



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA**

INSTITUTO DE INGENIERÍA

**REDUCCIÓN DE SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN (INCLUIDOS PATÓGENOS) EN
AGUA RESIDUAL UTILIZANDO UN PROCESO ANAEROBIO**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN INGENIERÍA

AMBIENTAL

PRESENTA:

CIRCE ESMERALDA BADILLO SALAS

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: Dr. Víctor Manuel Luna Pabello

Secretario: Dra. Gabriela Eleonora Moeller Chávez

Vocal: Dr. Simón González Martínez

1er. Suplente: Dr. Marco Antonio Garzón Zúñiga

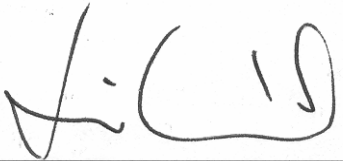
2do. Suplente: Dr. Alfonso Durán Moreno

Lugar donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería, UNAM

Director de tesis:

Dr. Simón González Martínez



A MI FAMILIA

“A Ítaca tenla siempre en la memoria.

Llegar allá es tu meta,

mas no apresures el regreso.

Mejor que se dilate largos años.

Y, en tu vejez, arribes a la isla
con cuanto hayas ganado en el camino
sin esperar a que Ítaca te enriquezca.

Un hermoso viaje te dio Ítaca.

Sin ella el camino no hubieras emprendido

mas ninguna otra cosa pudo darte.

Aunque pobre la encuentres, no hubo engaño.

Rico en saber y vida como has vuelto...”

(La Odisea, Homero)

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Simón González por dirigir este trabajo experimental. Gracias por su asesoría y apoyo académico para concluir esta maestría.

Al Dr. Oscar González, por su colaboración en la planeación, experimentación y montaje de este experimento. Por la asesoría brindada para la elaboración de este documento.

A mi comité tutorial y miembros del jurado, integrado por el Dr. Marco A. Garzón Zúñiga, Dra. Gabriela Moeller, Dr. Víctor Luna Pabello y Dr. Alfonso Durán Moreno por el seguimiento y por sus valiosas aportaciones a este trabajo experimental.

A la M. I. Guadalupe Urquiza del Instituto de Ingeniería, por su valiosa colaboración en el laboratorio, en la implementación de técnicas y ayuda para la realización de los análisis microbiológicos. Gracias.

A la Dra. Yolanda López Vidal y al Dr. Gonzalo Castillo Rojas del laboratorio de Inmunología Molecular Microbiana de la Facultad de Medicina de la UNAM, y en especial a Alicia Minor, por la ayuda brindada para la realización de la determinación de *Salmonella spp.*

DEDICATORIA

... A mi hermanita por compartir las más arduas y entrañables caminatas durante estos últimos tres años, gracias "Wera" por ser mi compañera y mejor amiga.

A mi papá, por ser mi ejemplo de vida por sus sabios y acertados consejos, por su filosofía de que nada en este mundo es un regalo. Todo debe ser adquirido mediante el aprendizaje y el trabajo duro.

A mi mamá, por su sabiduría, por decirme que todos los caminos son iguales, no nos llevan a ninguna parte. Por lo tanto elige un camino con el corazón!. A mi hermano "Germo" por los buenos momentos y por lo que está por venir.

...A mis compañeros inseparables en estos dos años porque sin su ayuda el proceso hubiera sido más largo, gracias Mariana por dedicarme tantas horas, por tus consejos de vida y obvio de trabajo, Lucero más que agradecida por darle sentido al laboratorio y a los números, Roberto por hacer divertida la estancia en la maestría, Rosa por las buenas charlas, David esas figuras y gráficas que corregiste y Rodrigo presionando hasta el último momento para que terminara el documento.

...A las buenas personas que he conocido en mi paso por esta ciudad por contribuir no sólo en el trabajo sino también que han participado en mi vida, Jaime Whaley el mejor entrenador de CU por enseñarme que el deporte es un estilo de vida, Demian por el buen cine y té, Ángel por aparecer siempre en el momento justo, Emiliano Piña, no me alcanzan los dedos para contar esas experiencias que hemos compartido. De no ser por tí algo pudo haberme ocurrido cuando salía a las 12 am del laboratorio, gracias por tu compañía. Lo demás te lo digo después...

...A los entrañables de la UABC aunque ausentes los llevo siempre en el corazón, Viviana, Citlali, Dante, Mariana, Fede, Minka, gracias por los viejos tiempos.

...A mis tíos por ser un gran ejemplo de vida gracias Hiram, Bety, Tommy, Uli, tío Gordo y los demás ¡ahh! y también a los de parte de mi mamá para que no se enoje...

...A mis abuelas, por sus consejos de abuela Claro y a los abuelos que ya se fueron pero dejaron la sabiduría del viejo roble.

...No puedo dejar de mencionar a todos mis primos por nuestra infancia feliz por todo gracias a la gran familia Salas que son muchos y no caben y a los Badillo también.

...A todos aquellos que andan buscando el camino...

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Situación en México.....	2
1.2	Reúso del agua en México.....	4
2.	OBJETIVO Y ALCANCES.....	7
2.1	Objetivo general	7
2.2	Objetivos particulares.....	7
2.3	Alcances.....	8
3.	MARCO TEÓRICO.....	9
3.1	Acidificación anaerobia.....	9
3.2	Fermentación.....	11
3.3	Hidrólisis de polímeros.....	13
3.3.1	Hidrólisis de carbohidratos.....	13
3.3.2	Hidrólisis de lípidos.....	14
3.3.3	Hidrólisis de proteínas.....	15
3.4	Tipos de fermentaciones.....	15
3.4.1	Fermentación de monosacáridos.....	16
3.4.2	Fermentación alcohólica.....	17
3.4.3	Fermentación butírica.....	18
3.4.4	Fermentación propiónica.....	19
3.4.5	Fermentación de aminoácidos.....	19
3.5	Factores que afectan la producción de AGV.....	20
3.5.1	pH.....	21
3.5.2	Temperatura.....	22
3.5.3	Tiempo de retención celular.....	22
3.5.4	Tiempo de retención hidráulica.....	23
3.5.5	Carga orgánica.....	24
3.5.6	Sólidos suspendidos.....	24
3.5.7	Sustancias tóxicas e inhibidores.....	25
3.5.8	Nutrientes.....	25
3.6	Microbiología.....	26
3.6.1	Microbiología de la fermentación.....	26
3.6.2	Bacterias formadoras de ácido.....	27
3.6.3	Bacterias patógenas en el agua residual.....	28
3.6.4	Reducción de patógenos por el proceso de acidificación anaerobia.....	33
3.7	Reactores discontinuos.....	34
3.7.1	Ciclos de los Reactores Discontinuos.....	35
3.7.2	Microorganismos que intervienen en el proceso.....	36
3.7.3	Ventajas de los reactores discontinuos.....	36
4.	METODOLOGÍA.....	38
4.1	Plan general de experimentación.....	38
4.2	Reactores.....	39

4.3	Inóculo.....	40
4.4	Cálculo de concentraciones y volúmenes de reacción.....	40
4.5	Desarrollo experimental.....	41
4.5.1	Etapa I. Acidificación anaerobia de lodos primarios lavados.....	42
4.5.2	Etapa II. Acidificación anaerobia de lodos primarios pasteurizados.....	43
4.5.3	Etapa III. Acidificación anaerobia de lodos primarios micronizados.....	44
4.6	Variables de respuesta.....	44
4.7	Técnicas analíticas.....	45
4.7.1	Análisis estadístico.....	47
5	RESULTADOS.....	49
5.1	Demanda química de oxígeno (DQO).....	50
5.1.1	Lodos lavados.....	53
5.1.2	Lodos pasteurizados.....	55
5.1.3	Lodos micronizados.....	56
5.2	Sólidos (como masa seca).....	58
5.2.1	Lodos lavados.....	60
5.2.2	Lodos pasteurizados.....	61
5.2.3	Lodos micronizados.....	62
5.3	Relación DQO suspendida y SST entre pretratamientos.....	64
5.4	Ácidos grasos volátiles y pH.....	65
5.4.1	Lodos lavados.....	68
5.4.2	Lodos pasteurizados.....	71
5.4.3	Lodos micronizados.....	73
5.5	Determinación de microorganismos.....	76
5.6	Análisis estadístico.....	79
5.6.1	Demanda química de oxígeno total, disuelta y suspendida.....	80
5.6.2	Sólidos suspendidos totales, disueltos y volátiles.....	82
5.6.3	Comparación entre DQOs y SST del sustrato.....	84
5.6.4	Ácidos grasos volátiles.....	84
5.6.5	Remoción de enterococos fecales.....	85
6	CONCLUSIONES.....	86
7	BIBLIOGRAFIA.....	88
	ANEXO I.....	94
	ANEXO II.....	99

LISTA DE TABLAS

1. INTRODUCCIÓN	
1.1. Clasificación de la disponibilidad del agua SEMARNAT (2007).....	2
3. MARCO TEÓRICO	
3.1. Tipo de microorganismos patógenos presentes en aguas residuales (Solomon <i>et al.</i> , 1998).....	30
3.2. Dosis infectiva y probabilidad de infección de microorganismos entéricos (USEPA, 1995, Crook, 1998).....	30
3.3. Efecto de las variaciones propias de un reactor discontinuo. Fuente: (Wilderer <i>et al.</i> , 2001).....	37
4. METODOLOGÍA	
4.1. Características de lodos e inóculo utilizados en la fase I de experimentación: lodos primarios solamente lavados.....	43
4.2. Características de lodos utilizados en la etapa II de experimentación: lodos primarios lavados pasteurizados.....	44
4.3. Características de lodos utilizados en la etapa III de experimentación: lodos primarios lavados micronizados.....	44
4.4. Técnicas analíticas para medición de parámetros.....	46
5. RESULTADOS	
5.1. Valores de las pendientes de DQO total, disuelta y suspendida para los tres pretratamientos (ver tablas 1, 2 y 3 del Anexo I y figuras 6.1 y 6.2).....	51
5.2. Comparación múltiple de medias de DQOd, DQOt y DQOs en lodos lavados....	54
5.3. Comparación múltiple de medias de DQOd, DQOt y DQOs en lodos pasteurizados.....	56
5.4. Comparación múltiple de medias de DQOd, DQOt y DQOs en lodos micronizados.....	57
5.5. Valores de las pendientes de SST, SDT y SSV en los tres pretratamientos (ver tablas 1,2 y 3 del Anexo I y figuras 6.3 y 6.4).....	60
5.6. Comparación múltiple de medias de SST, SDT y SSV en lodos lavados.....	61
5.7. Comparación múltiple de medias de SST, SDT y SSV en lodos pasteurizados.....	63
5.8. Comparación múltiple de medias de SST, SDT y SSV en lodos micronizados	64
5.9. Valores de ácidos grasos volátiles en los experimentos (Acé=acético, Pro=propiónico, But=butírico. Todos los valores están dados como DQO).....	66
5.10. Comparación múltiple de medias de AGV en lodos lavados.....	71
5.11. Comparación múltiple de medias de AGV en lodos pasteurizados.....	73
5.12. Comparación múltiple de medias de AGV en lodos micronizados.....	74
5.13. Valores de los análisis microbiológicos de enterococos fecales a lo largo del experimento en los tres pretratamientos	78
5.14. Comparación de las medias de DQOt entre tratamientos.....	81
5.15. Diferencias significativas entre tratamientos para DQOt.....	81
5.16. Comparación de las medias de DQOd entre tratamientos.....	81
5.17. Diferencias significativas entre tratamientos para DQOd.....	81
5.18. Comparación de las medias de DQOs entre tratamientos.....	82
5.19. Diferencias significativas entre tratamientos para DQOs.....	82

5.20. Comparación de las medias de SST entre tratamientos.....	82
5.21. Diferencias significativas entre tratamientos.....	83
5.22. Comparación de las medias de SDT entre tratamientos.....	83
5.23. Diferencias significativas entre tratamientos.....	83
5.24. Comparación de las medias de SSV entre tratamientos.....	83
5.25. Diferencias significativas entre tratamientos.....	84
5.26. Comparación de las medias de DQOd/SST de sustrato entre tratamientos.....	84
5.27. Diferencias significativas entre tratamientos.....	84
5.28. Comparación de las medias de AGV entre tratamientos.....	85
5.29. Diferencias significativas entre tratamientos.....	85
5.30. Comparación de las medias del porcentaje de remoción entre tratamientos.....	85
5.31. Diferencias significativas entre tratamientos.....	85

LISTA DE FIGURAS

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Posibles rutas de degradación del agua residual (Modificado González-Martínez, 2007).....	11
3.2. Producción de AGV durante la degradación de la materia orgánica (Angelidaki et al., 1999, modificado).....	14
3.3. Fermentaciones más importantes en el agua residual (Obtenido de Schlegel, 1991).....	16
3.4. Simplificación de las rutas metabólicas de la degradación de la glucosa por bacterias acidogénicas (Obtenido de Mosey, 1993).....	17
3.5. Reacciones de la fermentación alcohólica (Schlegel, 1991).....	18
3.6. Géneros de Bacterias que participan en la formación de AGV durante la digestión anaerobia de aguas residuales (Anderson et al., 2003, modificado).....	29

4. METODOLOGÍA

4.1. Unidades experimentales (matraz Erlenmeyer de 250 ml adaptado).....	40
--	----

5. RESULTADOS

5.1. Comportamiento de la DQO disuelta en los tres pretratamientos.....	52
5.2. Comportamiento de la DQO suspendida en los tres pretratamientos.....	52
5.3. Valores de SST para los tres pretratamientos.....	59
5.4. Valores de SDT para los tres pretratamientos.....	59
5.5. Relación de DQO suspendida (mg/l) con respecto a SST (mg/l) en los tres pretratamientos y en cada volumen	65
5.6. Relación entre DQO disuelta y producción total de AGV en el pretratamiento de lodos lavados.....	69
5.7. Producción de AGV en lodos lavados	70
5.8. Relación entre DQO disuelta y producción total de AGV en el pretratamiento de lodos pasteurizados.....	71
5.9. Producción de AGV en los volumen de 50, 100 y 150 ml en lodos pasteurizados.....	72
5.10. Relación entre DQO disuelta y producción total de AGV	74
5.11. Producción de AGV en lodos micronizados.....	75
5.12. Reducción en el número de colonias de enterococos fecales en el pretratamiento de lodos lavados volumen de 150 ml.....	78
5.13. Reducción en el número de colonias de enterococos fecales en una muestra testigo	78

RESUMEN

El proceso de acidificación en el agua residual produce una transformación de la materia orgánica. Con el fin de mejorar la producción de biogás y la recuperación de energía se ha estudiado el efecto de pretratamientos de lodos primarios para modificar las características físicas y químicas con la intención de obtener una mayor producción de AGV. Para determinar la eficiencia de solubilización de sustancias contenidas en lodos primarios se aplicaron tres pretratamientos diferentes.

Se utilizaron lodos primarios como sustrato y microorganismos adaptados como inóculo. Ambos se lavaron con el fin de eliminar el material disuelto. A los lodos primarios se les aplicaron tres pretratamientos: únicamente lavados, pasteurizados y micronizados, y se ajustaron concentraciones de SST de aproximadamente 3000 mg SST/l (contenidos en volúmenes de 150, 100 y 50 ml) para el sustrato y 1500 mg SST/l de inóculo (contenidos en 50 ml). Como unidades experimentales se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250 ml adaptados para mantener condiciones anaerobias, la temperatura se mantuvo en $20 \pm 1^\circ\text{C}$, el tiempo de reacción fue de cinco días y diariamente se realizaron determinaciones de las variables de respuesta tales como demanda química de oxígeno total, disuelta y suspendida (DQOt, DQOd y DQOs), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos disueltos totales SDT y sólidos suspendidos volátiles (SSV), ácidos grasos volátiles (AGV) y enterococos fecales las determinaciones analíticas se realizaron con base en los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales.

En los tres pretratamientos utilizados la DQOt y DQOs disminuyen en una tasa similar. Hay producción de DQOd y los valores más altos se encontraron en los lodos pasteurizados (4.3 mgDQO/l·d en testigo, 5.0 mgDQO/l·d en 50 ml, 4.7 mgDQO/l·d en 100 ml y 9.6 mgDQO/l·d en 150 ml). En los tres pretratamientos el aumento de DQOd es proporcional al volumen de sustrato presente. Los SST disminuyen en todos los casos, las mayores tasas de remoción se presentan en los tratamientos de pasteurizado y micronizado debido a que el contenido de sólidos es mayor con respecto a lodos solamente lavados. De manera particular en cada pretratamiento las tasas de remoción en SST son proporcionales a la cantidad de sustrato. También se presentó un aumento en la cantidad de SSV y SDT por el proceso de hidrólisis, producción de AGV y material celular, las tasas de aumento son proporcionales al volumen y no se encontraron diferencias de la producción en estos sólidos entre los pretratamientos. En cuanto a la producción de AGV la especie predominante fue el ácido acético, seguido por el ácido propiónico y finalmente por el butírico, en cada uno de los pretratamientos el volumen donde se presentó la mayor producción de AGV fue el de 150 ml, seguido por el de 100 ml, 50 ml y finalmente en la muestra testigo. Estadísticamente no se encontraron diferencias en la producción de AGV con respecto a los pretratamientos. Las condiciones de experimentación causaron reducción de enterococos fecales. En el caso de los lodos solamente lavados hubo un decremento de un orden de magnitud ($1 \log_{10}$) en los volúmenes de 100 ml, 50 ml y testigo, en la muestra de 150 ml la remoción fue de dos unidades logarítmicas ($2 \log_{10}$), equivalente a <99% de remoción. En los volúmenes de 100 ml, 50 ml y testigo la remoción fue de una unidad logarítmica. En los pretratamientos de lodos pasteurizados y micronizados la remoción es inferior al 90% para las diferentes concentraciones de lodos primarios en los cinco días de experimentación. El pH disminuyó una unidad a lo largo del experimento de 7 a 6 en todos los pretratamientos lo que indica la capacidad autorreguladora del sistema.

Palabras clave: *acidificación, sólidos, producción AGV*

ABSTRACT

The acidification process in wastewater produces a transformation of the organic material. To improve biogas production and energy recovery the effect of pretreatment of primary sludge has been studied. This pretreatment modifies the physical and chemical characteristics with the intention of obtaining a greater production of volatile fatty acids (VFA). In order to determine the solubilization efficiency of substances contained in primary sludge three different pretreatments were applied.

Primary sludge was used as substrate and previously adapted sludge was used as inoculum and both were “washed” to remove dissolved substances before every experiment. Three pretreatments were applied to the primary sludge: washing, pasteurization and micronization. Primary sludge solids were adjusted to about 3000 mgTSS/l and distributed in different volumes to achieve different concentrations (50, 100, and 150 ml) and 1500 mgTSS/l for the inoculum using a volume of 50 ml in every experiment. Experimental units were 250 ml Erlenmeyer adapted flasks to maintain anaerobic conditions. Temperature was maintained at 20 ± 1 °C and the reaction time was five days in all experiments. Daily determinations were made for total, dissolved and suspended COD (COD_t, COD_d and COD_s), total and volatile suspended solids (TSS, VSS) and total dissolved solids (TDS), VFA and fecal enterococci.

It was noted that in the three pretreatments used, the COD_t and the COD_s decreased at a similar rate. COD_d production was observed and the highest values were found in pasteurized sludge (4.3 mgDQO/l·d in the control flask, 5.0 mgDQO/l·d in 50 ml, 4.7 mgDQO/l·d in 100 ml and 9.6 mgDQO/l·d in 150 ml). In all three pretreatments the COD_d increase is proportional to the amount of substrate present. The TSS decreased in all cases and the highest removal rates were observed in the pasteurized and micronized primary sludge because the solids content was higher compared to the washed sludge. In each pretreatment the TSS removal rates are proportional to the amount of substrate.

Increasing VSS and TDS were noted due to the hydrolysis process. VFA production, cellular material, and growth rates are proportional to the primary sludge concentration. No differences in solids production were observed among pretreatments.

The predominant VFA was acetic acid, followed by propionic and finally by butyric acid. The highest VFA production was for the volume of 150 ml, followed by the 100 ml, 50 ml and last in the control flask. Statistically significant differences were not found in the production of VFA with respect to the different pretreatment procedures. The experimental conditions resulted in a reduction of fecal enterococci. In the case of the washed sludge a decrease of one order of magnitude ($1 \log_{10}$) was observed for the volumes of 100 ml, 50 ml and the control. In the sample of 150 ml the removal was of two logarithmic units ($2 \log_{10}$) equivalent to a <99% removal. In the volumes of 100 ml, 50 ml and the control the removal observed was of one logarithmic unit. In the pre-pasteurized and micronized sludge the enterococci removal was less than 90% for different concentrations of primary sludge in the five days of testing. The pH decreased throughout the experiment from 7 to 6 in all the experiments performed.

Keywords: *acidification, solids, VFA production*

1. INTRODUCCIÓN

La escasez de agua dulce es cada vez mayor debido al crecimiento demográfico, la urbanización y, probablemente, a los cambios climáticos, lo que ha dado lugar al uso creciente de aguas residuales crudas para la agricultura, la acuicultura, y la indeseable recarga de aguas subterráneas (Stanley, 2007).

En México, de acuerdo con documentos de CONAGUA (2008) se estima que casi el 37% (28 341 hm³/año) del volumen total concesionado para consumo es de origen subterráneo. A partir de la década de los setenta el número de acuíferos sobreexplotados ha aumentado sustancialmente, de 32 en 1975 a 36 en 1981, 80 en 1985, 97 en 2001, 102 en 2003 y 101 en el 2007, lo que representa el 15% de los 653 acuíferos en que se ha dividido el país. De éstos se extrae casi el 60% del agua subterránea para todos los usos. El mayor uso es el agrícola, con el 77% del volumen concesionado para uso consuntivo, seguido por el uso público (14%) y la industria con 9%. El 63% del agua utilizada en el país proviene de fuentes superficiales (ríos, arroyos y lagos), mientras que el 37% restante proviene de fuentes subterráneas (acuíferos). En lo que respecta al uso en centrales hidroeléctricas, se utilizaron en el país 123 mil millones de metros cúbicos de agua en 2007; para este uso la misma agua se turbinó y se contabiliza varias veces, en todas las centrales del país.

1.1 Situación en México

Para poner en perspectiva la disponibilidad promedio de agua en México un criterio es clasificar la disponibilidad del agua para la cual la SEMARNAT (2008) ha establecido la siguiente clasificación (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Clasificación de la disponibilidad del agua SEMARNAT (2008)

Volumen de agua (m ³ /hab/año)	Categoría de disponibilidad
<1,000	Extremadamente baja
1,000-2,000	Muy baja
2,000-5,000	Baja*
5,000-10,000	Media
10,000-20,000	Alta
>20,000	Muy alta

*Peligrosa en años de precipitación escasa

La disponibilidad de agua generalmente se evalúa en términos de volumen de agua por habitante. Se reporta que, para la cifra de la proyección de población para 2004 (105.9 millones de habitantes), correspondieron 4 482 m³ anuales por habitante, volumen que corresponde, de acuerdo con la Tabla 1.1, a una categoría de disponibilidad baja. Para poner en contexto esta cifra, en 1910 la disponibilidad promedio era de 31,000 m³, para 1950 ya solo era de un poco más de 18,000 m³ y en 1970 había caído por debajo de los 10,000 m³. Cabe señalar que esta reducción se explica fundamentalmente por el crecimiento de la población y no por la disminución de la cantidad de lluvia recibida por el país en esos años. En 2007 la disponibilidad per cápita fue de 4 mil 312 m² anuales, considerada como disponibilidad baja, se estima que para el 2010 de acuerdo con las proyecciones que realiza el Consejo Nacional de Población, CONAPO, sobre la población del país, la disponibilidad de agua se reducirá a 4 271 m³ y para 2030 se limitará a 3 783 m³/hab/año. Sin embargo, diferentes regiones del país presentan diferentes disponibilidades que alcanzan los niveles extremos referidos en la Tabla 1.1, es decir, algunas presentan una disponibilidad extremadamente baja (como en el Valle de México), mientras que en otras es muy alta (región de la frontera sur). Es evidente también que el crecimiento poblacional y el desarrollo industrial han producido efectos que degradan el medio ambiente y deterioran sus recursos (SEMARNAT, 2008). Asimismo en reportes de la CONAGUA (2008), indican que de seguir con las tendencias en el año 2030 la situación del agua en México se tornará más crítica.

Por otro lado, la contaminación del agua ha dado lugar a mayores riesgos en la salud y a un deterioro de la calidad de vida en la población. Un problema cada vez más común es el uso del agua residual para riego debido a que el rendimiento de los cultivos es superior, ya que las aguas residuales contienen nutrientes para el desarrollo de las plantas. Sin embargo, existe el riesgo de que el riego con aguas residuales facilite la transmisión de enfermedades relacionadas con nemátodos y bacterias a consumidores y agricultores. Estos impactos en la salud se pueden minimizar cuando se implementan buenas prácticas de manejo (OMS, 2006).

Los problemas de salud pública vinculados con el deterioro del agua y deficiencias sanitarias figuran entre las principales causas de morbilidad y muerte prematura, particularmente en la población infantil. A nivel mundial este segmento es el más afectado, representando 80% de las muertes relacionadas con este factor. Como sucede en otros países en vías de desarrollo, en el caso de México las enfermedades diarreicas agudas (EDA) son una de las principales causas de morbilidad infantil entre los grupos de menores ingresos (Bern *et al.*, 1992).

En los países en desarrollo es todavía poco común que el agua residual reciba tratamiento. Entre 85 y 95% del agua residual en el mundo es descargada directamente a los ríos, lagos y océanos sin recibir ningún tratamiento previo (Vörösmarty *et al.*, 2005).

México trató en 2007 cerca del 25.3% del caudal generado, considerando ambos tipos de descargas: municipales (32.6% del total municipal generado) e industriales (15.8%). Aunque la cantidad de agua que se trata aún resulta baja, está por encima del promedio de América Latina, que apenas llega a 13%. Como es evidente, la mayoría de los cuerpos de agua superficiales del país reciben continuamente descargas residuales sin tratamiento que ocasionan su contaminación y, en consecuencia, afectaciones a la salud de la población y de las especies que los habitan. No debe olvidarse que la reducción de la calidad del agua de los cuerpos superficiales y subterráneos agrava aún más la escasez del líquido, ya que no puede ser empleado, en muchas ocasiones, sin tratamiento previo (SEMARNAT, 2008).

1.2 Reúso del agua en México

El agua es un recurso valioso y su demanda aumentará en la medida que decrezca la disponibilidad y se incremente la necesidad de agua. Actualmente el reúso de agua en el país se considera como el de mayor magnitud de América Latina. En México se reúsan 150 m³/s de los cuales el 70% corresponden a agua de origen municipal y el 30% a no municipal. El reúso de agua para la agricultura es una práctica conocida en el país, sin embargo, en la industria, servicios municipales, usos secundarios y recarga de acuíferos, se practica hoy en pequeña proporción (CONAGUA, 2008). Esto constituye una alternativa de gran relevancia principalmente en los estados áridos y semiáridos del país en donde el mayor problema es la escasez de este recurso. Del volumen total de agua residual, tan solo el 32.6% es sometido algún tipo de tratamiento, mientras que el resto se aplica en forma directa (SEMARNAT, 2008).

La reutilización de agua para uso agrícola está basada en aprovechar los nutrientes contenidos en el agua para el desarrollo de los cultivos, también este riego preserva la fertilidad y la estructura de los suelos. Además, el interés por la reutilización de agua se centra en las ventajas que representa: es un aporte continuo de nutrientes para las plantas ya que el contenido de nutrientes del agua residual (N, P, K y microelementos) representan un ahorro en gastos de fertilización. Sin embargo el uso de aguas residuales esta asociado con riesgos sanitarios, principalmente de salud pública, por el contacto, la inhalación o la ingesta de agua contaminada. Se estima que solo el 10% de las enfermedades de origen hídrico se relacionan con agentes químicos, mientras que el 90% restante se debe a agentes microbianos. Actualmente se reconoce que el agua contaminada genera 80% de las enfermedades en los países en desarrollo (Carabias y Landa, 2005).

A nivel mundial las enfermedades microbianas de origen hídrico, como las diarreicas, se consideran las de mayor importancia en cuestión de salud pública debido a su alta incidencia. En los últimos 10 años el porcentaje de muertes atribuibles a estas causas en menores de 5 años ha disminuido considerablemente (más del 85%). Sin embargo, en municipios y localidades marginadas una de cada cuatro defunciones en menores de 5 años es causada por alguna enfermedad diarreica (Secretaría de Salud, 2005).

Lo anterior ha planteado un reto tecnológico importante para el desarrollo de metodologías seguras en la higienización de aguas residuales, así como la disminución de costos en este proceso.

De acuerdo con el texto “Estadísticas del agua en México, 2005” de la Comisión Nacional del Agua, en el país se producen aproximadamente 513 m³/s de agua residual compuestas por 255 m³/s de las descargas municipales y 258 m³/s de las descargas industriales. El sistema de alcantarillado recibe aproximadamente el 85% (207 m³/s) de estas descargas y sólo una pequeña fracción de éstas se trata adecuadamente. Para el tratamiento de estos efluentes se cuenta a nivel nacional con 1,182 plantas de tratamiento de aguas residuales municipales y 1,579 plantas de tratamiento de aguas residuales industriales en operación.

De acuerdo con los principios que rigen su funcionamiento se pueden identificar tres métodos de tratamiento: físicos químicos y biológicos y aunque hoy en día existen casos particulares que sería difícil catalogar en esta clasificación de cualquier forma es aceptada ampliamente (Metcalf & Eddy, 2004). Para efectos prácticos y de manera general, la diferenciación de tales métodos conviene con el objetivo de comprender la correlación de procesos.

Dentro de los métodos biológicos para el tratamiento de agua residual se busca la degradación de contaminantes por medio de la actividad biológica de microorganismos; esto quiere decir que una comunidad microbiana es la encargada de remover los contaminantes del agua al usarlos como alimento. El tratamiento biológico se usa esencialmente para eliminar las sustancias orgánicas biodegradables (coloidales o disueltas) presentes en el agua residual. Básicamente estas sustancias se convierten en gases que pueden escapar a la atmósfera y en tejido celular que puede separarse del agua por sedimentación (Metcalf & Eddy, 2004).

Los procesos biológicos realizan la coagulación y remoción de sólidos coloidales no sedimentables y la estabilización de materia orgánica por medio de la actividad de microorganismos. Para que se pueda emplear un tratamiento biológico es necesaria la presencia de poblaciones mixtas de microorganismos activos, sustrato, oxígeno, nutrientes y mantener condiciones ambientales favorables como la temperatura, el pH, tiempo de contacto suficiente, etc. Debido a que los microorganismos pueden presentar diferentes rutas

metabólicas estos sistemas pueden dividirse en dos grandes grupos de procesos: los procesos aerobios que se realizan en presencia de oxígeno y los procesos anaerobios que suceden en ausencia de oxígeno.

Ciertas características de la digestión anaerobia la hacen particularmente atractiva en el contexto actual, donde el uso eficiente de recursos y la necesidad de integrar mejor los flujos de materia y energía, son elementos importantes en el llamado desarrollo sustentable (Noyola, 1996).

2. OBJETIVO Y ALCANCES

2.1 Objetivo

El principal objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de reducir la concentración de sólidos en suspensión de un agua residual utilizando un proceso biológico para acidificación anaerobia.

3.2 Objetivos particulares

1. Determinar el grado de transferencia de los sólidos suspendidos en sólidos disueltos.
2. Relacionar el cambio de la demanda química de oxígeno total con el cambio de los sólidos suspendidos totales.
3. Analizar el efecto de la concentración de sólidos del AR sobre la capacidad de reducción de sólidos suspendidos y producción de sólidos disueltos.
4. Relacionar la producción de sólidos disueltos con los diferentes ácidos grasos producidos.
5. Relacionar la reducción de sólidos con la reducción de organismos indicadores de contaminación.

2.2 Alcances

Los alcances fijados para este proyecto son:

1. Determinar el grado de acidificación discriminando los ácidos provenientes de sustancias solubles y suspendidas.
2. Utilizar reactores a nivel laboratorio alimentados con lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales Cerro de la Estrella ubicada en la delegación Iztapalapa.
3. Se analizarán concentraciones microorganismos indicadores de patogenicidad (enterococos fecales y *Salmonella spp.*).
4. Se dará énfasis a las determinaciones de los compuestos que forman los sólidos contenidos en las aguas residuales crudas y las diferentes formas de ser hidrolizados

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Acidificación anaerobia

Dentro de los sistemas de tratamiento biológico más utilizados se encuentra el proceso de digestión anaerobia. La digestión de la materia orgánica por vía anaerobia tiene varias fases: la primera etapa se caracteriza por la hidrólisis de sólidos degradables a moléculas pequeñas por medio de microorganismos hidrolíticos mientras que en la segunda etapa las bacterias formadoras de ácido utilizan los productos intermedios solubles como sustrato para obtener energía y crecer, obteniendo como productos ácidos grasos volátiles (AGV) y material celular.

