización**, y parte se convierte en materia celular microbiana nueva, proceso llamado **asimilación**. Parte de la masa microbiana se descompone también de la misma manera, este proceso es llamado **respiración endógena**. El proceso oxidativo suministra la energía necesaria para los procesos de absorción y asimilación. Una vez que se alcanza el grado de tratamiento que se desea, la masa microbiana floculenta conocida como “**lodo**”, se separa del agua residual por asentamiento, por lo general, en un tanque separado especialmente diseñado (clarificador o sedimentador).

Para la eficiencia de 85% a 95% las condiciones de operación sugeridas es de tiempo de retención celular de 4 a 15 días, para carga o relación alimento/microorganismo de 0.2 a 0.4 kg, DBO/kgSST.d o para 0.3 a 0.6 kg de DBO/m³.d durante un tiempo de retención hidráulica de 4 a 8 hrs y una recirculación del 25% al 50%. (Jiménez., 2001).

Debido a la importancia de conservar un lodo de buena calidad en el proceso, se han desarrollado diferentes índices para controlarla. Por ejemplo, el índice volumétrico de lodos (IVL), el cual varía de 40 a 100 para un buen lodo, pero puede exceder de 200 para un lodo deficiente con tendencia a esponjarse. El esponjamiento es un indicador usado para describir un lodo con malas características de sedimentación, que frecuentemente la causan microorganismos filamentosos que existen en plantas de tratamiento con agua residual con concentración de nitrógeno baja, con poca concentración en materia orgánica y donde el oxígeno disuelto en el licor mezclado es bajo o demasiado alto (Tebbutt., 1990). Otra prueba es el índice de densidad de los lodos (IDL), éste varía desde 2 para un buen lodo hasta 0.3 para un lodo deficiente. Y para la eficiencia de este proceso es considerado también, el tiempo de residencia medio de las células o TRC.

La descripción detallada de los parámetros de operación se presenta en el inciso 2.6 de este capítulo.

2.4 ANÁLISIS BIOLÓGICO DE LODOS ACTIVADOS

Los análisis biológicos de lodos activados; permiten conocer cual es el estado de la biomasa de los reactores, y ajustar los parámetros de control en la planta para obtener un funcionamiento eficaz y un óptimo mantenimiento del sistema, con los mejores rendimientos y el menor costo posible.

Mediante el empleo de diversas técnicas se puede caracterizar física, química y biológicamente el lodo, aplicando técnicas de identificación de microorganismos, medición y morfología de los organismos que contiene el lodo. Los resultados de la aplicación de las diversas técnicas, permiten detectar las anomalías que afectan al agua de entrada (toxicidad y problemas de biodegradabilidad como grasas y aceites), y al funcionamiento del tratamiento (disminución de rendimientos de remoción) así como al diseño (zonas muertas en los sedimentadores y tanques de aireación) y dimensionamiento del proceso e instalaciones.

El análisis biológico es de gran utilidad en la detección, control y desarrollo de estrategias de eliminación de microorganismos filamentosos, causantes del esponjamiento (bulking) y el espumamiento (foaming). Así como de la formación de lodos gelatinosos y los procesos de nitrificación y desnitrificación descontrolada.

2.5 MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS (M. O. F.)

Si bien la mayor parte de los organismos que forman la biomasa que depura el agua residual en el tratamiento biológico son unicelulares, hay algunos microorganismos que presentan sucesiones de células de manera que parecen filamentos.

Las formas filamentosas son microorganismos que se desarrollan como consecuencia de condiciones anormales del medio o bien como respuesta a variaciones bruscas en los parámetros de funcionamiento.

Algunos hongos pueden participar en la formación de los flóculos, en ciertas condiciones: contaminación rica en glúcidos, pH bajo y deficiencias de nitrógeno y fósforo. Estos hongos son indeseables, puesto que pueden dar lugar a un flóculo muy filamentosos y no sedimentable.

Si la cantidad de filamentos es alta y el proceso de depuración es por lodos activados podemos encontrarnos con dos tipos de problemas biológicos:

- **Esponjamiento filamentosos (**Bulking**)**. Los filamentos interfieren en la compactación del flóculo en el sedimentador secundario.

El esponjamiento filamentosos esta asociado a la presencia de microorganismos del grupo de los Actinomicetos como *Sphaerotilus natans*, *Thiothrix sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Pelonemas* o *Peloploca sp.* y hongos como *Leptomitus sp.*, *Geotrichum candidum*, etc.

- **Espumamiento biológico (**Foaming**)**. Los microorganismos filamentosos producen una espesa espuma coloreada (en colores de blanco al marrón) y en muchos casos abundante materia flotante en el clarificador.

Las espumas producidas por microorganismos filamentosos suelen ser producidas por secreciones del material polimérico exocelular o material hidrofóbico.

La frecuencia en la aparición de estos dos problemas biológicos; juntos o por separado, en las plantas de tratamiento de aguas residuales de México, hace necesario el utilizar herramientas microscópicas (observación directa) como método de detección e identificación de estos microorganismos.

La figura 2 presenta una vista superior de la nata formada en un clarificador secundario con problemas de esponjamiento filamentosos.

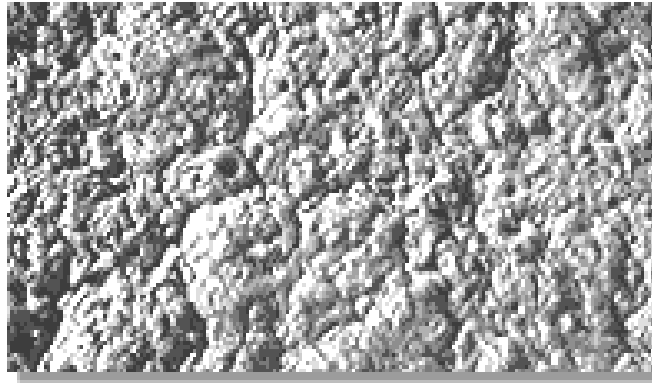


Figura 2. Formación de flóculos esponjados en el sedimentador secundario (<http://www.deu.edu.tr/atiksu/new/726.html>)

Las causas que provocan la aparición de estos microorganismos filamentosos se pueden resumir en dos grandes bloques:

- Características del agua influente al tratamiento biológico: composición, deficiencia de nutrientes, productos de digestión recirculados a la entrada de la planta.
- Condiciones de operación: carga másica aplicada, tiempo de retención celular, concentración de oxígeno disuelto.

Aun cuando pueda existir una cierta unanimidad en cuanto al conjunto de causas que provocan el desarrollo masivo de microorganismos filamentosos, no ocurre lo mismo a la forma de eliminarlos. Esto es debido a que no siempre es fácil discernir en cada caso la causa concreta de su aparición y en los casos de que se consiga puede resultar muy complicado mantenerlas. Así, puede ser factible mejorar las condiciones de oxigenación, pero poco se podrá hacer si la causa es por ejemplo la composición del agua influente.

Las figuras 3 y 4 presentan observaciones de los microorganismos filamentosos, la figura 3 muestra la morfología característica de un filamentosos, en la fotografía se aprecia la formación y forma de cada filamento.

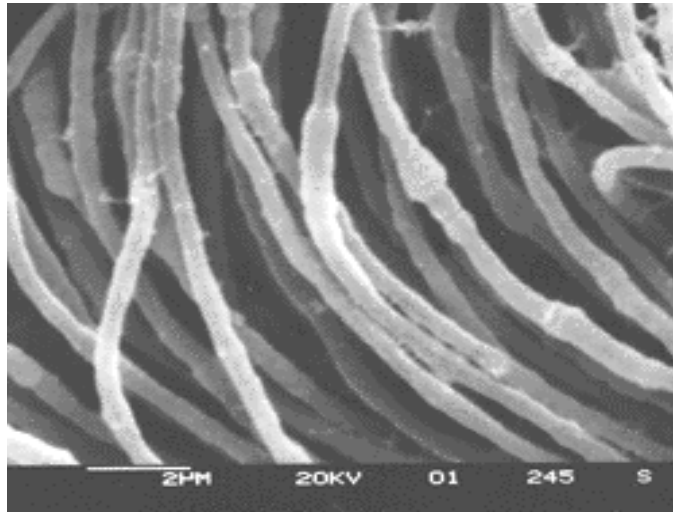


Figura. 3. Microorganismos filamentosos
FUENTE: (<http://scitrav.com/wwater7asp1/contents.htm>)

La figura 4 es una imagen de filamentosos dentro del flóculo de biomasa, se observan también manojos de microorganismos filamentosos en una ampliación 400 X.

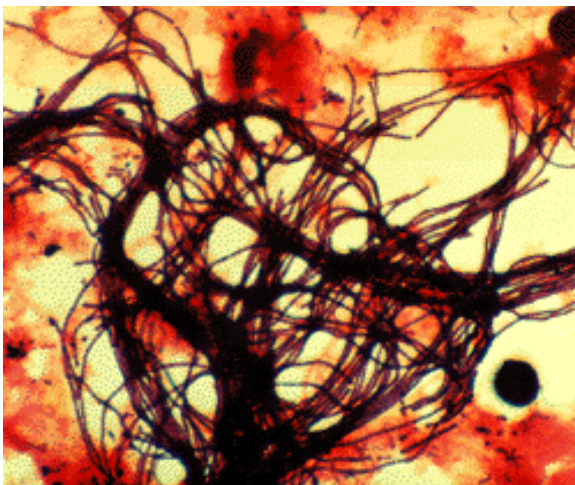


Figura 4 Microorganismos filamentosos dentro de los flóculos de biomasa celular.

(<http://www.deu.edu.tr/atiksu/new/726.html>)

Es fundamental, el conocimiento de las características fisicoquímicas del flujo de agua y el medio ambiente microbiano para la correcta operación de una planta de tratamiento de aguas residuales. Asimismo, es necesario poder predecir en dichas condiciones cual sería la evolución de la planta de tratamiento y poder evitar problemas futuros durante la operación.

El grado de agitación o de mezcla en el reactor de lodos activados puede influir considerablemente durante la operación, dado su efecto (a mayor grado de agitación mayor proliferación de organismos filamentosos) sobre las concentraciones de sustrato y microorganismos presentes realmente en los diferentes volúmenes del reactor, aunque descripciones cuantitativas de este fenómeno no se han observado descritas en la bibliografía.

Muchos de los microorganismos filamentosos son obligatoriamente aeróbicos, y proliferan en la presencia de una fuente disponible de carbono, tal como la glucosa. Cuando la concentración de oxígeno disuelto en la mezcla líquida es menor de 0.5 mg/l hay muy poca penetración de oxígeno al flóculo biológico y únicamente una parte pequeña de la masa bacteriana manifiesta crecimiento aeróbico. Los filamentos (M. O. F.) tienen una proporción muy alta de área superficial a volumen y consumen la mayor parte de oxígeno aprovechable. A causa de lo cual los filamentos crecen más rápido que las bacterias desplazando la masa biológica. Altas concentraciones de oxígeno disuelto favorecen el desarrollo de bacterias que producen flóculos. Cuando se agota la fuente de carbono, los filamentos tienden a desaparecer del sistema.

La tabla 2 presenta las causas y efectos de los problemas que se presentan en el sistema de lodos activados. Como se puede observar se presentan seis problemas principales y se hace una breve descripción de lo que provoca el problema y la respuesta a la situación que se desarrolla.

Tabla 2. Causa y efectos de problemas de separación de lodos activados

Problema	Causa	Efecto
CRECIMIENTO DISPERSO	Microorganismos que no forman flóculos, pero son dispersos, formando solamente pequeños grupos o células solas	Efluente turbio. No hay zona de asentamiento de lodo activado.
LIMO – VISCOSO ABULTAMIENTO (BULKING) (GELATINOSOS). También referido como bulking de no filamentosos	Gran cantidad de microorganismos están presentes limo exocelular. En casos severos el limo imparte una consistencia gelatinosa al lodo activado.	Reduce la sedimentación y los rangos de compactación. Virtualmente la no-separación, resulta en un derrame de lodo en los clarificadores secundarios. Algunas ocasiones se presenta también una espuma viscosa.
“CABEZA DE ALFILER” (PIN FLOC O PINPOINT FLOC)	Forma flóculos pequeños, compactos y débiles, o bien, esféricos ásperos formados. La mayoría de los cuales sedimentan rápidamente, y los pequeños sedimentan despacio.	Bajo índice volumétrico, efluente turbio y suspendido.
ABULTAMIENTO FILAMENTOSO	Microorganismos filamentosos con extensiones del flóculo de una solución bulking, interferencia con la compactación, sedimentación, adelgazamiento y concentración de lodos activados	Alto índice volumétrico, sobrenadante muy claro. Recirculación de lodos y concentración de sólidos baja. En casos severos resulta un derramamiento de lodo en los clarificadores secundarios. El manejo de sólidos en el proceso se convierte en sobre carga hidráulica
CAPA ASCENDENTE	Desnitrificación en los clarificadores secundarios, relacionada con el desprendimiento del gas N ₂ , el cual se acumula en los lodos activados y flota a la superficie.	Formación de nata de lodos activados en la superficie de los clarificadores secundarios.
FORMACIÓN DE ESPUMA/NATA	Causado por surfactantes no degradables y por la presencia de <i>Nocardia sp. Microthrix parvicella</i> o tipo 1863	Gran cantidad de espuma flota en la superficie de las unidades de tratamiento. La espuma provocada por <i>Nocardia sp. Microthrix parvicella</i> , es persistente, presentan dificultad para romperla mecánicamente, la acumulación puede producirse. Los sólidos pueden derramarla en sedimentadores secundarios o en borde libre de tanques

FUENTE: **Summary Report** The Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming, Environmental Protection Agency, 1987.

2.5.1 ESPONJAMIENTO DEL LODO

La formación de flóculos ligeros, esponjados y con malas características de asentamiento se conocen como “esponjamiento” y se atribuye a la presencia de microorganismos filamentosos en los flóculos. Estos flóculos son arrastrados fuera de la etapa de separación junto con el efluente tratado, lo que le da a la descarga un alto contenido no deseable de materia orgánica (Winkler., 1994).

Uno de los organismos filamentosos que se cita a menudo es la bacteria filamentosa *Sphaerotilus natans*. Entre los ejemplos de otros organismos asociados con el esponjamiento se encuentra la bacteria filamentosa *Streptothrix*, hongos filamentosos como el *Geotrichum*, el alga azul verdosa *Schizothrix*, y un número excesivo de protozoarios ciliados con tallos. Eikelboom (1975) identificó 26 tipos de organismos filamentosos en 1,100 muestras de lodos activados, la mayoría de los del tipo de lodos esponjosos. El crecimiento predominante de los organismos filamentosos comunica malas características de sedimentación, porque los filamentos que se extienden fuera del flóculo aumentan la resistencia al movimiento y reducen la velocidad de sedimentación del flóculo y también inhiben la compactación de los flóculos después del asentamiento. No obstante, es posible que un flóculo se asiente bien cuando los filamentos están enrollados alrededor de las partículas de los flóculos. No se han identificado las condiciones que inducen a este fenómeno, pero aclara por qué el IVL (índice volumétrico de lodos) de un flóculo filamentoso puede cambiar rápidamente, mientras que los flóculos no filamentosos tienen valores estables del IVL (Pipes, 1979 *op cit* Winkler., 1994).

Se han asociado diferentes condiciones del sistema con la aparición de los lodos esponjosos. La absorción de material nutriente por los flóculos a una tasa mayor que la de remoción puede llevar al esponjamiento, y las condiciones ácidas favorecerán el crecimiento fungoide antes que el bacteriano (Hawkes, 1963 *op cit* Winkler, 1994). El esponjamiento extremo ha estado asociado a la sobrecarga de la planta, al desbalance de los nutrientes a temperaturas por encima de 30 °C y al descenso en la concentración de oxígeno disuelto por debajo de 1 mg/m³. (Pipes, 1967 *op cit* Winkler, 1994) y cargas orgánicas muy bajas, menores a 0.2 kg de DBO/kg de sólidos de lodos/día (Pipes., 1979 *op cit* Winkler., 1994).

El esponjamiento debido al alga azul verdosa *Schizothrix caldicola*, ha sido atribuido a una combinación de compuestos en el suministro de aguas residuales, y niveles bajos de concentración de oxígeno disuelto a la entrada de los tanques de aireación (Sykes, Rozich y Tieferty., 1979 *op cit* Winkler., 1994).

Los estudios de laboratorio en que se usan aguas residuales sintéticas sugieren que las fases alternas de alimentación e inanición en sistemas de alimentación intermitente estimulan la floculación, mientras que en un sistema continuo de mezcla total, se estimulaba el crecimiento filamentoso (Verachtert y otros; Houtmeyer y otros 1980 *op cit* Winkler., 1994).

Si bien el crecimiento de filamentos afecta a las propiedades de sedimentación del lodo, la consistencia floja existente causa flóculos con características altamente oxidativas (Hawkes., 1963 *op cit* Winkler., 1994).

2.5.2 OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS

Es posible observar e identificar a los microorganismos filamentosos mediante el empleo del microscopio óptico y una serie de técnicas de cultivo, medición y tinción. Si se aplica alguna rutina de recuento se puede además, cuantificar su presencia y relacionarla con los efectos que producen en el tratamiento biológico.

Para poder identificar microorganismos filamentosos es necesario contar con un microscopio binocular equipado con contraste de fases y unos oculares y objetivos de al menos, 10 X y 100 X de inmersión en aceite. La iluminación pone de manifiesto los detalles estructurales de las células bacterianas que contribuyen a la identificación. Para poder medir es necesario un equipo microfotográfico, para poder llevar un historial de lo que se observa y con las fotografías consultar y respaldar información con un atlas de identificación. Para poder medir se requiere de un ocular de medida y en algunos casos de un portaobjetos patrón con un milímetro grabado.

La figura 5 presenta una micrografía de la observación de microorganismos filamentosos donde se aprecia su morfología con un microscopio óptico ampliación de 400 X, también se muestran las dos respuestas (**positiva**, morada y **negativa**, rosa pálido) a la tinción de Gram.

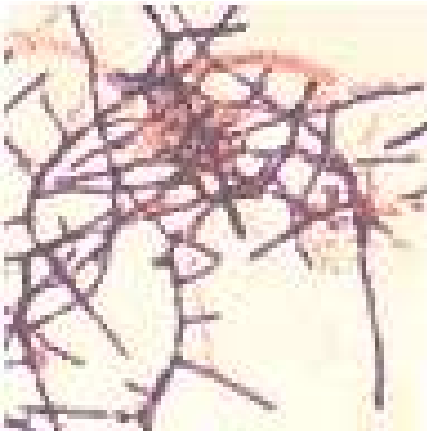


Figura. 5. Microorganismos filamentosos vistos por microscopio óptico

FUENTE:

<http://scitrav.com/wwater7asp1/contents.htm>

2.5.2.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Observando a un aumento de 1000 X deben buscarse las características morfológicas que distinguen a los diferentes microorganismos filamentosos (M. O. F.) tales como:

- Ramificaciones: verdadera o falsa
- Movilidad: sí o no
- Forma de filamento: recto, en forma irregular, ligeramente curvado, torcido, cadena irregular de células, miceliar.
- Color del filamento: transparente, medio, oscuro
- Situación del filamento: en el interior del flóculo, saliendo hacia el licor exterior, libre en el licor
- Crecimiento epifítico: no, sí (cuantificar sí mucho o poco)
- Vaina: si, no
- Septos celulares: si, no
- Indentaciones: si, no
- Dimensiones del filamento

- Forma de las células: cuadradas, rectangulares, ovals, tonel, discoide, extremos redondeados, esféricas, no observables
- Dimensiones de las células
- Gránulos de azufre: in situ y tras la prueba del azufre
- Presencia de rosetas, gonidios, etc.

2.5.2.2 TINCIONES EMPLEADAS

Para ayudar en la identificación biológica de los filamentos se realizan una serie de tinciones tales como:

- Tinción de Gram: positiva, negativa, variable
- Tinción de Neisser: para el filamento positiva o negativa, y en este caso puede haber gránulos positivos
- Tinción de PHB (polihidroxibutirato)
- Tinción de vainas

2.5.2.3 IDENTIFICACIÓN

Actualmente los microorganismos filamentosos pueden identificarse de acuerdo con características morfológicas de rápida observación y fácil de llevar a cabo en el laboratorio de una planta de tratamiento de aguas residuales. Los tipos habitualmente identificados son cerca de treinta en todo el mundo, de los que unos 20 son muy comunes y otros raros de encontrar en número apreciable.

Unos se denominan por medio del género, otros se incluye especie y en muchos se usa una denominación alfanumérica.

Lista de microorganismos filamentosos identificados

- *Bacillus*
- *Beggiatoa*
- *Cyanobacterias*

- *Flexibacter*
- *Haliscomenobacter hydrossis*
- Hongos filamentosos
- *Microthrix parvicella*
- G.A.L.O (Organismos parecidos a *Gordona amarae*) o N.A.L.O. (Organismos parecidos a *Nocardia amarae*)
- *Nostocoida limicola* I, II, y III
- *Sphaerotilus natans*
- *Streptococcus*
- *Thiotrix* I y II
- Tipo 0041
- Tipo 0092
- Tipo 0211
- Tipo 021N
- Tipo 0411
- Tipo 0581
- Tipo 0675
- Tipo 0803
- Tipo 0914
- Tipo 0961
- Tipo 1701
- Tipo 1702
- Tipo 1851
- Tipo 1852
- Tipo 1863

FUENTE: <http://www.geocities.com/jerr922/filament.html>

2.5.3 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS MÁS FRECUENTES EN LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.

BACTERIAS FILAMENTOSAS

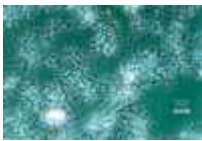
Las bacterias pueden presentarse en formas aisladas o en agrupamientos, de muy diversas formas, entre las que se encuentran los filamentos típicos en los reactores biológicos de lodos activados.



Beggiatoa sp.: bacteria filamentosa constituida por filamentos rectos, activamente móviles por deslizamiento. Habitualmente presentan acumulaciones de azufre, en forma de gránulos esféricos. No disponen de vaina, ni crecimiento epífita asociado. Esta bacteria es Gram y Neisser negativo.



Microthrix parvicella: bacteria constituida por filamentos largos y finos, que crecen atravesando la estructura de los flóculos. No presentan ramificaciones ni vaina. Desarrollan respuesta positiva a la tinción de Gram y gránulos Neisser positivos.



Nocardia sp.: especie de bacteria filamentosa perteneciente al grupo de las mycobacterias, constituida por filamentos cortos, irregularmente formados y muy ramificados. No presentan vaina exterior. Filamentos Gram positivo y Neisser negativos.



Nostocoida limicola II: bacteria filamentosa constituida por filamentos curvados e irregularmente enrollados. Se observan septos celulares claros y células ovales. Presentan reacción ante las tinciones de Gram y Neisser.



Nostocoida limicola III: filamentosa muy similar a *Nostocoida limicola II*, con diámetro mayor y respuesta siempre positiva a las tinciones de Gram y Neisser. La coloración de la tinción de Neisser es característica de este filamento.



Sphaerotilus natans: bacteria filamentosa relativamente larga, delgada, recta o débilmente curvada, compuesta de células redondeadas, y con una delgada vaina que recubre el filamento. No presenta ramificaciones y cuando existen son falsas, sin citoplasma contíguo. Son Gram y Neisser negativos.



Thiothrix I. Filamento recto o ligeramente curvado que se proyecta desde el flóculo. Presenta gránulos de azufre con forma esférica "in situ". Las células son rectangulares, con un diámetro del tricoma entre 1,4 y 2,5 micras.



Thiothrix II. De características similares a *Thiothrix I*, se diferencian en el diámetro del tricoma que en este caso varía entre las 0,8 y 1,4 micras.



Una característica particular de *Thiothrix II* es su capacidad para desarrollar gonidios apicales.



Tipo 0041: Filamento recto o ligeramente curvado de grandes dimensiones. Puede presentar abundante crecimiento epifítico que dificulta la observación de sus células con forma rectangular o cuadradas.



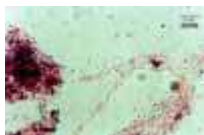
Tipo 0092: Presenta tricomas cortos, insertos en los flóculos, que normalmente no se observan en vivo. Desarrollan tinción de Neisser con coloración característica.



Tipo 021N: Tricomas rectos, suavemente curvados o en madejas. La forma de las células va de ovoide a rectangular o en forma de barril. La morfología celular puede ser variable en el mismo filamento.



Tipo 0914: Bacteria filamentosa constituida por filamentos rectos o curvados e inmóviles. Los filamentos no presentan vaina ni ramificaciones. Las células son cuadradas o rectangulares y no presentan constricciones.



Tipo 1701: Bacteria filamentosa constituida por individuos de longitud variable, inmóviles, y a veces ligeramente curvados. Presentan un abundante crecimiento epifito que dificulta la observación de las células. Las células son bacilares y los filamentos Gram y Neisser negativos.

FUENTE: (http://www.interbook.net/personal/aymas1/atlas_b.htm.)

Estas breves descripciones de cada microorganismo filamentoso comúnmente observados en los lodos activados están basadas en la información proporcionada por Eikelboom y van Buijsen en 1981 (Jenkins.,1993), fueron modificadas por la experiencia de observación de las características de microorganismos filamentosos de lodos activados provenientes de Estados Unidos y Sudáfrica. Los siguientes tipos de filamentos (M. O. F.) se observan usualmente en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas, en índices de carga orgánica convencionales:

S. natans

Beggiatoa sp.

H. Hydrossis

Tipo 1701	<i>Nocardia</i> sp.	Tipo 1863
Tipo 021N	<i>N. Limicola</i> II	
<i>Thiothrix</i> I y II		

Los tipos de (M. O. F.) observados en las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales o domésticas operadas a índices de carga orgánica bajos son:

Tipo 0041	<i>Beggiatoa</i> sp.	<i>M. Parvicella</i>
Tipo 0675	Tipo 1851	<i>Nocardia</i> sp.
Tipo 021N	Tipo 0803	<i>N. Limicola</i> I, II, III
<i>Thiothrix</i> I y II	Tipo 0092	<i>H. Hydrossis</i>
Tipo 0914	Tipo 0961	Tipo 0581

Los tipos de filamentos que se observan con poca frecuencia incluyen:

Hongos	<i>Flexibacter</i> sp.	Tipo 0211
Cianofícea	Tipo 1702	Tipo 0411
<i>Bacillus</i> sp.	Tipo 1852	

La tabla 3 presenta las diversas condiciones para que se propicie el crecimiento de los microorganismos filamentosos., ya que también influyen los parámetros de operación, que para algunos tipos de microorganismos son favorables y para otros filamentosos resultan no ser adecuadas.

