



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA**

INSTITUTO DE INGENIERÍA

**REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN AGUA RESIDUAL
A TRAVÉS DE ACIDIFICACIÓN ANAEROBIA**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN INGENIERÍA

AMBIENTAL

P R E S E N T A :

MARIANA RIVERA MOTA

TUTOR:

DR. SIMÓN GONZÁLEZ MARTÍNEZ

2009



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. Gabriela Moeller Chávez

Secretario: Dra. Mazari Hiriart Marisa

Vocal: Dr. Simón González Martínez

1^{er} Suplente: Dr. Marco Antonio Garzón Zúñiga


2^o Suplente: M. C. Catalina Maya Rendón

Lugar donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería, UNAM.

Director de tesis

Dr. Simón González Martínez



RECONOCIMIENTOS

Al Dr. Simón González por su dirección a lo largo de este trabajo experimental y el transcurso de la maestría. Gracias por sus consejos y asesoría.

Al Dr. Oscar González, por su apoyo en la planeación, experimentación y montaje de este experimento. Así como su asesoría y consejos para la elaboración de este trabajo escrito.

A mi comité tutorial, por el seguimiento y por sus valiosas aportaciones a de este trabajo experimental.

A los miembros del jurado por sus valiosas correcciones hechas a este trabajo escrito.

A la M. I. Guadalupe Urquiza del Instituto de Ingeniería, por su gran apoyo en el laboratorio, en la implementación de técnicas y ayuda para la realización de los análisis microbiológicos, y fisicoquímicos. Gracias por tu ayuda y tu amistad.

A la Dra. Yolanda López, del laboratorio de Inmunología Molecular Microbiana de la Facultad de Medicina de la UNAM, y en especial a la Q.F.B. Rosa Isabel Amieva, por la ayuda brindada para la identificación microbiana en el caso de *Salmonella typhi*.

Al M. Francisco Rojo del laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Química de la UNAM, y en especial a la M. Susana Martínez, por su ayuda en la realización de los análisis cromatográficos.

Al Ing. Rodolfo Peters de la coordinación de Instrumentación del Instituto de Ingeniería, por su apoyo en la reparación y mantenimiento del equipo electromecánico, a lo largo del experimento.

Al M en I. Juan Hilario García superintendente de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de Ciudad Universitaria y a sus trabajadores, por su apoyo a lo largo del montaje y experimentación.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por su apoyo y compañía, por sus enseñanzas y consejos, en esta etapa y a lo largo de mi vida. Muchas gracias por todo.

A mis hermanillos, por su apoyo, gracias por las porras y por su ayuda con este experimento. Gracias porque seamos tan unidos.

A mi familia, abuelas, tías y primillos, por su apoyo y ánimos.

A Jorge, mi ayudante estrella (nuevamente), gracias por tu apoyo durante toda la experimentación, elaboración de documento y toda esta etapa de la Maestría. Gracias por ser mi técnico milusos y echarle tantas ganas a este trabajo.

A mis amigos de la maestría, Jaime y Gastón, por su compañía, ayuda, apoyo y ánimo dados, durante toda la maestría, experimentación, elaboración del escrito y hasta la fecha.

A mis compañeros de cubículo y amigos, Circe, Roberto, Rosa, Lucero y David, por su apoyo, charlas, risas, comentarios y consejos compartidos.

A mis demás amigos y compañeros, que de una forma u otra me han apoyado a lo largo de esta etapa de mi vida. Amigos de la licenciatura, amigos de la maestría, amigos de casa y hasta amigos del baile. **iiiGRACIAS A TODOS!!!**

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	MARCO TEÓRICO.....	2
2.1	Reúso del agua residual en agricultura.....	2
2.1.1	Riesgos a la salud.....	5
2.1.2	Normas Mexicanas Asociadas al contenido de patógenos en el agua.....	9
2.2	Patógenos en aguas residuales.....	11
2.2.1	Tipos de organismos patógenos.....	11
2.2.1.1	Bacterias.....	11
2.2.1.2	Protozoos.....	12
2.2.1.3	Helmintos.....	13
2.2.1.4	Virus.....	13
2.2.2	Bacterias usadas como organismos indicadores.....	15
2.2.2.1	Coliformes fecales.....	16
2.2.2.2	<i>Enterococos faecalis</i>	18
2.2.2.3	<i>Salmonella typhi</i>	19
2.2.3	Remoción de patógenos en agua residual mediante diversos tratamientos.....	21
2.2.3.1	Reducción de patógenos por acidificación anaerobia.....	24
2.3	Metabolismo de los microorganismos en el agua residual.....	29
2.3.1	Fermentación.....	32
2.3.1.1	Fermentación etanólica.....	34
2.3.1.2	Fermentación láctica.....	35
2.3.1.3	Fermentación propiónica.....	35
2.3.1.4	Fermentación butanodiolica y acética por Coli-Aerógenos.....	36
2.3.1.5	Fermentación butírica y acética por clostridios.....	37
2.3.2	Factores que influyen en la producción de AGV de los procesos de fermentación.....	38
2.3.2.1	Tiempo de retención celular (TRC).....	39
2.3.2.2	Tiempo de residencia hidráulica (TRH).....	39
2.3.2.3	Carga orgánica (CO).....	40
2.3.2.4	pH.....	41
2.3.2.5	Temperatura.....	42
2.3.2.6	Tóxicos.....	43
2.3.2.7	Nutrientes.....	43
2.3.3	Transformaciones del material orgánico en la hidrólisis y acidogénesis.....	43
2.4	Reactores discontinuos o SBR.....	46
3	OBJETIVOS Y ALCANCES.....	49
3.1	Objetivos.....	49
3.2	Alcances.....	50
4	METODOLOGÍA.....	51
4.1	Descripción de la unidad experimental y su operación.....	51
4.2	Operación del reactor piloto.....	53
4.2.1	Duración de los ciclos.....	55
4.2.2	Muestreo.....	55

4.3	Procedimiento de experimentación	56
4.4	Enriquecimiento del agua residual.....	58
4.5	Técnicas analíticas	59
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
5.1	Caracterización inicial del agua residual.....	61
5.2	Efecto de la carga orgánica en los parámetros de respuesta.....	62
5.2.1.	<i>DQO total</i>	65
5.2.2	<i>DQO disuelta</i>	68
5.2.3	<i>Sólidos suspendidos totales y volátiles (SST, SSV).....</i>	70
5.2.4	<i>Índice volumétrico de lodos (IVL).....</i>	74
5.2.5	<i>Producción de ácidos grasos volátiles (AGV)</i>	75
5.2.6	<i>Determinación de microorganismos.....</i>	79
5.2.6.1	<i>Coliformes fecales</i>	80
5.2.6.2	<i>Enterococcus faecalis.....</i>	82
5.2.6.3	<i>Salmonella typhi.....</i>	85
5.2.7	<i>Nitrógeno amoniacal (NH₄).....</i>	87
5.2.8	<i>Fósforo (PO₄).....</i>	89
5.2.9	<i>pH y Temperatura.....</i>	90
6	CONCLUSIONES.....	93
7	RECOMENDACIONES	95
8	REFERENCIAS.....	96
9	ANEXO I.....	103
10	ANEXO II.....	105

LISTA DE TABLAS
2. MARCO TEÓRICO

2.1. Ejemplos de regiones regadas con agua residual no tratada (Garza <i>et al.</i> , 2002).....	4
2.2. Aumento de la productividad en los cultivos por el empleo de agua residual en riego en México (CNA, 1995).....	5
2.3. Tiempo de supervivencia para algunos organismos patógenos en diferentes ambientes (Feachem,1983).....	6
2.4. Mortalidad por enfermedades intestinales (OMS, 2006).....	7
2.5. Frecuencia de enfermedades hídricas en el Valle del Mezquital y una zona que emplea agua limpia (Cifuentes <i>et al.</i> , 1994).....	8
2.6. Ejemplos de normas microbiológicas de otros países para aguas residuales utilizadas en el riego de cultivos (Mara, 1990).....	9
2.7. Resumen de valores límites mensuales para patógenos en agua residual para reúso en México (NOM-003-SEMARNAT-1997, y NOM-001-SEMARNAT-1996).....	10
2.8. Agentes patógenos en agua residual doméstica (Crites y Tchobanoglous, 2000).....	14
2.9. Concentraciones de microorganismos presentes en efluentes de tanques sépticos y en aguas residuales no tratadas y su dosis infecciosa (Crook, 1998; Feachem, <i>et al.</i> , 1983; USEPA ,1992).....	15
2.10. Remoción de patógenos alcanzados en distintos tratamientos (Kamizoulis, 2008).....	22
2.11. Efecto de distintos tratamientos sobre la sobrevivencia de bacterias (Goss y Richards, 2007).....	24
2.12. Ejemplos de fermentaciones de mezclas de ácidos (Albert <i>et al.</i> , 2002).....	37

4. METODOLOGÍA

4.1. Horarios y duración de los ciclos en un día.....	55
4.2. Tipo y frecuencia de muestreo para las determinaciones del experimento (C, compuesta , P, puntual y 1er C, muestra del 1er ciclo).....	56
4.3. Parámetros de operación durante la puesta en marcha del reactor.....	57
4.4. Componentes del complemento alimenticio para el reactor y sus equivalencias en DQO....	58
4.5. Técnicas analíticas o forma de determinación de los parámetros del estudio.....	59

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Características del agua residual de Ciudad Universitaria sin adición de complemento (Unidades, mg/l, excepto pH y temperatura).....	62
5.2. Características de DQO y SST, del agua residual enriquecida.....	63
5.3. Valores promedio de CO, TRC y SSLM en las etapas experimentales.....	64
5.4. Valores promedio de DQO total con respecto a las cargas orgánicas.....	65
5.5. Valores promedio de DQO disuelta con respecto a las cargas orgánicas.....	68
5.6. Valores promedio de SST con respecto a las cargas orgánicas.....	71
5.7. Valores promedio de SSV con respecto a las cargas orgánicas.....	72
5.8. Valores promedio de IVL con respecto a las cargas orgánicas	74
5.9. Valores de AGV de muestras para las tres etapas experimentales.....	76
5.10. Valores promedios de especies de AGV y grado de acidificación en las tres etapas experimentales.....	79
5.11. Valores de los análisis microbiológicos de coliformes fecales	80

5.12. Valores de los análisis microbiológicos de <i>Enterococcus faecalis</i>	83
5.13. Valores promedio de NH ₄ con respecto a las cargas orgánicas.....	88
5.13. Valores promedio de PO ₄ con respecto a las cargas orgánicas.....	89
5.14. Valores promedio de temperatura y pH, en las diferentes etapas experimentales.....	90

LISTA DE FIGURAS
2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fotografía en microscopio electrónico de <i>Escherichia coli</i> principal representante de los coliformes fecales fecales (University of California, 2007)	18
2.2. Fotografía en microscopio electrónico de <i>Enterococcus faecalis</i> (Mircrobewiki, 2008).....	19
2.3. Fotografía en microscopio electrónico de <i>Salmonella typhi</i> (Mircrobewiki, 2008).....	21
2.4. Efectos de los ácidos grasos sobre <i>E. coli</i> (Adaptado de Puchjada y Oleszkiewicz, 2006).....	28
2.5. Relaciones energéticas entre las rutas catabólicas y anabólicas (Lehninger <i>et al.</i> , 1995).....	30
2.6. Procesos catabólicos en bacterias facultativas en agua residual (González-Martínez, 2008, adaptado).....	32
2.7. Principales tipos de fermentación en aguas residuales (Schlegel, 1988)	33
2.8. Reacciones generales en una fermentación alcohólica (Schlegel, 1988)	34
2.9. Reacciones generales en la fermentación láctica homofermentativa (Schlegel, 1988).....	36
2.10. Esquema con transformaciones de material suspendido y disuelto durante la hidrólisis y acidificación (Adaptado de González-Martínez, 2008).....	45

4. METODOLOGÍA

4.1. Representación esquemática del reactor y sus componentes.....	52
4.2. Fotografía del reactor SBR piloto, anaerobio.....	53
4.3. Etapas de un ciclo de un biorreactor por lotes con biomasa en suspensión.....	54

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Variación de los SST en el reactor, con respecto a la DQO total del influente, a diferentes cargas orgánicas (CO: kgDQO/kgSST·d).....	63
5.2. Comportamiento de DQO total del influente y efluente a diferentes cargas orgánicas (CO: kgDQO/kgSST·d).....	67
5.3. Comportamiento de DQO disuelta del influente y efluente a diferentes cargas orgánicas (CO: kgDQO/kgSST·d).....	69
5.4. Comportamiento de SST en el influente y efluente (CO: kgDQO/kgSST·d).....	72
5.5. Comportamiento de SSV en el influente y efluente (CO: kgDQO/kgSST·d).....	73
5.6. Relación entre los SST y SSV del reactor durante todo el experimento.....	73
5.7. Comportamiento del IVL en el reactor (CO: kgDQO/kgSST·d).....	75
5.8. Placas con cultivos de coliformes fecales con diluciones de 10^{-4} a 10^{-7} ml de agua de influente y efluente.....	82
5.9. Placas con cultivos de <i>Enterococcus faecalis</i> con diluciones de 10^{-4} a 10^{-7} ml de agua de influente y efluente.....	84
5.10. Variedad de colonias encontradas en el medio selectivo de sulfito y bismuto (Bioxon).....	86
5.11. Comportamiento del pH y temperatura a lo largo de la experimentación (CO:kgDQO/kgSST·d).....	91

RESUMEN

Este trabajo tuvo como principal objetivo evaluar el efecto de la acidificación anaerobia en la remoción de dos grupos de bacterias indicadoras de contaminación (coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*) y una especie patógena (*Salmonella typhi*). Se empleó un reactor discontinuo (SBR) piloto anaerobio con un volumen de 1.85 m³. El reactor fue alimentado con agua residual de Ciudad Universitaria (UNAM, ciudad de México) y un complemento alimenticio de maltodextrina y proteína vegetal hidrolizada de grado alimenticio.

Se compararon tres cargas orgánicas (0.5, 0.6 y 1.1 kgDQO/kgSST-d) a lo largo de 182 días de operación. Se determinaron distintos parámetros en el agua residual como DQO total y disuelta, sólidos suspendidos totales y volátiles (SST y SSV), contenido de fosfatos, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles (AGV) y tres grupos de bacterias.

Los resultados indican que, durante la experimentación bajo las tres cargas orgánicas, el número de microorganismos indicadores promedio disminuye entre 0.6 y 1 unidades logarítmicas. Las mayores remociones se encontraron en la carga orgánica de 1.1 kgDQO/kgSST-d, que fueron de 1 y 0.9 unidades log para coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*, respectivamente. No fue posible determinar *Salmonella typhi* con el método de filtración en membrana y cultivo en medio selectivo de sulfito de bismuto.

En el caso de los parámetros como contenido de nitrógeno amoniacal y fosfatos no se vieron afectados por las condiciones anaerobias del reactor. En el caso del pH del agua del reactor se mantuvo en valores cercanos a la neutralidad (entre 6.6 y 6.9) en las tres etapas experimentales.

Se logró la transformación bioquímica de los contaminantes orgánicos en el agua residual mediante procesos anaerobios de acidogénesis. La mayor tasa de producción de ácidos grasos volátiles (19.5 mgDQO/l•h) y el mayor grado de acidificación (26%) se observaron con la carga orgánica de 0.6 kgDQO/kgSST•d. En el caso de las cargas orgánicas de 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST•d se obtuvo un grado de acidificación de 8.7% y 5.1%, respectivamente. Se observó producción de AGV en las tres etapas experimentales con predominancia de ácido acético (58%). Además se produjeron ácido propiónico, isobutírico y fórmico, en menores proporciones.

Durante las dos primeras etapas experimentales (cargas orgánicas 0.5 y 0.6 kgDQO/kgSST•d) no se observó remoción significativa de DQO disuelta mas, durante la tercera etapa (carga orgánica de 1.1 kgDQO/kgSST•d) se logró una remoción del 39% concluyéndose que a mayores cargas orgánicas es posible remover material orgánico disuelto.

La remoción promedio de SST en el agua residual se presenta durante las tres etapas experimentales: La mayor remoción (23%) fue para la etapa con carga orgánica más baja (0.5 kgDQO/kgSST•d) y la menor (7%) para la carga de 1.1 kgDQO/kgSST•d. La remoción de SST puede deberse a un incremento de la acción combinada de la sedimentación de los microorganismos y a la hidrólisis de una parte de los sólidos en suspensión en el reactor.

ABSTRACT

The main objective of this work was to evaluate the effect of anaerobic acidification over the removal of two bacterial indicators (faecal coliforms and *Enterococcus faecalis*) and pathogenic specie (*Salmonella typhi*). An anaerobic pilot SBR ($V=1.85 \text{ m}^3$) was used. It was fed with wastewater of the Universidad Nacional Autónoma de México and a food grade supplement containing maltodextrine and vegetal hydrolyzed proteins.

Three experimental runs with different organic loading rates (0.5, 0.6 y 1.1 kgCOD/kgTSS-d) were compared in the course of 182 days of operation. During the experimental time wastewater variables were measured as total and soluble COD, total and volatile suspended solids (TSS, VSS), ammonia nitrogen, phosphates, volatile fatty acids (VFA) and the above mentioned microorganisms.

Results showed that the microorganisms were removed between 0.6 and 1 log units during the three organic loading rates. The higher remotion were founded in organic loading rate of 1.1 kgCOD/kgTSS-d, with values of 1 and 0.9 for faecal coliforms and *Enterococcus faecalis*, respectively. It was not possible to determine *Salmonella typhi* with the method of membrane filtration and further cultivation in selective bismuth sulphite agar.

The concentration of ammonia nitrogen and phosphates was not affected by the anaerobic conditions in the reactor. pH values in the reactor were almost neutral (6.6 to 6.9) in all three experimental runs.

The biochemical transformations of the organic pollutants in wastewater were achieved through anaerobic acidification processes. The highest VFA production rate of 19.5 mgCOD/l-h and the highest acidification degree (26%) were observed under the organic loading rate of 0.6 kgCOD/kgTSS-d. Acidification degrees of 8.7% and 5.1% were observed under the organic loading rates of 0.5 and 1.1 kgCOD/kgTSS-d, respectively. Production of VFA was observed under the three experimental phases with acetic acid as the predominant forms. Also propionic, isobutyric and formic acids were produced in lower amounts than acetic acid.

No meaningful dissolved COD removal was observed during the experimental runs under the organic loading rates of 0.5 and 0.6 kgCOD/kgTSS-d but, during the third experimental run (organic loading rate of 1.1 kgCOD/kgTSS-d), a removal of 39% was observed: The higher the organic loading rate, the higher dissolved organic material removal.

The total suspended solids (TSS) removal was observed during all three experimental runs. The highest removal (23%) was for the organic loading rate of 0.5 kgCOD/kgTSS-d; the lowest removal (7%) was observed during the organic loading rate of 1.1 kgCOD/kgTSS-d. The combined effect of sedimentation and hydrolysis is responsible for the TSS removal.

1 INTRODUCCIÓN

La necesidad de fuentes de agua alternas a las aguas superficiales y subterráneas para usos industrial, agrícola y municipal, ha hecho del reúso una práctica común, sobre todo en países en desarrollo donde, por su calidad y cantidad, son insuficientes para satisfacer las necesidades de su población. El reúso del agua residual en la agricultura ha sido una práctica común desde hace décadas y en forma generalizada, pero con poca planificación ya que se emplea sin ningún tipo de tratamiento. La principal problemática de este tipo de prácticas sobre todo en la agricultura, es la incidencia de enfermedades gastrointestinales provocada por la gran cantidad y variedad de patógenos contenidos en el agua residual cruda. Los riesgos existentes pueden ser por el contacto directo, en el caso de los agricultores, y también por el consumo de vegetales u hortalizas regadas con este tipo de agua. De aquí la importancia de eliminar los patógenos presentes en ella, sin disminuir su contenido de nutrientes, ni material orgánico, ampliamente aprovechados en la agricultura. Aunque existen diversos tipos de desinfección que eliminan patógenos, estos son costosos, forman subproductos tóxicos y en todos los casos requieren un tratamiento previo que elimine sólidos y nutrientes. Así, y con el propósito de determinar si los patógenos se eliminan al aplicar tratamientos físicos y biológicos, como en tratamientos anaerobios. Es por esto, que en este trabajo se evaluó el efecto de un tratamiento biológico, la acidificación anaerobia, sobre dos indicadores microbiológicos de contaminación (coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*) y un patógeno (*Salmonella typhi*), con el fin de proponerse como un tratamiento previo del agua residual, que facilite la disposición de material orgánico para un posteriores tratamientos biológicos, que permita su reúso en la agricultura sin ningún riesgo. Las ventajas de la acidificación anaerobia son: su bajo costo como tratamiento, no elimina los macronutrientes (nitrógeno y fósforo) y una baja reducción de cantidad de materia orgánica del agua residual. Además no requiere tiempos de retención elevados ya que no se busca una digestión anaerobia, sino una solubilización de los sólidos en suspensión, lo cual es la primera fase de los procesos anaerobios avanzados. Por otro lado, este es un proceso que se da comúnmente en sistemas de alcantarillado y recolección de agua residual de ciudades del país, lo cual puede ser visto como un tratamiento previo antes de su reúso, sobre todo en la agricultura.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Reúso del agua residual en agricultura

El reúso del agua residual se entiende como la práctica de recurrir a este tipo de aguas, para emplearlas con fines prácticos, luego de aplicarles un cierto nivel de tratamiento (Moeller, 2005). El reúso se refiere también a un uso escalonado, el cual se propone como: consumo doméstico, industrial y agrícola (Falkenmark, 1986) del agua residual como un recurso (Jiménez y Ramos, 1999). Esta práctica se ha incrementado en las últimas décadas, promovida por el crecimiento demográfico, la urbanización y la demanda de fuentes alternas de agua, para diversos usos como el industrial y el agrícola (OMS, 2006).

El reúso del agua residual especialmente necesario en regiones donde es escasa apoya el ahorro, el reciclamiento y su uso eficiente; estas prácticas permiten compaginar las necesidades de desarrollo de las regiones, planteadas por la industria, la agricultura y los asentamientos humanos (Jiménez y Ramos, 1999). El reúso del agua residual tratada además de controlar la contaminación y mantener sus fuentes de abastecimiento, también permite emplear preferentemente el agua proveniente de los acuíferos, de mejor calidad, para el consumo humano y disminuir su uso en actividades agrícolas.

En México, la agricultura juega un papel crucial, al ser una de las principales actividades económicas que más demanda. Por ejemplo, del volumen total de agua empleada (77.3 km^3) 59.4 km^3 son empleado con uso agrícola, de los cuales 39.7 km^3 son de origen superficial y 19.7 km^3 provienen de extracción de acuíferos, lo cual equivale a un 70% de esta extracción (CNA, 2006). Lo que explica la tendencia hacia un mayor reúso del agua para la agricultura ya sea cruda o tratada.

Inicialmente el reúso del agua residual en la agricultura, comenzó hace unos 150 años a partir de la implementación de sistemas de drenaje en ciudades de Europa y Norteamérica. El agua residual era reusada sin ningún tipo de tratamiento o se descargaba al los ríos sin tratamiento previo; al observarse que ésta práctica causaba grandes epidemias y malos olores se comenzó a hacer la separación de agua residual y se empleó en suelo agrícola, difundiéndose como práctica común a muchos países de Europa y América (National Academy of Sciences, 1996). Si bien, el reúso se llevó a cabo sin planeación, posteriormente se buscó que su reúso fuera de forma intencional o planificada (Jiménez *et al.*, 2005).

De manera general, el reúso planeado de agua residual en la agricultura comenzó a principios de los años 20 los Estados Unidos, en los estados de Arizona, California y otros de la región oeste. El interés principal del reúso era impedir la sobrecarga de nutrientes en cuerpos de agua naturales y posteriormente se observó que ésta era una fuente de agua para riego, sobre todo en regiones áridas donde no existe suficiente agua potable. En Colorado y Florida se desarrollaron sistemas para el reúso urbano (Moeller, 2005). La normatividad para el reúso también inició en California y a partir de 1965, el propósito de la misma era impulsar de manera decisiva el reciclamiento y el reúso de las aguas residuales en varios países. Aún cuando, esta práctica no emplea más del 1% de las aguas residuales de Estados Unidos, en otros países como India, Israel, Sudáfrica, Marruecos y otros países de América Latina, sobre todo en países en desarrollo, más del 20% de sus aguas residuales se emplean para reúso en la agricultura (Bitton, 2005)

Respecto al reúso de aguas residuales en la agricultura a nivel mundial, México es el segundo país que más agua residual emplea en sus actividades agrícolas, después de China; en América Latina, México es el país que más hectáreas irriga con aguas residuales (Tabla 2.1). Se estima que en el mundo al menos 20 millones de ha pertenecientes a 50 países en todo el mundo son cultivadas con agua residual cruda, diluida o con cierto grado de tratamiento (Mara *et al.*, 2007). Del total de agua residual producida y colectada en el país (425 m³/s) se reusan 150 m³/s que representan el 35% del total siendo los principales usos el agrícola (83%), público-urbano (7%) e industrial (10%) (CNA, 2006).

Se estima que en México alrededor del 44.3% de las aguas residuales son utilizadas sin tratamiento en la agricultura. También la Comisión Nacional del Agua (CNA, 1995) estima que en el país se irriga un área de 350 000 ha con un volumen de 160 m³/s de aguas de

origen municipal, algunas mezcladas con aguas residuales industriales, aguas superficiales o de pozo.

Existen en México más de 30 grandes regiones donde el riego agrícola es principalmente con aguas negras no tratadas como: Ciudad Juárez, Chihuahua; Región Lagunera, Coahuila; Valsequillo, Puebla; Tulancingo, Hidalgo, Durango, Guadalajara, Monterrey, Morelia y Querétaro, entre otras (Garza *et al.*, 2002). Sin embargo, a pesar de que existe beneficio por el uso de aguas residuales en los cultivos, existen graves riesgos a la salud provocados por este manejo.

Tabla 2.1. Ejemplos de regiones irrigadas con agua residual no tratada (Garza *et al.*, 2002)

País	Ciudad o región	Hectáreas /año
China	Diversas ciudades	1,330,000
México	Diversas ciudades	350,000
	Valle del Mezquital	130,000
	Valle de Juárez	26,000
India	Diversas ciudades	85,500
Sudáfrica	Johannesburgo	18,000
Chile	Santiago	16,000
Estados Unidos	Diversas ciudades	11,875
Australia	Melbourne	10,000
Israel	Diversas ciudades	8,800
Perú	Lima	6,800
Túnez	Túnez	4,450
Argentina	Mendoza	3,700
Arabia Saudita	Riad	2,850
Sudán	Khartum	2,800

En México el uso del agua residual para riego agrícola tiene sus orígenes en la construcción de una salida para las aguas residuales del Valle de México. En el año 1890 se comenzó a aprovechar esta agua en la región del Valle del Mezquital en Tula, Hidalgo, para el riego por anegación de cereales, hortalizas y alfalfa. Posteriormente esta región se estableció como el Distrito de Riego 03, ampliándose a la fecha al Valle de Alfajayucan en el Distrito de Riego 100, también en Hidalgo (Moeller, 2005). Actualmente otras poblaciones que se encuentran

a lo largo del Gran Canal de Desagüe aprovechan el agua residual generada en el Valle de México, principalmente la región de Chalco-Chiconautla (Jiménez y Ramos, 1999). Aproximadamente un caudal de 45 m³/s de agua residual no tratada proveniente del Valle de México y un caudal menor de origen pluvial, recorren 70 km fuera de la Zona Metropolitana y riega unas 90000 ha de cultivos en la zona del Valle de Mezquital (Cifuentes *et al.*, 2000). Existen ventajas con el reúso de agua residual en la agricultura debido a que es una fuente de agua en el lugar donde se origina sin necesidad de recurrir al bombeo desde zonas de baja altitud (Jiménez y Ramos, 1999); es una fuente de nutrientes para los cultivos y es un tratamiento adicional para los efluentes antes de incorporarse a los mantos acuíferos (Bahri, 1999; Bitton, 2005). En México, del total del agua extraída de fuentes subterráneas para 1993 era de 2290 m³/s, el 77% es empleado en la agricultura con bajas eficiencias; en comparación al incremento de la productividad en los cultivos observada con el uso de aguas residuales (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Aumento de la productividad en los cultivos por el empleo de agua residual en riego en México (CNA, 1995)

Cultivo	Rendimiento (ton/ha)		Aumento (%)
	Aguas negras	Aguas blancas	
Alfalfa	120	70	+ 71
Maíz	5	2	+ 150
Trigo	3	1.8	+ 67
Cebada	4	2	+ 100
Avena	22	12	+ 83
Tomate	35	18	+ 94
Chile	12	7	+ 71

2.1.1 Riesgos a la salud

En países en desarrollo son comunes las enfermedades de origen hídrico causadas por agentes infecciosos; la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó 4000 millones de casos de diarreas anuales y un millón de casos asociadas con la falta de acceso al agua potable (Gleick, 2002). El reúso del agua residual cruda tiene como consecuencia las enfermedades hídricas causadas por la elevada cantidad y variedad de organismos

patógenos en esta y por los tiempos de sobrevivencia de los patógenos en el suelo y plantas comestibles (Tabla 2.3). Las causas de enfermedades asociadas con su uso se dan generalmente debido a la exposición por agentes infecciosos por contacto directo con los suelos regados con agua residual, la ingestión accidental de agua contaminada, el consumo de hortalizas regadas con este tipo de agua y también a la exposición a largo tiempo, con los aerosoles biológicos provenientes de sitios de irrigación (Bitton, 2005).

Tabla 2.3. Tiempo de supervivencia para algunos organismos patógenos en diferentes ambientes (Feachem *et al.*, 1983)

Patógeno	Tiempo de sobrevivencia (días)		
	Agua dulce y residual	Cultivos	Suelo
Bacterias			
<i>Salmonella spp.</i>	30 a 60	15 a 30	50 a 120
<i>Shigella</i>	10 a 30	5 a 10	50 a 120
<i>Vibrio cholerae</i>	30 a 60	2 a 5	50 a 120
Protozoos			
<i>Entamoeba histolytica</i> , quiste	15 a 30	2 a 10	10 a 20
Helmintos			
<i>Ascaris lumbricoides</i> , huevos	Varios meses	30 a 60	Varios meses
Virus			
Enterovirus	50 a 120	15 a 60	20 a 100

Según la OMS, los riesgos a la salud por el consumo y contacto con hortalizas y granos regados por agua residual son las infecciones intestinales como ascariasis, salmonelosis, cólera, giardiasis, shigelosis, entre otras. La incidencia de enfermedades diarreicas relacionadas con el uso de agua tratada es elevada y causa muertes en algunos casos como, se muestra en la Tabla 2.4. En un informe de la UNICEF (2008) indica la ocurrencia de 4000 millones de casos de diarrea, de los cuales 1.8 millones mueren a causa de ésta y el 90% de éstos son en niños menores de 5 años. La diarrea constituye un problema de salud pública muy importante provocado por las deficiencias en materia de agua y saneamiento; se menciona que los excrementos son la causa principal de propagación de enfermedades diarreicas; un gramo de excremento puede contener 10 millones de virus, un millón de bacterias, 1000 quistes de parásitos y 100 huevos de parásitos (UNICEF, 2008)

Tabla 2.4. Mortalidad por enfermedades intestinales (OMS, 2006)

Enfermedad	Mortalidad (mortalidad/año)	Comentarios
Diarrea	1,798,000	90% muertes ocurren en niños
Tifoidea	600,000	Estimados en 16 millones de casos
Schistosomiasis	15,000	Se da en 74 países y se estima que unas 200 millones de personas han sido infectadas
Ascariasis	3,000	Estimado a 1.45 mil millones de infecciones
Teniasis	3,000	Estimada en 1.3 mil millones de infecciones
Hepatitis A	No disponible	Se estima 1.4 millones de casos por año

En una revisión de 25 casos de estudio realizados en países como México, Marruecos, Egipto y Alemania, se encontró que hay una gran incidencia de enfermedades intestinales en los agricultores y la población que se encuentra cercana a los campos de cultivo irrigados con agua residual. Las infecciones más comunes que se encontraron fueron infecciones entéricas ocasionadas por bacterias, virus y también cierta incidencia de enfermedades parasitarias causadas por *Ascaris lumbricoides* y *Giardia lamblia*, y en menor grado se detectó salmonelosis (Blumenthal *et al.*, 2001).

Según la Secretaría de Salud, en México se reportaron en todo el país 4535 casos de infecciones intestinales por cada 100,000 habitantes, 792 casos de amebiasis y 498 casos de helmintiasis, en el año 2004 (SSA, 2006).

En un estudio en México, en la zona de cultivo por chinampas en Xochimilco, se evaluó el contenido de dos grupos de bacterias indicadoras de contaminación (coliformes totales y coliformes fecales) sobre hortalizas regadas con agua. En lechuga (*Lactuca sativa*) se encontraron 3.7×10^4 coliformes totales y 3.6×10^3 coliformes fecales como número más probable en 100 g de masa seca (NMP/100g); en espinaca (*Spinacia oleracea*) 8.7×10^3 y 2.4×10^3 NMP/100g para coliformes totales y coliformes fecales, respectivamente. Lo cual mostró en el estudio que el consumo de estos vegetales representa un riesgo potencial para la salud pública, especialmente cuando los vegetales se comen crudos (Rosas *et al.*, 1984). Mazari-Hiriart, *et al.* (2008) realizaron otro estudio en tres sistemas de agua localizados en la Ciudad de México, y encontraron bacterias enteropatógenas, como *Helicobacter pylori*, algunas especies de *Aeromonas* y *Vibrio fluvialis*, lo cual indica que el agua empleada para

consumo humano o irrigación es un importante vehículo de transmisión. En un estudio realizado en India se observó que existen riesgos de que contraigan infecciones entéricas provocadas por helmintos y bacterias (Shuval *et al.*, 1989).

Existe evidencia de riesgos de infecciones entéricas, especialmente relacionada con helmintos como *Ascaris lumbricoides* y *Trichuri trichiura*, en agricultores expuestos a irrigación con agua residual sin tratar en el Valle del Mezquital (Cifuentes *et al.*, 1994). Blumenthal *et al.* (2001), en este mismo lugar, demostraron que el contacto directo con agua residual incrementa el riesgo de infecciones con *A. lumbricoides* y de diarrea en niños menores de 5 años, sobre todo en temporada seca.

Otro estudio realizado en el Valle del Mezquital (Cifuentes *et al.*, 1994) indica que el empleo de agua negra para riego es la principal causa de transmisión de enfermedades por helmintos. De hecho, el riesgo por ascariasis es 16 veces mayor que en las zonas donde se emplea agua limpia para la población entre 4 y 14 años (Tabla 2.5).

Tabla 2.5. Frecuencia de enfermedades hídricas en el Valle del Mezquital y una zona que emplea agua limpia (Cifuentes *et al.*, 1994)

Especie	TASA DE MORBILIDAD			
	Población afectada por edades	Zona regada con aguas negras (a)	Zona regada con agua limpia (b)	Relación (a/b)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	0 a 4	15.3	2.7	5.7
	5 a 14	16.1	1.0	16.0
	Mayor 15	5.3	0.5	11.0
<i>Giardia lamblia</i>	0 a 4	13.6	13.5	1.0
	5 a 14	9.6	9.2	1.0
	Mayor 15	2.3	2.5	1.0
<i>Entamoeba histolítica</i>	0 a 4	7.0	7.3	1.0
	5 a 14	16.4	12.0	1.3
	Mayor 15	16	13.8	1.2

Debido a la seria problemática existente relacionada con el empleo de agua residual no tratada y los riesgos a la salud, la comunidad científica ha elaborado criterios de calidad, los cuales son utilizados por organismos como la FAO y la OMS para elaborar las pautas de calidad; y a su vez, los gobiernos pueden utilizarlos para establecer normas de calidad que se aplican en los países mediante leyes y reglamentos (CEPIS/OPS, 1995). En México, existen normas que regulan la calidad microbiológica del agua empleada para reúso.

2.1.2 Normas Mexicanas Asociadas al contenido de patógenos en el agua

Debido a la gran incidencia de enfermedades la Organización Mundial de la Salud (2006) establece límites máximos de microorganismos en el agua residual tratada para reúso agrícola, se menciona que debe existir menos de 1000 coliformes fecales en NMP/100 ml y menos de 1 huevo de helminto por litro.

En una comparación de algunas normas de calidad de aguas residuales para uso en riego de cultivos de ciertos países se observa que en éstas se especifican los límites explícitos como densidad máxima de coliformes y en algunos casos el tratamiento mínimo requerido, de acuerdo con la clase de cultivo que se va a irrigar (CEPIS/OPS, 1995), cómo se muestra en la Tabla 2.6. Donde se observa que en todos los casos existen restricciones de contenido de coliformes y de empleo del agua residual, ya sea en riego restringido o no restringido. Como se puede observar México sigue una normatividad similar a la de la OMS, mientras que los países en la Tabla 2.6 manejan estándares más elevados al no permitir el riego de hortalizas que se comen crudas con agua residual, indicados en la Tabla 2.7.