A continuación se describe un proceso de las posibles transformaciones del agua residual, es decir, la transformación de los contaminantes por medio de bacterias acidogénicas principalmente bacterias facultativas en condiciones anaerobias. Como se puede observar en la Figura 3.1 el agua residual contiene material suspendido y material disuelto el cual al ser sedimentado se separa en sólidos suspendidos y sólidos disueltos. Según Koppe (1999), destaca la clasificación de las partículas suspendidas por su grado de dispersión, o sea por su diámetro promedio: partículas macroscópicas tamaño mayor que 10^{-2} m (arena, restos de comida), dispersa gruesa, que poseen diámetros entre 10^{-2} y 10^{-5} m (arcilla, glóbulos

sanguíneos), dispersa fina entre 10^{-5} y 10^{-7} m (bacterias, virus) y material coloidal que comprende sustancias con tamaños entre 10^{-7} y 10^{-9} (macromoléculas esféricas). Por otro lado Ekama et al., (2007), clasifican la DQO total del material orgánico en dos grupos principales: la DQO del material orgánico útil para el metabolismo celular y la DQO de material orgánico no aprovechable por microorganismos (Figura 3.1).

La clasificación de la materia orgánica, medida como DQO, está basada en la filtración a través de un tamaño de poro de $0.45 \mu\text{m}$ con el fin de separar las fracciones disueltas y suspendidas (von Münch *et al.*, 1999a). De acuerdo con la clasificación por tamaño de poro de $0.45 \mu\text{m}$, cuando se realice el análisis de reacciones de acidogénesis responsables de disminuir las formas de DQO suspendida y DQO disuelta se debe considerar que estas fracciones (suspendida y disuelta) pueden contener sólidos coloidales.

Las fracciones coloidales incluidas en la denominada DQO suspendida (diferencia entre la DQO total y DQO disuelta), así como la fracción disuelta compuesta por sustancias de mayor tamaño tales como polímeros de carbohidratos, p.e. almidones, son utilizadas por los microorganismos en reacciones de hidrólisis a nivel extracelular. Asimismo la fracción de DQO formada por el material orgánico en suspensión y producto del decaimiento celular es removida por los microorganismos que participan en reacciones enzimáticas de hidrólisis ya que estos la utilizan como sustrato (Figura 3.1). Los productos de estas reacciones de hidrólisis quedan disponibles como sustrato de fácil asimilación para los microorganismos presentes en el medio (von Münch *et al.*, 1999b).

La DQO disuelta disminuye debido a que los microorganismos utilizan este material, que no requiere ser hidrolizado, para su transporte al interior de la célula y con ello cubrir requerimientos de energía y además sintetizar nuevos componentes celulares. El material fácilmente biodegradable incluye a la fracción coloidal, material disuelto producto de la hidrólisis extracelular del sustrato en suspensión, material soluble producto de la hidrólisis de componentes celulares de microorganismos en decadencia, p.e. pared celular. Este material soluble es utilizado como sustrato por microorganismos productores de AGV que lo remueven del medio y producen ácidos grasos volátiles que es determinado como DQO (Wentzel y Ekama, 1997).

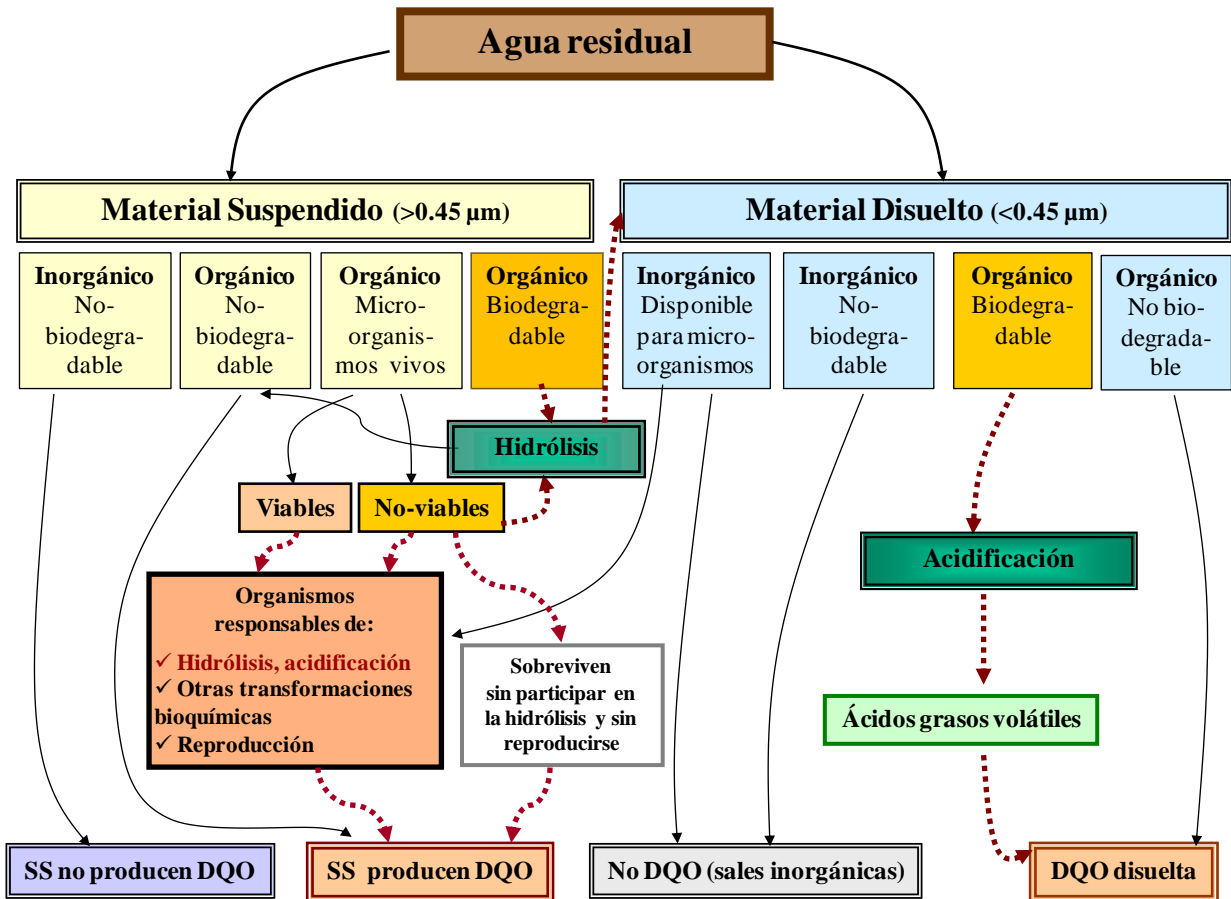


Figura 3.1. Posibles rutas de degradación del agua residual (Modificado González-Martínez, 2008).

Este trabajo se enfocará en explicar que ocurre con el material suspendido orgánico biodegradable y que sucede con los microorganismos indicadores de contaminación, si forman parte de la fracción viable o no viable, lo anterior se encuentra indicado en la Figura 3.1 con línea roja punteada.

3.2 Fermentación

En los procesos biológicos la materia orgánica contaminante es utilizada como alimento por los microorganismos presentes en tanques o reactores. De esta forma pueden obtener la energía necesaria para reproducirse y llevar a cabo sus funciones vitales. Con esto los compuestos contaminantes son transformados a nuevas células y otros productos que pueden ser más fácilmente separados del agua.

En el tratamiento anaerobio de agua residual la fermentación anaerobia se utiliza para la hidrólisis de moléculas de mayor tamaño a otras solubles como los ácidos grasos volátiles (AGV).

Los procesos de fermentación, en sentido estricto, son aquellos procesos de obtención de energía en los que el hidrógeno, producto de la oxidación de los compuestos de carbono, pasa finalmente a un receptor orgánico de electrones (Cuevas *et al.*, 1998). En este proceso la célula produce, a partir de un sustrato orgánico, moléculas que servirán a la vez de donadores y receptores finales de hidrógeno. Durante el primer paso de esta oxidación los átomos de hidrógeno removidos son transferidos a una molécula transportadora de electrones NAD^+ , convirtiéndolos posteriormente a NADH_2 , puede ser transferida en condiciones anaerobias a distintos productos intermediarios normales o algunos receptores orgánicos de hidrógeno especialmente sintetizados para eliminar hidrógeno (para regenerar el NAD), lo cual provoca que los microorganismos excreten compuestos orgánicos reducidos al exterior, los cuales se acumulan en el medio (Chung *et al.*, 2008).

En condiciones anaerobias muchos tipos de bacterias pueden efectuar un gran número de fermentaciones debido a que los hidrógenos liberados sirven para reducir un sustrato orgánico. Los procesos de fermentación anaerobia que se utilizan para la producción de AGV a partir de agua residual, involucran una serie de reacciones bioquímicas donde la materia orgánica es transformada a productos tales como AGV, lactato, etanol, CO_2 e H_2 , provenientes de las diversas etapas que ocurren simultáneamente en el reactor (Chu *et al.*, 1996), lo cual se puede observar en la Figura 3.2.

En la fermentación de los hidratos de carbono y de otros sustratos aparecen bien aisladamente o mezclados, los siguientes productos: etanol, lactato, propionato, formiato, butirato, succinato, capronato, acetato, n-butanol, 2,3-butanodiol, acetona, 2-propanol, anhídrido carbónico e hidrogeno molecular. Según el producto de excreción prioritario en cantidad, o más característico, se diferencia entre fermentación alcohólica, láctica, propiónica, acética, butírica y formica (Schlegel, 1991).

3.3 Hidrólisis de polímeros

La composición orgánica del agua residual típicamente contiene 40-60% proteínas, 25-50% carbohidratos y 15% lípidos (Wilson *et al.*, 2009). Dentro de estas categorías generales existen numerosos compuestos macromoleculares, incluyendo entre otros, proteínas y polipéptidos, polisacáridos, lipopolisacáridos, lipoproteínas. Estas macromoléculas mayores a 1000 uma (unidades de masa atómica) constituyen del 50 al 60% del Carbono Orgánico Disuelto (COD) en el agua residual.

La hidrólisis de macromoléculas, en monómeros o polímeros de menor tamaño es realizada gracias a las enzimas extracelulares y ocurre fuera de la pared celular, sin la hidrólisis las moléculas de alto peso molecular no pueden ser absorbidas ni utilizadas por las bacterias como fuente de carbón y energía (Guang *et al.*, 2008).

Una vez realizada la hidrólisis, estos productos son tomados por las bacterias acidogénicas para ser fermentados y así obtener AGV (Figura 3.2).

La hidrólisis es considerada como la etapa limitante por la complejidad de las moléculas (Yehuda *et al.*, 2000). Las partículas grandes con alta proporción área/volumen son hidrolizadas más lentamente que las partículas pequeñas (Mottet *et al.*, 2009). Figura 3.2 muestra los productos obtenidos a partir de la hidrólisis de polímeros.

Después de que se lleva a cabo la hidrólisis los productos como, aminoácidos, péptido, monosacáridos, ácidos grasos, fenoles, son tomados por las bacterias para ser fermentados y así obtener ácidos grasos volátiles.

3.3.1 Hidrólisis de carbohidratos

Los principales componentes de este grupo son la lignina, la hemicelulosa y la celulosa, la cual ha sido objeto de varios estudios. La lignina es un material altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, hemicelulosa y de otros polímeros, convirtiéndose su degradación en el proceso limitante de la velocidad de hidrólisis y por tanto de la degradación anaerobia de determinados sustratos. La hidrólisis de la lignina produce componentes aromáticos homocíclicos y las bacterias anaerobias son capaces de utilizar estos compuestos aromáticos en varios procesos de

aprovechamiento energético (fotosíntesis anoxigénica, desnitrificación y reducción de sulfato), entre ellos fermentación (Archer *et al.*, 1990; Schink *et al.*, 1992). Dentro de los sistemas anaerobios para degradar la celulosa, la *Clostridium thermocellum* ha sido la más estudiada. La hidrólisis de la celulosa ocurre después de que la enzima ha absorbido la celulosa. *C. thermocellum* produce compuestos de bajo peso molecular insolubles en agua, sustancias de afinidad amarilla las cuales promueven que se ligen las enzimas celulósicas a celulosa (Ren *et al.*, 1997).

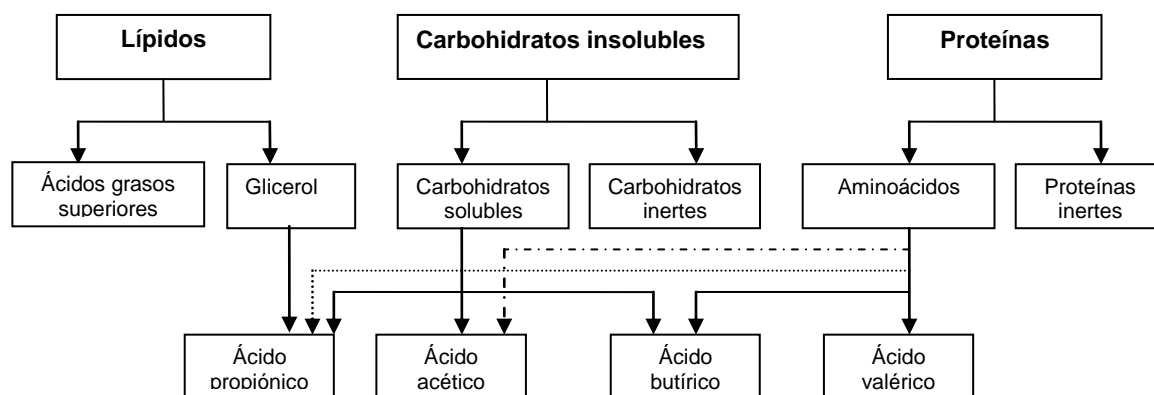


Figura 3.2. Producción de AGV durante la degradación de la materia orgánica (Angelidaki *et al.*, 1999, modificado).

3.3.2 Hidrólisis de lípidos

La degradación de lípidos en un medio anaerobio consiste en una ruptura inicial de las grasas por un grupo de enzimas hidrolíticas (lipasas), en ácidos grasos de cadena larga (esteárico, palmítico, oléico, linoléico, etc.) y moléculas de glicerol o galactasa, por medio de exo o endoenzimas denominadas lipasas excretadas al medio por bacterias lipolíticas. Una molécula de fosfolípidos produce un equivalente de ácido fosfórico, uno de glicerol y dos de ácidos grasos (Anderson *et al.*, 2003). Por otro lado, Gujer y Zehnder (1983) señalan que durante la hidrólisis de lípidos se obtienen principalmente ácidos grasos superiores, de los cuales sólo el 5% contribuyen a la producción de ácidos grasos volátiles.

3.3.3 Hidrólisis de proteínas

Las proteínas son macromoléculas orgánicas de elevado peso molecular constituidas por aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos, la hidrólisis es realizada por enzimas extracelulares (proteasas) en péptidos de cadena corta y aminoácidos. En el agua residual se pueden encontrar de forma soluble e insoluble. Estos productos son rápidamente fermentados a amonio, ácidos grasos y dióxido de carbono. Las bacterias con actividad proteolítica son en su mayoría especies de los géneros *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium* y *Staphylococcus*. La degradación de proteínas es más lenta que la hidrólisis de carbohidratos (Anderson *et al.*, 2003). Los principales ácidos grasos volátiles que se obtienen de la degradación de las proteínas son los ácidos acético, propiónico, butírico y valérico (Angelidaki *et al.*, 1999)

3.4 Tipos de fermentaciones

Se encuentran microorganismos fermentadores en todos aquellos lugares de la naturaleza donde haya compuestos orgánicos y el oxígeno no este presente. Las bacterias capaces de fermentar se encargan en la economía de la naturaleza de las degradaciones iniciales de los biopolímeros que han sido transportados a lugares a los que el oxígeno no tiene ningún acceso. Las bacterias fermentadoras se instauran rápidamente en los hábitats sin oxígeno, siempre que las demás condiciones lo permitan. La celulosa es el polímero más abundante de los sedimentos de lagos y lagunas, así como en biodigestores, y es degradada por fermentación (Schlegel, 1991).

En la fermentación de carbohidratos y 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.

Según el producto prioritario, se nombra a la fermentación como alcohólica, propiónica, acética, butírica, fórmica, láctica. 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, 1991). Los principales ácidos grasos volátiles

(AGV) que se obtienen de la fermentación de anaerobia del agua residual son el ácido acético y propiónico, butírico, valérico y caproico (Figura 3.3).

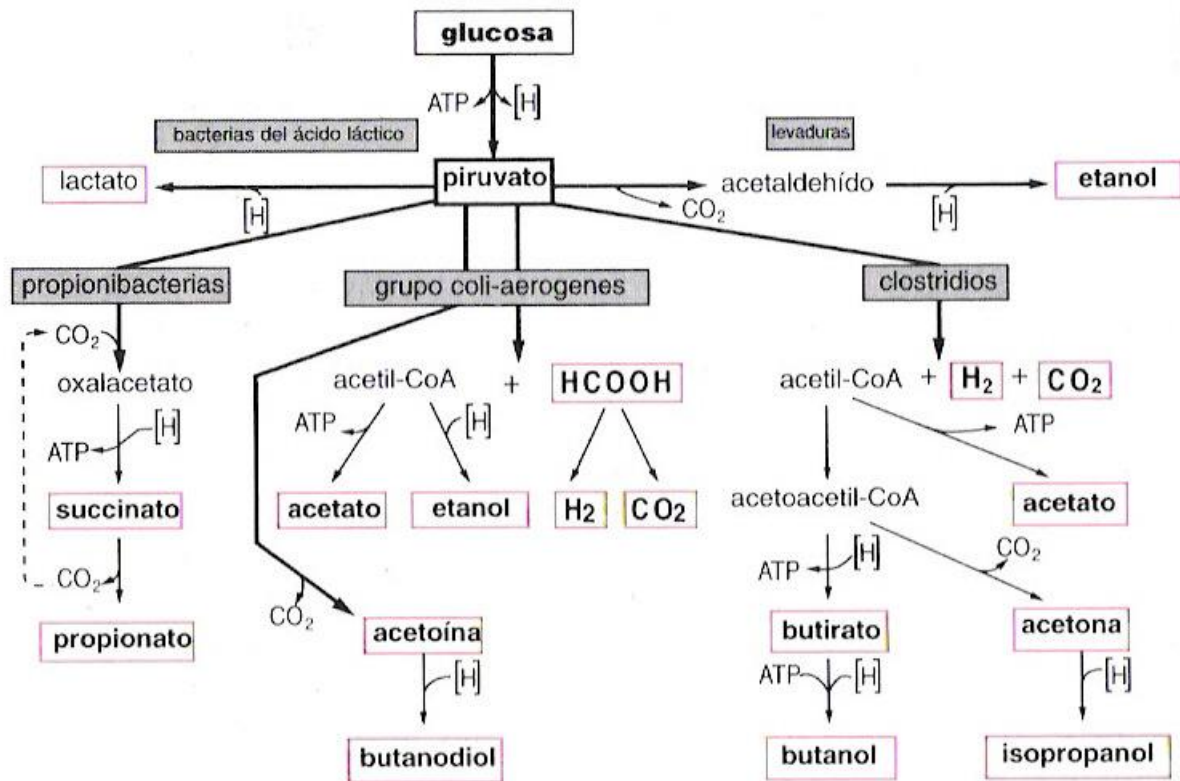


Figura 3.3. Fermentaciones más importantes en el agua residual (Obtenido de Schlegel, 1991).

3.4.1 Fermentación de monosacáridos

Cuando se lleva a cabo una fermentación de monosacáridos (hexosas y pentosas), distintos microorganismos, específicamente bacterias anaerobias estrictas y facultativas, metabolizan el piruvato mediante diferentes vías. A partir de este, según el tipo de microorganismo y las condiciones del medio se forman los diferentes productos regenerando los cofactores oxidados. Los productos más importantes generados en esta etapa son: lactato, propionato, acetato, butanodiol, formiato, isopropanol, e hidrógeno (Soubes, 1994).

La principal ruta metabólica de degradación de glucosa para formar ácidos orgánicos es la de Embden-Meyerhof (Figura 3.4), que tiene como principal intermediario el piruvato (Mosey, 1993). La fermentación de azúcares se realiza por diversos tipos de microorganismos, siguiendo diferentes rutas metabólicas, en función del organismo responsable, y obteniendo productos finales diferentes. Los principales microorganismos son los que producen butírico o butanol, básicamente del género *Clostridium*, que convierten la glucosa y algunos

aminoácidos en ácido butírico, acético, CO_2 e H_2 . La glucosa se convierte en piruvato mediante la ruta Embden-Meyerhof, y el piruvato se desdobra a Acetil-CoA y CO_2 (Guang *et al.*, 2008).

La Acetil-CoA se reduce en los productos de fermentación empleando como transportador de electrones el NADH derivado de las reacciones glucolíticas de la ruta Embden-Meyerhof (Hideaki *et al.*, 2008). Las proporciones de los diversos productos se modifican por la duración y las condiciones de la fermentación, siendo el butírico y el acético los productos mayoritarios si el pH se mantiene alcalino (Madigan *et al.*, 1998).

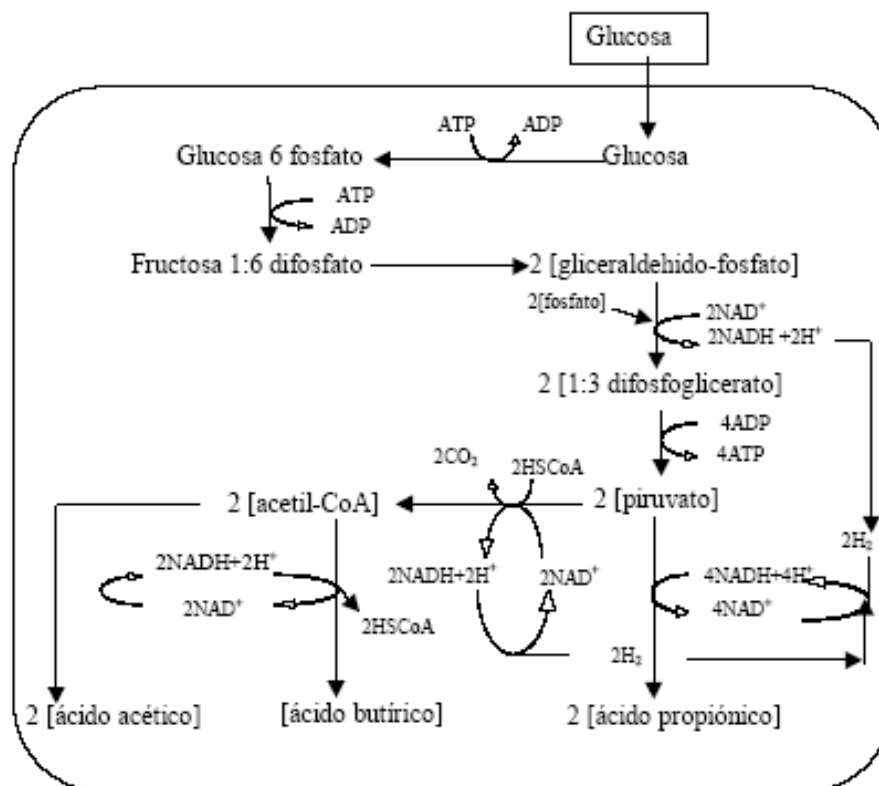


Figura 3.4. Simplificación de las rutas metabólicas de la degradación de la glucosa por bacterias acidogénicas (Obtenido de Mosey, 1993).

3.4.2 Fermentación alcohólica

La fuente de energía más comúnmente utilizada por los microorganismos fermentadores son los sacáridos, el etanol es uno de los productos de la fermentación de los azúcares más abundante entre los microorganismos. Incluso en las plantas y muchos hongos se almacena etanol en condiciones anaeróbicas. Los principales productores de alcohol son levaduras,

sobre todo cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Las levaduras, al igual que la mayoría de los hongos, son organismos de respiración aeróbica; en ausencia de aire fermentan los hidratos de carbono a etanol y anhídrido carbónico. El alcohol aparece también como producto principal o secundario de la fermentación de hexosas o pentosas en muchas bacterias anaeróbicas y aeróbicas facultativas. Existen otras bacterias como Enterobacterias y clostridios que forman etanol como producto secundario a partir de la reducción de acetyl-CoA. El piruvato, como producto de la glucólisis, es descarboxilado y convertido a acetaldehído para ser reducido a etanol el cual 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 (Schlegel, 1991), tal como se muestra en la Figura 3.5.

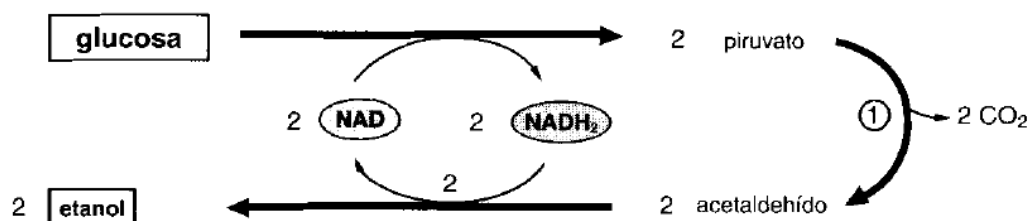


Figura 3.5. Reacciones de la fermentación alcohólica (Schlegel, 1991).

3.4.3 Fermentación butírica

Este tipo de fermentación interviene el bacilo *Clostridium butyricum*, anaerobio y esporógeno. Los productos importantes de este tipo de fermentación son ácido butírico, ácido acético, dióxido de carbono e hidrógeno.

El ácido butírico se produce por condensación de dos moléculas de acetyl CoA en acetoacetato, el cual inmediatamente es reducido a β -hidroxibutirato y posteriormente a butirato (Salle, 1990).

El butirato es el producto de la condensación de dos moléculas de acetylCoA mediante el enzima *tiolasa* hasta acetyl-CoA y su producto de reducción. La degradación de la glucosa produce en cantidades variables butano, butirato, acetona y 2-propanol. En primer lugar se produce ácido butírico y al aumentar la acidificación, aumenta la concentración de la enzima acetato descarboxilasa misma que conduce a la acumulación de acetona y butanol donde existe una estrecha relación, ya que con la descarboxilación del acetato 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 isopropanol como receptores de hidrógeno (Schlegel, 1991).

3.4.4 Fermentación propiónica

La fermentación de ciertos carbohidratos, polialcoholes y ácido láctico, con formación de ácido propiónico, ácido acético y dióxido de carbono, es resultado de la acción de varias especies de microorganismos clasificados dentro del género *Propionibacterium* (Salle, 1990). La formación del propionato a partir del lactato sigue la siguiente ecuación:



La reducción del lactato o del piruvato hasta el propionato sigue una vía que, debido al producto intermediario característico, se denomina vía del metilmalonil-CoA. El piruvato se carboxila con participación de un complejo biotina-anhídrido carbónico mediante la *metilmalonil CoAcarboxitransferasa* con formación de oxalacetato y a continuación se reduce a succinato, pasando por malato y fumarato (Figura 3.4). A continuación el succinato se transforma mediante una *CoA-transferasa (succinil-CoA propionato-CoA-transferasa)* en su CoA derivado, y así queda activado. El succinil-CoA se transforma con participación del coenzima B12 (cianocobalamina) y a través de la *metilmalonil-CoA-mutasa* a metilmalonil-CoA. A partir de este producto intermediario ya se libera anhídrido carbónico, formándose propionil-CoA y el enzima antes mencionado, *metilmalonil-CoA-carboxitransferasa*, capta el CO₂ del propionil-CoA se libera el propionato, por transferencia del CoA al succinato mediante la *CoA-transferasa*.

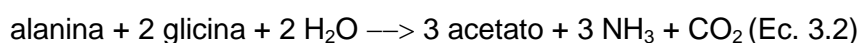
Las bacterias producen entonces ácido propiónico, y dióxido de carbono. Autores como Diponplou et al. (1998) señalan que la fermentación propiónica, además de los ácidos propiónico y acético como principales productos, también resultan pequeñas cantidades de valérico.

3.4.5 Fermentación de aminoácidos

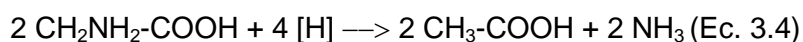
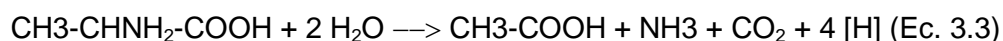
La mayoría de los productos naturales formados por carbono, hidrógeno, oxígeno y/o nitrógeno pueden ser fermentados bajo condiciones anaeróbicas. Son fermentables,

aminoácidos (con excepción de los aromáticos que solo son fermentables en determinadas condiciones) (Schlegel, 1991).

Los clostridios peptolíticos hidrolizan proteínas y fermentan aminoácidos. Muchos aminoácidos no son transformados de forma aislada. La clase *Clostridium sporogenes* transforma aminoácidos en condiciones anaerobias hasta productos como ácido iso-butírico y algunos isómeros del ácido valérico. Este tipo de transformación se le conoce también como reacción de Stickland la cual se da como un acoplamiento de oxidación y reducción de pares de aminoácidos, en base a la ecuación:



La alanina actúa como donador de hidrógeno y la glicina como aceptor de hidrógeno



Como dadores de hidrogeno actúan, por ejemplo, alanina, leucina, isoleucina, valina, serina, metionina, entre otros. Como aceptores de hidrogeno pueden actuar glicina, prolina, arginina y triptofano, entre otros. El aminoácido dador se desamina a un oxiácido, que posteriormente mediante una descarboxilación oxidativa se transforma en el acido graso. Este paso va unido a una fosforilación y representa por tanto la reacción productora de energía. El hidrogeno transferido a la ferredoxina vuelve a ser captado por el aminoácido aceptor durante la desaminación reductiva. No todos los aminoácidos pueden ser utilizados por todos los clostridios peptolíticos (Schlegel, 1991).

3.5 Factores que afectan la producción de AGV

En la formación de biomasa anaerobia y consecuentemente en la formación de AGV, influyen factores que se relacionan con parámetros de control del proceso, cuyo conocimiento permitirá evitar fallas de operación o tomar medidas correctivas que se verán reflejadas en la producción de AGV.

Los procesos que intervienen en la formación de AGV son complejos e interfieren una serie de factores físicos y químicos, como el pH, Temperatura, Tiempo de retención celular (TRC), Carga orgánica (CO), Carga Hidráulica (CH), Sólidos suspendidos, Sustancias Tóxicas e inhibidores, Nutrientes.

En general la fermentación anaerobia permite mejorar la eficiencia y reducir los costos de las plantas para tratamiento biológico.

3.5.1 pH

El efecto de este factor sobre las bacterias acidogénicas se refleja en la cantidad y tipo de productos formados. Este factor no sólo afecta a los microorganismos sino que también a las solubilidades y a los equilibrios de los componentes orgánicos e inorgánicos potencialmente influyentes en el proceso (Stover, 1994).

La habilidad de los microorganismos para alterar el pH es la base de importantes interacciones entre especies, pues esta afecta su velocidad de crecimiento; cambios en el pH pueden causar cambios drásticos en el número relativo de diferentes especies en una población heterogénea, tal como se desarrolla en la fermentación de aguas residuales crudas.

Al parecer el rango de pH óptimo para la generación de AGV, parece ser neutro en un rango entre 6.5-7, en un reactor anaerobio, operado correctamente la reducción de pH puede ser controlada por un proceso natural como la alcalinidad de bicarbonatos.

El efecto de este factor también influye en el consumo y producción de amoníaco, en la actividad de las bacterias acidogénicas y en los procesos que ocurren en el reactor (Anderson *et al.*, 2003).

Asimismo se ha registrado que a pesar de la formación de AGV, el pH no decrece durante la fermentación (Lie y Welander, 1997), estos autores, determinaron que antes de la fermentación el pH se encontraba alrededor de 6.0 y 6.5 y durante la fermentación hubo un incremento de 7.0 y 7.7 respectivamente.