Tabla 3. Condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos filamentosos

TIPO DE MICROORGANISMOS	CONDICIONES
Tipo 1701, <i>S. Natans</i> , <i>H. Hydrossis</i>	Baja cantidad de OD,
<i>M parvicella</i> , <i>H hydrossis</i> , <i>Nocardia</i> sp, Tipos 021N, 0041, 0675, 0092, 0581, 0961, 0803	Baja relación F/M, baja carga orgánica, aireación intermitente, largo periodo de retención.
<i>Thiothrix</i> sp, <i>Beggiatoa</i> sp, y tipo 021N	Presencia se sulfuros
<i>Thiothrix</i> sp, <i>S natans</i> , y posiblemente <i>H. Hydrossis</i> y tipos 021N, 0041, 0675,	Deficiencia de nutrientes (nitrógeno y fósforo) en agua residual industrial mezclada con doméstica.
Hongos	Bajo pH

FUENTE: **Summary Report** The Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming, Environmental Protection Agency, 1987

2.6 PARÁMETROS DE OPERACIÓN PARA EL CONTROL DEL PROCESO DE LODOS ACTIVADOS

2.6.1 TIEMPO DE RETENCIÓN HIDRÁULICO (TRH)

El TRH, es el tiempo que permanece el agua residual dentro del reactor y se utiliza para comparar reactores más que para diseño. Sin embargo es variable de diseño cuando existe una concentración baja de carga orgánica.

$$TRH = \frac{\text{Volumen del reactor (L)}}{\text{Gasto (L/h) + Q recirculación (L/h)}}$$

2.6.2 TIEMPO DE RETENCIÓN CELULAR (TRC)

El tiempo de retención celular se define como el tiempo (días) que permanece la biomasa (microorganismos) dentro del sistema (reactor biológico), el TRC tiene mucha aplicación como variable de diseño y operación.

$$TRC = \frac{\text{Concentración de biomasa SSTLM (ppm)} * \text{Volumen del reactor (m}^3\text{)}}{[\text{Q purga (ppm)} * \text{SST inóculo (ppm)}] + [\text{Q inf reactor (m}^3\text{/d)} * \text{SST eflu (ppm)}]}$$

2.6.3 RELACIÓN ALIMENTO/MICROORGANISMO (A/M)

Para una operación conveniente del sistema de lodos activados, es necesario que los microorganismos tengan la cantidad adecuada de alimento, el parámetro denominado relación alimento/microorganismo, A/M se define como:

$$A/M = \frac{Q \text{ infl reactor (m}^3\text{/d)} * DBO_5 \text{ infl planta (ppm)} * 24 \text{ (h)}}{\text{Volumen reactor (m}^3\text{)} * \text{SSVLM (ppm)}}$$

2.6.4 FLUJO DE AIRE

El aire proporciona el oxígeno al licor mezclado dentro del reactor, necesario para la bioxidación de la materia orgánica, el requerimiento de oxígeno es expresado como la masa de oxígeno transferida por unidad de volumen por unidad de tiempo ($\text{kg O}_2/\text{m}^3$ por unidad de tiempo).

La disolución de oxígeno no es la sola función del sistema de aeración, ya que también suministra la agitación necesaria para mantener en suspensión los flóculos del lodo y el licor mezclado tan homogéneo como sea posible. Si la agitación es insuficiente, el contacto reducido entre microorganismos y nutrientes retardará la tasa de remoción de nutrientes.

2.6.5 INDICE VOLUMÉTRICO DE LODOS (IVL)

El IVL se define como el volumen en mililitros ocupado por 1 g de sólidos en suspensión del licor mezclado, expresado en peso seco, después de sedimentar durante 30 minutos en una probeta graduada de 1000 ml.

$$\text{IVL} = \frac{\text{Volumen de sólidos sedimentados en 30 min. (ml/l)} * 1000}{\text{Sólidos suspendidos del licor mezclado (mg/l)}}$$

Los parámetros antes mencionados influyen considerablemente en el crecimiento de los microorganismos filamentosos; también pueden servir como indicadores del comportamiento de la operación de la planta, ya que se presentarán efectos durante el proceso de tratamiento (lodo inflado en el clarificador); que se pueden prevenir controlando adecuadamente el TRC, TRH, A/M y el IVL.

La tabla 4 presenta las condiciones e intervalos de operación del sistema de lodos activados. Para una operación conveniente del sistema, es necesario que las condiciones de operación estén dentro del intervalo recomendado para el tipo de sistema que lo rige.

Tabla 4. Características de los parámetros de operación del sistema de lodos activados.

Procesos	Carga		Tiempo de retención dentro del aireador (h)	Requerimiento de O ₂ (lb/lb DBO ₅ removido)	SSVLM (mg/l)	Carga de sólidos de recirculación (% de Q)
	A/M (lb DBO ₅ /lb MISS . d)	TRC (d)				
Aereación extendida	≤ 0.05	≥ 30	16 – 24	1.4 – 1.6	2000 – 6000	100 – 300
Convencional	0.15 – 0.4	4 – 8	4 – 8	0.8 – 1.1	1500 – 4000	30 – 100
Alta carga	0.4 – 1.0	2 – 4	2 – 4	0.7 – 0.9	3000 – 5000	30 – 100
Aereación modificado	1.5 – 3.0	< 1	0.5 – 2	0.4 – 0.6	500 – 1500	10 – 30

FUENTE: Metcalf & Eddy., 1996.

Para que un lodo tenga condiciones de sedimentación óptimas deberá presentar una velocidad de sedimentación elevada (VSZ) y un índice volumétrico de lodos (IVL) bajo (40 a 100) y la mejor relación A/M, este valor óptimo de la relación A/M se encuentra comprendido dentro de los siguientes límites:

$$0.6 > A/M > 0.3$$

La figura 6 presenta las curvas que indican el valor óptimo de la relación A/M y se aprecia que entra en el valor más apropiado para lograr la perfecta sedimentación, si el punto máximo de la línea se inclinara hacia la derecha se encontraría un lodo inflado y si es lo contrario se esperaría floculo disperso.

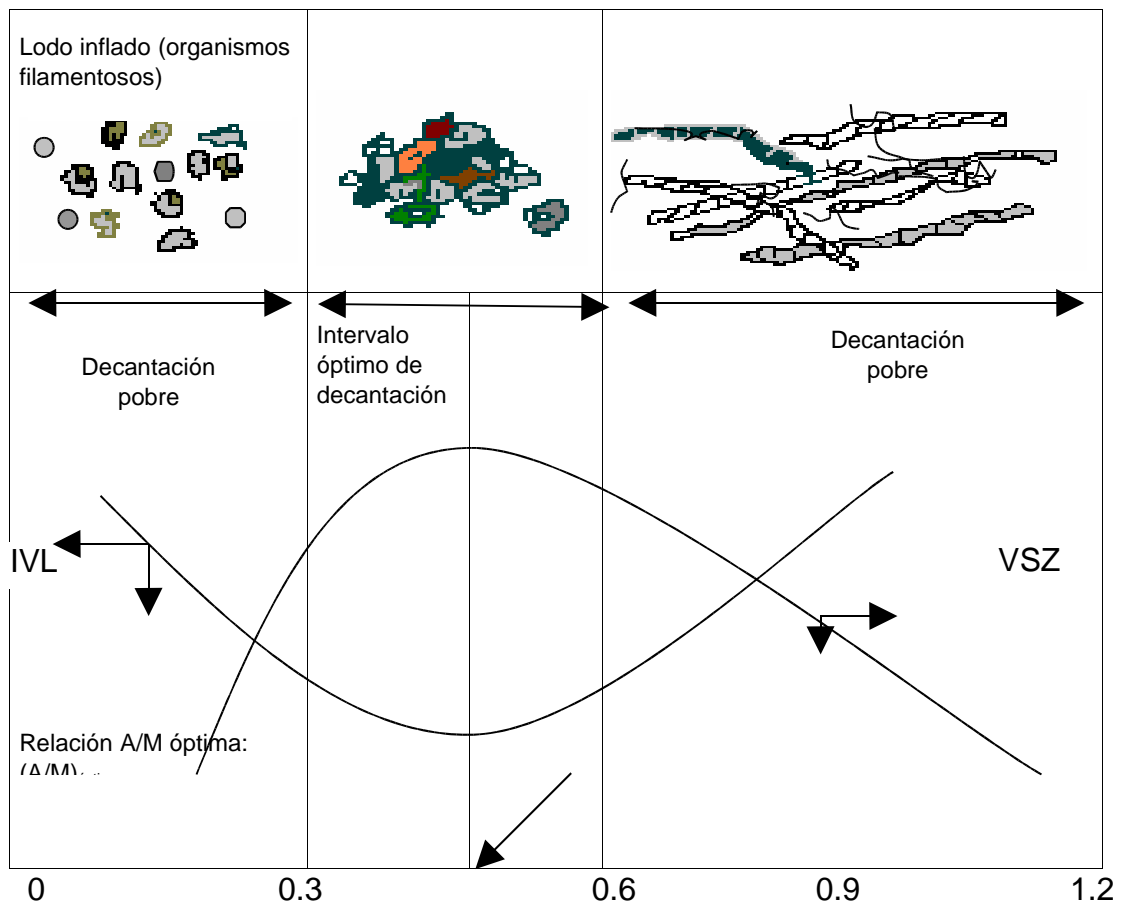


Figura 6. Correlación típica entre el IVL con la relación A/M

FUENTE: Ramalho.,1993.

A continuación se desarrolla una explicación de la correlación A/M y las características de sedimentación del lodo.

1. Para relaciones A/M bajas (inferior a 0.3 d^{-1}), la cantidad de alimento (sustrato) presente en el sistema es insuficiente para mantener el crecimiento de microorganismos, por lo que se ven obligados a vivir bajo el sistema de respiración endógena. El residuo que queda del metabolismo endógeno está constituido principalmente por cápsulas celulares muy ligeras que se resisten a la sedimentación, razón por la que las bajas relaciones A/M tienen características de sedimentación pobre, estas condiciones corresponden a flóculos dispersos.
2. A relaciones A/M elevadas (superiores a 0.6 d^{-1}) hay un predominio de un tipo de microorganismo de naturaleza filamentosa (*Sphaerotilus*) este tipo de colonia no sedimenta bien, permaneciendo en suspensión casi continuamente. El lodo inflado bajo estas condiciones es el que se denomina abultamiento (“bulking”).
3. A valores de relación A/M comprendidos entre estos dos extremos, el lodo tiene buenas características de sedimentación. El lodo bajo estas condiciones se denomina **floculante**.

Se atribuye la influencia de los parámetros de operación ya que proporcionan características que pueden ser diversas:

- El TRC es otro parámetro a considerar; si la cantidad de lodo desechado se incrementa, la relación A/M es mayor y TRC disminuye. Estos dos parámetros de operación están interrelacionados, ya que cambiando uno se controla el otro.
- Si el comportamiento del IVL cambia rápidamente de un día a otro, los flóculos que se presentan son filamentosos.
- Para un tiempo de residencia celular muy alto (mayor de 18 d, para un proceso convencional que tiene un rango de 4 – 8 d) se genera un crecimiento desmesurado de microorganismos filamentosos (bulking).

- Cuando la concentración de oxígeno de una mezcla líquida es menor a 0.5 mg/l, hay poca penetración de oxígeno al flóculo bacteriano y sólo una parte manifiesta el crecimiento aeróbico; en cambio los filamentosos tiene una mayor porción de área superficial, por lo tanto consumen una mayor cantidad de oxígeno aprovechable y crecen más rápido que las bacterias no filamentosas.

La tabla 5 presenta las condiciones y características de la relación entre los parámetros que se pueden manipular dentro de una planta de tratamiento, esto depende de la facilidad y acceso a las líneas de conducción de recirculación y purga principalmente.

Tabla 5. Condiciones del proceso y consecuencias de las relaciones de TRC y A/M

TRC corto y relación A/M alta	
CONDICIONES	El oxígeno disuelto en el licor mezclado es bajo y por lo tanto la velocidad del consumo de oxígeno está arriba de lo normal.
CARACTERÍSTICAS	El lodo es ligeramente café y de sedimentación lenta, existe espuma blanca espesa en el tanque aireado Existe un considerable aumento de microorganismos específicamente ciliados libres (<i>colpodes</i> , <i>lionotus</i> , <i>aspidiscas</i> etc.)
TRC amplio y relación A/M baja	
CONDICIONES	El oxígeno disuelto mínimo en el tanque de aireación se mantiene y, por lo tanto es más bajo de lo normal el consumo de oxígeno.

CARACTERÍSTICAS	<p>Los sólidos suspendidos totales en el efluente incrementan.</p> <p>Se presenta sedimentación rápida, alta compactación con sobrenadante turbio y partículas de materia finas.</p> <p>Densa y algunas veces grasosa capa de espuma de color café canela que cubre el tanque de aireación.</p> <p>La presencia de rotíferos (<i>Philodina</i>, etc.) en el proceso convencional de lodos activados no es común, pero se encuentran algunos.</p> <p>La disminución en el número de ciliados libres y un correspondiente aumento de ciliados fijos (<i>Vorticella</i>, <i>Epistylis</i>, <i>Suctorina</i>, etc.) indica niveles bajos de alimento</p>
------------------------	---

Adaptado del: Jenkins, **Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming (1993)** y de Michael Richard, **The bench sheet monograph on activated sludge microbiology (1991)**.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DESCRIPCIÓN DEL AREA DE ESTUDIO

3.1.1 ASPECTOS GENERALES

La planta ECCACIV, S. A. de C. V. está ubicada en el Km. 3.5 de la carretera Jiutepec - Zapata, ocupa una extensión de 3.5 hectáreas y colecta su influente a través de una red de 12 Km de colectores; tiene una capacidad de tratamiento de 210 litros/segundo de agua doméstica proveniente del municipio de Jiutepec, además de las aguas de origen industrial de la ciudad industrial del valle de Cuernavaca (CIVAC). En porcentaje, el 60% es agua doméstica y el 40% es agua industrial de las 80 industrias que envían el agua a tratamiento; en la cual, predomina el agua residual del tipo químico.

La planta de tratamiento de aguas residuales industriales y municipales ECCACIV, S. A de C. V. fue diseñada con el propósito de satisfacer las necesidades en el tratamiento de aguas residuales, con la tecnología más avanzada que ofrece los mejores resultados a favor del medio ambiente. Los sistemas que utiliza dicha planta para el tratamiento del agua residual, es de tipo “**Torres Biológicas**”.

Dentro del organigrama de la planta de tratamiento ECCACIV, se encuentra el departamento de desarrollo, el cual se encarga directamente de la Planta piloto, lugar donde se realizan los proyectos que se pretenden implementar en la planta ECCACIV.

3.1.2 PLANTA PILOTO

En la Planta Piloto se desarrolló la parte experimental de este proyecto; está provista de 4 reactores (modelos), constituidos por tanques cilíndricos de PVC (con 700 L de capacidad) conectados a un dispositivo que permite el flujo de aire. El cual, se distribuye por medio de dos difusores a cada tanque, este flujo está controlado por rotámetros que dan la lectura de la cantidad de aire suministrado. Para la alimentación

del influente se cuenta con mangueras que hacen la distribución del agua que entra al reactor con ayuda de bombas peristálticas que dosifican la cantidad necesaria de

alimentación a cada reactor aireado, de la misma forma se adiciona el recirculado a los tanques. El proceso de tratamiento en esta planta piloto es continuo y convencional.

La figura 7 presenta un diagrama que muestra el recorrido del agua influente al efluente de la planta piloto, se puede apreciar que el efluente sale después del sedimentador secundario o clarificador, sin pasar a otro proceso.

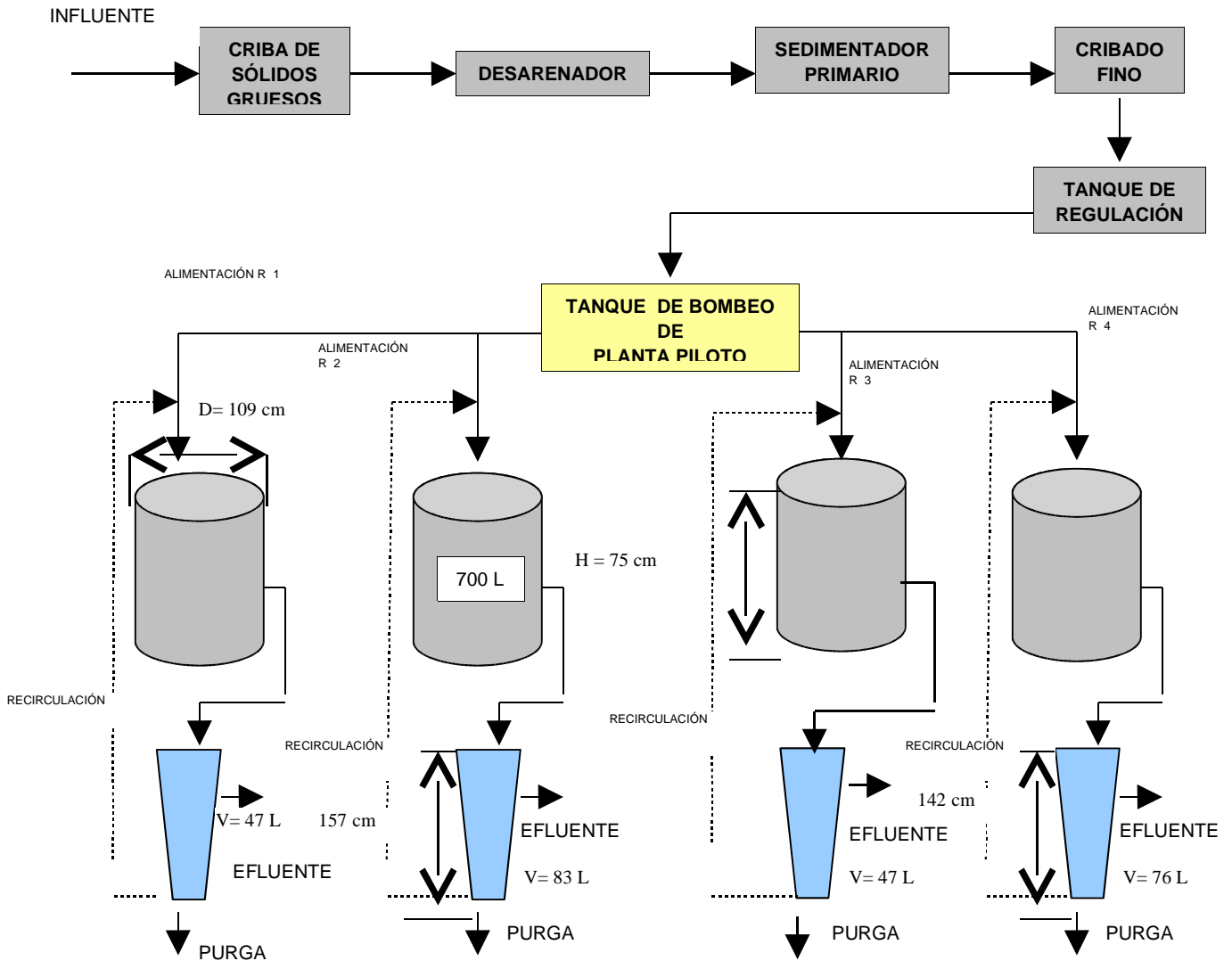


Figura 7. Diagrama de flujo de la planta piloto.

Por medio del retiro de natas en la superficie del reactor y las purgas en los clarificadores se pueden presentar variaciones en los niveles de altura del agua dentro del reactor. La altura es importante dado que este valor es utilizado para obtener el volumen del reactor y posteriormente los resultados en los parámetros de control (TRC, A/M y TRH).

En la figura 8 se presenta el licor mezclado dentro del reactor, la agitación que recibe el licor es proporcionada por la inyección de aire y a su vez proporciona la concentración de oxígeno necesaria para la oxidación de la materia orgánica.



Figura 8. Licor mezclado en el reactor de la planta piloto.

En la figura 9 y 10 se puede observar que cada reactor tiene su respectivo clarificador de donde se efectúa la recirculación de la biomasa que forma los lodos activados y que son aireados dentro del tanque y a su vez proporciona una cantidad de sólidos necesaria para control de la relación alimento/microorganismo.



Figura 9. Reactores 1 y 2.



Figura 10. Planta Piloto de ECCACIV, S. A. de C. V.

La figura 11 presenta la imagen de uno de los clarificadores, estos vierten su efluente en la parte superior por medio de vertedores triangulares que lo envía a un contenedor central, para que fluya por una tubería que puede manipularse para la toma de muestras.



Figura 11. Vista superior del clarificador de la planta piloto de ECCACIV.

Es importante mencionar que el agua influente a la planta piloto ha pasado ya por una remoción de sólidos gruesos (arena), en la sedimentación primaria es donde se eliminó por gravedad la fracción sedimentable de los sólidos. Posteriormente pasa a un cribado fino y por último al tanque regulador de flujo, pH, temperatura y carga orgánica.

3.2 DESARROLLO EXPERIMENTAL

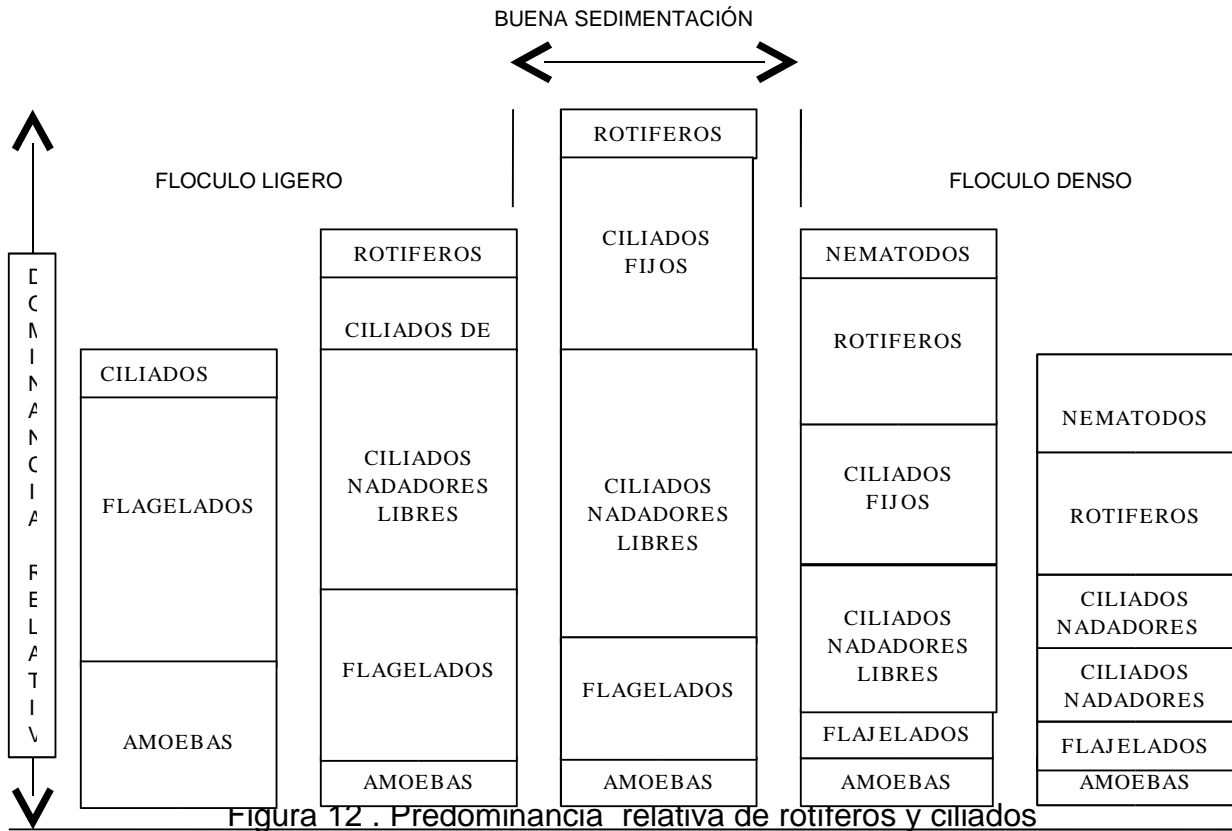
3.2.1 CONDICIONES INICIALES DE REFERENCIA DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Previo a la definición de las condiciones a aplicar en el experimento, se efectuaron las siguientes actividades: Comportamiento de algunos parámetros fisicoquímicos en la planta de tratamiento para fijar condiciones de operación de la planta piloto en la que se desarrolló esta investigación. (tabla 6).

Tabla 6. Parámetros prevalentes de operación








Valores anuales	Influyente			Efluente			Condiciones de operación		
	DQO Ton/día	N _{TK} ppm	SST ppm	DQO Ton/día	N _{TK} ppm	SST ppm	TRC Días	TRH hrs	F/M días ⁻¹
MIN	20	109	2000	1.1	23	22	9.1	22	0.18
MAX	33	163	5000	2.8	91	69	24.1	28	0.29
PROM	27	130	3500	2.0	53	34	18	25	0.23

En esta tabla se presentan los valores mínimos y máximos de los parámetros fisicoquímicos, bajo condiciones rutinarias de operación de la planta ECCACIV S. A. de C. V. en un periodo anual, es primordial analizar el comportamiento de los datos, ya que con base en ellos se propusieron las condiciones experimentales con las cuales se realizó este trabajo en la planta piloto



La figura 12 presenta la prevalencia de rotíferos y ciliados en MLSS (Sólidos suspendidos del licor mezclado) para lograr una buena sedimentación en un proceso de lodos activados. Dentro de los parámetros biológicos de rutina que se analizan en la planta ECCACIV S. A. de C. V., se considera la observación de protozoarios (rotíferos y ciliados). En la tabla 7 se muestra la presencia de estos microorganismos, predominante en un periodo anual. Éste antecedente indica la calidad de agua durante el proceso de remoción de materia orgánica en el tratamiento.

Tabla 7. Predominancia de protozoarios como parámetro biológico

Parámetros biológicos		
Protozoarios		
Ciliados libres		
<i>Colpodes, Lionotus y Aspidiscas</i>		
		
Colpode	Lionotus	Aspidiscas
Ciliados fijos		
		
<i>Vorticella, Epistylis y Suctorina</i>		
Rotíferos		
		
<i>Philodina</i>		

3.2.2 CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LA PLANTA PILOTO

El desarrollo experimental se dividió en dos etapas, la primera de arranque y la segunda de operación estable.

Cabe mencionar que se estableció mantener bajo las mismas condiciones de operación a los reactores 1 y 3 (replica). De igual forma a los reactores 2 y 4 (replica) durante dos semanas. En la tabla 8 se observa las condiciones de operación propuestas.

Tabla 8. Condiciones de operación de la planta piloto en la primera etapa.

REACTORES	TRC (días)	A/M (días ⁻¹)	TRH (hrs.)
1 y su replica 3	30 – 44 (alta)	0.28 – 0.24 (baja)	24 – 27 (prom.)
2 y la replica 4	17 – 23 (baja)	0.33 – 0.34 (alta)	24 – 26 (prom.)