Tabla 2.6. Ejemplos de normas microbiológicas de otros países para aguas residuales utilizadas en el riego de cultivos (Mara, 1990)

País	Riego restringido	Riesgo no restringido
Omán	< 23 CT/100 ml Media <2.2 CT/100 ml (coliformes totales)	No se permite el riego de cultivos
Kuwait	<10000 CT/100 ml	< 100 CT/100 ml No se permite el riego en el caso de verduras que se comen crudas
Arabia Saudita	Se permite el uso del efluente secundario para forraje, cultivos de temporal, verduras tratadas para su consumo y también regar jardines.	< 2.2 CF/100 ml < 50 CT/100 ml
Túnez	Árboles frutales, forraje y verduras que se consumen cocidas - Tratamiento secundario (incluida cloración) - Ausencia de <i>Vibrio cholerae</i> y Salmonella.	No se permite el riego de verduras que se comen crudas
Perú	Tratamiento específico según el tipo de reutilización	No se riegan los cultivos de poca altura, tuberculos ni raíces que pueden comerse crudos

Una de las principales características propias del reúso agrícola en México es que las aguas residuales de muchas ciudades que son utilizadas en esa actividad han establecido compromisos con los agricultores. En 1995 se empleaban 102 m³/s de agua residual para

regar 256 827 ha, sin que existiera un control ni una supervisión del origen del agua residual (municipal o industrial). Además, como existe la preferencia por el agua residual sobre el agua clara, se hizo una práctica ordinaria del reúso, sin ningún control de tipo sanitario hasta la aparición de la NOM 032 y 033 en su versión de Norma Técnica Ecológica de 1988 (Moeller, 2005) (estas normas dejaron de ser vigentes al ser sustituidas por las NOM 001 y 003). Actualmente la Norma 003 regula las características microbiológicas del agua empleada para reúso en diversas actividades (NOM 003-SEMARNAT-1997).

En México las Normas que regulan el contenido de patógenos en el agua residual son la NOM-003-SEMARNAT-1997 (DOF, 1998), para agua tratada que se reúsa en servicios públicos, y la NOM-001-SEMARNAT-1996 (DOF, 1996), para agua residual descargada en bienes nacionales, entre ellos el suelo. En estas normas se utilizan a los coliformes fecales y los huevos de helmintos como organismos indicadores de contaminación biológica y manejan los valores límites que se mencionan en la Tabla 2.7. Por lo tanto, es necesario realizar un tratamiento del agua que elimine los patógenos sin disminuir el contenido de nutrientes disponibles para las plantas.

Tabla 2.7. Resumen de valores límites mensuales para patógenos en agua residual para reúso en México (NOM-003-SEMARNAT-1997, y NOM-001-SEMARNAT-1996)

NORMA	TIPO DE PATÓGENO		
	Huevos de helminto (h/1 l)	Organismos coliformes	
		Totales (NMP ó UFC /100 ml)	Fecales (NMP ó UFC /100 ml)
NOM-003-ECOL-1997 (agua tratada para reúso) (DOF, 1998)	≤1 (en reúso con contacto directo al público)	-	240
	≤5 (en reúso con contacto indirecto u ocasional)	-	1000
NOM-001-SEMARNAT-1996 (agua residuales descargadas al suelo) (DOF, 1996)	1 (riego no restringido)	-	1000 (promedio mensual)
	5 (riego restringido)	-	2000 (promedio diario)

2.2 Patógenos en aguas residuales

2.2.1 Tipos de organismos patógenos

En las aguas residuales existe una gran cantidad de organismos patógenos que pueden provenir de desechos humanos que estén infectados o que sean portadores de una enfermedad determinada. Las principales clases de organismos patógenos que pueden encontrarse en aguas residuales son: bacterias, parásitos (protozoarios y helmintos) y virus (Tabla 2.8).

En general las bacterias patógenas excretadas por el hombre causan por lo general enfermedades del tracto gastrointestinal, como fiebre tifoidea, paratifoidea, amebiasis y cólera. Estos organismos son altamente infecciosos y provocan un número considerable de muertes en países en desarrollo, sobre todo los que se encuentran en el trópico (Madigan *et al.*, 1997). Existen diversos tipos de organismos patógenos como bacterias, protozoarios helmintos y virus, de las cuales se dará una breve explicación.

2.2.1.1 Bacterias

Existen muchas clases de bacterias que habitan en el tracto intestinal del humano, que son inofensivas; sin embargo, cuando las personas se encuentran infectados con algún tipo de enfermedad excretan en sus heces bacterias patógenas, contaminando las aguas residuales domésticas. Las heces contienen entre 10^6 a 10^{12} bacterias por gramo, lo cual representa el 9% de su peso seco (Dean y Lund, 1981; UNICEF, 2008). Las bacterias han sido caracterizadas en grandes grupos:

- **Bacterias anaerobias facultativas, gram negativo**, como *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* y *Shigella*.
- **Bacterias aerobias gram negativo**, como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Acinobacter*.
- **Bacterias gram positivo, formadoras de esporas**, como el género *Bacillus*.
- **Bacterias gram positivo, que no forman esporas**, como *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*.

La *Salmonella* es uno de los principales grupos de bacterias patógenas que pueden causar enfermedades en humanos y animales. La fiebre tifoidea es ocasionada por *Salmonella typhi*

y es la enfermedad más grave ocasionada por estas bacterias. Otro género de bacterias menos común es *Shigella*, que causa una enfermedad intestinal conocida como disentería bacilar o shigellosis. Se ha encontrado que los principales focos de propagación de la shigellosis son zonas donde las aguas subterráneas, que se usan para consumo, han sido contaminadas con aguas residuales (Crook, 1998).

Existen otras bacterias que se encuentran en aguas residuales crudas como: *Vibrio*, *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Leptospira* y especies de *Yersinia*. La bacteria *Vibrio cholerae* es el agente causante de la enfermedad del cólera, la cual es transmitida principalmente a través del agua. La *Mycobacterium tuberculosis* se ha encontrado en aguas residuales municipales, que pueden contaminar cuerpos de agua como ríos y lagos, y ser transmitida a la gente. La gastroenteritis es una enfermedad común atribuida a bacterias consideradas como no patógenas como lo son *Escherichia coli* y *Pseudomonas*, las cuales afectan sobre todo a niños pequeños. La bacteria *Campylobacter jejuni* se ha identificado como causante de diarrea en humanos. Aunque se ha establecido que estos microorganismos causan enfermedades en animales, también han sido involucrados como agentes etiológicos en la transmisión de enfermedades humanas de origen hídrico (Crook, 1998).

2.2.1.2 Protozoos

La mayoría de los parásitos protozoarios producen quistes capaces de sobrevivir fuera de sus huéspedes en condiciones ambientales adversas. El enquistamiento es un proceso disparado por factores como la falta de nutrientes, la acumulación de metabolitos tóxicos y la respuesta inmune de los organismos huésped; posteriormente del quiste emergerá un trofozoito, bajo condiciones ambientales apropiadas, continuando el ciclo de vida del protozoario. Los protozoos patógenos de mayor interés son *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora* spp. y *Giardia lamblia*, los cuales tienen gran impacto sobre individuos con deficiencias en su sistema inmunológico como los niños pequeños, personas de edad avanzada, individuos con cáncer o sida. La infección con *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* es causada por la ingestión de agua contaminada con ooquistes y quistes. Estos protozoos pueden ocasionar síntomas como diarrea severa, dolor estomacal, náuseas y vómito, que puede extenderse por largos periodos de tiempo. Estos organismos no pueden ser eliminados completamente por sistemas convencionales de desinfección como cloración, radiación UV (Crites y Tchobanoglous, 2000).

2.2.1.3 Helmintos

Aunque estos no son microorganismos, su presencia es de gran importancia en las aguas residuales y repercuten en la salud humana. Los parásitos helmínticos que pueden encontrarse en aguas residuales son las lombrices intestinales, como la lombriz estomacal *Ascaris lumbricoides*, la tenia solitaria *Taenia saginata* y *Tenia solium*, los gusanos intestinales *Trichuris trichuria*, la lombriz intestinal *Ancylostoma duodenale* y el *Necator americanus*, y la lombriz filiforme *Strongyloides stercoralis*. La etapa infecciosa de algunos helmintos es el estado adulto o de larva y en otros la etapa infecciosa es el estado de huevo, el cual es excretado en las heces y permanece en el agua residual, suelo y comida. Los huevos y larvas, cuyo tamaño oscila entre 10 y 100 μm , resisten condiciones ambientales desfavorables y pueden sobrevivir a los tratamientos convencionales de desinfección de aguas residuales, aunque algunos huevos pueden ser removidos mediante procesos convencionales de tratamiento como sedimentación, filtración y lagunas de estabilización (Bitton, 2005; Crites y Tchobanoglous, 2000).

2.2.1.4 Virus

Existen más de 140 clases diferentes de virus entéricos, capaces de transmitir alguna enfermedad, que son excretados por el hombre. Estos virus se introducidos oralmente en el ser humano y se reproducen en el tracto intestinal de personas infectadas y son expulsados en grandes cantidades en las heces (Bitton, 2005). Estos son responsables de un amplio espectro de enfermedades como sarpullido, fiebre, gastroenteritis, infecciones respiratorias, del sistema nervioso central y cardiacas. Sin embargo, los virus entéricos están presentes en una proporción relativamente baja, con respecto a otros patógenos. Los virus entéricos que presentan mayor repercusión en la salud humana son enterovirus (polio, eco, coxsackie), virus Norovirus, rotavirus, retrovirus, calcivirus, adenovirus y virus de hepatitis A. Los virus que producen enfermedades diarreicas y que son propagados por el agua son los rotavirus y virus Norovirus. Los reovirus y adenovirus, causantes de enfermedades respiratorias, gastroenteritis e infecciones en los ojos, se han encontrado y aislado a partir de agua residual (Crook, 1998; Madigan *et al.*, 1997).

En la Tabla 2.8 se muestra un resumen de los organismos potencialmente infecciosos presentes en agua doméstica no tratada. El riesgo de infección por alguno de estos organismos depende de la dosis infecciosa, la capacidad de los organismos de causar

infección o patogenicidad y de la susceptibilidad del huésped.

En la Tabla 2.9 se muestra las dosis infecciosas de algunos organismos patógenos y las concentraciones en las que se encuentra en el agua residual cruda, observándose que en muchas ocasiones rebasan las dosis infecciosas.

Tabla 2.8. Agentes patógenos en agua residual doméstica (Crites y Tchobanoglous, 2000)

Organismos	Enfermedad	Síntomas
Bacterias		
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis	Diarrea
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenteritis	Diarrea
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis	Malestar, fiebre, dolor de cabeza, enfermedades respiratorias agudas
<i>Leptospira</i> (150 spp.)	Leptospirosis	Ictericia, fiebre (enfermedad de Weil)
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebre tifoidea	Fiebre alta, diarrea, úlceras en el intestino delgado
<i>Salmonella</i> (~ 2100 spp.)	Salmonelosis	Intoxicación por alimentos
<i>Shigella</i> (4 spp.)	Shigelosis	Disentería bacilar
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Diarrea aguda, deshidratación
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Yerseniosis	Diarrea
Protozoos		
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiasis	Diarrea, disentería
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiasis	Diarrea
<i>Cyclospora</i>	Ciclosporiasis	Diarrea severa, dolor de estómago, náuseas y vómitos prolongados
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebiasis	Diarrea prolongada con sangrado, abscesos en el hígado y en el intestino delgado
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis	Diarrea leve o severa, náuseas, indigestión
Helmintos		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariasis	Infestación de gusanos intestinales
<i>Enterobium vermicularis</i>	Enterobiasis	Gusanos
<i>Fasciola hepática</i>	Fascioliasis	Lombriz de ovejas
<i>Hymenolepis nana</i>	Teniasis	Tenia enana
<i>Taenia saginata</i>	Teniasis	Tenia (buey)
<i>Taenia solium</i>	Teniasis	Tenia (cerdo)
<i>Trichuris trichiura</i>	Trichuriasis	Gusano intestinal alargado
Virus		
Adenovirus (31 clases)	Enfermedades respiratorias	
Enterovirus (72 clases)	Gastroenteritis, anomalías cardíacas, meningitis	
Hepatitis A	Hepatitis infecciosa	Ictericia, fiebre, vómito
Agente Norwalk	Gastroenteritis	
Parvovirus (3 clases)	Gastroenteritis	

Tabla 2.9. Concentraciones de microorganismos presentes en efluentes de tanques sépticos y en aguas residuales no tratadas y su dosis infecciosa (Crook, 1998; Feachem, *et al.*, 1983; USEPA, 1992)

Organismo	Concentración en agua residual cruda NMP/ 100 ml	Dosis infecciosa, expresada como número de organismos
Bacterias		
<i>Clostridium perfringens</i>	$10^3 - 10^5$	
Enterococos	$10^4 - 10^5$	
Shigella	$10^0 - 10^2$	10 - 20
Salmonella	$10^2 - 10^4$	$10^3 - 10^7$
<i>Vibrio cholerae</i>	-	$10^3 - 10^7$
Protozoos		
<i>Cryptosporidium parvum</i> , quiste	$10^1 - 10^3$	
<i>Entamoeba histolytica</i> , quiste	$10^{-1} - 10^1$	20
<i>Giardia lamblia</i> , quiste	$10^3 - 10^4$	<10
Helmintos		
Huevos	$10^1 - 10^3$	
<i>Ascaris lumbricoides</i>		1 - 10
Virus		
Virus entéricos	$10^3 - 10^4$	1 -10

2.2.2 Bacterias usadas como organismos indicadores

Debido a que existe un gran número de organismos patógenos presentes en el agua residual resulta complicado aislar e identificar a todos los grupos de patógenos, ya que representa grandes costos, gran cantidad de tiempo requerido, así como necesidad de equipo especializado y personal calificado. Frente a estas dificultades y la necesidad de hacer una evaluación rápida y confiable de la presencia de patógenos en el agua, se ha planteado la necesidad de trabajar con organismos indicadores. Estos organismos tienen un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a concentración, reacción frente a factores ambientales y barreras artificiales; pero su identificación es más rápida, económica y sencilla. Una vez evidenciada la presencia de grupos indicadores, se puede inferir que los patógenos se encuentran presentes en una concentración similar o menor; además se puede inferir que su comportamiento con respecto a los distintos factores ambientales es similar al del indicador (Maier *et al.*, 2000; Campos, 2003).

Las características que deben reunir un microorganismo para ser un indicador ideal de contaminación biológica y por lo tanto de especies patógenas son:

- Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos.
- Estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos.
- Estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están.
- Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación.
- Debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos.
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas (su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal).
- Debe ser fácil de aislar y cuantificar.
- No debe ser patógeno.

No existe ningún microorganismo que reúna todos los criterios de un indicador ideal y apenas algunos grupos satisfacen algunos de estos requisitos. Sin embargo, las bacterias principalmente son las que se emplean para estos fines, aunque algunos grupos de parásitos y virus, y los huevos de helmintos son empleados como indicadores de contaminación biológica (Maier *et al.*, 2000; Campos, 2003).

Las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en el agua son las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre y son eliminadas a través de las heces. Cuando estos microorganismos se introducen en el agua, las condiciones ambientales son muy diferentes, por consiguiente su capacidad de reproducirse y de sobrevivir son limitadas. Debido a que su detección, recuento a nivel de laboratorio son lentos y laboriosos, se ha buscado un grupo alternativo de indicadores que sean de más rápida y fácil detección. El grupo más utilizado es el de las bacterias coliformes.

2.2.2.1 Coliformes fecales

El grupo de microorganismos coliformes ha sido empleado como indicador de contaminación bacteriana ya que incluye al subgrupo de los coliformes fecales, los cuales se encuentran de forma abundante en el tracto intestinal de los animales homeotermos, incluyendo al hombre. El problema de emplear a los coliformes totales es que es un grupo muy general de bacterias

que se encuentran en diferentes ambientes como suelo, agua, plantas, animales, sedimentos además de que en su gran mayoría no incluyen especies patógenas.

Por lo tanto se emplea un subgrupo más específico, los coliformes fecales los cuales se encuentran que son capaces de fermentar lactosa a 44.5°C. Están representados principalmente por *Escherichia coli* y ciertas especies de *Klebsiella*, las cuales pertenecen a la familia de las Enterobacterias.

Esta familia tiene como propiedades generales que son gram negativas, no forman esporas y que algunas presentan motilidad gracias a flagelos (Murray *et al.*, 2003). *E. coli* específicamente es una especie facultativa principalmente y forma parte de la flora intestinal saludable de los animales, aunque también se encuentra en la sangre, tracto urinario, respiratorio, entre otros. Existen cinco grupos de ésta que causan malestares intestinales en humanos que van desde diarreas leves hasta diarrea sanguinolenta hemorrágica y falla renal, conocido como síndrome urémico hemolítico. Los otros grupos de *E. coli* que causan enfermedades pueden ser: enteroinvasivos, que causan disentería; enteropatogénico frecuentes causantes de diarrea infantil; enterohemorrágicos, que producen verotoxina y causan colitis hemorrágica y síndrome hemolítico urémico; enterotoxigénicos que producen una enterotoxina que es la mayor causa de diarrea del viajero y diarrea infantil (Murray *et al.*, 2003; Levine, M. y Vial, P., 1988). y enteroagregativos que han sido recientemente descritos y han sido asociados a diarrea persistentes que llega a causar hasta la muerte, existen también brotes que la asocian a enfermedades originadas por la comida en países industrializados. Se cree que este grupo se adhiere a la mucosa intestinal y elabora enterotoxinas y citotoxinas, causando diarrea, daño en la mucosa e inflamación intestinal (Nataro, J. *et al.*, 1998).

El principal agente patógeno reconocido como causa de enfermedad en humanos es *E. coli* O157:H7, el cual produce una toxina con actividad citotóxica, conocida como verotoxina; este se encuentra asociado al síndrome de colitis hemorrágica y urémico hemolítico. Esta cepa se encuentra asociada al ganado doméstico y bovino, que puede ser transmitido al humano por el consumo de alimentos crudos o regados con aguas residuales crudas. *E. coli* O 157: H7, puede sobrevivir en medio acuático, por varios días y a temperaturas bajas, aunque es muy susceptible a la desinfección por cloro (Jiménez *et al*, 2004).

Aproximadamente del 2 al 8% de *E. coli* presente en el agua se ha encontrado que es enteropatógena, lo cual es una minoría, además la dosis infecciosa de este género es relativamente elevada, se encuentra en un intervalo de 10^6 a 10^9 Unidades Formadoras de Colonias en 100 ml (UFC/100 ml) (Bitton, 2005). Debido a que *E. coli* no es mayormente patógena, además de que se reproducen en agua y suelos especialmente en zonas tropicales, el uso de los coliformes fecales como indicadores de contaminación fecal no es completamente determinante para indicar la presencia de organismos patógenos en el agua; es por esto que se han sugerido el uso de otros microorganismos indicadores como *Enterococcus faecalis* (APHA, 1995; Botero *et al.*, 2002).

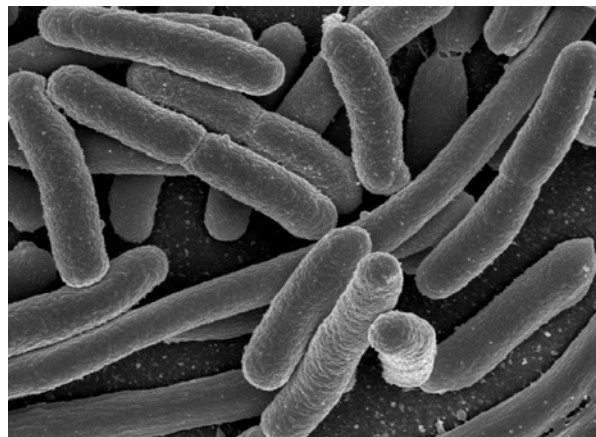


Fig. 2.1. Fotografía en microscopio electrónico de *Escherichia coli* principal representante de los coliformes fecales (University of California, 2007)

2.2.2.2 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis es una especie que pertenece al género de los enterococos; estas especies son gram positivas, facultativas y su temperatura óptima de crecimiento es a los 35°C, aunque pueden crecer en un amplio margen de 10 a 45°C. Forma parte de la flora intestinal de animales y el humano, son organismos resistentes capaces de tolerar concentraciones relativamente altas de sales y ácidos, por lo que son indicadores de contaminación de playas y aguas salobres (Murray *et al.*, 2003). En agua residual se ha encontrado que la concentración de *Enterococcus faecalis* es de 10^4 a 10^5 NMP/100ml.

Enterococcus faecalis es una especie que se encuentra comúnmente en el tracto genitourinario en humanos, llega a causar infecciones del tracto urinario; de hecho se ha encontrado que esta especie forma el 80 a 90% de los casos clínicos del género

enterococos. Está asociada comúnmente a la endocarditis, que es la inflamación de los revestimientos internos de las válvulas cardíacas, y llega a ser causa de bacteremia, que es un síntoma de presencia de bacterias en la sangre (Murray *et al.*, 2003; MedLine, 2006). Se estima que las infecciones intrahospitalarias ocasionadas por *E. faecalis* afectan anualmente a más de 800,000 pacientes estadounidenses, con costos superiores a los 500 millones de dólares, lo que sitúa a estas bacterias como el segundo agente causal de infecciones urinarias en EUA, sólo menor a las de *Escherichia coli*, y el tercero de bacteremia, apenas por debajo de *Staphylococcus aureus* y de los estafilococos coagulasa negativa (Garza *et al.*, 2002).

Debido a la importancia que presenta tanto como causa de enfermedades infecciosas, que se encuentra ampliamente distribuida en el tracto urinario de animales homeotermos y a que es una especie gram positiva, contrario a *E. coli*, puede ser empleado como un indicador de contaminación bacteriológica en aguas residuales.

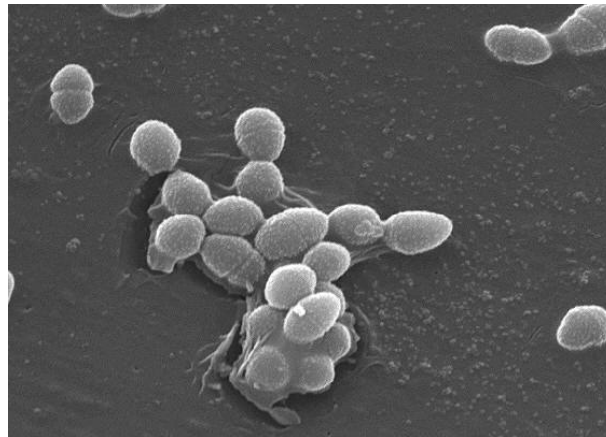


Fig 2.2. Fotografía en microscopio electrónico de *Enterococcus faecalis* (Microbewiki, 2008)

2.2.2.3 *Salmonella typhi*

El género *Salmonella*, pertenece a la familia Enterobacteriaceae, por lo que presenta bacterias con movilidad. Son bacterias de gran tamaño de 2 a 4 μm de longitud, son gram negativas, no forman esporas y no son acidorresistentes (Davis *et al.*, 1996). En general las enterobacterias crecen con facilidad en medios simples, a menudo con una fuente única de carbono. Son organismos facultativos, por lo que su crecimiento es rápido bajo condiciones aerobias y anaerobias, todas fermentan glucosa y no lactosa, reducen nitratos hasta nitritos y son negativas a la oxidasa. *Salmonella typhi* en particular presenta movilidad por diversos

tipos de pili y flagelos, similares a los de *E. coli*, que se fijan a los receptores de D-manosa sobre diversos tipos de células eucarióticas (Ryan y Ray, 2004). En general su número en el agua residual es de 8000 organismos por 100 ml (Feachem *et al.*, 1983). La forma de aislarlos e identificarlos en cultivos, es con medios selectivos, generalmente se emplean los de alta selectividad como lo es con sulfito de bismuto, sobre todo para el aislamiento del serotipo Typhi (Murray *et al.*, 2003)

En este género existen dos especies comúnmente reconocidas, la *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* está subdividida en 6 subespecies, de la cual la subespecie *enterica* ha sido en su mayoría aislada en humanos o animales homeotermos. En el caso de las otras 5 subespecies y la especie *S. bongori*, han sido aisladas de animales poiquilotermos y en el ambiente, rara vez de humanos (Murray *et al.*, 2003). Existen 2501 serotipos del género *Salmonella*, de los cuales 1478 pertenecen a la subespecie *enterica*; los más comunes son los serotipos typhimurium, paratyphi y enteritidis. La mayoría de la *Salmonella* no tifoideica pueden ocasionar infecciones intestinales, caracterizadas por diarrea, fiebre y dolores abdominales; algunas otras pueden ocasionar infecciones localizadas como la osteomielitis, infecciones en el tracto urinario o bacteremia en personas inmunodeprimidas. Generalmente la *Salmonella* se encuentra en poblaciones de animales y el contagio en humanos está asociado al consumo de alimentos de origen animal; también se puede transmitir mediante el agua y en ocasiones por contacto humano. En 1999 en Estados Unidos, se registraron 1.4 millones de casos y 600 muertes, causadas por salmonelosis no tifoideica (Murray *et al.*, 2003).

En el caso de la fiebre tifoidea, es transmitida por *Salmonella enterica* typhimurium o algunos casos *S. enterica* paratyphi es una infección del torrente sanguíneo, muy común en países en desarrollo, por lo que en Estados Unidos son poco comunes los casos: se estiman unos 800 casos anuales con mortalidad menor de 5 personas. Los síntomas principales son fiebre prolongada, dolores de cabeza, no hay presencia de diarrea o es intermitente, bacteremia persistente; sin tratamiento puede volverse crónica y la endotoxina producida puede originar miocarditis, encefalopatía e incluso coagulación intravascular diseminada, también puede producir infecciones en otros tejidos (tubo intestinal, huesos, articulaciones, hígado). Esta enfermedad presenta una baja dosis infecciosa, menor a 10^3 y un periodo de incubación variable y grande de 1 a 6 semanas; por lo tanto el ser humano puede un portador sano y el contagio se puede dar por contacto entre personas o mediante comida contaminada con

heces fecales o con el agua contaminada. La fiebre tifoidea según la OMS (1998) afecta a 12.5 millones de personas al año y en regiones industrializadas ocurren unos 400 casos al año de enfermedad (tasa de morbilidad) con respecto a México en el cual según cifras de la Secretaría de Salud se reportaron 7481 casos en el año 2002.

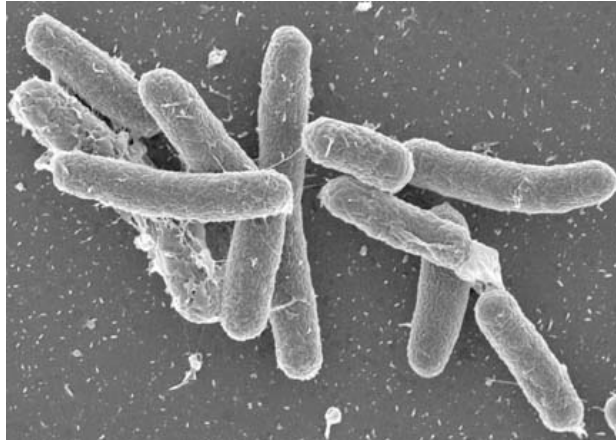


Fig 2.3. Fotografía en microscopio electrónico de *Salmonella thypi* (Microbewiki, 2008)

2.2.3 Remoción de patógenos en agua residual mediante diversos tratamientos

Debido a los riesgos que implican los distintos patógenos presentes en el agua residual, como se mostró en la sección anterior, se ha buscado remover patógenos a niveles seguros para su uso en la agricultura; sin embargo, se busca también que el agua pueda mantener sus propiedades fertilizantes y de mejorador de suelos, por lo que no se desea remover la totalidad de nutrientes, ni material orgánico que ésta contiene.

En diversos estudios, se ha buscado comparar la eficiencia en la remoción de diversos tratamientos, Kamizoulis (2008) hace una comparación de estas eficiencias las cuales se resumen en la Tabla 2.10.

En esta Tabla 2.10 se puede observar que en general los tratamientos primarios y secundarios no remueven una gran cantidad de patógenos, a menos que se lleve a cabo una filtración por membranas. Se conoce que los procesos mecánicos como la sedimentación y filtración, si bien son importantes para la remoción de sólidos, no son eficaces para remover microorganismos salvo los huevos de helmintos que son grandes partículas sedimentables y pueden ser removidos en un 30%. Y en el caso de la filtración

con arena es un proceso que permite la remoción de partículas grandes (20 a 80 μm), como huevos de helmintos hasta en niveles de 1 HH/L (Jiménez, 2005). Sin embargo, la eliminación de microorganismos de menor tamaño, como bacterias patógenas, que miden aproximadamente 0.3 x 5 μm , es baja para estos métodos, eliminando hasta 3 unidades logarítmicas.

Tabla 2.10. Remoción de patógenos alcanzados en distintos tratamientos (Kamizoulis, 2008)

Tratamiento	Remoción de patógenos (porcentaje/ log ₁₀)			
	Bacterias	Helmintos	Protozoarios	Virus
Primarios				
Sedimentación primaria	50 – 90% 0 – 1 log ₁₀	90% 0 - 1 log ₁₀	27- 64% 0 -1 log ₁₀	50 - 98% 0 - 1 log ₁₀
Sedimentación primaria + coagulación química	50– 90% 0 – 3 log ₁₀	90 – 99.9 % 1 - 3 log ₁₀	27- 90% 0 -1 log ₁₀	50 – 98% 0 - 1 log ₁₀
Secundarios				
Lodos activados o filtro percolador + sedimentación secundaria	90 – 99.9% 1 - 3 log ₁₀	90 – 99% 1 - 2 log ₁₀	45 – 97% 0 – 1 log ₁₀	53 – 99.9% 0 – 3 log ₁₀
Laguna aerada + estanque de sedimentación	90 – 99% 1 - 2 log ₁₀	90 – 99.9% 1 - 3 log ₁₀	45 – 97% 0 – 1 log ₁₀	90– 99% 1 – 2 log ₁₀
Tratamiento terciario/filtración/proceso de membrana/ coagulación/floculación	30 – 90% 0 - 1 log ₁₀	99% 2 log ₁₀	95 – 99.9% 1.5 – 4 log ₁₀	90 – 99.9% 1 – 3 log ₁₀
Filtración de arena de alta y baja carga	50 – 99.5% 0 – 2.5 log ₁₀	90 – 99% 1 - 2 log ₁₀	50 – 99.9% 0 – 3 log ₁₀	20 – 99.99% 1 – 4 log ₁₀
Procesos de membrana	99.95 – 99.9999% 3.5 – 6 log ₁₀	>99.9% >3 log ₁₀	>99.9999% >6 log ₁₀	99.5 – 99.9999% 1 – 6 log ₁₀
Desinfección				
Cloración	99 – 99.9999% 2 - 6 log ₁₀	≤ 90% 0 – 1 log ₁₀	≤ 95% 0 – 1.5 log ₁₀	90 – 99.9% 1 – 3 log ₁₀
Ozonación	99 – 99.9999% 2 – 4 log ₁₀	≤ 90% 0 - 1 log ₁₀	90 – 99% 1 – 2 log ₁₀	99.9 - 99.9999% 3-6 log ₁₀
Desinfección por UV	99 – 99.99% 2 - 4 log ₁₀	No hay datos	>99.9% > 3%	90 – 99.9% 1 – 3 log ₁₀
Sistemas naturales				
Lagunas de estabilización	90 – 99.9999% 1 – 6 log ₁₀	90 – 99.9% 1 – 3 log ₁₀	90 - 99.9% 1 - 4 log ₁₀	90 – 99.99% 1 – 4 log ₁₀
Almacenamiento de agua residual y embalses	90 – 99.9999% 1 – 6 log ₁₀	90 – 99.9% 1 – 3 log ₁₀	90 - 99.99% 1 – 4 log ₁₀	90 - 99.99% 1 – 4 log ₁₀
<i>Humedales construidos</i>	50 – 99.9% 0 – 3 log ₁₀	99.9% >3 log ₁₀	50 – 99% 0 – 3 log ₁₀	95 – 99% 1.5 – 2 log ₁₀

Por otro lado se observa que la desinfección permite una mayor remoción de patógenos, sobre todo de bacterias (hasta 6 unidades logarítmicas), aunque menor en el caso de huevos de helmintos, parásitos y virus. En general los métodos de desinfección actúan mediante mecanismos de daño a la membrana o pared celular de las células, modificación de la permeabilidad de la membrana o de la naturaleza del protoplasma, inhibición de la actividad enzimática, daño a los ácidos nucleicos o inducción de procesos anormales de óxido-reducción (Darby *et al.*, 1995). Para la eliminación microorganismos patógenos se emplean con mayor frecuencia los métodos químicos debido a que tienen un alto potencial de inactivación y tienen la capacidad de penetrar la membrana y pared celular, entre otras. La luz UV y tiene la ventaja de ser eficaz para inactivar bacterias y virus, así como quistes de protozoarios; aunque no puede inactivar huevos de helminto. Sus desventajas son que no posee un efecto residual, su costo es mayor que el uso del cloro y la presencia de sólidos suspendidos totales afectan su eficacia (Beltrán, 2006). Por lo tanto, aunque es un método eficaz, requiere de un tratamiento que remueva en principio los sólidos y no puede ser empleado directamente en agua residual cruda.

En el caso de la cloración y el uso de ozono, tiene la ventaja de que permiten la inactivación de bacterias y virus, pero para huevos de helmintos y protozoarios es deficiente. El uso de cloro tiene como ventajas su bajo costo y que posee un efecto residual en el agua que permite un mayor tiempo de desinfección, pero este llega a ser tóxico para la vida acuática y existe además el riesgo de la generación de subproductos como los trihalometanos que son considerados carcinogénicos. En el caso del uso del ozono además de ser caro y no tener un efecto residual, se ha encontrado que existe formación de subproductos y que a bajas dosis no hay una efectiva inactivación de algunos virus, esporas y quistes (Solomon *et al.*, 1998).

Se ha encontrado que los tratamientos como humedales y lagunas proporcionan buenas remociones en el caso de bacterias de hasta de 6 unidades logarítmicas (Tabla 2.10); sin embargo, para lograr estas remociones se requiere un tiempo de retención elevado, mayor a 20 días para eliminar coliformes fecales y para remover *Cryptosporidium* se requiere casi 38 días (Grimason *et al.*, 1992). Las lagunas tienen también como limitante el costo del terreno, si es geológicamente adecuado o si la tasa de evaporación es muy alta, debido a que se puede llegar a perder hasta 30% del agua provocándose su salinización (Jiménez *et al.*,

2005). En la Tabla 2.11 se muestra los resultados de remociones de bacterias patógenas en aguas residuales o residuos sólidos orgánicos, con diferentes tratamientos indicando el probable mecanismo de estrés.

Tabla 2.11. Efecto de distintos tratamientos sobre la sobrevivencia de bacterias (Goss y Richards, 2007)

Tratamiento	Reducción (escala logarítmica)	Estrés
Lagunas	1 - 3	Tiempo
Humedales construidos	2 - 3	Tiempo, filtración
Digestión mesofílica	1 - 2	Tiempo, calor
Digestión termofílica	5	Tiempo, calor
Compostaje	1 - 5	Tiempo, calor
Secado con aire	1 - 2	Deseccación
Secado con aire caliente	4 - 5	Calor, desecación
Pasteurización	5	Tiempo, calor
Procesos alcalinos	3 - 5	Calor, NH ₃

Se puede observar en general en la Tabla 2.11 que el mayor mecanismo de estrés es el tiempo y el calor; en el caso de procesos alcalinos, el mecanismo de estrés es la concentración de NH₃ lo cual provoca un desequilibrio osmótico. Debido a las comparaciones realizadas de la remoción de patógenos, en este trabajo se busca estudiar la remoción existente en un tratamiento biológico como la acidogénesis.

2.2.3.1 Reducción de patógenos por acidificación anaerobia

El proceso de acidificación anaerobia, como se explicará más adelante se lleva a cabo por bacterias anaerobias y facultativas, forma parte del catabolismo anaerobio que está compuesto por la fase de hidrólisis del material orgánico y fermentación de los productos de la hidrólisis para obtención de energía en forma de ATP.

De los diferentes tipos de fermentaciones se obtienen productos como ácidos grasos volátiles (AGV) y alcoholes; se ha descubierto que en estos procesos se da la disminución de la materia orgánica y de los organismos patógenos, aunque aun no se conoce mucho con respecto a cómo disminuye la cantidad de estos últimos en el agua dentro del proceso de

acidificación anaerobia. Se puede establecer que los mecanismos adversos para la eliminación de los patógenos tienen que ver con la competencia y depredación, adsorción de los patógenos en los sólidos, la fase de hidrólisis y la inactivación mediante los AGV. En primer lugar, existe la competencia por la materia orgánica o fuente de carbono, entre los microorganismos patógenos y bacterias acidogénicas, al encontrarse en un medio hostil (condiciones anaerobias).