3.5.2 Temperatura

Este factor es uno de los más influyentes en el proceso de digestión anaerobia ya que controla la actividad de los microorganismos, a medida que aumenta la temperatura, las reacciones enzimáticas son más rápidas y el crecimiento se hace más rápido también, sin embargo, por encima de una cierta temperatura, las proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares pueden dañarse irreversiblemente. Por encima de este punto las funciones se detienen. Por lo tanto para cada microorganismo, existe una temperatura mínima por debajo de la cual no existe crecimiento, una temperatura óptima, a la cual el crecimiento es el más rápido posible y una temperatura máxima, por encima de la cual no existe crecimiento (Madigan *et al.*, 1998).

Según Anderson *et al.*, 2003, el rango más aceptado en estos procesos es el mesofílico, con una temperatura óptima de 30-37°C, ya que esto favorece la acumulación de AGV en el medio. Estos autores también mencionan que a temperaturas de 15- 20 °C, las tasas de producción de AGV no son tan eficientes.

Según Skalsky y Daigger (1995), obtuvieron que la temperatura de mayor producción de AGV oscila entre 21 y 24°C.

3.5.3 Tiempo de retención celular

Dentro de los factores operacionales que pueden afectar la formación de AGV, se encuentra el tiempo de retención celular, el cual puede ser utilizado como factor selectivo de microorganismos ya que tiende a seleccionarlos de acuerdo con sus tiempos de reproducción, así se determina la estabilidad del proceso y disminuye la producción de lodos. El TRC, puede ser de horas a días (Elefsiniotis y Oldham, 1994).

Elefsiniotis y Oldham (1994), reportan que el papel del TRC, en el proceso de producción de AGV, llegó a ser insignificante a TRC altos (10 días o más), con un tiempo de 5 días la tasa de acidogénesis se reduce casi al 50%. El ácido acético y propiónico son los AGV predominantes independientemente del TRC. Asimismo la generación de ácido isobutírico y tres isómeros del ácido valérico, se generan con tiempos de TRC mayores a 10 días, dichos

ácidos están relacionados con el metabolismo de proteínas. Determinaron que el porcentaje de reducción de sólidos parece ser independiente del TRC.

Por otro lado, Barajas-López (2002), propone un TRC de 3 días como máximo ya que favorece la fermentación acidogénica. Mientras que otros autores han conseguido resultados favorables con TRC de 5 a 6 días (v. Münch, 1998).

3.5.4 *Tiempo de retención hidráulica*

El tiempo de retención hidráulico (TRH), se refiere al tiempo de contacto entre los microorganismos y el sustrato; en las fermentaciones anaerobias se requiere un tiempo relativamente corto, de lo contrario, disminuye la eficiencia de hidrólisis y la producción de AGV, debido a la utilización que los microorganismos hacen de la fracción soluble para crecimiento (Liu y Gosh, 1997).

Batstone *et al*, (1997), realizaron un modelo para simular la degradación de sustrato en agua residual proveniente de un rastro, y encontraron que la mayor parte del sustrato fue hidrolizado con un TRH de 50 horas

Por otro lado autores como Siles *et al* (2007) obtuvieron la mejor producción de AGV con un TRH de 2 a 4 horas. Mientras que Elefsiniotis *et al* (1994), muestran mejores resultados a un TRH de 12 h.

Goncalvez *et al*. (1994) al estudiar una fermentación anaerobia de agua residual doméstica encontraron que con TRH de 2.8 y 3.3 horas la remoción de sólidos suspendidos fue del 70% y solamente el 25% para DQO. Esta diferencia de remoción entre los dos parámetros indica que se llevó a cabo la solubilización de una parte de materia orgánica suspendida, disminuyendo así los sólidos suspendidos e incrementándose la DQO soluble. Asimismo los AGV alcanzaron una concentración máxima en 2.8 horas.

En la mayoría de los digestores anaerobios el TCR y TRH son casi idénticos debido al uso de los reactores discontinuos sin recirculación de sólidos. Generalmente la proporción de TCR/TRH tiene un ligero incremento de 1.5 a 2 como resultado del retiro del sobrenadante del digestor (Elefsiniotis *et al.*, 1994).

3.5.5 Carga orgánica

La producción y distribución de AGV se ve afectada por la carga orgánica, así como también la solubilización del sustrato.

Los sustratos se utilizan para la producción de AGV, los cuales son materiales orgánicos solubles y coloidales que se encuentran en el agua residual (v. Münch y Greenfield, 1998). Existe diferencia en la literatura sobre el efecto del valor de CO en la producción de AGV, Liu y Ghosh (1997), en un reactor anaerobio con flujo pistón, aumentaron la carga orgánica y concluyen que la producción de AGV se incrementa.

Por otro lado Dinopoulou *et al.* (1998) determinaron que un incremento en el valor de CO en el reactor, no presenta efectos significativos en el grado de acidificación, pero si en las especies de los diferentes ácidos.

Pérez-Ramírez, (2004), reporta que durante la fermentación de las aguas residuales de origen municipal, en un SBR (Secuencing Batch Reactor), las concentraciones mayores de AGV se encontraron en los valores de CO medios específicamente en 0.73 y 0.61 kgDQO/kgSST. día. Por otro lado, encontró que el porcentaje de remoción de DQO total y soluble tendieron a incrementarse conforme la carga orgánica fue bajando (2.00-0.25 kgDQO/kgSST. día).

3.5.6 Sólidos suspendidos

Dentro de la materia orgánica del agua residual, el contenido de sustancias minerales está determinado por el contenido correspondiente de agua de abastecimiento público y por el aumento producido durante la utilización del agua para usos domésticos. Los componentes orgánicos e inorgánicos están presentes en el agua residual en forma soluble e insoluble. En la bibliografía se definen principalmente tres tipos de sólidos, los Sólidos Disueltos Totales (SDT) y los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV), a la suma de SDT y SSV, se le conoce como Sólidos Totales (STT). El límite entre los sólidos suspendidos y los sólidos disueltos se determina basándose en el tamaño de las partículas que los constituyen. Se mencionan cuatro tipos de fracciones de sólidos basándose en el tamaño de sus partículas: sedimentables (> 100 μm), supracoloidales (1-100 μm), coloidales (1nm-1 μm) y solubles (<1 nm) (Barajas-López, 2002).

El tamaño de las partículas afecta la transformación biológica del sustrato, las partículas relativamente grandes, tienen un tiempo de descomposición mayor. Por otro lado los sólidos volátiles representan la porción de material orgánico fermentable, los sólidos fijos y una porción de sólidos volátiles son no biodegradables, entonces, el tipo de sustrato determina el nivel de actividad bioquímica que ocurre en el reactor (Hilkiah-Igoni *et al.*, 2007).

3.5.7 Sustancias tóxicas e inhibidores

La toxicidad tiene un efecto adverso (no necesariamente letal) en el metabolismo de las bacterias, mientras que la inhibición es una inhabilitación de la función bacterial, existen muchas sustancias que pueden estar presentes en el influente o bien productos del metabolismo que pueden causar retraso en la tasa de digestión (toxicidad) o causar efectos de inhibición (Anderson *et al.*, 2003). La presencia de metales pesados, antibióticos, oxígeno, y detergentes, que se pueden encontrar en diferentes tipos de sustratos, pueden tener un proceso de inhibición en el proceso de digestión anaerobia (Arguelles, 2005).

3.5.8 Nutrientes

Los nutrientes son de vital importancia para las bacterias anaerobias ya que proveen las bases estructurales para el crecimiento y aseguran que la célula sea capaz de sintetizar las enzimas y cofactores que se manejan en las reacciones bioquímicas.

El nitrógeno y fósforo son elementales para llevar a cabo la fermentación así como el crecimiento de la biomasa.

El nitrógeno puede presentarse en una gran variedad de formas inorgánicas, la más común es el ion amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-) y gas nitrógeno (N_2).

El amonio es la forma de nitrógeno más utilizada, esta forma reducida es requerida para el metabolismo anabólico.

Las formas comunes en las que se encuentra el fósforo en una solución acuosa incluyen ortofosfatos, polifosfatos y fosfato orgánico. Los ortofosfatos (PO_4 , HPO_4^{2-} , H_2PO_4 , H_3PO_4), están disponibles para el metabolismo biológico, los fosfatos orgánicos generalmente son hidrolizados por las células y una vez aprovechado es desechado al medio.

Expresando la concentración de Carbono orgánico en el medio en función de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) se recomienda una relación de DQO: N entre 400:7 a 1000:7 para cargas orgánicas bajas y altas respectivamente. De igual manera se recomienda una relación N: P de 7:1 (Malina, 1992).

En cuanto a micronutrientes las bacterias anaerobias requieren elementos traza para el metabolismo y crecimiento por ejemplo, Na, Mg, K, Ni, Co, entre otros (Anderson *et al.*, 2003).

3.6 Microbiología

La degradación del material orgánico, la coagulación de los sólidos coloidales no sedimentables, se consiguen, biológicamente, gracias a la acción de una variedad de microorganismos, principalmente bacterias. Los microorganismos se utilizan sobre todo para convertir la materia orgánica carbonosa coloidal y disuelta en gases y tejido celular.

El tejido celular tiene un peso específico ligeramente superior al agua y se puede eliminar por decantación (Metcalf y Eddy, 2004).

3.6.1 Microbiología de la fermentación

Los sistemas de tratamiento biológico se fundamentan en la capacidad de diversos microorganismos para degradar la materia orgánica presente, transformándola en biomasa fácil de retirar por sedimentación

En los últimos años se han hecho importantes avances dentro del conocimiento de los microorganismos involucrados en el proceso de fermentación anaerobia. Tanto referido a sus posibilidades de degradación de distintos compuestos, como a las condiciones óptimas en que se desarrollan y su capacidad de resistir y adaptarse a condiciones adversas.

Estudios de microbiología de fermentación acidogénica, han mostrado que dicho proceso se caracteriza por un conjunto de reacciones asociadas al metabolismo de numerosos microorganismos (Figura 3.6) que son intermediarios necesarios para transformar la materia orgánica compleja en sustratos simples.

Las bacterias en general sólo pueden utilizar materia orgánica en forma soluble. La asimilación de compuestos heterogéneos, particularmente los polímeros (polisacáridos, proteínas y lípidos) requieren de una hidrólisis como primer paso, llevada cabo por medio de enzimas extracelulares. Las bacterias acidogénicas producen estas enzimas (hidrolasas), las cuales rompen carbohidratos, lípidos y proteínas (Figura 3.6) produciendo azúcares, aminoácidos y ácidos grasos respectivamente (Gaudy y Gaudy, 1980).

Las bacterias acidogénicas forman ácidos orgánicos y el segundo grupo lo constituyen las bacterias acetogénicas (formadoras de acetato). Los géneros encargados de producir enzimas hidrolíticas (proteasa, lipasa, celulasa, pectinasa, amilasa, quitinasa, etc.) son: *Clostridium*, *Peptococcus*, *Vibrio*, *Micrococcus* y *Bacillus*. Durante esta producción de ácidos casi no existe cambio en la cantidad de material orgánico en el sistema. Existe una redistribución en cantidad en varios tipos de compuestos orgánicos más simples y la liberación de dióxido de carbono, hidrógeno y ácido sulfhídrico (Malina y Pohland, 1992).

Asimismo, en el agua residual se encuentran protozoarios y hongos, donde se ha encontrado que los primeros no tienen una participación significativa en el proceso de digestión anaerobia algunas especies de éste género son, *Trepomonas*, *Tetramitus* y *Tricomonas*, del género amiba se encuentran *Vahlkampfia* y *Hartmanella*, lo que corresponde a ciliados se presentan los géneros *Metopus*, *Trimyema* y *Saprodinium*.

En cuanto a los hongos, se encuentran en bajas densidades y se sabe que su participación en el proceso de digestión anaerobia es menor (Anderson *et al.*, 2003).

Los reactores anaerobios contienen entre 10^8 y 10^9 bacterias por ml, que comprende entre facultativas y anaerobias obligadas (Archer y Kirsop, 1990).

3.6.2 Bacterias formadoras de ácido

Los monómeros producidos por las bacterias hidrolíticas durante la primera etapa de digestión anaerobia, son fermentados en la segunda etapa, para producir algunos productos intermediarios tales como acetato, propionato, butirato e hidrógeno (Figura 3.6).

Anteriormente se mencionó que en la formación de ácidos intervienen dos grupos de bacterias, dentro de las acidogénicas se encuentran especies tales como Clostridium, Bacteroides, Ruminococcus, Butiribacterium, Prpopionibacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Streptococcus, Pseudomonas, Desulfobacter, Micrococcus, Bacillus y Escherichia (Anderson *et al.*, 2003). Las concentraciones típicas de bacterias acidogénicas en digestores anaerobios se encuentran entre 10^6 y 10^8 por ml (Archer y Kirsop, 1990).

La función principal de las bacterias acetogénicas es la producción de acetato (a partir de ácido butírico), dióxido de carbono e hidrógeno (Argüelles, 2005).

3.6.3 Bacterias patógenas en el agua residual

Desde el punto de vista de salud pública, los contaminantes de mayor preocupación cuando se trata de reúso en riego son los microorganismos patógenos (Jiménez *et al.*, 2005). Los principales agentes que se encuentran en agua residual se pueden clasificar en: bacterias, virus y parásitos (protozoarios y helmintos). En la Tabla 3.1 se presentan algunos de los microorganismos encontrados en agua residual doméstica y las enfermedades asociadas con ellos.

El riesgo de infección por alguno de estos microorganismos depende de la dosis infectiva, de la capacidad del microorganismo para causar la infección (patogenicidad) y de la susceptibilidad del huésped (Yates y Gerba, 1998). En la Tabla 3.2 se presentan las dosis infectivas de algunos microorganismos, así como la probabilidad de infección.

El tipo y número de microorganismos presentes en el agua residual depende del origen del agua, de las enfermedades infecciosas que prevalecen en la comunidad, de la época del año, del nivel económico de la población y de la calidad del agua de consumo (Cooper y Olivieri, 1998).

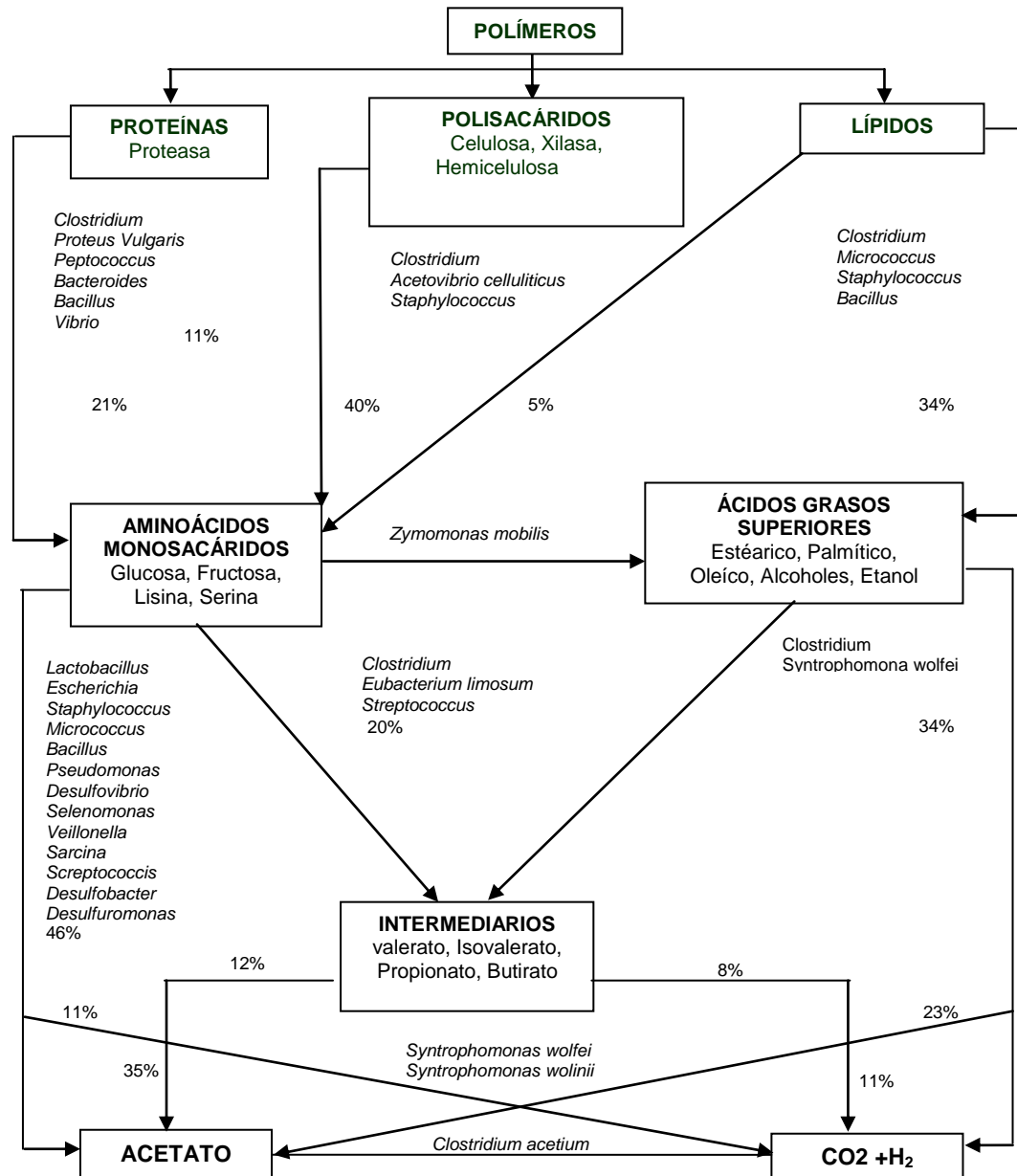


Figura 3.6. Géneros de Bacterias que participan en la formación de AGV durante la digestión anaerobia de aguas residuales (Anderson *et al.*, 2003, modificado).

Tabla 3.1. Tipo de microorganismos patógenos presentes en aguas residuales (Solomon *et al.*, 1998).

Organismo	Enfermedad
Bacterias	
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	Gastroenteritis
<i>Salmonella Typha</i>	Fiebre tifoidea
<i>Salmonella</i> (\approx 2,100 serotipos)	Salmonelosis
<i>Shigella</i> (4 spp.)	Disentería bacilar (shigelosis)
<i>Campylobacter</i>	Gastroenteritis
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
Virus	
Enterovirus (72 tipos como polio, eco y coxsackie)	Gastroenteritis, anomalías del corazón, meningitis
Virus de la Hepatitis A	Hepatitis A
Agente Norwalk	Gastroenteritis
Rotavirus	Gastroenteritis
Protozoarios	
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería amibiana
<i>Giardia lamblia</i>	Diarrea (giardiasis)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Diarrea (criptosporidiasis)
Helmintos	
<i>Ascariasis lumbricoides</i>	Anemia (ascariasis)
<i>Taenia solium</i>	Teniasis
<i>Trichuris trichiura</i>	Diarrea, dolor abdominal (tricuriasis)

Entre los organismos encontrados comúnmente en el intestino del hombre y de los animales y que por lo tanto, podrían considerarse como indicadores posibles de contaminación, se pueden enumerar los siguientes: los bacilos del género *Clostridium*, los cocos del género *Streptococcus*, los bacilos Gram negativos del género *Escherichia*, *Aeroabacter* y *Proteus* que, generalmente, se consideran como no patógenos, y los géneros *Salmonella* y *Shigella*, que incluyen muchas especies de patógenos; finalmente los espirilos y las formas submicroscópicas, como los virus y los bacteriófagos.

Tabla 3.2. Dosis infectiva y probabilidad de infección de microorganismos entéricos (USEPA, 1995, Crook, 1998).

Organismo	Dosis infectiva (número)	Probabilidad de infección al exponerse a un microorganismo
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	10^6 - 10^{10}	-----
<i>Salmonella Typha</i>	10^3 - 10^7	3.8×10^5
<i>Vibrio cholerae</i>	10^3 - 10^7	7.0×10^6
<i>Entamoeba histolytica</i>	20	2.8×10^{-1}
<i>Shigella dysenteriae</i>	10	1.0×10^{-3}
<i>Giardia lamblia</i>	<10	1.9×10^{-2}
Virus	1-10	1.5×10^{-2} a 3.1×10^{-1}
<i>Ascariasis lumbricoides</i>	1-10	

Debido a que existe un gran número de organismos patógenos presentes en el agua residual es difícil aislar e identificar a todos los grupos de patógenos y al alto costo que esto representa, así como tiempo y necesidad de equipo especializado, por estas razones y por la necesidad de realizar evaluaciones rápidas y confiables de la presencia de patógenos, se

plantea identificar organismos indicadores que tienen un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a su concentración y reacción a factores ambientales. Este trabajo se enfocó en determinar la presencia del género enterococos fecales y aunque en un principio se propuso determinar *Salmonella spp* la técnica utilizada no fue la adecuada y no se determinó.

Las bacterias pertenecientes al género *Enterococos* son cocos grampositivos, catalasa negativa, inmóviles, anaerobios facultativos y no forman endosporas ni cápsulas. Entre las características fisiológicas que distinguen al género *Enterococcus* se encuentra la habilidad para crecer en presencia de 6,5 % de ClNa; a 10 °C y 45 °C y pH 9,6. Desafortunadamente, no existe una característica de las mencionadas que sea única para este género; las cepas de bacterias en forma de cocos, Gram positivos y catalasa negativa de los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus* pueden mostrar una o más de las características típicas del *Enterococcus* (Bertona *et al.*, 2005). Además de ser una especie que forman parte de la flora intestinal de animales y humanos, 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, 2003).

En la mayoría de los casos, las patologías producidas por estas bacterias son causadas porque el microorganismo invade zonas del cuerpo normalmente estériles. Casi todos los microorganismos entéricos son oportunistas y, como tales, son causa común de enfermedades nosocomiales. El principal factor de virulencia de estas bacterias es el lipolisacárido (endotoxina). El género *Enterococcus* se ha revelado como causa de infecciones nosocomiales y de una variedad de infecciones adquiridas en la comunidad, además de ser intrínsecamente resistentes a un número de agentes antimicrobianos. Entre las especies de mayor importancia clínica se destacan, *Enterococcus faecalis* que constituye el 85-90 % de los aislamientos en la mayoría de los laboratorios (Suárez, 2002).

Enterococos fecales es un grupo que se ha empleado para determinar fuentes de contaminación fecal reciente (humana o de animales de granja), pero no está considerado en la normatividad mexicana. A pesar de esto, su estudio es de importancia debido a que ha demostrado ser más resistente que las bacterias coliformes fecales, hecho que podría ser relevante si se le considerase como un indicador alternativo de contaminación fecal. Las

principales especies son *E. aerogenes* y *E. cloacae* las enfermedades que produce son infecciones de las vías urinarias y en ocasiones neumonías, infecciones de heridas y sepsis (Bertona *et al.*, 2005).

Lo anterior muestra la importancia del estudio de estos microorganismos ya que son causa de enfermedades infecciosas, que se encuentran ampliamente distribuidas en el tracto urinario de animales homeotermos y pueden ser empleados como indicadores de patogenicidad en aguas residuales.

Las bacterias del género *Salmonella spp.* pertenecen a la familia de las enterobacterias, constituidas por células bacilares, móviles, con flagelos peritricales o inmóviles, bacterias de gran tamaño de 2 a 4 μm de longitud, son gram negativas, no forman esporas y no son acidorresistentes, son organismos facultativos, por lo que crecen en condiciones aerobias y anaerobias, fermentan la glucosa y no lactosa, reducen nitratos hasta nitritos y son negativas a la oxidasa (Murray, 2003). En el agua residual su número es de 8000 organismos por 100ml (Feachmen *et al.*, 2008). Todas las especies conocidas son patógenas para animales de sangre caliente, incluido al hombre, y ocasionan intoxicaciones y fiebres intestinales; en este género se encuentran dos especies comunes *Salmonella enterica* y *S. bongori*. Se han reconocido más de 2500 serotipos del género *Salmonella*, los más comunes son los serotipos Typhimurium, Paratyphi y Enteritidis.

La mayoría de la *Salmonella* no tifoidéica puede ocasionar infecciones intestinales, caracterizadas por diarrea fiebre y dolores abdominales, algunas otras pueden ocasionar infecciones tales como la osteomielitis, infecciones en el tracto urinario o bacterimia, en personas inmunodeprimidas. Generalmente *Salmonella* se encuentra en poblaciones de animales y el contagio en humanos esta asociado al consumo de alimentos de origen animal, también se transmite por medio de agua y en ocasiones por contacto humano (Murray, 2003). En el caso de *Salmonella typhi* cuya principal vía de transmisión es el agua contaminada es el causante de la fiebre tifoidea, agente causante de altas tasas de morbilidad y mortalidad en México. Su concentración en agua residual tratada del orden de 10^5 y 10^6 NMP/100mL (Jiménez *et al.*, 2001), que es alta considerando su dosis infectiva que es de 10^3 - 10^7 organismos (US, EPA, 2006). Esto, la convierte en factor de riesgo para la población que está en contacto con ella, principalmente en zonas donde el agua residual se dispone sin tratamiento alguno, como sucede en las zonas de riego. La fiebre tifoidea es una

de las causas más comunes de enfermedad en regiones pobres, donde afecta cerca de 12.5 millones de personas cada año (CDC, 2001; WHO, 2003) pero no en regiones industrializadas como Estados Unidos (donde ocurren 400 casos/año), Canadá, Europa occidental, Australia y Japón. Específicamente en México se reportaron 7,481 casos en el año 2005 (Secretaría de Salud, 2005).

3.6.4 Reducción de patógenos por el proceso de acidificación anaerobia

En el proceso de acidificación anaerobia se obtienen diferentes tipos de productos tales como AGV y alcoholes, durante este proceso hay disminución de la materia orgánica así como de organismos patógenos, pero debido a la poca información que existe al respecto no se tiene el detalle de la disminución de éstos en el agua residual Jiménez et al. (2005), mencionan que la acidificación provoca reducción de patógenos debido a que hay un proceso inhibitorio sobre los microorganismos, asimismo se encontró que los ácidos sulfúrico, clorhídrico, acético, periacético y propiónico tienen un efecto desinfectante en lodos residuales, dichos autores, determinaron que en lodos fisicoquímicos 550 ppm de ácido periacético durante 10 minutos, se eliminó de 5 a 6 unidades log de coliformes fecales, 4 a 5 log de Salmonella y 90% de helmintos, además no hubo crecimiento de bacterias.

Un estudio realizado por Kunte (2000) demuestra que en un digestor anaerobio experimental con una concentración de 8000 mg/l de AGV, pH de 6.4 y un tiempo de experimentación de 20 días, hubo una disminución de 4 log para *Vibrio cholerae*, aunque menciona que no son eliminados completamente si es considerable la reducción.

Asimismo efectos inhibitorios de patógenos debidos a los AGV han sido reportados por Cherrington et al. (1990) en otro estudio realizado por González et al. (2002) se comparó el efecto desinfectante del ácido periacético con un pH de 4.9 y ácido acético con pH de 3.4 ambos con el mismo tiempo de contacto, se encontró una pérdida de la viabilidad de huevos de helminto en un 88% para el primer ácido y 76% para el acético. Otro caso menciona que con mezclas de ácido acético, propiónico, isovalérico y valérico (concentración total de 8300 mg/l) con tiempo de contacto de 4 días hay una inactivación de 85% de huevos de helminto (Hernández, 2005).

Otros mecanismos que posiblemente intervienen en la disminución de patógenos son la depredación, la competencia, hidrólisis así como la adsorción de los patógenos en los sólidos.

En el caso de la depredación de los microorganismos Duncan y Nigel (2003), mencionan que con un alto tiempo de retención celular o hidráulica en sistemas de tratamiento de biomasa en suspensión se puede presentar mecanismos de remoción por depredación. En el caso de lagunas anaerobias los microorganismos que tienen un metabolismo más rápido, llegan a consumir a organismos patógenos, como fuente de carbono (Pearson *et al.*, 1995).

Por otro lado la competencia por la materia orgánica es un factor que puede explicar la reducción de patógenos ya que en condiciones anaerobias en el agua residual se favorece el crecimiento de las bacterias acidogénicas por tener un metabolismo más rápido que las bacterias patógenas.

La hidrólisis por su parte por medio de exoenzimas producidas por las bacterias acidogénicas puede llegar a hidrolizar algunos patógenos. Las exoenzimas pueden dañar la pared celular de los organismos que se encuentran en el medio (Madigan *et al.*, 1998).

Algunos estudios abordan el tema de la adición de patógenos a los sólidos llevada a cabo en la fase de sedimentación, Duncan y Nigel (2003) encontraron una remoción de 30 a 50% de coliformes fecales con un tiempo de retención de 6 horas.

3.7 Reactores discontinuos

Los reactores discontinuos son conocidos por sus siglas en inglés SBR (Secuencing Batch Reactor). El término SBR fue utilizado por primera vez por R.L. Irvine en la Purdue Industrial Waste conference en 1971 para describir un proceso específico de lodos activados para tratar el agua residual generada durante la producción de un tipo especial de polímeros de carbohidratos (Wilderer *et al.*, 2001).

Estos reactores son sistemas de llenado y vaciado que consisten en un tanque en el que diferentes etapas ocurren durante el tiempo que comprende un ciclo. Los SBR son sistemas que ofrecen beneficios alternativos para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales respecto a los sistemas de flujo continuo, ya que operacionalmente son flexibles, permiten ejecutar diferentes objetivos de tratamiento y físicamente son sencillos (Ketchum,

1996). Los SBR, han demostrado su eficiencia y flexibilidad en el tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de tóxicos (Buitrón et al., 2002). Estos sistemas discontinuos, intermitentes o de tratamiento por lote son fáciles de diseñar y operar; dentro del área de la ingeniería ambiental se han utilizado para el tratamiento de aguas residuales municipales así como de investigación

El control de estos reactores se realiza por medio de estrategias de operación que pueden controlar las tasas de crecimiento de los microorganismos, los receptores de electrones y los inhibidores, esto permite que la energía o fuente de alimento se dirija a un tipo específico de microorganismos. Lo anterior se puede lograr por medio de emplear diferentes etapas en el ciclo, las cuales son: llenado, reacción, sedimentación, vaciado, purga (Arora et al., 1985; González, 1994; Ketchum, 1996, Buitrón et al., 2002).

3.7.1 Ciclos de los Reactores Discontinuos

El sistema se caracteriza por una repetición continua de periodos bien definidos de acuerdo a su posición y función en el ciclo. El tiempo total de un ciclo es el comprendido entre el inicio del llenado y el final del reposo previo al siguiente ciclo. En la literatura se reportan como frecuentes tres ciclos por día o ciclos con duración total entre 6 y 24 horas (Arora et al., 1985; Ketchum, 1996).

- **Llenado:** el llenado inicia después de que concluye la decantación del sobrenadante clarificado del ciclo anterior. De esta forma el agua residual entra a un tanque que ya posee una población activa de microorganismos (biomasa sedimentada) en espera de nutrientes. La duración del ciclo de llenado suele ser un 25% de la del ciclo (Metcalf-Eddy, 2004).
- **Reacción:** una vez que concluye el llenado, el volumen contenido en el reactor se somete a condiciones de mezcla total con o sin aplicación de aire dependiendo si la reacción es aerobia o anaerobia, para llevar a cabo la degradación de material orgánico. La duración de este periodo suele ser de un 35% del ciclo (Metcalf-Eddy, 2004).
- **Sedimentación:** al terminar el tratamiento biológico del agua residual se detienen los mecanismos de mezclado y aeración para que el tanque de lodos activados adopte la función de un sedimentador secundario. En esta etapa se denotan ventajas como:
1) lograr un periodo de reposo sin perturbaciones porque no hay entradas ni salidas de

agua, 2) proporcionar un volumen mucho mayor que el de un tanque sedimentador y 3) controlar el tiempo de sedimentación para evitar la formación de gas que arrastra sólidos del fondo hacia la superficie.

- **Vaciado:** una vez sedimentada la biomasa se procede a decantar el sobrenadante clarificado. Esta operación se puede realizar extrayendo a nivel de superficie a medida que baja el nivel de agua mediante un sistema de bombeo flotante o mediante un tubo de salida ubicado en una altura fija calculada por encima del nivel de lodos sedimentados.
- **Purga:** la purga de lodos es indispensable para controlar el proceso ya que ayuda a mantener en el reactor una concentración específica de microorganismos cuando se conoce la tasa de reproducción de los mismos; la purga puede realizarse durante el mezclado cuando los lodos han sedimentado.