Los parámetros de operación monitoreados fueron TRC, O₂, A/M, TRH, observación microscópica e identificación.

a) Tiempo de retención celular (TRC)

Para lograr mantener el control del TRC en cada uno de los reactores, se realizó la extracción de las purgas para proporcionar un equilibrio de sólidos en el licor mezclado dentro de los reactores, ya que si se evita la purga, los sólidos que se recirculan del clarificador serán más concentrados elevando los SSVLM.

b) Concentración de oxígeno en el licor mezclado [O₂]

Los rotámetros se mantuvieron constantes a 472.0 cm³/seg (1 pies³/min) en los cuatro reactores, se revisaron a diario para confirmar que no variaran y proporcionaran una concentración de oxígeno disuelto similar en los cuatro reactores.

c) Relación alimento microorganismo (A/M)

Se mantuvo la A/M de 0.18 a 0.29 d⁻¹, ya que fue el intervalo de valores que predominó en la planta de tratamiento ECCACIV durante el periodo anual y sirvió como referencia del comportamiento. El intervalo de valores para una planta convencional es de 0.15 a 0.5 d⁻¹ (EPA, 1987). Se ha demostrado que en condiciones de alta relación A/M se producen flóculos grises y dispersos con alto contenido de agua enlazada y poca sedimentabilidad; con baja A/M los flóculos eran de color café y densos con un pequeño contenido de agua enlazada (Heukelekian, Weisberg *op cit* Wesley Eckenfelder, 1972). Varios investigadores han relacionado el esponjamiento del lodo con la carga orgánica, a medida que el A/M excede a 0.5 Kg DBO/día/Kg SSML, el esponjamiento es progresivamente más severo. Sin embargo se han obtenido buenas características de sedimentación con cargas en exceso 2.0 Kg DBO/día/Kg SSML (Eckenfelder, 1972)

No obstante a que es difícil mantener una relación A/M constante, debido a que no se tiene control en la concentración de la carga orgánica y gasto influente a la planta de tratamiento ECCACIV S. A. de C. V., en la planta piloto se dosificó la cantidad de alimentación y gasto influente por medio de mangueras y bombas peristálticas. Es conveniente aclarar que fue necesaria la revisión y limpieza constante de las mangueras para evitar su taponamiento.

d) Tiempo de retención hidráulica (TRH)

El TRH también fue controlado manteniéndolo a un volumen y gasto fijos. El TRH es de 18 a 36 horas para un proceso de lodos activados modificado (aireación extendida) (Metcalf y Eddy, 1996), sin embargo el valor recomendado en la bibliografía y utilizado en este experimento fue de 24 horas.

e) Clasificación y cuantificación de protozoarios

Este parámetro también fue utilizado para el control de la operación de la planta piloto. Consistió en la observación microscópica diaria del licor mezclado, donde se analizó la presencia y predominancia de protozoarios (rotíferos y ciliados). La muestra del licor de cada uno de los reactores se obtuvo, se etiquetó y se transportó al laboratorio donde con un microscopio compuesto (ocular 10 X) se procedió a la observación. Se colocó una gota de esta suspensión en un portaobjetos ordinario y se cubrió, durante la observación se realizó un conteo en MLSS (sólidos suspendidos del licor mezclado), de forma práctica se clasificaron en tres etapas que corresponden a las especies típicas predominantes.

Etapa III Ciliados libres (*Colpodes*, *Lionotus* y *aspidiscas*)

Etapa IV Ciliados fijos (*Vorticella*, *Epistylis* y *Suctorina*)

Etapa V Rotíferos y *Philodina*

Cabe mencionar que se contó con un manual con las imágenes de las bacterias, protozoarios, rotíferos y nemátodos en el inicio de su reconocimiento y después de la familiarización ya no fue indispensable.

Por las características que presentó cada muestra se determinó la calidad del licor y nos permite relacionarlo con la remoción que se obtuvo y las condiciones de operación de ese momento; ya que el hecho de que predomine una determinada variedad de

especies, ayuda a conocer la clase de compuestos que constituye la contaminación, principalmente con base a los valores de carga orgánica.

Los protozoarios, son muy sensibles a las variaciones de las condiciones del medio, su presencia es útil para la eficiencia de la planta de tratamiento

d) La identificación de los microorganismos.

Esta actividad ayudó a conocer el estado del licor mezclado. Las observaciones se realizaron dos veces por semana con respecto a los microorganismos filamentosos (M. O. F.). La **Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de México**; que tiene implementada la técnica de identificación de microorganismos filamentosos (M. O. F.) y dio la capacitación en este ámbito, para adaptarla posteriormente en el laboratorio de ECACCIV y cumplir con uno de los objetivos de este trabajo.

El procedimiento que se efectuó para la observación, consistió en una serie de muestras obtenidas del licor mezclado de cada uno de los reactores, realizándose 2 observaciones por semana. Se adaptó la técnica de tinción de Gram y Neisser para identificación de (M. O. F.) dentro del laboratorio de ECACCIV. El proceso que se siguió en la tinción de Gram (tabla 9) consistió en lo siguiente:

Tabla 9. Tinción Gram (Método de Hucker modificado)

Reactivos y procedimiento para la coloración de Gram

Se requirió de los siguientes reactivos:

Solución 1

A

Cristal violeta 2 g
Etanol al 95% 20 ml

B

Oxalato de amonio 0.8 g
Agua destilada 80 ml

Solución 2

Yodo1 g
Yoduro de potasio 2 g
Agua destilada 3000 ml

Solución 3

Safranina (2.5 % en etanol al 95%)10 ml
Agua destilada 100 ml

Procedimiento:

1. Se dejó caer una gota (muestra delgada) en el portaobjetos, se secó a medio ambiente y se cubrió el frotis con la solución colorante (violeta de cristal) por unos segundos (hasta fijar).
2. Se lavó la tinción suavemente con agua y se sacudió para eliminar su exceso.
3. Con la solución yodada se cubre el frotis y se dejó por un minuto.
4. Nuevamente se lavo con agua, se eliminó exceso y se decoloró con etanol al 95% hasta que no hubo presencia de color (la decoloración dura solo unos segundos).
5. Observando la eliminación de color se enjuagó con agua
6. Se tiñe el frotis con la solución de contraste por un minuto, segundos después se enjuagó con agua y se dejó secar a temperatura ambiente.

Se observó por inmersión a 1000 X de ampliación con iluminación directa (no contraste de fases).

Azul violeta es Gram positivo Rosado pálido es Gram negativo

Otra de las técnicas que fue recomendada para demostrar las propiedades de tinción acidorresistente de un organismo es la técnica de Neisser (tabla 10).

Tabla 10. Tinción Neisser

Reactivos, preparación de soluciones y procedimiento**Solución 1**

Prepare por separado lo siguiente:

	A
Azul de metileno	0.1 g

Etanol al 95%	5 ml
Ácido acético glacial	5 ml
Agua destilada	100 ml

B

Cristal violeta (10 % p/v en alcohol etílico al 95%) ..	3.3 ml
Etanol al 95 %	6.7 ml
Agua destilada	100 ml

Mezclar 2 partes de la solución **A** con una parte en volumen de la solución **B**; preparación mensual.

Solución 2

Café de Bismark (1 % p/v acuosa)	33.3 ml
Agua destilada	66.7 ml

Procedimiento:

1. Preparar una muestra delgada sobre un portaobjetos para observación microscópica y secar al aire.
2. Teñir 30 segundos con la solución 1, lavar suavemente con agua
3. Teñir 1 minuto con la solución 2, lavar bien con agua hasta eliminar el color y secar al aire.

Observar por inmersión a 1000 X de ampliación con iluminación directa (no usar contraste de fases)

Azul violeta es positivo (aún si la coloración es en los gránulos intracelulares)
Amarillo café es negativo.

Los métodos de muestreo, los procedimientos de tinción, las técnicas de observación, cuantificación y clasificación de organismos filamentosos se describen en el **Anexo A**

3.2.3 MUESTREO Y PARÁMETROS

Los muestreos se efectuaron en tres turnos en la mañana, tarde y noche, de éstos se hizo una muestra compuesta que fue analizada dos veces por semana (lunes y miércoles) en los parámetros de DBO, DQO, Nitrógeno total, Fósforo total y Sólidos.

En éste caso para elaborar las muestras compuestas se siguió la metodología establecida en los Métodos Estándar. Todas las muestras fueron transportadas al laboratorio en condiciones adecuadas (previamente etiquetadas, en recipientes de plástico y manteniéndolos a 4° C y con preservación de ácido sulfúrico en las muestras que así lo requerían como Fósforo, Nitrógeno y DQO) para la realización de los análisis en esos parámetros. El periodo durante el cual se realizó el muestreo fue de 7 semanas (marzo – mayo 01) haciendo un total de 16 muestras de las cuales las cuatro primeras se utilizaron para la estabilización.

Es importante aclarar que en los parámetros biológicos (protozoarios y microorganismos filamentosos) no se utilizó la solución compuesta y su observación fue diariamente con la muestra obtenida en ese momento o por lo menos en ese día, en el caso de los (M. O. F.) la observación fue dos veces por semana.

En la tabla 11 se presentan los análisis de la calidad del agua residual y los puntos de muestreo y frecuencia.

Tabla 11. Análisis y puntos de muestreo

PARÁMETROS	MUESTREO				
	ENTRADA A PLANTA	LICOR MEZCLADO	SOBRENADANTE CLARIFICADOR	SALIDA PLANTA	FRECUENCIA
DBO	X			X	2 veces/sem
DQO	X			X	2 veces/sem
OD		X			Diario
Nitrógeno total	X			X	2 veces/sem
Fósforo total	X			X	2 veces/mes
Sólidos		X		X	2 veces/sem
Sólidos Sedimentables		X			Diario
Cuantificación y clasificación de protozoarios		X	X		Diario

Algunos parámetros fisicoquímicos fueron determinados en campo (planta piloto) como son oxígeno disuelto, sólidos sedimentables del licor mezclado y temperatura. Otros datos también importantes son obtenidos del influente de entrada a la planta de tratamiento y durante el proceso del mismo; como son conductividad, pH, grasas y aceites, metales y coniformes, los parámetros anteriores son de rutina en el tratamiento y son analizados por el laboratorio de ECCACIV. Ya que se trata de un

influyente combinado (agua doméstica – industrial), proporcionan información de la calidad que ingresa al proceso de remoción.

La tabla 12 presenta los métodos y normas utilizados para la determinación de los análisis físico químicos y biológicos.

Tabla 12. Métodos y normas de análisis

PARÁMETROS	NORMAS	MÉTODOS CLAVE ECCACIV
DBO	NMX-AA-028-1981	ECC-PANA-FQ-19
DQO	NMX-AA-030-1981	ECC-PANA-FQ-06
Nitrógeno total	NMX-AA-026-1980	ECC-PANA-FQ-18
Fósforo total	NMX-AA-029-1980	ECC-PANA-FQ-05
Sólidos	NMX-AA-034-1981	ECC-PANA-FQ-14-1
Sólidos Sedimentables	NMX-AA-004-1977	ECC-PANA-FQ-20
Cuantificación y clasificación de protozoarios	Standard Methods 1994.	ECC-PANA-MB-04

Los métodos están adaptados, registrados y certificados bajo las normas y reglamentos de calidad del laboratorio de ECCACIV, el cual está acreditado por EMA (Entidad Mexicana de Acreditación A. C.) como: **Laboratorio de pruebas de ECCACIV, S.A de C.V.** (Acreditación No. AG – 049 – 010/01).

4. RESULTADOS

4.1 ETAPAS DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1.1 ETAPA 1: (Arranque)

La tabla 13 presenta las condiciones de operación promedio de las dos semanas de estabilización, se ajustó a las condiciones de la operación promedio de la planta ECCACIV que son:

$$\text{TRC} = 18 \text{ días} \quad \text{A/M} = 0.23 \text{ d}^{-1} \quad \text{TRH} = 25 \text{ hrs}$$

Tabla 13. Condiciones de operación promedio de la planta piloto (etapa de arranque)

	T R C (d)	A / M (d⁻¹)	T R H (hrs)
Reactor 1	30	0.18	24
Reactor 2	17	0.33	26
Reactor 3 *	44	0.24	27
Reactor 4 **	23	0.34	24

* Replica del reactor 1

** Replica del reactor 2

Una vez que los parámetros monitoreados en la primera etapa (arranque) se estabilizaron, es decir no presentan variación considerable se inició la segunda etapa.

4.1.2 ETAPA 2: (Estado estable)

La segunda etapa del estudio se mantuvo durante un periodo de seis semanas en las cuales la operación del sistema de tratamiento se comportó con las características que se presentan en la tabla 14 donde se muestran las condiciones de operación promedio.

Tabla 14. Condiciones de operación promedio obtenidas en los reactores

Condición			TRC (d)	TRH (hrs)	A/M (d ⁻¹)
1	Promedio Reactor 1	n = 12	20	24	0.2
	Promedio Reactor 3		12	24	0.4
	Condiciones reales		10 – 20	24	0.20 – 0.30
2	Promedio Reactor 2	n = 12	35	24	0.25
	Promedio Reactor 4		46	24	0.18
	Condiciones reales		30 – 40	24	0.20 – 0.30

Con las condiciones obtenidas en los reactores y sus réplicas se analizó la varianza en el comportamiento del reactor y su réplica para ambas condiciones de operación con el objeto de controlar la diferencia en operación de los reactores con su réplica.

El diseño experimental seleccionado fue una análisis de varianza de un factor en una dirección, el cual proporciona el porcentaje de variación del reactor analizado y su réplica y nos indica mediante los valores de F obtenidos si hay o no diferencia en su comportamiento de operación. El análisis estadístico detallado se presenta en el **anexo C**.

El análisis de frecuencia aplicado a los datos de TRC, es de gran utilidad ya que los intervalos de clase proporcionan información a cerca del comportamiento del TRC como se presenta en la figura 13, donde se ilustran los datos más recurrentes en los reactores.

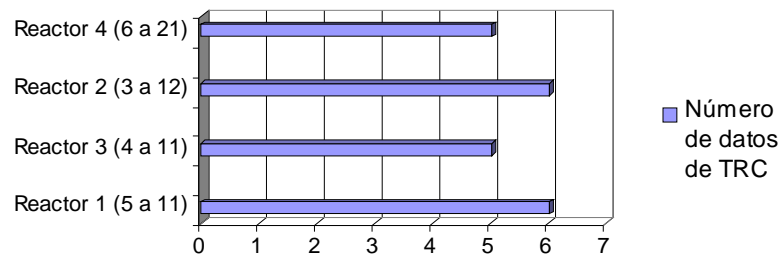


Figura 13. Intervalos de clase con mayor número de datos para cada reactor

En la figura 13 se observa que los reactores presentan de 5 a 6 datos con valores menores a 21 días en TRC. Esto indica que el comportamiento de TRC dentro de los cuatro reactores fue la mayor parte con TRC bajo (10 a menor a 21 días).

Analizando estadísticamente los mismo datos de TRC del reactor 1 con su réplica el reactor 3 (TRC bajo de 10 a 20 días) y del reactor 2 y su réplica el reactor 4 (TRC alto de 30 a 40 días) por medio del análisis de varianza, no se obtienen diferencias significativas en el reactor 1, 3 la F calculada es de 0.24 menor $F_{0.05}$ de tabla que proporciona un valor de 7.71. En el caso de los reactores 1, 4 la diferencia fue todavía menor, obteniéndose una F calculada de 0.0275 menor a la de la tabla cuyo valor es de 7.71 para una $F_{0.05}$.

Tratando de determinar si existen diferencias significativas entre los modelos se procedió a analizar el comportamiento de los cuatro reactores y de sus combinaciones, se analizó el promedio de los modelos 1 y 3 (condición 1, TRC bajo) con el promedio de los modelos 2 y 4 (condición 2, TRC alto).

La figura 14 presenta los resultados del análisis de varianza de los datos de TRC de las combinaciones de los reactores.

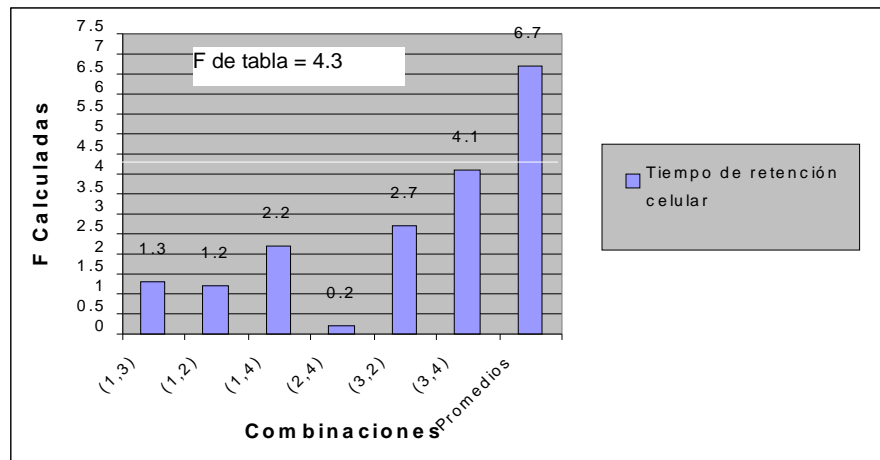


Figura 14. Análisis de varianza de TRC en los reactores

En la figura 14 se observa que sólo existe diferencia significativa entre las dos condiciones. Esto significa que el promedio de los modelos 1 y 3 comparada con el promedio de 2 y 4, mantienen un TRC en los intervalos propuestos con una certeza del 99.95 %. Ya que el valor de F calculada para la combinación de los cuatro reactores es de 6.7 es mayor a $F_{0.05}$ de tabla que corresponde a 4.3, por lo tanto se entiende que existe una diferencia entre los reactores que se están analizando.

En la relación alimento/microorganismo (A/M), los datos analizados en la distribución de frecuencias presentan valores en intervalos de clases menores a los esperados (0.20 a 0.30 d^{-1}), como se aprecia en la figura 15. La figura ilustra el comportamiento de los datos en cada reactor; donde de los 12 datos, más de 4 de ellos no entran en el intervalo establecido. Sin embargo el promedio del total en cada modelo si cumple el intervalo.

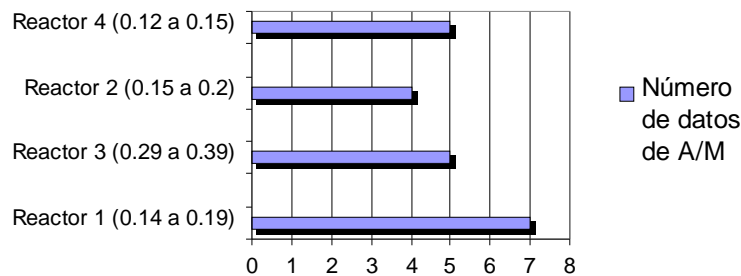


Figura 15. Número de datos de la relación A/M

La figura 16 presenta la varianza de las combinaciones en el comportamiento de la relación A/M.

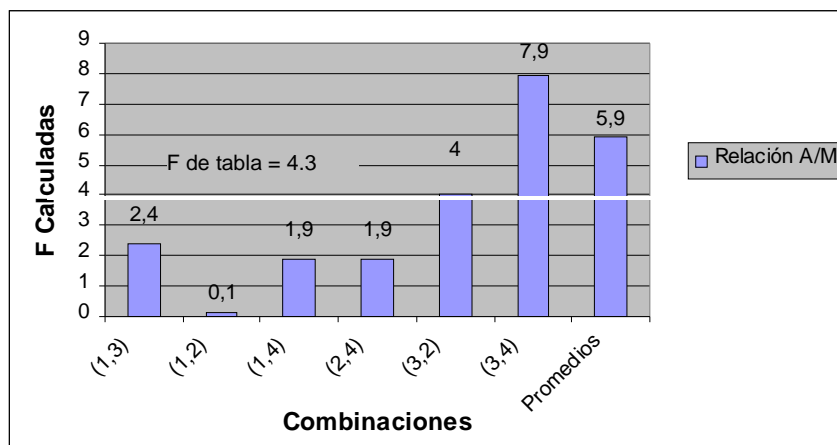


Figura 16. Análisis de varianza de la relación A/M

En el análisis de varianza se aprecia que los datos en las combinaciones del reactor 3,4 y los promedios de 1,3 y 2,4 (condiciones de TRC alta y baja) existe una variación significativa con una certeza de 95%, ya que F calculada es mayor que F de tablas. Lo que indica que el comportamiento de los reactores 1,3 y 2,4 está dentro del intervalo deseado con un porcentaje de error del 0.05% que al compararse con la combinación de los reactores 3,4 la F calculada proporciona un valor 7.9 mayor al $F_{0.05}$ de la tabla que es de 4.3 por lo que el error es del 5% que sale del valor aceptable.

4.2 CALIDAD DEL AGUA INFLUENTE Y EFLUENTE

La calidad y cantidad de agua residual influente a la planta de tratamiento tuvo variaciones durante el periodo de evaluación, debido a la aportación de los efluentes industriales y domésticos. Las concentraciones influente más bajas (900 a 1200 mg/l) de DBO a la planta de tratamiento se registran los fines de semana e incrementa a partir del día martes a valores mayores de 1500 mg/l de DBO. La DQO varía considerablemente manteniendo una relación DQO/DBO de 2.08 en promedio. Sin embargo los SST se mantienen relativamente constantes durante toda la semana.

La tabla 15 presenta un resumen de los resultados promedio de la calidad del agua en la salida del sedimentador de la planta piloto; en cada reactor y su respectiva replica, bajo las condiciones de operación reales (tabla 14), medidas como: DBO, DQO, fósforo total, nitrógeno total y sólidos totales.

Tabla 15. Resumen de resultados promedio de la calidad del agua efluente de la planta piloto.

Reactores	DQO		DBO		Fósforo total		Nitrógeno total		SST	
	influyente mg/l	efluente mg/l	influyente mg/l	efluente mg/l	Influyente mg/l	efluente mg/l	influyente mg/l	efluente mg/l	Influyente mg/l	efluente mg/l
Reactor 1	2165	517	1032	35	7	5	140	31	3000 a 4200	338
Reactor 3		845		64		7		62		377
Reactor 2		388		35		6		28		369
Reactor 4		364		27		3		35		204

En la figura 17 se grafican los porcentajes de remoción obtenidos bajo las condiciones de TRC establecidas en promedio para los reactores 1, 3 y 2, 4. Se observa que el porcentaje de remoción en el TRC alto es mayor en los parámetros analizados.

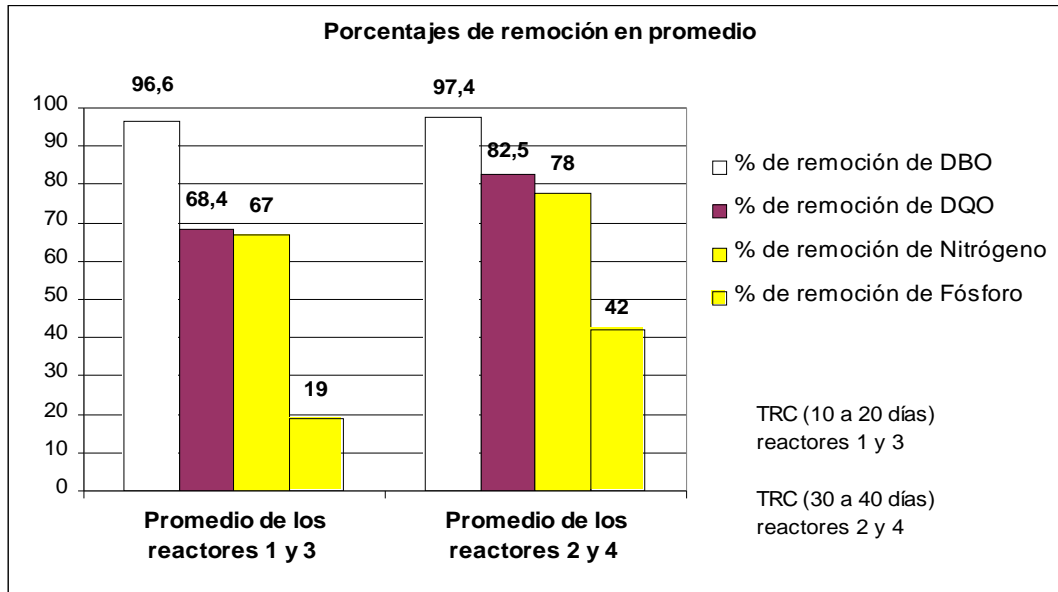


Figura 17. Porcentajes de remoción promedio relacionados con las condiciones establecidas.

Al analizar la figura 17 se aprecia que tres de los cuatro parámetros (en los reactores 2, 4) tiene un porcentaje de remoción mayor principalmente en DQO y Nitrógeno, en DBO el valor (97.4 %) es muy cercano al promedio de los reactores 1, 3 (96.6 %). Sin embargo, no sucede lo mismo para la remoción de Fósforo, ya que un tiempo de retención celular de 30 a 40 días la remoción es de 42 %, y este valor no fue favorable para la eliminación esperada en este parámetro, considerando que solo el 58% de fósforo se elimina durante el tratamiento.

Los resultados de los parámetros de estudio se presentan en el **anexo B**.

4.3 ANÁLISIS DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN (TRC) Y LOS PARÁMETROS

4.3.1 MATERIA ORGÁNICA

4.3.1.1 Demanda bioquímica de oxígeno

La figura 18 muestra el comportamiento de la materia orgánica medida como DBO en las condiciones ya planteadas y presenta valores de concentración y porcentajes de remoción.

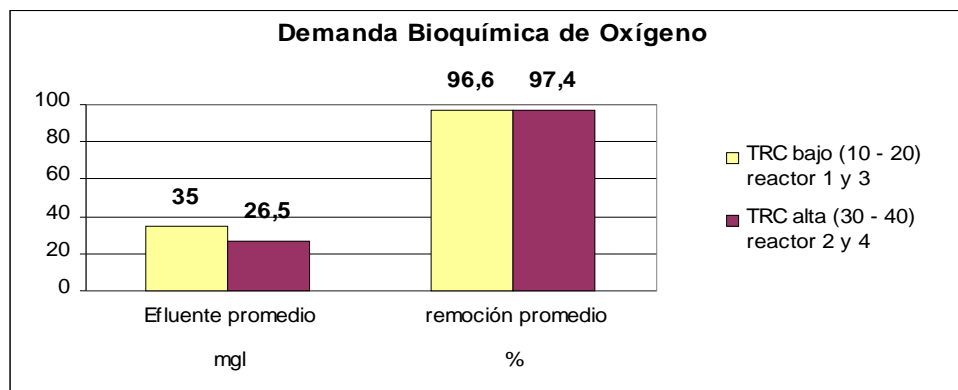


Figura 18. Demanda bioquímica de oxígeno

Se puede apreciar en la figura 18 que los valores promedio que presentan las condiciones bajas de TRC (10 a 20 días) son mayores a 35 mg/l de concentración en DBO del efluente, la variabilidad entre el reactor 1 y su replica es de 20% y no se considera significativa, sin embargo; con el TRC alto la concentración del efluente es de 26.5 mg/l en DBO, con una variación de 3.2% entre el reactor 2 y la replica (reactor 4), indicando un comportamiento similar en ambos reactores. El mantener un TRC de 30 a 40 días permite una mejor remoción (97.4% de DBO) de materia orgánica y como consecuencia en el efluente tiene concentraciones menores (2.6%) al final del proceso de tratamiento.