Aunque algunos organismos patógenos son aerobios, existen también facultativos y anaerobios, como en el caso de coliformes fecales, *Enterococcus faecalis* y *Salmonella typhi*, los cuales son bacterias facultativas. Sin embargo, las condiciones anaerobias en el agua residual favorecen el crecimiento de las bacterias acidogénicas al tener un metabolismo más rápido bajo estas condiciones que las bacterias patógenas.

También se ha visto que existe depredación de los microorganismos. Los sistemas de tratamiento biológico de biomasa en suspensión pueden favorecer los mecanismos de remoción por depredación como en un sistema ecológico de depredador-presa, lo cual se propicia con un alto tiempo de retención celular o hidráulico (Duncan y Nigel, 2003). Se ha encontrado depredación en sistemas anaerobios como sistemas de lagunas anaerobias y facultativas (Pearson *et al*, 1995). En este caso los organismos con metabolismo más rápido, bajo estas condiciones, pueden consumir a los organismos patógenos para obtener su fuente de carbono.

Se ha encontrado que la remoción de los patógenos se encuentra relacionada con la incorporación o adhesión de estos en los sólidos, por lo que la fase de sedimentación en los tanques la favorece. Se ha encontrado que en tanques sedimentadores con tiempos de retención de 2 a 6 horas los coliformes fecales son removidos de un 30 a un 50 % y un promedio de 79% de *Salmonella* (Duncan y Nigel, 2003)

Por otra parte, la hidrólisis mediante exoenzimas no específicas por parte de las bacterias acidificadoras puede lograr que los patógenos sean hidrolizados en esta primera etapa. En esta fase, las exoenzimas pueden provocar daño a la pared celular de los microorganismos que se encuentran en el agua residual, incluyendo a los microorganismos patógenos.

La composición de una célula procarionte (bacterias), de forma específica *E. coli*, es 55% de

proteínas 5% de polisacáridos y 9% de lípidos, además de otras macromoléculas y monómeros; en el caso de las bacterias gram positiva, la pared celular está compuesta en su 90% por peptidoglicano, unas moléculas de carbohidratos unidas a proteínas; en el caso de las gram negativas sólo un 10% de la pared es de peptidoglicano y la membrana celular externa se encuentra formada por lipopolisacáridos y proteínas (Madigan *et al.*, 1997). Por lo tanto, la hidrólisis que convierte carbohidratos, proteínas y lípidos en azúcares simples, para su subsecuente fermentación hacia ácidos grasos volátiles (Miron *et al.*, 2000), podría favorecer la destrucción de la pared celular de las bacterias, incluyendo a las patógenas. Con el rompimiento de la pared celular, el material citoplasmático es fácilmente degradado e hidrolizado para las funciones metabólicas de las bacterias acidogénicas; en el caso del material de la pared celular debido a su baja biodegradabilidad es poco susceptible a la hidrólisis.

En una revisión de 25 casos de estudio de uso de agua residual no tratada en la agricultura se ha encontrado que existe cierta reducción de patógenos como nemátodos y coliformes fecales cuando el agua residual es parcialmente tratada. En estudios en México se ha encontrado que si el agua es retenida en tanques durante un mínimo de un mes, se alcanzan la reducción de los coliformes fecales y nemátodos de 2 log individuos a menos de 1 log individuos; se encontró también que con una retención de las aguas residuales en dos tanques de almacenamiento durante 1 a 2 meses cada uno, existe una mayor disminución de coliformes fecales (4 órdenes de magnitud) y en los nemátodos de 2 a 3 órdenes de magnitud (Blumenthal *et al.*, 2001).

Se ha encontrado que en los procesos fermentativos existe una destrucción de microorganismos patógenos contenidos en los sólidos. Carrington *et al.*, 1982 y Kearney *et al.*, 1993 han reportado reducción de bacterias entéricas patógenas durante la digestión anaerobia, en *Salmonella* y *Escherichia coli*.

Por otro lado, la producción de AGV en la acidificación provoca una desinfección o reducción de patógenos, ya que tienen efectos inhibitorios sobre estos microorganismos. Se ha encontrado que ácidos como sulfúrico, clorhídrico, peracético, acético y propiónico, tienen un efecto desinfectante en los lodos residuales (Jiménez *et al.*, 2005).

Se ha encontrado que los AGV, que son metabolitos intermediarios durante la digestión

anaerobia, tienen efectos inhibitorios sobre las bacterias patógenas (Henry, 1982; Kwon y Ricke, 1998). Kunte *et al.*, 2000, observó que la producción de altas concentraciones de AGV (9000 mg/l) en un reactor anaerobio, provocaban una disminución del pH (5 - 6) y una inactivación casi completa de bacterias patógenas entéricas como *Shigella dysenteriae* durante tiempos de permanencia largos de 10 a 15 días.

La inactivación de patógenos causada por ácidos orgánicos durante la digestión de lodos es algo reportado desde los años 60's (McCarty y McKinney, 1961). Se ha hallado que existe una destrucción de patógenos en los digestores ácidos de lodos, en la que los ácidos orgánicos, que son productos intermedios de la descomposición anaerobia son acumulados en altas concentraciones; por ejemplo, superiores a 13000 mg/l (Matthews y Asaadi, 2003; Puchajda y Olesziewicz, 2006).

Aunque el mecanismo no es bien conocido, parece ser que la inactivación producto de los ácidos grasos volátiles se relaciona con el equilibrio del pH al interior de la célula. En solución acuosa los ácidos débiles, como los AGV, se encuentran en equilibrio entre la forma no ionizada y sus aniones. En su forma no ionizada los ácidos son lipofílicos, por lo que pueden pasar a través de la membrana celular; una vez disociados en el interior de la célula, estos se vuelven lipofóbicos y no pueden salir, por lo que son acumulados al interior en el citoplasma que es más alcalino. Esto ocasiona tres grandes problemas: 1) la acidificación del citoplasma, por lo que debe emplear una bomba de protones llamada H⁺-ATPasa, para que saque los protones a través de esta bomba. Este mecanismo consume una gran cantidad de energía, lo cual agota a la célula (Gauthier, 2002). 2) Los ácidos orgánicos actúan como protonóforos e incrementan la permeabilidad a los H⁺ y por lo tanto la salida de protones no puede ser lo suficientemente rápida para alcanzar el pH normal del citoplasma. 3) Existe una acumulación de formas aniónicas de los ácidos dentro de la célula las cuales son tóxicas y generan problemas osmóticos. En la Figura 2.4 se puede observar los efectos de los ácidos grasos volátiles sobre *E. coli*.

González *et al.* (2002) compararon el efecto desinfectante del ácido peracético (pH=4.9) y acético (pH=3.4) con el mismo tiempo de contacto, encontrando una pérdida de la viabilidad de los huevos de helmintos del 88% para el ácido peracético y del 76% para el ácido acético.

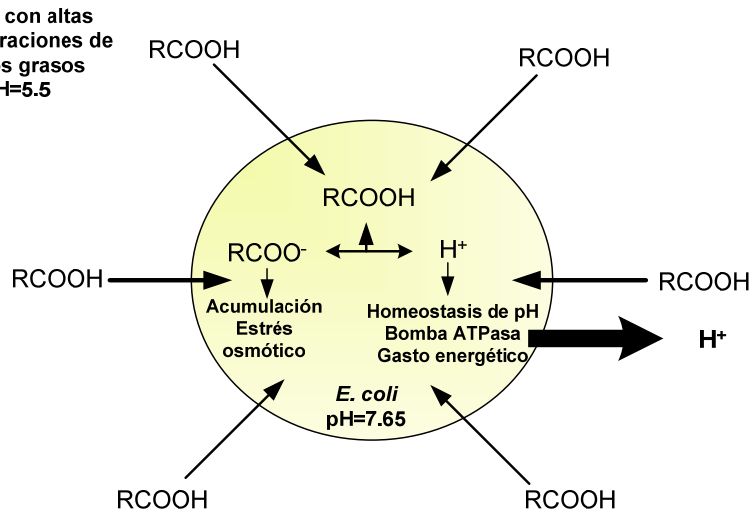


Fig. 2.4. Efectos de los ácidos grasos sobre *E. coli*
(Adaptado de Puchjada y Oleszkiewicz, 2006)

Otro estudio se realizó con mezclas de ácidos orgánicos diversos en agua residual, hallándose una mayor inactivación de huevos de helminto (85%) para una mezcla de ácidos (acético, propiónico, isovalérico y valérico) en concentración una total de 8300 mg/l, con 4 días de contacto (Hernández, 2005).

En lodos fisicoquímicos, 550 ppm de ácido peracético durante 10 minutos, son suficientes para eliminar de 5 a 6 unidades log de coliformes fecales, 4 a 5 log de *Salmonella* y el 90% de helmintos, sin un posterior crecimiento de bacterias (Barrios *et al.*, 2003).

En el caso particular de las especies patógenas que se proponen como caso de estudio en este trabajo, se ha encontrado que *E. coli*, aunque puede vivir en ambientes aerobios o anaerobios, realizando fermentación, presenta cierto daño oxidativo si se le somete a pH menores o mayores de un pH de 7.75, en más de una unidad de pH. Se sabe que en el caso de *E. coli* O 157, tiene la capacidad de producir una toxina lisogénica (capaz de lisar a la célula) mediante un gen de bacteriófago; sin embargo, el bacteriófago puede ser inducido y la célula es lisada ante algún tipo de estrés oxidativo como la luz solar o las variaciones de pH; esto le da desventaja a *E. coli* al encontrarse fuera de su huésped. *Salmonella typhi*, posee una sensibilidad similar, ya que variaciones de pH, temperatura y oxígeno, le provocan estrés (Maier *et al.*, 2000).

2.3 Metabolismo de los microorganismos en el agua residual

En todas las células se llevan a cabo transformaciones químicas catalizadas enzimáticamente para su supervivencia y reproducción, lo cual se llama **metabolismo**. Estas reacciones enzimáticas constituyen rutas metabólicas en las cuales se llevan a cabo pasos consecutivos de dichas rutas; en cada reacción se realizan pequeños cambios químicos específicos como la eliminación, transferencia, adición de un átomo o grupo funcional o molécula específica. En la secuencia de pasos o ruta, un precursor se convierte en producto a través de una serie de intermedios metabólicos o metabolitos (Lehninger *et al.*, 1995).

El metabolismo se divide a su vez en dos fases, una degradadora o **catabolismo** y una de síntesis llamada **anabolismo**. En el catabolismo, las moléculas orgánicas que sirven de nutrientes (glúcidos, grasas y proteínas), son convertidas en productos más sencillos, liberándose energía, parte de la cual se conserva en la formación de ATP y transportadores de electrones reducidos (como las moléculas NADH y NADPH). En el anabolismo ocurre una biosíntesis de macromoléculas celulares como proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos, a partir de precursores sencillos. Este tipo de reacciones requieren un aporte de energía, generalmente en forma de energía libre de hidrólisis de ATP o por medio de moléculas reductoras como NADH y NADPH (Lehninger *et al.*, 1995). En la Figura 2.5 se pueden observar las relaciones energéticas entre rutas anabólicas y catabólicas, en las cuales se observa que las rutas catabólicas producen energía química en forma de ATP, NADH y NADPH, los cuales se utilizan en las rutas anabólicas para convertir precursores pequeños en macromoléculas celulares.

Los microorganismos del agua residual llevan a cabo reacciones anabólicas y catabólicas; sin embargo, para este trabajo se analizará con más detalle la fase del catabolismo en condiciones anaerobias, procesos con los cuales los microorganismos obtienen energía para sus funciones vitales.

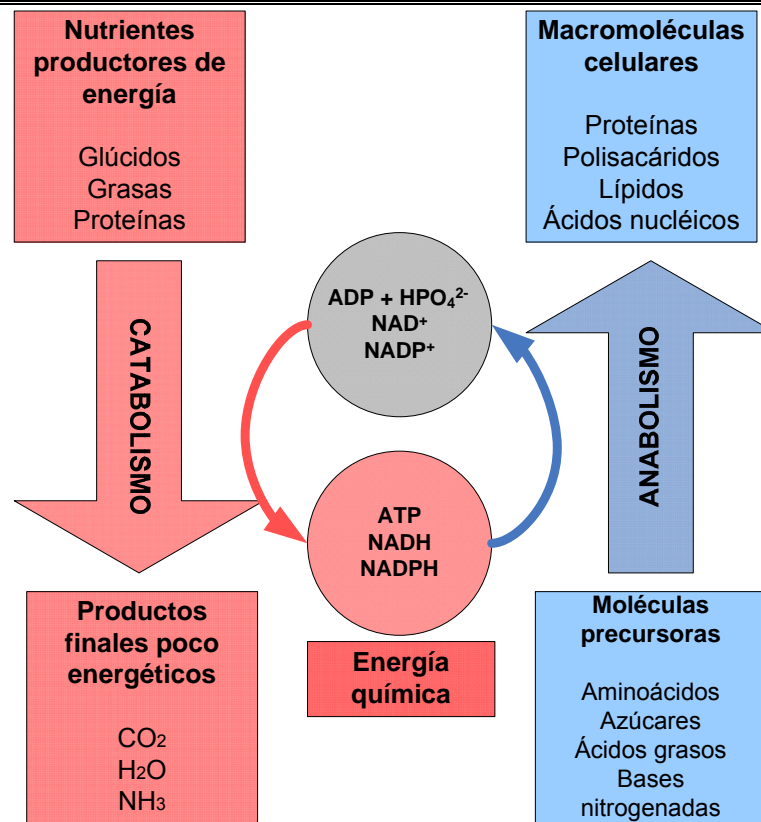


Fig. 2.5. Relaciones energéticas entre las rutas catabólicas y anabólicas (Lehninger *et al.*, 1995)

Los procesos catabólicos que se llevan a cabo en las bacterias facultativas se dividen en tres etapas principales (Figura 2.6). La primera es la fase de **hidrólisis** que corresponde al proceso mediante el cual las sustancias particuladas, y también algunas solubles, son fragmentadas a moléculas más simples, como monosacáridos, aminoácidos y otros compuestos, mediante enzimas hidrolíticas excretadas por bacterias. Las reacciones de hidrólisis son indispensables para que las células puedan absorber y utilizar como fuente de carbono y energía las moléculas complejas de mayor peso molecular (Von Münch *et al.*, 1997). De los productos de la hidrólisis de polisacáridos se obtienen precursores de la glucólisis que es la segunda etapa de los procesos catabólicos.

En el caso de macromoléculas como proteínas, estas son hidrolizadas a polipéptidos y aminoácidos, y en el caso de los lípidos estos son hidrolizados a ácidos grasos y glicerol. Estos productos pueden ser degradados y generar, directamente la Acetil-CoA, la cual puede ser empleada también en procesos catabólicos para la obtención de energía, como en el caso del catabolismo de la glucosa.

En la **glucólisis** las moléculas de glucosa sufren una serie de degradaciones químicas que genera dos moléculas de piruvato por cada molécula de glucosa, conservándose energía libre en forma de ATP. El piruvato a su vez puede ser transformado en Acetil-CoA o ser empleado directamente como receptor de electrones en algunos procesos para obtención de energía, como en la fermentación láctica.

Una vez se obtiene la Acetil-CoA, ésta puede ser catabolizada en condiciones aerobias o anaerobias. En condiciones aeróbias ésta es oxidada a acetato, el cual entra al ciclo de los ácidos tricarboxílicos y es oxidada a CO₂; de esta oxidación se almacena energía en portadores de electrones reducidos NADH y FADH₂, que a su vez son oxidados, produciéndose una transferencia de electrones en la cual se libera gran cantidad de energía conservada en ATP mediante un proceso llamado fosforilación oxidativa. En esta transferencia de electrones el oxígeno del medio se emplea como receptor de electrones formando H₂O y regenerando los portadores de electrones a su forma oxidada NAD⁺ y FADH⁺.

En cambio en condiciones anaerobias, no es posible reoxidar al portador de electrones NADH, necesario para la glucólisis; por lo tanto éste tiene que ser regenerado por otra reacción conocida como fermentación, en la cual se forman a partir de piruvato, productos reducidos como ácidos orgánicos simples y alcoholes. Estos productos son empleados como receptores de electrones de NADH, para formar NAD⁺ y continuar las reacciones de glucólisis que producen energía para la célula; además en estas reacciones se regenera ATP de la oxidación del NADH (Lehninger *et al.*, 1995). En general las fermentaciones en agua residual, se llevan a cabo mediante bacterias anaeróbicas o facultativas. A continuación se muestra un esquema de etapas del catabolismo de las bacterias facultativas, en presencia y ausencia de oxígeno (Figura 2.6).

En este trabajo se dará énfasis a las fases del catabolismo anaerobio de hidrólisis y fermentación; esto debido a que son los procesos que se desean analizar en la experimentación. A continuación se hablará sobre los procesos de fermentación.

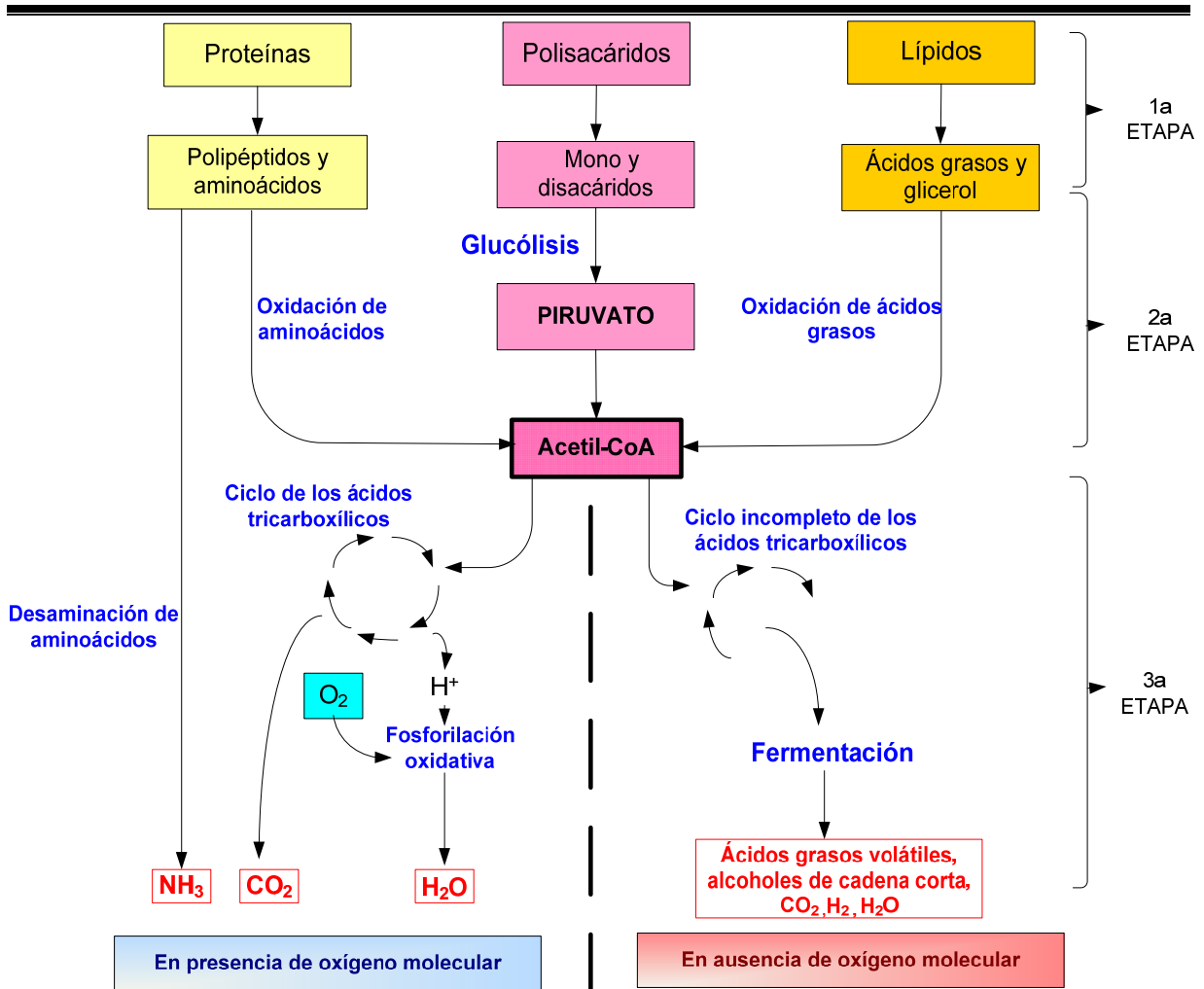


Fig. 2.6. Procesos catabólicos en bacterias facultativas en agua residual (Lehninger *et al.*, 1995)

2.3.1 Fermentación

La fermentación es un proceso metabólico llevado a cabo en condiciones anaerobias cuyo objetivo es regenerar el ATP. En este, la célula produce, a partir de un sustrato orgánico, moléculas que servirán a la vez de donadores y receptores finales de hidrógeno. En la fermentación de carbohidratos y de otros sustratos se generan productos de forma aislada o mezclados como etanol, lactato, propionato, formiato, butirato, succinato, capronato, acetato, *n*-butanol, 2,3-butanodiol, acetona, 2-propanol, bióxido de carbono e hidrógeno molecular, como se observa en la Figura 2.7 (Schlegel, 1988).

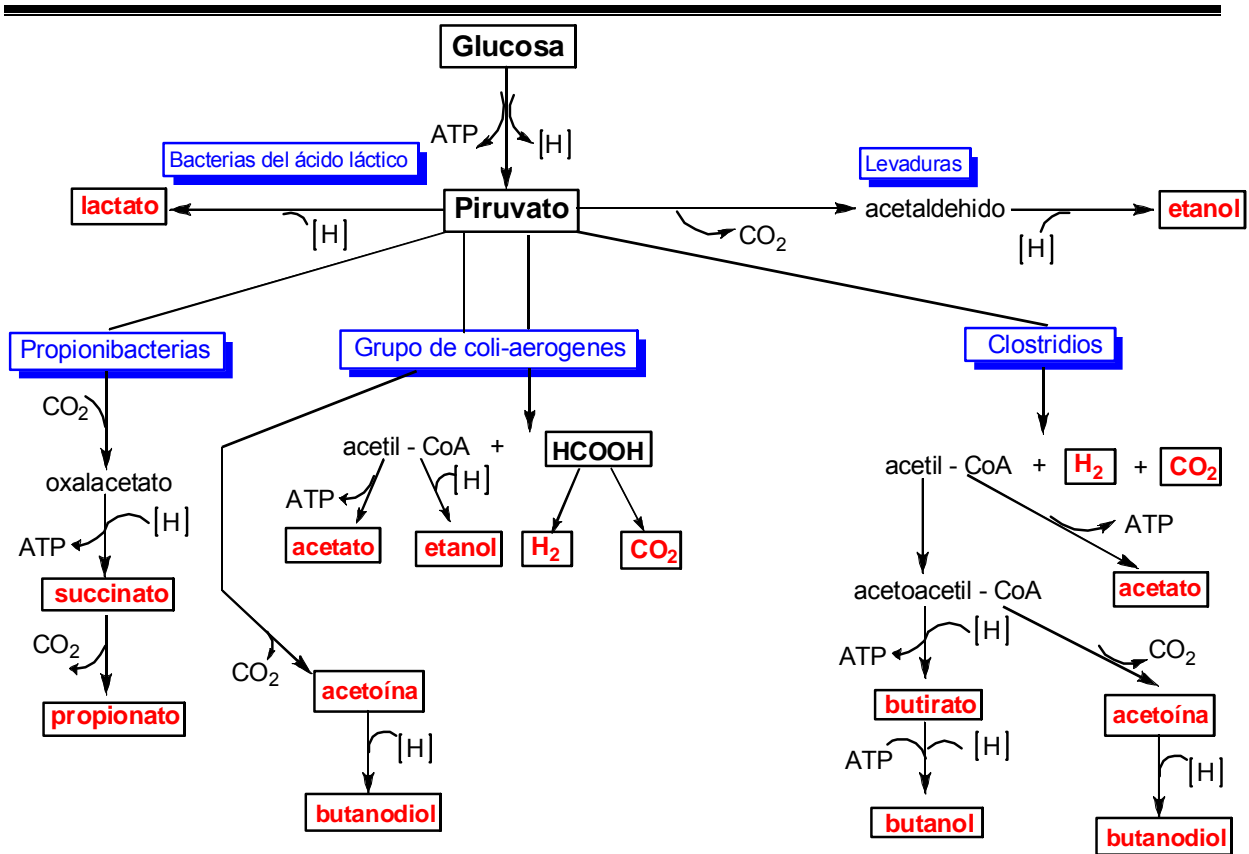


Fig. 2.7. Principales tipos de fermentación en aguas residuales (Schlegel, 1988)

Según el producto prioritario, se nombra a la fermentación como alcohólica, láctica, propiónica, acética, butírica y fórmica. En general se emplea el término fermentación para hacer referencia a los procesos que generan alcohol y ácido láctico; sin embargo, como existen otros productos de estos procesos que en su mayoría son **ácidos grasos volátiles AGV**, se emplea el término **acidogénesis**. (Schlegel, 1988).

Las principales especies de ácidos grasos volátiles (AGV) que se obtienen de la fermentación anaerobia del agua residual son el ácido acético y propiónico (Dinopoulou *et al.*, 1988), además de ácido butírico, valérico y caproico (Chyi y Dague, 1994). A continuación se explicarán las principales fermentaciones existentes en los microorganismos en condiciones anaerobias.

2.3.1.1 Fermentación etanólica

El etanol es uno de los productos de la fermentación de carbohidratos más abundantes entre los microorganismos; los principales productores de alcohol son las levaduras de las cuales se conocen aproximadamente 800 especies, especialmente de la cepa *Saccharomyces cerevisiae*. Estos son una especie de hongos que en condiciones aerobias producen ATP a través de la fosforilación oxidativa tomando al oxígeno como receptor de protones en la cadena respiratoria; en cambio, en condiciones anaerobias y con un pH neutro a ligeramente ácido, realizan una fermentación de los carbohidratos a etanol y CO_2 (Albert *et al.*, 2002). En este caso, el piruvato, como producto de la glucólisis, es descarboxilado por la enzima piruvato descarboxilasa y convertido a acetaldehído para a su vez ser reducido a etanol, por la enzima alcohol deshidrogenasa. El etanol recibe los protones del NADH_2 , que es un transportador de protones, y por lo tanto se convierte en un receptor de protones siendo una molécula altamente energética como se muestra en la Figura 2.8 (Schlegel, 1988).

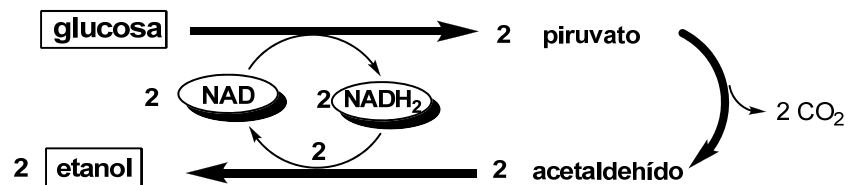


Fig. 2.8. Reacciones generales en una fermentación alcohólica (Schlegel, 1988)

Existen bacterias anaerobias o facultativas que producen etanol como producto principal o secundario de la fermentación de hexosas o pentosas. *Sarcina ventriculi* sigue una vía de fermentación similar a las levaduras. En cambio *Zymomonas mobilis*, descompone la glucosa a etanol, CO_2 y pequeñas cantidades de ácido láctico por otra vía. Las bacterias lácticas heterofermentativas, como la especie *Leuconostoc mesenteroides*, forman alcohol a través de una vía totalmente distinta; en ésta la glucosa se descompone en pentosafosfato, en la cual la enzima fosfoacetolasa actúa sobre la xilulosa-5-fosfato para formar acetilfosfato, el cual es a su vez reducido mediante dos enzimas a etanol. Existen otras bacterias como enterobacterias y clostridios que forman etanol como productos secundarios a partir de la reducción del acetil-CoA (Schlegel, 1988).

2.3.1.2 Fermentación láctica

Las bacterias del ácido láctico se reúnen en la familia de las Lactobacteriaceas. Para la obtención de energía dependen únicamente de los carbohidratos y como producto se excreta ácido láctico. Este tipo de bacterias son fermentadoras obligadas pero pueden sobrevivir en medios microaerobios (medios de escasa concentración de oxígeno molecular, en la cual la velocidad de consumo es mayor a la transferencia en el agua). Estas bacterias se encuentran en la leche, sus productos, en plantas, y en mucosas de hombre y animales.

Según la capacidad de fermentar la glucosa a lactato o dar otros productos de fermentación, las lactobacterias se dividen en homofermentativas y heterofermentativas (Schlegel, 1988).

En la fermentación láctica homofermentativa, las bacterias forman ácido láctico puro, mediante la descomposición de la glucosa mediante la glucólisis y utilizando el piruvato como receptor de protones y produciéndose lactato (Figura 2.9). Una pequeña parte del piruvato se descarboxila hasta acetato, etanol, CO_2 y hasta acetoína. Algunas especies homofermentativas pueden formar una amplia variedad de productos si las condiciones de fermentación son alteradas, por ejemplo el pH alcalino las concentraciones de formato, acetato y etanol se incrementan a expensas del lactato (Albert *et al.*, 2002). En la fermentación láctica heterofermentativa se producen varios productos como lactato, etanol, manitol y CO_2 . El pH ligeramente ácido favorece la formación de lactato y las concentraciones de acetato, formiato y etanol disminuyen (Albert *et al.*, 2002).

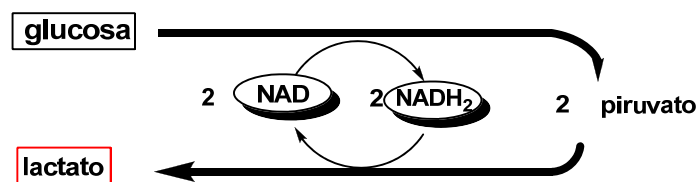


Fig. 2.9. Reacciones generales en la fermentación láctica homofermentativa (Schlegel, 1988)

2.3.1.3 Fermentación propiónica

En este tipo de fermentación la realizan principalmente las propionibacterias, las cuales tienen un metabolismo anaerobio pero pueden ser microaerotolerantes. Estas pertenecen al género *Propionibacterium* y se encuentran en el intestino de los rumiantes principalmente y

son empleadas en la elaboración del queso y la coagulación de la leche. Además del género *Propionibacterium* las especies *Micrococcus lactilyticus*, *Clostridium propionicum*, *Selenomonas* y *Micromonospora*, se encuentran dentro de las bacterias formadoras de ácido propiónico. El propionato también es producto de la fermentación de otras bacterias (Schlegel, 1988).

Las propionibacterias bajo condiciones aerobias se pueden reproducir más rápidamente que bajo condiciones anaerobias, esto sucede siempre y cuando las concentraciones de oxígeno en el medio sean menores a la tasa de respiración, de lo contrario el oxígeno actúa como tóxico para las bacterias. En condiciones anaerobias pueden fermentar distintos monosacáridos como la glucosa, sacarosa, lactosa y pentosa, así como lactato, malato, glicerina y otros sustratos, hasta ácido propiónico. La ruta general de la fermentación propiónica se presenta en la Figura 2.7, pero pueden existir otras rutas dependiendo el sustrato, las propionibacterias en general emplean la ruta metilmalonil-CoA, con la cual se reduce el lactato o piruvato a ácido acético; en cambio *Clostridium propionicum*, *Bacteroides ruminicola* y *Peptostreptococcus elsdenii* forman ácido propiónico por la vía del acriloil-CoA (Schlegel, 1988).

2.3.1.4 Fermentación butanodiólica y acética por Coli-Aerógenes

Este tipo de fermentación la realizan *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus subtilis* y otras, conocidas como el grupo de las Coli-Aerógenes. En el caso de *E. coli* la fermentación se caracteriza por la transformación del piruvato en acetil-CoA y formiato, y este a su vez es transformado a dióxido de carbono e hidrógeno; la acetil-CoA es reducido a etanol, no produciéndose acetoina o 2,3-butanodiol a partir de piruvato. Se produce también lactato y acetato a partir de estas reacciones (Schlegel, 1988).

En el caso de *E. aerogenes* se producen también varios ácidos grasos, pero sobre todo acetoina y 2,3-butanodiol. La formación de acetoina parte de dos moléculas de piruvato e incluye una doble descarboxilación, lo cual genera una producción adicional de dióxido de carbono. Las reacciones generales de la fermentación por Coli-Aerógenes se muestran en la Figura 2.7.

Con relación a los productos de fermentación excretados en condiciones anaerobias pueden establecerse dos tipos: a) tipo *Escherichia coli*: se producen preferentemente ácidos pero no

butanodiol; b) tipo *Enterobacter* además del producto principal butanodiol se producen en cantidades secundarias ácidos (Schlegel, 1988). En la Tabla 2.12 se muestran los productos de la fermentación de 3 especies de Enterobacterias, en las cuales se puede comparar los dos tipos principales de fermentación por ácidos producidos.

Tabla 2.12. Ejemplos de fermentaciones de mezclas de ácidos (Albert *et al.*, 2002)

Productos (mmol/100 mmol de glucosa)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Salmonella typhi</i>
Lactato	108.8	53.0	121.7
Etanol	41.3	59.4	25.4
Acetato	32.0	10.1	25.6
Formato	1.6	5.5	39.33
CO₂	54.0	126.0	9.0
H₂	45.2	44.2	0.0
Succinato	18.0	6.0	10.8
Acetoína	0.0	0.4	0.0
2,3-Butanediol	0.0	34.6	0.0

2.3.1.5 Fermentación butírica y acética por clostridios

El genero *Clostridium* es un grupo bacterias en forma de bacilo en su mayoría anaerobias estrictas, pero que llega a tener algunas especies aerotolerantes como *C. histolyticum*, *C. acetobutylicum*. Son bacterias mesófilas y termófilas que pueden crecer en pH neutros y alcalinos. En general tienen una amplia gama de sustratos que pueden emplear como nutrientes; dependiendo de los sustratos que utilicen se pueden agrupar en clostridios sacarolíticos, aquellos que degradan preferentemente polisacáridos y azúcares, y los clostridios proteolíticos, aquellos que degradan preferentemente proteínas, peptonas y aminoácidos. En general, la degradación de la glucosa produce en cantidades variables butanol, butirato, acetona y 2-propanol, dependiendo de las condiciones del medio. En la Figura 2.9 se puede observar que en primer lugar se produce ácido butírico y al aumentar la producción de ácidos, aumenta la concentración de la enzima acetato descarboxilasa la cual conduce a la acumulación de acetona y butanol. Entre la formación de acetona y de butanol existe una estrecha relación, ya que con la descarboxilación del aceto acetyl-CoA, precursor de la acetona y butirato, se pierde un receptor potencial de hidrógeno, el butanol, por lo que se forma butirato, acetona e iso-propanol como receptores de hidrógenos (Figura 2.9). Como

ejemplos de especies fermentadoras de glucosa se puede considerar a *Clostridium butyricum* y *C. acetobutylicum* (Schlegel, 1988).

Algunas especies de clostridios, como *Clostridium sporogenes*, *C. botulinum*, *Protefnas*, *C. histolyticum*, *C. sporogenes* y *C. sticklandii*, también realizan una fermentación especial en la que transforman aminoácidos en condiciones anaerobias hasta productos como ácido isobutírico y algunos isómeros del ácido valérico (Schlegel, 1988). Este tipo de transformación se llama reacción de Stickland y se da como un acoplamiento de oxidación y reducción de pares de aminoácidos, donde algunos de ellos como la alanina, leucina, isoleucina, valina, serina, entre otros, actúan como donadores de hidrógeno. En cambio, aminoácidos como la glicina, prolina, arginina y triptofano, actúan como aceptores de electrones. El aminoácido donador se desamina a un oxiácido, que posteriormente mediante una descarboxilación oxidativa se transforma en el ácido graso. Este paso va unido a una fosforilación, en la cual se produce energía (Schlegel, 1988).

Los distintos tipos de fermentación anaerobia de aguas residuales domésticas y lodos primarios son de gran importancia en el tratamiento de aguas residuales. Estas permiten la producción de sustratos fácilmente asimilables como los AGV, la eliminación de nutrientes y la reducción de patógenos. Los reactores discontinuos han sido empleados en la producción, los cuales ofrecen beneficios con respecto a los sistemas de flujo continuo ya que permiten flexibilidad en operación y permiten ejecutar diferentes objetivos de tratamiento; sin embargo, existen diferentes factores que influyen en la producción de AGV en los reactores discontinuos, que se analizarán a continuación.