3.7.2 *Microorganismos que intervienen en el proceso*

Las condiciones que prevalecen en el reactor (como resultado de la interacción de tiempo de retención hidráulico y celular, concentraciones de sustrato y cosustrato, oxígeno, pH, temperatura, etc.) determinan el tipo de microorganismos que podrán desarrollarse en el mismo. El estado fisiológico del consorcio microbiano establecido exige una actividad metabólica colectiva en donde sea posible la conversión de los materiales orgánicos solubles y coloidales en biomasa, dióxido de carbono y productos residuales del metabolismo microbiano. El mecanismo cíclico del reactor y las condiciones de la presente experimentación permite sólo el establecimiento de aquellas cepas o especies que puedan desarrollarse con cambios de concentración de sustratos. La característica propia de los microorganismos para formar colonias (flóculos o gránulos) es de gran utilidad al momento de separar la biomasa del agua tratada (durante la sedimentación), los microorganismos tienden a agruparse por falta de alimento, es una forma en la que tienen mayor probabilidad de sobrevivir, se ayudan de exopolímeros que segregan y le dan consistencia al flóculo (Wilderer *et al.*, 2001). En la Tabla 3.3 se muestran las variaciones de de mayor interés en el proceso y su efecto sobre la biomasa.

3.7.3 *Ventajas de los reactores discontinuos*

Los reactores discontinuos presentan ventajas en su operación, algunos autores (Norcross, 1992; González, 1994) mencionan algunas de ellas:

1. Presentan mayores ventajas para ajustar condiciones de operación.
2. Aceptan altas concentraciones de contaminantes, permaneciendo estables bajo condiciones cambiantes de caudal y de concentración de contaminantes.
3. Producen lodos sedimentables, por su capacidad de inhibir el crecimiento de organismos filamentosos.
4. No requieren tanque de sedimentación secundario.
5. Permiten el tratamiento de aguas con concentraciones medias a altas entre 500 y 3000 mg DBO/l, gracias a la facilidad que tienen para ajustar tiempos de reacción bioquímica y diluir el agua residual, con lo cual se controla la carga orgánica aplicada.
6. No necesitan sistemas de bombeo para recirculación de lodos.
7. Tienen capacidad para remover fósforo y nitrógeno junto con material carbonoso.

Tabla 3.3. Efecto de las variaciones propias de un reactor discontinuo. Fuente: (Wilderer *et al.*, 2001).

Tipo de variación cíclica	Efecto
Ascensos y descensos de concentración de sustratos biodegradables	Variación en la rapidez de crecimiento que evita el excesivo crecimiento de bacterias filamentosas. Minimiza la sensibilidad a los choques de concentración y la variación en general de los factores ambientales y constituyentes del influente.
Alta concentración de sustrato seguida de un periodo largo de ayuno	Acumulación de sustancias poliméricas extracelulares y supresión del excesivo crecimiento de bacterias filamentosas. Contribuye a la formación de flóculos bacterianos con las características necesarias para el proceso.
Condiciones aerobias y anóxicas	Desarrollo tanto de nitrificantes como desnitrificantes para la remoción de nitrógeno.
Condiciones aerobias y anaerobias	Desarrollo de bacterias acumuladoras de fósforo, útiles en la eliminación biológica de fósforo.

4. METODOLOGÍA

Para lograr los objetivos específicos planteados se llevó a cabo la organización detallada de la experimentación que conlleva a la selección de variables, así como un plan de muestreo, entre otros, que garantice la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados. En esta parte del trabajo se encuentran descritas las etapas del experimento, las características de los reactores experimentales, muestreos realizados, parámetros de operación utilizados en los reactores y análisis fisicoquímicos efectuados a las muestras.

4.1 Plan general de experimentación

Esta investigación se dividió en tres etapas consecutivas. El programa experimental consistió, básicamente, en determinar los cambios que sufren lodos primarios provenientes de la planta para tratamiento de aguas residuales Cerro de la Estrella bajo diferentes procesos previos (pretratamientos) a una acidificación anaerobia.

Se consideraron los lodos primarios como el “sustrato” o alimento de microorganismos desarrollados en un reactor anaerobio que trata aguas residuales municipales. La generación de los lodos anaerobios en un sistema especializado es parte de otro trabajo de

investigación y solamente pone a disposición los lodos necesarios para realizar este trabajo. Los lodos considerados como “inóculo” en este trabajo son cultivados bajo condiciones anaerobias y son alimentados con agua residual de Ciudad Universitaria en un reactor de 1,800 litros de volumen operado por lotes con una carga orgánica promedio de 0.25 kgDQO/m³·d a temperatura ambiente. Antes de utilizar los lodos como inóculo se lavaron separándolos del agua por centrifugación, desechando el sobrenadante, completando nuevamente el volumen original con agua de la llave, volviendo a centrifugar y desechando nuevamente al sobrenadante. La concentración de lodos se ajustó con agua de la llave hasta la concentración deseada en cada experimento. A los lodos primarios se les aplicaron tres diferentes pretratamientos antes de ponerlos en contacto con los microorganismos anaerobios bajo condiciones controladas.

El objetivo de estos experimentos fue determinar la capacidad que tiene el sistema inóculo-sustrato para transformar los sólidos contenidos en los lodos primarios en sustancias disueltas (como los ácidos grasos volátiles) y de reducir la cantidad de sólidos en suspensión. Como parte de la investigación se desea saber cómo la reducción de los sólidos en suspensión afecta a los microorganismos patógenos contenidos en los lodos.

4.2 Reactores

Las unidades experimentales son matraces Erlenmeyer de 250 ml con boca esmerilada 24/40 (Figura 4.1). El tapón de dichas unidades tiene un tubo (3 cm de largo y 1.1 mm de diámetro) acoplado a una válvula de paso. En este tubo se colocó un globo de látex para evitar la difusión del oxígeno atmosférico hacia el interior del sistema y para regular la presión producida por el bióxido de carbono y otros gases que pudieran generarse durante la reacción. Antes de cerrar los matraces, al inicio del experimento, el contenido gaseoso de cada matraz, incluido el oxígeno, se desplazó con nitrógeno y con ello se garantizaron condiciones anaerobias. El tapón de cada matraz se fijó a la boca del matraz por medio de sujetadores con el fin de evitar la separación entre el tapón y el matraz. Los matraces se colocaron en un agitador orbital de mesa de la marca Lab-line Instruments, Inc. modelo No. 4626, con el fin de obtener una mezcla continua. El sistema completo se colocó dentro de una incubadora donde la temperatura se mantuvo en $20 \pm 1^\circ\text{C}$ durante todo el tiempo de experimentación.

Se considera que el volumen total fue de 250 ml incluyendo los lodos del inóculo y los primarios (sustrato).

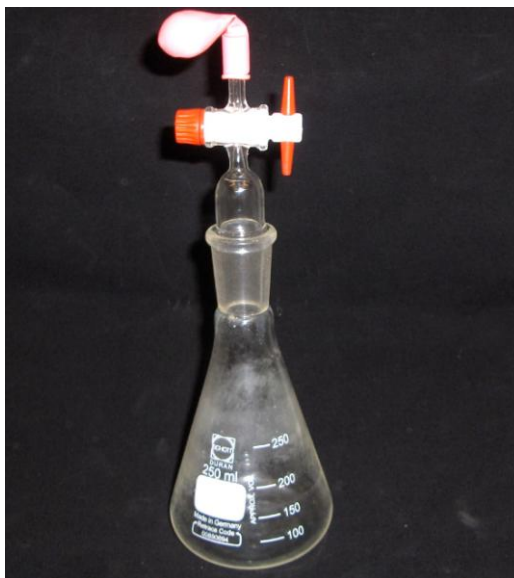


Figura 4.1 Unidades experimentales (matraz Erlenmeyer de 250 ml adaptado).

4.3 Inóculo

Los microorganismos utilizados como inóculo fueron cultivados en un reactor discontinuo o SBR, anaerobio, alimentados con agua residual de Ciudad Universitaria y un complemento alimenticio compuesto por proteína vegetal hidrolizada de grado alimenticio (Prothidex®) y maltodextrina (Maltadex®) como fuente de carbohidratos. El reactor tiene un volumen útil de trabajo de 1,800 litros y la duración de los ciclos fue de 8 horas. La carga orgánica promedio con la que se cultivaron los microorganismos fue de 0.25 kgDQO/kgSST-d. El complemento utilizado proporciona una DQO de 200 mg/l, 100 mg/l por cada componente adicional a la contenida en el agua residual cruda. Los lodos se tomaron del fondo del reactor después del vaciado al final de cada ciclo.

4.4 Cálculo de concentraciones y volúmenes de reacción

Los cálculos para determinar la cantidad de lodo primario del Cerro de la Estrella (sustrato) y de lodos de inóculo utilizados en cada volumen se basaron en la ecuación 5.1 y los cálculos son los siguientes:

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \quad (\text{ecuación 4.1})$$

La cantidad de inóculo adicionado en cada uno de los matraces de reacción fue el mismo (50 ml) y se calculó de la siguiente manera considerando (a manera de ejemplo) que la concentración original del inóculo lavado fue de 13,566 mgSST/l:

$$V_1 = \frac{50 \text{ ml} \cdot 1500 \text{ mgSST/l}}{13566 \text{ mgSST/l}} = 5.5 \text{ ml}$$

El volumen determinado de esta manera se afora hasta 50 ml con agua de la llave.

Para los diferentes volúmenes de lodo primario utilizado como sustrato se aplica la ecuación 5.1 en donde se plantean las diferentes concentraciones de lodos en función del volumen que se coloca en cada matraz para completar los valores de cero para el testigo y 50, 100 y 150 ml. Considerando (a manera de ejemplo) que la concentración de lodos lavados es de 42,203 mgSST/l, los valores de V_1 son:

$$\text{Para 50 ml, es de } V_1 = \frac{50 \text{ ml} \cdot 3000 \text{ mgSST/l}}{43203 \text{ mgSST/l}} = 3.47 \text{ ml}$$

Para 100 ml es de 6.94 ml y para 150 ml es de 10.4 ml.

Es importante destacar que las concentraciones de los lodos de inóculo y sustrato fueron calculadas para cada lote de lodos ya que cada etapa experimental se hizo con lodos frescos de inóculo y primarios. La suma de los volúmenes de lodos de inóculo y primarios que se introdujeron en los matraces fue de 250 ml.

4.5 Desarrollo experimental

El experimento se planteó en tres etapas, cada una de ellas corresponde a cada uno de los pretratamientos propuestos.

Como primer paso se obtuvo una muestra de lodo directamente de la purga del sedimentador primario de la planta para tratamiento de aguas residuales Cerro de la Estrella. En recipientes de 120 litros se permitió sedimentar los lodos durante 2 horas. Después de este tiempo el agua sobrenadante fue extraída con ayuda de un sifón y los sólidos

concentrados se colocaron en un bidón de 20 litros para ser transportados al laboratorio del Instituto de Ingeniería donde permanecieron en un cuarto frío a 4°C durante una semana antes de utilizarlos como sustrato.

El inóculo fue tomado de la fracción de sólidos sedimentados durante la fase de sedimentación del reactor SBR y fue llevado al laboratorio del Instituto de Ingeniería para utilizarlos como inóculo.

El procedimiento de lavado de los lodos consistió en colocar a los lodos e inóculo, cada uno por separado, en tubos de centrifugado, los cuales se centrifugaron a 2700 RPM durante 10 minutos en una centrifuga HERMLE Z513K. Después se agregó agua corriente, se homogenizó la mezcla y se repitió la operación nuevamente. Más tarde se colocaron lodo e inóculo en los matraces con las concentraciones que se especificarán posteriormente. El proceso de lavado tiene por objeto eliminar el sustrato disuelto que se encuentra en el agua.

Las combinaciones de lodos primarios e inóculo que se indican en las secciones siguientes fueron introducidas, por quintuplicado, en los matraces de reacción y se colocaron en un agitador orbital en una incubadora a 20°C durante 5 días. Considerando que el contenido de los matraces para cada combinación es el mismo, los cinco matraces con cada una de las combinaciones sirven para analizar su contenido, una vez por día, durante los 5 días que dura el experimento y así dar el seguimiento correspondiente.

4.5.1 Etapa I. Acidificación anaerobia de lodos primarios lavados

Una determinada cantidad de lodos de inóculo (50 ml) se colocó en cada uno de los matraces de reacción (figura 4.1). Además, en cada matraz se colocó una cantidad de lodos primarios lavados variando la concentración en cada uno y se completó, con agua de la llave, el volumen en cada matraz hasta un total de 250 ml. Todos los reactores se sometieron a las mismas condiciones de experimentación (temperatura constante de 20°C y condiciones anaerobias).

Se realizó la caracterización inicial de los lodos de sustrato e inóculo con el fin de conocer las características más importantes de los lodos utilizados. Dichas características se muestran en la Tabla 4.1 Una vez realizado este paso, el objetivo fue reducir la concentración de sólidos en los lodos primarios del cerro de la estrella por medio del lavado hasta una

concentración aproximada de 3,000 mgSST/l y de 1,500 mgSST/l para el inóculo. Con base en las concentraciones antes mencionadas se propusieron 3 volúmenes de lodo diferentes para el sustrato (lodos primarios): 0 ml (testigo), 50, 100 y 150 ml manteniendo una concentración aproximada de 3,000 mgSST/l en el lodo lavado antes de ser introducido en los matraces.

Tabla 4.1. Características de lodos e inóculo utilizados en la fase I de experimentación: lodos primarios solamente lavados.

Tipo de lodo	SST (mg/l)	DQOt (mg/l)	DQOd (mg/l)	DQOs (mg/l)	AGVtotales (como DQO, mg/l)	enterococos fecales (UFC ¹ /100ml)
Lodo primario lavado	43,203	23,000	14,000	9,000	280	Incontable
Inóculo lavado	13,566	8,000	917	7,080	260	Incontable

¹UFC: Unidades formadoras de colonias.

Cada uno de estos volúmenes se inoculó con 50 ml del lodo lavado de la planta de CU que contienen aproximadamente 1,500 mgSST/l. Para cada concentración se utilizaron 5 matraces y el tiempo de experimentación fue de 5 días. Debido a que las determinaciones analíticas son destructivas, diariamente se tomó un matraz para realizar los análisis correspondientes (sólidos suspendidos totales, disueltos y volátiles, DQO total, disuelta y suspendida, AGV y enterococos fecales). Cabe mencionar que se contó con un testigo, el cual consistió en colocar 50 ml de inóculo en 5 matraces sin lodos primarios y diluidos hasta el volumen total de 250 ml.

4.5.2 Etapa II. Acidificación anaerobia de lodos primarios pasteurizados

Este pretratamiento consistió en aplicar a los lodos primarios el proceso de lavado y posteriormente pasteurizarlos. Después de lavados los lodos se calentaron a 90°C durante 30 minutos (Carrère *al.*, 2009). Con el fin de eliminar la actividad de los microorganismos presentes en el lodo y con ello evitar interferencia entre los microorganismos del sustrato dejando únicamente reaccionar a los que están presentes en el inóculo. Además el aumento de la temperatura incrementa la solubilización de la materia orgánica (Carrère *et al.*, 2009). Moeller *et al.*, (2002) consideran que un pretratamiento térmico es una forma de romper moléculas grandes en otras más pequeñas y con ello se facilita la biodegradación del materia orgánico ya que es fácilmente asimilada por los microorganismos. La Tabla 4.2 muestra las características de los lodos preparados para esta etapa experimental.

Tabla 4.2. Características de lodos utilizados en la etapa II de experimentación: lodos primarios lavados pasteurizados

Tipo de lodo	SST (mg/l)	DQOt (mg/l)	DQOd (mg/l)	DQOs (mg/l)	AGV totales (como DQO, mg/l)	enterococos fecales UFC/100ml
Lodo primario lavado pasteurizado	22500	1683	140	1543	229	Incontable
Inóculo lavado	17530	1840	184	1656	148	Incontable

4.5.3 Etapa III. Acidificación anaerobia de lodos primarios micronizados

Otro pretratamiento aplicado fue el de *micronización*, el cual provoca la ruptura mecánica de las macromoléculas así como la destrucción de la pared celular de los microorganismos (Climent *et al.*, 2007). Al igual que en los anteriores pretratamientos los lodos primarios e inóculo fueron lavados según se describe al inicio de capítulo 4.5. La desintegración de los lodos primarios se logró por medio de un licuador manual (Ultra-Turrax) a 6000 RPM durante 5 minutos.

A los lodos primarios lavados y micronizados se les realizó, al igual que en los casos anteriores, la caracterización inicial para efectuar los cálculos correspondientes de las cantidades de sustrato e inóculo utilizadas. En la Tabla 4.3 se muestran las características principales de los lodos utilizados.

Tabla 4.3. Características de lodos utilizados en la etapa III de experimentación: lodos primarios lavados micronizados.

Tipo de lodo	SST (mg/l)	DQOt (mg/l)	DQOd (mg/l)	DQOs (mg/l)	AGV totales (como DQO, mg/l)	enterococos fecales (UFC/100ml)
Lodo primario lavado micronizado	21150	1683	140	1543	233	Incontable
Inóculo lavado	16340	1840	184	1656	153	Incontable

4.6 Variables de respuesta

Para conocer las transformaciones que realizan los microorganismos durante los experimentos se planteó determinar las siguientes variables para evaluar el desempeño del sistema: Sólidos suspendidos totales (SST), sólidos disueltos totales (SDT), sólidos suspendidos volátiles (SSV), demanda química de oxígeno total (DQOt), disuelta (DQOd) y

suspendida (DQOs), ácidos grasos volátiles (AGV). Los indicadores de patogenicidad seleccionados son: Enterococos fecales y *Salmonella spp.*

De acuerdo con Morris (1985), un indicador característico del proceso de acidificación corresponde a la producción de AGV. Para determinar el comportamiento de las fracciones de material orgánico que se transforman en AGV se determinaron los cocientes de las concentraciones de AGV (como DQO teórica) entre las concentraciones correspondientes de DQO total (Banister y Pretorius, 1998). Von Münch *et al.* (1999a) utilizan el concepto de concentración de AGV que se produce por unidad de tiempo (tasa de producción de AGV) para analizar la actividad del sistema. Para calcular la DQO teórica a partir de las especies de AGV se utilizan las relaciones entre peso molecular y DQO teórica para oxidar a CO₂ y agua los AGV (Moser-Engeler *et al.*, 1998).

El grado de acidificación es la relación entre la concentración de AGV (expresados como DQO) producidos durante la reacción en el medio entre la DQO total que es introducida al sistema (ecuación 4.2). El grado de acidificación se expresa en por ciento y la producción de AGV y la DQO influente en mg/d.

$$\text{Grado de acidificación} = \frac{\text{Producción de AGV como DQO}}{\text{DQO que ingresa al sistema}} \quad (4.2)$$

4.7 Técnicas analíticas

Las determinaciones analíticas se realizarán con base en los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, AWWA, WPCF 1992), esta actividad se llevó a cabo en el laboratorio de la coordinación de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería. El detalle de las técnicas analíticas se presenta en la Tabla 4.4. Se describirá el equipo utilizado para la determinación de ácidos grasos volátiles, así como el procedimiento que se intentó realizar para la determinación de *Salmonella spp.* Debido a que esta se llevó a cabo por medio de la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) por sus siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*. Dicha actividad se llevó a cabo en el laboratorio de inmunología y microbiología de la Facultad de Medicina. Cabe mencionar que solamente se llegó a la etapa de estandarización ya que no se logró determinar *Salmonella spp.*, debido a los problemas que se presentaron al utilizar dicha técnica.

Tabla 4.4. Técnicas analíticas para medición de parámetros

Parámetro	Técnica
pH	Medición directa con potenciómetro (APHA 4500)
Temperatura	Medición directa con termómetro de mercurio
Demanda Química de Oxígeno total, soluble – DQO	Digestión por reflujo cerrado (150°C) con soluciones A y B de la compañía Merck determinación por fotometría a 445nm (APHA 5220-C) La diferencia entre el análisis de la DQO _T y DQO _s es que la muestra es filtrada para separar los sólidos en suspensión, antes de calentarse.
*Ácidos Grasos Volátiles – AGV	Determinación por cromatografía de gases (6010 C de APHA, AWWA y WPCF, 1992). Columna capilar en sílice fundida ZB-FFAP.
Sólidos	Gravimetría, los sólidos suspendidos totales son retenidos en papel filtro de microfibra de vidrio (1.6µm) secados a 103-105°C (APHA, 2540-D). Sólidos disueltos totales se determinan como cantidad de sólidos en peso seco, que atraviesan el filtro. El contenido orgánico para sólidos totales y suspendidos, se determinará incinerando las muestras a una temperatura de 550±50 °C durante 15 minutos.
* <i>Salmonella spp.</i>	Técnica de PCR reacción en cadena de la polimerasa, (Bainbridge, 2000).
enterococos fecales	Filtración en membrana de acetato de celulosa (0.45µm) y siembra en agar KF (BBL), incubación a 35 °C en estufa durante 48 h (APHA, 1998)

*Para la determinación de AGV se utilizó un cromatógrafo SRI Modelo 8610C que usa helio como gas transportador (aproximadamente 40 ml/min de flujo) a una temperatura de 112°C +/- 2°C. Cuenta con un detector FID (Flame Ionization Detector) y como gas se utilizó hidrógeno. Columna marca Zebron (Columna capilar en sílice fundida ZB-FFAP) cuyas dimensiones son 15 m de longitud y 0.53 mm de diámetro interno con espesor de película de 1.0 µm; posee polietilenglicol modificado a tereftalato y tiene un límite de detección de 1 ppm (1 mg/l). La solución estándar utilizada fue preparada con ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico en aproximadamente 499 ppm, 198 ppm y 198 ppm, respectivamente.

*La técnica utilizada para determinar *Salmonella spp.* se describe a continuación: El desarrollo de tecnologías moleculares basadas en ADN se ha visto favorecida por la disponibilidad de una mayor cantidad de marcadores. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa, o PCR, es de gran utilidad ya que, mediante la utilización de dos *primers*, permite multiplicar de manera exponencial segmentos específicos de la cadena de ADN.

Posteriormente mediante sucesivas repeticiones del proceso (reacción en cadena) se obtienen miles de millones de copias que posteriormente sirven para un análisis. Estas copias se generan *in vitro* por reacción enzimática sin requerir de células como en la clonación. Los pasos que siguen estas reacciones son: como primer paso la doble hélice del ADN se desnaturaliza y se separan los enlaces no covalentes entre las cadenas por acción de la temperatura (95°C); después sigue la fase de anillamiento que se activa a una temperatura entre 50°C y 60°C según los *primers* y en la que dichos *primers* se insertan en el extremo 3' para continuar con la cadena nucleotídica del fragmento que se quiere amplificar. Posteriormente las secuencias se polimerizan con la enzima *Taq* polimerasa a una temperatura de 72°C. El producto de esta polimerización sirve para repetir el procedimiento y generar muestras cada vez más puras del segmento de interés. Una de las ventajas de esta técnica es su rapidez (White *et al.*, 1989). Además se realiza la electroforesis, cuyo principio básico consiste en la migración de las moléculas a través de un gel u otro tipo de matriz de naturaleza porosa en el cual, por acción de un campo eléctrico, se separan de acuerdo con su carga neta y tamaño o peso molecular. La migración de los fragmentos en los geles es inversa al peso molecular de la banda (las pequeñas avanzan más rápidamente). Esto permite visualizar las moléculas a manera de bandas. En biología molecular la mayoría de los estudios básicos y aplicados requieren el uso de la electroforesis; sin embargo, este procedimiento presenta variaciones de acuerdo con el tipo de estudio que se desea ejecutar (Madigan *et al.*, 2001).

De acuerdo con la descripción anterior se realizó la estandarización para determinar la presencia de *Salmonella spp.* en los lodos estudiados. Para ello se realizó la extracción y purificación de ADN genómico de una muestra estándar de *Salmonella spp.* Se verificó la presencia y calidad de ADN genómico por medio de geles de agarosa al 2% con 3 µl del extracto, corridos a 80 V por aproximadamente 45 minutos y tiñendo con bromuro de etidio (0.5 µg/ml). Posteriormente se realizó la amplificación del gen utilizando *primers* específicos para *Salmonella spp.* incluyendo controles negativos y positivos.

4.7.1 Análisis estadístico

Se aplicaron pruebas estadísticas para comparar el efecto de los tratamientos sobre SST, SDT, SSV, DQOt, DQOd, DQOs, AGV, enterococos fecales y relación DQOd/SST del sustrato. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA), para lo cual fue necesario obtener las

medias de cada parámetro por el método de mínimos cuadrados así como pruebas múltiples rangos para determinar cuales medias resultaban significativamente diferentes de otras. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Statgraphics Centurión XV.

5 RESULTADOS

Ya que la composición de los lodos es variable y depende de muchos factores, la facilidad o dificultad para el inicio de la degradación biológica de la materia orgánica compleja es decisiva para iniciar el proceso con una mayor o menor velocidad. Sabiendo que los AGV son los precursores del biogás por bacterias metanogénicas, con el fin de mejorar la producción de AGV, se ha estudiado el efecto de diversos pretratamientos modificando las características físicas y químicas de lodos primarios en espera de una mayor conversión de compuestos orgánicos complejos, particularmente en la etapa hidrolítica de la digestión anaerobia del lodo (Kida *et al.*, 1997).

Con los resultados obtenidos se determinó el pretratamiento de lodos que mejore la producción de AGV en el sistema. Se ajustaron tres diferentes concentraciones de SST de aproximadamente 3000 mgSST/l (diferentes diluciones en volúmenes de 150, 100 y 50 ml) para el sustrato y 1500 mgSST/l de inóculo (suspendidos en 50 ml en cada experimento). Durante los 5 días que duró cada experimento se realizaron determinaciones de las variables de respuesta tales como DQO total (DQOt), disuelta (DQOd) y suspendida (DQOs), SST, SDT y SSV, AGV y enterococos fecales. De acuerdo con los valores obtenidos de las variables de respuesta (Tablas 1, 2 y 3 del Anexo I), de manera general se puede observar que en los tres pretratamientos (lodos lavados, lodos lavados pasteurizados y lodos lavados

micronizados) se presentó remoción de materia orgánica, lo que se manifestó en la disminución de la DQO total, suspendida y sólidos suspendidos totales. En cuanto a los sólidos suspendidos volátiles, sólidos disueltos totales y DQO disuelta se presentó un aumento. A continuación se describe con detalle el comportamiento de cada uno de los parámetros analizados.

5.1 Demanda química de oxígeno (DQO)

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 una particulada (Metcalf y Eddy, 2004). Se puede destacar que la DQO total incluye compuestos carbonos disueltos como ácidos grasos, compuestos orgánicos y particulados tales como microorganismos y material coloidal. Por otro lado la DQO disuelta comprende generalmente al material carbonoso fácilmente biodegradable como AGV y otros más complejos, así como una fracción no biodegradable. Esta fracción disuelta es importante 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, 2004).

La remoción de DQO total básicamente se lleva a cabo por reacciones de descarboxilación en donde los metabolitos pierden una molécula de carbono con la consecuente producción de CO_2 y H_2 que no son cuantificados como DQO. La fracción de DQO disuelta puede ser removida por su incorporación a los microorganismos como sustrato para funciones catabólicas y anabólicas. La hidrólisis de sólidos en suspensión transforma la DQO suspendida en DQO disuelta, lo cual no representa una remoción neta de DQO total (Wanner, 1994; Wentzel y Ekama, 1997).

Para llevar un control de la cantidad de compuestos totales y solubles en el agua residual que se transforman en las unidades experimentales, se monitorearon la DQO total y disuelta diariamente. La suspendida se determinó por medio de la diferencia entre la total y la disuelta.

En la Figura 5.1 se integran los resultados de los tres pretratamientos para DQO disuelta y, de manera general, se observa que hay un aumento en todos los casos. La Figura 5.2 muestra la disminución de la DQO suspendida en todos los pretratamientos. Los valores con los que se construyeron las figuras 5.1 y 5.2 se encuentran en las tablas 1, 2 y 3 del Anexo I.

La Tabla 5.1 muestra los valores de las pendientes de cada uno de los casos de las figuras 5.1 y 5.2 (tres pretratamientos para DQO disuelta y suspendida). Las tablas 1, 2 y 3 del Anexo 1 contienen todos los resultados incluidos los valores de la DQO total.

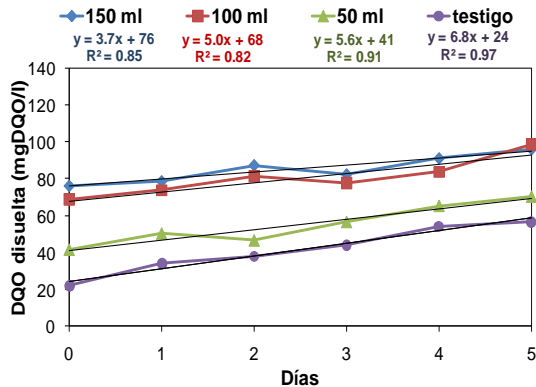
Los valores de las pendientes de DQO total indican una disminución (signo negativo) y son mayores en los lodos solamente lavados, lo que significa que la remoción de DQOt es más rápida en comparación con los pretratamientos pasteurizado y micronizado. Esta afirmación solamente tiene la excepción del caso de lodos micronizados con la concentración correspondiente a 100 ml de volumen de muestra.

Tabla 5.1. Valores de las pendientes de DQO total, disuelta y suspendida para los tres pretratamientos (ver tablas 1, 2 y 3 del Anexo I y figuras 5.1 y 5.2).

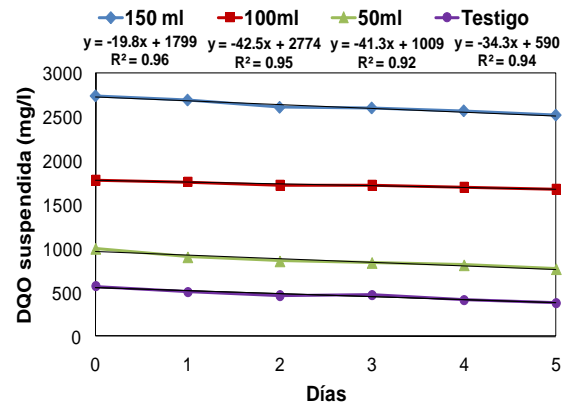
Volumen de sustrato (ml)	Lodos lavados			Lodos pasteurizados			Lodos micronizados		
	DQOt (mg/l·d)	DQOd (mg/l·d)	DQOs (mg/l·d)	DQOt (mg/l·d)	DQOd (mg/l·d)	DQOs (mg/l·d)	DQOt (mg/l·d)	DQOd (mg/l·d)	DQOs (mg/l·d)
Testigo	-14.8	6.8	-34.3	-16.6	4.3	-27.2	-19.0	2.5	-22.2
50	-35.7	5.6	-41.3	-22.2	5.0	-31.0	-18.0	5.2	-23.7
100	-27.5	5.0	-42.5	-19.3	4.7	-24.0	-22.0	4.5	-26.5
150	-38.8	3.7	-19.8	-26.0	9.6	-35.5	-16.0	3.0	-19.0

En el caso de la DQO disuelta (DQOd) se observa que, en general y sin grandes diferencias, los valores más bajos los presentan los lodos micronizados. No es posible identificar una tendencia de estos valores con respecto a la concentración de lodos en cada experimento.

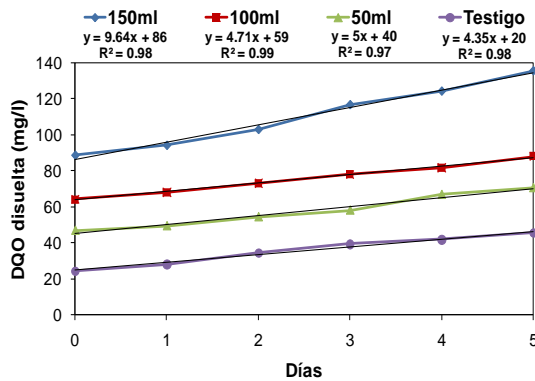
La DQO suspendida (DQOs) muestra valores cambiantes sin una tendencia definida con respecto a la concentración inicial de los experimentos. Sí se identifica que las mayores tasas de reducción de DQOs corresponden a los lodos lavados siguiendo los pasteurizados y, por último, los micronizados. La explicación que se puede dar a estos comportamientos es que, por acción de los microorganismos activos en los lodos, el material suspendido es hidrolizado y solubilizado conforme transcurre la reacción.