Cabe mencionar que la concentración efluente de este parámetro cumple con la NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de 200 mg/l en

promedio diario para riego agrícola (no está restringido), pero no para el promedio mensual (30 mg/l) que protege la vida acuática. Es importante tomar en cuenta que el efluente analizado corresponde a la salida del clarificador de la planta piloto y no recibe ningún otro tratamiento.

Con respecto a los porcentajes de remoción de DBO se obtuvo un buen resultado (mayor de 90%) con ambas condiciones de TRC, sin embargo los valores obtenidos con las condiciones más altas (30 a 40 días) de TRC arrojan mejores porcentajes de remoción.

Obtener buenos porcentajes de remoción indica que los microorganismos han efectuado los mecanismos de absorción asimilación y mineralización correctamente y que las condiciones de operación han sido seleccionadas apropiadamente, pero también que la constitución del agua residual es adecuada en su proporción de nutrientes y materia orgánica.

4.3.1.2 Demanda química de oxígeno

En la figura 19 se ilustra el comportamiento de la demanda química de oxígeno con respecto a las condiciones de TRC.

Se puede apreciar que el TRC es un factor importante ya que disminuye casi en un 50% la concentración de DQO con las condiciones altas de TRC. Con relación a los porcentajes de remoción, también se observa su eficiencia.

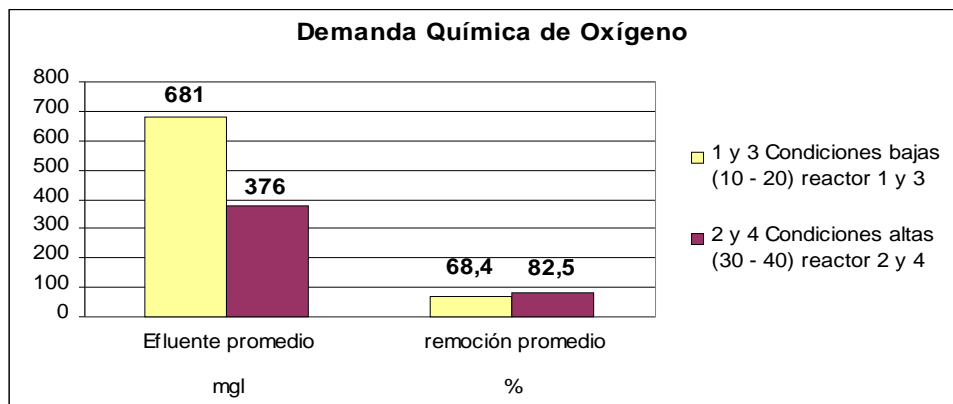


Figura 19. Demanda química de oxígeno

El porcentaje de variación en el comportamiento de los reactores no es significativo, pero es mayor (14.1) en el reactor 1 y su replica, para los modelos 2 y 4 el valor es mínimo (0.2) indicando un comportamiento similar entre ambos reactores.

Las normas mexicanas (NOM – 1996) que establecen los límites permisibles en relación a los efluentes de aguas residuales del tratamiento, no restringen las concentraciones efluentes de DQO, sin embargo es conveniente para el sistema que la concentración del efluente no sea mayor del 20% de la concentración inicial (influyente a planta) como criterio propio de la planta de tratamiento ECCACIV S. A. de C. V. ya que su propósito es mantener buenos porcentajes de remoción en todos los parámetros.

Con base a lo anterior las concentraciones de materia orgánica, efluentes y porcentajes de remoción se mejoran con TRC altos. Esto es debido a que un TRC alto permite la oxidación biológica y metabolizar la materia que se descompone más lentamente; aún siendo biodegradable es decir, después de tres semanas y dependiendo de la mezcla microbiana. Para que exista una buena remoción, el licor mezclado debe contener una variedad de microorganismos capaces de metabolizar las sustancias presentes en el agua residual así, como un balance nutricional adecuado para que los microorganismos cumplan su función depuradora.

4.3.2 NUTRIENTES

4.3.2.1 Nitrógeno total

En la figura 20 se presenta el comportamiento del nitrógeno total así como su respectivo porcentaje de remoción con las condiciones altas y bajas de TRC.

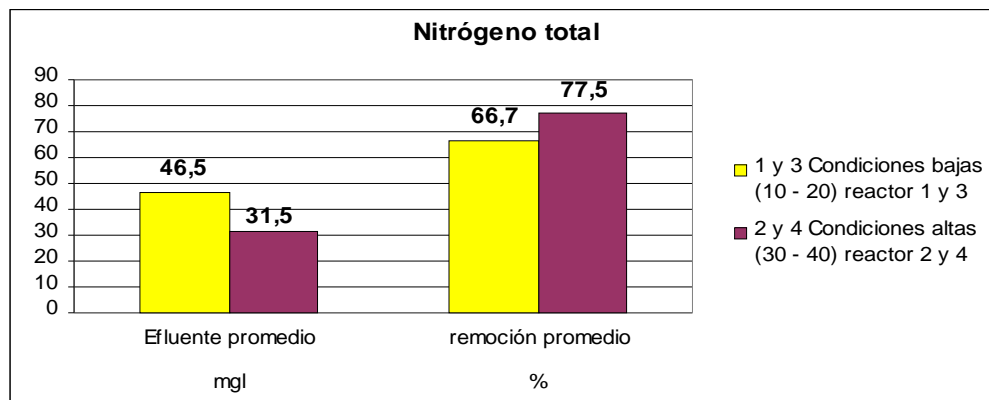


Figura 20. Nitrógeno total

Analizando el comportamiento de nitrógeno podemos apreciar que un TRC alto le ayuda a mantener concentraciones en el efluente de 32 mg/l de nitrógeno total y un porcentaje de remoción del 77.5 % que a pesar de no ser mayor al 98 % es considerado bueno si se toma en cuenta que es obtenido del efluente del clarificador secundario y que no hay tratamientos posteriores. Con TRC bajos no se obtienen buenos resultados, ya que los porcentajes de remoción son de 66.7 % y su efluente de 46.5 mg/l que resulta un valor promedio muy cercano al influente a la planta de tratamiento en este parámetro.

Los resultados anteriores indican que durante el tratamiento, el nitrógeno orgánico es transformado a otras formas que no son agresivas al medio ambiente. Teóricamente las concentraciones permitidas por la NOM-001-SEMARNAT-1996 son de 60 mg/l en promedio diario para riego agrícola, por lo que en promedio la concentración efluente de nitrógeno cumple. Para la protección a la vida acuática no, los límites son menores ya que siendo un nutriente que provoca la eutroficación debe mantenerse en concentraciones menores de 25 mg/l por lo que no cumpliría ya que los valores mínimos logrados con el sistema son de 28 mg/l en promedio.

4.3.2.2 Fósforo total

La figura 21 muestra e ilustra el comportamiento del fósforo con las condiciones de TRC.

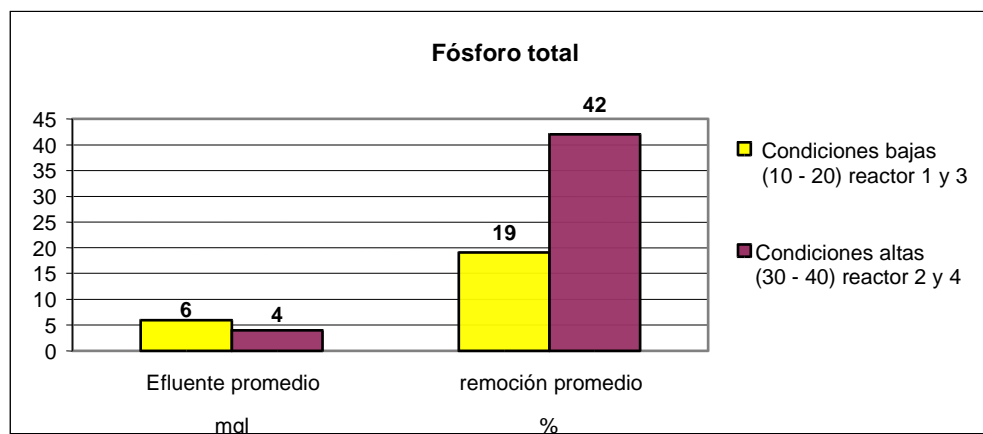


Figura 21. Fósforo

No se aprecia una influencia del TRC en la eliminación del fósforo en el efluente del tratamiento, ya que el análisis de este parámetro muestra resultados de 6 y 4 mg/ en promedio para las dos condiciones. Si analizamos el comportamiento de cada uno de los reactores en este parámetro, se observa que para el reactor 3 su valor es de 7 mg/l igual que el influente a la planta de tratamiento, para el caso del reactor 4 el valor obtenido es de 3 mg/l, pero al promediar los valores en los reactores 1, 3 y 2, 4 son los que se muestran en la figura 21, indican que la remoción es mínima. El valor de TRC alto favorece a la eliminación de fósforo dentro del sistema. Aún así no se logra cumplir la NOM-001-SEMARNAT-1996 que en promedio diario permite concentraciones de 30 mg/l para riego agrícola, pero para protección de la vida acuática el promedio diario es de 10 mg/l.

Los efectos nocivos de la hiperfertilización de los cuerpos de agua que reciben aguas residuales domésticas e industriales son provocados por un exceso de nutrientes. Motivo por el cual se establecen límites permisibles. También se sabe el factor de diseño y operación de una planta de tratamiento por el proceso de lodos activados puede lograr una reducción óptima de nutrientes, entre los factores de operación se involucra el TRC, la relación A/M y TRH.

Con respecto a la eliminación de nutrientes (nitrógeno y fósforo) el TRC alto (de 30 a 40 días) muestra una remoción promedio del 42 % que comparada a la remoción lograda por un TRC bajo (de 10 a 20 días) de 19 %, permite hacer referencia a mejores condiciones de remoción con TRC altos. Esto es debido a que el tiempo es determinante para los procesos de oxidación de ambos nutrientes. Cabe mencionar que no se adicionaron nutrientes al influente, ya que siendo descargas domésticas e industriales son contenidos y producidos dentro de la composición de el agua influente a la planta de tratamiento(7 mg/l en promedio durante la realización de este trabajo).

En este caso la planta opera en condiciones favorables para el crecimiento microbiano por lo que resulta necesario eliminar los nutrientes (fósforo y nitrógeno) de una manera efectiva, precipitándolos en forma de biomasa. Si no son eliminados causarán problemas, por su actividad nutriente ya que desarrollan algas en lagos y ríos provocando eutroficación.

4.3.3 SÓLIDOS TOTALES

Dentro del sistema existen factores como cantidad de oxígeno disuelto, además de las condiciones de operación que provocan que los sólidos suspendidos totales en el efluente incrementen. Un indicativo de la calidad del lodo y a su vez de la buena sedimentabilidad de los sólidos es el índice volumétrico de lodos (IVL).

La gráfica de la figura 22 presenta el comportamiento de los sólidos y su respectiva remoción, lograda bajo las condiciones altas y bajas de TRC.

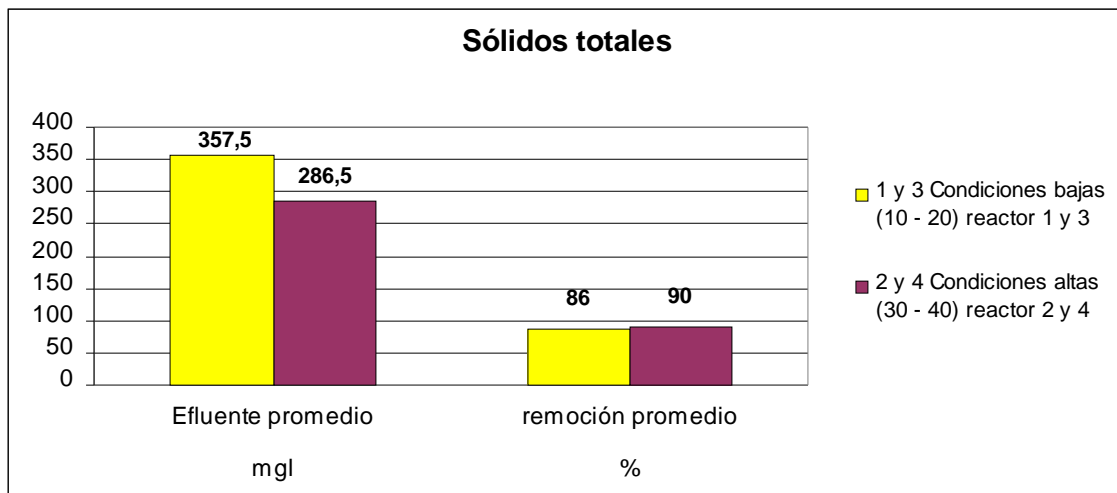


Figura 22. Sólidos Totales

Los resultados obtenidos en la concentración final de sólidos totales es alta comparada con los límites que rige la NOM-001-SEMARNAT-1996 que es de 200 mg/l en promedio diario. Los porcentajes de remoción de sólidos son buenos ya que están arriba del 85%. Cabe mencionar que al tener problemas de esponjamiento o espumamiento filamentosos, como consecuencia el efluente de sólidos incrementa.

4.3.3.1 Comportamiento del oxígeno disuelto y el IVL

La figura 23 muestra los resultados promedio del comportamiento del oxígeno disuelto.

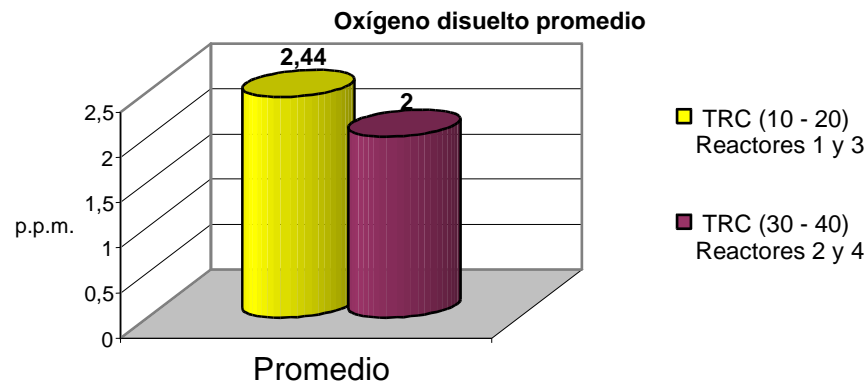


Figura 23. Oxígeno Disuelto

La gráfica de la figura 23 ilustra el promedio del oxígeno medido dentro de los reactores, como se puede observar las dos condiciones de TRC proporcionan valores del oxígeno son muy cercanos (2.44 y 2), sin embargo los modelos con TRC bajos (10 a 20 días) presentan un valor 2.44 de concentración en promedio.

El valor de la concentración de oxígeno disuelto para TRC altos se mantiene con variaciones mínimas, por lo que se puede entender que el consumo de oxígeno dentro del sistema es más bajo o menor a 0.5 mg/l. Cabe mencionar que una poca penetración de oxígeno al flóculo bacteriano, permite que el oxígeno sea aprovechable para microorganismos con mayor área superficial (microorganismos filamentosos) por lo que pueden crecer más rápido que las bacterias, esto provoca finalmente en el clarificador espuma filamentosa o esponjamiento filamentoso y fuga de sólidos.

Además de ser un factor que influye en la presencia de sólidos en el efluente también influye en la presencia de diferentes tipos de microorganismos ciliados, protozoarios y microorganismos filamentosos a los que favorece el oxígeno.

En la figura 24 se ilustra el comportamiento de índice volumétrico de lodos. La literatura (Tebbutt, 1991) indica que el rango de IVL es de 40 a 100 para un buen lodo. El IVL que excede 200, muestra un lodo deficiente con tendencia a esponjarse indicando malas características de sedimentación.

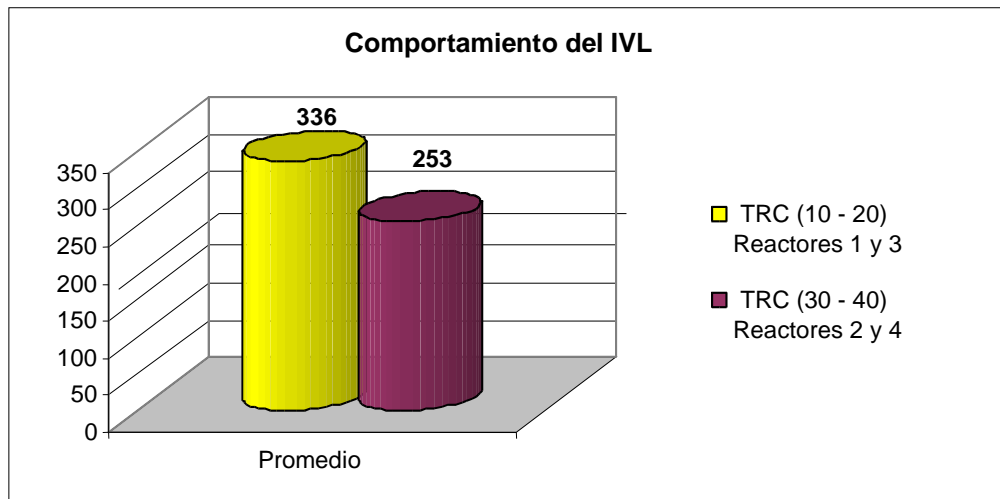


Figura 24. Índice volumétrico de lodos

Observando la gráfica de la figura 24 podemos ver que los valores de IVL son mayores a 200 para los dos rangos de TRC. Los reactores 2 y 4 (TRC alto) muestran el valor promedio menor 253 por lo que las condiciones de operación no son adecuadas para una eficiente sedimentación.

El IVL resultado de las condiciones de operación produce un lodo esponjoso lo que indica la presencia de microorganismos filamentosos, motivo por el cual la sedimentabilidad del lodo no es la esperada y otro parámetro que se relaciona con este es la cantidad de sólidos del efluente. Las características que presentan los reactores de TRC altos y bajos son principalmente flóculos dispersos y en algunas ocasiones lodo inflado generando un problema en la fuga de sólidos del clarificador secundario.

4.3.3.2 Comportamiento de los sólidos sedimentables

Los sólidos sedimentables obtenidos del licor mezclado, son una referencia de la sedimentabilidad que se puede lograr en el clarificador secundario. Si en esta etapa no se consigue una óptima separación de los sólidos presentes, que en su mayoría son microorganismos formados en el tanque de aeración, no se tendrá una buena remoción. La presencia de oxígeno disuelto, condiciones de operación inadecuadas y calidad del agua residual son factores que influyen para minimizar la cantidad de

sólidos sedimentables, ya que de esto depende la variabilidad de microorganismos que se presente en el licor mezclado, la materia orgánica y materiales inorgánicos.

La figura 25 presenta los promedios de los sólidos sedimentables obtenidos durante el tiempo de estudio.

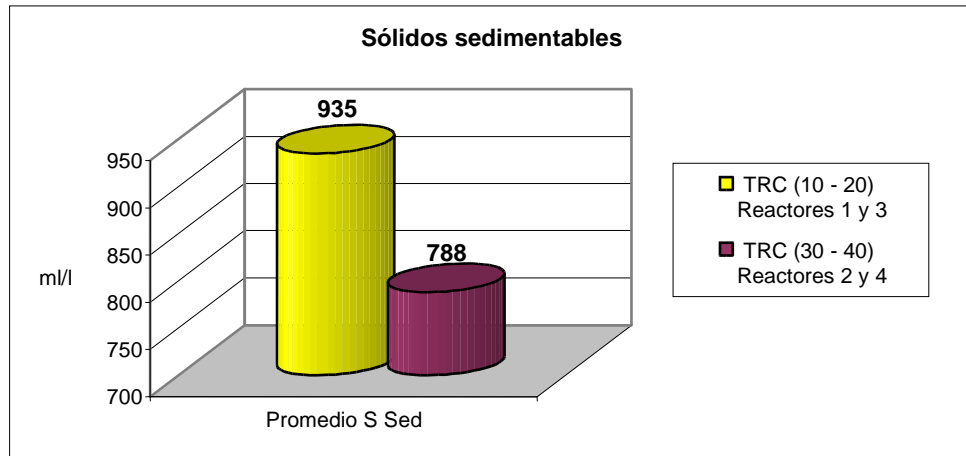


Figura 25. Sólidos sedimentables

El proceso de lodos activados puede convertir casi toda la materia orgánica del influente a sólidos, motivo por el cual estos deben ser removidos de tal manera que se obtenga en el efluente de alta calidad en términos de materia orgánica.

Los sólidos suspendidos en el licor mezclado (MLSS) muestra la cantidad de lodo en el tanque de aeración, los sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado (MLVSS) indirectamente muestra la masa activa biológica en el licor mezclado y directamente la cantidad inerte de sólidos. Por ejemplo la cantidad de MLVSS esta entre el 70 – 80 % de los MLSS, la infiltración de arcilla acarreada en el agua puede reducirlos al 55 – 60 % . cuando el porcentaje de MLVSS disminuye hay que aumentar los MLSS para mantener el mismo nivel de microorganismos activos.

La bibliografía reporta que para una eficiencia del 85 % al 90%, durante el proceso de tratamiento el TRC es de 0.2 a 0.4 kg, DBO/kgSST.d o para la relación A/M 0.3 a 0.6 kg DBO/m³.d, durante el TRH de 4 a 8 horas, y una recirculación de 25 % al 50 % . (Jiménez, 2001)

Relacionando el reporte de la bibliografía con los valores que se obtienen bajo las condiciones establecidas en este estudio, se observa que un TRC de 30 a 40 días favorece en los sólidos sedimentables.

4.3.4 MICROORGANISMOS

4.3.4.1 Rotíferos y ciliados

La presencia y predominancia de microorganismos como bacterias formadoras de flóculos (rotíferos y ciliados) y bacterias filamentosas, dentro del sistema de tratamiento ayuda a evaluar la capacidad de remoción y establecer las condiciones de operación que permitan obtener la eficiencia y rendimiento de la planta.

Específicamente, la presencia, predominancia o ausencia de algún tipo de microorganismo principalmente bacterias filamentosas o protozoos en el licor mezclado puede indicar un manejo inadecuado o bien falta de nutrientes y materia orgánica, deficiencia de oxígeno y/o aumento de sustancias tóxicas.

En las figuras 26 y 27 se observan los protozoarios predominantes obtenidos bajo las condiciones de operación estudiadas. Algunos de los microorganismos que se observan en los lodos activados son los que se presentan en las siguientes figuras.

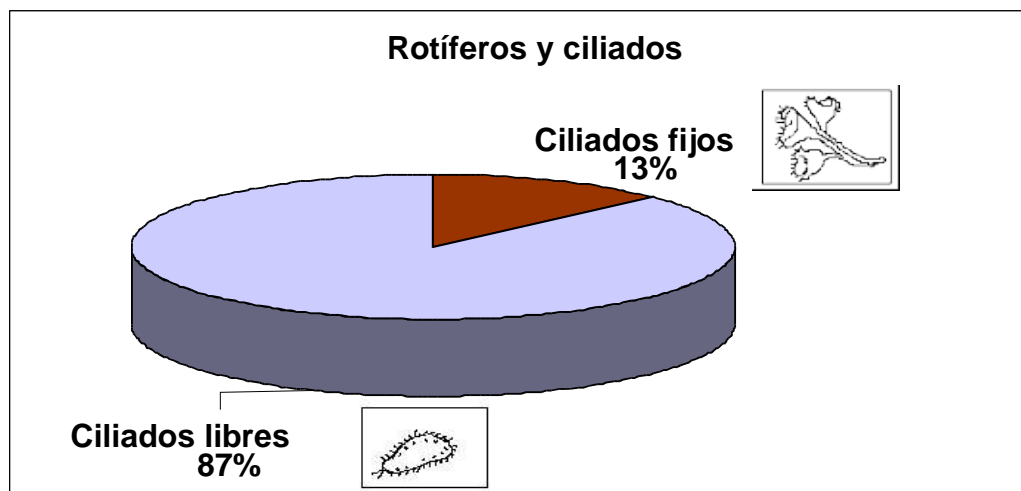


Figura 26. Rotíferos y ciliados en un TRC bajo (10 – 20 días)

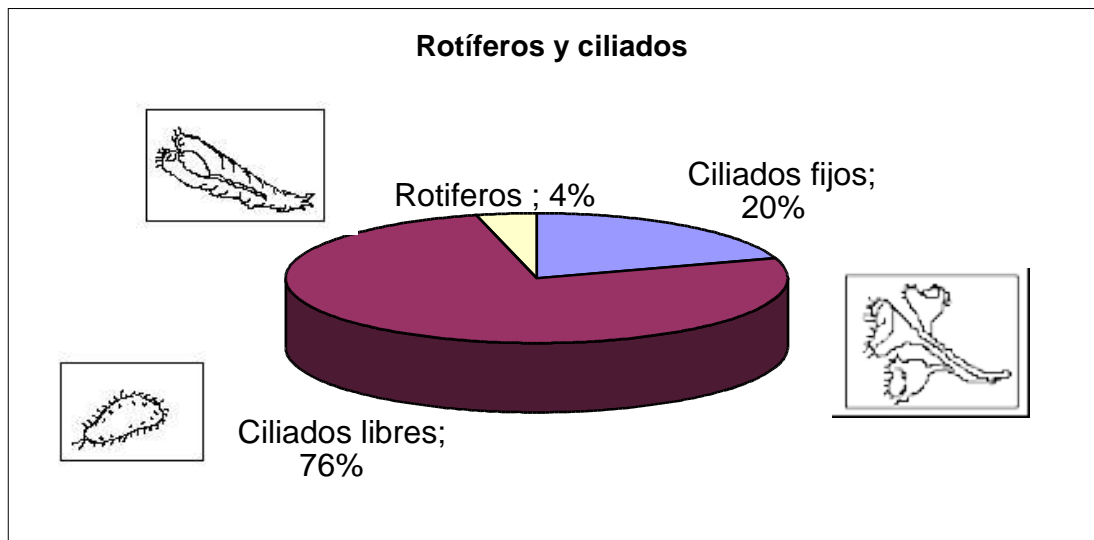


Figura 27. Rotíferos y ciliados en un TRC alto (30 – 40 días)

Las condiciones de TRC que arrojan mejores resultados en la presencia y predominancia de ciliados fijos son las de TRC alto, en ellas se observa que existe un porcentaje mayor (20%) que en las condiciones de TRC bajo (13%).

Una sobre abundancia de ciliados libres es un indicativo de que existe una relación A/M alta (mayor a 0.6) y un TRC bajo (menor de 4 días). La presencia de rotíferos y ciliados fijos dentro del sistema refleja un TRC alto (mayor a 15 días) y una relación A/M menor de 0.3 d⁻¹.

Se confirma con las condiciones de operación del estudio (TRC de 30 a 40 d, TRH de 24 h y A/M de 0.20 a 0.30 d⁻¹) y los valores obtenidos en los parámetros analizados que la presencia de ciliados libres sería abundante (76 %) pero también que habría una diversidad (ciliados fijos 20 % y rotíferos 4 %) independientemente de las bacterias formadoras de flóculos y los microorganismos filamentosos.