2.3.2 Factores que influyen en la producción de AGV de los procesos de fermentación

Existen diversos factores que influyen en la producción de AGV en los procesos de fermentación como son el tiempo de retención celular, tiempo de retención hidráulica, carga orgánica, pH, temperatura, tóxicos y nutrientes, entre otros. A continuación se detalla cada uno de estos factores, así como algunos estudios realizados sobre los mismos.

2.3.2.1 Tiempo de retención celular (TRC)

El tiempo de retención celular (TRC) corresponde al tiempo promedio que permanecen los microorganismos o biomasa en el reactor. Este parámetro puede emplearse como un factor selectivo de microorganismos ya que permiten su permanencia relacionada con su velocidad de reproducción (Elefsiniotis y Oldham, 1994). Los organismos fermentadores están caracterizados por tener bajas velocidades de crecimiento y reproducción en condiciones anaerobias, por lo que el control del TRC es un parámetro crucial.

Eastman y Ferguson (1981) estudiaron el efecto de TRC cortos entre 9 y 72 h en la hidrólisis y acidificación de sustratos solubles en lodos primarios a temperatura de 35°C, y hallaron que la fermentación se lleva a cabo rápidamente con este tipo de sustratos, siendo la hidrólisis el factor limitante. Sin embargo, diversos estudios revelan la importancia que tiene el TRC en la acidogénesis como se muestra a continuación.

Elefsiniotis y Oldham (1994) estudiaron la fermentación anaerobia en lodos primarios, encontrando un aumento en la producción total de AGV y Demanda Química de Oxígeno (DQO) disuelta al incrementarse el TRC de 10 a 20 días. Goncalvez *et al.* (1994) compararon diferentes TRC y obtuvieron una mayor producción de AGV y remoción de sólidos suspendidos consecuencia de la hidrólisis y un incremento de la DQO disuelta con TRC entre 6 y 9.8 días. Danesh y Oleszkiewicz (1995) realizaron fermentación en agua residual doméstica con TRC de 4, 8 y 13 días, encontrando que con TRC altos se obtiene mayor producción de AGV.

Miron *et al.* (2000) estudiaron el efecto de TRC entre 3 y 15 días sobre la hidrólisis, acidificación y metanogénesis de aguas domésticas en un reactor de flujo ascendente y obtuvieron que las condiciones acidogénicas se producen en tiempos menores o iguales a 8 días; en el caso de TRC superiores a 8 días se observó que se favorecen las condiciones metanogénicas al favorecer el crecimiento de bacterias metanogénicas.

2.3.2.2 Tiempo de residencia hidráulica (TRH)

El tiempo de residencia hidráulica (TRH) es un parámetro que determina el tiempo de contacto entre los microorganismos y el sustrato, el cual se puede manipular para favorecer

el crecimiento de organismos acidogénicos. Dinopolou *et al.* (1988) afirman que este parámetro determina la eficiencia de la solubilización de los sólidos y el grado de acidificación. Lettinga y Hulshoff (1991) sugieren valores entre 6 y 24 horas para la acumulación de AGV en el reactor y Holst *et al.* (1997) recomiendan un intervalo de TRH entre 2 y 24 horas, dependiendo del tipo de agua residual.

Von Münch y Greenfield (1998) mencionan que la acidificación bioquímica se puede favorecer con un control independiente del TRC y TRH, por lo que se pueden obtener las mismas tasas de producción para combinaciones de TRC y TRH, lo cual es importante para reducir los volúmenes de los tanques al fijar TRH menores que TRC.

Guerrero *et al.* (1999) estudiaron la hidrólisis y acidificación anaerobia en agua residual con alto contenido de sólidos suspendidos volátiles y proteínas observando la mayor remoción de sólidos y acidificación con TRH de 12 a 24 horas en intervalos de temperatura termofílicos y mesofílicos. Maharaj y Elefsiniotis (2001) encontraron que en reactores completamente mezclados la producción era mayor para TRH de 30 h y temperatura de 25°C.

Yu *et al.* (2003) estudiaron la hidrólisis y acidogénesis en un reactor de flujo ascendente, encontrando que la mayor hidrólisis de los sólidos suspendidos volátiles entre 34% y 78% se llevó a cabo en condiciones ácidas (pH entre 4 a 6.5) y a una temperatura de 35°C y con un TRH entre 4 y 24 horas. Los carbohidratos fueron acidificados en un 31% a 65%, las proteínas entre un 20% y 45% y los lípidos entre un 14% y 24% en el intervalo de TRH mencionado.

2.3.2.3 Carga orgánica (CO)

La carga orgánica es un concepto que involucra la tasa de alimentación de sustrato por masa de microorganismos y por unidad de tiempo (Metcalf y Eddy, 1996) el cual es de importancia ya que indica la disponibilidad de sustrato en el metabolismo celular y su crecimiento. Las cargas orgánicas medias a altas favorecen la acidificación. Liu y Ghosh (1997) alimentaron con altas concentraciones de sólidos a un reactor anaerobio de flujo ascendente y observaron que el grado de acidificación se incrementa al incrementarse la carga orgánica.

González (2004) trabajó con diferentes valores de cargas orgánicas (0.27 a 1.46 kgDQO/kgSST·d) en un reactor anaerobio piloto alimentado con agua residual municipal y encontró que la mayor producción de AGV se presenta en las cargas orgánicas de 0.62 y 0.72 kgDQO/kgSST·d. En otro trabajo similar de Pérez (2004) quien trabajó con un reactor piloto alimentado con agua residual, encontró que la máxima conversión de DQO a AGV se obtuvo con una carga orgánica promedio de 0.74 kgDQO/kgSST·d.

2.3.2.4 pH

El pH es un parámetro que afecta las tasas de crecimiento de los microorganismos, el tipo de especies y las interacciones entre estas en el reactor, y la distribución de AGV. Se sabe que el pH, junto con el potencial de óxido-reducción (Eh , medida de la actividad de los electrones, relacionado con el pH y el oxígeno que hace referencia a un medio oxidante o reductor), intervienen en las especies de AGV que se producen en un reactor (Ren *et al.*, 1998).

Se ha encontrado que el pH en la fermentación anaerobia influye el metabolismo microbiano en aspectos como la utilización de fuentes de carbono y energía, eficiencia de la degradación del sustrato, síntesis de proteínas y liberación de productos metabolizados en la célula. El crecimiento óptimo de los microorganismos se da en pH neutros (Schlegel, 1988). Sin embargo, se ha encontrado que la actividad acidogénica se lleva a cabo a intervalos más amplios de pH. Además se ha encontrado que existe relación entre el pH medido y la concentración de AGV en el reactor (Von Münch y Greenfield, 1998)

Chyi y Dague (1994) mencionan que aunque no es bien conocido el pH óptimo para el crecimiento de organismos acidogénicos, estos pueden desarrollarse a valores de pH por abajo de 6. Alexiou *et al.* (1994), señalan que un pH de 6 parece ser el óptimo para la actividad acidogénica, mientras que Goncalvez *et al.* (1994) señalan un intervalo óptimo entre 6 y 8.

Ren *et al.* (1997) estudiaron el efecto del pH en reactores acidogénicos encontrando que los diversos valores de pH favorecen distintos tipos de fermentación. La fermentación acética se ve favorecida con pH mayor a 6 y potenciales redox altos ($Eh > -100$ mV), la propiónica con pH de 5.5 y $Eh = -278$ mV, la fermentación butírica tiene su máxima formación a pH 5 y Eh

inferiores a - 250 mV. La fermentación etanólica se logra bajo pHs inferiores a 4.5.

Ruel *et al.* (2002) compararon tres fermentadores acidogénicos con control de pH a 6.5 y 7.5, y uno sin control, encontrando poca diferencia en la producción de AGV y que los sistemas sin control de pH tienden a autorregularse.

Por otro lado Ahn y Speece (2006) encontraron que las condiciones termofílicas y a un pH de 9, son las óptimas para un reactor acidogénico; esto se debe a que se evita la solubilización de los productos orgánicos de la conversión de ácidos orgánicos y, concluyen que las condiciones alcalinas parecen no afectar en gran medida la formación de AGV.

2.3.2.5 Temperatura

Este es un factor importante para el desarrollo de los microorganismos y la tasa de reacciones enzimáticas, ya que se relaciona con la tasa de desnaturalización de las enzimas, la transferencia de nutrientes y la estabilidad de los sustratos.

En aguas residuales se conocen tres intervalos de temperaturas óptimas para que los microorganismos lleven a cabo sus reacciones enzimáticas, clasificadas como psicrófilas (-2°C a 20°C), mesofílicas (20°C a 45°C) y termofílicas (45°C a 75°C) (Metcalf y Eddy, 2003). En general un incremento en la temperatura en el intervalo mesofílico y termofílico favorece la acidogénesis como se observa en los estudios que se comentan a continuación.

Zoetemeyer *et al.*, (1982) investigaron la influencia de la temperatura sobre la acidificación en glucosa en el intervalo de 20°C a 60°C encontrando que las temperaturas óptimas fueron de 37°C y 45°C. Dinopoulou *et al.* (1988) menciona que el grado de acidificación y la tasa de formación de ácidos grasos volátiles se incrementa conforme la temperatura aumenta en el intervalo mesofílico, bajo un TRH y sustrato constante. Las temperaturas óptimas del experimento mostraron que la especie dominante de AGV fue el ácido acético. Por el contrario, la producción de ácido propiónico se mantuvo casi constante en el intervalo comprendido entre 25°C y 40°C.

Ruel *et al.* (2002) estudiaron el potencial acidogénico en reactores anaerobios a 15°C, 20°C y 30°C, encontrando que la temperatura óptima para la producción de AGV fue de 30°C. Explican el incremento de AGV debido al aumento de la solubilidad de lípidos y proteínas, así

como el aumento de biodegradación de los compuestos orgánicos, además de que algunos tipos de bacterias acidogénicas no pueden crecer a temperaturas menores de 14°C, dejando material orgánico del sustrato sin fermentar.

2.3.2.6 Tóxicos

Los productos tóxicos se definen como agentes químicos que, bajo ciertas condiciones pueden producir efectos adversos en sistemas biológicos que van desde alteraciones menores de las funciones normales, hasta la muerte. (Millner *et al.*, 1992). Algunos elementos que pueden estar en el agua residual, como metales pesados, pueden resultar ser tóxicos dependiendo de su concentración. Además, la concentración de algunos productos de degradación como los ácidos grasos volátiles, hidrógeno, alcoholes puede ser tóxicos (inhibición por exceso de producto) para los mismos microorganismos del sistema dependiendo de las condiciones de éste como pH y capacidad amortiguadora del sistema (Pérez, 2004). Por lo tanto, los microorganismos acidogénicos pueden verse inhibidos por la presencia de éstos tóxicos en concentraciones que lo afecten.

2.3.2.7 Nutrientes

Los nutrientes como nitrógeno y fósforo, así como algunos elementos trazas o micronutrientes tales como Na, Ca, K, Mg, Fe, Cl, Ni, Zn, entre otros, son necesarios para que pueda ocurrir la fermentación anaerobia de la materia orgánica (Malina y Pohland, 1992).

2.3.3 Transformaciones del material orgánico en la hidrólisis y acidogénesis

El agua residual tiene dos grandes fracciones de material: disuelto y suspendido. Esta clasificación general se hace mediante la separación de las partículas por medio de filtración a través de un tamaño de poro de 0.45 µm, considerándose las partículas con diámetro mayor a 0.45 µm como fracción suspendida o sólidos suspendidos (SS) y las menores a 0.45 µm como fracción disuelta (Von Münch *et al.*, 1999). Ambas fracciones a su vez están formadas por material orgánico e inorgánico, como se puede observar en la Figura 2.10. En ésta se hace una propuesta esquematizada para englobar las posibles transformaciones del material suspendido y disuelto en los procesos de hidrólisis y acidificación. En la hidrólisis y

acidificación, la relación de DQO disuelta y suspendida cambia debido a las transformaciones que implican estas reacciones catabólicas.

En general, el material orgánico del agua residual, ya sea disuelto o suspendido, es cuantificado mediante la DQO, la cual indica la cantidad de material orgánico que es susceptible a ser oxidado químicamente, con un oxidante fuerte (Crites y Tchobanoglous, 2000).

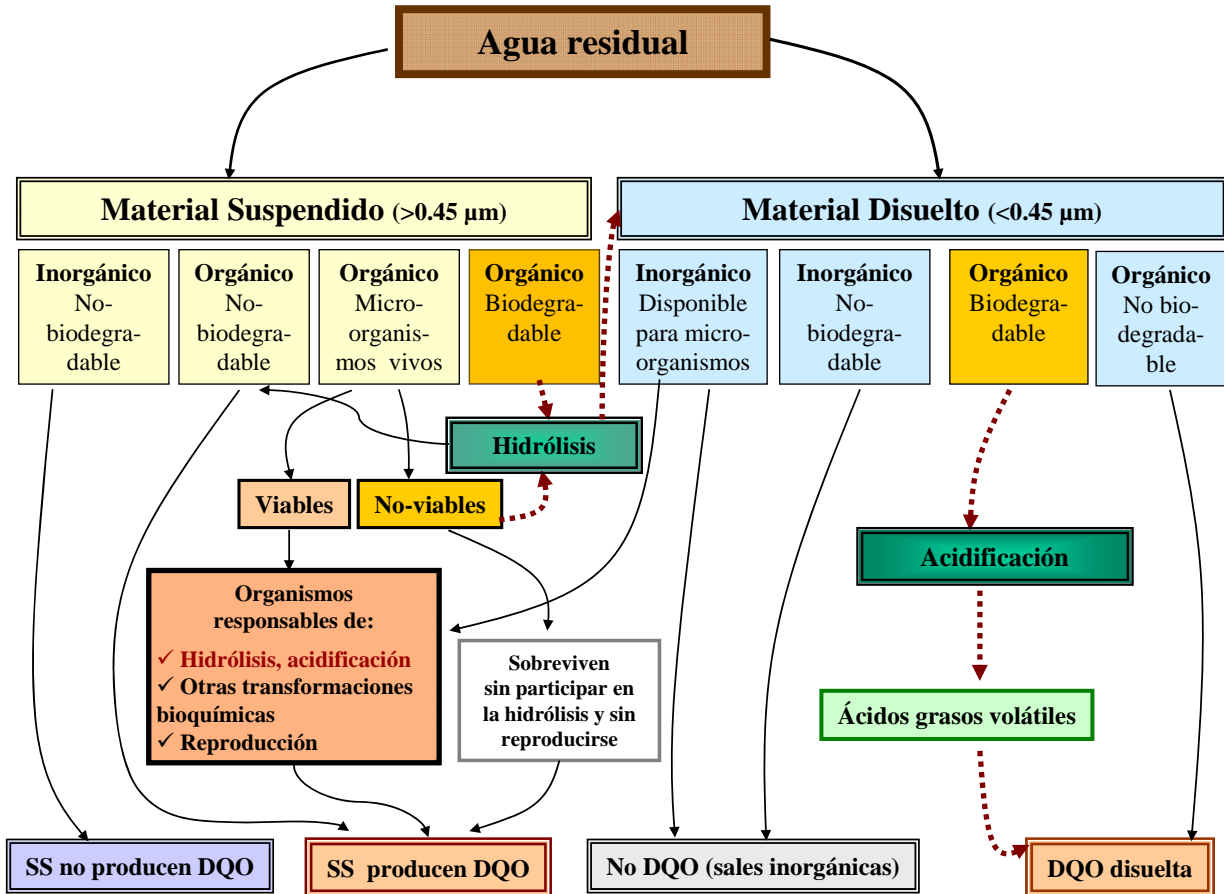


Fig. 2.10. Esquema con transformaciones de material suspendido y disuelto durante la hidrólisis y acidificación (Adaptado de González-Martínez, 2008)

En la Figura 2.10 se puede observar que en la fracción suspendida del agua residual existe la fracción orgánica de organismos vivos o biomasa, la cual presenta organismos viables o con capacidad de reproducirse en condiciones anaerobias, que son responsables de las reacciones de hidrólisis y acidogénesis. En la hidrólisis se lleva a cabo la fragmentación del material suspendido orgánico biodegradable, como polisacáridos, lípidos y proteínas, por

medio de enzimas hidrolíticas. Los productos de esta transformación pasan a formar parte del material orgánico disuelto del agua residual. También el material que puede ser sometido a hidrólisis son los microorganismos no viables, los cuales no pueden vivir bajo las condiciones del reactor o no pueden reproducirse; una parte de estos microorganismos muere y es hidrolizada por la biomasa del reactor. Este proceso se plantea como una manera de remover patógenos en el reactor anaerobio de este estudio. Por otro lado, algunas bacterias no viables pueden sobrevivir sin reproducirse y salir en el efluente cuantificándose como sólidos suspendidos que producen DQO; la biomasa viable encargada de la hidrólisis y acidificación, se reproduce y también se cuantifica como sólidos suspendidos que producen DQO.

La fracción suspendida e inorgánica del agua residual, corresponde a arcillas, arenas y metales, los cuales no tienen participación en las transformaciones bioquímicas en el reactor, y no representan DQO. Por otro lado, existe una fracción suspendida orgánica, que no es biodegradable como celulosa y otros polímeros, que son metabolizables tan lentamente que se consideran material inerte que escapa al tratamiento biológico dentro del reactor (Wentzel y Ekama, 1997).

En el caso del material disuelto del agua residual, también tiene su fracción orgánica e inorgánica. La fracción orgánica disuelta está compuesta por material biodegradable y no biodegradable; para este estudio la fracción más importante en el caso de la acidogénesis es la orgánica biodegradable, la cual está compuesta por monómeros de carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, entre otros. La fracción orgánica disuelta es conformada por los componentes solubles del agua residual y los productos de la hidrólisis del material orgánico suspendido, que son de fácil asimilación. Estos componentes son empleados por las bacterias acidogénicas, para producir energía en forma de ATP y obteniéndose como productos AGV en los procesos de la acidogénesis; los AGV al ser material orgánico de bajo peso molecular, se representan como DQO disuelta. Existe también material orgánico disuelto no biodegradable, el cual corresponde a compuestos complejos como ácidos húmicos y fúlvicos; éstos al no poder participar en las reacciones bioquímicas se mantienen en el agua y se cuantifican como DQO disuelta. Por otro lado la fracción inorgánica disponible para los microorganismos corresponde nutrientes necesarios para el crecimiento de la biomasa como nitritos, nitratos, nitrógeno amoniacal y ortofosfatos, estas no representan DQO disuelta, al igual que el material inorgánico no biodegradable como

sales inorgánicas (Metcalf y Eddy, 2003).

2.4 Reactores discontinuos o SBR

Son sistemas de llenado y vaciado que surgieron en Inglaterra a principios del siglo XX como una alternativa para el tratamiento de aguas residuales. Los experimentos sobre el tratamiento biológico de lodos activados, se llevaron a cabo desde finales del siglo XIX, en Inglaterra y Estados Unidos; sin embargo, estos sistemas continuos presentaban problemas, ya que no existía una acumulación de la biomasa dentro del reactor y apenas se investigaba las ventajas de la sedimentación de la fracción sólida y decantación del efluente clarificado, Fue entonces que entre 1912 y 1914, Fowler, Arden y Lockett, comenzaron a realizar experimentos sobre el tratamiento del agua residual con sistemas discontinuos, resurgiendo esta tecnología para 1960 y 1970 (Arora *et al.*, 1985; Wilderer *et al.*, 2001).

Los sistemas discontinuos, intermitentes o de tratamiento por lote, pueden considerarse como una variante de los lodos activados, en la cual se controlan fases de operación. Entre sus ventajas se encuentra su facilidad de diseño y operación; y éstos se han utilizado para el tratamiento de aguas municipales e industriales, así como en proyectos de investigación.

El control de los reactores discontinuos se realiza a través de estrategias de operación que pueden controlar las tasas de crecimiento de los microorganismos. Esto se logra mediante la división del ciclo en etapas (llenado, reacción, vaciado y purga), cada una de las cuales es manipulada con controladores de tiempo y microprocesadores, dependiendo de los objetivos del tratamiento. La versatilidad de estos reactores reside en la capacidad de establecer estrategias de operación adecuadas a las necesidades y objetivos de tratamiento del agua residual (Ketchum, 1996).

Algunas de las ventajas que presentan los reactores discontinuos con respecto a la información que se cita en la literatura (Arora, 1985; González *et al.*, 1994 y Ketchum, 1996) son:

- 1) Flexibilidad para ajustar las condiciones de operación como carga orgánica, concentración de oxígeno disuelto en el reactor y edad de los lodos, lo cual se traduce en una operación más sencilla con respecto a otros reactores.

2) Permiten el tratamiento de aguas residuales con concentraciones medias a altas (entre 500 y 3000 mg DBO/l) gracias a la facilidad que tienen para ajustar los tiempos de reacción bioquímica y diluir las concentraciones de contaminantes en el agua residual.

3) Pueden tolerar flujos extraordinarios y funcionar como tanques de igualación, además de tolerar picos con altas concentraciones de contaminantes.

4) No se requiere recircular lodo activado ya que éste siempre permanece en el reactor.

5) Es posible procesar una gran cantidad de sustrato con mayor facilidad que en un sistema continuo convencional, y en menos tiempo.

6) No requiere tanque de sedimentación independiente.

Los reactores discontinuos operan por ciclos, los cuales son divididos en etapas que tienen asignadas funciones y tiempos específicos, dependiendo de los objetivos que se persigan. En la literatura se recomienda la utilización de tres ciclos por día o ciclos con duración total de entre 6 y 24 horas (Arora, 1985; Ketchum, 1996; González, 2004; Morales, 2006). A continuación se mencionan y describen brevemente las etapas en las que es dividido un ciclo.

- Llenado

Es el periodo que corresponde al tiempo necesario para alimentar el agua residual al reactor (Ketchum 1996). Existen dos tipos de llenado.

- **Llenado Estático.** Carece de cualquier tipo de mezcla y trae como consecuencia una alta concentración de sustrato al final del llenado debido a que no ocurren reacciones biológicas importantes como consumo de sustrato y crecimiento de microorganismos, al existir un mínimo contacto entre la biomasa y el sustrato.
- **Llenado con Mezcla:** Favorece el contacto entre la biomasa y el sustrato y por ende la reducción de éste en condiciones anaerobias; en condiciones anóxicas al reducirse el oxígeno disuelto, que en presencia de nitratos puede derivar en la desnitrificación y reacciones anaerobias una vez que se han agotado el oxígeno disuelto y los nitratos. Puede también existir una variante de mezcla en condiciones aerobias donde se realice la nitrificación y el consumo de sustrato.

- Reacción o Mezcla

Generalmente este es el periodo de mayor duración y contacto entre la biomasa y el agua residual; en éste se llevan a cabo diversas reacciones biológicas como la reducción de la concentración de sustrato, la nitrificación y desnitrificación, la remoción de fósforo, la producción de ácidos grasos volátiles e incluso la reducción de biosólidos, entre otras (Ketchum, 1996).

- Sedimentación

Una vez finalizado el proceso biológico (reacción o mezcla) debe permitirse que la biomasa en suspensión se precipite al fondo del reactor, para así separarla del agua tratada (González, 1994).

- Vaciado

En esta etapa se retira el sobrenadante clarificado y tratado, y en el fondo del tanque permanecen los microorganismos suspendidos en una pequeña cantidad de agua.

- Purga

Esta etapa es indispensable para controlar el proceso ya que permite mantener en el reactor una concentración determinada de microorganismos al encontrarse la cantidad equivalente a los que se reprodujeron durante el ciclo. Esta etapa puede llevarse a cabo durante el mezclado o después de que los lodos han sedimentado.

3 OBJETIVOS Y ALCANCES

El reúso de las aguas residuales en la agricultura en el país es una necesidad apremiante ya que contienen una gran cantidad de nutrientes y proporcionan humedad que los cultivos requieren. El uso del agua residual sin o con un tratamiento deficiente previo resulta en un impacto a la salud debido a la alta densidad y variedad de patógenos. Se sabe que algunos microorganismos son removidos en sistemas de drenaje, canales de riego y presas, por sedimentación y depredación.

Los sistemas de transporte y almacenamiento de aguas residuales, como los sistemas de drenaje de la ciudad de México y la Presa Endhó, son sistemas en los cuales se llevan a cabo procesos en los cuales los microorganismos presentes utilizan como alimento y transforman muchas de las sustancias orgánicas contenidas en las aguas residuales. De manera importante se llevan a cabo procesos anaerobios en los cuales las grandes moléculas son hidrolizadas por algunos microorganismos y otros microorganismos que no encuentran en ese medio las condiciones adecuadas para su reproducción pueden convertirse en el alimento de otros. Los principales productos del metabolismo anaerobio de bacterias facultativas y de otras anaerobias como los clostridios son los ácidos grasos volátiles y el dióxido de carbono.

3.1 Objetivos

General

Evaluar la capacidad para reducir la cantidad de organismos indicadores y patógenos en el agua residual mediante procesos de acidificación bioquímica anaerobia.

Particulares

- Lograr la transformación bioquímica anaerobia de contaminantes en el agua residual para la producción de ácidos grasos volátiles (AGV).
- Propiciar la transformación de sólidos suspendidos contenidos en el agua residual en sólidos disueltos, mediante los procesos de hidrólisis microbiana bajo condiciones anaerobias.
- Determinar la capacidad del sistema para la remoción de dos grupos de organismos indicadores bacteriológicos de contaminación (coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*) y una especie patógena. (*Salmonella typhi*).

3.2 Alcances

- El trabajo se realizó en un reactor discontinuo anaerobio piloto alimentado con agua residual de Ciudad Universitaria.
- Se trabajó con tres grupos de bacterias (coliformes fecales, *Enterococcus faecalis* y *Salmonella typhi*).
- Se evaluó el comportamiento de parámetros como pH, contenido de fosfatos y nitrógeno amoniacal en los procesos de acidificación.

4 METODOLOGÍA

El sistema biológico que se empleó en este estudio para favorecer la reducción de patógenos mediante la acidificación anaerobia es un reactor de operación discontinua (batch) con poblaciones mixtas de microorganismos en suspensión.

4.1 Descripción de la unidad experimental y su operación

El experimento se llevó a cabo en un reactor piloto de concreto, de 2.16 m de profundidad y 0.925 m de lado interno, con un volumen total de 1.85 m³. Este se encuentra ubicado en la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria de la UNAM (México, D.F.) (Figura 4.1).

El reactor tiene un agitador mecánico, el cual es una flecha de acero con una hélice de plástico liso en la parte inferior. Esta hélice se encuentra en el centro a 30 cm del fondo del reactor. Es impulsada por un moto-reductor marca BALDOR de 0.5 HP para lograr una mezcla de todo el sistema durante la reacción anaerobia (ver Figura 4.2).

El reactor fue controlado mediante un reloj programable marca Müller el cual alimenta, con corriente eléctrica de 110 V, tres canales que controlan el llenado, el vaciado y la mezcla.

El llenado se hace mediante una bomba centrífuga marca SIEMENS con una potencia de ¾ HP que está conectada a una tubería de PVC de ¾ de pulgada que descarga libre a un tubo de PVC de 2 pulgadas de diámetro, el cual vierte el agua a 30 cm del fondo del reactor. Este arreglo se realizó para evitar el retorno del agua por un efecto de 'sifón' y la consecuente posible pérdida de la biomasa. Debido a que el tubo del agua descargaba libre a un tubo de diámetro mayor con una velocidad de flujo alta, se favorecía la entrada de aire al sistema, por lo que se colocó un *By-pass* a la salida de la bomba para reducir la velocidad de flujo.

Esto permitió la reducción casi por completo del burbujeo dentro del reactor al momento del llenado.

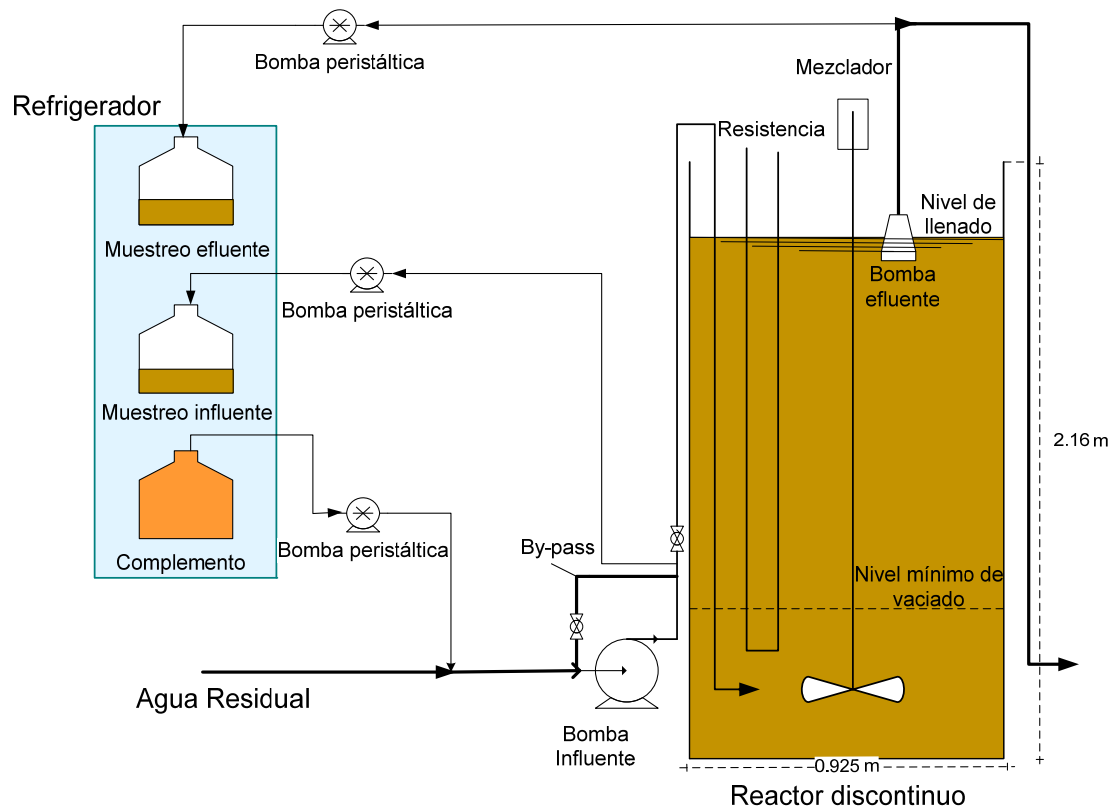


Fig. 4.1. Representación esquemática del reactor y sus componentes

El vaciado se realizó mediante una bomba sumergible marca Little Giant con una potencia de 1/6 HP. Esta se colocó sobre una charola de aluminio acoplada a 3 flotadores de tal manera que la descarga se lleve a cabo de forma superficial, evitando el arrastre de los sólidos sedimentados (decantación).

Los controles de niveles de llenado se operaron con dos interruptores de flotador, uno para el nivel de llenado normal y otro de emergencia. Estos fueron colocados en serie a una fase del sistema de alimentación eléctrica de la bomba de llenado, los cuales controlan el encendido y apagado de la bomba dependiendo el nivel del agua y de la hora del reloj programable.

El control de vaciado se llevó a cabo con un interruptor de “pera”, el cual está conectado a una fase del sistema de alimentación eléctrica de la bomba de vaciado y permite fijar el nivel

mínimo de agua en el reactor dependiendo el volumen de recambio que se requiere (Figura 4.1).

La Figura 4.2 muestra una fotografía del reactor piloto instalado dentro de la planta para tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria.

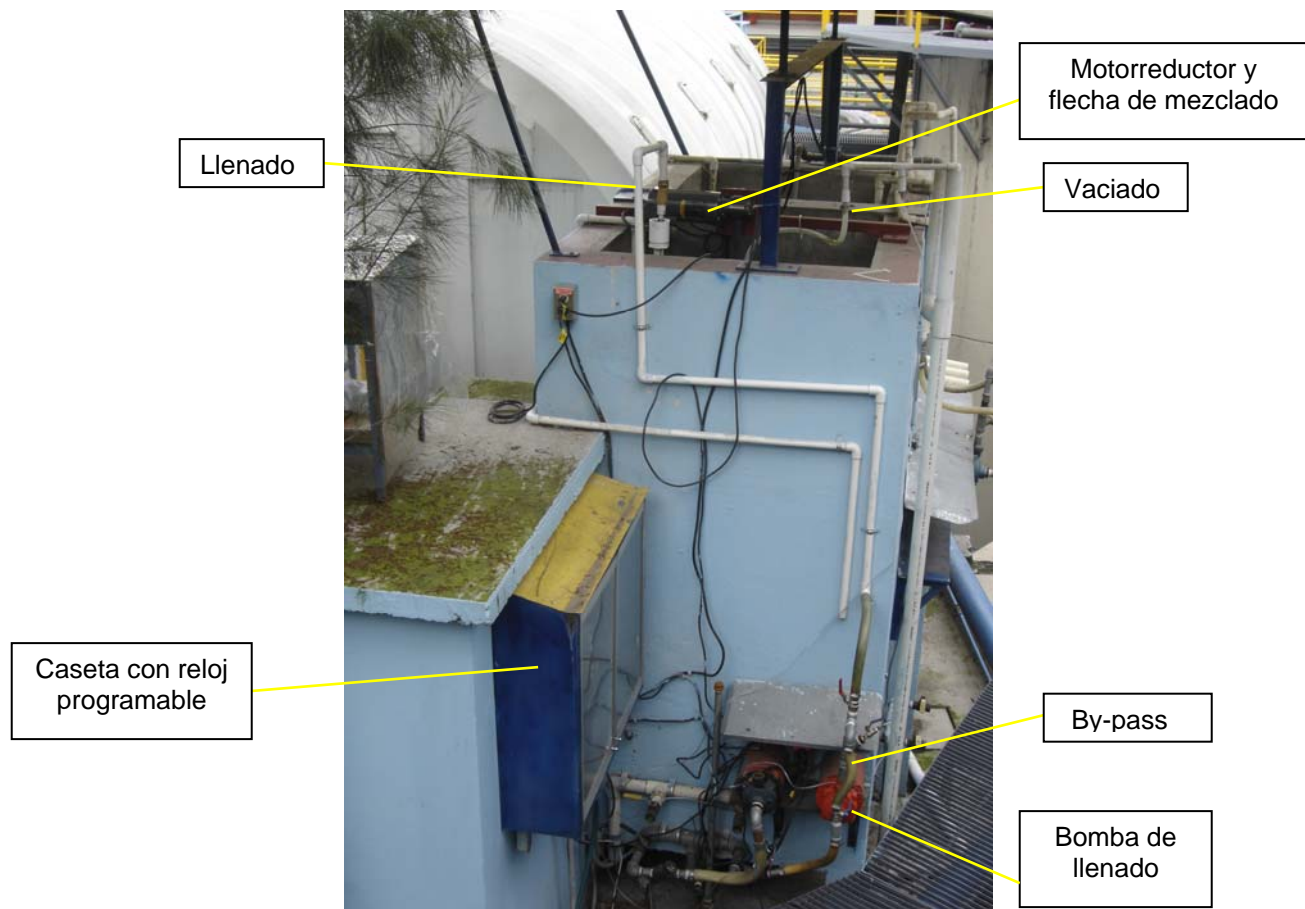


Fig. 4.2. Fotografía del reactor SBR piloto, anaerobio

4.2 Operación del reactor piloto

El reactor fue alimentado con agua residual de la Ciudad Universitaria y de la Colonia Copilco El Alto. Debido a que los valores de DQO son inferiores a los de un agua residual típica municipal, se decidió aumentar la concentración de material orgánico adicionando un complemento de maltodextrina y proteínas hidrolizadas; éste fue añadido al momento del llenado del reactor mediante una bomba peristáltica que vierte en el tubo de alimentación de agua residual antes de la bomba de llenado para así garantizar la mezcla antes de entrar al

reactor. Tanto las muestras compuestas como el complemento se almacenan a 4°C en bidones que se encuentran en un refrigerador junto al reactor.

Las fases de la operación del reactor, se encuentra descrita en la Figura 4.3 y son:

- *Llenado.* Se introduce un volumen de agua residual fresca al reactor, dejando agua residual con biomasa del ciclo anterior. El tiempo de llenado duró aproximadamente 1 hora.
- *Reacción.* El tiempo de reacción con agitación inicia inmediatamente después de terminar el llenado. Su duración es de 6 horas y 10 minutos.
- *Sedimentación.* Al concluir el periodo de reacción se suspende la mezcla y se permite la sedimentación durante 45 minutos.
- *Vaciado o decantación.* La duración es de 1 hora aproximadamente.

Para el control del crecimiento de la biomasa se realizaron extracciones controladas del contenido del reactor durante la fase final de la reacción.

El volumen útil empleado en el reactor fue de 1.45 m³ (1450 l) con un volumen de recambio de 67% lo cual equivale a un caudal diario de 2912 l/d.