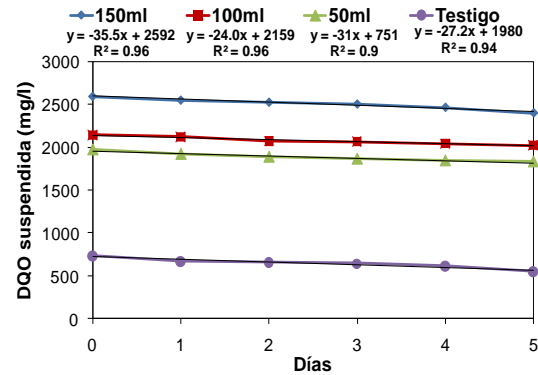
a) Lodos lavados



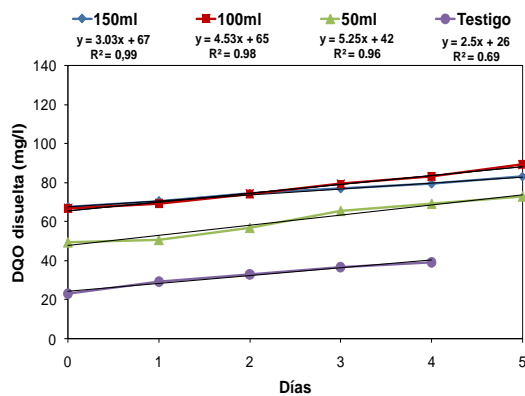
a) Lodos lavados



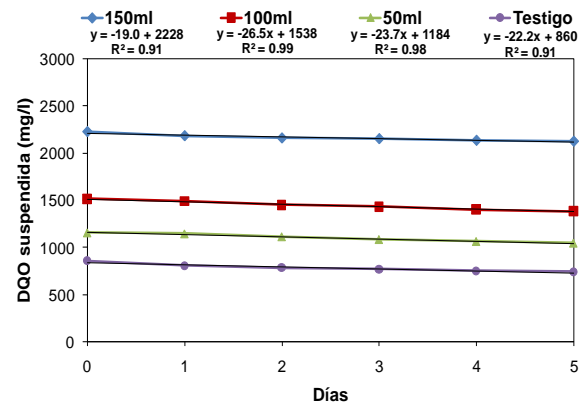
b) Lodos pasteurizados



b) Lodos pasteurizados



c) Lodos micronizados



c) Lodos micronizados

Figura 5.1. Comportamiento de la DQO disuelta en los tres pretratamientos

Figura 5.2. Comportamiento de la DQO suspendida en los tres pretratamientos

En los siguientes capítulos se describe con más detalle el comportamiento de las diferentes fracciones de DQO para cada uno de los pretratamientos.

5.1.1 Lodos lavados

La tendencia de la DQO total es a disminuir, con respecto al tiempo de reacción, en todos los casos analizados. Los datos completos se presentan en la Tabla 1 del Anexo I. A partir de esos valores se obtuvieron las pendientes de DQOt para los lodos lavados (Tabla 5.1). Dichas pendientes indican la rapidez de consumo de la DQOt sin hacer diferencia entre el tipo de material carbonoso que representa ya sea soluble o particulado. Se observa que para el volumen de 150 ml la rapidez de consumo fue mayor (-38.8 mgDQO/l-d), seguida por el volumen de 50 ml (-35.7 mgDQO/l-d), 100ml (-27.5 mgDQO/l-d) y finalmente para el testigo (-14.8 mgDQO/l-d), lo cual indica que a mayor concentración de sustrato (lodos) la hidrólisis se lleva a cabo más rápido.

Algunos valores de remoción mencionados en literatura son el caso de Alexiou *et al.* (1994), quienes reportan que la remoción de DQOt en la primera fase de la digestión o degradación anaerobia de las aguas residuales municipales oscila entre 10 y 25%. Asimismo Kaijun *et al.* (1994) lograron una remoción de 20% de DQOt para un TRH de 2.7 horas en un reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente para acidificación de aguas residuales municipales. Los valores de remoción de este trabajo no pueden compararse sencillamente con los autores mencionados porque son más bajos que los encontrados en la literatura: 7% para 150ml, 4% para 100ml, 6% para 50ml y 12% para el testigo.

Los valores de las pendientes de la DQO suspendida se presentan en la Figura 5.2a: Se observa la tendencia a disminuir en las diferentes concentraciones de lodos. La velocidad de consumo de DQOs es mayor para 100 y 50 ml con -42.5 y -41.3 mgDQO/l-d, respectivamente. En el testigo la pendiente fue de -34.3 mgDQO/l-d y la menor pendiente se presentó en 150 ml (-19.8 mgDQO/l-d), lo cual indica una posible inhibición por exceso de sustrato por lo que la velocidad de degradación es menor.

La DQO disuelta aumenta de manera inversa con el volumen de muestra (Figura 5.1a) y es mayor en el testigo y menor en el volumen de 150 ml. La pendiente (Tabla 5.1) es mayor en el testigo y esto puede explicarse si se considera que la presencia de lodos inhibe la actividad de los microorganismos del inóculo y que los microorganismos consumen sus reservas en menor tiempo en ausencia de sustrato exógeno.

Los resultados de la remoción de DQOt, DQOs y producción de DQOd (mgDQO/l-d) que se encuentran en la Tabla 1 del Anexo I, para cada volumen de sustrato, se analizaron estadísticamente. Se llevó a cabo la comparación de los datos mediante una prueba múltiple de rangos para homogenizar las medias. En la Tabla 5.2 se muestran las medias de las diferentes fracciones de DQO en cada volumen. A partir de ellas se comparó cuáles son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma letra. En el caso de la DQOd se identificaron 3 grupos homogéneos, según las letras que aparecen en la columna. Lo anterior quiere decir que existen diferencias entre los volúmenes excepto entre 100 y 150 ml con un nivel de confianza del 95%. El análisis de las medias de DQOt muestra que no existe diferencia entre utilizar un volumen de sustrato u otro en la disminución de DQOt, ya que se obtuvieron 4 grupos homogéneos. El caso de la DQOs es el mismo que el de la DQOt. El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a cero.

Tabla 5.2. Comparación múltiple de medias de DQOd, DQOt y DQOs en lodos lavados

Parámetro	Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
DQOd	Testigo	6	41.5	a
	50	6	55.6	b
	100	6	80.8	c
	150	6	85.5	c
DQOt	Testigo	6	512.3	a
	50	6	919.8	b
	100	6	1811.3	c
	150	6	2711.0	d
DQOs	Testigo	6	470.8	a
	50	6	864.6	b
	100	6	1730.3	c
	150	6	2625.5	d

5.1.2 Lodos pasteurizados

La DQO total disminuye con respecto al tiempo de reacción en los cuatro volúmenes utilizados. Los datos completos se presentan en la Tabla 2 del Anexo I. A partir de estos valores se obtuvieron las pendientes de DQOt para los lodos pasteurizados (Tabla 5.1). Dichas pendientes indican la rapidez de consumo de la DQOt. Al compararlas se observó que la rapidez de consumo es mayor en el volumen de 150 ml (-26.0 mgDQO/l·d), seguida por el volumen de 50 ml (-22.2 mgDQO/l·d), 100 ml (-19.3 mgDQO/l·d) y finalmente por el testigo (-16.6 mgDQO/l·d), lo cual indica que a mayor concentración de sustrato (lodos) la hidrólisis se lleva a cabo más rápido. Es importante hacer notar que durante el proceso de acidificación de las aguas residuales no existe una reducción apreciable de DQOt, ya que es simplemente una conversión de un tipo de compuesto orgánico a otro.

La DQO suspendida, disminuye con respecto al tiempo de reacción. Esto ocurrió en los cuatro volúmenes de sustrato manejados (Figura 5.2b). Asimismo se obtuvieron las pendientes que indican la rapidez con la que se degrada la DQOs (Tabla 5.1). Dichas pendientes muestran valores cambiantes sin una tendencia definida con respecto al volumen de sustrato, ya que en el volumen de 150ml la pendiente resultó de -35.5 mgDQO/l·d, en 100 ml de -24 mgDQO/l·d, en 50 ml y testigo -31 y -27.2 mgDQO/l·d respectivamente. Sin embargo, en todos los casos se presenta una disminución, lo cual indica que el material suspendido es hidrolizado y solubilizado.

Hay un aumento de la DQO disuelta (Figura 5.1b). Al analizar las pendientes (Tabla 5.1) se observó que la rapidez de producción de DQOd es mayor en el volumen de 150 ml (9.6 mg DQO/l·d) comparado con el testigo donde no hay sustrato (4.3 mgDQO/l·d). En este caso, a diferencia de los lodos solamente lavados, el consumo de sustrato se llevó a cabo con una mayor rapidez al aumentar la concentración de sustrato. De acuerdo con Dionisio *et al.* (1997) hay diferencias en la producción de DQOd debido a la concentración de sustrato; utilizaron diferentes concentraciones de sustrato con un TRH de 6 horas y reporta que la concentración de biomasa y la rapidez específica de crecimiento estuvieron en función de la cantidad de sustrato inicial.

Penaud *et al.* (1997) trabajaron con un TRH de 10 días manteniendo la temperatura y el pH constante a 35°C y 8.5°C respectivamente, encontraron que la actividad de la población

microbiana incrementó con el sustrato inicial. Más sustrato fue consumido para formación de biomasa cuando se incrementó la cantidad de este en un influente de agua residual de la industria farmacéutica.

Los valores de DQO (mgDQO/l-d) en sus diferentes fracciones que se encuentran en la Tabla 2 del Anexo I, para cada volumen de sustrato, fueron analizados estadísticamente. Se realizó la comparación de las medias. En la Tabla 5.3 se observan las medias de producción de DQOd para cada volumen, se identificaron 4 grupos homogéneos, lo que indica que la producción de DQOd no es afectada por el volumen de sustrato. Lo mismo se observó para la DQOt y para la DQOs. El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa de Fisher.

Tabla 5.3. Comparación múltiple de medias de DQOd, DQOt y DQOs en lodos pasteurizados

Parámetro	Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
DQOd	Testigo	6	35.5	a
	50	6	57.6	b
	100	6	75.5	c
	150	6	110.5	d
DQOt	Testigo	6	678.8	a
	50	6	1942.6	b
	100	6	2150.3	c
	150	6	2614.3	d
DQOs	Testigo	6	643.5	a
	50	6	1885.0	b
	100	6	2075.0	c
	150	6	2503.8	d

5.1.3 Lodos micronizados

Al igual que en los pretratamientos anteriores con los lodos micronizados, la tendencia de la DQO total es a disminuir en todos los casos analizados. Los datos completos se presentan en la Tabla 3 del Anexo I. A partir de estos valores se obtuvieron las pendientes de DQOt para lodos micronizados (Tabla 5.1). Estas pendientes indican la rapidez de consumo de la DQOt. Se observa que la pendiente de menor valor se presentó en el volumen de 150 ml, en las otras muestras, no es posible identificar una tendencia de los valores con respecto a la concentración de sustrato.

La DQO suspendida disminuye conforme transcurre el tiempo de reacción, tal como se observa en la Figura 5.2c. Cabe señalar que en dicha figura se descartó el último valor de DQOs correspondiente al testigo, ya que se presentó un error en la determinación de este parámetro. Ahora bien, los valores de las pendientes que se observan en la Tabla 5.1, indican que la DQOs disminuye de manera inversa al volumen de la muestra y es mayor en el testigo que en el volumen de 150 ml. Lo cual se debe a que los microorganismos consumen sus reservas en menor tiempo que con la presencia de sustrato.

La DQO disuelta incrementa en los cuatro volúmenes analizados y esto se observa en la Figura 5.1c. El aumento corresponde al material disuelto que se ha obtenido por hidrólisis del sustrato en suspensión, coloidal y soluble de mayor masa molecular y material soluble, producto de la hidrólisis de componentes celulares. Con relación a la pendiente (Tabla 5.1), no se identifica una tendencia con respecto a la concentración de sustrato.

Se aplicó un análisis estadístico a los valores de DQOd, DQOt y DQOs. Los datos utilizados para dicho análisis se encuentran en la Tabla 3 del Anexo I. En la Tabla 5.4 se distingue que la producción de DQOd presenta 3 grupos homogéneos lo cual quiere decir que si existen diferencias significativas en la producción de DQOd entre volúmenes excepto entre 100 y 150 ml. En el caso de la DQOt y DQOs se presentan diferencias significativas en la remoción de materia orgánica dependiendo del volumen de sustrato, ambos casos presentan cuatro grupos homogéneos. Se empleó el método de de diferencia mínima significativa de Fisher para discriminar medias.

Tabla 5.4. Comparación múltiple de medias de DQOd, DQOt y DQOs en lodos micronizados

Parámetro	Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
DQOd	Testigo	6	32.5	a
	50	6	60.8	b
	100	6	75.3	c
	150	6	76.8	c
DQOt	Testigo	6	815.3	a
	50	6	1161.8	b
	100	6	1522.3	c
	150	6	2237.0	d
DQOs	Testigo	6	783.0	a
	50	6	1101.1	b
	100	6	1445.5	c
	150	6	2161.6	d

5.2 Sólidos (como masa seca)

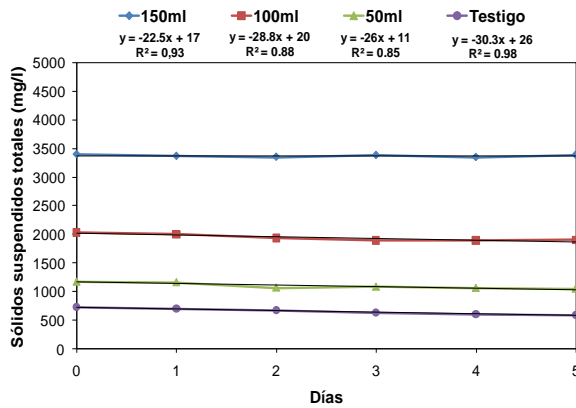
Los sólidos suspendidos totales del agua residual incluyen a todos aquellos sólidos que son retenidos en un filtro de $0.45 \mu\text{m}$ y pueden contener a las fracciones orgánica e inorgánica. La fracción orgánica esta referida a la biomasa como bacterias, flóculos de bacterias, algas y componentes 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, 1992). Los sólidos contenidos en el líquido filtrado que pasa a través de un filtro con un tamaño nominal del poro de $2.0 \mu\text{m}$ o menos se clasifican como disueltos (Standard Methods, 1998). Los sólidos en el sistema se determinaron como SST, SSV y SDT diariamente durante el tiempo de reacción.

En la Figura 5.3, se integran los resultados de los tres pretratamientos para los SST y, de manera general, se observa que hay una disminución en todos los casos. Las pendientes de las rectas son todas negativas. Lo que indica que, por acción de los microorganismos activos en los lodos, el material suspendido es hidrolizado durante el tiempo de reacción. Las pendientes resumidas en la Tabla 5.5 no muestran un comportamiento definido dependiendo de la concentración inicial de sustrato. Se determinó que las mayores tasas de reducción de SST se presentaron en lodos lavados. Esta afirmación no se cumple en la concentración correspondiente a 100 ml de volumen de muestra.

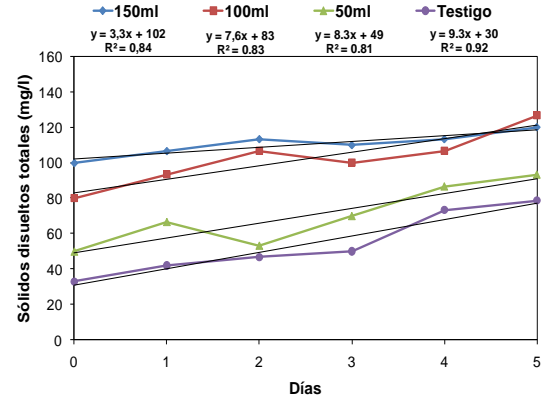
El comportamiento de los SDT se encuentra en la Figura 5.4 y en todos los pretratamientos las pendientes de las rectas son positivas, lo cual indica que independientemente del pretratamiento, sustancias orgánicas disueltas son liberadas y hay producción de AGV. Las pendientes se resumen en la Tabla 5.5 y de acuerdo con los valores obtenidos, no hay una tendencia clara respecto a la concentración de sustrato en cada experimento. Los valores con los que se construyeron las figuras 5.3 y 5.4 se encuentran en las tablas 1,2 y 3 del Anexo I.

En la Tabla 5.5 se observan los valores de las pendientes del incremento en SSV. Los valores con los que se obtuvieron las pendientes se encuentran en las tablas 1, 2 y 3 del Anexo I. De manera general se distingue que los valores en las pendientes de SSV son mayores en el tratamiento de lodos solamente lavados, lo que significa que la producción de SSV es más rápida en comparación con los pretratamientos pasteurizado y micronizado. En

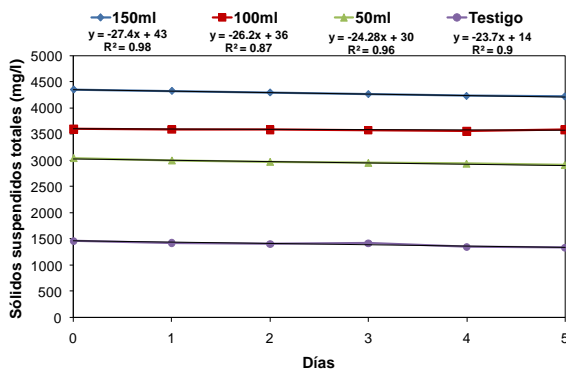
los siguientes capítulos se describe con más detalle el comportamiento de las diferentes fracciones de sólidos para cada uno de los pretratamientos.



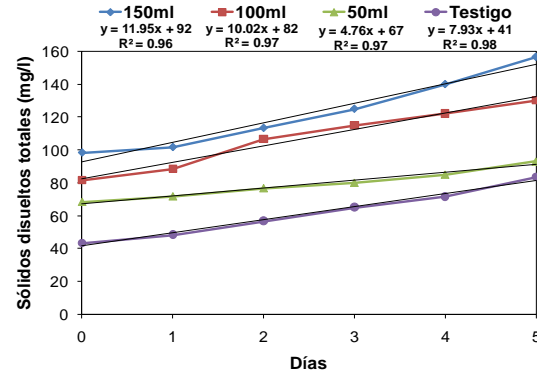
a) Lodos lavados



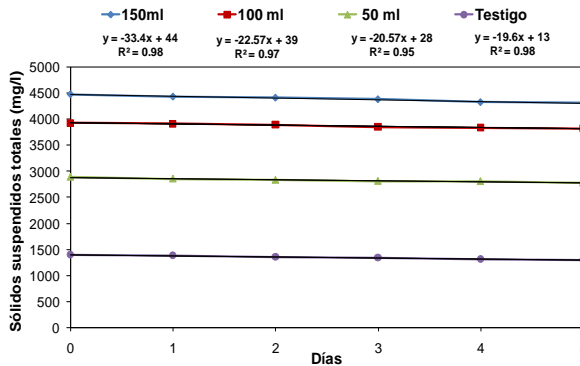
a) Lodos lavados



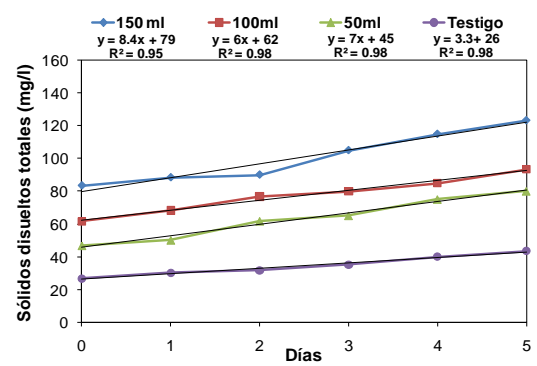
b) Lodos pasteurizados



b) Lodos pasteurizados



c) Lodos micronizados



c) Lodos micronizados

Figura 5.3. Valores de SST para los tres pretratamientos.

Figura 5.4. Valores de SDT para los tres pretratamientos.

5.2.1 Lodos lavados

Se observa en todos los casos una relación directa de disminución de sólidos suspendidos totales respecto al tiempo de reacción. Los datos completos se presentan en la Tabla 1 del Anexo I.

Tabla 5.5. Valores de las pendientes de SST, SDT y SSV en los tres pretratamientos (ver tablas 1,2 y 3 del Anexo I y figuras 5.3 y 5.4).

Volumen (ml)	Lodos lavados			Lodos pasteurizados			Lodos micronizados		
	SST (mg/l·d)	SDT (mg/l·d)	SSV (mg/l·d)	SST (mg/l·d)	SDT (mg/l·d)	SSV (mg/l·d)	SST mg/l·d	SDT mg/l·d	SSV mg/l·d
Testigo	-30.3	9.3	15.0	-23.7	7.9	19.0	-19.6	3.3	20.0
50	-26.0	8.3	33.7	-24.3	4.7	22.7	-20.5	7.0	20.0
100	-28.8	7.6	40.5	-26.2	10.0	28.2	-22.5	6.0	26.2
150	-22.5	3.3	97.6	-27.4	11.9	35.0	-33.4	8.4	22.0

A partir de esos valores se obtuvieron las tendencias y pendientes para los lodos solamente lavados (Tabla 5.5). Dichas pendientes indican la remoción de los SST debido al proceso de hidrólisis, con el consecuente aumento de los sólidos disueltos totales.

En la Figura 5.3a se observa que durante de los días de experimentación se presenta una tendencia a la disminución de los sólidos suspendidos totales. Este comportamiento concuerda con resultados obtenidos por Moeller et al (2002) quienes mencionan que los sólidos suspendidos contenidos en los lodos primarios son fácilmente transformados bajo condiciones anaerobias sin mucho esfuerzo incluyendo algún pretratamiento. Las pendientes de la Figura 5.3a indican que la velocidad de consumo es mayor para el testigo (-30.3 mgSST/l·d) seguida por la muestra de 100 ml (-28.8 mgSST/l·d), en 50 ml -26.0 mgSST/l·d y para el volumen de 150 ml se presentó la menor pendiente (-22.5 mgSST/l·d). No es posible relacionar la velocidad de remoción de SST a partir del volumen de sustrato utilizado.

Los valores de las pendientes de sólidos disueltos totales aumentan de manera inversa al volumen (Figura 5.4a) y es mayor en el testigo y menor en el volumen de 150 ml. Esto se puede deber a un proceso de inhibición por el sustrato. Este resultado es comparable al obtenido en DQOd.

Los valores de las pendientes de SSV se presentan en Tabla 5.5. La tendencia de estos valores es a incrementarse con respecto a la concentración de lodos primarios. Lo anterior

se traduce como un aumento de la fracción orgánica contenida dentro de los lodos y/o microorganismos. En el caso de los valores de las pendientes de los SSV es importante mencionar que los lodos primarios no fueron sometidos a un tratamiento (como en el caso de los otros) y los microorganismos que se encuentran en ellos pueden estar activos y participar en el proceso bioquímico junto con los microorganismos del inóculo. Según las pendientes de la Tabla 5.5, la velocidad de producción de SSV es mayor conforme aumenta el sustrato. Lo cual indica que a mayor concentración de sustrato (lodos) la hidrólisis se lleva a cabo más rápido.

Para determinar si en la remoción de SST o en el aumento de SSV y SDT existen diferencias significativas se aplicó un análisis estadístico basado en el procedimiento de diferencia mínima significativa de Fisher que es un método empleado para discriminar entre las medias. En la Tabla 5.6 se aprecian los resultados de la remoción de SST y, según los grupos homogéneos resultantes, sí existen diferencias significativas entre los diferentes volúmenes. Lo mismo ocurrió en el aumento de los SSV. En el caso de los SDT aparecen 3 grupos homogéneos, donde para los volúmenes de 100 y 150 ml el aumento de SDT es igual. Por su parte el volumen de 50 ml y la muestra testigo sí presentan diferencias significativas en la producción de SDT.

Tabla 5.6. Comparación múltiple de medias de SST, SDT y SSV en lodos lavados

Parámetro	Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
SST	Testigo	6	651.1	a
	50	6	1096.6	b
	100	6	1939.8	c
	150	6	3370.0	d
SDT	Testigo	6	54.0	a
	50	6	70.0	b
	100	6	102.3	c
	150	6	110.5	c
SSV	Testigo	6	490.9	a
	50	6	726.6	b
	100	6	1679.8	c
	150	6	2519.1	d

5.2.2 Lodos pasteurizados

El comportamiento de los diferentes tipos de sólidos es similar al que se presentó en los lodos solamente lavados. A continuación se describe la tendencia de cada uno de ellos.

Los SST tienden a disminuir, con respecto al tiempo de reacción, en los cuatro volúmenes utilizados. Los datos completos se presentan en la Tabla 2 del Anexo I. A partir de estos valores se construyó la Figura 5.3b y se obtuvieron las pendientes de las rectas de los SST en los lodos pasteurizados (Tabla 5.5). Dichas pendientes indican la rapidez de consumo de SST. Se observa que la rapidez de remoción fue mayor en el volumen de 150 ml (-27.4 mgSST/l·d), seguida por 100 ml (-26.2 mgSST/l·d), 50 ml (-24.2 mgSST/l·d) y menor en el testigo (-23.7 mgSST/l·d).

La producción de SDT (Figura 5.4b) se observa en todos los volúmenes y las pendientes indican que la rapidez con la que estos aumentan es mayor en 150 ml (11.9 mgSST/l·d), seguida por el volumen de 100 ml (10.0 mgSST/l·d), testigo (7.9 mgSST/l·d) y finalmente para 50 ml (4.7 mgSST/l·d). Esto indica que a menor concentración de lodos (sustrato) la rapidez de producción de SDT es menor.

Los valores del aumento en SSV se presentan en la Tabla 2 del Anexo I. La tendencia de estos valores es a incrementarse, con respecto al tiempo de reacción. Con esos datos se obtuvieron las pendientes que se indican en la Tabla 5.5 y se observa que la velocidad de producción de SSV es mayor conforme aumenta el sustrato. Lo anterior indica que a mayor concentración de sustrato la hidrólisis se lleva a cabo más rápido.

En la Tabla 5.7 se presentan los resultados de los análisis estadísticos de SST, SDT y SSV para cada volumen de sustrato. En el caso de los SST y SDT se observa que, de acuerdo con los grupos homogéneos, la remoción y aumento de sólidos (respectivamente) es igual en los volúmenes de 100 y 150 ml y se presentan diferencias significativas en el volumen de 50 ml y testigo. El aumento de SSV presenta diferencias significativas entre todos los volúmenes de sustrato utilizados.

5.2.3 Lodos micronizados

Existe una clara tendencia de los SST a disminuir en todos los volúmenes utilizados (Figura 5.3c). Los datos completos se presentan en la Tabla 3 del Anexo I. A partir de estos valores se obtuvieron las pendientes de las rectas de SST. Se observa que, en general y sin grandes diferencias el valor más alto se presentó en el volumen de 150 ml, lo que indica que a mayor concentración de sustrato la hidrólisis ocurre con mayor rapidez.

Tabla 5.7. Comparación múltiple de medias de SST, SDT y SSV en lodos pasteurizados

Parámetro	Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
SST	Testigo	6	166.8	a
	50	6	198.5	b
	100	6	280.1	c
	150	6	286.0	c
SDT	Testigo	6	61.1	a
	50	6	79.1	b
	100	6	107.3	c
	150	6	122.5	c
SSV	Testigo	6	549.0	a
	50	6	1926.1	b
	100	6	2171.6	c
	150	6	2849.3	d

La producción de SDT (Figura 5.4c) también se llevó a cabo en todos los volúmenes y las pendientes indican que la rapidez con la que estos aumentan es mayor en 150 ml (8.4 mgSST/l·d), seguida por el volumen de 50 ml (7.0 mgSST/l·d), 100 ml (6.0 mgSST/l·d) y finalmente para testigo (3.3 mgSST/l·d). Sin grandes diferencias entre los valores, lo anterior indica que a mayor concentración de lodos (sustrato) la rapidez de producción de SDT es mayor.

Se obtuvieron las pendientes de SSV para los lodos micronizados (Tabla 5.5), a partir de los valores que se presentan en Tabla 3 del Anexo I. En todos los volúmenes de sustrato utilizados los valores de SSV aumentan, con respecto al tiempo de reacción. Los valores de las pendientes de SSV indican que la mayor rapidez de aumento en los SSV, se presentó en el volumen de 100 ml (26.2 mgSST/l·d), fue menor en el testigo y en el volumen de 50 ml ambos con 20 mgSST/l·d. Las diferencias entre los valores de las pendientes son tan pequeñas que no es posible identificar una tendencia.

De acuerdo con los valores obtenidos en los análisis estadísticos, en la Tabla 5.8 se observa que si existen diferencias significativas en la remoción de SST con respecto al volumen de sustrato utilizado; esto se indica con la letra que aparece en la columna de grupos homogéneos. Lo mismo ocurrió en SDT y SSV.

Tabla 5.8. Comparación múltiple de medias de SST, SDT y SSV en lodos micronizados

Parámetro	Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
SST	Testigo	6	1310.8	a
	50	6	2828.3	b
	100	6	3871.6	c
	150	6	4388.3	d
SDT	Testigo	6	34.5	a
	50	6	63.1	b
	100	6	77.5	c
	150	6	100.6	d
SSV	Testigo	6	468.0	a
	50	6	1541.8	b
	100	6	1711.6	c
	150	6	2840.0	d

5.3 Relación DQO suspendida y SST entre pretratamientos

La relación de DQO suspendida con respecto a los sólidos suspendidos totales indica la cantidad de material orgánico oxidable contenida en los sólidos suspendidos totales.

A partir de los valores de SST y DQOs que se encuentran en las Tablas 1, 2 y 3 del Anexo I se construyó la Figura 5.5, en la cual se presentan los datos para cada uno de los tratamientos y volúmenes de la relación DQOs/SST.

Los datos puntuales de cada volumen indican la cantidad de DQOs que está contenida en los SST en los diferentes pretratamientos utilizados. En la Figura 5.5 se observa que a mayor concentración de sustrato aumenta la DQOs contenida en los SST. Es así como el primer conjunto de datos de cada pretratamiento corresponde a la relación DQOs/SST del testigo, el segundo grupo a 50 ml, el tercero a 100 ml y, finalmente, el de 150 ml. Los grupos de datos se unieron con una línea recta con el fin de distinguir la tendencia que presentan. En la figura 5.5 se aprecia que en los tres pretratamientos la relación es lineal y solamente el conjunto de datos del volumen de 150 ml en el pretratamiento de lodos micronizados se encuentra ligeramente alejado de la línea de tendencia.

Al comparar los tres pretratamientos se distingue que el contenido de materia orgánica es mayor en lodos lavados, seguido de lodos pasteurizados y finalmente de lodos micronizados. La explicación que se puede dar a este comportamiento es que por acción de los pretratamientos pasteurizado y micronizado hay una reducción de DQOs (pérdida de material

orgánico) que posiblemente es transformada a DQOd por el efecto térmico o mecánico, respectivamente. La relación lineal encontrada en los diferentes casos implica que los experimentos se realizaron de una manera adecuada y que existe una relación congruente entre ellos.

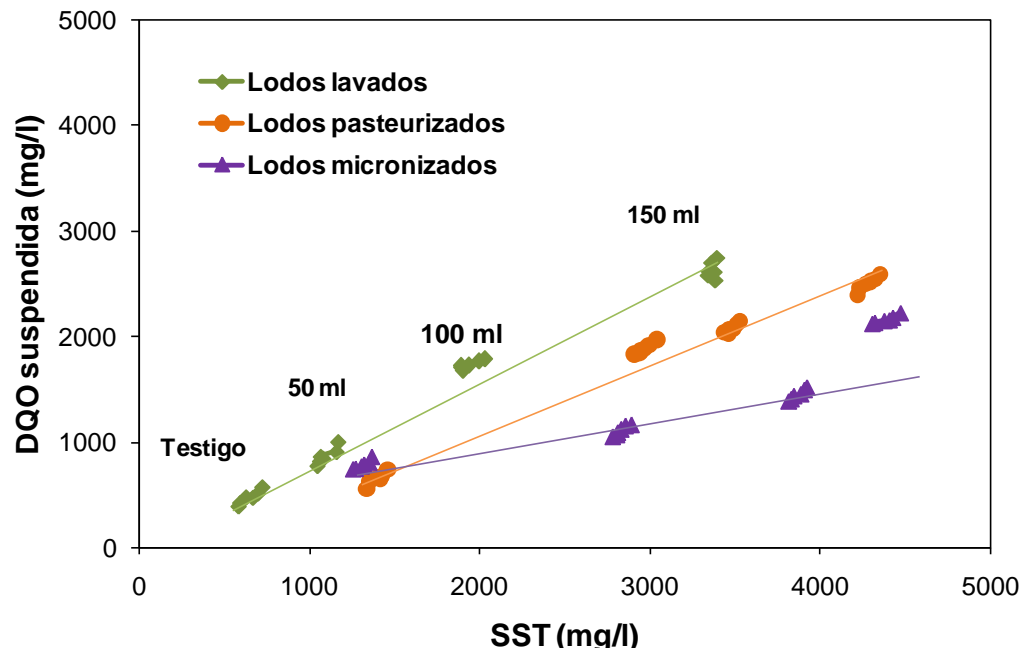


Figura 5.5. Relación de DQO suspendida (mg/l) con respecto a SST (mg/l) en los tres pretratamientos y en cada volumen.