Finalmente las condiciones de TRC alto (30 a 40 días) muestran un mejor porcentaje de remoción en la mayor parte de los parámetros analizados, principalmente en

materia orgánica. Teóricamente una apreciable diversidad de organismos es indicativo de carga óptima (una relación A/M 0.3 y 0.6 d^{-1}) en el sistema de tratamiento. En este caso no existe una diversidad equilibrada de rotíferos y ciliados, sin embargo la que se presenta es favorable en la remoción. Efectivamente los mejores porcentajes de remoción de materia orgánica y nutrientes son los obtenidos con el TRC alto y se aprecia que el porcentaje de microorganismos influye para el proceso de tratamiento.

La tabla 16 presenta las etapas que representan la predominancia de determinados protozoarios. Cada etapa corresponde a especies típicas como son:

Etapas III ciliados libres (*Colpodes*, *Lionotus* y *Aspidiscas*)

Etapas IV ciliados fijos (*Vorticella*, *Epistylis* y *Suctorina*)

Etapas V Rotíferos y *Philodina*

Tabla 16. Etapas predominantes de protozoarios

Fechas	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Reactor 4
9-Abril-01	III	IV	III	III
11-Abril-01	IV	III	III	III
16-Abril-01	IV	III	III	III
20-Abril-01	III	III	III	III
23-Abril-01	III	III	III	III
25-Abril-01	III	III	III	III
3-Mayo-01	III	III	III	III
7-Mayo-01	III	III	III	III
10-Mayo-01	III	IV	III	III y IV
14-Mayo-01	III	III	III	IV
16-Mayo-01	IV	III	III	IV

La bibliografía (Michael Richard, 1991) indica que cuando hay una buena diversidad de organismos, es decir cuando hay predominio de ciliados libres y ciliados fijos etapas III y IV, las condiciones del sistema mantienen condiciones de carga óptima.

Se puede apreciar que el reactor 3 tuvo un comportamiento constante en la presencia de microorganismos de la etapa III (ciliados libres). La predominancia de una sola especie indica una baja carga orgánica.

4.3.4.2 Microorganismos filamentosos

El análisis microscópico de los tipos, abundancia, condición y formas de crecimiento de los organismos filamentosos proporciona el acervo más grande de información acerca de la naturaleza y las causas de los problemas de separación de sólidos en el sistema de lodos activados.

La observación de microorganismos filamentosos dentro del reactor mezclado también da referencia de las condiciones de operación en el sistema, ya que los microorganismos principalmente las bacterias filamentosas aumentan o disminuyen con la ausencia o presencia de nutrientes, carga orgánica, zonas anaerobias y oxígeno disuelto.

La tabla 17 muestra los resultados obtenidos de la observación microscópica y se encuentra la presencia de los siguientes microorganismos filamentosos en los reactores de la planta piloto de ECCACIV, cada organismo con sus correspondientes características propias del tipo de filamentosos.

Tabla 17. Características del reactor 1

Abundante presencia de:	Características de crecimiento de los microorganismos
Tipo 021N, Tipo 0041	Baja carga orgánica, A/M baja, deficiencia de nutrientes, zonas anaerobias
<i>Thiothrix I</i> , <i>Thiothrix II</i>	Presencia en zonas anaerobias, con presencia de sulfuros
Tipo 1701	OD, bajo
Tipo 0914	Baja carga orgánica

La tabla 18 proporciona las características del crecimiento de los microorganismos del reactor 2, se aprecia que no existe crecimiento de microorganismos que indique una insuficiencia de oxígeno disuelto dentro del sistema, por lo que la cantidad de OD es adecuada.

Tabla 18. Características del reactor 2

Abundante presencia de:	Características de crecimiento de los microorganismos
Tipo 0914	Baja carga orgánica
Regular presencia de:	
Tipo 0041	Deficiencia de nutrientes, baja carga orgánica, bajo A/M
<i>Thiothrix II</i>	Presencia en zonas anaerobias, con presencia de sulfuros

En la tabla 19 se presentan los diversos tipos de microorganismos con sus respectivas características de crecimiento. En forma general el modelo 3 presenta características similares a los reactores 1 y 2 (tablas B14 y B15), sin embargo existe una regular presencia de un tipo de filamentoso (0092) que proporciona una apariencia viscosa al licor mezclado y que finalmente proporciona la dificultad en la sedimentación del efluente del reactor.

Tabla 19. Características del reactor 3

Abundante presencia de:	Características de crecimiento de los microorganismos
Tipo 0914	Baja carga orgánica
Regular presencia de:	
Tipo 0041	Deficiencia de nutrientes, baja carga orgánica, bajo A/M
<i>Thiothrix II</i>	Presencia en zonas anaerobias, con presencia de sulfuros
Tipo 021N	Baja carga orgánica, A/M baja, deficiencia de nutrientes, zonas anaerobias
Tipo 0092	Bajo A/M, apariencia viscosa del licor mezclado

La tabla 20 muestra las características de crecimiento de los microorganismos filamentosos dentro del sistema; se puede observar que se presentan los mismos tipos de microorganismos que en el reactor 2 (tabla 18) y que son los que presentan

menos diversidad de filamentosos reflejando un comportamiento más adecuado con las condiciones controladas en los reactores 2 y 4.

Tabla 20. Características del reactor 4

Abundante presencia de:	Características de crecimiento de los microorganismos
Tipo 0914	Baja carga orgánica
Regular presencia de:	
Tipo 0041	Deficiencia de nutrientes, baja carga orgánica, bajo A/M
<i>Thiothrix II</i>	Presencia en zonas anaerobias, con presencia de sulfuros

La figura 28 muestra la presencia de microorganismos filamentosos y los tipos presentes en el sistema bajo las condiciones de operación del estudio TRC (30 – 40) modelos 2 y 4.

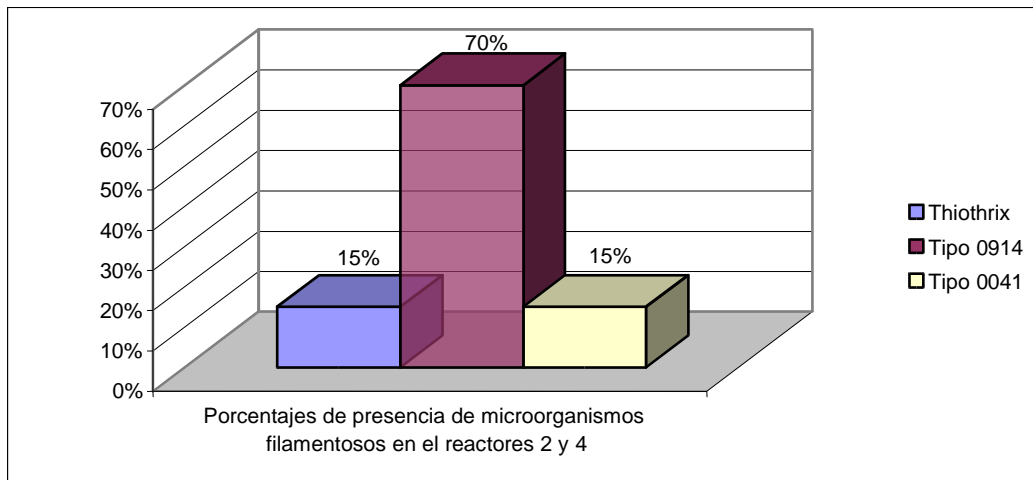


Figura 28. Microorganismos filamentosos en los reactores 2 y 4

La figura 29 ilustra la presencia y tipos de los microorganismos filamentosos en el TRC bajo (10 – 20) de los reactores 1 y 3.

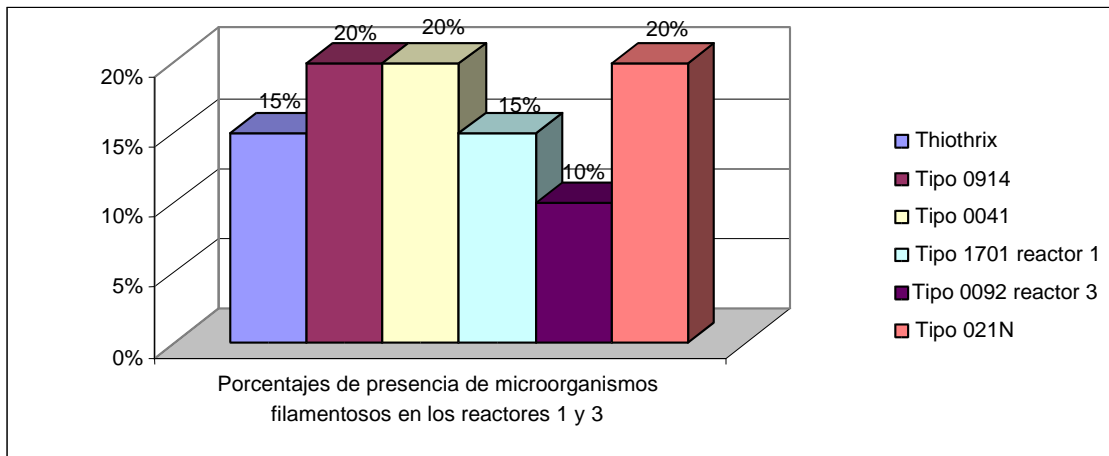


Figura 29. Microorganismos filamentosos en los reactores 1 y 3

En las figuras 28 y 29 se observa la predominancia del microorganismo tipo 0914, tipo 021N y del 0041 principalmente. La característica para la presencia de estos microorganismos filamentosos es que pueden utilizar el sulfito como fuente de energía de oxidándolo a azufre y lo depositan en los gránulos intracelulares, además parecen ser propiciados por microorganismos de los tipos 021N y Thiothrix y por los substratos fácilmente metabolizables y solubles, el tipo 0041 en substratos que se metabolizan lentamente.

Con las condiciones de TRC altas los tipos de microorganismos filamentosos son menos variados; caso contrario para TRC bajos, donde se presentan diversos tipos. El descubrimiento de varios tipos de filamentosos dominantes como se muestra en los sistemas con TRC bajo; indican inestabilidad o condiciones variables en los tanques de aeración, donde la concentración de oxígeno disuelto en el licor mezclado provoca la generación de estos tipos de microorganismos influyendo también las condiciones de operación estudiadas en este trabajo (TRC de 10 a 20 d, TRH de 24 h y A/M de 0.20 a 0.30 d⁻¹)

Los microorganismos en pequeñas cantidades deben considerarse; ya que indican características particulares, ya sea en el agua residual o en el proceso de tratamiento o bien el resto de una condición previa como puede ser la presencia de sulfuros. Con el TRC bajo en los modelos 1 y 3 se presentan dos tipos de microorganismos con características propias el tipo 1701 en el reactor 1, que indica falta de oxígeno y el tipo 0092 en el reactor 3 ocasionándole una apariencia viscosa.

Los microorganismos filamentosos que se presentaron (figuras 28 y 29) en las condiciones estudiadas en este trabajo, son indicadores de la calidad del licor mezclado y de las consecuencias de las condiciones de operación que permiten descubrir los posibles factores causantes de su crecimiento.

En la tabla 21 se presentan los factores que influyen en la ocurrencia de los microorganismos filamentosos bajo las condiciones de operación (tabla 14) del estudio.

Tabla 21. Factores de ocurrencia y crecimiento para los filamentosos

<ul style="list-style-type: none">○ Baja carga orgánica○ Deficiencia de nutrientes○ Baja F/M○ Zonas anaerobias con presencia de sulfuros	
Modelo 1 Oxígeno disuelto bajo	Modelo 3 Apariencia viscosa

La calidad del agua que entra a la planta de tratamiento refleja características de baja carga orgánica y nutrientes. Las condiciones de operación que se mantienen y la calidad del agua permiten el desarrollo de los microorganismos, su abundancia da la pauta para efectuar acciones correctivas para el funcionamiento adecuado del sistema.

Un exceso en la cantidad de microorganismos filamentosos ocasiona los problemas de esponjamiento y/o espumamiento filamentosos.

4.4 COMPORTAMIENTO DE LOS ORGANISMOS FILAMENTOSOS CON LA ADICIÓN DE CLORO.

Gran parte de las plantas de tratamiento biológico registran como uno de sus principales problemas el desarrollo excesivo de microorganismos filamentosos y asociado a ello, la formación de espumas y natas que afectan el funcionamiento de la planta.

Posiblemente uno de los métodos más difundidos para solucionar el problema de esponjamiento y espumamiento asociado a los filamentosos sea la adición de cloro; que resulta efectivo en algunos casos, dicho método ya adaptado en forma rutinaria en algunas instalaciones.

Conociendo los tipos de organismos filamentosos presentes en la planta piloto de ECCACIV, se procedió a conocer su comportamiento en diferentes condiciones y con la adición de cloro, además de:

- ◆ Aplicar la técnica de identificación de microorganismos filamentosos
- ◆ Observar, clasificar y cuantificar a los organismos filamentosos, bajo diferentes condiciones
- ◆ Observar los efectos morfológicos (cambios morfológicos) generados en estos organismos con la adición de cloro

En la planta piloto ECCACIV, durante el periodo del estudio (marzo – mayo 2001) se ha observado la presencia de microorganismos filamentosos del tipo 0914, 0041 y 021N, asociados a situaciones de baja carga orgánica, baja relación A/M, deficiencia de nutrientes y largos periodos de retención. Las características que presentan son una formación de nata (flóculos suspendidos) en la superficie del clarificador y fuga de sólidos en el efluente produciendo una deficiente sedimentación.

En la figura 30 se presenta la capa formada en la superficie del clarificador, interfiriendo en la sedimentación de sólidos.



Figura 30. Nata de la superficie del clarificador secundario de la planta piloto.

Por un periodo de 16 días se procedió a dosificar de 0.037 – 0.042 ml de hipoclorito de sodio por minuto para controlar la formación de natas en el clarificador de uno de los reactores (reactor 1), arrancando de forma simultánea otro reactor sin adición de cloro (reactor 2) utilizado como blanco. La identificación de los organismos filamentosos se realizó siguiendo las guías propuestas por Jenkins (1993).

En la tabla 22 se presenta la predominancia encontrada de los microorganismos filamentosos antes de la adición de cloro, ya que de manera preliminar se realizaron

observaciones microscópicas del licor mezclado de los dos reactores para determinar la presencia de los diversos tipos de microorganismos filamentosos.

Tabla 22. Predominancia de microorganismos filamentosos antes de la cloración.

FILAMENTOSOS	VALOR NUMÉRICO	ABUNDANCIA	OBSERVACIONES
Tipo 021N	5	Abundantes	Filamentos observados en todos los flóculos en una densidad alta (20 filamentos por flóculo)
Tipo 0092	3	Común	Filamentos observados en todos los flóculos pero en una densidad muy baja de 1 a 5 filamentos por flóculo)
Tipo 0041	2	Algunos	
Tipo 1701	2	Algunos	Filamentos comúnmente observados pero no presentes en todos los flóculos

Fuente: Clasificación adaptada con referencia a la tabla A1 del anexo A.

Se aplicó hipoclorito de sodio 15.69% de Cl_2 , una dosis de 3.86 kg de $\text{Cl}_2/\text{TN SST}$ (0.037 – 0.042 ml/min, 3000 – 3400 ppm SST), dentro del reactor de licor mezclado.

Los parámetros elegidos como caracterizadores de la evolución del lodo activado fueron el IVL, S sed, OD, $\text{SST}_{\text{efluente}}$ y el examen microscópico.

La figura 31 presenta los resultados de la calidad del licor mezclado obtenidos con las condiciones de operación siguientes:

TRH = \pm 24 horas, promedio 24 (N = 12)

F/M = 0.19 – 0.56 d^{-1} , promedio 0.385 (N = 12)

TRC = promedio (N = 12); reactor 1 = 31.5 d, reactor 2 = 83.4 d

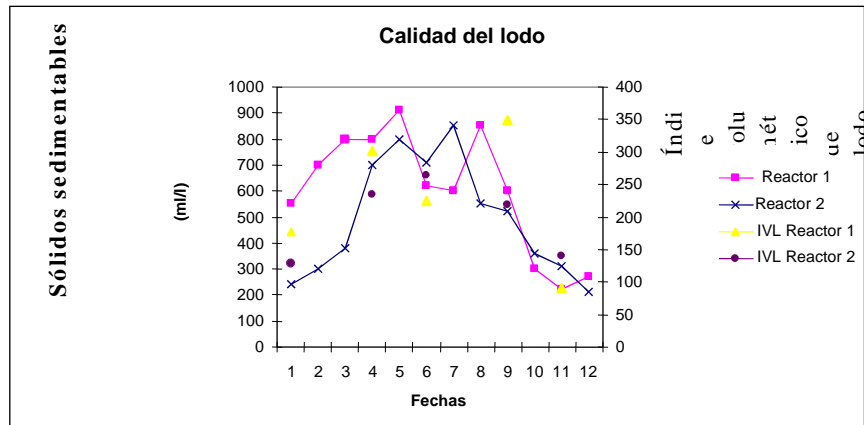


Figura 31. Calidad del lodo

Como se aprecia en la gráfica de la figura 31, no es posible detectar una variación clara ni en la sedimentabilidad ni en el IVL, pero si disminuyó el consumo de OD, dentro del tanque del licor mezclado (promedio de 12 muestras) da valores de 4.4 ppm para el reactor 1 (clorado) y 2.9 ppm para el reactor 2 (blanco). El reactor 1 muestra un gran contenido de microorganismos filamentosos y el consumo de oxígeno dentro del reactor indica que deberá existir un tipo de microorganismo predominante que se adapte a esta condición.

En el examen microscópico se apreciarán condiciones tales como; la degradación de las bacterias filamentosas, la ruptura de los flóculos, disminución de microorganismos superiores como ciliados fijos y rotíferos (*Vorticela*, *Epistillis*, *Suctorina* y *Philodina*).

La figura 32 es una micrografía que ilustra la predominancia de filamentosos del tipo 021 N en el reactor 1.

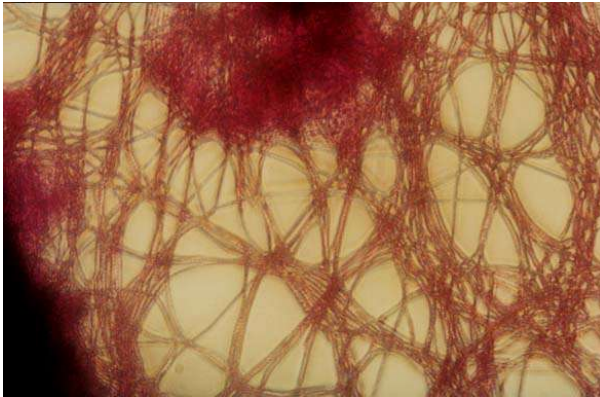


Figura 32. Observación microscópica de los microorganismos filamentosos tipo 021N, tinción Neisser con ampliación 40 X

La figura 33 muestra los efectos del cloro sobre los microorganismos, la oxidación parcial de los filamentos (microorganismo del tipo 021N) después de diez días de la dosificación de cloro en el reactor 1.

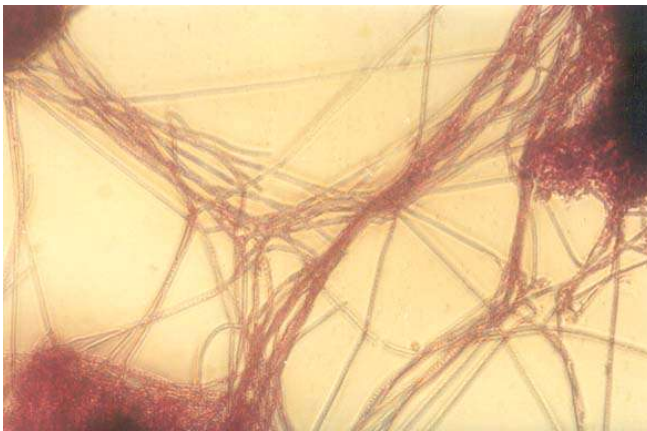


Figura 33. Oxidación parcial de los organismos filamentosos, ampliación 40 X, tinción Neisser.

En la misma fecha se examinó microscópicamente la muestra del reactor 2, donde se puede apreciar el bajo contenido de microorganismos filamentosos presentes en la muestra, se observan filamentosos del tipo 021N reportado común y *Nocardia* como pocos.

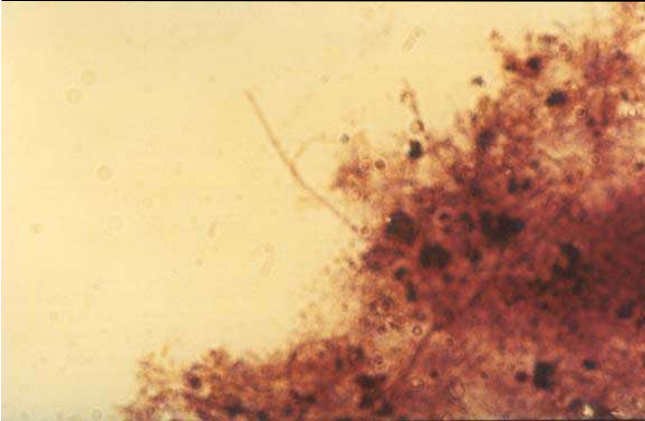


Figura 34. Microorganismos filamentosos presentes en el reactor 2, del tipo 021N y *Nocardia*, reportado como pocos y algunos.

La figura 34 muestra los filamentosos presentes en el reactor 2 saliendo de flóculo, además de ser mínima la cantidad de filamentosos comparada con la de los microorganismos presentes en el reactor 1.

La tinción Gram, figura 35 ilustra la oxidación parcial de los filamentosos del tipo 021N y *Natans*, reportado como abundante en el reactor 1.

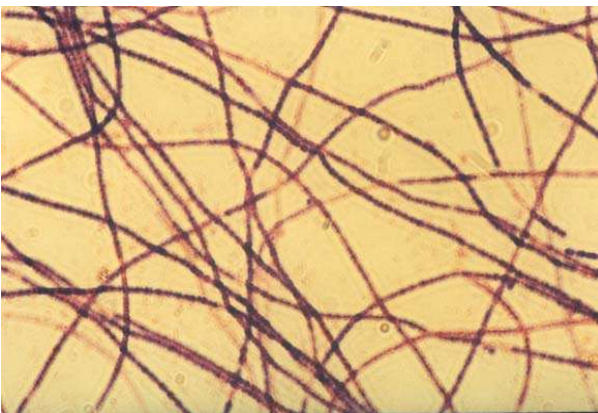


Figura 35. Tinción Gram, muestra organismos filamentosos del reactor 1, ampliación 100 X.

La figura 36 presenta los microorganismos con la tinción Neisser, donde se puede apreciar la desintegración parcial de los organismos y de los flóculos, después de 15 días de la adición de cloro.

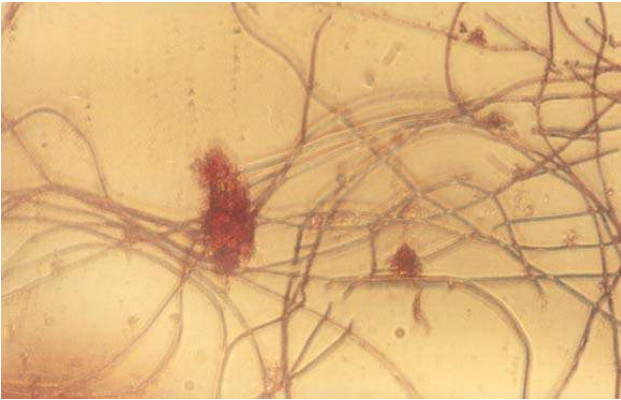


Figura 36. Oxidación y ruptura de los flóculos provocada por la adición de cloro.

La oxidación de los microorganismos filamentosos provoca un incremento en los sólidos suspendidos totales del efluente de 323 ppm comparado con el valor para el reactor 2 (sin adición de cloro) 213 ppm en promedio de 12 muestras, también para los valores de los sólidos suspendidos volátiles de licor mezclado se incrementan dichos valores.

Se puede considerar que después de los 10 ó 12 días el licor mezclado dosificado con cloro pierde la viscosidad y disminuye el contenido de microorganismos filamentosos por la oxidación que genera sobre los mismos. Cabe mencionar que el cloro no actúa de la misma forma con otros tipos de organismos entre ellos el 0041 y *Nocardia*, se puede considerar que son lo que no permiten observar variaciones significativas en el IVL y los sólidos sedimentables.

En la tabla 23 se presenta el comportamiento de los microorganismos filamentosos observados durante el estudio con la aplicación del cloro.

Tabla 23. Resultados de la adición de cloro

CONDICIONES DE OPERACIÓN	TRH = 24 Hrs. PROM	A/M = 0.19 – 0.56 d ⁻¹	TRC = 31.5 d (reactor 1) TRC = 83.4 d (reactor 2)
ANTES DE LA ADICIÓN DE CLORO		DESPUÉS DE LA ADICIÓN DE CLORO	
		<ul style="list-style-type: none"> ★ Incremento de los sólidos suspendidos totales ★ Perdida de viscosidad ★ Disminución del consumo de O D ★ Disminución de microorganismos filamentosos 	
FILAMENTOSOS	ABUNDANCIA	FILAMENTOSOS	ABUNDANCIA Y OBSERVACIÓN
Tipo 021N	Abundantes	Tipo 021N	Algunos (oxidación parcial y ruptura de flóculos)
Tipo 0092	Común	Tipo 0092	Algunos (no presenta variación significativa)
Tipo 0041	Algunos	Tipo 0041 y <i>Nocardia</i>	Algunos (no presenta variación significativa)
Tipo 1701	Algunos	Tipo 1701	Algunos (no presenta variación significativa)

En cuestión de la degradación, la adición de cloro no interfiere en la calidad del efluente, salvo en la eliminación de los microorganismos filamentosos considerándolo con una buena alternativa para la eliminación de filamentos.

5. CONCLUSIONES

Al establecer intervalos de TRC en las condiciones de operación (TRC alto de 30 a 40 días y TRC bajo de 10 a 20 días) se estiman resultados comparativos que marcan la diferencia tanto en los porcentajes de remoción de la materia orgánica, nutrientes y en la presencia y predominancia de microorganismos.

Las condiciones de operación son determinantes en la eficiencia del proceso de tratamiento. En el caso de este estudio, al mantener las condiciones de operación en un intervalo de TRC de 30 a 40 días, una relación A/M en promedio de 0.21 d^{-1} y un TRH de 24 hrs, a permitido obtener resultados favorables con respecto a la remoción de nutrientes y materia orgánica, principalmente en DBO 97.4 % y DQO 82.5 %. Bajo estas mismas condiciones en la concentración de nitrógeno total se observan mejores porcentajes de remoción (77.5 % en promedio) en fósforo la remoción es del 42 %, que mejora a los valores obtenidos con el promedio de TRC bajo (10 – 20 d). Habrá que reconocer que no existe un control en las concentraciones del agua residual de entrada a la planta de tratamiento ECACCIV, ya que existen variaciones en el influente provocado por la diversidad de descargas y la temporabilidad. Por lo tanto los valores obtenidos en el tratamiento de aguas residuales de efluente combinado (domestico – industrial) indican una eficiencia mayor del 85 %. Además que el efluente del tratamiento realizado en la planta piloto carece de cloración y tratamiento del lodo; con lo que podría ser menor la concentración final del efluente.