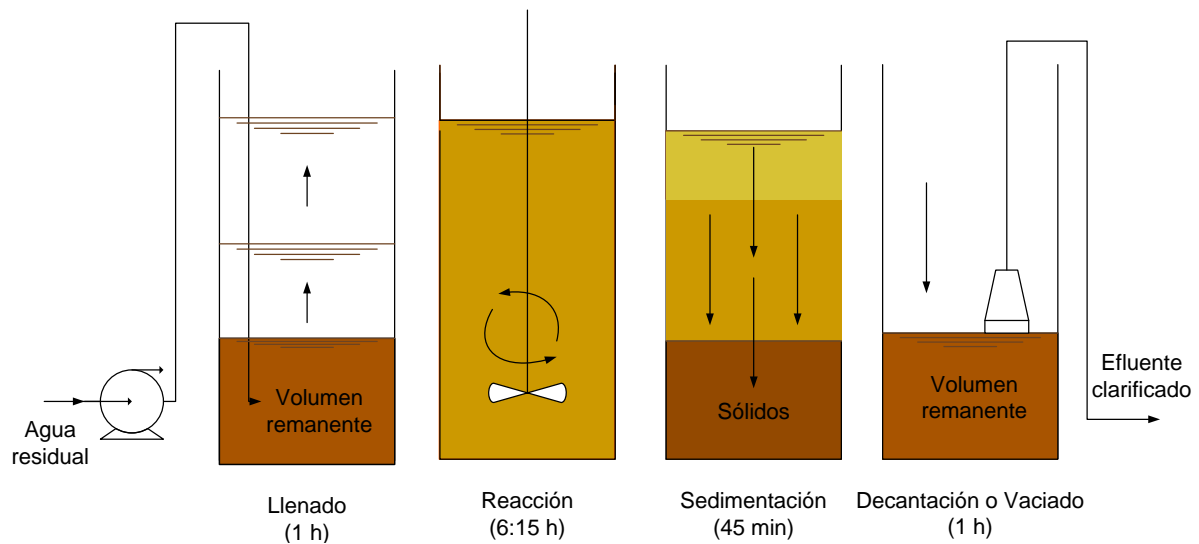


Fig. 4.3. Etapas de un ciclo de un biorreactor por lotes con biomasa en suspensión

4.2.1 Duración de los ciclos

Con base en trabajos previos realizados en biorreactores discontinuos para la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), Cuevas-Rodríguez *et al.* (1998) y González (2004) emplearon ciclos de ocho horas de duración. En este trabajo se empleó esa duración de ciclos, repetidos tres veces en 24 horas durante el tiempo de la experimentación. La programación de las fases se muestra en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Horarios y duración de los ciclos en un día

Fases del Ciclo	Ciclo del día			Tiempo (hora:min)
	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
Llenado	7:00 – 8:00	15:00 – 16:00	23:00 – 0:00	1:00
Reacción	7:00 -13:15	15:00 – 21:15	23:00 – 5:15	6:15*
Sedimentación	13:15 – 13:59	21:15 – 21:59	5:15 – 5:59	0:45
Vaciado	14:00 – 15:00	22:00 – 23:00	6:00 – 7:00	1:00

* Se considera que la reacción inicia en el momento en que el agua residual tiene el primer contacto con los microorganismos.

4.2.2 Muestreo

El muestreo se realizó mediante bombas peristálticas con 1 cabezal marca Masterflex del número 16, acopladas a un motor de baja potencia de 12 V. Existieron 3 bombas de muestreo: dos para el llenado y una para el vaciado. Las bombas se echaban a andar al momento del llenado o vaciado, ya que tomaban corriente eléctrica de los canales controlados por el reloj programable.

En este trabajo se obtuvieron tres tipos de muestras para realizar determinaciones del agua residual.

- *Muestra compuesta de 24 horas.* Se tomaron muestras compuestas del influente y efluente, de tres ciclos en 24 horas, dos veces por semana. Estas se tomaron con dos bombas peristálticas, una para el influente y otra para el efluente, y fueron almacenadas en bidones a 4°C. Con estas muestras se realizaron determinaciones para conocer el estado general del sistema como: demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos totales (SST), nitrógeno amoniacal y fosfatos.

- *Muestra del primer ciclo.* Con una bomba peristáltica se tomó una muestra puntual del agua residual durante el tiempo de llenado y vaciado. Con estas muestras se realizaron las determinaciones microbiológicas de coliformes fecales, *Enterococcus faecalis* y *Salmonella typhi*; además de las determinaciones de ácidos grasos volátiles.
- *Muestra puntual.* Para determinar el Índice Volumétrico de Lodos (IVL), Sólidos suspendidos del licor mezclado (SSLM), se tomó una muestra puntual durante la fase de reacción del primer ciclo.

El pH y la temperatura del reactor se determinaron de forma puntual con un potenciómetro y un termómetro, diariamente. Estos parámetros no se controlaron y sólo fueron monitoreados. En la Tabla 4.2. se muestra la frecuencia y tipo de muestreos.

Tabla 4.2. Tipo y frecuencia de muestreo para las determinaciones del experimento (C, compuesta , P, puntual y 1er C, muestra del 1er ciclo)

Variables	Influyente	Efluente	Reactor	Frecuencia de muestreo
DQO total	C	C		2/ semana
DQO disuelta	C	C		2/ semana
SST	C	C	P	2/ semana
Microbiológicos	1er C	1er C		1/ semana
NH₄	C	C		2/ semana
PO₄	C	C		2/ semana
IVL			P	2/ semana
pH			P	Diario
Temperatura			P	Diario
AGV	1er C	1er C		1/semana

4.3 Procedimiento de experimentación

Este experimento tuvo como variable de control la carga orgánica (CO) y el tiempo de retención celular (TRC), el cual es una variable dependiente de la carga orgánica.

La carga orgánica es un concepto que involucra la tasa de alimentación de sustrato por masa de microorganismos y por unidad de tiempo (Metcalf y Eddy, 1996) el cual es de

importancia ya que indica la disponibilidad de sustrato en el metabolismo celular y su crecimiento. La carga orgánica se encuentra definida por la ecuación 4.1.

$$CO = \frac{Q \cdot S_o}{V \cdot X} = \frac{S_o}{TRH \cdot X}$$

(Ec. 4.1)

Donde,

CO Carga orgánica, kgDQO/kg SST·d

Q Caudal de agua residual tratada por día o volumen de recambio por número de ciclos diario, l/d

S_o DQO en el influente, mg DQO/l

V Volumen total de reacción, l

X Concentración de sólidos suspendidos totales en el licor mezclado, mg SST/l

TRH Tiempo de residencia hidráulica, d

De acuerdo con la ecuación 4.1, para el arranque del experimento se propuso un porcentaje de recambio del 67%. La Tabla 4.3 indica los valores con los que se dio inicio el tiempo experimental. El valor de de DQO total y SST de influente, fueron obtenidos durante la puesta en marcha del reactor en la cual se caracterizó el agua residual del influente y duró 28 días.

Tabla 4.3. Parámetros de operación durante la puesta en marcha del reactor

Parámetros de inicio	Unidades	Valor
Caudal de agua tratada	l/d	2912
Volumen de recambio	%	67
Volumen total	l	1455
DQO total, influente	mg/l	204
SST, influente	mg/l	76

La carga orgánica para las tres etapas experimentales fueron de 0.5, 0.6 y 1.1 kgDQO/kgSST·d, y se ajustó, controlando la cantidad de DQO al añadir un complemento de éste.

El tiempo de retención celular es el tiempo promedio que los microorganismos permanecen en el sistema; se define como la masa de microorganismos en el reactor dividida por la masa

de microorganismos removidos del sistema cada día (Crites y Tchobanoglous, 2000). Irvine y Busch (1979) la definen como el recíproco de la masa total de sólidos suspendidos purgada por día, incluidos los sólidos perdidos en el efluente clarificado. El tiempo de retención celular se encuentra definido en la ecuación 4.2.

$$TRC = \frac{V \cdot X}{Q_{purga} \cdot X + SST_{efluente} \cdot V_{recambio} \cdot n}$$

(Ec. 4.2.)

Donde:

- TRC Tiempo de retención celular, días
- V Volumen total de reacción, m³
- X Concentración de sólidos suspendidos totales en el licor mezclado, kgSST/m³
- Q_{purga} Caudal de purga, de lodos m³/d
- SST_{efluente} Sólidos suspendidos totales de efluente, kgSST/m³
- V_{recambio} Volumen del lote de recambio, m³
- n Número de ciclos por día

4.4 Enriquecimiento del agua residual

Como el agua residual de la Ciudad Universitaria no contienen suficiente materia orgánica que la caracterice como agua municipal típica, se añadió un suplemento alimenticio para lograr un aumento de la DQO. Esta práctica se ha llevado a cabo en trabajos anteriores en este mismo reactor piloto (González, 2004; Morales, 2006). El complemento utilizado es maltodextrina y proteína hidrolizada de grado alimenticio (*Maltadex®* y *Prothidex®*) en proporciones iguales de DQO, como se muestra en la Tabla 4.4.

Para cada etapa experimental se ajustó la carga orgánica ajustando la DQO por medio del complemento alimenticio.

Tabla 4.4. Componentes del complemento alimenticio para el reactor y sus equivalencias en DQO

Componente	Cantidad (mg)	Equivalente en DQO (mg/l)
Maltodextrina	60	100
Proteínas hidrolizadas	100	100

4.5 Técnicas analíticas

Para la obtención de los diferentes parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de este estudio, se realizaron determinaciones analíticas de laboratorio, de acuerdo a las metodologías propuestas por APHA, AWWA y WPCF (1998). Describas en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5. Técnicas analíticas o forma de determinación de los parámetros del estudio

Parámetro	Preparación de la muestra	Técnica analítica o forma de determinación
DQO total	Sin filtrar	
DQO sobrenadante	Sin filtrar, fracción que no sedimenta en 30 min	Digestión por reflujo cerrado (150°C). Con soluciones A y B de Merck y determinación por fotometría a 445 nm (APHA 5220-C)
DQO disuelta	Filtrada a 1.6 µm	
AGV	Filtrada 1.6 µm	Cromatografía de gases. Columna Nukol marca Supelco de Polietilenglicol de 30 m x 0.25 mm; tamaño de partícula de 0.25 µm (APHA 6010-C)
Sólidos suspendidos totales	Filtrada 1.6 µm	Gravimetría, sólidos retenidos en papel filtro de microfibras de vidrio (1.6 µm). Secados a 103- 105°C (APHA 2540-D)
Sólidos suspendidos volátiles	Filtrada 1.6 µm	Gravimetría, sólidos retenidos en papel filtro de microfibras de vidrio (1.6 µm). Secados a 103- 105°C y posteriormente calcinados a 550°C (APHA 2540-D)
Nitrógeno amoniacal	Filtrada 1.6 µm	Fotometría del indofenol a 645 nm. Merck spectroquant de 2 a 150 mg/l (APHA 4500-NH ₃ D)
Fósforo como ortofosfatos	Filtrada 1.6 µm	Fotometría con azul de molibdeno a 420 nm. Merck spectroquant de 0.5 a 30 mg/l (APHA 4500-P C)
IVL Método estándar	Sin filtrar Sedimentación	Índice volumétrico de lodos en probeta de 1000 ml y reposo 30 min (APHA)
Coliformes fecales	Diluciones	Filtración en membrana (0.45 µm) y siembra en Agar mFC (Difco), incubación a 44.5°C en baño maría de 18 a 24 h (APHA, 1998)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Diluciones	Filtración en membrana de acetato de celulosa (0.45 µm) y siembra en Agar KF (BBL), incubación a 35°C en estufa durante 48 h (APHA, 1998)
<i>Salmonella typhi</i>	Diluciones	Filtración en membrana de acetato de celulosa (0.45 µm) y siembra en Agar Sulfito y bismuto (Bioxon), incubación a 35°C en estufa de 18 a 24 h (APHA, 1998)
pH	En el reactor	Medición directa con potenciómetro (APHA 4500 H-B)
Temperatura	En el reactor	Medición directa con termómetro digital

La determinación de AGV se realizó en un cromatógrafo de gases HP 5890 Series II Plus, con detector de Espectrómetro de Masas (MS Agilent 5973N) con barrido másico de 40 a 200 uma, en modo SCAN y un filamento con 70 eV de energía de ionización. La columna es Nukol™ de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interior y con una película de 0.25µm de polietilenglicol modificada al ácido. El programa de temperatura utilizado fue:

Temperatura de la columna: 110°C- 5 minutos/ 160°C-5 minutos

Temperatura del inyector: 220°C

Temperatura auxiliar (línea de transferencia): 250°C

Volumen inyectado: 1µl, splitless

Gas acarreador: Helio (grado BIP, ultra pureza)

Flujo: 0.8 ml/min

Las muestras para las determinaciones de AGV, fueron filtradas a través de membrana de nitrocelulosa de 0.45 µm (Millipore) y acidificadas a un pH de 3 empleando ácido clorhídrico 1 N. Estas fueron almacenadas en refrigeración hasta el momento de realizar el análisis.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización inicial del agua residual

El reactor fue alimentado con agua residual que la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria (PTARCU) recibe. El agua residual de la planta de tratamiento proviene de tres colectores, dos de ellos de descargas generadas en algunas secciones de Ciudad Universitaria (Circuito Escolar y Zona de Institutos), incluidas descargas de laboratorios de diversas Facultades; la tercera descarga es agua residual municipal proveniente de una zona habitacional, la colonia Copilco el Alto. El agua residual es una mezcla de aguas de desecho de tipo doméstico y aguas de desecho de tipo industrial por su contenido de sustancias químicas vertidas de los laboratorios (González, 1982).

La Tabla 5.1 muestra los valores promedios y la desviación estándar resultados de los valores individuales de que se encuentran en el Anexo II. Estos valores fueron determinados durante la caracterización del agua residual empleada. De los valores se puede observar que las concentraciones de contaminantes carbonados promediaron 204 mgDQO/l y de los cuales 67 mgDQO/l correspondieron a la fracción soluble (relación 3:1). Los SST tuvieron un valor promedio de 76 mg/l, de los cuales aproximadamente el 70% (54 mg/l) correspondieron a la fracción volátil. En esta fracción se encuentran considerada la materia orgánica y microorganismos que conformarán la biomasa del reactor (Metcalf y Eddy, 2003). El contenido de nitrógeno amoniacal fue elevado (>45 mg/l) para un agua típica, al igual que los fosfatos (>12 mg/l).

Tabla 5.1. Características del agua residual de Ciudad Universitaria sin adición de complemento (unidades en mg/l, excepto pH y temperatura)

Parámetro	Promedio (mg/l)
DQO total (DQO)	204 ± 93
DQO disuelta (DQOd)	67 ± 26
SST	76 ± 23
SSV	54 ± 28
N-NH ₄	56 ± 6
P-PO ₄	22 ± 2
pH	7.9 ± 0.6
Temperatura (°C)	18.7 ± 0.4

n= 8 muestras

Para las etapas experimentales, en las que se compararon tres cargas orgánicas (0.6, 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST-d) se adicionaron 400, 300 y 700 mgDQO por litro de agua residual suministrada al reactor en cada ciclo. Al adicionar el complemento de DQO se obtuvieron los siguientes valores promedios para la DQO de influente y SST en las tres etapas (Tabla 5.2). En la Tabla 5.2, la fase que se le denomina de arranque corresponde a la fase a partir del día 29 en la que se añadió el complemento de DQO con una concentración de 400 mgDQO/l.

Tabla 5.2. Características de DQO y SST, del agua residual enriquecida

Carga orgánica (kgDQO/kgSST-d)	DQO total (mg/l)	DQO disuelta (mg/l)	SST (mg/l)
1.0 (fase de arranque)	658 ± 335	421 ± 343	147 ± 41
0.6	600 ± 181	337 ± 163	136 ± 37
0.5	546 ± 185	323 ± 162	119 ± 50
1.1	936 ± 126	705 ± 131	188 ± 54

5.2 Efecto de la carga orgánica en los parámetros de respuesta

El comportamiento general de los sólidos suspendidos del licor mezclado o sólidos en el reactor (SSLM), DQO influente y carga orgánica (CO) se observan en la Figura 5.1. La puesta en marcha del reactor tuvo una duración de 60 días. Los primeros 28 días no se

adicionó complemento y se caracterizó el agua del influente y, a partir del día 29, se adicionó el complemento de DQO con una concentración de 400 mg/l, lo cual propició un mayor crecimiento de la biomasa en el reactor. Después de la puesta en marcha (día 60), siguieron 182 días de operación, en los cuales se mantuvieron tres condiciones de operación o etapas experimentales. Del día 102 al 122 se presentaron fallas técnicas con la bomba de vaciado, por lo que hubo problemas para mantener los sólidos en el reactor.

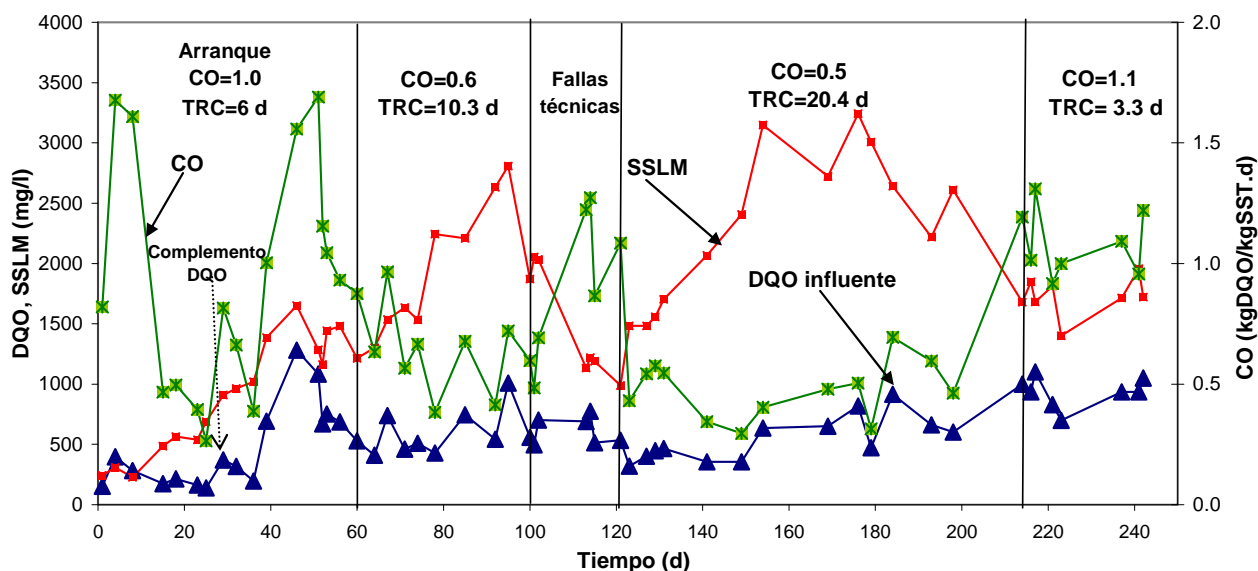


Figura 5.1. Variación de los SST en el reactor, con respecto a la DQO total del influente, a diferentes cargas orgánicas (CO:kgDQO/kgSST·d)

En la Figura 5.1, se puede observar el comportamiento general de los SSLM, CO y DQO del influente y en el Anexo II se pueden observar los valores puntuales de las gráficas a lo largo de todo el experimento. Además en la Tabla 5.3 se observan los promedios y desviaciones estándar de CO, TRC y SSLM, obtenidos para los valores individuales de cada una de las etapas experimentales, incluyendo el arranque.

En la fase de arranque, a partir de la adición del complemento, comenzó a presentarse un incremento y crecimiento de los SST en el reactor desde concentraciones de 688 mg/l hasta 1651 mg/l, con un ligero decremento a 1214 mgSST/l, que permitió comenzar la primera etapa experimental con un contenido de SST de 1302 mg/l; la CO promedio de esta fase fue de 1 kgDQO/kgSST·d. Al añadir el complemento de DQO, la carga orgánica aumentó a valores mayores a 1 kgDQO/kgSST·d, pero conforme aumentó el contenido de SSLM la CO

disminuyó. Por lo tanto se observó una gran variación en la desviación estándar de los valores de carga orgánica en esta fase (Tabla 5.3).

La primera etapa experimental duró 41 días (día 64 a 102) con una CO promedio de 0.6 kgDQO/kgSST-d, una variación entre 0.4 y 0.7 kgDQO/kgSST-d y con una desviación estándar de 0.16 kgDQO/kgSST-d. En esta etapa el contenido promedio de SSLM fue de 2325 mg/l, alcanzando valores máximos de 3200 mg SST/l y después un decremento debido a los problemas operativos antes mencionados.

La segunda etapa experimental se llevó a cabo del día 123 al 214 (75 días) con una CO promedio de 0.5 kgDQO/kgSST-d, con variaciones entre 0.3 y 0.7 kgDQO/kgSST-d y una desviación estándar de 0.13 kgDQO/kgSST-d. La primera fase de esta etapa (días 124 a 149) presentó CO bajas, lo cual se debió a un periodo vacacional (diciembre de 2007), en el cual el contenido de material carbonoso del agua residual fue inferior. Posteriormente, con el inicio de las actividades en Ciudad Universitaria en 2008, el contenido de material carbonoso en el agua residual aumentó y la CO también. En esta etapa los SSLM promedio fueron de 2325 mg/l, alcanzando valores máximos de 3244 mg SST/l.

La tercera etapa experimental tuvo una duración de 28 días (día 214 a 242) con una CO promedio de 1.1 kgDQO/kgSST-d con variaciones entre 0.9 y 1.2 kgDQO/kgSST y una desviación estándar de 0.14 kgDQO/kgSST-d. Con objeto de evitar grandes variaciones de SSLM, en esta etapa se llevó a cabo purga de lodos por alcanzar un valor promedio de 1727 mg SST/l.

Tabla 5.3. Valores promedio de CO, TRC y SSLM en las etapas experimentales

Etapas experimental	Días de operación	Carga Orgánica (kgDQO/kg SST-d)	TRC (d)	SSLM (mg/l)
Arranque (sin complemento)	28	0.8 ± 0.54	6 ± 3.5	436 ± 178
Arranque (con complemento)	29	1 ± 0.39	6 ± 2.6	1252 ± 243
1^a	41	0.6 ± 0.16	10.3 ± 4.5	1938 ± 472
2^a	75	0.5 ± 0.13	20.4 ± 12	2325 ± 558
3^a	28	1.1 ± 0.14	3.3 ± 1.5	1727 ± 163

5.2.1. DQO total

La DQO expresa el contenido de compuestos carbonosos en el agua residual, el cual es un parámetro fundamental en los procesos de tratamiento biológicos. La DQO total incluye a la fracción de compuestos carbonosos que son biodegradables y no biodegradables, las cuales contienen una fracción soluble y otra particulada (Metcalf y Eddy, 2003). En este caso la DQO total incluye compuestos carbonosos disueltos como son ácidos grasos, complejos orgánicos, y particulados, como lo son los microorganismos principalmente, y el material coloidal.

En la Tabla 5.4 se muestran los valores promedio y las desviaciones estándar, generados de los valores individuales presentados en el Anexo II, de la DQO total en el influente y efluente en las tres etapas experimentales. El valor de remoción promedio que se presenta en la Tabla 5.4 también se obtuvo de los valores de remoción de los datos individuales para cada etapa. Como se presentaron valores de remoción (valores positivos), y de producción de DQO total (valores negativos), los promedios resultan de la suma de valores positivos y negativos, lo cual da un resultado diferente a considerar directamente las remociones de los valores promedio para cada etapa que se muestran en la Tabla 5.4; se presenta la desviación estándar debido a que existe dispersión significativa en los datos de remoción.

Tabla 5.4. Valores promedio de DQO total con respecto a las cargas orgánicas

Etapa experimental	CO (kgDQO/kg SST·d)	DQO total (mg/l)		Remoción promedio (%)
		Influente	Efluente	
1 ^a	0.6	600 ± 181	537 ± 175	7.4 ± 29
2 ^a	0.5	546 ± 185	500 ± 267	8.3 ± 36
3 ^a	1.1	936 ± 126	705 ± 131	22 ± 27

En la Tabla 5.4 se observa que, a pesar de existir una disminución de los valores de DQO total del efluente con respecto al influente para las tres etapas experimentales, entre la primera y segunda etapa no existieron grandes diferencias y, por lo tanto, los porcentajes de remoción fueron semejantes. En los valores promedio del efluente se observa que la desviación estándar en la segunda etapa experimental es mayor que las otras dos.

Los valores de la etapa con CO de 1.1 kgDQO/kgSST·d presentan una mayor remoción

promedio, lo cual indica un mayor consumo de la DQO total, sin hacer diferencia entre el tipo de material carbonoso que representa, ya sea soluble o particulado. Los valores de remoción, no pueden ser comparados mediante análisis estadísticos debido a que existe consumo y producción de DQO total, lo cual puede generar remociones negativas que no pueden ser empleadas para un ANOVA.

La remoción de DQO total básicamente se da por reacciones de descarboxilación, en las que los compuestos orgánicos que causan DQO pierden una molécula de carbono produciendo CO_2 que sale del sistema y ya no es cuantificada como DQO (González, 2004). Por otro lado la fracción de DQO disuelta puede ser removida por su incorporación a los microorganismos, como sustrato para síntesis de material celular y crecimiento, posteriormente existe sedimentación de los organismos, por lo que la DQO disuelta se considera removida del agua del efluente. Sin embargo, como la DQO solo es transformada de fracción disuelta a suspendida (microorganismos) no se considera remoción de DQO total sino sólo transformación de éstas (Morris, 1985; Wanner, 1994; Wentzel y Ekama, 1997). Por el contrario durante el proceso de acidificación, en el cual se producen AGV como productos finales, no representan remoción de DQO ya que sólo corresponde a la transformación de una fracción suspendida a una fracción soluble.

En la Figura 5.2 se puede observar el comportamiento de la DQO total en el influente y efluente a lo largo del experimento. En la gráfica se representan los valores individuales de la DQO total del influente y efluente, los cuales se encuentran en el Anexo II. En la primera etapa experimental ($\text{CO}=0.6 \text{ kgDQO/kgSST}\cdot\text{d}$) se observa remoción de DQO total, pero también producción en algunos casos. Los valores de remoción que se presentan en esta primera etapa, varían entre un 6% y un 38%; algunos pocos valores son superiores en el efluente que en el influente, lo cual se debe a la producción de biomasa en el reactor (Anexo II).

En el caso de la segunda etapa experimental ($\text{CO}=0.5 \text{ kgDQO/kgSST}\cdot\text{d}$) los valores de remoción se encontraron entre 11% y 41%, con tres valores de producción de DQO total, lo cual dio un balance de remoción promedio bajo (8.3%), con una gran dispersión como en la primera etapa. Los valores de DQO total en los cuales hay producción corresponden en dos ocasiones a producción de biomasa en el reactor, ya que se registran valores de SST mayores en el efluente, que en el influente (ver Figura 5.4). Los valores de remoción de DQO

total que existieron en esta etapa corresponden a valores registrados en otros trabajos de degradación anaerobia que registran entre un 10% a un 44% de remoción de DQO total (Alexiou *et al.*, 1994; Kaijun W., 1994; González, 2004). Las razones principales que se dan para estas remociones son por la formación de CO₂ por la vía anaerobia y por la incorporación del material orgánico a la biomasa y a la sedimentación de ésta en el reactor, como se ha comentado anteriormente.

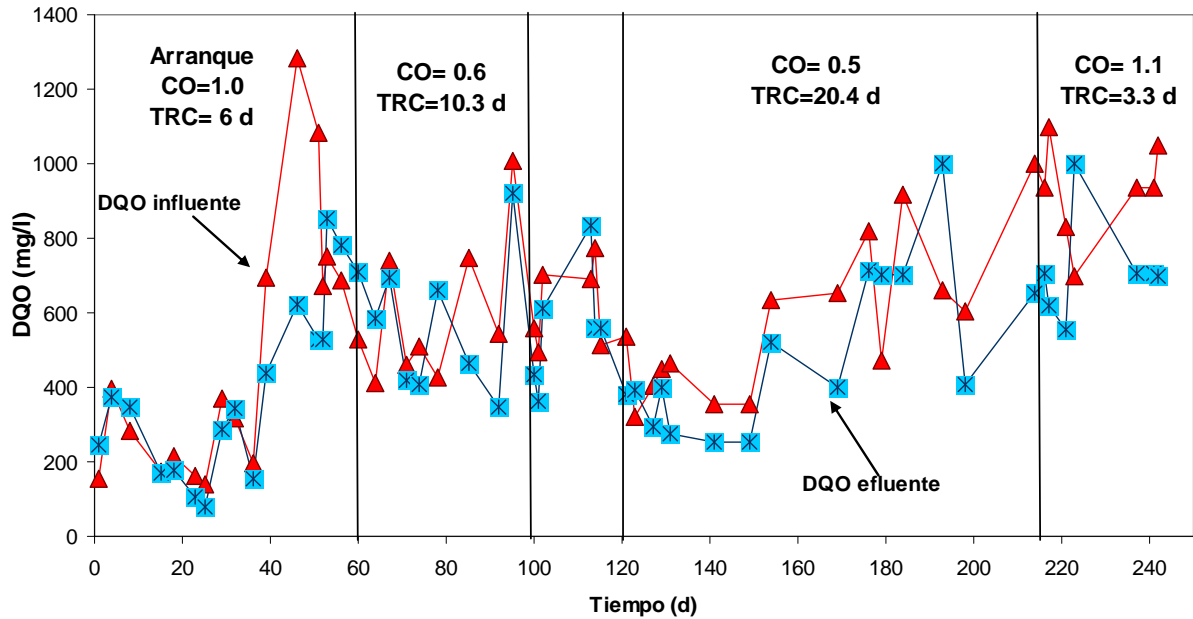


Figura 5.2. Comportamiento de DQO total del influente y efluente a diferentes cargas orgánicas (CO: kgDQO/kgSST-d)

La última etapa experimental, con CO de 1.1 kgDQO/kgSST-d, tuvo remociones del 24% al 44%, con una remoción promedio de 22% y desviación estándar de 27%, valores que correspondieron a un mayor promedio de remoción que en las otras etapas experimentales, ya que sólo un valor indicó producción de DQO total (día 223) y éste correspondió a una mayor cantidad de SST en el efluente con respecto al influente (ver Anexo II y comparar con la Figura 5.4). Lo anterior se puede deber a que existe una mayor disponibilidad de material orgánico disuelto, y por lo tanto una mayor consumo de éste, además la temperatura fue más elevada en esta condición lo cual puede permitir un incremento de las actividades metabólicas en los microorganismos del reactor.

5.2.2 DQO disuelta

La DQO disuelta comprende al material carbonoso fácilmente biodegradable como los AGV y otros complejos, así como una fracción no biodegradable. Esta fracción disuelta es de suma importancia para los procesos biológicos ya que es rápidamente asimilada por la biomasa. La fracción biodegradable particulada y coloidal requiere ser disuelta o hidrolizada por enzimas extracelulares y por lo tanto su tasa de asimilación es menor (Metcalf y Eddy, 2003).

La DQO disuelta tuvo un comportamiento diferente a la DQO total a lo largo de la experimentación. En la Tabla 5.5 se muestran los valores promedio y la desviación estándar generadas a partir de los valores individuales de DQO disuelta en el influente y efluente para cada etapa experimental, los cuales se pueden consultar en el Anexo II.

Tabla 5.5 Valores promedio de DQO disuelta con respecto a las cargas orgánicas

Etapa experimental	CO (kgDQO/kg SST-d)	DQO disuelta (mg/l)		Remoción promedio (%)
		Influente	Efluente	
1 ^a	0.6	337 ± 163	322 ± 143	0.5 ± 29
2 ^a	0.5	323 ± 162	292 ± 109	-1.2 ± 37
3 ^a	1.1	584 ± 131	350 ± 29	38.7 ± 9

En general se puede observar en la Tabla 5.5, que los valores promedio de DQO disuelta del influente para la primera y segunda etapa experimental fueron muy similares (337 y 323 mgDQO/l, respectivamente). Durante la tercera etapa experimental, con una CO de 1.1 kgDQO/kgSST-d, la DQO disuelta concentración promedio del influente fue mayor que en las dos etapas anteriores (584 mgDQO/l) debido a la mayor adición de complemento alimenticio. La remoción promedio para la primera etapa experimental, fue prácticamente nula con un valor 0.5% y una desviación estándar de 29%. En el caso de la segunda etapa experimental a pesar de una disminución en los valores promedio de DQO disuelta del efluente con respecto al influente (Tabla 5.5), en la remoción promedio se observa un valor negativo (-1.2%), lo cual indica que en esta etapa experimental existió más producción de DQO disuelta que remoción, por lo que el promedio es negativo. En la Figura 5.3 se observa el comportamiento de la DQO disuelta en el influente y efluente a lo largo del experimento, presentando los valores individuales que se encuentran en el Anexo II.

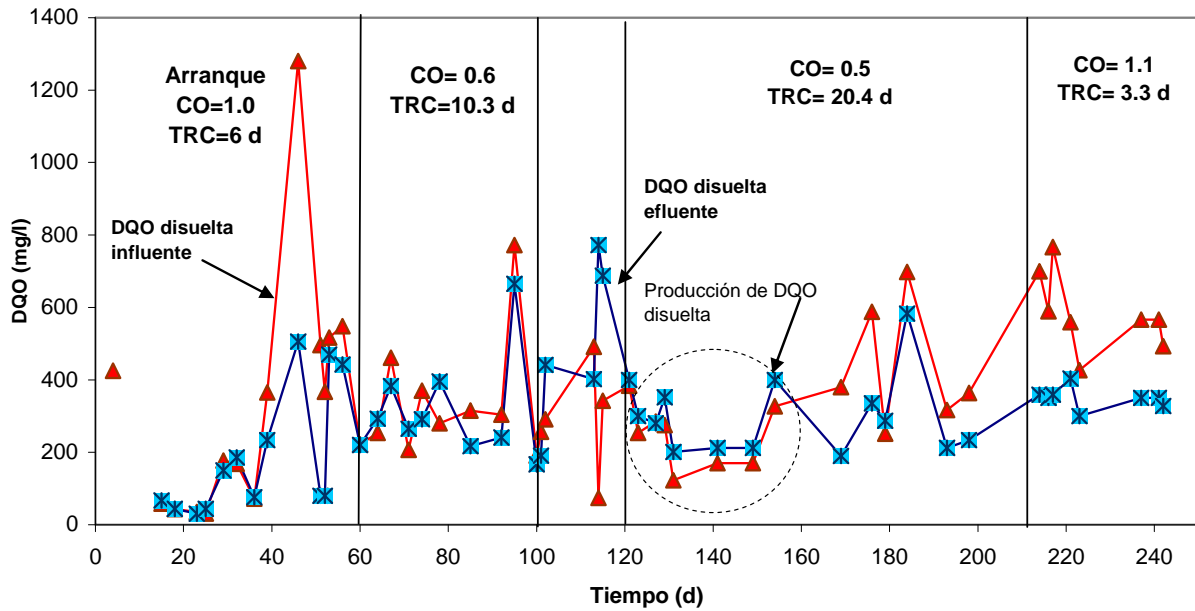


Figura 5.3. Comportamiento de DQO disuelta del influente y efluente a diferentes cargas orgánicas (CO: kgDQO/kgSST-d)

Para la primera etapa experimental, con CO 0.6 kgDQO/kgSST-d, la DQO disuelta tuvo remociones entre el 12.6% y el 31%; sin embargo, también hubo generación de DQO disuelta en cuatro datos, representados como valores negativos en la Tabla de resultados (Anexo II), por lo tanto, el balance de remoción es prácticamente nulo; este balance se debe al consumo de DQO disuelta por los microorganismos, pero también se debe a la generación de esta especie en la hidrólisis y acidogénesis.

La segunda etapa experimental (CO=0.5 kgDQO/kgSST-d) resulta importante debido a que la remoción promedio resulta negativa, lo cual se debe a una producción de DQO disuelta en el reactor. En la Figura 5.3, en el periodo que comprende los días 129 a 154 se observa mayor contenido de DQO disuelta en el efluente que en el influente. Este periodo de producción de DQO disuelta abarcó los días 19 de diciembre de 2007 al 7 de enero de 2008, que correspondió con la temporada vacacional, en el que existió un menor aporte de DQO en el agua residual que recibió la planta de tratamiento (ver Anexo II). Debido a la disminución de la DQO total en el influente, la carga orgánica para este periodo fue más baja que la promedio, entre 0.3 y 0.4 kgDQO/kgSST-d, lo cual promovió que los microorganismos emplearan el material carbonoso particulado como alimento produciendo compuestos orgánicos disueltos que se cuantifican como DQO soluble (Wanner, 1994). De esta manera los microorganismos acidogénicos transformaron sustratos de lenta metabolización, que no

pueden asimilados o hidrolizados fácilmente como fuente de energía. A partir del día 154, al normalizarse las actividades en Ciudad Universitaria, se incrementó la DQO disuelta en el agua residual del influente y aumentaron los valores de carga orgánica, presentándose remoción de DQO disuelta en lugar de producción.