5.4 Ácidos grasos volátiles y pH

La producción de AGV es un proceso característico de la acidificación (Morris, 1985) que está relacionada con la disminución del pH, además de que puede ser relacionado con la remoción de la DQOt y el aumento en la DQOd. Las fracciones soluble y particulada del material orgánico pueden ser empleadas para la producción de AGV en el proceso de hidrólisis. Pérez *et al.* (2004) encontraron la mayor producción total de AGV a pH de 7.0, lo que concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo. Los resultados completos se presentan en la Tabla 5.9. Los valores indican que hubo solubilización de la materia orgánica suspendida presente. Lo anterior se puede comprobar con la remoción de SST y DQOt cuya disminución fue superior a la DQOs. Esto sugiere que los AGV se formaron no sólo a partir del material soluble sino también del material suspendido hidrolizado.

Los valores de producción se expresan como DQO (mg/l) empleando las relaciones entre peso molecular y DQO teórica para oxidar a CO₂ propuestas por Rössle y Pretorius (2001) (Tabla 5.9). La equivalencia usada del ácido acético como DQO (mg/l) fue de 1.06, de 1.51 para ácido propiónico y de 1.81 para el ácido butírico, siendo estas tres especies las que predominaron.

Tabla 5.9. Valores de ácidos grasos volátiles en los experimentos (Acé=acético, Pro=propiónico, But=butírico. Todos los valores están dados como DQO).

	Lodos lavados						Lodos pasteurizados						Lodos micronizados					
	Días	Acé	Pro	But	Suma	pH	Acé	Pro	But	Suma	pH	Acé	Pro	But	Suma	pH		
Testigo	0	0	0	0	0	7.2	12	0	0	12	7.3	14	0	0	14	7.2		
	1	0	0	0	0	7.2	0	0	0	0	7.2	16	0	0	16	7.2		
	2	0	0	0	0	7.1	19	7	2	29	7.1	15	7	2	24	7.1		
	3	0	0	0	0	6.9	20	9	0	29	6.8	0	0	0	0	6.7		
	4	0	0	0	0	6.1	0	0	0	0	6.1	0	0	0	0	6.1		
	5	0	0	0	0	6.1	18	0	0	18	6.1	20	0	0	20	6.1		
50 ml	0	18	9	5	32	7.1	17	7	4	28	7.4	19	7	4	31	7.1		
	1	24	11	7	41	7.0	24	12	7	42	7.1	22	11	6	38	7.1		
	2	23	11	6	40	7.2	22	10	6	38	7.2	22	9	5	36	7.0		
	3	27	14	10	50	7.1	25	13	0	38	7.0	27	13	8	48	7.0		
	4	32	14	11	58	7.0	30	13	10	54	7.0	29	13	10	52	7.0		
	5	39	15	12	65	6.7	35	14	10	59	6.7	33	14	9	56	6.7		
100 ml	0	39	13	6	58	7.1	36	10	8	54	7.1	34	9	4	48	7.1		
	1	41	16	9	66	7.1	33	13	10	56	7.1	36	12	7	55	7.3		
	2	43	15	10	68	6.8	39	12	10	62	6.7	36	11	10	57	6.6		
	3	46	16	9	71	6.1	42	14	0	55	6.2	40	13	7	60	6.2		
	4	53	17	10	80	6.2	49	15	9	73	6.2	47	14	9	70	6.3		
	5	59	18	12	89	6.0	51	16	0	67	6.0	49	15	9	73	6.0		
150 ml	0	36	18	9	63	7.0	38	16	8	62	7.2	33	15	7	54	7.1		
	1	38	17	7	62	7.0	44	20	10	73	7.0	38	17	8	63	7.3		
	2	45	20	12	77	7.0	48	19	11	79	7.0	39	16	9	64	7.0		
	3	43	18	10	71	6.5	46	16	9	71	6.4	41	15	8	65	6.4		
	4	49	20	12	82	6.9	55	0	13	68	6.8	41	16	9	66	6.8		
	5	53	21	13	87	6.3	61	25	14	100	6.2	47	18	9	74	6.2		

La identificación de los ácidos individuales formados es importante porque provee información sobre las rutas metabólicas involucradas en el proceso (Elefsiniotis y Oldham, 1994). Se identificaron los principales ácidos de cadena corta que, usualmente, son los productos de la fermentación acidogénica de lodos primarios como son: acético, propiónico, butírico (Chynoweth y Mah, 1997). En los diferentes pretratamientos y volúmenes el más abundante fue el ácido acético, lo que coincide con la literatura (Chynoweth y Mah, 1997), dado que este es formado directamente de la fermentación de carbohidratos y proteínas así como también de la oxidación anaerobia de lípidos (Elefsiniotis y Oldham, 1994), seguido por

la producción de ácido propiónico que es principalmente formado de carbohidratos pero también puede ser formado durante la digestión de otras clases de compuestos orgánicos (Elefsiniotis y Oldham, 1994).

En general, el tiempo de retención propuesto como más eficiente para la fermentación acidogénica es de 3 días como máximo (Eastman y Ferguson, 1981, Anderson *et al.*, 2003). Skalsky *et al.* (1995) y Rabinowitz *et al.* (1997) observaron que la concentración de AGV se incrementaba con el tiempo de retención de 6 y 10 días. Según Skalsky y Daigger (1995) la temperatura de mayor producción de AGV oscila entre 20 y 23°C.

En este experimento se encontraron diferencias en la producción de AGV de acuerdo con el tipo de pretratamiento aplicado a los lodos. En los lodos solamente lavados se identificaron menores concentraciones de AGV comparada con los pretratamientos de pasteurizado y micronizado ya que, en estas dos últimas, se espera una transformación del material suspendido que sirve como sustrato a los microorganismos del inóculo. Con los pretratamientos de pasteurización y micronización se obtuvo una mayor concentración de AGV probablemente debido a que estos procesos modifican factores tales como el área específica de superficie, la forma de la partícula, distribución del tamaño de partícula y algunos aspectos químicos de los compuestos que componen las células y los compuestos que componen los lodos primarios, los cuales afectan fuertemente el proceso de hidrólisis (Yehuda *et al.*, 2000).

Los datos de la producción total de AGV en cada pretratamiento fueron sometidos a un análisis estadístico y no se encontró diferencia significativa en la concentración de AGV entre los pretratamientos, como se verá en el capítulo de análisis estadísticos en secciones posteriores.

El pH es también una variable importante de diagnóstico de los sistemas anaerobios y éste también es afectado por el tiempo de reacción. En la literatura se reporta que en digestores anaerobios con tiempos de retención bajos el pH disminuye y rebasa el valor de 7 para reactores operados con tiempos de retención de 13 y 21 días (Moeller, 1999). González-Barceló (2004) menciona que para pH de 6.5 y 7.0 se obtienen las mayores remociones de DQO del influente en sus formas total y soluble. Además, si se controla el pH, se favorece a que una mayor fracción del material soluble sea adsorbida por los flóculos en suspensión

(remoción del medio líquido) para que así el material hidrolizado que pasa a través de la membrana celular sea utilizado en mayor proporción para la producción de AGV.

En la presente investigación se determinó diariamente el pH de las muestras. Los datos completos se encuentran en la Tabla 5.9. En ellos se puede observar que no hubo una disminución considerable en este parámetro. El pH promedio inicial fue de 7.0 y el final (día cinco de experimentación) de 6.0. Esto coincide con los datos de literatura donde se menciona que el crecimiento óptimo se genera entre un pH de 7.0 a 6.5 (Schlegel, 1991, Ruel *et al.* 2002). Autores como Elefsiniotis y Oldham (1994) asocian la disminución de pH con el incremento en los AGV, lo cual es comparable con los datos generados en este experimento ya que, a medida que aumenta la concentración de AGV en el medio, el pH disminuye. A continuación se describe la producción de AGV y comportamiento de pH para cada uno de los pretratamientos.

5.4.1 Lodos lavados

Para determinar la fracción de material orgánico que se transformó en AGV se comparó la producción total de AGV en cada uno de los volúmenes contra la concentración de DQOd. En la Figura 5.6 se observa una relación lineal entre el aumento de los AGV y DQOd. Al aumentar la DQOd también aumenta la producción de AGV. Se distingue que a mayor volumen de sustrato, la concentración de AGV es mayor; en el volumen de 150 y 100 ml la producción total de AGV es superior a 80 mgDQO/l; en 50 ml la concentración total es menor de 70 mgDQO/l. Las concentraciones de AGV en el testigo fueron tan bajas que el cromatógrafo no las detectó. Sin embargo, sí se observó un aumento de la DQOd. El pH disminuye una unidad en todos los volúmenes, de 7.2 a 6.0 (Tabla 5.9).

Con excepción del testigo, se observa producción de AGV durante los días de experimentación en todos los casos analizados. A partir de los valores de la Tabla 5.9 se obtuvieron las pendientes de la producción de AGV que se presentan en la Figura 5.7. En la Figura 5.7a, en el volumen de 50 ml, se distingue que la especie predominante es el ácido acético y, de acuerdo con los valores de las pendientes, es el que se produce con mayor rapidez (3.87 mgDQO/l·d); el siguiente en presentarse con mayor rapidez fue el ácido propiónico y finalmente el butírico. Lo mismo ocurrió en los volúmenes de 100 y 150 ml (Figuras 5.7b y c respectivamente). A pesar del proceso de lavado de los lodos e inóculo, al inicio del experimento las muestras ya contenían una concentración inicial de AGV. Según

experimentos realizados en sistemas acidogénicos la predominancia del ácido acético y propiónico es normal ya que son los principales productos de las fermentaciones de monosacáridos (Schlegel, 1991).

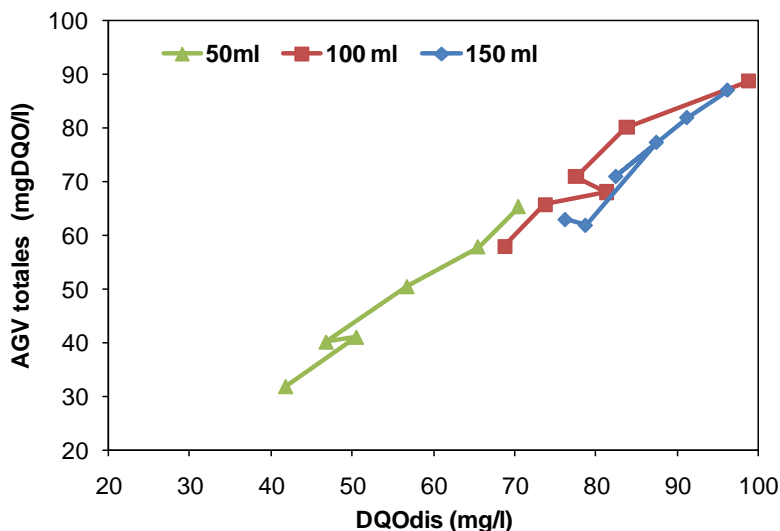


Figura 5.6. Relación entre DQO disuelta y producción total de AGV en el pretratamiento de lodos lavados.

Con respecto a los valores de producción de AGV (Tabla 5.9), se observa que la mayor cantidad de estos se produjo en los volúmenes de 150 ml y 100 ml comparados con los valores obtenidos en el volumen de 50 ml. Esto concuerda con algunos datos de literatura (González Barceló, 2004; Pérez, 2004; Liu y Ghosh, 1997; Banister y Pretorius, 1998) en los que se afirma que la mayor producción de AGV se presenta con la mayor concentración de sustrato.

Se obtuvo el grado de acidificación que permite calcular las fracciones de material orgánico que se transforma en AGV. Se obtuvo un grado de acidificación del 8% para 50 ml, 5% para 100 y 150ml los datos se encuentran en la Tabla 4 del Anexo. Algunos autores mencionan grados de acidificación de hasta 55% y 50% (González, 2004; Pérez, 2004).

Se realizó un análisis estadístico para comprobar que los valores de producción de AGV son afectados por el volumen de sustrato. En la Tabla 5.10 se observan 3 grupos homogéneos, lo cual indica que no existen diferencias estadísticamente significativas en el aumento de AGV entre los volúmenes de 100 y 150 ml. Al comparar estos dos casos con el volumen de

50 ml y el testigo si presentan diferencias significativas. Lo anterior quiere decir que a mayor volumen de sustrato incrementa la produccion de AGV como se muestra en la Figura 5.7.

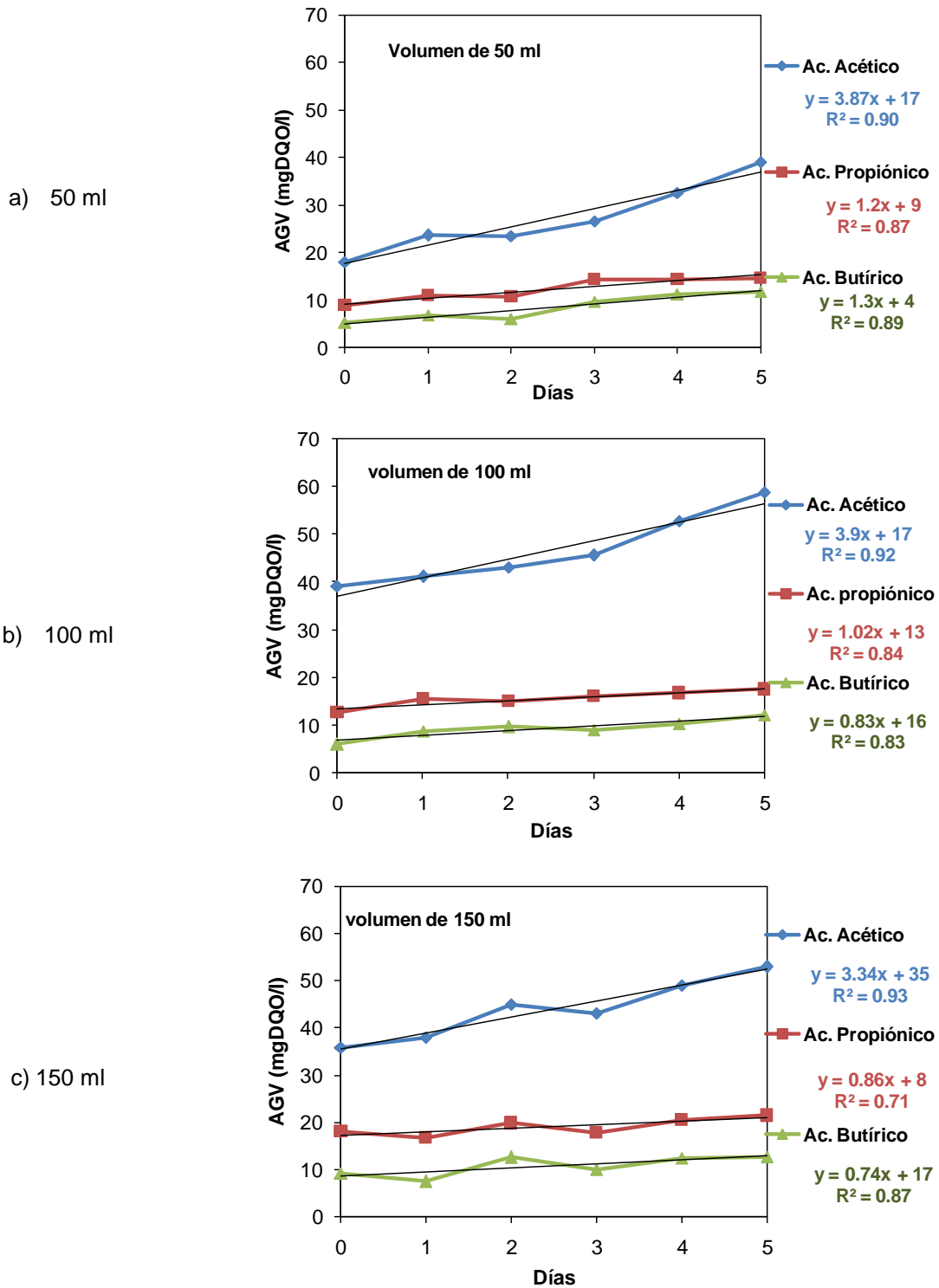


Figura 5.7. Producción de AGV en lodos lavados.

Tabla 5.10. Comparación múltiple de medias de AGV en lodos lavados

Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Testigo	6	0.0	a
50	6	47.6	b
100	6	72.0	c
150	6	73.6	c

5.4.2 Lodos pasteurizados

Una forma de establecer la relación de la fracción biodegradable que se convierte en AGV es comparando la producción total de AGV en cada uno de los volúmenes contra la concentración de DQOd. En la Figura 5.8 se observa que al producirse DQOd una parte de este material es convertido a AGV con un comportamiento lineal. Se distingue que entre mayor es el volumen de sustrato mayor es la concentración de AGV. En el testigo se observa una producción de AGV. Los valores correspondientes se encuentran en la Tabla 5.9. El pH disminuyó de 7.4 a 6.0.

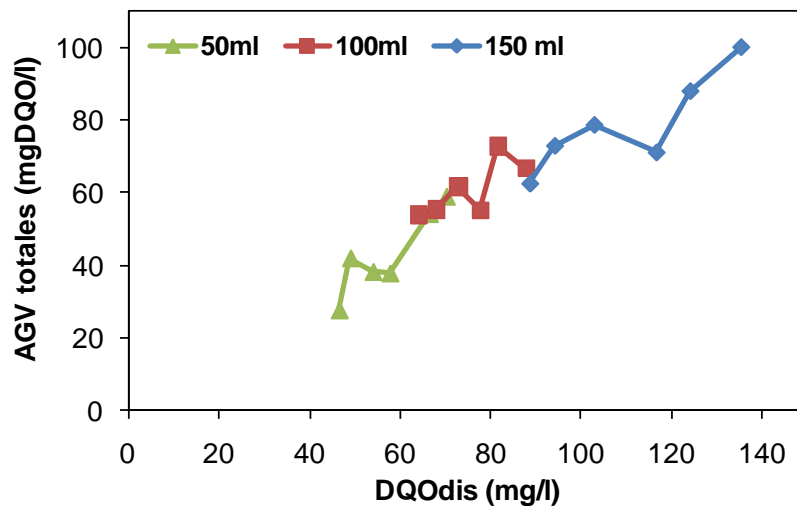


Figura 5.8. Relación entre DQO disueta y producción total de AGV en el pretratamiento de lodos pasteurizados.

Los AGV aumentan en todas las diferentes concentraciones (volúmenes) de lodos primarios. Las pendientes de la producción de AGV que se presentan en la Figura 5.9 muestran que en todos los volúmenes la especie predominante es el ácido acético y, de acuerdo con el valor de la pendiente es el mismo el que se produce con mayor rapidez (4.1 mgDQO/l·d en 150 ml, 3.6 mgDQO/l·d en 100 ml y 3.2 mgDQO/l·d en 50 ml). El siguiente ácido en presentarse con

mayor rapidez es el ácido propiónico y, finalmente, el butírico. En todas las figuras se omitieron los datos de la producción de AGV en el testigo ya que, en algunos días, su concentración fue tan baja que no fueron detectados por el cromatógrafo.

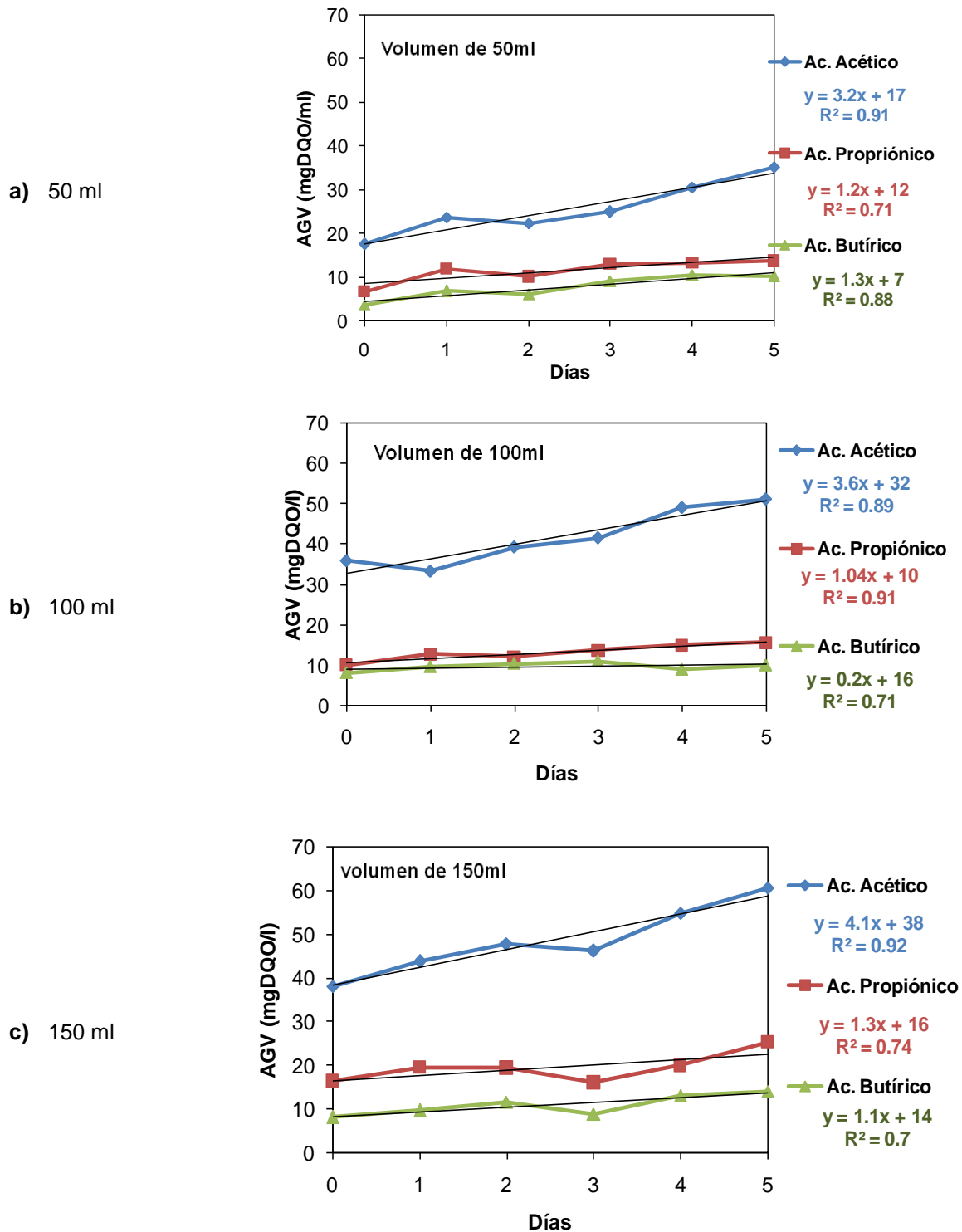


Figura 5.9 Producción de AGV en lodos pasteurizados.

La mayor cantidad AGV se produjo en los volúmenes de 150 ml y 100 ml comparados con los valores obtenidos en el volumen de 50 ml y en el testigo. Se obtuvo un grado de acidificación del 3% en las muestras de 500 y 100 ml, así como en el testigo y de 4% en el volumen de 150 ml (Tabla 4 del Anexo I).

Según el análisis estadístico de la comparación de medias en la producción de AGV, sí existen diferencias significativas entre los volúmenes ya que la producción es proporcional al volumen de sustrato. En la Tabla 5.11 se indican los grupos homogéneos y los valores de las medias.

Tabla 5.11. Comparación múltiple de medias de AGV en lodos pasteurizados

Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Testigo	6	14.6	a
50	6	43.16	b
100	6	61.16	c
150	6	75.5	d

5.4.3 Lodos micronizados

La Figura 5.10 muestra una correlación entre la concentración de AGV y DQOd. Se distingue que hay una linealidad notable entre ambas concentraciones. La presencia de AGV parece estar ligada a la presencia de un valor mínimo de DQOd. Como se puede observar en la muestra testigo hay un valor aislado debido a que la cantidad de AGV en el cuarto día es tan baja que es despreciable y no se detectó en el cromatógrafo. El pH disminuyó de 7.3 a 6.0 al final del experimento.

A partir de los valores producidos de AGV en cada muestra se construyó la Figura 5.11 en la cual se observa que en el volumen de 50 ml (Figura 5.11a) el ácido predominante es el ácido acético y también el que se presenta con mayor rapidez (2.7 mgDQO/l·d).

El ácido propiónico presenta un aumento al primer día y en el segundo disminuye posiblemente por consumo; posteriormente sigue produciéndose hasta presentar una tendencia logarítmica. El ácido butírico se presenta con la misma rapidez que el ácido propiónico. En la figura se omite la tendencia de producción presentada en el testigo debido a que los valores son bajos y no se detectaron en el cromatógrafo.

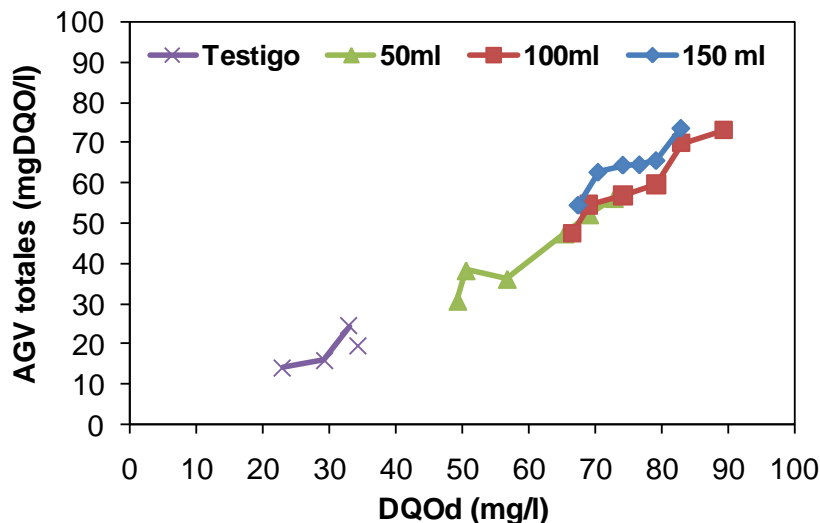


Figura 5.10 Relación entre DQO disuelta y producción total de AGV

En el volumen de 100 ml (Figura 5.11b) también el ácido predominante es el acético, seguido por el propiónico y el butírico; en este último se presenta un consumo en el tercer día y en el cuarto continua el aumento. La Figura 5.11c indica que la rapidez de producción de propiónico y butírico es la misma. Asimismo la especie más abundante es el ácido acético.

Los valores de producción de AGV (Tabla 5.9) muestran que la mayor cantidad de estos se produjo en los volúmenes de 150 ml y 100 ml comparados con los valores obtenidos en el volumen de 50 ml y el testigo. En la tabla 4 del Anexo I se observa que en promedio se obtuvo un grado de acidificación del 2% en 50 ml y testigo, 3% para el volumen de 150ml y 100 ml.

En la Tabla 5.12 se encuentran las diferencias que existen en la producción de AGV a partir del volumen de sustrato utilizado. Según el análisis estadístico aplicado indica que para los volúmenes de 100 y 150 ml no hay diferencia en los valores de producción de AGV. Al utilizar un volumen de 50 ml y un testigo se presenta una menor producción de AGV.

Tabla 5.12 Comparación múltiple de medias de AGV en lodos micronizados

Volumen de sustrato (ml)	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Testigo	6	12.3	a
50	6	43.5	b
100	6	60.5	c
150	6	64.3	c

Lo anterior se identifica por la diferencia de letras que aparecen en la columna de grupos homogéneos.

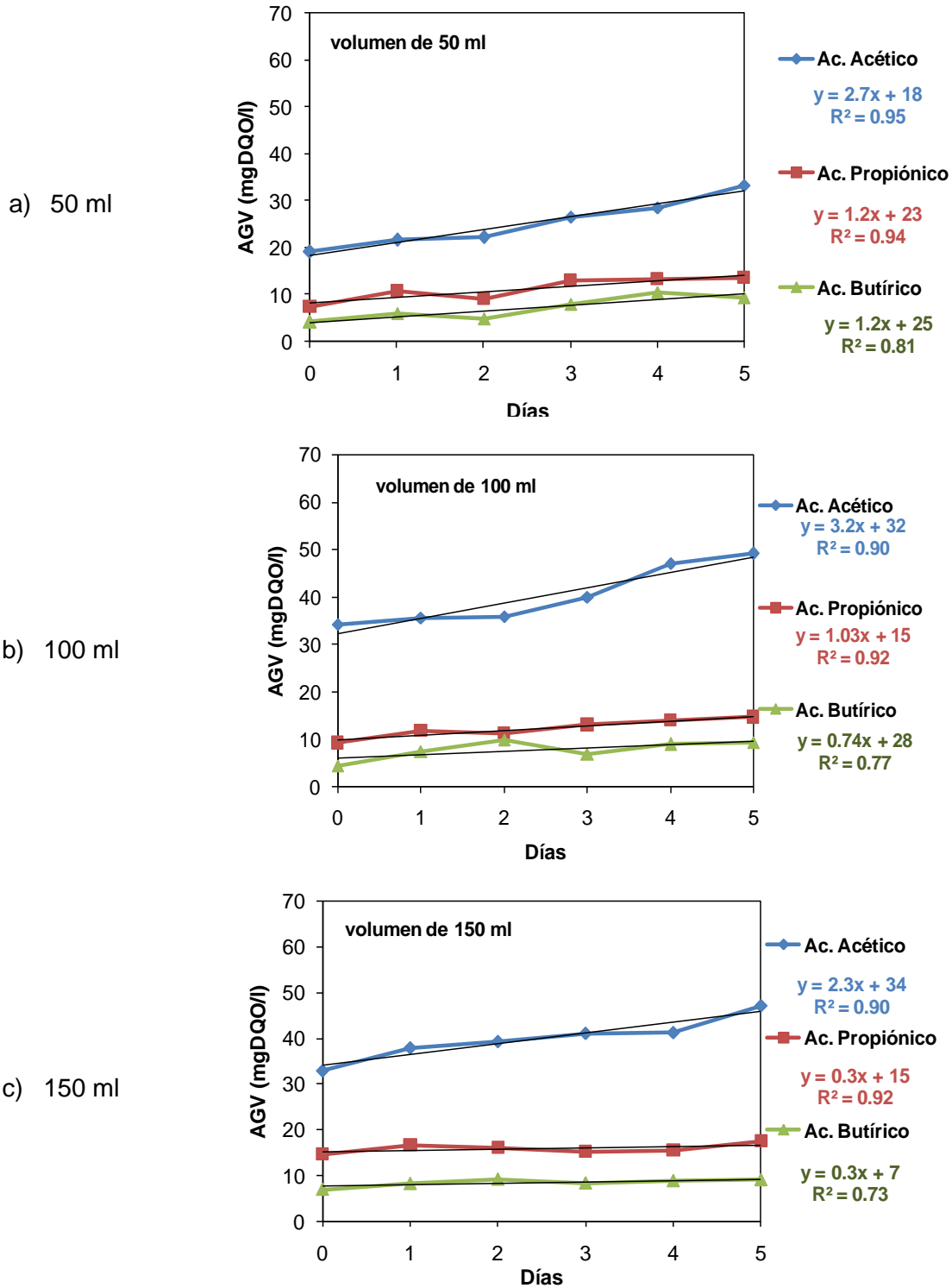


Figura 5.11 Producción de AGV en lodos micronizados.

5.5 Determinación de microorganismos

En relación con los efectos del proceso de acidificación anaerobia sobre microorganismos indicadores de contaminación, las concentraciones de estos disminuyeron a medida que aumentó el tiempo en las unidades experimentales. Esto se debe a que las condiciones imperantes en los reactores no son favorables para que los patógenos y sus estructuras sobrevivan o se desarrollen en ese medio. La EPA (1992), reporta al proceso de acidificación anaerobia como un proceso que reduce en una unidad logarítmica microorganismos indicadores.

El grupo de microorganismos empleados en este trabajo fueron indicadores de contaminación: enterococos fecales. Fueron cuantificados diariamente en los diferentes frascos de reacción para cada pretratamiento. Esto se realizó para observar el efecto de la acidificación anaerobia sobre los microorganismos a lo largo del tiempo de experimentación.