Correlacionando la presencia de microorganismos con la remoción de materia orgánica y nutrientes, se ha observado que favorece el predominio de ciliados libres, ciliados fijos y la presencia de rotíferos, teóricamente la diversidad de organismos indica una carga orgánica óptima ($A/M = 0.45 \text{ d}^{-1}$ aproximadamente) en la se pueden lograr mejores porcentajes de remoción. En este caso la relación A/M y el TRC alto (de 30 a 40 días) indican un porcentaje mayor en la remoción de nutrientes y materia orgánica, cumpliendo así el objetivo de establecer condiciones específicas para proponer en la planta de tratamiento. Es comprensible que la predominancia de los microorganismos determinan las condiciones de operación y el comportamiento del sistema.

Con respecto a la diversidad de microorganismos filamentosos éstos deberían tener una mayor presencia para confirmar la hipótesis planteada en el trabajo de investigación; sin embargo, no logran mejorar la remoción; pero son de utilidad para conocer las condiciones que se presentan en el reactor.

Los filamentosos que predominan con las condiciones de TRC alto (30 – 40) son: tipo 0914, tipo 0041 y *Thiothrix*. La presencia de estos microorganismos indica teóricamente baja carga orgánica, deficiencia de nutrientes, relación A/M baja y presencia de sulfuros; esta teoría es comprobada en el estudio, ya que a TRC altos la oxidación de la materia orgánica deja cargas orgánicas mínimas que favorecen al desarrollo de los filamentosos.

No existe una relación entre la remoción y la presencia de los filamentosos, ya que tanto en condiciones de operación de TRC alto (30 – 40 d) y bajo (10 – 20 d) se presentan los mismos microorganismos filamentosos y las eficiencias de remoción no son iguales, para TRC alto los valores son para DBO 97.4 %, DQO 82.5 %, N 78 % y P 42 %. En TRC bajo son para DBO 96.6 %, DQO 68.4 %, N 67 % y P 19 %.

Utilizando la adición de cloro sobre los microorganismos filamentosos se provoca un incremento en los sólidos suspendidos totales, la oxidación y ruptura parcial de los flóculos y la disminución de la concentración de oxígeno dentro del reactor. Se considera un método recomendable para la eliminación de organismos filamentosos además de otras condiciones de operación y diseño complementarios.

5.1 RECOMENDACIONES

- ◆ Dado que no se logró controlar la cantidad de filamentosos (natas y espumas) en la superficie de los clarificadores de la planta de tratamiento de aguas residuales ECCACIV, con las condiciones de operación (TRC, TRH y A/M) adaptadas de las condiciones propuestas en este estudio (realizadas en la planta piloto), sería recomendable la modificación del equipo de sedimentación de manera que permita la salida del efluente en la parte media del tanque y adaptar un mecanismo de remoción de natas y/o espumas en la superficie de los clarificadores.
- ◆ Es necesario controlar las cantidades de oxígeno en el sistema de tratamiento tanto para la planta piloto como a la planta de tratamiento ECCACIV, por medio de un dispositivo que distribuya y mantenga el oxígeno en concentraciones de 1 a 2 ppm. Un valor mayor al mencionado favorece la aparición de microorganismos filamentosos (natas y espumas en la superficie del clarificador secundario) y como consecuencia un alto porcentaje de sólidos suspendidos.
- ◆ Establecer las condiciones óptimas un TRC de 0.2 a 0.4 kg, DBO/kgSST.d, la relación A/M 0.3 a 0.6 kg DBO/m³.d, y el TRH de 4 a 8 horas con una recirculación de 25 % al 50 %, permitiendo el metabolismo de los organismos formadores de flóculos sin dejar que los organismos filamentosos sean los que se vean favorecidos.
- ◆ La aplicación de una etapa de ausencia de aire en el licor mezclado puede eliminar a los microorganismos filamentosos. En vista de que la mayoría de los organismos filamentosos son aeróbicos se pueden destruir por medio de periodos largos de condiciones anaeróbicas (mayor a 6 horas) sin afectar a las bacterias, ya que la mayoría son facultativas. Esta operación será necesaria si se desea controlar la espuma y las natas del clarificador, que finalmente este es el problema que presenta la planta de tratamiento de aguas residuales ECCACIV.

- ◆ Extracciones periódicas del lodo para evitar la producción de nitrógeno (dada la reducción de nitratos en condiciones anaerobias) ya que como consecuencia los lodos emergen a la superficie.

- ◆ Utilizar indicativos de la calidad del lodo como el IVL y el IDL para identificar los lodos con tendencia a esponjarse y proponer acciones correctivas.

- ◆ Es conveniente utilizar las observaciones comparativas y cuantificar los microorganismos filamentosos para conocer las causas y las condiciones de operación que generan su proliferación para tener indicios de otras posibles condiciones.

- ◆ Mantener controlada la carga (excediendo 0.5 kg DBO/día kg SSLM) que entra en la planta de tratamiento proporciona buenos resultados, ya que en alta carga se producen flóculos grises y dispersos, lo que resulta en una gravedad específica baja. Por el contrario las cargas bajas (menores de 0.1 kg DBO/día kg SSLM) provocan esponjamiento en plantas de aireación extendida.

- ◆ Implementar análisis rápidos y prácticos para identificar la relación A/M diaria y mantenerla constante (0.45 d^{-1}) y ajustada a las concentraciones de materia orgánica influente a la planta de tratamiento.

ANEXO A

MÉTODOS PARA EXAMEN MICROSCÓPICO DE ORGANISMOS FILAMENTOSOS EN LODOS ACTIVADOS.

El examen microscópico del lodo activado es una herramienta importante para la identificación de problemas en los lodos. Determinar el número y el tipo de organismos filamentosos es el primer paso para controlar el espumamiento y el esponjamiento.

Tal examen requiere un microscopio de contraste de fase grado - investigación con objetivos de contraste de fase de 100 X y 900 –1000 X. Una cabeza binocular (o una cabeza trinocular si se desea una fotografía) y una fuente de luz interna. Un micrómetro ocular debe ser insertado en el interior de una de las piezas oculares y calibrado a aquella ampliación empleada cuando se usa un micrómetro de etapa.

Se recomienda un registro fotográfico a 100 X de la apariencia de la muestra para propósitos de referencia. Una cámara de 35 mm, montada sobre la cabeza trinocular es la más conveniente. La cámara debe tener un metro de luz interna y una pantalla de enfoque de cristal fino que sea reemplazable. Una cámara de fotos instantáneas Polaroid puede ser usada. Es conveniente y ampliamente eficiente tomar todas las fotografías usando película de color (por ejemplo, película Kodak profesional tipo II de tungsteno balanceado diseñada KPA), y producir impresiones a color o en blanco y negro de las diapositivas usando una impresora de diapositivas que emplee película instantánea Polaroid.

Ya que muchas de las observaciones que deben hacerse en este procedimiento están cercanas al límite de resolución del microscopio luminoso, y muchas de las características a ser estudiadas son difíciles de detectar, tal microscopio debe estar en buenas condiciones. Se requiere hacerles un ajuste regular a los anillos de fase, los objetivos del microscopio se deben mantener limpios y es necesario un ambiente libre

de polvo. El servicio profesional del fabricante o del agente recomendado al microscopio debe ser realizado al menos una vez por año.

I. MÉTODOS DE MUESTREO.

Las muestras del licor mezclado del lodo activado pueden ser tomadas del efluente final del tanque de aireación o del canal de licor mezclado que se encuentra entre el tanque de aireación y el tanque de clarificación. Las muestras de licor mezclado deben de ser tomadas por debajo de la superficie, excluyendo cualquier material flotante o espuma. Si el lodo activado esta espumoso se debe tomar una muestra separada de espuma que puede provenir de la superficie del efluente final del tanque de aireación, de la superficie del canal de licor mezclado o de la superficie del tanque de clarificación.

El líquido sub-superficial debe ser excluido de las muestras con espuma. Aunque la espuma puede ser gruesa, viscosa y difícil de transferir a los recipientes para almacenar muestras, estas no deben ser diluidas para un muestreo natural porque esto prevendrá la comparación de la abundancia relativa de microorganismos filamentosos en la espuma y en el licor mezclado.

Algunos procesos de lodos activados modificados contienen más de un tanque, por ejemplo: sistemas de “flujo pistón”, de estabilización por contacto o de alimentación en un paso. En tales sistemas, las características de los lodos activados son usualmente similares en todos los tanques. Por lo tanto, no es necesario muestrear todos los tanques, solamente el fin del efluente del tanque de aireación. Donde una planta de lodos activados consiste de tanques separados y paralelos puede haber diferencias en las características de los microorganismos filamentosos y en los flóculos de cada sistema, especialmente si no hay una mezcla completa de las corrientes de retorno de los lodos activados (RAS). En esta situación se requiere tomar una muestra de cada sistema. Similarmente, para los sistemas de lodos activados de dos etapas (por ejemplo, una primera etapa de “carbonamiento”, seguido de una segunda etapa de “nitrificación”) es necesario tomar una muestra del tanque de aireación de cada una de

las etapas para una caracterización apropiada de las poblaciones de microorganismos filamentosos y de la estructura del flóculo. Algunos sistemas de lodos activados tratan un desecho que ha sido pre-tratado con otro tipo de sistema de tratamiento biológico (laguna o filtro rociador). Estas unidades pueden sembrar al lodo activado con microorganismos filamentosos. Para determinar lo extenso de esta siembra se debe tomar una muestra del desecho que esta entrando al sistema de lodos activados.

La frecuencia del muestreo y del examen será dictada por las circunstancias de la planta y por la localización del lugar de observación de las muestras. Durante los periodos cuando el esponjamiento esta ocurriendo o es anticipado, durante el uso de cloración RAS para el control del esponjamiento y durante periodos de operación experimental.

II. PROCEDIMIENTOS DE TINCIÓN.

Dos procedimientos primarios de tinción usados en el análisis de las muestras de lodos activados son: - La tinción de Gram y la de Neisser -. Otros procedimientos con usos más especializados son la prueba "S" para la oxidación de sulfuros, para detectar gránulos de azufre intracelulares; la tinción con tinta de la India, para detectar la presencia de grandes cantidades de polímeros extracelulares; la tinción de polihidroxibutirato (PHB), para detectar la presencia de productos almacenados intracelulares, tales como el (PHB). Y al tinción con cristal violeta. Para permitir el análisis de cápsulas o cubiertas protectoras. Los procedimientos son discutidos en las siguientes subsecciones.

III. PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS.

Sobre el receptor de la muestra o al menos en las horas anteriores al análisis de la muestra, esparcir una gota de la misma uniformemente sobre un 50 % del área de cada uno de los dos portaobjetos de 25 X 77 mm. Permitir que estos se sequen al aire, a la temperatura de la habitación (no calentarla). Los portaobjetos con la muestra pueden ser almacenados y tincionados más tarde. Marcar los portaobjetos con un código de identificación de la muestra y con una N o G (Gram o Neisser) a un lado de donde se haga el frotis de la muestra. Realizar los procedimientos de tinción de Gram y de Neisser.

a) Observación directa:

Colocar una gota (aproximadamente 0.05 ml) de muestra sobre un portaobjetos de 25 X 75 mm usando una pipeta Pasteur limpia. Colocar un cubreobjetos No. 1 de 22 mm sobre la gota y presionar hacia abajo gentilmente en el cubreobjetos con un papel absorbente, remover el líquido expelido por los lados del cubreobjetos. Este procedimiento asegura una preparación delgada, la cual es necesaria debido a la limitada profundidad del foco del sistema de microscopio óptico.

Examinar la muestra bajo un contraste de fases a una ampliación de 100 X las siguientes características:

1) Rango de tamaño:

Pequeño 150 m de diámetro

Medio 150-500 μm de diámetro

Grande μm de diámetro

2) Forma:

Redondeado y compacto o irregular y difuso; notar si la textura es firme o débil

- La presencia de protozoarios, partículas orgánicas e inorgánicas, y organismos amorfos (zoogreas)
- La presencia y efecto de los microorganismos filamentosos en la estructura del flóculo, como sigue:

1. Ninguna

1. Filamentos en puente extendidos desde la superficie del flóculo hasta el interior de la solución y puente entre los flóculos.

2. Estructura abierta de flóculo, la población de flóculos se une y crece alrededor de los microorganismos filamentosos conduciendo a un gran flóculo formado irregularmente con huecos internos substanciales.
3. La abundancia de organismos filamentosos.

Esta puede ser cuantificada por varios métodos. Para los propósitos de este estudio se usó un sistema subjetivo despreciativo.

La tabla A1 presenta la clasificación de los microorganismos filamentosos (M. O. F.). Los organismos filamentosos son observados a 100 X y clasificados subjetivamente de acuerdo a su **abundancia** en una escala de 0 (ninguno) a 6 (excesivos).

Un índice **abundante** está determinado por la muestra como un todo (todos los tipos de microorganismos filamentosos juntos). Para cada uno de los microorganismos filamentosos abundantes observados individualmente son considerados dominantes y probablemente los principales responsables de los problemas de **bulking** si estos son clasificados como “muy comunes”.

Los organismos que están presentes pero no en una abundancia suficiente como para causar un problema de bulking, son clasificados como “comunes” y son considerados secundarios.

Tabla A1. Valor numérico de la abundancia de microorganismos

VALOR NUMÉRICO	ABUNDANCIA	EXPLICACIÓN
0	Ninguna	
1	Pocos	Filamentos presentes pero observados solamente en un flóculo ocasional
2	Algunos	Filamentos comúnmente observados pero no presentes en todos los flóculos
3	Común	Filamentos observados en todos los flóculos pero en una densidad muy baja (de 1 a 5 filamentos por flóculo)

4	Muy común	Filamentos observados en todos los flóculos en una densidad media (de 5 a 20 por flóculo)
5	Abundantes	Filamentos observados en todos los flóculos en una densidad alta (20 filamentos por flóculo)
6	Excesivos	Filamentos presentes en todos los flóculos –aparecen más filamentos que flóculos y/o crecimiento de filamentos en gran abundancia en la solución de lodo

Este método es rápido y adecuado para establecer si un organismo filamentosos es dominante o secundario. Las categorías de abundancia son reproducibles generalmente para una categoría de abundancia entre los observadores.

IV. PROCEDIMIENTOS DE CONTEO.

En adición a los métodos de clasificación subjetivos para contar microorganismos filamentosos existen otros procedimientos más detallados para medir la longitud total de los organismos filamentosos extendidos en los lodos activados.

a) Técnica de medición para filamentos de Sezgin et al (1978).

Transferir 2 ml de una muestra de lodo activado bien mezclada con una concentración de sólidos suspendidos conocidos, usando una pipeta de boca ancha (0.8 mm de diámetro en la punta) en un litro de agua destilada en un vaso de precipitados de 1.5 litros y agitar a 95 r.p.m. en un aparato de pruebas ($G = 85 \text{ sec}^{-1}$) durante un minuto.

Usando la misma pipeta, transferir 1.0 ml de la muestra diluida a una cámara de conteo microscópica calibrada para contener 1.0 ml y cubrirla con un cubreobjetos de vidrio.

Usando un microscopio óptico, a una ampliación de 100 X con una escala de micrómetro ocular, contar el número de filamentos presentes en el total de la cámara o en una porción conocida de ella. Y clasificarlos según su tamaño: 0 a 10 μm , 10 a 25 μm , 25 a 50 μm , 50 a 100 μm , 100 a 200 μm , 200 a 400 μm , 400 a 800 μm , y mayor a los 800 μm . Medir a los filamentos con una longitud mayor a los 800 μm individualmente.

Expresar los resultados como la longitud total en μm de los filamentos por gramo o por ml de MLSS.

Longitud total del filamento por gramo de sólidos suspendidos en el licor mezclado:

Longitud total de filamento extendido (TEFL) en $\mu\text{m/g}$ MLSS = Longitud total del filamento en μm en 1.0 ml de muestra diluida X el factor de dilución (500 en el ejemplo de arriba) \div Concentración de sólidos suspendidos del licor mezclado (MLSS) en g/l.

Longitud total del filamento por mililitros de sólidos suspendidos en el licor mezclado:

Longitud total del filamento extendido (TEFL) en $\mu\text{m/ ml}$ de MLSS = Longitud total del filamento en metros, en 1.0 ml de muestra diluida X el Factor de dilución (500 en el ejemplo de arriba).

b) Procedimiento de Stobbe para SVI diluido (1984)

Varios investigadores han descubierto correlaciones cercanas entre el número de microorganismos filamentosos en el lodo activado y en un parámetro conocido como Índice de Volumen de Lodos Activados Diluidos (DSVI). El DSVI puede ser usado para predecir las propiedades del lodo sedimentado y esta bien correlacionado con el TEFL (Longitud Total de Filamento Extendido).

Preparar varias probetas graduadas de 1 litro (el número dependerá del conocimiento posterior de la sedimentabilidad de los lodos).

Usando un efluente secundario bien clarificado, preparar una serie de dos diluciones de lodos activados (por ejemplo, no dilución, dilución 1:1, dilución 1:3).

Agitar las probetas graduadas individualmente durante 30 – 60 segundos usando un agitador para resuspender y distribuir uniformemente a los sólidos de los lodos.

Permitir que el lodo activado sedimente durante 30 minutos bajo condiciones de reposo.

Observar el volumen de los lodos fijados (SV_{30}) en la probeta graduada donde el volumen de fijación es menor y lo más cercano a 200 ml ($SV_{30} < 200$ ml).

Calcular el SVI diluido (DSVI) usando:

$$DSVI \text{ (mg/g)} = SV_{30} \text{ (ml/l)} \times 2^n / SS \text{ (g/l)}$$

Donde:

n es el número de diluciones requeridas para obtener el volumen fijado de lodos (SV_{30}) de menos de 200 ml y SS es la concentración de los sólidos suspendidos en los lodos activados no diluidos.

c) Técnica de conteo de filamentos usada en la Planta para el Control de la Contaminación del Agua de San José Santa Clara (California) (SJ/SCWPCP)

Este método no mide directamente el TEFL (Longitud total del filamento extendido). No obstante, cuenta el número de veces que el filamento intercepta una línea sencilla del ocular del microscopio, para varios campos visuales cruza una preparación húmeda de la muestra de lodos activados.

Transferir 50 μ l de una muestra de licor mezclado a un portaobjetos de vidrio.

Cubrirlo completamente con un cubreobjetos de 22 X 30 mm.

Usando una ampliación de 100 X y empezando en la orilla del cubreobjetos, observar los campos consecutivos que cruzan la longitud total de 300 mm del cubreobjetos. En SJ/(SCWPCP) esto equivale a 17 campos.

Los oculares son convenientes con una línea simple. Contar el número de veces que algún microorganismo filamentoso intercepta esta línea.

El número total de intersecciones para todos los campos examinados es el conteo de filamento. Si un “conteo de unidad” es requerido el conteo del filamento debe ser multiplicado por el número de campos que se encuentran en un ancho de 22 mm del cubreobjetos . En San José esto equivale a 12 campos. Por lo tanto:

Conteo de filamentos $/\mu\text{l} = (\text{Intersecciones del filamento en el conteo del campo})/50 \mu\text{l} \times 12$.

SJ/SCWPCP ha correlacionado al conteo de filamento con el Índice de Volumen de Lodos (SVI). Sin embargo, el conteo de filamento no proporciona una advertencia temprana para prevenir aquellos problemas causados por un incremento en el SVI, porque ambos están correlacionados temporalmente.

V. IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA DE ORGANISMOS FILAMENTOSOS.

La otra parte importante de los estudios microscópicos a las muestras de lodos activados es la identificación del tipo o tipos de los organismos filamentosos presentes en el lodo.

A). Observación de las características de los microorganismos.

Examinar la muestra a 100X usando una fase de contraste para acertar en el número de los diferentes tipos de microorganismos presentes. Caracterizar cuidadosamente cada organismo filamentoso presente mediante la observación de varios filamentos de cada tipo y expresando el resultado de tal observación como un “promedio”.

La tabla A2 presenta un formato de una hoja de conteo para registrar y resumir las observaciones.

Tabla A2 Formato para el conteo de los filamentosos.

Numero de muestra _____ Localización de muestra _____
 Fecha de muestreo __/__/__ Fecha de análisis __/__/__

Cantidad de filamentosos:

Ninguno
 Pocos
 Algunos
 Común
 Muy común
 Abundante
 Excesivos

Efecto del filamentosos sobre la estructura del floc:

Pequeño o nulo
 Puenteado
 Abriendo la estructura del floc

Forma del floc:

Firme sólido
 Débil
 esférico
 irregular
 difuso

Tamaño (m)

< 150
 150 - 500
 > 150

(% en rango)

Características:

Células libres en suspensión _____ Células en la masa Neisser positivo _____
 Zoogreas _____ reacción a la tinción india _____
 Spiroquetas _____ daño a los filamentosos por cloro _____
 Partículas orgánicas e inorgánicas _____

Resumen de los microorganismos filamentosos

Tipo	Rango	Abundancia	Tipo	Rango	Abundancia
Nocardia spp.			M. parvicella		
Tipo 1701			Tipo 0581		
S-. Natans			Tipo 0092		
Tipo 021N			Tipo 0803		
Thiothrix spp.			Tipo 1851		
Tipo 0041			Tipo 0691		
H. hydrossis			Tipo 0675		
N. limicola			Otro		
Hongos			Otro		

Observaciones: _____

Esta tarea puede simplificarse aceptando solamente un número limitado de descripciones y aprendiendo a reconocer las características especiales que proporcionan guías para los tipos de microorganismos filamentosos. Estas características son:

Ramificaciones - presentes o ausentes; si están presentes, determinar si son ramificaciones verdaderas o falsas.

Las verdaderas son células donde hay un citoplasma contiguo entre los tricomas ramificados. En los lodos activados los únicos organismos ramificados son los hongos y la *Nocardia spp.*, en la *Nostocoida limicola* se observa incidentalmente.

Las ramificaciones falsas aparecen cuando no hay un citoplasma contiguo entre los tricomas; dos tricomas tienen que absorber y crecer juntos exteriormente. En los lodos

activados las ramificaciones falsas usualmente son observadas solamente en el *Sphaerotilus natans*, pero también ha sido reportada incidentalmente en el tipo 1701.

Motilidad- Ninguna o, si la hay, describirla.

Solamente unos pocos microorganismos filamentosos presentes en los lodos activados son motiles. La *Beggiatoa spp.*, la *Flexibacter spp.*, y algunas bacterias verde-azules (*Cyanophyceae*) son motiles mediante deslizamiento; la *Thiotrix spp.*, y el tipo 021N pueden desplazarse limitadamente o movimiento ondular.

La forma del filamento - recto, suavemente curvado, ondulado, cadena irregular de células, micelado, con cola.

Color - Transparente, Medio, Oscuro.

Localización - Extendidas sobre la superficie del flóculo, encontradas comúnmente en el interior del flóculo o libres en el líquido que se encuentra entre los flóculos.

Crecimiento epifítico (adjunto de bacterias unicelulares) Ausente o presente, si esta presente, cuantificar si el crecimiento es substancial o incidental.

Vaina - Presente o ausente. La presencia de una vaina es una de las características más difíciles de establecer. Una verdadera vaina es una estructura clara exterior a la pared celular (de ahí lo difícil de su observación). Las vainas pueden verse mejor en preparaciones sin tinciones, cuando las células son vaciadas o cuando algunas de las células están extraviadas. En este último caso la trayectoria de la vaina puede ser vista continuamente a lo largo de cada lado del espacio vacío. Varias características de los microorganismos filamentosos pueden ser confundidas con vainas. Un halo amarillo observado alrededor de los filamentos bajo una observación de contraste de fase no es una vaina; pero si un, artefacto de iluminación de contraste de fase. Los espacios vacíos cortos en un tricoma o en una punta de un tricoma deben ser usados para indicar la presencia de una vaina. La pared celular de algunos microorganismos filamentosos puede permanecer después de un análisis celular, sin embargo, esto puede ser distinguido de una vaina, porque queda alguna evidencia de paredes preexistentes. Esto se observa comúnmente en el tipo 021N.

La presencia de crecimientos adjuntos indica generalmente la presencia de una cubierta o vaina. La tinción de muestras húmedas con cristal violeta puede ayudar a la detección de una vaina.

1. Paredes de cruce (septos celulares) ausentes o presentes.

Esta característica puede ser variable para algunos microorganismos filamentosos y la detección depende de la calidad y el ajuste del microscopio. Es importante determinar si un tricoma verdadero está presente o si el filamento está hecho de una cadena de células.

2. Diámetro del filamento. Tanto el diámetro promedio como su rango en μm debe ser medido, es importante notar si el diámetro es mayor o menor a un $1 \mu\text{m}$.

3. Longitud del filamento - Rango en μm

4. Forma de la célula- Cuadrada, rectangular, oval, en forma de barril, en forma de disco, en forma de bastos redondeados. Es importante notar si hay indentaciones en la septa de células o si las paredes de los tricomas son rectas en las uniones celulares.

5. Tamaño - Es el promedio entre la longitud y el ancho de las células en μm .

6. Depósitos de azufre- Si están presentes o ausentes in situ y si están presentes o ausentes después de la prueba S (prueba para la oxidación de sulfuros). Bajo una observación con contraste de fase los gránulos de sulfuro aparecen como inclusiones brillantes de células coloreadas en amarillo, con la forma de esfera observada en los microorganismos siguientes: *Thiothrix spp.*, *Beggiatoa spp* y el tipo 021N; O en la forma de cuadrado que presente el microorganismo tipo 0914. El tipo 0914 no responde a la prueba S.

7. Otros gránulos- Si están presentes o ausentes. Comúnmente los gránulos observados son los polifosfatos (gránulos positivos de Neisser) y los PHB (confirmados con la tinción de PHB).

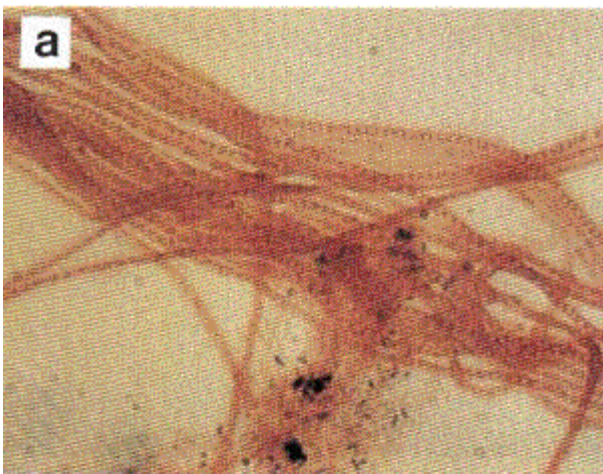
8. Reacciones de tinción. Cada microorganismo filamentosamente presente es evaluado de manera separada con las reacciones de tinción de Neisser y de Gram. Mediante la observación de los portaobjetos a una ampliación de 900-1000 X usando luz transmitida (sin contraste de fases). La posición y longitud de los microorganismos

filamentosos en la muestra húmeda y la presencia o ausencia de cultivos adheridos debe ser notada cuidadosamente de manera que los mismos tipos de filamentos puedan ser examinados en la muestra teñida. Se requiere tener mucho cuidado en esta observación porque algunos microorganismos filamentosos cambian de tamaño una vez secos y teñidos (Por ejemplo, el tipo 0092 parece mucho más ancho cuando es teñido con Neisser que en las muestras húmedas).