Durante la tercera etapa experimental ($CO=1.1$ kgDQO/kgSST·d), el comportamiento fue diferente: se observó remoción de DQO disuelta entre 27.7% y 40.6%. Esta remoción se puede deber principalmente a un mayor consumo de material orgánico disuelto, que no requiere de hidrólisis para el transporte a través de la membrana celular de los microorganismos, por lo que disminuye la DQO disuelta del medio (González, 2004).

5.2.3 *Sólidos suspendidos totales y volátiles (SST, SSV)*

Los SST del agua residual incluyen a todos aquellos sólidos que son retenidos en un filtro de $0.45\mu\text{m}$ y pueden contener a las fracciones orgánica e inorgánica. La fracción orgánica se refiere a biomasa como bacterias, flóculos de bacterias, algas y componentes orgánicos de gran tamaño, los cuales al calcinarlos a $500 \pm 50^\circ\text{C}$ se volatilizan y corresponden a los sólidos suspendidos volátiles o SSV (APHA, AWWA, WPCF, 1998). La fracción inorgánica se refiere a los sólidos que permanecen después de la calcinación y corresponden al material inorgánico como arcillas, arenas y metales, los cuales se denominan sólidos suspendidos fijos (SSF) (Metcalf y Eddy, 2003). Los SSF no son cuantificados como DQO y no participan en los procesos anaerobios pero se encuentran presentes en los sólidos suspendidos.

En este experimento se cuantificaron los sólidos suspendidos totales (SST) y la fracción volátil (SSV); la carga orgánica y la purga de lodos de exceso se establecieron a partir de los SST y no la fracción volátil solamente. En la Tabla 5.6 se muestran los valores promedio y las desviaciones estándar, generadas de los valores individuales presentados en el Anexo II, de los SST para las diferentes etapas. Los valores de remoción promedio y sus desviaciones estándar, también se obtuvieron de los valores individuales para cada etapa; en el Anexo II se observan los valores individuales tomados que son tanto positivos, como negativos, de remoción y producción, lo cual hace que las remociones promedio tengan valores distintos a que si se considerara la remoción del valor de DQO promedio del efluente con respecto al influente para cada etapa; se presenta la desviación estándar debido a que existe bastante

dispersión en los datos de remoción.

Tabla 5.6. Valores promedio de SST con respecto a las cargas orgánicas

Etapa experimental	CO (kgDQO/kg SST·d)	SST (mg/l)		Remoción promedio (%)
		Influente	Efluente	
1 ^a	0.6	136 ± 37	109 ± 42	13.2 ± 18
2 ^a	0.5	119 ± 50	95 ± 109	25.6 ± 59
3 ^a	1.1	188 ± 54	153 ± 73	7.2 ± 76

De la Tabla 5.6 se puede señalar que existen remociones de SST en las tres etapas experimentales, la mayor remoción (25.6%) fue para la carga orgánica de 0.5 kgDQO/kgSST y la menor fue para la carga orgánica de 1.1 kgDQO/k SST, aunque los desviaciones estándar son elevadas en ambos casos.

En la Figura 5.4 se observan los valores de SST en el influente y efluente en cada una de las etapas de experimentación, además los valores individuales pueden ser consultados con mayor detalle en el Anexo II. Se puede observar que en la primera etapa experimental (CO=0.6 kgDQO/kgSST·d), en la mayoría de los casos hay remoción de SST. Sin embargo, estos valores son variables, entre 2% y 40%, presentándose en dos ocasiones producción de SST (ver Anexo II). Por lo tanto, la remoción promedio resultó ser ligeramente baja para esta carga orgánica. En el caso de la segunda etapa experimental (CO=0.5 kgDQO/kgSST·d) se observó una remoción mayor, con valores entre 9% y 48%, con sólo dos valores de producción de SST en el día 179 y 193. Se puede afirmar que a CO medias, como la de esta etapa se observa una producción de biomasa y un consumo de materia orgánica, además de una buena sedimentación de los SST. La tercera etapa experimental tuvo una CO alta (1.1 kgDQO/kgSST·d), en la cual se presenta un mayor crecimiento y producción de biomasa. En esta etapa se observa remoción en todos los casos menos un valor del día 223 en el cual hay producción de SST (ver Anexo II).

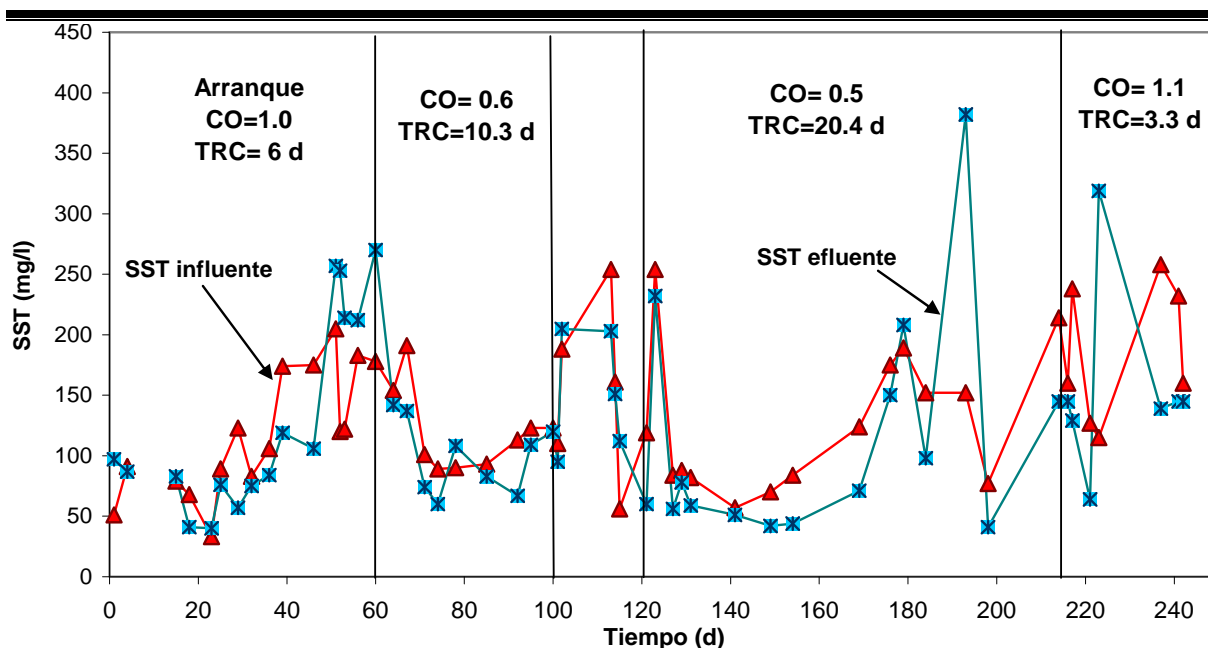


Figura 5.4. Comportamiento de SST en influente y efluente (CO: kgDQO/kgSST-d)

En la Tabla 5.7 se muestran los valores promedio para los SSV y sus desviaciones estándar, y su remoción. Se puede observar un patrón de comportamiento similar al de los SST, ya que los SSV son una fracción de ésta. Se sigue observando que la mayor remoción promedio es para la carga orgánica de 0.5 kgDQO/kgSST-d; sin embargo, en esta etapa la desviación estándar de los valores del efluente es elevada; se observan valores de remoción entre 0.7% y 76% (ver Anexo II). La remoción en la primera y última etapas es similar y se observa en la Figura 5.5 que en su mayoría los valores son de remoción y sólo algunos casos se observa una mayor concentración de SSV en el efluente que en el influente.

Tabla 5.7. Valores promedio de SSV con respecto a las cargas orgánicas

Etapa experimental	CO (kgDQO/kg SST-d)	SSV (mg/l)		Remoción promedio (%)
		Influente	Efluente	
1 ^a	0.6	100 ± 58.6	81.5 ± 54.1	18.8 ± 26.6
2 ^a	0.5	111.1 ± 43.3	91.5 ± 99.7	22.5 ± 53.1
3 ^a	1.1	176.9 ± 49.8	132.5 ± 62.1	15.6 ± 66.1

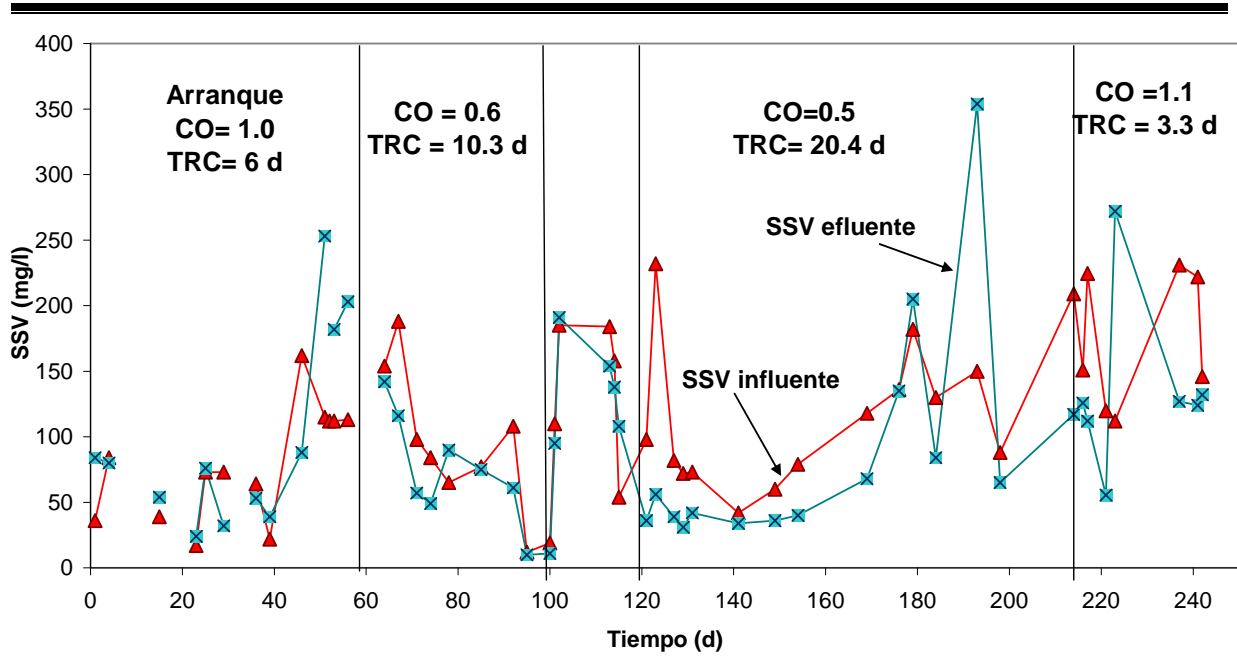


Figura 5.5. Comportamiento de SSV en el influente y efluente (CO: kgDQO/kgSST·d)

En la Figura 5.6 se muestra la relación de los SST y SSV de los sólidos suspendidos en el licor mezclado (SSLM) en el reactor, la cual es lineal y se ajusta con una $R^2=0.98$. La ecuación indica que la relación entre la fracción volátil y total es del 87%, lo cual es una relación elevada. Por lo tanto, con esta relación se puede asegurar, que independientemente de la etapa experimental empleada, la condición fisiológica de los lodos no se perdió y hubo una gran mayoría de microorganismos.

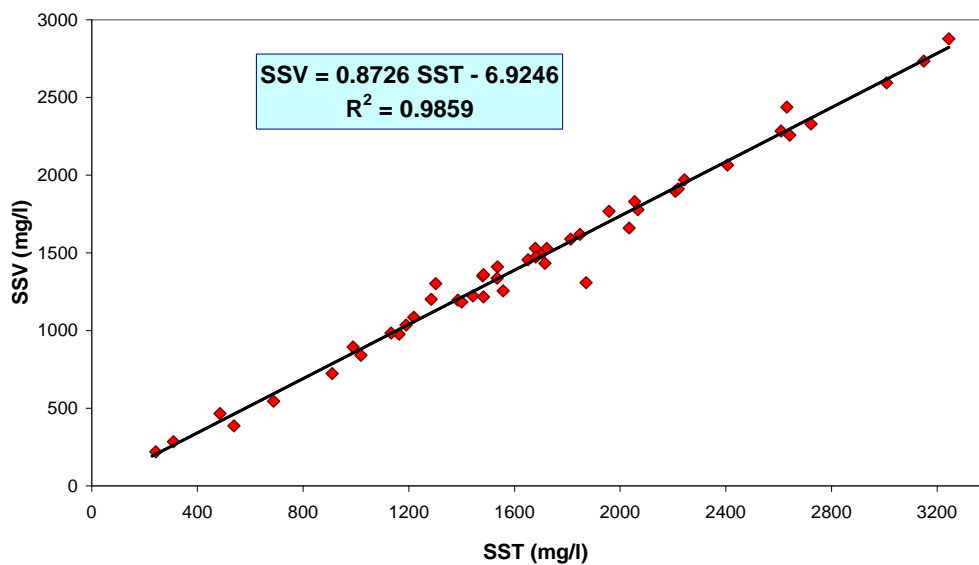


Fig. 5.6. Relación entre los SST y SSV del reactor durante todo el experimento

5.2.4 Índice volumétrico de lodos (IVL)

El índice volumétrico de lodos (IVL) es el volumen que ocupa un gramo de sólidos suspendidos del licor mezclado (ml/gSST), como masa seca, después de 30 minutos de sedimentación (Metcalf y Eddy, 2003). Este parámetro indica las características de sedimentación de los lodos en sistemas biológicos de tratamiento de aguas residuales y se utiliza típicamente para monitorear las características de sedimentación del lodo activado y otras suspensiones biológicas (Dick, 1969). Para valores por debajo a 110 ml/gSST en sistemas de lodos activados, se menciona que no representan problemas de “flotabilidad” o “hinchamiento” (Ramalho, 1983). El valor límite de IVL para un lodo que se puede emplear en un sistema de lodos activados es de 200 ml/gSST. En la Tabla 5.8 se observan los valores promedio de IVL y desviaciones estándar obtenidas de los valores individuales que se encuentran en el Anexo II, durante las tres etapas experimentales.

Tabla 5.8. Valores promedio de IVL con respecto a las cargas orgánicas

Etapas experimental	CO (kgDQO/kgSST·d)	IVL (ml/gSST)
1^a	0.6	107 ± 25
2^a	0.5	106 ± 19
3^a	1.1	114 ± 47

En la Tabla 5.8 se observa que durante las primeras dos etapas experimentales, el IVL fue de 107 y 106 ml/gSST, aunque en la CO de 0.5 kgDQO/kgSST·d fue más estable al tener una desviación estándar menor (19 ml/gSST). En cambio, para la CO de 1.1 kgDQO/kgSST·d el IVL aumentó a 114 ml/gSST, ya que a mayores CO, la sedimentación se dificulta.

En la Figura 5.7 se puede observar los valores de IVL tomados durante todo el experimento. En la fase de arranque los valores del IVL eran bajos debido a que los SSLM eran bajos (ver Figura 5.1); cuando los SSLM comenzaron a aumentar en la primera etapa, se observó un aumento del IVL. La CO de 0.5 kgDQO/kgSST·d se observa como la etapa más estable donde el IVL se mantuvo entre 83 y 141 ml/gSST, ya que es la etapa con CO más baja. En cambio la CO 1.1 kgDQO/kgSST·d presentó valores variables entre 103 y 163 debido al mayor crecimiento de los microorganismos y su baja sedimentabilidad. Sin embargo, a pesar

de que los valores de IVL obtenidos son un tanto elevados, aún presentan características de sedimentabilidad adecuadas para un sistema de biomasa en suspensión.

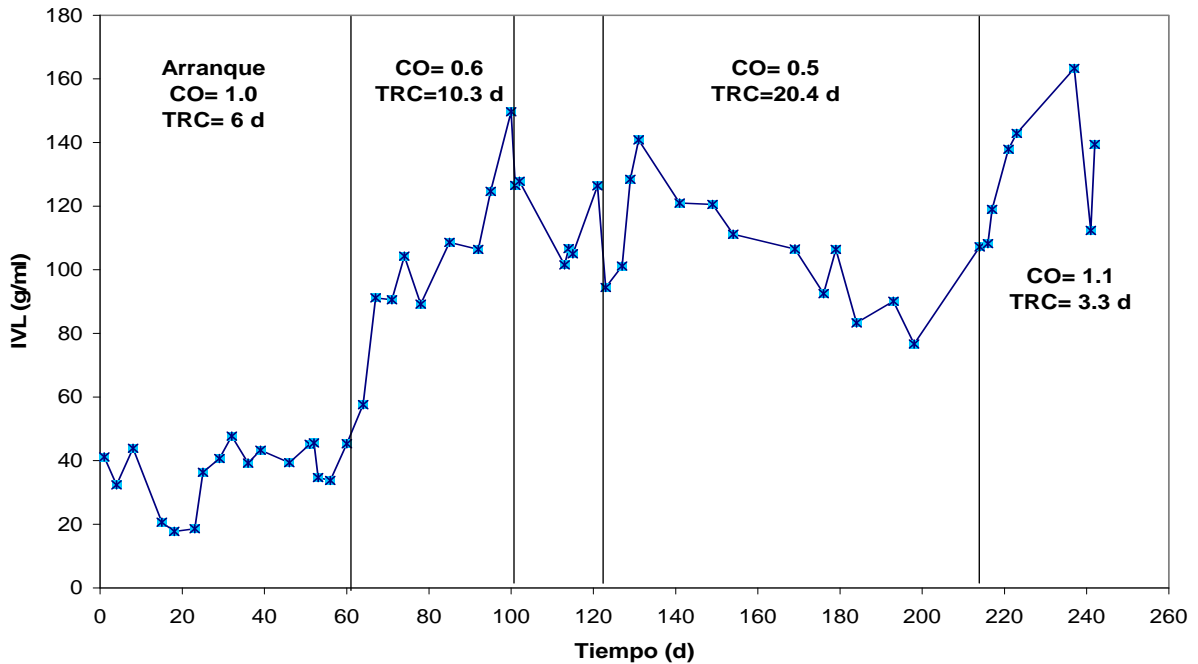


Fig. 5.7. Comportamiento del IVL en el reactor (CO: kgDQO/kgSST·d)

Al realizar el ANOVA (ver Anexo I) con los valores puntuales de cada etapa, se encontró que no hay diferencias significativas entre estos valores. Por lo tanto, el IVL no se ve afectado por la carga orgánica en ésta experimentación.

5.2.5 Producción de ácidos grasos volátiles (AGV)

La producción de AGV es un proceso característico de la acidificación anaerobia (Morris, 1985). En la Tabla 5.9 se muestran los valores de producción total de AGV, así como las proporciones de las especies de AGV más predominantes en las tres etapas experimentales. Las muestras tomadas para AGV fueron puntuales del primer ciclo, durante el tiempo de llenado para el influente y durante el tiempo de vaciado para el efluente; esto se realizó para comparar la producción de AGV en un ciclo en específico.

Los valores de producción se encuentran expresados como DQO (mg/l); la conversión se hizo empleando las relaciones entre peso molecular y DQO teórica para oxidar a CO₂. La

relación de DQO (mg/l) del ácido acético usada fue de 0.93, 1.15 para el ácido propiónico, 0.55 para el ácido isobutírico y 2.8 para el ácido fórmico.

La letra (a y b) junto al valor de producción de AGV de la Tabla 5.9, se refiere a los grupos homogéneos y heterogéneos de la prueba de rango múltiple. El valor con la misma letra indica que los valores no presentan diferencias significativas entre ellos y los que tienen letras diferentes indican los valores son significativamente diferentes.

Tabla 5.9. Valores de AGV de muestras para las tres etapas experimentales

CO $\left(\frac{kgDQO}{kgSST \cdot d}\right)$	Día	Producción AGV total $\left(\frac{mgDQO}{l}\right)$	Porcentaje de especies de AGV con respecto al total (%)			
			Ác. acético	Ác. propiónico	Ác. isobutírico	Ác. fórmico
0.6	92	241.1 a	13.1	0.0	0.0	86.9
	95	181.6 a	60.4	36.4	3.2	0.0
	100	145.1 a	72.5	17.9	2.8	6.9
	102	74.5 a	69.2	6.8	7.9	16.1
	PROM	158.1 ± 69.5	53.8 ± 27.6	15.3 ± 15.9	3.5 ± 3.3	27.5 ± 40.2
0.5	129	66.9 b	52.6	6.5	4.3	36.6
	155	5.0 b	51.4	12.4	11.1	25.2
	179	99.0 b	67.9	27.4	0.2	4.4
	184	45.3 b	69.1	22.5	0.7	7.6
	193	65.0 b	57.7	18.6	16.8	6.9
	198	14.4 b	36.0	3.0	45.5	15.5
	PROM	45.6 ± 37.2	59.7 ± 12.2	17.5 ± 9.5	6.6 ± 17.1	16.2 ± 12.6
1.1	214	61.5 b	47.1	9.0	15.8	28.1
	217	16.5 b	28.9	0.0	0.0	71.1
	223	4.7 b	75.6	24.4	0.0	0.0
	242	127.6 b	55.5	38.8	5.7	0.0
	PROM	42.1 ± 55.7	51.8 ± 19.4	18 ± 17.1	5.4 ± 7.4	24.8 ± 33.6

La composición típica reportada en efluentes fermentados es predominantemente de ácido acético, seguido por el ácido propiónico, butírico y valérico (Rössle y Pretorius, 2001). Según trabajos experimentales realizados en sistemas acidogénicos, la predominancia del ácido acético es de un 38% a 70%, la del propiónico entre un 25% a 41%, la del ácido butírico entre un 3% y 16% y del ácido valérico y otros ácidos entre un 0% a 10% (Pitman *et al.*, 1992; Randall *et al.*, 1992; Von Münch y Greenfield, 1998; Cuevas, 1998). En este trabajo

(Tabla 5.9), las especies predominantes de AGV fueron el ácido acético (51.8% al 59.7%) seguido por el ácido fórmico (16.2% al 27.5%), el ácido propiónico (15.3% al 18%) e isobutírico en escasas concentraciones (3.5 al 6.6%), el cual podría considerarse dentro del intervalo del ácido butírico. En pocas ocasiones se encontró ácido butírico y no se agregó a la Tabla 5.9 por su despreciable concentración. La predominancia del ácido acético y propiónico es normal, debido a que son los principales productos de las fermentaciones de monosacáridos (Schlegel, 1988). El ácido fórmico es menos común en las fermentaciones de agua residual; sin embargo, el grupo de las enterobacterias fermentan glucosa a una mezcla de ácidos, entre ellos acético, láctico y fórmico (Alberts *et al.*, 2002), por lo que es posible que se haya contribuido a un aumento de la producción de este tipo de ácido. La baja producción de ácido butírico pudo haberse debido a que las condiciones del reactor no fueron anaerobias estrictas y los clostridios son los principales productores de ácido butírico, los cuales son organismos anaerobios estrictos. Sin embargo, hubo formación de ácido isobutírico que puede cuantificarse dentro de la proporción de ácido butírico.

En la Tabla 5.9 se observa que en la primera etapa experimental ($CO=0.6$ kgDQO/kgSST·d) se presentan los mayores valores de producción de AGV con respecto a las otras etapas experimentales, con una producción promedio de 158.1 mgDQO/l; sin embargo, la desviación estándar es muy elevada por la dispersión y escasez de los datos, pero en general, sólo el dato del día 107 (74.48 mgDQO/l) llega a ser el más bajo.

En el caso de las etapas de CO de 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST·d, según los datos mostrados, no se observaron grandes diferencias entre los valores promedio de producción total de AGV; aunque el promedio de producción total de AGV es ligeramente mayor en la CO de 0.5 kgDQO/kgSST·d (45.6 mgDQO/l) con respecto a la CO de 1.1 kgDQO/kgSST·d (42.1 mgDQO/l). Se puede observar también que en la etapa experimental de la CO 0.5 kgDQO/kgSST hubo una producción de AGV baja en el efluente, pero además fue la etapa en la que se produjo DQO disuelta, por lo que no se descarta la posibilidad de producción y consumo de AGV, por metanogénesis, ya que en esta etapa se presentó un TRC elevado (20.4 días en promedio) y las condiciones fueron favorables para el desarrollo de bacterias metanogénicas que consumen AGV.

Al realizar una prueba estadística de homogeneidad de varianzas, se observa que a pesar de la gran dispersión de los datos, es posible realizar el ANOVA y una prueba de rango múltiple

en la cual se indica que la CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d es la etapa estadísticamente diferente, al tener las mayores producciones de AGV. Lo anterior se representa mediante letras diferentes (letra “a”) en los valores de la etapa con CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d, ya que es un grupo estadísticamente diferente con respecto a los valores de las otras etapas (CO de 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST·d), los cuales se señalan con la letra “b” que indica que tienen valores menores y son diferentes (grupos heterogéneos con respecto al de la CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d).

Se ha encontrado que la producción de AGV es variable con respecto a las etapas de operación, sobre todo con respecto al tiempo de retención celular e hidráulico (Von Münch y Greenfield, 1998). Rössle y Pretorius (2001) mencionan que la tasa de fermentación esperada en los reactores acidogénicos se encuentra entre 1 y 70 mgAGV/l·h, y la tasa promedio obtenida en este experimento se encontró entre 5.2 y 19.5 mgAGV/l·h (Tabla 5.10).

González (2004) encontró la mayor producción de AGV (149 a 195 mgDQO/l) en la CO de 0.62 a 0.77 kgDQO/kg SST·d; Pérez (2004) encontró una producción de 203 mgDQO/l para una CO de 0.74 kgDQO/kgSST·d y 180 mgDQO/l para una CO de 0.65 kgDQO/kgSST·d. Por lo tanto, la producción total de AGV encontrada en la CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d es similar con respecto a la citada en literatura antes mencionada; sin embargo, la producción encontrada para las otras dos cargas orgánicas es más baja de lo esperado. Liu y Ghosh (1997), Banister y Pretorius (1998) encontraron que producción de AGV es mayor al incrementarse la CO. Saddoud y Sayadi (2007) trabajaron con un proceso de dos etapas: acidogénica y metanogénica, encontrando en la fase acidogénica una producción de AGV de 62 a 378 mg AGV/l para una CO volumétrica de 1.59 a 2.6 kg DQO/m³·d, lo cual no se observa en el presente trabajo, al encontrarse que la tercera etapa experimental presentó CO volumétrica de 1.7 kg DQO/m³·d y baja producción de AGV (42.1 mgDQO/l). Los resultados obtenidos difieren de la literatura posiblemente por errores de muestreo o experimentales, o porque hicieran falta una mayor cantidad de muestreos para cada una de las etapas experimentales.

En la Tabla 5.10 se pueden observar los valores promedio para cada etapa de producción de AGV, tasa de producción, coeficiente de rendimiento y el grado de acidificación, el cual se calcula con la siguiente Ecuación 5.1.

$$\text{Grado de acidificación} = \frac{\text{Producción de AGV, mgDQO/l}}{\text{DQO total influente, mg/l}}$$

(Ec. 5.1)

El grado de acidificación permite calcular las fracciones de material orgánico que se transforman en AGV y se compara con la DQO total debido a que las fracciones solubles, como particuladas del material orgánico pueden ser el origen de la producción de AGV en los procesos de hidrólisis.

Tabla 5.10. Producción de AGV y grado de acidificación en las tres etapas experimentales

Parámetros promedio (mgAGV expresado como DQO)	Carga orgánica (kgDQO/kgSST·d)		
	0.6	0.5	1.1
Producción (mgDQO/l)	158.1	45.6	42.1
Tasa de producción (mgDQO/l·h)	19.5	5.7	6.6
Grado de acidificación (%)	25.7	8.7	5.1
Rendimiento específico de AGV (mgDQO/mgSST·d)	0.13	0.04	0.05

Los valores de la Tabla 5.10 muestran que el mayor grado de acidificación fue para la CO 0.6 de kgDQO/kg SST·d con un grado de acidificación del 19.5.7%, seguido del grado de acidificación de 8.7% y 5.1% para la CO de 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST·d, respectivamente. González (2004) presentó grados de acidificación del 55% y Pérez (2004) del 50% para las CO de 0.6 y 0.7 kgDQO/kg SST·d. En este trabajo el grado de acidificación fue inferior a lo reportado por González y Pérez (2004) para esta misma CO.

5.2.6 Determinación de microorganismos

Los microorganismos empleados en este trabajo fueron dos grupos indicadores de contaminación: coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*, y una especie patógena, *Salmonella typhi*. Estos fueron cuantificados en muestras puntuales del influente y efluente, en el primer ciclo al igual que para las determinaciones de AGV. Esto se realizó para observar el efecto de la acidificación anaerobia sobre los microorganismos, en un ciclo en el reactor. Los resultados de estos análisis se presentan en subcapítulos diferentes para cada grupo de microorganismos.

5.2.6.1 Coliformes fecales

Los resultados de los análisis microbiológicos para coliformes fecales a lo largo del experimento se pueden observar en la Tabla 5.11, en la cual se presentan los valores de unidades formadoras de colonias en 100 ml (UFC/100ml) para muestras puntuales del primer ciclo en influente y efluente, y sus medias geométricas, por tratarse de valores exponenciales que no tienen una distribución normal. Se presentan también los valores en unidades logarítmicas, así como los promedios, desviaciones estándar y remociones, para facilitar el análisis de los valores en cada una de las etapas experimentales.

Tabla 5.11. Valores de los análisis microbiológicos de coliformes fecales

CO $\left(\frac{kgDQO}{kgSST \cdot d}\right)$	Día	Influente (UFC/100 ml)	Influente (unidades log)	Efluente (UFC/100 ml)	Efluente (unidades log)	Remoción (unidades log)	Remoción (%)
0.6	85	2.04 x10 ⁷	7.3	1.27 x10 ⁷	7.1	0.2	< 90.0
	92	7.53 x10 ⁷	7.9	4.40 x10 ⁷	7.6	0.2	< 90.0
	95	1.80 x10 ⁸	8.3	1.48 x10 ⁷	7.2	1.1	< 99.0
	100	1.90 x10 ⁸	8.3	8.00 x10 ⁶	6.9	1.4	< 99.0
	102	3.03 x10 ⁸	8.5	1.05 x10 ⁷	7.0	1.5	< 99.0
	PROM. o MEDIA	1.10 x 10⁸ (media)	8.0 ± 0.5 (prom.)	1.47E+07 (media)	7.2 ± 0.3 (prom.)	0.9 ± 0.6 (prom.)	< 90.0 (prom.)
0.5	129	2.17 x10 ⁸	8.3	3.73 x10 ⁷	7.6	0.8	< 90.0
	154	6.23 x10 ⁷	7.8	2.66 x10 ⁷	7.4	0.4	< 90.0
	179	2.03 x10 ⁸	8.3	1.85 x10 ⁷	7.3	1.0	90.0
	184	2.16 x10 ⁸	8.3	7.85 x10 ⁷	7.9	0.4	< 90.0
	193	2.56 x10 ⁸	8.4	9.19 x10 ⁷	8.0	0.4	< 90.0
	PROM. o MEDIA	1.72 x 10⁷ (media)	8.2 ± 0.2 (prom.)	4.28 x 10⁸ (media)	7.6 ± 0.3 (prom.)	0.6 ± 0.3 (prom.)	< 90.0 (prom.)
1.1	214	1.92 x10 ⁸	8.3	5.50 x10 ⁶	6.7	1.5	< 99.0
	217	1.03 x10 ⁸	8.0	7.00 x10 ⁶	6.8	1.2	< 99.0
	221	2.99 x10 ⁸	8.5	5.86 x10 ⁷	7.8	0.7	< 90.0
	223	1.03 x10 ⁸	8.0	2.95 x10 ⁷	7.5	0.5	< 90.0
	242	3.21 x10 ⁸	8.5	2.96 x10 ⁷	7.5	1.0	90.0
	PROM. o MEDIA	1.81 x 10⁸ (media)	8.3 ± 0.2 (prom.)	1.82 x 10⁷ (media)	7.3 ± 0.4 (prom.)	1.0 ± 0.4 (prom.)	90.0 (prom.)

En la Tabla 5.11 se puede observar de forma general, que el contenido de coliformes fecales en el influente se encuentra entre 7 y 8 unidades log UFC/100 ml lo cual, según Metcalf y Eddy (2003) y Crites y Tchobanoglous (2000) son valores elevados para aguas residuales municipales. Sin embargo, se ha encontrado que las aguas residuales de México y otros países en desarrollo tienen contenidos elevados de coliformes fecales entre 7 y 9 log UFC/100 ml (Jiménez, 2004; Saddoud y Sayadi, 2007). Por otro lado se informa que la dosis infecciosa es una superior a 10^3 UFC/100 ml (Goss y Richards, 2007).

En la Tabla 5.11 se observa que el contenido de las bacterias indicadoras determinadas en el presente estudio y en todos los casos existe un decremento entre un 0.2 y 1.5 log. Las mayores remociones se observan en la tercera etapa experimental con la CO de 1.1 kgDQO/kgSST-d, con una remoción promedio de 1 log, lo cual equivale al 90% de los microorganismos. La remoción que le siguió fue de 0.9 log como promedio y se llevó a cabo en la CO de 0.6 kgDQO/kgSST-d, lo cual equivale a un porcentaje de remoción menor al 90%. Finalmente en la CO de 0.5 kgDQO/kgSST-d, tuvo la menor remoción de bacterias indicadoras de 0.6 log. En la Figuras 5.8 se muestran algunas placas seleccionadas con cultivos de coliformes fecales, en los cuáles se observa que, con las mismas diluciones, se presentó una disminución del crecimiento de colonias en el efluente con respecto al influente.

Se realizó un ANOVA, para ver si existían diferencias significativas entre las remociones de cada etapa experimental (ver Anexo I); el análisis se llevó a cabo con los valores de las remociones en unidades log, ya que a diferencia de los valores exponenciales, cumplen con el supuesto de la ANOVA de que los valores deben tener una distribución normal. Se realizó también una prueba de homogeneidad de varianzas para observar si los datos tenían varianzas homogéneas a pesar de tener una desviación estándar elevada, lo cual es un supuesto del análisis. Del resultado del ANOVA se observó que no existen diferencias significativas entre las remociones de cada etapa experimental, aunque se observan las tendencias en los promedios.

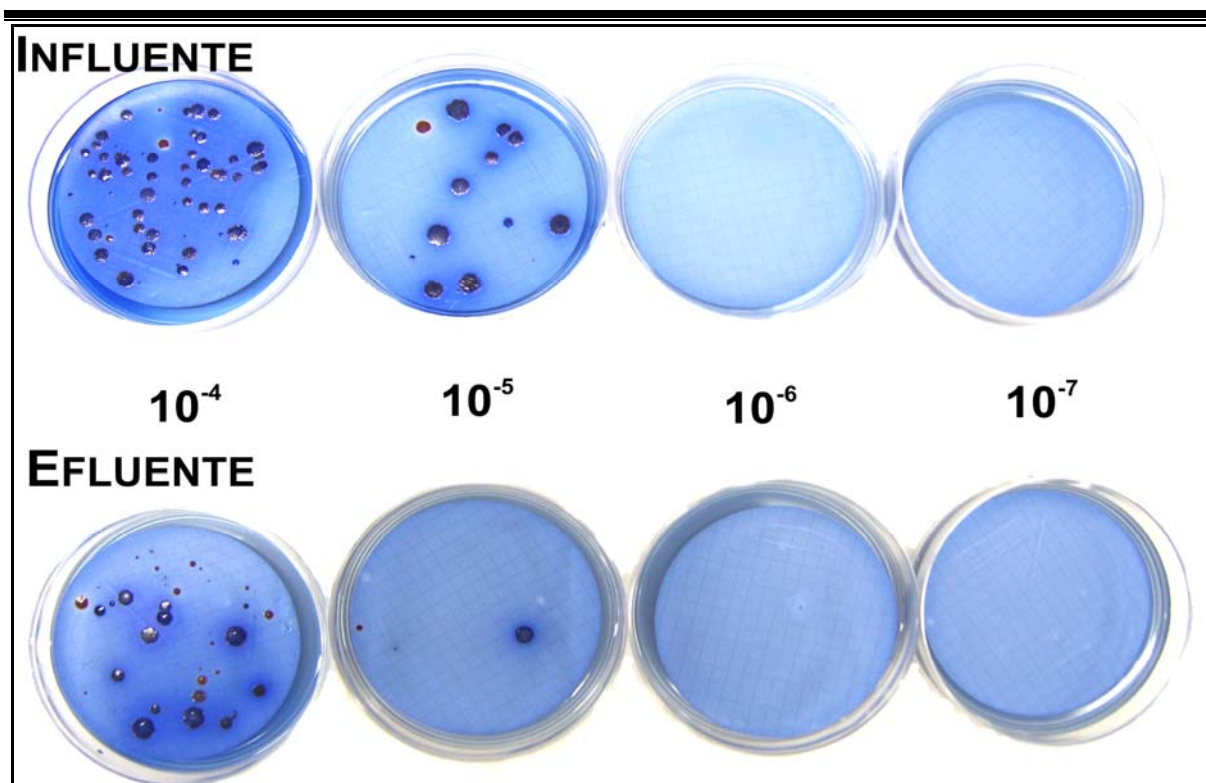


Figura 5.8. Placas con cultivos de coliformes fecales con diluciones de 10^{-4} a 10^{-7} ml de agua de influente y efluente

5.2.6.2 *Enterococcus faecalis*

Los resultados de los análisis microbiológicos para *Enterococcus faecalis* a lo largo del experimento se pueden observar en la Tabla 5.12, en la cual se presentan los valores de la misma forma que para coliformes fecales, unidades formadoras de colonias en 100 ml (UFC/100ml) para muestras puntuales del primer ciclo en influente y efluente, y sus medias geométricas. Se presentan también los valores en unidades logarítmicas, así como los promedios, desviaciones estándar y remociones, para facilitar el análisis.