En la Tabla 5.13 se presentan los resultados de los tres pretratamientos. Se observan las concentraciones de unidades formadoras de colonias (UFC) en 100ml y su equivalente en unidades logarítmicas; asimismo se muestra la remoción en unidades logarítmicas y su equivalente en porcentaje para cada uno de los pretratamientos. Se aprecia que a lo largo del experimento, la remoción máxima fue de una a dos unidades logarítmicas presentándose la mayor remoción de enterococos fecales en los lodos solamente lavados. Para los pretratamientos de micronizado y pasteurizado la remoción fue menor, posiblemente debido a que la cantidad inicial de patógenos fue menor con respecto a los lodos solamente lavados, ya que tanto la pasteurización como micronización tienen un efecto de reducción en el número de microorganismos activos.

Según los Standard Methods (1998), la disminución en una unidad logarítmica es equivalente al 90% de remoción, dos unidades logarítmicas equivalen al 99%.

En la Tabla 5.13 se aprecia que la concentración de enterococos fecales a través de los días de experimentación indica que en el caso de los lodos solamente lavados hubo un decremento de un orden de magnitud ($1 \log_{10}$) en los volúmenes de 100 ml, 50 ml y testigo, en la muestra de 150 ml la remoción fue de dos unidades logarítmicas ($2 \log_{10}$), equivalente a

<99% de remoción. En los volúmenes de 100 ml, 50 ml y testigo la remoción fue de una unidad logarítmica.

En los pretratamientos de lodos pasteurizados y micronizados la remoción es inferior al 90% para las diferentes concentraciones de lodos primarios en los cinco días del experimento.

De acuerdo con Metcalf y Eddy (2004) el contenido de bacterias en agua residual del grupo de enterococos de las especies *S. faecalis* o *S. faecium* es menor que cualquiera del resto de los otros organismos indicadores. Se menciona que las aguas residuales típicas contienen enterococos fecales entre 10^4 y 10^7 UFC/100 ml, pero su dosis infecciosa no se conoce de manera específica. En este caso el contenido de enterococos fecales se encuentra dentro del rango mencionado contenido en agua típica.

La remoción de organismos indicadores en el agua residual por medio de acidificación anaerobia ha sido poco estudiada. La mayoría de los trabajos están enfocados en la digestión anaerobia más que en la primera etapa de este proceso. 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 una remoción de 1 a $3 \log_{10}$ UFC/100 ml (90 al 99.9%). Goss y Richards (2007) mencionan que en los sistemas naturales como 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 mesofílica remueve entre 1 y $2 \log_{10}$ UFC/100 ml y la termofílica hasta $5 \log_{10}$ UFC/100 ml.

En las Figuras 5.12 y 5.13 se muestran algunas placas seleccionadas con cultivos de enterococos fecales. Como caso representativo se eligió el volumen de 150 ml de lodos lavados y una muestra testigo. Se puede apreciar que con la misma dilución (10^{-3}), se presentó una disminución en el crecimiento de de colonias de enterococos fecales a lo largo de los días de experimentación.

En el caso de *Salmonella spp.* No se logró su identificación, debido a que la técnica de PCR es sensible y al aislar el ADN de la muestra este pudo contaminarse o bien la presencia de alguna sustancia inhibió la reacción de PCR.

Tabla 5.13. Valores de los análisis microbiológicos de enterococos fecales a lo largo del experimento en los tres pretratamientos.

Días	Lodos lavados				Lodos pasteurizados				Lodos micronizados			
	Concentración de bacterias		Remoción		Concentración de bacterias		Remoción		Concentración de bacterias		Remoción	
	UFC/100ml	Unidades log	%	Unidades log	UFC /100ml	Unidades log	%	Unidades log	UFC /100ml	Unidades log	%	Unidades log
Testigo												
0	2.25 x10 ⁶	6			1.43 x10 ⁷	7			8.03 x10 ⁶	7		
1	5.58 x10 ⁶	7	<90	0,4	8.13 x10 ⁶	7	<90	0,2	6.65 x10 ⁶	7	<90	0,3
2	2.93 x10 ⁶	6	<90	0,1	6.83 x10 ⁶	7	<90	0,3	4.03 x10 ⁶	7	<90	0,3
3	1.11 x10 ⁶	6	<90	0,3	6.00 x10 ⁶	7	<90	0,8	2.93 x10 ⁶	6	<90	0,4
4	4.50 x10 ⁵	6	<90	0,7	4.63 x10 ⁶	7	<90	0,9	1.95 x10 ⁶	6	<90	0,6
5	6.17 x10 ⁵	6	<90	0,6	3.38 x10 ⁶	7	<90	0,9	9.75 x10 ⁵	6	<90	0,9
50ml												
0	1.91 x10 ⁷	7			1.37 x10 ⁷	7			1.24 x10 ⁷	7		
1	1.23 x10 ⁷	7	<90	0,2	1.52 x10 ⁷	7	<90	0,2	1.05 x10 ⁷	7	<90	0,3
2	9.15 x10 ⁶	7	<90	0,3	1.19 x10 ⁷	7	<90	0,6	6.25 x10 ⁶	7	<90	0,3
3	3.68 x10 ⁶	7	<90	0,7	4.80 x10 ⁶	7	<90	0,5	4.25 x10 ⁶	7	<90	0,4
4	3.35 x10 ⁶	7	<90	0,8	3.58 x10 ⁶	7	<90	0,8	3.65 x10 ⁶	7	<90	0,5
5	1.42 x10 ⁶	6	<99	1,1	2.83 x10 ⁶	6	<90	0,8	2.23 x10 ⁶	6	<90	0,7
100ml												
0	2.43 x10 ⁷	7			1.52 x10 ⁷	7			1.06 x10 ⁷	7		
1	1.24 x10 ⁷	7	<90	0,3	1.41 x10 ⁷	7	<90	0,3	1.00 x10 ⁷	7	<90	0,2
2	8.18 x10 ⁶	7	<90	0,5	1.30 x10 ⁷	7	<90	0,7	8.15 x10 ⁶	7	<90	0,3
3	3.35 x10 ⁶	7	<90	0,9	4.15 x10 ⁶	7	<90	0,6	4.83 x10 ⁶	7	<90	0,4
4	2.35 x10 ⁶	6	90	1,0	2.68 x10 ⁶	6	<90	0,7	3.18 x10 ⁶	7	<90	0,5
5	1.18 x10 ⁶	6	<99	1,3	4.63 x10 ⁶	7	<90	0,5	2.45 x10 ⁶	6	<90	0,6
150ml												
0	3.38 x10 ⁷	8			1.58 x10 ⁷	7			1.27 x10 ⁷	7		
1	1.81 x10 ⁷	7	<90	0,3	1.49 x10 ⁷	7	<90	0,3	1.03 x10 ⁷	7	<90	0,3
2	1.27 x10 ⁷	7	<90	0,4	1.30 x10 ⁷	7	<90	0,9	8.28 x10 ⁶	7	<90	0,3
3	3.08 x10 ⁶	6	90	1,0	9.65 x10 ⁶	7	<90	0,2	7.40 x10 ⁶	7	<90	0,4
4	2.18 x10 ⁶	6	<99	1,2	5.15 x10 ⁶	7	<90	0,4	5.60 x10 ⁶	7	<90	0,6
5	1.15 x10 ⁶	6	<99	1,5	3.70 x10 ⁶	7	<90	0,6	3.88 x10 ⁶	7	<90	0,5

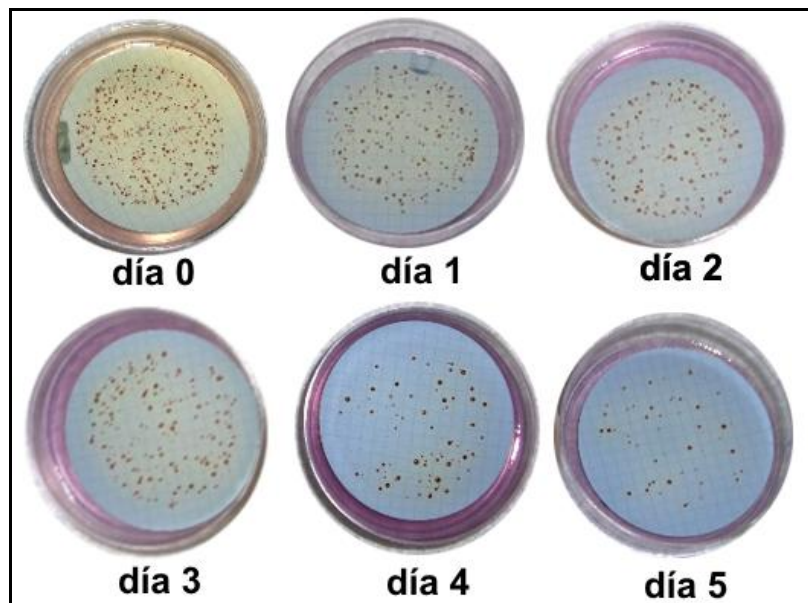


Figura 5.12 Reducción en el número de colonias de enterococos fecales en el pretratamiento de lodos lavados volumen de 150 ml.

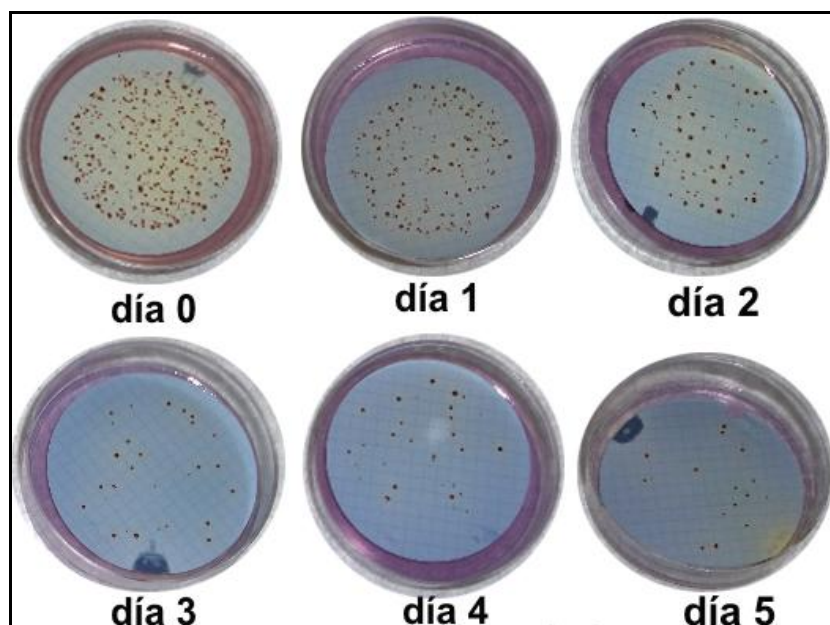


Figura 5.13. Reducción en el número de colonias de enterococos fecales en una muestra testigo.

5.6 Análisis estadístico

Se aplicaron pruebas estadísticas a todos los parámetros analizados (SST, SDT, SSV, DQOt, DQOd, DQOs, AGV, enterococos fecales y relación DQOs/SST) utilizando el

programa Statgraphics Centurion XV. Se efectuaron las comparaciones entre los valores de las variables de respuesta obtenidos para cada uno de los pretratamientos. Lo anterior se hizo con la finalidad de saber si existen diferencias significativas entre los pretratamientos.

A todos los datos se les realizó un análisis de varianza y para ello fue necesario primero obtener las medias de cada parámetro por el método de mínimos cuadrados así como pruebas múltiples de rangos para determinar cuáles medias son significativamente diferentes entre ellas. Las tablas con los resultados de la comparación entre los tres pretratamientos de mínimos cuadrados y ANOVA se encuentran descritas detalladamente en el Anexo II.

En los siguientes capítulos se presentan las tablas de comparación entre medias para cada una de las variables entre los pretratamientos. En las tablas donde se presenta la comparación de las medias se identifican los grupos homogéneos según la letra que aparece en la columna correspondiente al grupo homogéneo. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma letra. El método empleado para discriminar entre las medias de todas las variables manejadas es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Asimismo para cada parámetro se muestra la tabla de las diferencias significativas estimadas entre cada par de medias para cada uno de los pretratamientos.

5.6.1 Demanda química de oxígeno total, disuelta y suspendida

Los resultados de la comparación de medias entre los pretratamientos lavado, pasteurizado y micronizado indican que no hubo diferencia significativa en la remoción de DQO total entre los pretratamientos. Esto se puede comprobar con los valores de DQO que se muestran en las Tablas 1, 2 y 3 del Anexo I en las cuales se observa que, en todos los pretratamientos, la DQOt disminuye aproximadamente en un promedio de 100 mgDQO/l. Es por ello que al presentar valores tan cercanos de remoción puede decirse que los pretratamientos presentan la misma reducción de DQOt durante el tiempo de experimentación. En la tabla 5.14, con un 95% de nivel de confianza se identifica un grupo homogéneo y en la Tabla 5.15 se muestran los valores de las diferencias en las medias entre los pretratamientos.

Tabla 5.14. Comparación de las medias de DQOt entre tratamientos

tratamiento	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
micronizado	24	1434.1	a
Lavado	24	1488.4	a
pasteurizado	24	1846.5	a

Tabla 5.15. Diferencias significativas entre tratamientos para DQOt

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	No	-4.5
lavado – pasteurizado	No	-3.9
Micronizado – pasteurizado	No	-8.4

También se realizó la comparación de la producción de DQOd. Los resultados del análisis estadístico indican que entre los pretratamientos de lavado y micronizado no existen diferencias significativas en la producción de DQOd, pero sí entre lavado y pasteurizado, lo cual indica que el mejor tratamiento para producir DQOd es el de pasteurización ya que confiere características al sustrato que lo hacen de fácil consumo. Asimismo al comparar el pretratamiento de pasteurización y micronización se observa que existen diferencias. Esto indica una vez más que el proceso de pasteurización fue más efectivo que el de micronización y todos solamente lavados en cuanto a producción de DQOd. Los resultados se indican en la Tabla 5.16 donde según la letra que aparece en la columna se identificaron 2 grupos homogéneos. Los valores de las diferencias y los límites se encuentran en la Tabla 5.17.

Tabla 5.16. Comparación de las medias de DQOd entre tratamientos

tratamiento	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
micronizado	24	61.3	a
Lavado	24	65.8	ab
pasteurizado	24	69.7	c

Tabla 5.17 Diferencias significativas entre tratamientos para DQOd

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	No	4.5
lavado – pasteurizado	Si	-3.9
Micronizado – pasteurizado	Si	-8.4

Al igual que en el caso de la remoción de DQOt, la comparación de medias entre los pretratamientos indica que no hubo diferencias significativas en la remoción de DQO

suspendida entre los tres pretratamientos utilizados. Lo anterior se comprueba al observar los valores presentados en las tablas 1, 2 y 3 del Anexo I donde la remoción promedio en los tres pretratamientos es de 150 mgDQO/l. Al aplicar el análisis de medias la similitud entre ellas se obtuvo con un 95% de nivel de confianza. Como se puede distinguir en la tabla 5.18, se identificó un grupo homogéneo y en la Tabla 5.19 aparecen los valores de las diferencias entre las medias.

Tabla 5.18 Comparación de las medias de DQOs entre tratamientos

Tratamiento	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Micronizado	24	1372.8	a
Lavado	24	1422.6	a
Pasteurizado	24	1776.8	a

Tabla 5.19 Diferencias significativas entre tratamientos para DQOs

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	No	49.7
lavado – pasteurizado	No	-354.2
Micronizado – pasteurizado	No	-404.0

5.6.2 Sólidos suspendidos totales, disueltos y volátiles

Los resultados de la comparación de medias de la remoción de SST entre tratamientos indican que entre los lodos micronizados y pasteurizados los valores de remoción no presentan diferencias; sin embargo, estos dos pretratamientos al compararlos con lodos solamente lavados si son diferentes, lo cual quiere decir que en los lodos micronizados y pasteurizados la remoción de SST es mayor debido a que la cantidad de SST aumenta al ser sometidos a estos procedimientos y, por lo tanto, la concentración de sólidos y la tasa de remoción en lodos solamente lavados es menor. Los datos completos se encuentran en las tablas 1, 2 y 3 del Anexo I. En la Tabla 5.20 se identifican los 2 grupos homogéneos y en la Tabla 5.21 se encuentran los valores de la diferencia entre tratamientos.

Tabla 5.20. Comparación de las medias de SST entre tratamientos

Tratamiento	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Lavado	24	1764.42	a
Pasteurizado	24	3032.88	b
Micronizado	24	3099.79	b

Tabla 5.21. Diferencias significativas entre tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	Si	-1335.3
lavado – pasteurizado	Si	-1268.4
micronizado – pasteurizado	No	66.9

La comparación de medias entre tratamientos referida al aumento de SDT indica que existe diferencia significativa entre los tres pretratamientos; es decir, la tasa de aumento en la cantidad de SDT es afectada por el pretratamiento. Los valores más bajos de producción se presentaron en lodos micronizados, seguido por lodos lavados y finalmente por lodos pasteurizados. Esto indica que las sustancias liberadas durante el proceso de pasteurización son consumidas de una manera más eficiente. Se identificaron 3 grupos homogéneos indicados en la Tabla 5.22. La Tabla 5.23 muestra los valores de las diferencias estimadas entre cada par de medias.

Tabla 5.22. Comparación de las medias de SDT entre tratamientos

Tratamiento	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Micronizado	24	68.9	a
Lavado	24	84.2	b
Pasteurizado	24	92.5	c

Tabla 5.23. Diferencias significativas entre tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	Si	-15.2
lavado – pasteurizado	Si	-8.3
micronizado – pasteurizado	Si	-23.5

La comparación de medias entre tratamientos indica que en el aumento de SSV no existe diferencia significativa entre uno u otro pretratamiento. En las tablas 1, 2 y 3 del Anexo I se observa que los valores de producción de SSV en cada caso son similares entre sí. Se identificó un grupo homogéneo indicado en la Tabla 5.24. La Tabla 5.25 muestra los valores de las diferencias estimadas entre cada par de medias.

Tabla 5.24. Comparación de las medias de SSV entre tratamientos

Tratamiento	Número de muestras	Medias	Grupos Homogéneos
Micronizado	24	1441.6	a
Lavado	24	1640.3	a
Pasteurizado	24	1784.7	a

Tabla 5.25. Diferencias significativas entre tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	No	-198.7
lavado – pasteurizado	No	-343.1
micronizado – pasteurizado	No	-144.3

5.6.3 Comparación entre DQOs y SST del sustrato

Uno de los parámetros importantes es la relación DQOs/SST para saber qué cantidad de materia biodegradable se encuentra contenida en los SST. La Tabla 5.26 indica 2 grupos homogéneos, lo que indica que entre lodos micronizados y pasteurizados la cantidad de material orgánico es similar y no se encontraron diferencias significativas entre ellos. Ambos pretratamientos, comparados con los lodos lavados, son menores ya que posiblemente hay una reducción de DQOs debida a la influencia de los pretratamientos. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la Figura 5.5. En la Tabla 5.27 se presentan los valores de las diferencias entre pretratamientos.

Tabla 5.26. Comparación de las medias de DQOd/SST de sustrato entre tratamientos

Tratamiento	Número de muestras	Media	Grupos Homogéneos
Micronizado	24	0.2	a
Pasteurizado	24	0.2	a
Lavado	24	0.4	b

Tabla 5.27. Diferencias significativas entre tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	Si	0.02
lavado – pasteurizado	Si	0.02
micronizado – pasteurizado	No	-0.00

5.6.4 Ácidos grasos volátiles

El análisis estadístico de la producción de AGV indica que no hay diferencias entre los tres pretratamientos, con un 95% de confianza (Tabla 5.28). Estos resultados son contrarios a lo que se esperaba ya que por el efecto de los pretratamientos se reduce el tamaño de la partícula lo que confiere al sustrato características de mejor asimilación y por otro lado en los lodos solamente lavados se esperaba obtener una menor cantidad de AGV ya que, al lavar los lodos, se remueve una gran parte del material disuelto. Los datos completos se observan

en las tablas 1, 2 y 3 del Anexo I. En la Tabla 5.29 se muestran los valores de las diferencias en las medias entre los pretratamientos.

Tabla 5.28. Comparación de las medias de AGV entre tratamientos

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
micronizado	24	45.1	1.7	a
lavado	24	48.3	1.7	a
pasteurizado	24	48.6	1.7	a

Tabla 5.29 Diferencias significativas entre tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	No	-3.1
lavado – pasteurizado	No	-0.2
micronizado – pasteurizado	No	-3.4

5.6.5 Remoción de enterococos fecales

Los análisis estadísticos indican que el porcentaje de remoción de enterococos fecales es el mismo entre los pretratamientos de pasteurizado y micronizado (Tabla 5.30). Estos dos, comparados con los lodos solamente lavados, son diferentes. Lo anterior concuerda con los datos de la Tabla 5.13 en donde la remoción de enterococos en lodos pasteurizados y micronizados es inferior al 90% en todos los casos y en lodos solamente lavados la remoción en algunos casos fue superior al 90% debido a que en este último la cantidad inicial de microorganismos es mayor con respecto a los otros dos pretratamientos. En la Tabla 5.31 se muestran las diferencias significativas entre los pretratamientos.

Tabla 5.30. Comparación de las medias del porcentaje de remoción entre tratamientos

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
pasteurizado	24	3.6	a
micronizado	24	4.6	a
lavado	24	5.6	b

Tabla 5.31 Diferencias significativas entre tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
lavado – micronizado	Si	0.2
lavado – pasteurizado	Si	0.1
micronizado - pasteurizado	No	0.1

6 CONCLUSIONES

- En los tres pretratamientos aplicados el material orgánico contenido en los lodos primarios es fácilmente biodegradado y los sólidos suspendidos son transformados bajo las condiciones de experimentación.
- La DQO total, en todos los casos, disminuye. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas en las tasas de remoción con respecto a los diferentes pretratamientos.
- Los valores de la DQO suspendida, independientemente del pretratamiento aplicado a los lodos primarios, tienden a disminuir con el tiempo de reacción. Esto indica que la DQO suspendida fue transformada en DQO disuelta por procesos de hidrólisis. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas de las tasas de remoción con respecto a los diferentes pretratamientos.
- Independientemente del pretratamiento aplicado a los lodos primarios, sustancias orgánicas (expresadas como DQO disuelta) fueron liberadas al transcurrir el tiempo de acidificación anaerobia. Los valores más bajos de la rapidez de producción de DQO disuelta se presentaron en lodos micronizados y lavados; la mayor tasa de producción de DQO disuelta se presentó en los lodos pasteurizados.

- De manera similar a la DQO suspendida, en los tres pretratamientos se presentó una disminución de los sólidos suspendidos totales (SST), lo que indica que el material suspendido fue hidrolizado por los microorganismos del sistema con respecto al tiempo. Las mayores tasas de remoción de los SST corresponden a los lodos pasteurizados y micronizados.
- En los tres casos de pretratamientos estudiados se presentó un aumento de los sólidos disueltos totales (SDT) con respecto al tiempo. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas de las tasas de aumento de los SDT con respecto a los diferentes pretratamientos.
- En todos los casos de pretratamientos se presentó producción de ácidos grasos volátiles (AGV). La especie predominante fue el ácido acético, seguido por el propiónico y finalmente por el butírico. Las concentraciones de AGV aumentaron con las concentraciones de lodos primarios (mayor volumen de sustrato).
- La producción de AGV no es afectada por el pretratamiento ya que estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de AGV y el pretratamiento aplicado a los lodos.
- Las condiciones de experimentación causaron reducción de indicadores de contaminación. En el caso de los lodos solamente lavados se presentó un decremento de un orden de magnitud ($1 \log_{10}$) en los tres volúmenes de sustrato inferiores. En la muestra de 150 ml la remoción fue de dos unidades logarítmicas ($2 \log_{10}$), equivalente a una remoción entre el 90 y 99%. En los pretratamientos de lodos pasteurizados y micronizados la remoción es inferior al 90% para las diferentes concentraciones de lodos primarios en los cinco días de experimentación.
- En todos los pretratamientos y para todas las concentraciones de lodos el pH disminuyó aproximadamente en una unidad (de 7 a 6) en los 5 días que duraron las pruebas. Lo anterior debido a la producción de AGV.

7 BIBLIOGRAFIA

- Alexiou. I., E., Anderson, G. K. y Erison, L. M. (1994). Design of pre-acidification reactors for the anaerobic treatment of industrial wastewater. *Water Sci. Technol.*, 29(9), 199-204.
- Anderson. K. Sallis. P. Unyanik. S. (2003). *Anaerobic treatment processes*. The handbook of Water and Wastewater Microbiology. Ed. Academic Press. 819 pp.
- Angelidaki. I.; Ellegard. L.; Ahriing. B. K. (1999). Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure. *Water Sci. Technol.* 33(8), 1805-1810.
- APHA- AWWA-WPCF (1992) *Standards Methods for the examination of Water and Wastewater*. 20th Edition. Washington, D.C.
- Archer. D.B. y Krisop. B.H. (1990). The microbiology and control of anaerobic digestion. In: A. Wheatley (ed.) anaerobic treatment of industrial wastewater. *Journal of environmental engineering ASCE.*, 118(4), 551-567.
- Argüelles-Castillo. J.A. (2005). Estudio de la hidrólisis enzimática en la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos mediante la digestión anaerobia. Tesis de maestría. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga Colombia. 102 pp.
- Arora. M. L. (1985). Technology evaluation of sequencing batch reactors. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 57(8), 867-875.
- Bainbridge. B.W. (2000). *Microbiological techniques for molecular biology: bacteria and phages In: Essential Molecular Biology: A practical Approach*. 2nd Edition. T.A. Brown. Oxford University Press. 245 pp.
- Banister. S.S. y Pretorius. W.A. (1998). Optimisation of primary sludge acidogenic fermentation for biological nutrient removal. *Water Sci. Technol.* 24(1), 35-41.
- Barajas-López. M.G. (2002). Eliminación de nutrientes en un reactor biológico secuencial, caracterización y estimulación de las fuentes de carbono del agua residual urbana. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Catalunya. Departamento de Ingeniería Hidráulica. Marítima y Ambiental. Barcelona, España. 330 pp.
- Batstone. D. Keller. J. Newell. A. Newland. M. (1997). Model development and full scale validation for anaerobic treatment of protein and fat based wastewater. *Water Sci. Technol.* 36(6), 423-431.
- Bern, C., Martínez-de-Zoisa., Glass, R. (1992). The magnitude of the global problem of diarrheal disease; a 10 year update. *Bull. WHO.*, 70(6),705-712.
- Bertona, E. M., Radice, C.H., Barberis, C., Vay, A. y Famiglietti. C. (2005). Caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia enzimática a las cefalosporinas de tercera generación en *Enterobacter spp.* *Rev. Argent. Microbiol.* 37(4), 101-109.

- Buitrón, G., Moreno, J. (2002). Optimización de un Biorreactor Aerobio para el Tratamiento de Aguas Residuales Industriales. *Rev. Computación y Sistemas*. 42(2)74-82.
- Carabias, J. y R. Landa (2005). *Agua, medio ambiente y sociedad. Hacia la gestión integral de los recursos hídricos en México*. Universidad Nacional Autónoma de México. El Colegio de México y Fundación Gonzalo Río Arronte. I.A.P. México. 219 pp.
- Carrère, H., Sialve, B., Bernet, N. (2009). Improving pig manure conversion into biogas by thermal and thermo-chemical pretreatments. *Biosource Technology*. 32(2), 3690-3694.
- CDC (2001). Typhoid Fever. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Infectious Diseases. Division of Bacteria and Mycotic Diseases. Disponible en: <http://www.cdc.gov>.
- Cherrington. C.A., Hinton. M., Chopra. I. (1990). Effect of short chain organic acids on macromolecular synthesis in *Escherichia coli*. *Journal of Applied Bacteriology*. 68(3) 69-74.
- Chu, A., Mavinic, D. S., Ramey, W. D., Kelly, H.G. (1996). A biochemical model describing volatile fatty acid metabolism in thermophilic aerobic digestion of wastewater sludge. *Water Research*. 30(8),1759-1770.
- Chung-Jung, C., Jenney, F.E., Adams, M. W, Kelly, R. (2008). Hydrogenesis in hyperthermophilic microorganisms: Implications for biofuels. *Metabolic Engineering*. 10(6), 394-404.
- Chynoweth, D.P. y Mah, R.A. (1997). Volatile acid formation in the sludge digestion. *Advances in Chem. Chem. Soc.* 105(42), 41-54.
- Climent, M., Ferrer, I., Baeza, M., Artola, A., Vázquez, F., Font, X. (2007). Effects of thermal and mechanical pretreatments of secondary sludge on biogas production under thermophilic conditions. *Chemical Engineering Journal*. 133 (3), 335–342.
- CONAGUA (2008). Estadísticas del agua en México. Edición 2008. Comisión Nacional del Agua-México. Editor secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. 2008. Primera edición. ISBN 978-968-817-852-2. 259 pp.
- Cooper, R. y Olivieri, A. (1998). *Infectious Disease Concerns in Wastewater Reuse*. Ed. T. Asano. Technomic publishing Co. Inc., Lancaster, PA,USA. 203 pp.
- Crook, G. (1998). *Water Reclamation and Reuse Criteria*. Ed. T. Asano. *Wastewater Reclamation and Reuse*. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, PA,USA. 824 pp.
- Cuevas, G., González, O., González, S. (1998). Wastewater fermentation and nutrient removal in sequencing batch reactors. *Water Sci. Technol.* 38(1), 225-264.
- Dinopoulou, G., Rudd, T., Lester, J. (1998). Anaerobic acidogenesis of a complex waste water. The influence of operational parameters on reactor performance. *Biotechnology and Bioengineering* 31(9), 958-968.
- Dionisio, V. González, O. y González, S. (1997). Efecto del tiempo de retención hidráulico y concentración de sustrato sobre el grado de acidificación en agua residual. Instituto de Ingeniería. UNAM. Memorias VII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería y II Simposio Internacional sobre Ingeniería de Bioprocesos.
- Duncan, M. Nigel, H. (2003). *The handbook of water and wastewater microbiology*. Academic Press. London. England. 819 pp.
- Eastman, J.A., Ferguson, J.F. (1981). Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control Fed.* 44(19), 52-365.
- Ekama, G.A., Sötteman, S.W., Wentzel, M.C. (2007). Biodegradability of activated sludge organics under anaerobic conditions. *Water Research*. 41(1), 244-252.
- Elefsiniotis, P., Oldham, W.K. (1994). Anaerobic acidogenesis of primary sludge: The role of solids retention time. *Biotechnology and Bioengineering*. 44(2), 7-13.
- Environmental Protection Agency. (1995). *Land Application of Sewage Sludge and domestic Septage*. EPA 625/k 00. Municipal Environment Research Laboratory. Washington. D.C.

- Feachmen, R. Bradley, D. (2008). Sanitation and Disease health Aspects of Excreta and Wastewater Managment. Ed. John Wiley and Sons. 4a Ed. New York, USA. 523 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. pp. 54-62.
- González-Barceló, O. (2004). Algoritmo para el diseño de reactor discontinuo con biomasa suspendida para el tratamiento de aguas residuales. Tesis de maestría. Posgrado en Ingeniería Ambiental. DEPMI-UNAM. 89 pp.
- González-Martínez, S. (1994). Eliminación biológica de fosfatos: microbiología y bioquímica. II Simposio Internacional de sobre control de polución de aguas por Procesos Biológicos. Valencia. Venezuela.
- Guang-Hui, Y., Ping-Hi, E., Li-Ming, S., Yi-Shu, Z. (2008). Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pretreatment. *Water Research*. 42(8),1925-1934.
- 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. UNAM. 62 pp.
- Hideaki, S., Yukihito, T., Genta, K., Tatsuya, S. (2008). Kinetic study of substrate dependency for higher butanol production in acetone-butanol-ethanol fermentation. *Process Biochemistry*. 43(12), 1452-1461.
- Hilkiah-Igoni, A., Ayotamuno, M.J., Eze, C.L., Ogaji, S.O., Probert, S.D. (2007). Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy*. 85(6),430-438.
- Jiménez, B., Chávez, A., Maya, C. y Jardines, L. (2001). Removal of Microorganisms in Different Stages of Wastewater Treatment from México City. *Water Scie. Technol.*, 43(10),155-162.
- Jiménez, B., Mazari, M. y López, Y. (2005). El agua y su impacto en la salud pública. programa de agua. Medio ambiente y sociedad. El colegio de México. Fundación Gonzalo Tío Arronte. UNAM. México, D.F., 91 pp.
- Kaijun, W., Xiaoming, X., Dongli, X. y Yuanjing, Z. (1994). Application of integrated anaerobic (Hydrolysis) - aerobic treatment of municipal wastewater in China. Proc. Of the IAWQ 17th Biennial International Conference, Budapest, Hungary.
- Ketchum. L.H. (1996). Design and physical features of SBR reactors. First IAWQ Specialized Conference on Sequencing Batch Reactor Technology. Munich. Alemania. 7-14 pp.
- Kida, K.,Mochinaga, Y. (1997). Influence of Ni²⁺ and Co²⁺ on methanogenic activity and the amounts of coenzymes involved in methanogenesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 91(6),590-595.
- Koppe, P., Imhoff, K., Herkelmann, H., Sebesta, G. (1999). Some practical aspects of the "bicarbon process". *Water Research*. 13(9),865-871.
- Kunte, D.P., Yeole, T.Y., Ranade, D.R. (2000). Inactivation of *Vibrio cholerae* during anaerobic digestion of human night soil. *Biosurce Technology*. 75(2) 149-151.
- Lie, E., Welander, T. (1997). A method for determination of the readily fermentable organic fraction in municipal wastewater. *Water Research*. 31(6), 1269-1274.
- Liu, T. y Gosh, S. (1997). Phase separation souring anaerobic fermentation of solid substrates in an innovative plug-flow reactor. *Anaerobic Digestion VIII. Water Sci. Technol.* 36(7), 17-24.
- Madigan, M., J. Martinko y J. Parker (1998). *Microbiología de los microorganismos de Brock*. 8ª Edición. Prentice Hall. Madrid. España. 1064 pp.
- Madigan, M., J. Martinko y J. Parker (2001). *Macromoléculas y genética molecular*. Prentice Hall. Madrid. España. 225 pp.