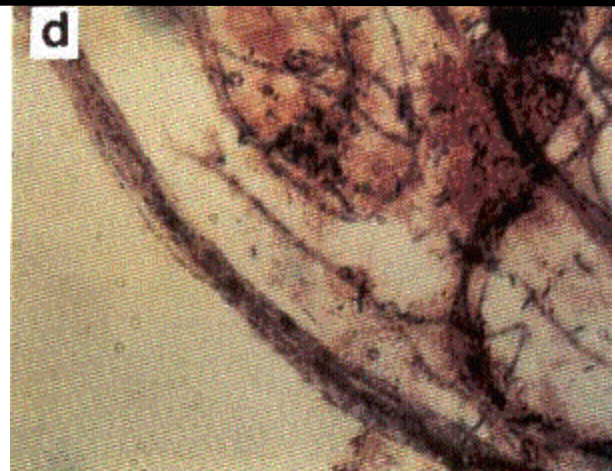
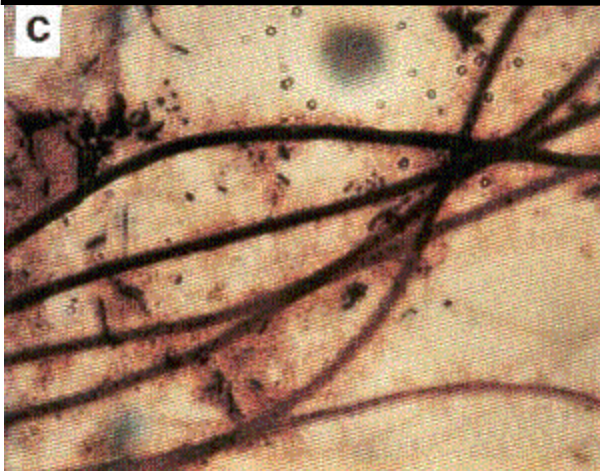
La tinción de Gram. Requiere mucha práctica Los reactivos deben ser razonablemente frescos (de 3 - 6 meses) y, si es posible, deben ser probados en cultivos frescos de reacción de Gram conocida. El paso de decoloración debe ser controlado precisamente para evitar una decoloración excesiva. Además, los flóculos grandes no se deben decolorar totalmente ya que durante las reacciones de Gram, los grandes flóculos deben ser ignorados.

B). Clasificar la reacción de Gram como positiva, negativa o variable.

Las figuras A1 presentan la reacción de los microorganismos filamentosos a la tinción Gram. La mayoría de los microorganismos filamentosos observados en los lodos activados son Gram negativos por ejemplo: a) tipo 021N y b) 0092.



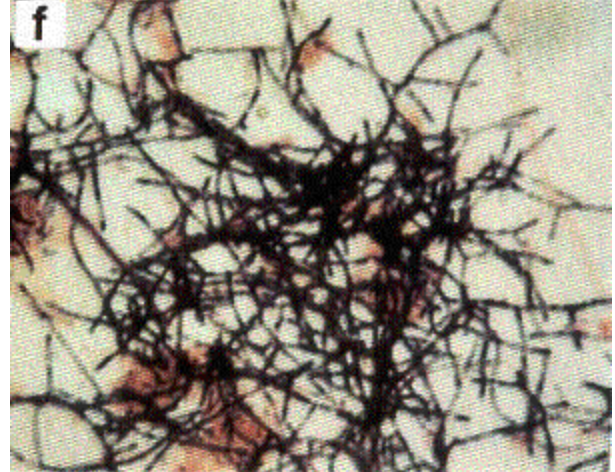
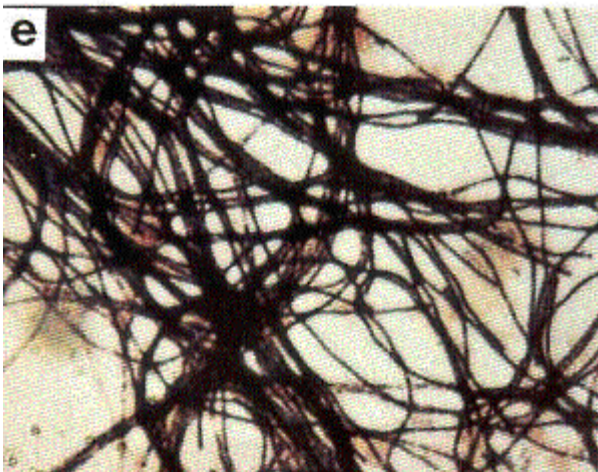
La *Nostocoida limicola* y los tipos 0041 y 0675 son comúnmente Gram positivos pero también pueden ser Gram variables o Gram negativos. El inciso c) muestra al tipo 0041 (Gram variable). El inciso d) ilustra al tipo 1851 (Gram positivo).



El microorganismo tipo 1851 se tinciona débilmente como Gram positivo, y generalmente es observado como una cadena de “esferas” Gram positivas.

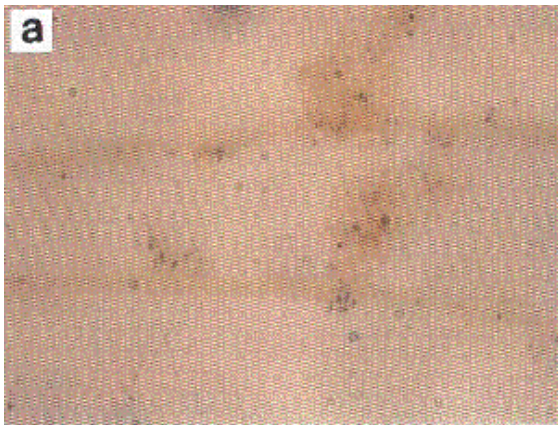
Los microorganismos *Thiothrix* I, *Beggiatoa* sp, el tipo 021N y el tipo 0914 generalmente se tiñen como Gram negativas, pero pueden teñirse como Gram positivas cuando estos contienen depósitos intracelulares de azufre.

Los incisos e) y f) respectivamente muestran a los filamentosos *Microthrix parvicella* y la *Nocardia* sp que son generalmente Gram positivas.

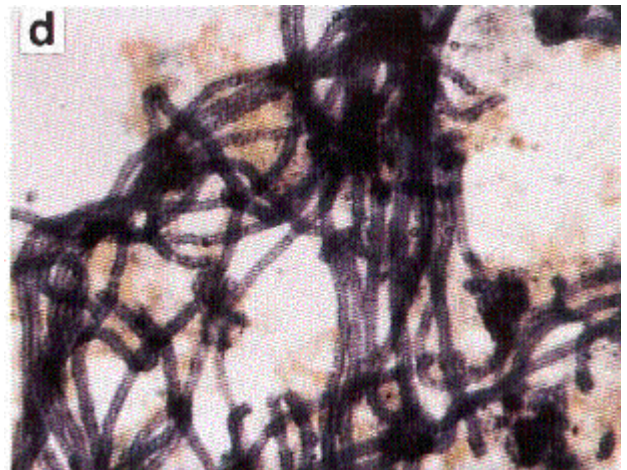
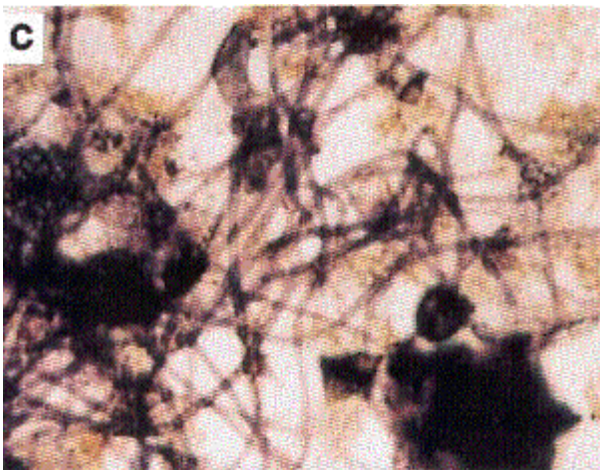


La figura A2 presenta la tinción de Neisser que es una técnica sencilla. Se clasifican como negativos, positivos (el tricoma completo es teñido), o negativos con gránulos positivos de Neisser.

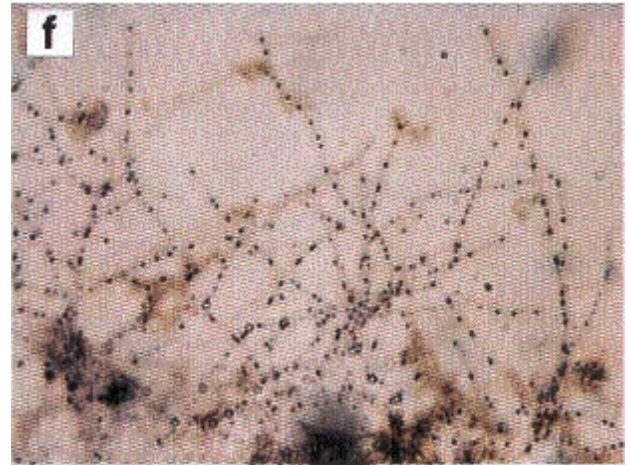
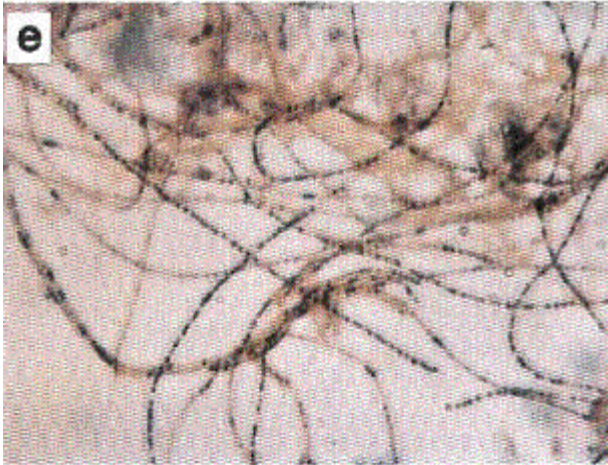
El inciso a) ilustra la reacción negativa de los microorganismos filamentosos a la tinción de Neisser. El inciso b) muestra la reacción positiva típica del tipo 0041.



La imagen c) presenta al microorganismo tipo 0092 (morado luminoso) y el inciso d) muestra a la *N. Limicola* (morado oscuro) ambas se tiñen completamente como Neisser positivos.



En los incisos e) y f) se puede observar que la *M. Parvicella* y la *Nocardia sp* tincionan como Neisser negativos pero generalmente contienen gránulos intracelulares Neisser positivos.



La *Beggiatoa sp*, la *Thiothrix sp* y los tipos 0041, 0675, 021N, 0914 y 1863 pueden contener gránulos Neisser positivos (no con demasiada frecuencia). Por añadidura, la *H. Hydrossis* y los tipos 0675 y 0041 pueden tener un tricoma “cubierto” Neisser positivo (como lo ilustra el inciso b) cuando están presentes en lodos activados que son deficientes en nutrientes.

Observaciones adicionales- Dos microorganismos filamentosos, el *Thiothrix sp* y los tipos 021N (extraordinariamente) pueden exhibir escarapela y gonidia (célula reproductiva algal). Una escarapela se desarrolla cuando los tricomas (especie de organismo, vellosidad en las plantas) emiten luz intensa hacia el exterior a partir de un origen común. La gonidia son células de forma redondeada ovales que se presentan en la punta de los tricomas y son distintivamente diferentes en apariencia que las células vegetales.

Las siguientes observaciones pueden indicar una nutrición deficiente (Por ejemplo, de N o P) en los sistemas de lodos activados:

Grandes cantidades de gránulos de PHB intracelulares

Reacciones de tinción de Neisser inusuales en algunos microorganismos filamentosos.

Grandes cantidades de material extracelular en el interior de los flóculos.

Pistas adicionales señalan la presencia de grandes cantidades de este material extracelular altamente retentivo de agua, estas pistas son: los sedimentos de los lodos activados se sedimentan y compactan pobremente aún cuando la abundancia de los microorganismos filamentosos es baja; el lodo activado es resbaladizo o fangoso al tacto y parece viscoso cuando es vertido o se derrama.

C). Identificación de microorganismos.

Las características de los microorganismos filamentosos registradas y observadas son usadas para caracterizarlos por genero o por un tipo numerado. Esta clave en lista las 22 bacterias filamentosas más comúnmente observadas en los lodos activados. Para simplificar esta clave, varios microorganismos filamentosos que tienen características específicas fácilmente identificables no están en listados, pero son descritos más adelante. Estos incluyen a los hongos, *Cyanophyceae*, *Flexibacter sp* y *Bacillus sp*. Por añadidura, algunos microorganismos filamentosos observados solo ocasionalmente en los lodos activados tampoco se incluyeron. Estos incluyen a los microorganismos filamentosos tipo 1702, 1852 y 0211.

Este esquema clave es una modificación de la clave de identificación para microorganismos filamentosos dada por Eikelboom y van Buijsen (1981), con cambios para:

Desenfatar la necesidad de observación de las barreras celulares, la cual puede depender de la calidad y ajuste del microscopio usado.

Incluir algunos microorganismos filamentosos en la clave dos veces, cuando presenten una característica importante variable, por ejemplo, la reacción de tinción de Gram de la *N. Limicola II* y la observación de los gránulos intracelulares de azufre para los tipos 0911 y 021N.

El uso de esta clave tiene su riesgo ya que las características de algunos microorganismos filamentosos varían y esta clave no puede definir siempre todas estas variables. El tipo de filamento al que se llegue usando esta clave debe de ser cuidadosamente evaluados y comparados contra las características típicas de los microorganismos filamentosos en listados en la bibliografía (tabla 17 página 44 del Manual on the Causes y Control of Activated Sludge bulking and foaming 2ª Edition) presentados en descripciones cortas y en las fotografías que siguen de cada organismo. Si las características dadas en la tabla 17, o en las fotografías no corresponden al tipo de filamento al que se llego usando la clave se debe reexaminar cuidadosamente las características que da dicha clave. Por ejemplo, el tipo 0041 generalmente da un débil Gram positivo o una reacción variable de Gram; y como tal, es clave correctamente de la figura que se presenta en el manual. Sin embargo, si da un Gram positivo intenso esta debería ser clasificada como *N. Limicola II*. Haciendo referencia a la tabla 17, muestra que la *N. Limicola* esta enrollado y no posee cultivos adjuntos. El tipo 0041 es recto y suavemente curvado y muy a menudo tiene cultivos o brotes adjuntos substanciales.

Ocasionalmente, se observa que un microorganismo filamentosos no esta representado por una designación de genero o por un tipo, tal microorganismo filamentosos debe ser reportado como "no identificado"; no trate de forzar la clasificación de un organismo dentro de los tipos de microorganismos filamentosos existentes.

D). Descripción de los tipos de microorganismos filamentosos.

Estas cortas descripciones de cada microorganismo filamentosos comúnmente observados en los lodos activados están basadas en la información proporcionada por Eikelboom y van Buijsen(1981), fueron modificadas por la experiencia de observación de las características de microorganismos filamentosos de lodos activados provenientes de USA y Sudáfrica. Los siguientes tipos de filamentosos se observan usualmente en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas, en índices de carga orgánica convencionales:

S. natans *Beggiatoa sp.* *H. Hydrossis*
Tipo 1701 *Nocardia sp.* Tipo 1863
Tipo 021N *N. Limicola II*
Thiothrix I y II

Los tipos de filamento observados en las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales o domésticas operadas a índices de carga orgánica bajos son:

Tipo 0041	<i>Beggiatoa sp.</i>	<i>M. parvicella</i>
Tipo 0675	Tipo 1851	<i>Nocardia sp.</i>
Tipo 021N	Tipo 0803	<i>N. Limicola I, II, III</i>
<i>Thiothrix I y II</i>	Tipo 0092	<i>H. Hydrossis</i>
Tipo 0914	Tipo 0961	Tipo 0581

Los tipos de filamentos que se observan con poca frecuencia incluyen:

Hongos	<i>Flexibacter sp.</i>	Tipo 0211
Cianofíceas	Tipo 1702	Tipo 0411
<i>Bacillus sp.</i>	Tipo 1852	

Sphaerotilus natans.

Son filamentos relativamente largos (100-1000 μm), rectos, o ligeramente curvados compuestos de células redondeadas (1.0-1.8 X 1.5-3.0 μm) contenidos en una ajustada cápsula protectora clara. La barrera celular es clara con indentaciones en la barrera. Los filamentos radian luz hacia el exterior desde la superficie del flóculo en el interior de la solución de masa. Se observan frecuentemente ramificaciones falsas, dándole una apariencia de tres ramificaciones. Es Gram positiva, Neisser negativa, sin gránulos de azufre: frecuentemente se observan gránulos de PHB. La forma de las células puede ser rectangular cuando las células están apretadamente empacadas en la cápsula protectora. Un abrigo o cobertura exocelular de limo (cieno) puede ocasionar una limitación de nutrientes. Los cultivos adheridos no son comunes.

Tipo 1701.

Son relativamente cortos (10 a 100 μm), filamentos curvos o inclinados compuestos de células en forma de bastos, con extremos redondeados (0.7-1.0 X 1.0-2.0 μm) contenidas en una protección tubular clara, fuertemente ajustada. Las membranas

celulares son claras con indentaciones en ellas. Los filamentos encontrados se entrelazan predominantemente en el interior del flóculo con filamentos cortos que se extienden dentro de la solución de masa. Sin ramificaciones. Es Gram negativa, Neisser negativa, sin gránulos de azufre, se observan frecuentemente gránulos de PHB. Se pueden notar casi siempre crecimientos adjuntos de bacterias, haciendo más difícil la observación de las células individuales

Tipo 0041.

Son rectas, con filamentos Suavemente curvados, de una longitud aproximada de 100-500 μm , están compuestos de células con forma cuadrada (1.2-1.6 X 1.5-2.5 μm) contenidas en un tubo protector claro, fuertemente ajustado. En los sistemas de agua residual doméstica es más a menudo observado en el interior del flóculo y cubierto con cultivos adheridos. En los sistemas de agua residuales industriales este puede estar extendido en la superficie del flóculo o andar libre sobre la solución de masa, sin crecimientos bacterianos adheridos. Es Gram positivo o Gram variable tendiendo a Gram positivo cuando se encuentra en el interior del flóculo y Gram negativo cuando esta extendido en la solución de masa. Es Neisser negativo; se observan gránulos Neisser positivos (no frecuentemente); una cubierta de fango Neisser positivo (color púrpura luminoso) se puede observar en algunas aguas residuales industriales. Rara vez se observan gránulos intracelulares. No hay gránulos de azufre. El tubo protector es difícil de detectar y es observado particularmente en el ápice del tricoma (especie de microorganismo, vellosidad en las plantas) cuando las células están ausentes.

Tipo 0675

Es muy similar al tipo 0041, solo que más pequeño en cuanto a la longitud del tricoma (50-150 μm) y la dimensión celular (0.7-1.0 μm). Esta cubierto por crecimientos (o cultivos) adheridos cuando se encuentra en los lodos activados provenientes de aguas residuales domesticas, pueden faltar estos crecimientos en algunos lodos activados industriales. Una protección tubular está presente. Puede ser tanto Gram positivo como Gram variable, es Neisser negativo. Presenta gránulos Neisser positivos; no presenta gránulos de azufre.

Tipo 021N.

Son filamentos que tienen un ancho de 1.0-2.0 μm y una longitud de 100-500 μm y van disminuyendo gradualmente de una región basal gruesa hasta una región apical

delgada (que a menudo termina con un cultivo adherido de gonidia). Los tricomas son rectos, suavemente curvados o en ocasiones esta suavemente enrollado y se encuentran extendidos sobre la superficie del flóculo. Las formas de las células se encuentran en un rango que va desde células ovoides hasta rectangulares o con forma de barril con una barrera celular o septa con indentaciones. Es Gram negativa y Neisser negativa; puede contener gránulos Neisser positivos. Las células pueden tincionarse suavemente como Gram positivas cuando estas contienen gránulos de azufre. Los gránulos esféricos intracelulares de azufre son observados in situ pero no frecuentemente; su respuesta a la prueba S generalmente es positiva. Los racimos (rosetas) no se observan con frecuencia. Una protección no se encuentra presente, sin embargo, una pared celular delgada (todavía mostrando un cruce entre las paredes) permanece a menudo después de la ruptura celular.

Thiothrix I

Tiene tricomas rectas o suavemente curvadas de 1.4-2.5 μm de ancho y de 50-200 μm de longitud, extendidas sobre la superficie del flóculo. No presente cultivos adheridos. Una septa de células sin indentaciones se encuentra presente. Las células son rectangulares (0.8-1.4 μm X 1-2 μm). Son Gram positivas y Neisser negativas, algunas veces tiene gránulos Neisser positivos. Con frecuencia, las células contienen gránulos de azufre esféricos in situ y este organismo responde a la prueba S. Gonidias y racimos apicales son observados comúnmente. Los tricomas pueden ir decreciendo a partir de la base hasta la punta. Una cubierta protectora se encuentra presente, pero es difícil de detectar.

Thiothrix II.

Son Filamentos rectos o ligeramente curvos, con un ancho de 0.8-1.4 μm y una longitud de 50-200 μm , se encuentran extendidos sobre la superficie del flóculo. No presenta cultivos adheridos. Una septa de células, sin indentaciones, está presente. Las células son rectangulares (0.8-1.4 X 1-2 μm). Son Gram positivo y Neisser negativos, con gránulos Neisser positivos que algunas veces se encuentran presentes. Las células frecuentemente contienen gránulos esféricos de azufre in situ, estos organismos responden a la prueba S. Se observan comúnmente gonidia (células asexuales) y racimos apicales. Los tricomas pueden ir decreciendo desde la punta hasta su base. Una cubierta protectora se encuentra presente pero es difícil de detectar.

Tipo 0914.

Son filamentos rectos o ligeramente curvos, con un ancho de 0.7-1.0 μm y una longitud de 50-200 μm , se encuentran sobre la superficie del flóculo, pero más comúnmente están libres en la solución de masa. Puede tener incidentalmente cultivos adheridos. Las células tienen forma cuadrada (1.0 X 1.0 μm), sin estrangulamientos en la septa. No se encuentra presente ninguna cubierta protectora. Son Gram negativos y Neisser negativos, pero pueden tincionar como Gram positivos cuando gránulos substanciales de azufre se encuentran presentes. Puede presentar gránulos Neisser positivos también. Puede contener gránulos de azufre intracelulares, los cuales tienen una forma cuadrada más que esférica, como se observa en otros organismos filamentosos, estos no responden a la prueba S.

Beggiatoa sp.

Son filamentos grandes, rectos con un ancho de 1.0-3.0 μm y una longitud de 100-500 μm , se encuentran libres en la solución de masa

Nostocoida limicola III.

Filamentos enrollados irregularmente y curvados, con un diámetro de 1.6-2.0 μm y una longitud de 200-300 μm , se encuentran principalmente en el interior del flóculo. No presentan cultivos adheridos ni cubierta protectora. La septa de células, tiene células ovales (de 1.6-2.0 μm de diámetro) e indentaciones en la septa de células. No se observan comúnmente gránulos de PHB. Son Gram positivos y Neisser positivos. No tiene gránulos de azufre.

Haliscomenobacter hydrosis.

Son filamentos delgados, rectos o curvos, con un diámetro de 0.5 μm y una longitud de 20-100 μm , se encuentran radiando hacia el exterior de la superficie del flóculo o pueden también estar libres en la solución de masa. Una cubierta protectora se encuentra presente. No se observan septa de células; sin embargo, si se observan comúnmente espacios vacíos en los tricomas. Son Gram negativos y Neisser negativos, Sin gránulos de azufre. Los filamentos pueden surgir en manojos y los cultivos adheridos son variables ya que pueden estar en un rango que va de raros a abundantes. Este filamento puede ser observado fácilmente a 100 X.

Tipo 0581.

Filamento ligeramente enrollados, con un diámetro de 0.4-0.7 μm y una longitud de 100-200 μm , se encuentran principalmente sobre la superficie del flóculo, pero pueden encontrarse “parches” de ellos libres en solución. No presenta gránulos de azufre, ni cultivos adheridos. Son Gram negativos y Neisser negativos. Estos microorganismos filamentosos tienen apariencia similar a la *M. Parvicella* pero difiere de esta en sus reacciones de tinción de Gram. y de Neisser.

Tipo 1863.

Son filamentos cortos, irregularmente curvos, con un diámetro de 0.8 μm y una longitud de 50 μm , se encuentran extendidos sobre la superficie del flóculo y libres en la solución. No tiene cubierta protectora ni cultivos adheridos. Las células son bastos de forma oval (0.8-2.4 μm) y dan la apariencia de una “cadena de células”, con indentaciones en la septa. Son Gram negativo y Neisser negativo; puede tener gránulos Neisser positivos. No presenta gránulos de azufre.

Tipo 0411.

Presenta tricomas irregularmente curvados, con un diámetro de 0.8 μm y una longitud de 50-150 μm , se encuentran extendidos sobre la superficie del flóculo. Los filamentos de componen de células alongadas en forma de bastos (0.8-2.4 μm); los estrangulamientos en la septa le dan una apariencia de una “cadena de células”. No tienen una cubierta protectora ni cultivos adheridos. Es Gram negativo y Neisser negativo. No presenta gránulos de azufre.

Tipo 1702.

Filamentos cortos, curvos o rectos, con un diámetro de 0.6-0.7 μm y una longitud de 20-80 μm , se encuentran tanto en el interior como en la superficie del flóculo. La septa de células están ausentes y una cubierta protectora está presente. Cultivos incidentales adheridos. Gram. Negativo y Neisser negativo. No presente gránulos de azufre.

Tipo 1852.

Filamentos cortos, curvos o rectos, con un diámetro de 0.6-0.8 μm y una longitud de 20-80 μm , se encuentran extendidos en la superficie del flóculo. Las células son rectangulares (0.6-0.8 X 1.0-2.0 μm), sin estrangulamientos en las septa. No tiene una cubierta protectora, ni cultivos adheridos. Es Gram negativo y Neisser negativo. Sin gránulos de azufre. Este filamento parece “transparente”, tal como el tipo 0961.

Tipo 0211.