En el caso de la concentración de *Enterococcus faecalis* en el influente, ésta fue ligeramente menor que los coliformes fecales (7 a 8 unidades log UFC/ 100 ml). Según lo que indica Metcalf y Eddy (2003), el contenido de bacterias en agua residual del grupo de los enterococos, ya sea las especies *S. faecalis* o *S. faecium*, es menor que el resto de los organismos indicadores. Mencionan también que las aguas típicas contienen *Enterococcus faecalis* entre 10^4 a 10^7 UFC/100ml, pero su dosis infecciosa no se conoce de manera específica. En este caso, el contenido de *Enterococcus faecalis* en el agua residual del

influyente se encuentra por arriba del contenido en agua típica (Metcalf y Eddy, 2003).

Tabla 5.12. Valores de los análisis microbiológicos de *Enterococcus faecalis*

CO $\left(\frac{kgDQO}{kgSST \cdot d}\right)$	Día	Influyente (UFC/100 ml)	Influyente (unidades log)	Efluente (UFC/100 ml)	Efluente (unidades log)	Remoción (unidades log)	Remoción (%)
0.6	85	5.34 x10 ⁷	7.7	8.50 x10 ⁶	6.9	0.8	< 90.0
	92	9.63 x10 ⁶	9.0	4.75 x10 ⁶	8.7	0.3	< 90.0
	95	7.28 x10 ⁷	7.9	4.60 x10 ⁶	6.7	1.2	< 99.0
	100	1.05 x10 ⁷	7.0	6.88 x10 ⁶	6.8	0.2	< 90.0
	102	4.68 x10 ⁷	7.7	1.45 x10 ⁷	7.2	0.5	< 90.0
	PROM. o MEDIA	7.13 x10⁷ (media)	7.9 ± 0.7 (prom.)	1.79 x10⁷ (media)	7.3 ± 0.8 (prom.)	0.6 ± 0.4 (prom.)	< 90.0 (prom.)
0.5	129	8.65 x10 ⁶	6.9	3.00 x10 ⁶	6.5	0.5	< 90.0
	154	2.10 x10 ⁷	7.3	1.25 x10 ⁶	6.1	1.2	< 99.0
	179	4.22 x10 ⁷	7.6	1.65 x10 ⁷	7.2	0.4	< 90.0
	184	1.30 x10 ⁸	8.1	2.45 x10 ⁷	7.4	0.7	< 90.0
	193	5.02 x10 ⁷	7.7	3.60 x10 ⁷	7.6	0.1	< 90.0
	PROM. o MEDIA	3.47 x10⁷ (media)	7.5 ± 0.4 (prom.)	8.86 x10⁶ (media)	6.9 ± 0.6 (prom.)	0.6 ± 0.4 (prom.)	< 90.0 (prom.)
1.1	214	6.28 x10 ⁷	7.8	3.50 x10 ⁶	6.5	1.3	< 99.0
	217	4.32 x10 ⁸	8.6	9.00 x10 ⁶	7.0	1.7	< 99.0
	221	2.12 x10 ⁷	7.3	1.66 x10 ⁷	7.2	0.1	< 90.0
	223	7.21 x10 ⁶	6.9	2.84 x10 ⁶	6.5	0.4	< 90.0
	242	2.29 x10 ⁷	7.4	2.84 x10 ⁶	6.5	0.9	< 90.0
	PROM. o MEDIA	3.94 x10⁷ (media)	7.6 ± 0.7 (prom.)	5.31x10⁶ (media)	6.7 ± 0.3 (prom.)	0.9 ± 0.6 (prom.)	< 90.0 (prom.)

Los valores de remoción fueron menores que los de coliformes fecales se encontraron en promedio entre 0.1 y 1.7 log removidos. La mayor remoción promedio fue para la CO de 1.1 al igual que en el caso de coliformes fecales, su valor fue de 0.9 log, lo cual es equivalente a menos de 90% de remoción. En este caso las cargas orgánicas de 0.5 y 0.6 tuvieron el mismo promedio de remoción de 0.6 log para las determinaciones de *Enterococcus faecalis*.

Al realizarse el ANOVA de las unidades log removidas (ver Anexo I), se observó que las diferencias no son significativas al compararlas entre las tres cargas orgánicas, aunque se

observen tendencias en los valores promedios.

En las Figura 5.9, se muestran algunas placas seleccionadas con cultivos de *Enterococcus faecalis*, en los cuáles se observa que, con las mismas diluciones, se presentó una disminución del crecimiento de colonias en el efluente con respecto al influente.

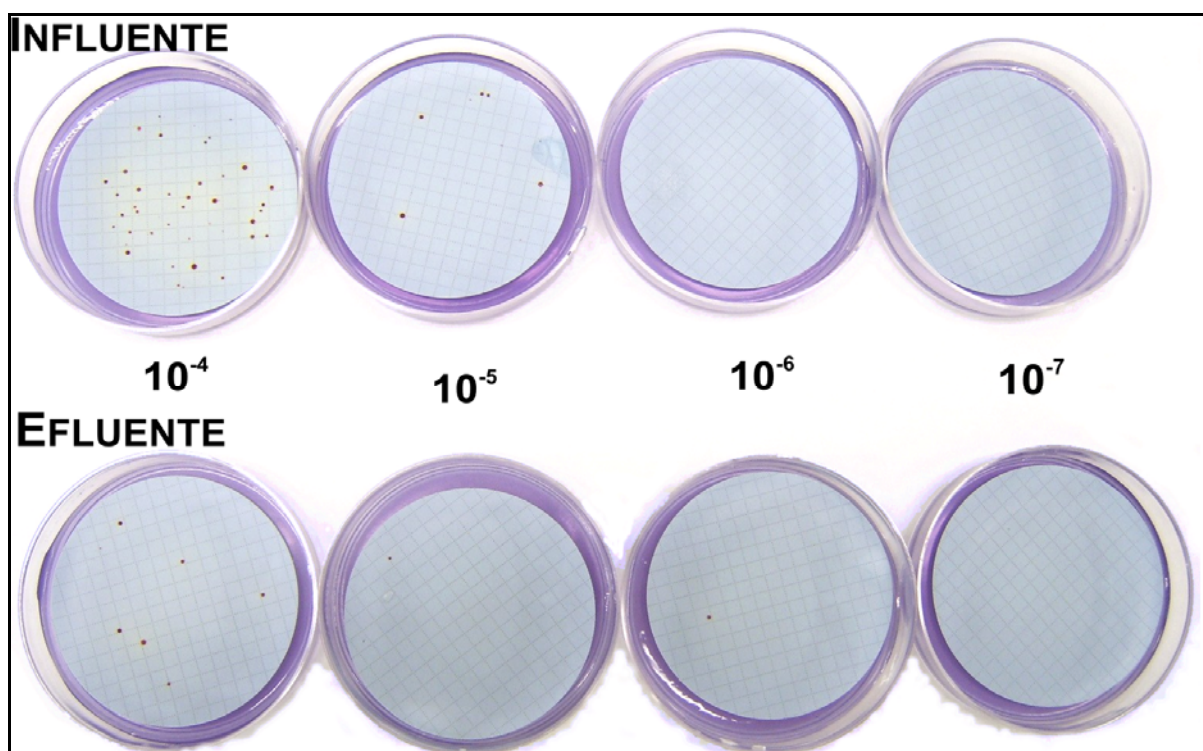


Figura 5.9. Placas con cultivos de *Enterococcus faecalis* con diluciones de 10^{-4} a 10^{-7} ml de agua de influente y efluente

La remoción de organismos indicadores en agua residual mediante acidificación anaerobia ha sido poco estudiada. La mayoría de los trabajos se enfocan a la digestión anaerobia más que a la primera etapa de la digestión anaerobia. Kamizoulis (2008) menciona que los tratamientos de sedimentación primaria con o sin coagulación sólo logran la remoción de bacterias de 0 a $1 \log_{10}$ UFC/100 ml, que equivale a una remoción del 50 al 90% y los tratamientos secundarios, como son los lodos activados o filtros percoladores seguidos de sedimentación secundaria, logran la remoción de 1 a $3 \log_{10}$ UFC/100 ml (90 al 99.9%). Goss y Richards (2007) mencionan que los sistemas naturales como las lagunas pueden remover entre 0 y $3 \log_{10}$ UFC/100 ml y los humedales artificiales entre 1 y $3 \log_{10}$ UFC/100 ml; además mencionan que la digestión anaerobia mesófila remueve entre 1 y $2 \log_{10}$ UFC/100 ml y la

termofílica hasta 5 log₁₀UFC/100 ml.

De los resultados obtenidos en este trabajo se observa que las remociones fueron entre 0.1 y 1.7 log₁₀UFC/100 ml en todos los casos, encontrándose la mayor remoción para la CO de 1.1 kgDQO/kgSST·d tanto para el caso de coliformes fecales, como para *Enterococcus faecalis*, a pesar de que no fue la etapa con mayor producción de AGV. Contrario a lo esperado, la mayor remoción de SST y SSV se encontró en la CO de 0.5 kgDQO/kgSST·d, pero no fue la de mayor remoción de patógenos, ni tampoco de mayor producción de AGV. Aunque no se conocen completamente los mecanismos que llevan a la inactivación de las bacterias indicadoras, se menciona que es el estrés causado por la presencia de AGV, la disminución de pH y el tiempo de contacto (Puchjada y Oleszkiewicz, 2006; Barrios, *et al.*, 2003); también la adsorción a los sólidos sedimentables contribuye a la remoción de bacterias (Grimason *et al.*, 1996). En un estudio realizado sobre *Shigella dysenteriae*, se observó que las concentraciones de AGV inhibitorias para este patógeno debían ser muy elevadas (>3000mg/l) aunado a pH inferiores a 6 (Kunte *et al.*, 2000). Estas últimas condiciones no se obtuvieron en el reactor SBR empleado en este trabajo, ya que la acidificación biológica en el sistema tiene capacidad amortiguadora, con ciclos de reacción relativamente cortos y tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 8 horas. Posiblemente un TRH y/o TRC mayores permitirían una mayor remoción de organismos indicadores, en particular para el caso de coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*.

5.2.6.3 *Salmonella typhi*

Para el caso específico de *Salmonella typhi*, al realizar las determinaciones con el método de filtración de membrana y siembra en el medio selectivo de agar sulfito y bismuto Bioxon (APHA, 1998), se presentaron conteos elevados de colonias. Se realizaron 5 cuantificaciones correspondientes a la primera etapa experimental (CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d) con las mismas muestras que para coliformes fecales y *Enterococcus faecalis*. Los resultados obtenidos del contenido de colonias fue un promedio de 4.1 x 10⁸ UFC/100 ml, con valores oscilantes entre 1.8 a 6.7 x10⁸ UFC/100ml. Las concentraciones de *Salmonella typhi* para aguas residuales típicas se encuentran en un intervalo de 10² a 10⁵ UFC/100 ml (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf y Eddy, 2003; Kamizoulis, 2008), con una dosis infecciosa de 10¹ – 10⁸ UFC/100 ml. Sin embargo, en México se han encontrado dosis mayores entre 10⁶ a 10⁹ UFC/100ml, similares al valor de 10⁸ UFC/100 ml encontrado en las determinaciones

realizadas.

Adicionalmente al gran número de colonias encontradas en las determinaciones, se observó una gran variedad de éstas, variando los colores entre café y negro metálico, hallándose algunas transparentes y otras con halo metálico (Figura 5.10). Según los métodos estandarizados, las colonias de *Salmonella typhi* deben presentarse como colonias negro metálico (APHA,1998).

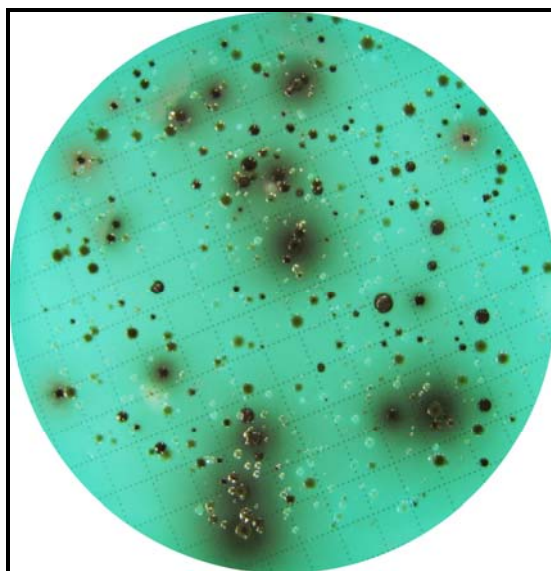


Fig. 5.10. Variedad de colonias encontradas en el medio selectivo de sulfito y bismuto (Bioxon)

Debido a esta gran concentración y diversidad de colonias halladas, se optó realizar una verificación de la presencia de *Salmonella typhi* en los cultivos. Para esto se recurrió al laboratorio de Inmunología Molecular Microbiana de la Facultad de Medicina de la UNAM; en este lugar se llevaron tres cajas de Petri con los cultivos, a las cuales se tomó una muestra de 5 colonias al azar para sembrarlas en medio selectivo MacConkey. El agar MacConkey es un medio diferencial entérico que contiene cristal violeta y sales biliares como inhibidores de los organismos Gram positivos, permite determinar si las bacterias fermentan lactosa al tornarse rosadas o no al permanecer incoloras (Mac Conkey, 1905; Murray *et al.*, 2003). Al inocular e incubar las placas se descartaron las colonias lactosa positivo y se aislaron las colonias incoloras; de esta selección se encontraron crecimientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* representantes comunes de los coliformes fecales (Murray *et al.*, 2003). Posteriormente a las colonias lactosa negativo encontradas se les hizo una prueba de

aglutinación con antiseros para *Salmonella*. De las colonias que aglutinaron se les realizó una identificación bioquímica y se encontró que correspondían a la especie *Vibrio fluvialis* y *Aeromonas hydrophila*. Ambas especies son oportunistas, en el caso de *V. fluvialis*, es una especie halofílica del género *Vibrio*, que se encuentra en cuerpos de agua salina o salobre, y aunque no es considerada una especie patógena se han encontrado casos de asociados a diarrea aguda en humanos (Castellano *et al.*, 1999). *Aeromonas hydrophila*, pertenece a la familia *Vibrionaceae* y está asociada al crecimiento del género *Vibrio*, la cual es considerada patógena para animales de sangre fría pero que llega a relacionarse con infecciones intestinales en humanos menores de 5 años (Herrera *et al.*, 2000). Por lo tanto, se optó por suspender las determinaciones de *Salmonella typhi*, ya que con el medio selectivo empleado (Sulfito de bismuto, Bioxon) no permitía su identificación en el agua residual empleada en el experimento.

5.2.7 Nitrógeno amoniacal (NH_4)

El nitrógeno es un elemento esencial para el crecimiento de organismos, ya sea plantas, animales y microorganismos y es considerado un macroelemento por su importancia en la síntesis de proteínas. La capacidad de tratar el agua residual por medios biológicos, está relacionada con el contenido de nitrógeno en ésta. Es necesario conocer el contenido de nitrógeno para conocer la capacidad de tratar el agua residual por medios biológicos. Cuando hay deficiencias de nitrógeno es necesaria la adición de un complemento (Metcalf y Eddy, 2003).

Las formas más comunes de nitrógeno encontradas en el agua son: el nitrógeno orgánico (aminoácidos, aminoazúcares y proteínas), nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos. El ión amonio (NH_4) es la forma del nitrógeno más reducida (estado de oxidación -III) y existe en solución acuosa en equilibrio con el amoníaco (NH_3) dependiendo del pH; si éste es ácido la especie predominante es el ion amonio. El nitrógeno amoniacal puede ser oxidado por bacterias a nitritos y nitratos, pero en condiciones anaerobias es almacenado o consumido en pocas cantidades (Sawyer *et al.*, 2000).

El nitrógeno amoniacal fue determinado para tener un seguimiento de las condiciones del reactor, aunque éste no participa en el proceso de hidrólisis y acidificación. En la Tabla 5.13

se observan los valores promedio y desviaciones estándar generadas de los datos individuales para cada etapa experimental que se presentan en el Anexo II. Se presentan también la remoción promedio y sus desviaciones estándar generadas de las remociones individuales del mismo Anexo II.

Tabla 5.13. Valores promedio de NH₄ con respecto a las cargas orgánicas

Etapa experimental	CO (kgDQO/kg SST·d)	NH ₄ (mg/l)		Remoción promedio (%)
		Influyente	Efluente	
1 ^a	0.6	98.3 ± 55.9	74.3 ± 33.4	14.8 ± 29.2
2 ^a	0.5	60.9 ± 38.4	74.1 ± 46.1	-20.6* ± 26.3
3 ^a	1.1	74.6 ± 20.1	59.3 ± 34.0	8.4 ± 70.6

* liberación al medio

Se observa que los valores del influente para las tres etapas fueron elevados (mayores a 45 mg/l) con respecto a valores típicos de aguas residuales (Metcalf y Eddy, 2003). Se observa que también la concentración de nitrógeno amoniacal es variable, como se puede ver en las desviaciones estándar del influente y efluente, así como en los valores del Anexo II. Para la CO de 0.6 y 1.1 kgDQO/kgSST·d se presenta remoción posiblemente debido al consumo para formación de proteínas. Se puede observar que la mayor remoción (14.8%) es para la CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d. La CO de 1.1 kgDQO/kgSST·d con remoción de 8.4% aunque con una mayor desviación estándar. La diferencia puede deberse a que en la CO superior hay un mayor aporte de material orgánico y menor requerimiento por parte de las bacterias. Por otro lado, los valores son muy dispersos y las comunes diferencias pueden deberse a errores de muestreo, al método analítico y diferencias de concentración en el agua residual. En cambio, en la CO de 0.5 kgDQO/kgSST·d, se observa que existe producción de NH₄ esto puede deberse a la hidrólisis de proteínas que producen este compuesto. En esta etapa experimental se observó, que hubo mayor producción de DQO disuelta y remoción de SST, lo cual indica hidrólisis del material orgánico particulado y concuerda con los valores de producción de NH₄ que se observan en el Anexo II. No se pudo realizar una ANOVA a los porcentajes de remoción por existir valores de remoción y producción (valores negativos) a lo largo del experimento.

5.2.8 Fósforo (PO_4)

El fósforo es un elemento esencial para el crecimiento de organismos. Se encuentra en el agua residual como ortofosfatos, polifosfatos y fósforo orgánico. Sin embargo, los ortofosfatos son compuestos de fósforo empleados directamente por el metabolismo y los otros compuestos son poco asimilados (Metcalf y Eddy, 2003).

Se determinó el contenido de ortofosfatos (PO_4) en el agua residual como contenido del fósforo disponible para los microorganismos en el reactor; al igual que el nitrógeno amoniacal, los fosfatos fueron un parámetro tomado para observar su comportamiento general en el reactor. Los ortofosfatos no tienen participación en el proceso de acidificación y no pueden ser removidos con este método.

En la Tabla 5.14 se presentan los valores de PO_4 promedio para cada etapa experimental, sus desviaciones estándar y sus remociones promedio. Los valores de PO_4 del influente son elevados con respecto a valores de aguas residuales típicas (Metcalf y Eddy, 2003; Crites y Tchobanoglous, 2000). Los valores promedio de PO_4 del influente oscilaron entre 19.8 y 27.8 mg/l y las desviaciones estándar fueron entre 4.4 y 7.8 mg/l. Los valores promedio del efluente oscilaron entre 24.4 y 25.1 mg/l, con desviaciones estándar de 4.5 a 11 mg/l. Se observa por lo tanto que la remoción es despreciable y, aunque los balances de remoción indican producción o remoción de PO_4 , las variaciones se deben más a la dispersión por errores de muestreo o durante la determinación.

Tabla 5.13. Valores promedio de PO_4 con respecto a las cargas orgánicas

Etapa experimental	CO (kgDQO/kg SST-d)	PO_4 (mg/l)		Remoción promedio (%)
		Influente	Efluente	
1 ^a	0.6	22.9 ± 4.4	25.1 ± 8.3	-8.8 ± 23.4
2 ^a	0.5	19.8 ± 7.8	24.4 ± 11.0	-22.7 ± 24.3
3 ^a	1.1	27.8 ± 5.3	25.0 ± 4.5	8.2 ± 20.2

5.2.9 pH y Temperatura

El pH y la temperatura son parámetros importantes en el tratamiento de agua residual ya que las condiciones favorables de ambos permiten el desarrollo adecuado de la biomasa en el interior del reactor. El pH, expresa el grado de acidez o alcalinidad y es un importante parámetro en el tratamiento del agua residual. El intervalo en el cual la mayoría de organismos se desarrollan de manera óptima entre 6 y 9, por lo que un agua con acidez o alcalinidad muy elevada dificulta el tratamiento biológico (Metcalf y Eddy, 2003). La temperatura del agua residual es un parámetro que depende de la fuente del agua, así como de la localización geográfica y temporada del año (Metcalf y Eddy, 2003).

Tanto el pH, como la temperatura fueron determinados de forma puntual dentro del reactor a lo largo de la experimentación. En la Tabla 5.14, se presentan los valores promedio de pH y temperatura en las tres etapas experimentales y en la fase de arranque cuando no se había añadido complemento de DQO y a partir de que se comenzó a añadir. Las letras indican los resultados de la prueba de rango múltiple en las cuales indican los valores que son homogéneos con letras iguales y los heterogéneos con letras diferentes. La letra “a” indica el grupo de valores con media mayor y las medias de los grupos van disminuyendo conforme la letra aumenta.

Tabla 5.14. Valores promedio de temperatura y pH, en las diferentes etapas experimentales

Etapa experimental	CO (kgDQO/kgSST-d)	T (°C)	pH
Arranque (sin complemento)	0.8	18.7 ± 0.4 c	7.9 ± 0.6 a
Arranque (con complemento)	1	18.3 ± 0.39 c	6.6 ± 0.54 b
1^a	0.6	17 ± 1.13 d	6.9 ± 0.38 b
2^a	0.5	20.7 ± 0.85 b	6.6 ± 0.18 b
3^a	1.1	22.3 ± 1.31 a	6.7 ± 0.15 b

En la Tabla 5.14 se puede observar que, en general, los valores de temperatura no variaron mucho y tuvieron valores promedio entre 17°C y 22.3°C. También se observa que las mayores temperaturas se observan en las dos últimas etapas experimentales (CO 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST-d), como lo muestran el ANOVA realizado (ver Anexo I) y la prueba de rango múltiple donde se muestran estas etapas experimentales como grupos heterogéneos

mayores (letras “a” y “b”). Esto se debe a que el control de temperatura se instaló únicamente para las dos últimas etapas; a pesar de que el control no fue puesto en todas las etapas.

En el caso del pH se observa que los valores promedio fueron entre 6.6 y 7.9, y que el ANOVA marca que el único grupo heterogéneo (grupo diferente estadísticamente con respecto a los demás valores) es el de la fase del arranque en la que no se añadió complemento de DQO. Este comportamiento se puede deber a que, al añadir el complemento de DQO, se favorecen los procesos de hidrólisis y acidificación en el reactor, a pesar de que los valores de pH no varían mucho entre las otras etapas debido a la capacidad amortiguadora del agua residual.

En la Figura 5.11 se observan los valores puntuales de pH y temperatura a lo largo de la experimentación. Los valores fueron determinados durante la fase de reacción del primer ciclo en los días indicados.

Se puede observar que en general la temperatura no presenta grandes cambios. Se ha reportado que temperaturas inferiores a 14°C son inadecuadas para el crecimiento de bacterias acidogénicas (Ruel, *et al.*, 2002).

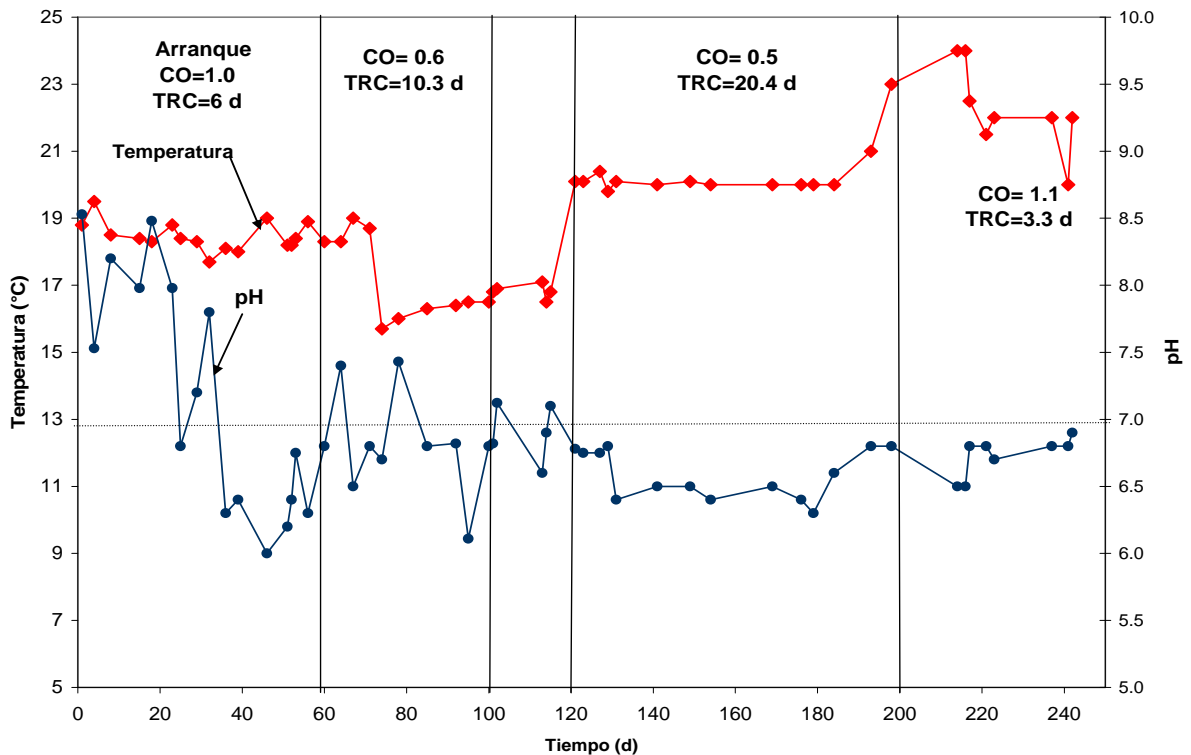


Figura 5.11. Comportamiento del pH y temperatura a lo largo de la experimentación (CO:kgDQO/kgSST·d)

En el día 120 se colocó un control de temperatura, una resistencia regulada con un termostato ajustado a 20°C. Esto se debió a que la temperatura comenzó a bajar a partir del día 74°C y se buscaba estabilizar entre 18°C y 20°C. El incremento de la temperatura a partir del día 200 puede deberse al incremento de la temperatura ambiente por ser fin de la temporada invernal y también por fallos en el sistema de control de temperatura (ver Anexo II).

Con los datos de pH se puede observar que hay valores elevados en las primeras etapas del arranque (superiores a 7), que descienden marcadamente en el día 29, en el cual comienza la adición del complemento de DQO, y que continúa descendiendo al final de la fase de arranque con la estabilización del reactor. Para las fases experimentales se observa que para la CO de 0.6 kgDQO/kgSST·d el pH del reactor tiene valores entre 6.1 y 7.4, con un promedio de 6.9. En cambio para la CO de 0.5 kgDQO/kgSST·d se observaron valores de pH más estables y bajos, con un promedio de 6.6; los valores de pH estuvieron comprendidos entre 6.4 y 7.1. En la última etapa experimental los valores de pH se encontraron entre 6.5 y 6.9 con una menor variación. A pesar de que en todas las etapas hubo producción de AGV, no se presentó una variación significativa del pH del agua del reactor. Esto se puede deber en mayor medida a la capacidad amortiguadora del agua residual que tiende a autorregularse y no permite una gran variación del pH (Ruel *et al.*, 2002).

6 CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de este trabajo son:

- Se logró la transformación bioquímica de los contaminantes orgánicos en el agua residual mediante procesos anaerobios de acidogénesis. La mayor tasa de producción de ácidos grasos volátiles (19.5 mgDQO/l-h) y el mayor grado de acidificación (26%) se observaron con la carga orgánica de 0.6 kgDQO/kgSST-d. En el caso de las cargas orgánicas de 0.5 y 1.1 kgDQO/kgSST-d se obtuvo un grado de acidificación de 8.7 % y 5.1%, respectivamente, con una fracción predominante de ácido acético (superior al 51%).
- La remoción de DQO total fue baja para las primeras dos etapas experimentales, con valores de remoción de 7 %y 8%, para las cargas orgánicas de 0.6 y 0.5, respectivamente. En cambio se observó un incremento de la remoción (22%) en la carga orgánica de 1.1. kgDQO/kgSST-d.
- Durante las dos primeras etapas experimentales (cargas orgánicas 0.5 y 0.6 kgDQO/kgSST-d) no se observó remoción significativa de DQO disuelta mas, durante la tercera etapa (carga orgánica 1.1 kgDQO/kgSST-d) se logró una remoción del 39 % concluyéndose que a mayores cargas orgánicas es posible remover material orgánico disuelto. Como caso especial, del día 129 al 154 de la experimentación, se presentó una reducción significativa de la carga orgánica (valor aproximado de 0.3 kgDQO/kgSST-d) durante la cual se observó producción de DQO disuelta en vez de consumo.
- La remoción promedio de sólidos suspendidos totales en el agua residual se presenta durante las tres etapas experimentales: La mayor remoción (23%) fue para la etapa con carga orgánica más baja (0.5 kgDQO/kgSST-d) y la menor (7 %) para la carga de 1.1 kgDQO/kgSST-d. El incremento en la remoción puede deberse a un incremento de la capacidad de sedimentación de los microorganismos y a la hidrólisis de una parte de los sólidos en suspensión en el reactor.

- El comportamiento de los sólidos suspendidos volátiles es similar al de los totales. La mayor remoción de 23 % se observó durante la carga orgánica de 0.5 kgDQO/kgSST·d y la menor de 16 % durante la carga orgánica de 1.1 kgDQO/kgSST·d. Independientemente de las condiciones de operación del reactor la relación de SSV entre SST no cambió manteniendo un valor de 87 %.
- El índice volumétrico de lodos se mantuvo con valores entre 106 y 114 g/ml, el cual no se vio afectado significativamente por las variaciones de carga orgánica de las tres etapas experimentales.
- Como resultado general se observó una remoción promedio de microorganismos indicadores entre 0.6 y 1 unidad logarítmica, representando porcentajes de remoción menores o iguales al 90%. No fue posible identificar una relación entre la carga orgánica y la remoción de microorganismos indicadores.
- El método seleccionado no permitió la identificación de *Salmonella typhi*, debido a que se identificaron de forma cualitativa otras especies o géneros de bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Vibrio fluvialis* y *Aeromona hydrophila*.
- Las concentraciones de fósforo (ortofosfatos) y nitrógeno amoniacal se mantuvieron sin cambios significativos durante las tres etapas experimentales.
- Durante las tres etapas experimentales el valor del pH en el reactor se mantuvo en valores cercanos a la neutralidad, entre 6.6 y 6.9.

7 RECOMENDACIONES

A partir de las observaciones realizadas se plantean las siguientes recomendaciones:

- Con base en otros trabajos se recomienda realizar perfiles de concentración de materia orgánica para obtener información sobre las transformaciones que se llevan a cabo en el reactor.
- Para obtener información más precisa de las transformaciones de las sustancias suspendidas en disueltas se recomienda aumentar los parámetros de análisis (p.e. DQO suspendida y disuelta, y sólidos suspendidos y disueltos) y así lograr un balance de materia más preciso.
- Debido a que durante el desarrollo de este trabajo no fue posible la identificación y cuantificación de *Salmonella typhi*, se recomienda poner especial atención en los procedimientos para determinar la presencia de este organismo.
- Para garantizar la estabilidad del reactor se recomienda dar un seguimiento intenso al equipo electromecánico que permiten su operación (verificación constante de bombas y controladores).