- Malina, J.F. y Pohland, F.G. (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.
- Metcalf y Eddy Inc. (2004). *Wastewater Engineering, Treatment and Reuse*. 4a. Edición. Mc Graw-Hill. Nueva York. 1819 pp.
- Moeller-Chávez, G.E. (1999). Mejoramiento de la digestión anaerobia de lodos residuales primarios por medio de estimulación y pretratamiento. Tesis doctoral. UNAM. 112 pp.
- Moeller, G. y Gonzalez M. Simón. (2002) Two Combined Techniques to enhance anaerobic digestion of sludge *Water Sci. Technol.* 46 (10):167-172.
- Morris. J. G. (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.
- Moser-Engeler, R., Udert, K.M., Wild, D. y Siergrist. H. (1998). Products from primary sludge fermentational their suitability for nutrient removal. *Wat. Sci. Technol.* 38(1): 265-273.
- Mosey, F.E. (1993). Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. *Wat. Sci. Technol.* 15(7), 209-232.
- Mottet, A., Steyer, J.P., Déleris, S., Vedrenne, F., Chauzy, J., Càrrere, H. (2009). Kinetics of thermophilic batch anaerobic digestion of thermal hydrolysed waste activated sludge. *Biochemical Engineering Journal.*46(2009): 169-175.
- Murray, P., Baran, E., Jorgensen, J., Pfaller, R. y Yolken, R. (2003). *Manual of Clinical Microbiology*, 8th Ed. ASM Press. Washington, D.C. 3662 pp.
- Norcross, K.L. (1992). Secuencing Batch Reactor- an overview. *Wat. Sci. Technol.* 26(9/11), 2523-2526.
- Noyola, R.A. (1996). *Tratamiento de las aguas residuales en "La situación en México". III Taller y Seminario Latinoamericano sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales.* Montevideo. Uruguay 25-28 de Octubre. pp. 331-340.
- OMS. (2006). Guía para el uso seguro del agua residual. Vol. 1 y 2. Uso del agua residual en la agricultura: (en línea, obtenido diciembre 2007). Disponible en: http://www.who.int/watwer_sanitation-health.
- Pearson, H., Mara, D., y Arridge, H. (1995). The influence of pond geometry and configuration on facultative and maturation pond performance and efficiency. *Wat. Sci. Technol.* 31 (12),129-139
- Penaud, V., Delgenes, J. P., Torrijos, M., Moletta, R., Vanhoutte, B., y Cans, P. (1997). Definition of optimal conditions for the hydrolysis and acidogenesis of a pharmaceutical microbial biomass. *Process Biochemistry.* 32(6), 515-521 pp.
- Perez-Ramirez, J.I. (2004). Efecto de la Carga Orgánica sobre la fermentación anaerobia de agua residual municipal. Tesis de Maestría. Instituto de Ingeniería DEPI-UNAM. 124 pp.
- Rabinowitz, B., Koch, F.A., Vassos,T.D., Oldham, W.K. (1997). A New Operational Mode for a Primary Sludge Fermenter for use with the Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewaters. Pergamon Press. *Adv. Water Pollut. Control.* 13(4), 349-352.
- Ren, N.; Wang, B.; Huang, J. (1997). Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor. *Biotechnology and bioengineering.* 54 (5), 428-460 pp.
- Rössle, W y Pretorius, W. (2001). A review of characterization requirements for in-line prefermenters. Paper 2: Process characterization, *Wat. Sci. Technol.* 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.
- Salle, A.J. (1990). *Bacteriología*. Ed. Gustavo Gill. S.A. Barcelona, España. 846 pp.

- Schink, B., Alfons, J.M. (1992). *Syntrophism among prokaryotes*. The prokariotes. Ed. Springer, New York, USA. 304-335 pp.
- Schlegel, G. H. (1991) *Microbiología general*, Ed. Omega, Barcelona, 654 pp.
- Secretaria de Salud (2005). Salud: México 2001-2005. *Información para la rendición de cuentas*. Primera edición 2006. ISBN 970-721-148-2. 197 pp.
- SEMARNAT (2008). Informe de la situación del medio ambiente en México. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Semarnat-México. (en línea, citado noviembre del 2008). Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental>
- Siles, J.A., Martin. M.A. Chica. A. Borja. R. (2007). Kinetic modelling of anaerobic digestion of wastewater derived from the pressing of orange rind produced in orange juice manufacturing. *Chemical Engineering Journal*. 140(3),145-156.
- Skalsky, D.; Daigger, G. (1995). Wastewater solids fermentation for volatile acid production and enhanced biological phosphorus removal. *Water Environ. Res.* 67(2), 230-237 pp.
- 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.
- Soubes, M. (1994). Microbiología de la digestión anaerobia. III taller y seminario Latinoamericano. "Tratamiento de aguas residuales". Montevideo. Uruguay: 15-28 pp.
- Standard methods for the examination of water and wastewater. (1998). American Public Health Association. Washington, D.C. 1000 pp.
- Stanley E., Manahan. (2007). *Introducción a la química ambiental*. Ed. Reverté. Barcelona, España. 725 pp.
- Stover, E. L. (1994). Tratamiento anaerobio de efluentes: ha llegado la hora de su aplicación. II Simposio Internacional sobre control de polución de aguas por procesos biológicos. Valencia. Venezuela.
- Suárez-Pital., M. (2002). Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. Instituto nacional de Higiene. Epidemiología y Microbiología. *Rev. Cubana de Epidemiol.* 40(1), 38-43.
- United States. Environmental Protection Agency. USEPA. (2006) Drinking Water Contaminants. List of Contaminants and their MCLs. Microorganisms. (En línea, citado septiembre del 2008). Disponible en: <http://www.epa.gov/safewater/contaminants/index.htm>
- von Münch, E. v., y Kosh, F.A. (1999a). A survey of prefermentation design. operation and performance in Australia and Canada. *Wat. Sci. Technol.* 39(6), 105-112.
- von Münch, E., v. Keller, J., Lant, P., y Newell, R. (1999b). Mathematical modelling of fermenters I. Model development and verification. *Water Research*. 33(12),2757–2768.
- Vörösmarty, C. J., C. Lévêque, C. Revenga, R. Bos, C. Caudill, J. Chilton, E. M. Douglas, M. Meybeck, D. Prager. (2005). *Ecosystems and Human Well-being: Current State and Trends*. Millennium Ecosystem Assessment Series. Island Press. 1a Ed. Washington, Covelo, London UK.
- Wanner, J. (1994). Activated sludge bulking and foaming control. *Technomic Publishing*. wastewater. *Water Research*. 36(9), 2337-2341.
- Wentzel, M., C., y Ekama, G. A. (1997). Principles in the design of single-sludge activated sludge systems for the biological removal of carbon, nitrogen, and phosphorus. *Water Environ. Res.* 69(7),1222-1231.
- White, T., Arnheim, N. y Erlich A. (1989). The polymerase chain reaction. *Trends. Biotechniques*. 10(2), 413-417.
- World Health Organization. WHO. (2003). Communicable diseases 2002. Global Defense against the infectious Disease Threat. Geneva, Switzerland. 241 pp.

-
- Wilderer, P., Irvine, R., Gorononszy, M. (2001). Sequencing batch reactor technology. (Sintific and technical report 10). IWA.London.
- Wilson, C.A., Novak,J.T. (2009). Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pretreatment. *Water Research*. (2009), doi: 10.1016/j.watres.2009.07.022.
- Yates, M., y Gerba, C. (1998). *Microbial considerations in wastewater reclamation and reuse*. In: *Wastewater reclamation and reuse*. T Asano. Ed. Technomic publishing Co. Inc. 203 pp.
- Yehuda, M., Zeeman, G., Jules, B., 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 CSRT systems. *Water Research*. 34(5), 1705-1713 pp.

ANEXO I

Tabla 1. Resultados obtenidos de las variables de respuesta en lodos lavados.

Vol. lodos	Días	SST	SSV	SDT	STT	DQOt	DQOd	DQOs	Ac. Acético	Ac. Propiónico	Ac. Butírico	Suma AGV	Enterococos fecales		pH
		mg/l	Mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mgDQO/l	mgDQO/l	mgDQO/l	mgDQO/l	UFC/100 ml	
Testigo	0	727	412	33	759	593	22	571	0	0	0	0	2.25E+06	-	7.2
	1	700	450	42	742	543	34	508	0	0	0	0	5.58E+06	<90	7.2
	2	670	473	47	717	505	38	467	0	0	0	0	2.93E+06	<90	7.1
	3	630	490	50	680	517	44	473	0	0	0	0	1.11E+06	<90	6.9
	4	595	480	73	668	472	54	418	0	0	0	0	4.50E+05	<90	6.1
	5	585	495	79	664	440	57	383	0	0	0	0	6.17E+05	<90	6.1
50 ml	0	1170	640	50	1220	1043	42	1001	18	9	5	32	1.91E+07	-	7.1
	1	1160	660	67	1227	955	51	905	24	11	7	41	1.23E+07	<90	7.0
	2	1065	735	53	1118	905	47	858	23	11	6	40	9.15E+06	<90	7.2
	3	1080	800	70	1150	897	57	840	27	14	10	50	3.68E+06	<90	7.1
	4	1060	665	87	1147	879	66	814	32	14	11	58	3.35E+06	<90	7.0
	5	1045	860	93	1138	840	71	770	39	15	12	65	1.42E+06	<99	6.7
100 ml	0	2030	1590	80	2110	1852	69	1783	39	13	6	58	2.43E+07	-	7.1
	1	1995	1605	93	2088	1838	74	1764	41	16	9	66	1.24E+07	<90	7.1
	2	1935	1670	107	2042	1808	81	1726	43	15	10	68	8.18E+06	<90	6.8
	3	1889	1689	100	1989	1801	78	1723	46	16	9	71	3.35E+06	<90	6.1
	4	1890	1730	107	1997	1791	84	1707	53	17	10	80	2.35E+06	90	6.2
	5	1900	1795	127	2027	1778	99	1679	59	18	12	89	1.18E+06	<99	6.0
150 ml	0	3395	2250	100	3495	2821	76	2744	36	18	9	63	3.38E+07	-	7.0
	1	3365	2315	107	3472	2775	79	2696	38	17	7	62	1.81E+07	<90	7.0
	2	3350	2555	113	3463	2700	88	2613	45	20	12	77	1.27E+07	<90	7.0
	3	3380	2630	110	3490	2688	83	2605	43	18	10	71	3.08E+06	90	6.5
	4	3345	2645	113	3458	2663	91	2572	49	20	12	82	2.18E+06	<99	6.9
	5	3385	2720	120	3505	2619	96	2523	53	21	13	87	1.15E+06	<99	6.3

Tabla 2. Resultados obtenidos de las variables de respuesta en lodos lavados pasteurizados.

Vol. lodos	Días	SST	SSV	SDT	STT	DQOt	DQOd	DQOs	Ac. Acético	Ac. Propiónico	Ac. Butírico	Suma AGV	Enterococos fecales		pH
		mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mgDQO/l	mgDQO/l	mgDQO/l	mgDQO/l	UFC/100 ml	
Testigo	0	1460	493	43	1503	755	24	731	12	0	0	12	1.43E+07	-	7.3
	1	1425	515	48	1473	696	28	668	0	0	0	0	8.13E+06	<90	7.2
	2	1404	519	57	1460	692	34	658	19	7	2	29	6.83E+06	<90	7.1
	3	1415	580	65	1480	679	39	640	20	9	0	29	6.00E+06	<90	6.8
	4	1351	596	71	1422	657	42	615	0	0	0	0	4.63E+06	<90	6.1
50 ml	5	1336	591	83	1419	594	46	549	18	0	0	18	3.38E+06	<90	6.1
	0	3040	1885	68	3108	2018	47	1971	17	7	4	28	1.37E+07	-	7.4
	1	2996	1895	72	3067	1968	49	1918	24	12	7	42	1.52E+07	<90	7.1
	2	2970	1909	77	3047	1939	54	1885	22	10	6	38	1.19E+07	<90	7.2
	3	2950	1934	80	3030	1921	58	1863	25	13	0	38	4.80E+06	<90	7.0
100 ml	4	2935	1961	85	3020	1909	67	1843	30	13	10	54	3.58E+06	<90	7.0
	5	2910	1973	93	3003	1901	71	1830	35	14	10	59	2.83E+06	<90	6.7
	0	3525	2115	82	3607	2205	64	2141	36	10	8	54	1.52E+07	-	7.1
	1	3510	2120	88	3598	2184	68	2116	33	13	10	56	1.41E+07	<90	7.1
	2	3486	2145	107	3592	2144	73	2071	39	12	10	62	1.30E+07	<90	6.7
150 ml	3	3465	2195	115	3580	2140	78	2062	42	14	0	55	4.15E+06	<90	6.2
	4	3435	2200	122	3557	2120	82	2039	49	15	9	73	2.68E+06	<90	6.2
	5	3460	2255	130	3590	2109	88	2021	51	16	0	67	4.63E+06	<90	6.0
	0	4355	2740	98	4453	2680	89	2591	38	16	8	62	1.58E+07	-	7.2
	1	4330	2810	102	4432	2642	94	2547	44	20	10	73	1.49E+07	<90	7.0
	2	4300	2835	113	4413	2626	103	2523	48	19	11	79	1.30E+07	<90	7.0
	3	4270	2890	125	4395	2618	117	2501	46	16	9	71	9.65E+06	<90	6.4
	4	4235	2900	140	4375	2587	124	2463	55	0	13	68	5.15E+06	<90	6.8
	5	4226	2921	157	4383	2533	136	2398	61	25	14	100	3.70E+06	<90	6.2

Tabla 3. Resultados obtenidos de las variables de respuesta en lodos lavados micronizados.

Vol. lodos	Días	SST	SSV	SDT	STT	DQOt	DQOd	DQO s	Ac. Acético	Ac. Propiónico	Ac. Butírico	Suma AGV	Enterococos fecales		pH
		mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mgDQO/l	mgDQO/l	mgDQO/l	mgDQO/l	UFC/100 ml	Remoción (%)	
Testigo	0	1365	420	27	1392	880	23	857	14	0	0	14	8.03E+06	-	7.2
	1	1350	440	30	1380	833	29	804	16	0	0	16	6.65E+06	<90	7.2
	2	1320	450	32	1352	817	33	784	15	7	2	24	4.03E+06	<90	7.1
	3	1305	480	35	1340	804	37	768	0	0	0	0	2.93E+06	<90	6.7
	4	1270	505	40	1310	784	39	745	0	0	0	0	1.95E+06	<90	6.1
	5	1255	513.5	43	1298	774	34	740	20	0	0	20	9.75E+05	<90	6.1
50 ml	0	2890	1495	47	2937	1205	49	1156	19	7	4	31	1.24E+07	-	7.1
	1	2855	1510	50	2905	1196	51	1145	22	11	6	38	1.05E+07	<90	7.1
	2	2830	1530	62	2892	1171	57	1114	22	9	5	36	6.25E+06	<90	7.0
	3	2810	1555	65	2875	1149	66	1084	27	13	8	48	4.25E+06	<90	7.0
	4	2805	1570	75	2880	1132	69	1063	29	13	10	52	3.65E+06	<90	7.0
	5	2780	1591	80	2860	1118	73	1045	33	14	9	56	2.23E+06	<90	6.7
100 ml	0	3925	1650	62	3987	1580	67	1513	34	9	4	48	1.06E+07	-	7.1
	1	3910	1675	68	3978	1559	69	1490	36	12	7	55	1.00E+07	<90	7.3
	2	3890	1690	77	3967	1524	74	1450	36	11	10	57	8.15E+06	<90	6.6
	3	3850	1725	80	3930	1512	79	1433	40	13	7	60	4.83E+06	<90	6.2
	4	3835	1745	85	3920	1487	83	1404	47	14	9	70	3.18E+06	<90	6.3
	5	3820	1785	93	3913	1472	89	1383	49	15	9	73	2.45E+06	<90	6.0
150 ml	0	4475	2790	83	4558	2293	68	2225	33	15	7	54	1.27E+07	-	7.1
	1	4430	2805	88	4518	2252	71	2181	38	17	8	63	1.03E+07	<90	7.3
	2	4410	2830	90	4500	2232	74	2158	39	16	9	64	8.28E+06	<90	7.0
	3	4380	2855	105	4485	2227	77	2150	41	15	8	65	7.40E+06	<90	6.4
	4	4325	2870	115	4440	2212	79	2133	41	16	9	66	5.60E+06	<90	6.8
	5	4310	2890	123	4433	2206	83	2123	47	18	9	74	3.88E+06	<90	6.2

Tabla 4. Valores del grado de acidificación en los tres pretratamientos.

	Lodos lavados	Lodos pasteurizados	Lodos micronizados
Vol. lodos	Grado de acidificación (%)	Grado de acidificación (%)	Grado de acidificación (%)
Testigo	0	3	3
50 ml	8	3	5
100 ml	5	3	5
150 ml	3	4	3

ANEXO II

Análisis estadísticos

Demanda química de oxígeno disuelta

Tabla 1. Análisis de Varianza para DQOt con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	2.32E6	2	1.16E6	2.33	0.1052
B: tratamiento:volumen	3.45E7	69	500544.0		
C: tratamiento:días	3.68E7	71			
RESIDUOS	2.32E6	2	1.16E6	2.33	0.1052
TOTAL (CORREGIDO)	3.45E7	69	500544.0		

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de la DQOt entre tratamientos en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre DQOt con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 2. Medias por Mínimos Cuadrados para DQOt con intervalos de confianza del 95%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	72	65.6806			
Tratamiento					
Lavado	24	65.875	1.78760	62.9885	69.3799
Micronizado	24	61.171	1.75279	57.8531	64.8799
Pasteurizado	24	69.2737	1.724	66.2867	73.2966
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	36.5	2.02395	32.4529	40.5471
50	18	58.0556	2.02395	54.0084	62.1027
100	18	44.7222	2.02395	73.8750	81.7074
150	18	19.4444	2.02395	86.8173	94.4916
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	53.3333	1.47882	48.3766	58.2901
1	12	58.0833	1.82722	53.1266	63.0401
2	12	63.0	1.47882	58.0433	67.9567
3	12	67.75	1.47882	62.7933	72.3767
4	12	73.3263	1.28272	68.3766	78.8601
5	12	78.5833	1.47882	73.6266	83.5901

La Tabla 2 muestra la media de comparación entre tratamientos de la DQOt para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

Tabla 3. Análisis de Varianza para DQOd con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	851.444	2	425.722	5.77	0.0051
B: tratamiento:volumen	30022.2	3	10007.4	135.72	0.0000
C: tratamiento:días	5360.24	5	1072.05	14.54	0.0000
RESIDUOS	4497.82	61	73.7347		
TOTAL (CORREGIDO)	40731.7	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de la DQOd entre tratamientos en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Ya que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre los valores de DQOd entre tratamientos con un 95% de nivel de confianza.

Tabla 4. Medias por Mínimos Cuadrados para DQOd con intervalos de confianza del 95%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	72	65.6806			
Tratamiento					
Lavado	24	65.875	1.75279	62.3701	69.3799
Micronizado	24	61.375	1.75279	57.8701	64.8799
Pasteurizado	24	69.7917	1.75279	66.2867	73.2966
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	36.5	2.02395	32.4529	40.5471
50	18	58.0556	2.02395	54.0084	62.1027
100	18	77.7222	2.02395	73.6751	81.7694
150	18	90.4444	2.02395	86.3973	94.4916
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	53.3333	2.47882	48.3766	58.2901
1	12	58.0833	2.47882	53.1266	63.0401
2	12	63.0	2.47882	58.0433	67.9567
3	12	67.75	2.47882	62.7933	72.7067
4	12	73.3333	2.47882	68.3766	78.2901
5	12	78.5833	2.47882	73.6266	83.5401

La Tabla 4 muestra la media de comparación entre tratamientos de la DQOd para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

La Tabla 5 descompone la variabilidad de la DQOs entre tratamientos en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores.

Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre DQOs con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 5. Análisis de Varianza para DQOs con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	1.42E6	2	716522.0	0.95	0.3912
B: tratamiento:volumen	5.16E7	69	748714.0		
C: tratamiento:días	5.30E7	71			
RESIDUOS	1.42E6	2	712322.0	0.95	0.3912
TOTAL (CORREGIDO)	5.16E7	69	748714.0		

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 6. Medias por Mínimos Cuadrados para DQOs con intervalos de confianza del 95%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	72	65.6806			
Tratamiento					
Lavado	24	65.875	1.65432	62.3701	69.3799
Micronizado	24	61.375	1.65432	57.8701	64.8239
Pasteurizado	24	69.7917	1.65432	66.2867	73.2966
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	36.5	5.98772	32.4529	40.5471
50	18	58.0556	5.98772	54.1184	62.1447
100	18	77.7222	5.98772	73.6221	81.9874
150	18	90.4444	5.98772	86.9873	94.1276
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	53.3333	3.55882	48.3766	58.2901
1	12	58.0833	3.55882	53.1266	63.0401
2	12	63.0	3.55882	58.0433	67.9567
3	12	67.75	3.55882	62.7933	72.7067
4	12	73.3333	3.55882	68.3766	78.2901
5	12	78.5833	3.55882	73.6266	83.5401

La Tabla 6 muestra la media de comparación entre tratamientos de la DQOs para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

La Tabla 7 descompone la variabilidad de comparación entre tratamientos para SST en contribuciones debidas a varios factores. Se eligió la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se midió eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre SST con un 95.0% de nivel de confianza.

Sólidos suspendidos totales, disueltos y volátiles

Tabla 7. Análisis de Varianza para SST con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	2.71735E7	2	1.35868E7	198.76	0.0000
B: tratamiento:volumen	8.14713E7	3	2.71571E7	397.28	0.0000
C:tratamiento:días	116724.	5	23344.8	0.34	0.8857
RESIDUOS	4.16985E6	61	68358.2		
TOTAL (CORREGIDO)	1.12931E8	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 8. Medias por Mínimos Cuadrados para SST con intervalos de confianza del 95%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	72	2632.36			
tratamiento					
lavado	24	1764.42	53.3691	1657.7	1871.13
micronizado	24	3099.79	53.3691	2993.07	3206.51
pasteurizado	24	3032.88	53.3691	2926.16	3139.59
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	1120.17	61.6253	996.939	1243.39
50	18	2297.28	61.6253	2174.05	2420.51
100	18	3097.22	61.6253	2973.99	3220.45
150	18	4014.78	61.6253	3891.55	4138.01
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	2696.42	75.4753	2545.49	2847.34
1	12	2668.83	75.4753	2517.91	2819.76
2	12	2635.83	75.4753	2484.91	2786.76
3	12	2618.67	75.4753	2467.74	2769.59
4	12	2590.08	75.4753	2439.16	2741.01
5	12	2584.33	75.4753	2433.41	2735.26

La Tabla 8 muestra la media de comparación entre tratamientos de SST para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95% para cada una de las medias.

Tabla 9. Análisis de Varianza para SDT con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	6865.44	2	3432.72	73.44	0.0000
B: tratamiento:volumen	39586.7	3	13195.6	282.32	0.0000
C: tratamiento:días	11385.1	5	2277.01	48.72	0.0000
RESIDUOS	2851.1	61	46.7393		
TOTAL (CORREGIDO)	60688.3	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de comparación entre tratamientos para SDT en contribuciones debidas a varios factores. Se realizó la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Ya que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre SDT con un 95% de nivel de confianza.

Tabla 10. Medias por Mínimos Cuadrados para SDT con intervalos de confianza del 95%.

			Error	Límite	Límite
Nivel	Casos	Media	Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	72	81.9028			
Tratamiento					
Lavado	24	84.2083	1.39552	81.4178	86.9988
Micronizado	24	68.9583	1.39552	66.1678	71.7488
Pasteurizado	24	92.5417	1.39552	89.7512	95.3322
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	49.8889	1.61141	46.6667	53.1111
50	18	70.7778	1.61141	67.5556	74.0
100	18	95.7222	1.61141	92.5	98.9444
150	18	111.222	1.61141	108.0	114.444
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	64.4167	1.97356	60.4703	68.3631
1	12	71.25	1.97356	67.3036	75.1964
2	12	77.9167	1.97356	73.9703	81.8631
3	12	83.3333	1.97356	79.3869	87.2797
4	12	92.75	1.97356	88.8036	96.6964
5	12	101.75	1.97356	97.8036	105.696

En la Tabla 10 se muestra la media de comparación entre tratamientos de SDT para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

Tabla 11. Análisis de Varianza para SSV con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	1.42	2	712	0.95	0.3912
B: tratamiento:volumen	5.16	69	748	0.95	0.3912
C: tratamiento:días	5.30	71	986	0.95	0.3912
RESIDUOS	1.42	2	712	0.95	0.3912
TOTAL (CORREGIDO)	5.16	69	748	0.95	0.3912

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 11 descompone la variabilidad de comparación entre tratamientos para SSV en contribuciones debidas a varios factores. Se realizó la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Ya que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre SSV con un 95% de nivel de confianza.

Tabla 12. Medias por Mínimos Cuadrados para SSV con intervalos de confianza del 95%.

			Error	Límite	Límite
Nivel	Casos	Media	Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	72	81.9028			
Tratamiento					
Lavado	24	84.2083	2.17189	81.4178	67.7988
Micronizado	24	68.9583	2.17189	66.1678	71.7488
Pasteurizado	24	92.5417	2.17189	89.7512	95.3322
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	49.8889	1.61141	46.6667	53.1111
50	18	114.444	1.61141	67.5556	74.0234
100	18	95.7222	1.61141	92.5	98.9444
150	18	111.222	1.61141	108.0	114.444
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	34.3367	2.54367	60.4703	86.9988
1	12	21.225	2.54367	67.3036	71.7488
2	12	21.1237	2.54367	73.9703	95.3322
3	12	67.4565	2.54367	79.3869	87.2797
4	12	32.4849	2.54367	88.8036	96.6964
5	12	27.3375	2.54367	97.8036	105.696

En la Tabla 12 se muestra la media de comparación entre tratamientos de SSV para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

Relación DQOs/ SST

Tabla 13. Análisis de Varianza para DQOs contra SST sustrato con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	0.00731287	2	0.00365644	24.04	0.0000
B: tratamiento:volumen	0.0312255	3	0.0104085	68.44	0.0000
C: tratamiento:días	0.00114682	5	0.000229363	1.51	0.2005
RESIDUOS	0.00927654	61	0.000152074		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0489617	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de DQOs contra SST sustrato en contribuciones debidas a varios factores. Se eligió la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Ya que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre DQOd contra SST sustrato con un 95% de nivel de confianza.

Esta tabla muestra la media de DQOs contra SST de sustrato para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una

medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

Tabla 14. Medias por Mínimos Cuadrados para DQOs contra SST de sustrato con intervalos de confianza del 95%.

			Error	Límite	Límite
Nivel	Casos	Media	Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	72	0.0302538			
tratamiento					
lavado	24	0.0444542	0.00251723	0.0394207	0.0494877
micronizado	24	0.0220988	0.00251723	0.0170652	0.0271323
pasteurizado	24	0.0242083	0.00251723	0.0191748	0.0292418
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	0.0	0.00290664	-0.0058122	0.0058122
50	18	0.0581206	0.00290664	0.0523084	0.0639328
100	18	0.0359222	0.00290664	0.03011	0.0417344
150	18	0.0269722	0.00290664	0.02116	0.0327844
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	0.02489	0.0035599	0.0177715	0.0320085
1	12	0.0270042	0.0035599	0.0198857	0.0341226
2	12	0.0284058	0.0035599	0.0212874	0.0355243
3	12	0.0308442	0.0035599	0.0237257	0.0379626
4	12	0.0338183	0.0035599	0.0266999	0.0409368
5	12	0.03656	0.0035599	0.0294415	0.0436785

Ácidos grasos volátiles

Tabla 15. Análisis de Varianza para AGV con suma de cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	176.583	2	88.2917	1.14	0.3276
B: tratamiento:volumen	42130.8	3	14043.6	180.80	0.0000
C: tratamiento:días	3053.29	5	610.658	7.86	0.0000
RESIDUOS	4738.18	61	77.6751		
TOTAL (CORREGIDO)	50098.9	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 15 descompone la variabilidad de suma de AGV en contribuciones debidas a varios factores. Se eligió la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre suma de AGV con un 95% de nivel de confianza.

Esta tabla muestra la media de suma de AGV para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

Tabla 16. Medias por Mínimos Cuadrados AGV con intervalos de confianza del 95%.

			Error	Límite	Límite
Nivel	Casos	Media	Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	72	47.375			
Tratamiento					
Lavado	24	48.3333	1.79902	44.736	51.9307
Micronizado	24	45.1667	1.79902	41.5693	48.764
pasteurizado	24	48.625	1.79902	45.0276	52.2224
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	9.0	2.07733	4.84612	13.1539
50	18	44.7778	2.07733	40.6239	48.9317
100	18	64.5556	2.07733	60.4017	68.7094
150	18	71.1667	2.07733	67.0128	75.3205
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	38.0	2.54419	32.9126	43.0874
1	12	42.6667	2.54419	37.5792	47.7541
2	12	47.8333	2.54419	42.7459	52.9208
3	12	46.5	2.54419	41.4126	51.5874
4	12	50.25	2.54419	45.1626	55.3374
5	12	59.0	2.54419	53.9126	64.0874

Remoción de enterococos fecales

Tabla 17. Análisis de Varianza para remoción de enterococos fecales con suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	0.48	2	0.24	5.94	0.0044
B: tratamiento:volumen	0.0522222	3	0.0174074	0.43	0.7318
C: tratamiento:días	5.58167	5	1.11633	27.61	0.0000
RESIDUOS	2.46611	61	0.0404281		
TOTAL (CORREGIDO)	8.58	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA descompone la variabilidad del porcentaje de remoción en contribuciones debidas a varios factores. Se eligió la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se midió eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Ya que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre porcentaje de remoción con un 95% de nivel de confianza.

Esta tabla muestra la media del porcentaje de remoción de enterococos fecales para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

Tabla 18. Medias por Mínimos Cuadrados para remoción de enterococos fecales con intervalos de confianza del 95%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	72	0.466667			
tratamiento					
lavado	24	0.566666	0.04104	0.484597	0.64873
micronizado	24	0.366666	0.04104	0.284597	0.44873
pasteurizado	24	0.466666	0.04104	0.384597	0.54873
Comparación tratamientos y volumen					
0	18	0.42777	0.04739	0.333011	0.52254
50	18	0.45555	0.04732	0.360789	0.55032
100	18	0.48888	0.04739	0.394123	0.58365
150	18	0.49444	0.04739	0.399678	0.58921
Comparación entre tratamientos y días					
0	12	0.0	0.05808	-0.11606	0.11606
1	12	0.275	0.05804	0.158935	0.39106
2	12	0.41666	0.05804	0.300602	0.53273
3	12	0.55	0.05804	0.433935	0.66606
4	12	0.725	0.05804	0.608935	0.84106
5	12	0.83333	0.05804	0.717269	0.94939