Filamentos torcidos o inclinados, con un diámetro de 0.3-0.5 μm y una longitud de 20-100 μm , se encuentran extendidos sobre la superficie del flóculo. Las células tienen forma redondeada, con claras estrangulaciones en al septa de células. No hay una cubierta protectora ni cultivos adheridos. Gram negativa y Neisser negativo. Sin gránulos de azufre.

Flexibacter sp.

Filamentos cortos, suavemente curvados o rectos, con un diámetro de 1.0 μm y una longitud de 20-40 μm , se encuentran libres en la solución de masa. Este organismo se mueve por sí solo, mediante flexiones y movimientos lentos y suaves. No tiene una cubierta protectora ni cultivos adheridos. Puede estar desprovisto de la septa de células. Es Gram negativo y Neisser negativo. Comúnmente presenta gránulos de PHB.

Bacillus sp.

Son bastos (o bastones) con puntas redondeadas que forman cadenas de células de forma irregular, su diámetro es de 0.8-1.0 μm y tienen una longitud de 20-50 μm , se encuentran principalmente en las orillas del flóculo. Son Gram positivos y Neisser negativos. Sin cubierta protectora y sin gránulos de azufre.

Cyanophyceae.

Filamentos rectos y grandes, con un diámetro aproximado de 2.0-5.0 μm y una longitud de 100-500 μm .

ANEXO B

RESULTADOS

En las tablas B1, B2, B3 y B4 se presentan los valores del TRC, TRH Y A/M obtenidos para cada uno de los reactores. El TRC es uno de los parámetros de operación que se ha modificado para estudiar el comportamiento de esta variable en los porcentajes de remoción de materia orgánica y nutrientes. El TRH y el A/M son también parámetros de operación que se trataron de controlar para efectuar el estudio.

Tabla B1. Condiciones de operación R1

REACTOR 1			
FECHA	TRC (d)	TRH (h)	A/M (d ⁻¹)
09-Abr-01	29	24	0.22
11-Abr-01	10	22	0.16
16-Abr-01	20	24	0.2
18-Abr-01	8	24	0.17
23-Abr-01	7	24	0.43
25-Abr-01	15	24	0.18
30-Abr-01	71	24	0.26
02-May-01	31	24	0.18
07-May-01	6	23	0.18
09-May-01	21	23	0.37
14-May-01	18	24	0.14
16-May-01	5	24	0.16
MINIMO	5	22	0.14
MAXIMO	71	24	0.43
PROMEDIO	20	24	0.2

Tabla B2. Condiciones de operación R2

REACTOR 2			
FECHA	TRC (d)	TRH (h)	FM (d ⁻¹)
09-Abr-01	4	22	0.49
11-Abr-01	3	23	0.2
16-Abr-01	33	24	0.25
18-Abr-01	8	26	0.21
23-Abr-01	4	24	0.28
25-Abr-01	6	24	0.24
30-Abr-01	52	25	0.15
02-May-01	128	24	0.27
07-May-01	128	24	0.23
09-May-01	33	24	0.38
14-May-01	11	25	0.17
16-May-01	15	25	0.17
MINIMO	3.2	22	0.15
MAXIMO	128	26	0.49
PROMEDIO	35	24	0.25

Tabla B3. Condiciones de operación R 3

REACTOR 3			
FECHA	TRC (d)	TRH (h)	A/M (d ⁻¹)
09-Abr-01	32	21	0.49
11-Abr-01	26	22	0.7
16-Abr-01	12	24	0.4
18-Abr-01	20	24	0.18
23-Abr-01	10	24	0.25
25-Abr-01	4	23	0.26
30-Abr-01	12	24	0.3
02-May-01	15	24	0.34
07-May-01	5	24	0.37
09-May-01	8	24	0.99
14-May-01	4	25	0.35
16-May-01	12	23	0.33
MINIMO	4	22	0.18
MAXIMO	26	25	0.99
PROMEDIO	12	24	0.41

replica del modelo 1

Tabla B4. Condiciones de operación R 4

REACTOR 4			
FECHA	TRC (d)	TRH (h)	A/M (d ⁻¹)
09-Abr-01	9	26	0.28
11-Abr-01	6	23	0.14
16-Abr-01	46	24	0.18
18-Abr-01	41	24	0.17
23-Abr-01	35	25	0.18
25-Abr-01	189	24	0.12
30-Abr-01	12	24	0.15
02-May-01	12	24	0.16
07-May-01	19	23	0.22
09-May-01	55	24	0.38
14-May-01	69	26	0.13
16-May-01	24	24	0.12
MINIMO	6	23	0.12
MAXIMO	189	26	0.38
PROMEDIO	46.2	24	0.18

replica del modelo 2

En tabla B5 se presentan los resultados de materia orgánica medida como DBO₅ DQO, nitrógeno y fósforo; se aprecia que los valores influente a la planta de tratamiento no son constantes debido a la composición del agua residual. El parámetro de DBO₅ como se presenta es analizado cada semana para obtener su valor al quinto día. Los resultados de fósforo se analizan cada dos semanas.

Tabla B5. Efluentes de DQO, DBO₅, Fósforo y Nitrógeno

Fechas	Demanda química de oxígeno				Demanda bioquímica de oxígeno				Fósforo total				Nitrógeno total							
	Influyente mg/l	Efluente mg/l				Influyente mg/l	Efluente mg/l				Influyente mg/l	Efluente mg/l				Influyente mg/l	Efluente mg/l			
		R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4
09-Abr-01	2480	961	388	609	1134					13	4	5	6	2	140	8	85	58	61	
11-Abr-01	1900	899	388	1241	211	756	51	84	44	15										
16-Abr-01	2020	272	261	220	413										112	40	11	50	76	
18-Abr-01	2620	306	132	459	433	1100	37	15	124	42					128	52	19	58	60	
23-Abr-01	2200	434	388	604	23					6	5	9	9	1	113	55	24	87	5	
25-Abr-01	1730	773	542	780	163	788	51	45	110	10					281	48	38	102	14	
30-Abr-01	1127	243	275	978	149										122	9	7	15	12	
02-May-01	2080	183	129	254	474	875	19	26	42	44					72	8	9	14	17	
07-May-01	2733	434	193	807	378					4	7	4	5	5	131	17	37	82	46	
09-May-01	3460	149	141	1780	303	2000	16	10	25	27					114	12	8	74	11	
14-May-01	1920	728	1087	1463	260										138	34	48	72	24	
16-May-01	1590	819	734	942	423	675	35	27	37	26	6	5	4	6	2	186	58	26	70	58
MINIMO	1127	149	129	220	23	675	16	10	25	26	4	4	4	5	1	72	8	7	14	5
MAXIMO	3460	961	1087	1780	1134	2000	51	42	42	44	13	7	9	9	5	281	58	85	102	76
PROMEDIO	2156	517	388	845	364	1032	35	21	35	32	7	5	6	7	3	140	31	28	62	35

Reactor 1, R 1

Reactor 2, R 2

Reactor 3, R 3

Reactor 4, R 4

Los datos del influente utilizados para realizar la evaluación fueron obtenidos un día antes de cada fecha, considerando un lapso dentro del sistema de tratamiento.

La tabla B6 muestra la eficiencia del proceso en cada reactor en base a los porcentajes de remoción de DQO, DBO₅, fósforo y nitrógeno. Se puede observar buenos resultados en la eliminación de materia orgánica medida como DBO₅ que van en un rango de 93 al 97 %, en DQO mayores de 70% para los reactores 1, 2 y 4. Para la remoción de nutrientes nitrógeno y fósforo la remoción es de 59% para el reactor 4 y mínima para los reactores 1, 2 y 3 en fósforo y mayor de 75% en nitrógeno para los reactores 1, 2 y 4.

Tabla B6. Porcentajes de remoción de materia orgánica y nutrientes

Fechas	Demanda química de oxígeno				Demanda bioquímica de oxígeno				Fósforo total				Nitrógeno total			
	Porcentaje de remoción				Porcentaje de remoción				Porcentaje de remoción				Porcentaje de remoción			
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 1	R 2	R 3	R 4	R 1	R 2	R 3	R 4	R 1	R 2	R 3	R 4
09-Abr-01	61	84	75	54					70	62	55	85	94	39	58	57
11-Abr-01	53	80	35	89	93	89	94	98								
16-Abr-01	87	87	89	80									64	90	56	32
18-Abr-01	88	95	82	83	97	99	89	96					59	85	55	53
23-Abr-01	80	82	73	99					12	0	0	82	52	79	23	95
25-Abr-01	55	69	55	91	94	94	86	99					83	86	64	95
30-Abr-01	78	76	13	87									92	94	88	91
02-May-01	91	94	88	77	98	97	95	95					90	87	81	77
07-May-01	84	93	70	86					0	10	0	0	87	72	38	65
09-May-01	96	96	49	91	99	100	99	99					90	93	35	91
14-May-01	62	43	24	86									75	65	48	83
16-May-01	48	54	41	73	95	96	95	96	16	33	0	67	69	86	62	69
MINIMO	48	43	13	73	93	96	95	95	0	0	0	0	52	65	23	32
MAXIMO	96	96	89	99	99	100	99	99	70	62	55	85	92	94	88	95
PROMEDIO	74	79	58	83	96	96	93	97	25	26	14	59	76	84	55	75

Con base al comportamiento de las condiciones de operación de los reactores se puede observar, que el mejor porcentaje en promedio de remoción de DBO_5 es para el reactor cuatro, que ha obtenido el 97% de remoción en materia orgánica biodegradable.

El fósforo se analizó sólo 4 veces dado que para obtener los porcentajes de remoción es necesario conocer la concentración del influente. Dentro del programa de monitoreo en el laboratorio de la planta de tratamiento ECCACIV el parámetro de fósforo total se analiza dos veces por mes, se utilizan los datos del influente a planta reportados para obtener los porcentajes de remoción con los efluentes de cada reactor.

El valor influente aunque es el mismo para los cuatro reactores, por las condiciones de operación de cada reactor aumenta su valor en el efluente, debido a la formación de acumulaciones en la biomasa de los lodos activados.

Los porcentajes de remoción de fósforo total, se puede apreciar que los valores son bajos (14 al 59%). Dichos datos se ven afectados por el incremento que se obtiene al ingresar al sistema de tratamiento.

La tabla B7 presenta los resultados del comportamiento de los sólidos totales y volátiles del licor mezclado dentro de los reactores.

Tabla B7. Sólidos del licor mezclado bajo las condiciones de operación

FECHA	Sólidos del licor mezclado							
	Suspendidos totales (mg/l)				Suspendidos volátiles (mg/l)			
	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Reactor 4	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Reactor 4
09-Abr-01	3720	1600	5690	2380	3170	1360	4870	2060
11-Abr-01	3610	2680	8140	3220	2970	2210	6940	2740
16-Abr-01	11640	7320	5760	3160	9820	6120	4860	2630
18-Abr-01	4560	3420	4920	4090	3820	2840	4170	3330
23-Abr-01	2440	2440	2550	4020	1450	2060	2180	3370
25-Abr-01	3250	2200	2130	4760	2580	1840	1730	3910
30-Abr-01	2250	3580	1870	3940	1810	2910	1530	3210
02-May-01	3570	2430	1770	3280	2890	1950	1420	2630
07-May-01	3820	3260	1840	3080	3620	2800	1700	2580
09-May-01	3940	3660	1320	3760	3300	3140	1200	3160
14-May-01	4260	3580	1630	4440	3340	2760	1300	3520
16-May-01	3170	3140	1640	4340	2630	2490	1280	3500
MINIMO	2250	1600	1320	2380	1450	1360	1200	2060
MAXIMO	11640	7320	8140	4760	9820	6120	6940	3910
PROMEDIO	4186	3276	3272	3706	3450	2707	2765	3053

La tabla B8 muestra los valores de los sólidos totales del efluente en mg/l y sus porcentajes de remoción. Para obtener los valores de remoción fue necesario considerar los datos de los sólidos suspendidos totales del licor mezclado y los efluentes de los sólidos suspendidos totales del sistema de tratamiento en cada reactor. El rango de eliminación de sólidos va de 80 al 94% por lo tanto se lograron buenos porcentajes de remoción de sólidos.

Tabla B8 Sólidos totales

FECHA	Sólidos totales del efluente				Porcentajes de remoción de sólidos			
	Reactor 1	Reactor 2	Modelo 3	Reactor 4	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Reactor 4
09-Abr-01	120	57	135	380	97	96	98	84
11-Abr-01	520	1448	464	24	86	46	94	99
16-Abr-01	30	43	53	857	100	99	99	73
18-Abr-01	127	57	223	197	97	98	95	95
23-Abr-01	440	1110	400	8	82	55	84	100
25-Abr-01	356	600	868	44	89	73	59	99
30-Abr-01	52	124	264	104	98	97	86	97
02-May-01	24	32	212	353	99	99	88	89
07-May-01	1130	43	630	190	70	99	66	94
09-May-01	62	130	265	116	98	96	80	97
14-May-01	403	570	785	117	91	84	52	97
16-May-01	793	212	224	60	75	93	86	99
MINIMO	24	32	53	8	70	46	52	73
MAXIMO	1130	1448	868	857	100	99	99	100
PROMEDIO	338	369	377	204	90	86	82	94

Las tablas B9, B10, B11 y B12 muestran los parámetros indicadores de la calidad de lodo. El índice volumétrico de lodos (IVL) se ve afectado por el comportamiento de los sólidos sedimentables (S sed) y a su vez influye la cantidad de oxígeno disuelto, ya que en cantidades mayores a 4 ppm se produce esponjamiento en el lodo y las consecuencias se reflejan en el IVL (valores mayores) y los S sed (poca sedimentabilidad del lodo).

Tabla B9. Indicadores de la calidad del lodo del reactor 1

FECHA	IVL	Ssed (ml/l)	OD (ppm)
09-Abr-01	188	700	2
11-Abr-01	271	980	2.5
16-Abr-01	82	950	1.4
18-Abr-01	206	940	4.5
23-Abr-01	402	980	1.2
25-Abr-01	292	950	2
30-Abr-01	400	900	3.55
02-May-01	252	900	3
07-May-01	241	920	3.02
09-May-01	216	850	4
14-May-01	209	890	4.16
16-May-01	300	950	0.89
MINIMO	82	850	0.89
MAXIMO	402	980	4.5
PROMEDIO	255	909	3

Tabla B10. Indicadores de la calidad del lodo reactor 2

FECHA	IVL	Ssed (ml/l)	OD (ppm)
09-Abr-01	625	1000	0.64
11-Abr-01	373	1000	0.3
16-Abr-01	109	800	0.6
18-Abr-01	278	950	1.22
23-Abr-01	402	980	0.54
25-Abr-01	409	900	0.88
30-Abr-01	268	960	3.19
02-May-01	399	970	3.05
07-May-01	276	900	1.47
09-May-01	164	600	3.95
14-May-01	209	750	5.12
16-May-01	191	600	1.55
MINIMO	109	600	0.3
MAXIMO	409	1000	5.12
PROMEDIO	309	868	2

Tabla B11. Indicadores de la calidad del lodo reactor 3

FECHA	IVL	Ssed (ml/l)	OD (ppm)
09-Abr-01	420	1000	2
11-Abr-01	311	1000	1.13
16-Abr-01	82	260	1.3
18-Abr-01	174	710	1.15
23-Abr-01	242	973	1.26
25-Abr-01	191	910	0.46
30-Abr-01	234	920	2.25
02-May-01	259	850	3.55
07-May-01	65	200	2.06
09-May-01	67	250	4.02
14-May-01	144	640	5.1
16-May-01	180	780	1.16
MINIMO	65	200	0.46
MAXIMO	311	1000	5.1
PROMEDIO	197	708	2

Tabla B12. Indicadores de la calidad del lodo reactor 4

FECHA	IVL	Ssed (ml/l)	OD (ppm)
09-Abr-01	141	800	2.58
11-Abr-01	118	960	1
16-Abr-01	156	900	0.53
18-Abr-01	201	990	3.15
23-Abr-01	392	1000	0.56
25-Abr-01	465	990	0.69
30-Abr-01	529	990	3.89
02-May-01	565	1000	3.5
07-May-01	543	1000	1
09-May-01	682	900	3.56
14-May-01	613	1000	4.45
16-May-01	610	1000	1.43
MINIMO	118	900	0.53
MAXIMO	682	1000	4.45
PROMEDIO	418	961	2.2

Los parámetros indicadores de la calidad del lodo son obtenidos del licor mezclado. El valor bajo (menor de 200 ml/l) en los sólidos sedimentables traerá como resultado un IVL menor (65) logrando mejores condiciones de operación dentro del sistema y mejores porcentajes de remoción en el efluente de sólidos totales.

ANEXO C

DISEÑO DE EXPERIMENTO

ANÁLISIS DE VARIANZA

DISEÑO DE UN FACTOR EN UNA DIRECCIÓN

Este tipo de diseños se utilizan cuando se desea conocer el comportamiento de una variable o un factor.

Suponiendo se cuenta con los resultados de ***k* muestras** al azar independientes, cada una de ***tamaño n***, proveniente de ***k poblaciones diferentes*** (esto es, datos sobre ***k tratamientos, k grupos, k métodos de producción, k niveles de la variable*** etc.) y debe contrastarse la hipótesis de que la medias de las ***k poblaciones*** son todas iguales. Para poder contrastar la hipótesis se supondrá que se trata de poblaciones normales con varianzas iguales.

Por lo anterior, la ecuación para el modelo de un factor en una dirección es de la forma:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Para: $i = 1, 2, 3, 4 \dots k$
 $j = 1, 2, 3, 4 \dots n$

Esto se presenta con la siguiente simbología:

$$SCT = SCE + SCTr$$

Donde:

SCT = Suma de cuadrados totales

SCTr = Suma de cuadrados de los tratamientos

SCE = Suma de cuadrados del error

El teorema de Cochran relaciona a los numeradores de las varianzas intermuestra, muestral interior y la total, y se puede resumir de la siguiente manera:

$$FC = T^2 / k n$$

FC = Factor de corrección

T = Suma total de las k n observaciones

k = Número de tratamientos

n = Número de observaciones por tratamiento

$$SCT = \sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FC$$

Y_{ij} = Al valor de cada una de las observaciones

$$SCTr = (1/n) \sum_{i=1}^k T_i^2 - FC$$

T_i es el total de las n observaciones del i - ésimo tratamiento

La suma de los cuadrados del error se obtiene por diferencia:

$$SCE = SCT - SCTr$$

F se calcula de la manera siguiente:

$$F = \frac{[SCTr / (k - 1)]}{[SCE / (k(n - 1))]}$$

los resultados obtenidos se vacían en la tabla denominada **TABLA DE ANOVA** o tabla de análisis de varianza.

TABLA DE ANOVA

Origen de La variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F
Tratamiento	$k - 1$	SCTr	$CMT_r = \frac{SCT_r}{(k - 1)}$	$F = \frac{CMT_r}{CME}$
Error	$k (n - 1)$	SCE	$CME = \frac{SCE}{k (n - 1)}$	
Total	$k n - 1$	SCT		

Para medir numéricamente la credibilidad de la hipótesis, se encuentra su valor en este caso, la probabilidad en el extremo de la distribución F más allá del valor observado. Este valor se obtiene de la tabla VI del apéndice del libro Introducción a la estadística, Wonnacott, editorial Limusa; que lista los valores críticos de la distribución F.

Cuando $F > F_{\alpha}$, se rechaza la hipótesis se concluye que el comportamiento es variable con un nivel de significancia de 0.01 o bien de 0.05.

Se acepta la hipótesis cuando $F < F_{\alpha}$, es decir, que el comportamiento de los tratamientos no es variable, o bien es similar.

Para obtener la variabilidad de los tratamientos se utiliza la siguiente formula:

$$\text{Variabilidad total} = \text{Variable de tratamiento} + \text{Variable de error}$$

$$SCT = SCT_r + SCE$$

$$\% \text{ Variación} = SCT_r / SCT$$

Utilizando el análisis estadístico se analizó la diferencia de TRC entre el reactor y su respectiva replica agrupando las condiciones altas y bajas de TRC.

FECHA	TRC M1	TRC M3
09-Abr-01	29	32
11-Abr-01	10	26
16-Abr-01	20	12
18-Abr-01	8	20
23-Abr-01	7	10
25-Abr-01	15	4
30-Abr-01	71	12
02-May-01	31	15
07-May-01	5.8	5
09-May-01	21	8
14-May-01	18	4
16-May-01	5	12
	241	160

SUMATORIA = 401.2

FC =	6707
SCT =	4798
SCTr =	269
SCE =	4529

TABLA DE ANOVA

ORIGEN DE LA VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	F _{0.05}	F _{0.01}
Tratamiento	2 - 1 = 1	269	269	0.24	7.71	21.2
Error	4 (2-1) = 4	4529	1132			
Total	4 x 2 - 1 = 7	4798				

Var Total = Var trata + Var error

Var total = 4798

% var total = var trat/var total *100

% var total = 5.6

En los cálculos anteriores se observa que la variabilidad en el comportamiento de TRC en los reactores 1 y 3 es del 5.6%. El resultado del análisis estadístico indica que la diferencia es significativa con una probabilidad del 95% por lo tanto el comportamiento del tiempo de retención celular durante el periodo del estudio logra variaciones que pueden afectar en la eficiencia de remoción y también en la presencia de microorganismos.

En los reactores 2 y 4 se realiza el análisis estadístico y se observan mejores resultados.

FECHA	TRC M2	TRC M4
09-Abr-01	4.4	9
11-Abr-01	3.2	6
16-Abr-01	33	46
18-Abr-01	7.74	41
23-Abr-01	3.58	35
25-Abr-01	6.41	189
30-Abr-01	52.31	12
02-May-01	128	12
07-May-01	128	19
09-May-01	33	55
14-May-01	11	69
16-May-01	15	24
	426	517

SUMATORIA =

FC =	37024
SCT =	51019
SCTr =	348
SCE =	50671

TABLA DE ANOVA

ORIGEN DE LA VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	F _{0.05}	F _{0.01}
Tratamiento	2 - 1 = 1	348	348	0.0275	7.71	21.2
Error	4 (2-1) = 4	50671	12668			
Total	4 x 2 - 1 = 7	51019				

Var Total = Var trata + Var error

Var total = 51019

% var total = var trat/var total *100

El resultado del análisis estadístico favorece a los reactores 2 y 4, ya que el porcentaje de variabilidad es 0.7% menor que para los reactores 1 y 3. El porcentaje logrado indica que las condiciones de TRC no tienen variaciones muy constantes por lo que los porcentajes de remoción de materia orgánica y nutrientes como los tipos de microorganismos dentro del sistema es muy similar entre los dos reactores.

BIBLIOGRAFÍA

1. AMEZCUA C. (1976) **“El problema de los nutrientes en el agua y las alternativas de remoción”**, Asociación Nacional de Ciencia y Tecnología de la Calidad del Agua A. C., Vol. II, No. 2 Abril/Junio.
2. ANDONI URRUTIKOETXEA J., GALLEGO J., RATIA J. y ABENGÓZAR P. (1994) **“Adición de cloro para la eliminación de espumas debidas al microorganismo filamentosos tipo 1863”**. Artículos técnicos, Revista Tecnología del Agua, agosto, no. 127, México/ España.
3. COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA, (2003) **“Inventario Nacional de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales”**, Subdirección General de Construcción Unidad de Agua Potable y Saneamiento, Gerencia de Potabilización y Tratamiento. México.
4. COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA, (1999) **“Inventario nacional de plantas de tratamiento de aguas residuales”**, Subdirección General de Construcción Unidad de Agua Potable y Saneamiento, Gerencia de Potabilización y Tratamiento. México.
5. EIKELBOOM D.H., ANDREADAKIS A., ANDREASEN K. (1997) **“Survey of the filamentous population in nutrient removal plants in four European countries”**. Proceedings second international conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. Berkeley, California.
6. GARCÍA GONZÁLEZ J.C., GUTIÉRREZ LAVÍN A. y DÍAZ FERNÁNDEZ J.M. (1998) **“Reactor continuo de lodos activados: competencia entre microorganismos granulares y filamentosos”**. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Oviedo. España.

7. G. HOLT JOHN, R. KRIEG NOEL, H. A. SNEOTH PETER, T. STALEY JAMES, T. WILLIAMS STANLEY (1990) **“Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”**. Ninth Edition, Williams & Wilkins.
8. JENKINS D., RICHARD M.G. and DAIGGER G. T. (1993) **“Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming”**, 2nd. Edition, Lewis publishers. U.S.A.
9. JIMÉNEZ C. (2001) **“La contaminación ambiental en México, causas efectos y tecnología apropiada”**, Editorial Limusa, México.
10. KNOOP S., KUNST S. (1997) **“Influence of temperature and sludge loading on activated sludge settling, especially on *Microthrix parvicella*”**. Proceedings second international conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. Berkeley, California.
11. MAMASIS D., NOUTSOPOULOS C., ANDREADAKIS A. and KALERGIS C. (1997) **“Causes and control strategies of *Microthrix parvicella* bulking and foaming in nutrient removal activated sludge system”**. Proceedings second international conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. Berkeley, California.
12. METCALF & EDDY. (1996) **“Ingeniería de aguas residuales tratamiento, vertido y reutilización”**, 3ª. Edición, Volumen I y II, Mc. Graw Hill. México.
13. MICHAEL RICHARD, PH. D. (1991) **“The bench sheet monograph on activated sludge microbiology”**, from the bench sheet a newsletter for wastewater and water laboratory analysts, published by Water Pollution Control Federation. California.
14. RAMALHO R.S. (1993) **“Tratamiento de aguas residuales”**, Editorial Reverté, Barcelona.
15. SCRUGGS C. E., RANDALL C. W. (1997) **“Evaluation of filamentous microorganism growth factors in an industrial wastewater activated sludge system”**. Proceedings second international conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. Berkeley, California.

16. TEBBUTT T.H.Y. (1990) **“Fundamentos de control de la calidad del agua”**. Editorial Limusa, México.
17. U.S. Environmental Protection Agency, Center for Environmental Research Information. (1987) **Summary Report “The Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming”** Cincinnati.
18. WANNER J., RUZICKOVÁ I., JETMAROVÁ P., KRHUTKOVÁ O. and PARANIÁKOVÁ J. (1997) **“A national survey of activated sludge separation problems in the Czech Republic: filaments, floc characteristic and activated sludge metabolic properties”**. Proceedings second international conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. Berkeley, California.
19. WESLEY W. ECKENFELDER, JR. (1972) **“Aspectos generales del tratamiento biológico de aguas residuales”**. Universidad Nacional de Ingeniería, Programa Académico de Ingeniería Sanitaria, Organización Panamericana de la Salud. Curso sobre Tratamiento Biológico (1 – 8 agosto 1968). Lima Perú.
20. WINKLER A. MICHAEL. (1994) **“Tratamiento biológico de aguas de desecho”**, Editorial Limusa, S.A. de C.V. México.

Páginas de internet:

<http://www.deu.edu.tr/atiksu/new/726.html> página 15 y 17
<http://scitrav.com/water7asp1/contents.htm> página 16 y 22
<http://www.geocities.com/jerr922/filament.html> página 24
http://www.interbook.net/personal/aymas1/atlas_b.htm página 26