9 ANEXO I

ANÁLISIS DE VARIANZA EN LOS DISTINTOS PARÁMETROS DEL AGUA

➤ Índice volumétrico de lodos (IVL)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado medio	F-calc.	Nivel de significancia
Entre tratamientos	3018.2	2	1509.1	3.29	0.0514
Dentro de tratamientos	13284.0	29	458.069		
<i>Total (Corr.)</i>	16302.2	31			

➤ Producción de ácidos grasos volátiles (AGV)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado medio	F-calc.	Nivel de significancia
Entre tratamientos	54735.9	2	27368.0	5.18	0.0260
Dentro de tratamientos	58084.3	11	5280.39		
<i>Total (Corr.)</i>	112820.	13			

➤ Remoción de unidades log en coliformes fecales

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado medio	F-calc.	Nivel de significancia
Entre tratamientos	0.388	2	0.194	0.90	0.4708
Dentro de tratamientos	2.576	12	0.214		
<i>Total (Corr.)</i>	2.964	14			

➤ Remoción de unidades log en *Enterococcus faecalis*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado medio	F-calc.	Nivel de significancia
Entre tratamientos	0.281	2	0.140	0.56	0.5856
Dentro de tratamientos	3.016	12	0.251		
<i>Total (Corr.)</i>	3.297	14			

➤ pH

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado medio	F-calc.	Nivel de significancia
Entre tratamientos	9.67182	4	2.41796	15.46	0.0000
Dentro de tratamientos	6.8795	44	0.156352		
<i>Total (Corr.)</i>	16.5513	48			

➤ Temperatura

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado medio	F-calc.	Nivel de significancia
Entre tratamientos	153.917	4	38.4792	47.21	0.0000
Dentro de tratamientos	35.8653	44	0.81512		
<i>Total (Corr.)</i>	189.782	48			

ANEXO II

ETAPAS	Fecha	Día	T (°C)	pH	Sol. Sed (ml)	IVL (g/ml)	DOO (mg/l)				SST (mg/l)				REMOCION		SSST/SSV REMOCION					
							Influyente		Efluente		Reactor		SST (%)		SSV (mg/l)		SSST/SSV (%)					
							Total	Soluble	Susp.	Total	Soluble	Susp.	Sobrenad.	Reactor	Influyente	Efluente	Reactor	Influyente	Efluente	Reactor	Influyente	Efluente
	13-ago	1	18.8	8.5	10	41	153		247			51	97	243	36	84	219	90.1	-133			
	20-ago	4	19.5	7.5	10	32	425	398	372			91	87	309	84	80	285	92.2	5			
	27-ago	8	18.5	8.2	10	44	282		346					228								
	27-ago	15	18.4	8.0	10	21	174	58	116	168	67	101	213	83	485	39	54	466	96.1	-38		
	30-ago	18	18.3	8.5	10	18	215	43	172	177	44	133	153	68	41	564	17	24	387	71.9	-41	
	04-sep	23	18.8	8.0	10	19	163	35	128	107	30	77	96	33	40	538	21	24	387	71.9	-41	
	06-sep	25	18.4	6.8	25	36	140	31	109	80	44	36	118	89	76	688	14.6	73	76	545	79.2	-4
	10-sep	29	18.3	7.2	37	41	370	177	193	288	150	138	260	123	57	910	53.7	73	32	724	79.6	56
	13-sep	32	17.7	7.8	46	48	318	168	150	344	186	158	500	83	75	964	9.6					
	17-sep	36	18.1	6.3	40	39	197	72	125	155	76	79	102	106	84	1019	20.8	64	53	840	82.4	17
	20-sep	39	18	6.4	60	43	693	365	328	438	234	204	550	174	119	1386	31.6	22	39	1196	86.3	-77
	27-sep*	46	19	6.0	65	39	1282	1280	2	622	506	116	1245	175	106	1651	39.4	162	88	1455	88.1	46
	02-oct	51	18.2	6.2	58	45	1083	496	587	530	80	450	750	205	257	1285	-25.4	115	253	1202	93.5	-120
	03-oct	52	18.2	6.4	53	46	670	367	303	530	80	450	643	120	253	1163	-110.8	112	182	976	83.9	100
	04-oct	53	18.4	6.8	50	35	752	517	235	854	470	384	787	122	214	1443	-75.4	112	182	1222	84.7	-63
	07-oct	56	18.9	6.3	50	34	687	548	139	783	443	340	787	183	212	1480	-15.8	113	203	1352	91.4	-80
	11-oct	60	18.3	6.8	55	45	530	222	308	709	220	489	639	178	270	1214	-51.7					
	15-oct	64	18.3	7.4	75	58	411	254	157	585	293	292	407	154	142	1302	7.8	154	142	1302	100.0	8
	18-oct	67	19	6.5	140	91	739	461	278	693	383	310	491	191	137	1536	28.3	188	116	1410	91.8	38
	22-oct	71	18.7	6.8	148	91	461	207	254	420	265	155	430	101	74	1634	26.7	98	57			42
	25-oct	74	15.7	6.7	160	104	509	370	139	409	291	118	593	89	60	1534	32.6	84	49	1337	87.2	42
	29-oct	78	16	7.4	200	89	428	280	148	659	396	263	485	90	108	2243	-20.0	65	90	1970	87.8	-38
	05-nov	85	16.3	6.8	240	109	746	315	431	463	217	246	507	93	83	2209	10.8	77	75	1897	85.9	3
	12-nov	92	16.4	6.8	280	106	543	304	239	348	240	108	570	113	67	2631	40.7	108	61	2438	92.7	44
	15-nov	95	16.5	6.1	350	125	1009	772	237	920	665	255	939	123	109	2808	11.4	12	10	1268	45.2	17
	20-nov	100	16.5	6.8	280	150	558	191	367	433	167	266	230	123	120	1871	2.4	19	11	1308	69.9	42
	21-nov	101	16.8	6.8	260	127	496	257	239	363	191	172	663	110	95	2055	13.6	110	95	1831	89.1	14
	22-nov	102	16.9	7.1	260	128	291	411	611	441	441	170	509	188	205	2034	-9.0	185	191	1660	81.6	-3
	03-dic	113	17.1	6.6	115	102	691	491	200	833	402	411	928	254	203	1133	20.1	184	154	984	86.8	16
	04-dic	114	16.5	6.9	130	107	774	74	700	772	559	213	1041	161	151	1219	6.2	158	138	1086	89.1	13
	05-dic	115	16.8	7.1	125	105	514	342	172	688	559	129	1279	56	112	1190	-100.0	54	108	1035	87.0	-100
	11-dic	121	20.1	6.78	125	126	535	384	151	400	383	17	454	119	60	989	49.6	98	36	894	90.4	63
	13-dic	123	20.1	6.75	140	94	320	254	66	393	300	93	739	254	232	1483	8.7	232	56	1217	82.1	76
	17-dic	127	20.4	6.75	150	101	402	285	117	296	280	16	422	84	56	1483	33.3	82	39	1360	91.7	52
	19-dic	129	19.8	6.8	200	128	448	275	173	400	352	48	474	88	78	1557	11.4	72	31	1256	80.7	57
	21-dic	131	20.1	6.4	240	141	465	123	342	274	201	73	397	82	59	1704	28.0	73	42	1497	87.9	42
	29-dic	141	20	6.5	250	121	355	170	185	254	212	42	617	57	51	2067	10.5	42	34	1778	86.0	19
	02-ene	149	20.1	6.5	290	121	355	170	185	254	212	42	446	70	42	2406	40.0	60	36	2065	85.8	40
	07-ene	154	20	6.4	350	111	635	327	308	520	400	120	538	84	44	3149	47.6	79	40	2734	86.8	49
	22-ene	169	20	6.5	290	107	651	380	271	400	190.0	210	985	124.0	71.0	2722	42.7	118.0	68.0	2329	85.6	42.4
	29-ene	176	20	6.4	300	92	818	588	230	714	335.0	379	979	175	150	3244	14.3	136	135	2878	88.7	0.7
	01-feb	179	20	6.3	320	106	472	251	221	703	287.0	416	1203	189	208	3008	-10.1	182	205	2595	86.3	-12.6
	06-feb	184	20	6.6	220	83	916	698	218	703	583.0	120	935	152	93	35.5	130	84	2258	85.5	35.4	
	14-feb	193	21	6.8	200	90	661	317	344	1000	212.0	788	668	152	382	2220	-151.3	150	354	1912	86.1	-136.0
	19-feb	198	23	6.8	200	77	602	364	238	409	234.0	175	455	77	41	2609	46.8	88	65	2284	87.5	26.14
	04-mar	214	24	6.5	180	107	1000	700	300	651	359	292	578	214	145	1679	32.2	209	117	1530	91.1	44.02
	06-mar	216	24	6.5	200	108	935.8	589.2	346.6	704.8	350	355	160	145	1848	9.4	151	126	1619	87.6	16.61	
	07-mar	217	22.5	6.8	200	119	1100	767	333	620	359	261	767	238	129	1681	45.8	224	112	1473	87.6	50.13
	11-mar	221	21.5	6.8	250	138	830	559	271	553	404	149	1057	127	64	1813	49.6	120	56	1589	87.6	53.63
	13-mar	223	22	6.7	200	143	699	427	272	1000	300	700	115	319	1400	-177.4	112	272	1183	84.5	-142.86	
	27-mar	237	22	6.8	280	163	936	567	369.2	705	350	354.8	258	139	1715	46.1	231	127	1433	83.6	45.02	
	31-mar	241	20	6.8	220	112	936	567	369.2	705	350	354.8	232	145	1958	37.5	222	124	1767	90.2	44.14	
	01-abr	242	22	6.9	240	139	1050	493	557	700	328	372	160	145	1722	9.375	146	132	1528	88.7	9.6	

ETAPAS	Fecha	Día	CO (mg DQO/mg SST.d)	TRC (d)	PURGA (l)	Remoción (%)	PO4 (mg/l)		AGV (mg/l)			Efluyente						
							Influyente	Efluyente	Influyente		Efluyente		Efluyente					
									Remoción (%)	Influyente	Efluyente	Acético	Propionico	Isobutirico	Formico	Total		
	13-ago	1	0.8	4		-7.8												
	16-ago	4	1.8	3		-7.7												
	20-ago	8	1.6	0.0		1.9												
	27-ago	15	0.5	0.2														
	30-ago	18	0.5	0.1														
	04-sep	23	0.4	0.1														
	06-sep	25	0.3	0.1														
	10-sep	29	0.8	0.4														
	13-sep	32	0.7	0.3														
	17-sep	36	0.4	0.1														
	20-sep	39	1.0	0.5														
	27-sep*	46	1.6	1.6														
	02-oct	51	1.7	0.8														
	03-oct	52	1.2	0.6														
	04-oct	53	1.0	0.7														
	07-oct	56	0.9	0.7														
ARRANQUE	11-oct	60	0.9	0.4														
	15-oct	64	0.6	0.4														
	18-oct	67	1.0	0.6														
	22-oct	71	0.6	0.3														
	25-oct	74	0.7	0.5														
	29-oct	78	0.4	0.3														
	05-nov	85	0.7	0.3														
	12-nov	92	0.4	0.2														
	15-nov	95	0.7	0.6														
	20-nov	100	0.6	0.2		-18.1	17.9	18.1	0.00	12.92	0.00	0.00	12.92	51.75	0.00	0.00	69.00	
	21-nov	101	0.5	0.3		38.0	25.4	23	5.33	21.31	7.34	10.71	44.69	117.90	57.44	0.00	175.34	
CO=0.6	22-nov	102	0.7	0.3		24.3	25.4	34.3	0.52	6.64	0.52	7.34	14.50	113.04	22.56	0.00	139.15	
	03-dic	113	1.2	0.9		22.7	15.3	18.4	0.00	10.89	2.60	10.75	24.24	55.43	4.38	2.16	66.25	
FALLAS TÉCNICAS	04-dic	114	1.3	0.1		-56.3	11.2	29.9										
	05-dic	115	0.9	0.6		11.5	19.5	25.3										
	11-dic	121	1.1	0.8														
	13-dic	123	0.4	0.3														
	17-dic	127	0.5	0.4														
	19-dic	129	0.6	0.4		-56.2	16.2	23	6.39	0.91	0.00	7.34	14.64	53.38	5.35	0.00	12.34	
	21-dic	131	0.5	0.1		-2.7	15.5	15.5										
	29-dic	141	0.3	0.2		-9.7	11.5	13.9										
	02-ene	149	0.3	0.1		2.2	7.8	10.2										
	07-ene	154	0.4	0.2		8.5	32.9	38.3										
	22-ene	169	0.5	0.3		-56.0	21.3	26.5	43.03	6.90	0.00	24.43	74.36	67.0	13.0	2.4	10.9	
	29-ene	176	0.5	0.4		-11.4	28.9	43										
	01-feb	179	0.3	0.2		-56.4	26.1	31.4	0.97	0.17	0	0.34	1.48	73.82	24.12	1.09	1.6	
	06-feb	184	0.7	0.5		-2.4	24.2	20.5	0.87	0.22	0	0.58	1.67	35.68	9.41	0.00	1.31	
	14-feb	193	0.6	0.3		-42.3	19.8	33.1	42.62	11.11	0	1.7	55.43	62.04	4.75	0	21	
CO=0.5	19-feb	198	0.5	0.3		-42.3	19.8	33.1	12.27	0.83	0	1.75	14.85	45.87	4.13	0	26.23	
	04-mar	214	1.2	0.8		88.1	36	30.3	3.64	24.12	0	3.61	31.37	51.83	9.91	17.34	30.87	
	06-mar	216	1.0	0.6		23.2	27.8	26.6	0.22	0	0	0.87	1.09	5.96	0	0	14.63	
	07-mar	217	1.3	0.9		24.3	25.5	24.6	0	0	0	0	0	0	0	0	20.59	
	11-mar	221	0.9	0.6		-106.1	21.4	25.5	0	0	0	0	0.00	3.8	0.99	0.00	0	
	13-mar	223	1.0	0.6														
	27-mar	237	1.1	0.7														
CO=1.1	31-mar	241	1.0	0.6		12.5	28.1	17.9	115.9	0	0	38.6	154.50	204.93	115.9	17	0	
	01-abr	242	1.2	0.6														337.83

ETAPAS	Fecha	Dia	AGV (mg DQO/l)						Producción (mgDQO/l)	Grado de acid. (%)	Rendimiento (mgPO ₄ /mgSS ^(r-d))	Coliformes fecales (UFC/100 ml)		Enterococos fecales (UFC/100 ml)							
			Influyente			Efluyente						Influyente	Efluyente	Influyente	Efluyente						
			Acético	Propiónico	Isobutírico	Fórmico	Total	Acético				Propiónico	Isobutírico	Fórmico	Total						
	13-ago	1																			
	16-ago	4																			
	20-ago	8																			
	27-ago	15																			
	30-ago	18																			
	04-sep	23																			
	06-sep	25																			
	10-sep	29																			
	13-sep	32																			
	17-sep	36																			
	20-sep	39																			
	27-sep	46																			
	02-oct	51																			
	03-oct	52																			
	04-oct	53																			
	07-oct	56																			
	11-oct	60																			
ARRANQUE	15-oct	64																			
	18-oct	67																			
	22-oct	71																			
	25-oct	74																			
	29-oct	78																			
	05-nov	85																			
	12-nov	92	12.12	0.00	0.00	0.00	48.13	0.00	0.00	193.20	241.33	229.21	42.21	0.17	2.04E+07	1.27E+07	37.75	5.34E+07	8.50E+06	84.08	
	15-nov	95	19.82	8.49	2.93	30.76	62.00	109.65	66.06	0.00	175.70	113.70	11.27	0.08	4.40E+07	7.55E+08	-1611.36	9.63E+06	4.75E+06	50.67	
	20-nov	100	6.18	0.52	0.00	21.08	27.78	105.13	25.94	0.00	9.94	141.01	20.29	0.12	1.80E+08	1.48E+07	91.78	7.28E+07	4.60E+06	93.68	
	21-nov	101													1.90E+08	8.00E+06	95.79	1.05E+07	6.88E+06	34.48	
CO=0.6	22-nov	102	10.13	2.94	0.00	30.10	43.17	51.55	5.04	5.91	11.98	74.48	31.32	0.03	3.03E+08	1.05E+07	96.53	4.68E+07	1.45E+07	69.02	
	03-dic	113											121.9	0.22							
FALLAS TÉCNICAS	04-dic	114																			
	05-dic	115																			
	11-dic	121																			
	13-dic	123																			
	17-dic	127																			
	19-dic	129	5.94	1.03	0.00	20.55	27.52	49.64	6.15	4.04	34.55	94.38	66.86	0.09	2.17E+08	3.79E+07	82.81	8.65E+06	3.00E+06	65.32	
	21-dic	131																			
	29-dic	141																			
	02-ene	149																			
	07-ene	154	40.02	7.80	0.00	68.40	116.22	62.28	14.97	13.44	30.49	121.18	4.96	0.00	6.23E+07	2.66E+07	57.30	2.10E+07	1.25E+06	94.05	
	22-ene	169																			
	29-ene	176																			
	01-feb	179	0.90	0.19	0.00	0.95	2.05	68.65	27.74	0.19	4.48	101.06	99.01	0.07	2.03E+08	1.85E+07	90.89	4.22E+07	1.65E+07	60.90	
	06-feb	184	0.81	0.25	0.00	1.62	2.68	33.18	10.82	0.32	3.67	47.99	45.31	0.03	2.16E+08	7.85E+07	63.66	1.30E+08	2.45E+07	81.15	
	14-feb	193	39.64	12.55	0.00	4.76	56.95	39.64	12.78	11.55	4.76	68.72	11.77	1.78	2.56E+08	9.19E+07	64.10	5.02E+07	3.60E+07	28.29	
CO=0.5	19-feb	198	11.41	0.94	0.00	4.90	17.25	11.41	0.95	14.43	4.90	31.69	14.44	0.01	1.92E+08	5.50E+06	97.14	6.28E+07	3.50E+06	94.43	
	04-mar	214	3.39	27.26	0.00	10.11	40.75	3.39	27.74	16.98	10.11	58.21	17.46	0.02							
	06-mar	216																			
	07-mar	217	0.20	0.00	0.00	2.44	2.64	0.20	0.00	8.05	2.44	10.69	8.05	0.01	1.03E+08	7.00E+06	93.20	4.32E+08	9.00E+06	97.92	
	11-mar	221													2.99E+08	5.86E+07	80.40	2.12E+07	1.66E+07	21.70	
	13-mar	223	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.53	1.14	0.00	0.00	4.67	4.67	0.01	1.03E+08	2.95E+07	71.36	7.21E+06	2.84E+06	60.61	
	27-mar	237																			
	31-mar	241																			
CO=1.1	01-abr	242	107.79	0.00	0.00	108.08	215.87	190.58	133.29	21.23	0.00	345.10	129.23	0.15	3.21E+08	2.96E+07	90.78	2.29E+07	2.84E+06	87.60	

8 REFERENCIAS

- Ahn, Y., Speece, R. (2006) Elutriated acid fermentation of municipal primary sludge. *Water Research*. 40(11), 2210-2220.
- Albert, G., Foster J., Michael, P. (2002) *Microbial Physiology*. Wiley- Liss Inc. New York, 715 pp.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. , Watson, J. (2002) *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing. New York, US, 4th Ed. 1294 pp.
- Alexander, M., (1994) *Introducción a la microbiología del suelo*. AGT Editor, S.A. 2^a Edición. México D.F. 491 pp.
- Alexiou, I., Anderson, G., Evison, L. (1994) Design of pre-acidification reactors for the anaerobic treatment of industrial wastewater. *Water Science and Technology*, 29(9), 199-204.
- APHA, AWWA, WPCF. (1998) *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association. 20th Edition. Washington. DC. USA.
- Arora, M. (1985) Technology evaluation of sequencing batch reactors. *Journal Water Pollution Control Federation*. 57(8), 867-875.
- Bahri, A. (1999) Agricultural reuse of wastewater and global water management. *Water Science and Technology*. 40(4), 339-346.
- Banister, S., Pretorius W. (1998) Optimisation of primary sludge acidogenic fermentation for biological nutrient removal. *Water SA*. 24(1),35-42.
- Barrios, E., Schroth, G., Lehmann, J. (2003) Soil nutrient availability and acidity. *Trees, crops and soil fertility: Concepts and research methods*, CABI Publishing, Oxon UK. 423 pp.
- Beltrán, N. (2006) Aplicación de luz ultravioleta para la desinfección de efluentes secundarios con alto contenido de patógenos. Tesis de doctorado DEPMI-UNAM. México. 199 pp.
- Bitton, G. (2005) *Wastewater Microbiology, Wiley series in ecological and applied microbiology*. Wiley-LISS. 3th Ed. New York. USA, 768 pp.
- Botero, L., Zambrano, J., Oliveros, C. (2002) Calidad microbiológica del agua de un sistema de lagunas de estabilización a ser empleada en irrigación. *Revista de la Facultad de Agronomía*. Universidad del Zulia. Caracas, 19(4), 312-323.
- Blumenthal U., Mara, D., Peasey, A., Ruiz-Palacios, G. (2000) Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines. *Bulletin of the World Health Organization*. 78(9), 1104-1116.
- Blumenthal, U., Cifuentes, E., Bennett, S., Quigley, M., Ruiz-Palacios, G. (2001) The risk of enteric infections associated with wastewater reuse: the effect of season and degree of storage of wastewater. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(2), 131-137.
- Campos, C. (2003) Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua (RIPDA-CYTED) y Centro Interamericano de Recursos del Agua, Facultad de Ingeniería, UNAM. *Agua potable para comunidades rurales, reúso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas*. Ed. Diaz C., Toluca, México, 224-229.
- Carrington, E., Harman, S., Pike, E. (1982) Inactivation of *Salmonella* during anaerobic digestion of sewage sludge. *Journal of Applied Bacteriology*, 53(3), 331-334.

-
- Castellano, M., Ávila, Y. Galue, N. (1999) Gastroenteritis aguada por *Vibrio fluvialis*: Reporte de un caso. *Km 27(2)* 71-76.
- CEPIS/OPS (1995) Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, Organización Mundial de la Salud. Parámetros de calidad para el uso de aguas residuales. Guías de calidad de efluentes para la protección de la salud. <http://www.cepis.org.pe>.
- Cherrington, C., Hinton, M., Chopra, I. (1990) Effect of short chain organic acids on macromolecular synthesis in *Escherichia coli*. *Journal of Applied Bacteriology*, 68(1), 69-74.
- Chyi, Y., Dague, R. (1994) Effects of particulate sized in anaerobic acidogenesis using cellulose as a sole carbon source. *Water Environment Research*. 66(5), 670-678.
- Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruiz-Palacios, G., Bennett, S., Peasey, A. (1994) Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México. *Salud Pública*. México. 36(1), 3-9.
- Cifuentes, E., Gómez, M., Blumenthal, U., Tellez-Rojo, M., Romieu, I., Ruiz-Palacios, G. y Ruiz-Velazco, S. (2000) Risk factors for *Giardia intestinalis* infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 62(3), 388-392.
- Comisión Nacional del Agua (CNA) (1995) Saneamiento del Agua del Valle de México, Informe final.
- Comisión Nacional del Agua (CNA) (2007) Estadísticas del agua en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 259 pp.
- Crites, R., Tchobanoglous G. (2000) *Tratamiento de Aguas Residuales en Pequeñas Poblaciones*. McGraw-Hill. Bogotá. Colombia. 776 pp.
- Crook, G., (1998) Water Reclamation and Reuse Criteria. Ed. T. Asano. *Wastewater Reclamation and Reuse*. Technomic Publishing. Lancaster. PA. 627-704.
- Cuevas G. (1998) Fermentación de las aguas residuales: una alternativa para mejorar la eliminación biológica de macronutrientes en reactores discontinuos con biomasa suspendida, *Water Science and Technology*
- Cuevas-Rodriguez, G., Gonzalez O., Gonzalez, S. (1998) Wastewater fermentation and nutrient removal in sequencing batch reactors. *Water Science and Technology*. 38 (1), 225-264
- Danesh, S., Oleszkiewicz, J. (1995) VFA Production vs VFA uptake in BNR- systems: the case for process separation. *Proceedings 68th annual Conference Water Environmental Federation*. Miami. FL. 723-732 pp.
- Davis, B, Dubelcco, R., Eisen, H., Ginsberg, H. (1996) *Tratado de Microbiología*. 4a Edición, Ed. Mansson, S.A. Barcelona. España. 1145 pp.
- Darby, J., Heath, M., Jacangelo, J., Loge, F., Swaim, P., Tchobanoglous, G. (1995) Comparison of UV Irradiation to Chlorination: Guidance for Achieving Optimal UV Performance. *Water Environment Research Foundation*. Alexandria. LA.
- Dean, R., Lund, E. (1981) *Water Reuse: Problems and Solutions*, NY, Academic Press. London. England. 264 pp.
- Diario Oficial de la Federación (DOF) (1996) Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 33 pp.
- Diario Oficial de la Federación (DOF) (1998) Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que ser reusen en servicios al público. 17 pp.
- Dick, R., Vesilind, P. (1969) The SVI, What is it? *Journal of Water Pollution. Control Federation*. 41:1285.
-

-
- Dinopoulou, G., Rudd, T., Lester, J. (1988) Anaerobic Acidogenesis of a complex wastewater. The influence of operational parameters on reactor performance. *Biotechnology and Bioengineering*. 31(9), 958-968.
- Duncan M., Nigel H. (2003) *The Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Academic Press. London. England. 819 pp.
- Eastman, J., Ferguson, J. (1981) Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *Journal WPCF*. 53(5), 352-365.
- Elefsiniotis, P. y Oldham, W. (1994) Anaerobic acidogenesis of primary sludge: The role of solids retention time. *Biotechnology and Bioengineering*. 44 (1), 7-13.
- Feachem, R., Mara, D., Bradley, D. Hemda, G., (1983) Sanitation and Disease Health Aspects of Excreta and Wastewater Management. *World Bank Studies in Water Supply and Sanitation*. John Wiley and Sons. New York. USA. 523 p.
- Garza, R., Hernández, K., Mejía A. (2002) Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*. *Lab acta*; 14(1): 9-10.
- Gauthier, R. (2002) Intestinal Health the Key to Productivity. *Precongreso Científico Avícola IASA*; Puerto Vallarta Jalisco, México.
- Gleick, H. (2002) 76 Million could perish from water-related diseases by 2020, *Pacific Institute Report*, Oakland, California: 12 pp.
- Goncalvez, R., Charlier, C., Sammut, F. (1994) Primary fermentation of soluble and particulate organic matter for wastewater treatment, *IAWQ 17th Biennial International Conference*. 24-29 July. Budapest Hungary. Book 1. 54-62 pp.
- González, O. (1994) Un algoritmo para optimizar el diseño hidráulico de reactores discontinuos, Tesis de maestría, DEPFI-UNAM. México. 112 pp.
- González, S. (1982) Planta para tratamiento de aguas de desecho de la Ciudad Universitaria: descripción del estado actual. Informe de Proyecto (No. 2326), Instituto de Ingeniería, UNAM. México.
- González, A., Rodríguez, J., Barrios, A., Maya, C., Jiménez, B. (2002) Evacuación del tratamiento de lodo fisicoquímico con ácido acético y peracético para producir biosólidos. Expo Ambiental XIII Congreso Nacional. FEMISCA. Instituto de Ecología Guanajuato AIDIS.
- González, O. (2004) Acidificación bioquímica de agua residual municipal. Tesis de doctorado. DEPFI-UNAM. México. 89 pp.
- González-Martínez S. (2008) Comunicación personal. Apuntes de la clase: Procesos Biológicos para el Tratamiento de Aguas Residuales.
- Goss, M., y Richards, C. (2007) Development of risk-based index for source water protection planning, witch supports the reduction of pathogens from agricultural activity entering water resources. *Journal of Environmental Management* 87, 623-632 pp.
- Grimason A., Wiandt S., Baleux B., Thitai W., Bontoux J., Smith, H. (1992) Occurrence and removal of *Giardia spp.* Cysts by Kenyan and French waste stabilisation pond systems. *Water Science Technology*. 33(7), 83-9.
- Guerrero, L., Omil, F., Méndez, Lema, J. (1999) Anaerobic hydolisis and acidogenesis of wastewaters from food industries with high content of organic solids and protein. *Water Research*, 33(15), 3281-3290.
- Henry, D., Frost, A., Samuel, J., O'Boyle, D, Thomson, R. (1982) Factors affecting the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* in anaerobically fermented pig waste, *Journal of Applied Microbiology*. 55(1), 89-95.
- Hernández, A. (2005) Evaluación del efecto de la temperatura y de los ácidos grasos volátiles (AGV), en condiciones de anaerobiosis, sobre huevos de helmintos (*Ascaris suum*). Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. México D.F. 62 pp.
- Herrera, M., Vargas, A., Moya, T., Campos, M., Yock, I. (2000) Aislamientos de *Aeromonas hydrophila* en el Hospital Nacional de Niños. *Revista Medica del Hospital Nacional de*
-

-
- Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*. 35(1,2) 73-77.
- Holst, T., Truc, A., Pujol, R. (1997) Anaerobic fluidized beds: ten years of industrial experience. Proceedings of the 8th International Conference on Anaerobic Digestion. 2:142-149.
- Irvine R. y Busch, A. (1979) Sequential batch biological reactors- an overview. *Journal Water Pollution Control Federation*. 51(2), 235-243.
- Jiménez, B., Mazari, M. y López, Y. (2005) *El agua y su impacto en la salud pública, Programa Agua, Medio Ambiente y Sociedad*. El colegio de México, Fundación Gonzalo Tío Arronte, UNAM. México D.F., 91 pp.
- Jiménez, B., Ramos, J. (1999) *Reúso posible del agua residual en México*. Series del Instituto de Ingeniería. UNAM, México, 617 pp.
- Kaijun, W. (1994) Integrated Anaerobic-Aerobic Treatment of Sewage. *Wageningen Dissertation Abstracts no. 1767*.
- Kamizoulis, G. (2008) Setting health based targets for water reuse (in agriculture). *Desalination*. 218(1-3),154-163.
- Kearney, T., Larkin, M., Levett, P. (1993) The effecto of slurry storage and anaerobic digestion on survival of pathogenic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*. 74, 86-93.
- Ketchum, L. (1996) Design and physical features of SBR reactors. *First IAWQ Specialized Conference on Sequencing Batch Reactor Technology*. Munich. Alemania. 7-14 pp.
- Kunte, D., Weole T. y Ranade, D. (2000) Effect of volatile acids on *Shigella dysenteriae* during anaerobic digestion of human night soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 16(6), 519-522.
- Kwon, Y. y Ricke, S. (1998) Survival of *Salmonella typhimurium* poultry isolate in the presence of propionic acid under aerobic and anaerobic conditions. *Anaerobe*, 4(6) 251-256.
- Lehninger, A., Nelson, D., Cox, M. (1995) *Principios de Bioquímica*. Ed. Omega, 2^a Edición. Barcelona. España. 1013 pp.
- Lettinga, G., Hulshoff Pol, L. (1991) UASB-process design for various types of wastewater. *Water Science and Technology*. 24(8), 87-107.
- Levine, M., Vial, P. (1988) *Escherichia coli* that cause diarrhea. *Indian Journal of Pediatrics*. 55:183-190.
- Liu, T. y Ghosh, S. (1997) Phase separation during anaerobic fermentation of solid substrates in an innovative plug-flow reactor. *Anaerobic Digestion VIII. Water Science and Technology*. 36(6/7), 17-24.
- Mac Conkey, A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in feces, *Journal of Hygiene*. 5:333-379
- Madigan, M., Martinko J., Parker, J. (1997) *Microbiología de los microorganismos de Brock*. 8^a Edición. Prentice Hall. Madrid. España. 1064 pp.
- Maharaj, I., Elefsiniotis, P. (2001) The role of HRT and low temperature on the acid-phase anaerobic digestion of municipal and industrial wastewaters. *Bioresearch Technology*, 76, 191-197.
- Maier R., Pepper, I., Gerba, C. (2000) *Environmental Microbiology*. Academic Press. San Diego CA. 604 pp.
- Malina, J. y Pohland, F. (1992) *Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*, Water Quality Management Library. Vol. 7. Technomic Publishing Co., INC. Lancaster. USA.
- Mara, D., Caincross, S. (1990) Directrices para el uso sin riesgos de aguas residuales y excretas en agricultura y acuicultura, Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Mara D., Sleigh, U., Blumenthal, J. y Carr, M. (2007) Health risks in waste water irrigation: Comparing estimates from quantitative microbial risk analyses and epidemiological studies. *Journal of Water and Health*. 5(1), 39-50.
- Matthews, R. y Asaadi, M. (2003) Strategies to Maximize Pathogen Kill. Proceedings of
-

-
- International Water Association Biosolids. *Wastewater Sludge as a Resource Conference*; Trondheim, Norway, June 23-25.
- McCarty P., McKinney, R. (1961) Volatile acid toxicity in anaerobic digestion. *Journal of Water Control Federation*. 33:223-232.
- Medline (2006) Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU y los institutos nacionales de la salud, <http://medlineplus.gov>.
- Metcalf y Eddy Inc. (1996) *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización*. Tomo 1. Mc Graw-Hill. México, D.F., 752 pp.
- Metcalf y Eddy Inc. (2003) *Wastewater Engineering, Treatment and Reuse*. 4ª edición. Mc Graw-Hill. Nueva York. USA. 1819 pp.
- MicrobeWiki. (2008) Kenyon College. <http://microbewiki.kenyon.edu>
- Millner, G., James, R., Nye, A. (1992) Human health-based soil cleanup guidelines for diesel fuel no.2. *Soil Contamination*. 1, 103-157.
- Miron Y., Zeeman G., Van Lier J., Lettinga, G. (2000) The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems. *Water Research*. 34(5), 1705-1713.
- Moeller, G. (2005) 4º Curso Internacional de Sistemas Integrados de Tratamiento de Aguas Residuales y su Reúso para un Medio Ambiente Sustentable. Tomo I, Memorias IMTA.
- Morales, J. (2006) Remoción biológica simultánea de fósforo y nitrógeno de agua residual en un reactor de lecho móvil. Tesis de maestría. DEPFI-UNAM. México D.F., 106 pp.
- Morris, J. (1985) *Anaerobic metabolism of glucose, in: Comprehensive biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine*. Ed-in-chief Mou-Young. Pergamon Press. Oxford, UK. 1, 357-378.
- Münch, E., Greenfield, P. (1998) Estimating VFA concentrations in prefermenters by measuring pH. *Water Research*. 32(8), 2431- 2441.
- Murray, P., Baran, E., Jorgensen, J., Pfaller, R. y Tenenbaum, R. (2003) *Manual of Clinical Microbiology*, 8th Ed. ASM Press. Washington, D.C. 3662 pp.
- Nataro, J., Steiner, T., Guerrant, R. (1998) Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Emerging Infectious Diseases*. 4(2) 251-261.
- National Academy of Sciences. (1996) *Use of Reclaimed Water and Sludge in Food Crop Production*. National Academy Press. Washington D.C. 178 pp.
- OMS (1998) Typhoid fever, Fever sheet N149, <http://www.who.int/inf-fs/en/factl49.html>.
- OMS (2006) Guía para el uso seguro del agua residual. Vol. 1 y 2. Uso del agua residual en la agricultura. http://www.who.int/watwer_sanitation-health.
- Pearson, H., Mara, D., Arridge, H. (1995) The influence of pond geometry and configuration on facultative and maturation pond performance and efficiency. *Water Science and Technology*. 31(12), 129-139.
- Pérez, J. (2004) Efecto de la carga orgánica sobre la fermentación anaerobia de agua residual municipal. Tesis de maestría, DEPFI-UNAM. México D.F., 124 pp.
- Pérez, Z. (2001) Influencia del pH sobre la fermentación ácida de aguas residuales, Tesis de Licenciatura Ingeniero Civil-UNAM, Facultad de Ingeniería. México, D.F., 133 pp.
- Pitman, A., Lötter, L., Alexander, W., Deacon, S. (1992) Fermentation of raw sludge and elutriation of resultant fatty acids to promote excess biological phosphorus removal. *Water Science Technology*. 25(4), 185-194.
- Puchajda, B., Oleszkiewicz, J. (2006) Extended Acid Digestion for Inactivation of Fecal Coliforms, *Water Environment Research*. 78 (12), 2389-2396.
- Rajeshwar K., Ibáñez J. (1997) *Environmental electrochemistry-fundamentals and applications in pollution abatement*. Academic Press. San Diego. CA. 776 pp.
- Ramalho, R. S. (1983). *Introduction to wastewater treatment processes*. 2nd Ed. Academic Press, E.U.A.
- Randall, C. W., Stensel, H. D. y Barnard, J. L. (1992). Design of activated sludge biological
-

-
- nutrient removal plants, in *Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal* D., eds., Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA., 97-120 pp.
- Ren, N., Wang, B., Huang, J., (1997) Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor. *Biotechnology and bioengineering*. 54(5), 428-460.
- Rose, J. y Gerba, C. (1991) Assessing Potential Health Risk from Viruses and Parasites in Reclaimed Water in Arizona and Florida. *Water Science and Technology*. 23:2091-2098.
- Rosas, I., Báez, A y Coutiño, M. (1984) Bacteriological quality of crops irrigated with wastewater in the Xochimilco plots, Mexico City, México. *Applied Environmental Microbiology*. 45 (5)1074-1079.
- Rössle, W., Pretorius, W. (2001) A review of characterization requirements for in-line prefermentes. Paper 2: Process characterisation. *Water SA*, 27 (3) 413-422.
- Ruel, M., Comeau, Y., Héduit, A., Deronzier, G., Ginestet, P. y Audic, J., (2002) Operating conditions for the determination of the biochemical acidogenic potential of wastewater. *Water Research*. 36 (9), 2337-2341.
- Ryan K. y Ray G., (2004) *Microbiología Médica. Una introducción a las enfermedades infecciosas*. 4ª Ed. McGraw Hill. México, 1060 pp.
- Saddoud, A., Sayadi, S. (2007) Application of acidogenic fixed-bed reactor prior to anaerobic membrane bioreactor for sustainable slaughterhouse wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*. 149, 700-706.
- Sawyer, C., McCarty, P., Parkin, G. (2000) *Química para ingeniería ambiental*. Mc Graw Hill. 4ª Edición. Bogotá. 713 p.
- Schlegel, H. G. (1988), *Microbiología general*, Ed. Omega, Barcelona, 654 pp.
- SSA. SUIVE. Dirección General de Epidemiología. www.dgepi.salud.gob.mx (24 de febrero del 2006).
- Shuval, H. Wax, Y., Yekutieli, P. y Fattal, B. (1989) Transmission of enteric disease associated with wastewater irrigation: a prospective epidemiological study, *American Journal of Public Health*, 79(7), 850-857.
- Solomon, C., Casey, C., Mackne, C. y Lake, A. (1998) Ultraviolet Desinfection. National Small Flows Clearinghouse. Fact Sheet WWFS0M20. *Environmental Technology Initiative*. ETI, 1-2.
- UNICEF. (2008) Agua, medio ambiente y saneamiento. Enfermedades comunes relacionadas con el agua y el saneamientos, <http://www.unicef.org>.
- United States. Environmental Protection Agency. USEPA. (1992) Drinking Water Contaminants. List of Contaminants and their MCLs. Microorganisms. <http://www.epa.gov/safewater/contaminants/index.htm>.
- University of California. (2007) Agriculture and Environment. E. coli research. (www.universityofcalifornia.edu)
- Von Münch, E., Keller, J., Newell, B., Lant, P. (1997) A dynamic mathematical model of anaerobic wastewater prefermentation for VFA production. *Proc. 8th International Conf. on Anaerobic Digestion*. 1,364-371.
- Von Münch, E., Greenfield, P. (1998) Estimating VFA concentrations in prefermenter by measuring pH. *Water Research*. 32(8)2431-2441.
- Von Münch, E., Koch, F. (1999) Mathematical modelling of prefermenters-I, Model development and verification. *Water Research*. 33(12) 2844-2854.
- Wanner, J. (1994) Activated sludge bulking and foaming control. *Technomic Publishing*, Lancaster PA. 45-52.
- Wentzel, M. C., Ekama, G. A. (1997). Principles in the design of single-sludge activated sludge systems for the biological removal of carbon, nitrogen, and phosphorus. *Water Environment Research*. 69(7)1222-1231.
-

-
- Wilderer, P., Irvine, R., Gorononszy, M. (2001) Sequencing batch reactor technology. (Sintific and technical report 10). IWA.London.
- Yu H., Zheng X., Hu, Z., Gu, G. (2003) High-rate anaerobic hydrolysis and acidogenesis of sewage sludge in a modified upflow reactor. *Water Science and Technology*. 48 (4) 69–75.
- Zoetemeyer, R., Arnoldy, P., Cohen, A., Boelhouwer, C. (1982) Influence of temperature on the anaerobic acidification of glucose in a mixed culture forming part of two-stage digestion process. *Water Research*. 16,313-321.