

00361  
22 2 5

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Efecto de la temperatura en las poblaciones de protozoarios  
ciliados en un reactor de biodiscos.

Tesis que para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias (Biología).

P r e s e n t a

VICTOR MANUEL LUNA PABELLO

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Ciudad Universitaria, México, D. F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	Pág.
RESUMEN .....	1
1 INTRODUCCION .....	3
2 ANTECEDENTES	
2.1 Generalidades sobre tratamiento de aguas residuales .	3
2.2 Procesos secundarios o biológicos .....	4
2.3 Aplicación de los procesos biológicos en el tratamiento de aguas residuales .....	6
2.4 Tratamiento biológico del nejayote .....	7
2.5 Reactores biológicos rotatorios (RBR <sub>g</sub> ) .....	8
2.6 Formación de la película biológica en RBR <sub>g</sub> .....	9
2.7 Importancia de los protozoarios en el proceso depurativo .....	12
3 OBJETIVOS	
3.1 Objetivo general .....	17
3.2 Objetivos particulares .....	18
4 MATERIALES Y METODOS	
4.1 Experimentación previa	
4.1.1 Diseño y construcción del RBR .....	19
4.1.2 Arranque y operación del RBR .....	23
4.1.3 Establecimiento de las condiciones de operación del RBR .....	24
4.1.4 Operación y respuesta fisicoquímica preliminar del RBR experimental .....	25

4.2	Biodegradación de nejayote empleando diferentes inóculos	
4.2.1	Elaboración de medio y obtención de inóculo .....	29
4.2.2	Efecto del inóculo en la biodegradación del nejayote .....	30
4.3	Experimentación a diferentes temperaturas	
4.3.1	Análisis fisicoquímico y bioquímico del agua .....	34
4.4	Observaciones al microscopio	
4.4.1	Preparaciones frescas o temporales.....	35
4.4.2	Preparaciones permanentes .....	36
5.	RESULTADOS	
5.1	Registros fisicoquímicos y bioquímicos a diferentes temperaturas .....	37
5.2	Observaciones al microscopio	
5.2.1	Diversidad y ubicación taxonómica de protozoarios ciliados .....	40
5.2.2	Abundancia y distribución de protozoarios ciliados a diferentes temperaturas .....	45
6	ANALISIS Y DISCUSION	
6.1	Efecto de la temperatura en el proceso depurativo de reactores biológicos rotatorios .....	53
6.2	Abundancia y diversidad microbiana a diferentes temperaturas y su relación con los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos .....	58
7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	86
8	BIBLIOGRAFIA .....	89
9	ANEXO A: PARAMETROS FISICOQUIMICOS	
9.1	Prueba química: Demanda química de oxígeno (DQO).....	99

10	ANEXO B: PARAMETROS BIOLOGICOS	
10.1	Prueba bioquímica: Demanda bioquímica de oxígeno (DBO <sub>5</sub> ).....	103
10.2	Técnica para cuenta de microorganismos .....	108
10.3	Preparaciones permanentes	
10.3.1	Técnica de Klein .....	110
10.3.2	Técnica de Protargol .....	110
10.3.3	Ubicación taxonómica de los protozoarios ciliados registrados en el RBR .....	113

# EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LAS POBLACIONES DE PROTOZOARIOS CILIADOS EN UN REACTOR DE BIODISCOS.

## RESUMEN:

Como una alternativa viable para enfrentar el problema que representa el tratamiento de aguas residuales, de tipo carbonoso, con alto contenido de material orgánico biodegradable, se presentan los sistemas biológicos rotatorios de tipo aerobio. El reactor biológico rotatorio (RBR) o más comúnmente llamado sistema de biodiscos, consta de una serie de discos montados en un eje central. El conjunto es movido mecánicamente por un motor eléctrico. Aproximadamente el 40 % de la superficie total de los discos se encuentra sumergida en un recipiente semicilíndrico que contiene el agua residual por tratar.

Estos sistemas tienen la capacidad de transformar, mediante el metabolismo microbiano, el material orgánico disuelto a sólidos biológicos suspendidos, generalmente aglomeraciones de comunidades mixtas de organismos microscópicos.

Entre las comunidades microbianas, las de protozoarios ciliados revisten gran interés debido a que favorecen la formación de grumos microbianos, intervienen en los procesos de mineralización de la materia orgánica disuelta y son importantes consumidoras de bacterias suspendidas. Aunado a lo anterior, debido a sus cualidades intrínsecas como son su estructura, tamaño, movilidad y tipo de hábitat, es posible emplearlas en estudios de calidad de agua.

El objetivo de este estudio fue detectar una posible modificación por efecto de temperatura, en la estructura comunitaria de las poblaciones de protozoarios ciliados presentes a lo largo de un sistema de biodiscos.

Para conseguir lo anterior, se diseñó un RBR de 20 litros de volumen total, dividido en diez cámaras o compartimientos intercomunicados entre sí. Cada cámara contiene dos discos de 0.3 m de diámetro unidos a un eje común. El conjunto es movido por un motor eléctrico, el que proporciona a los discos una velocidad de rotación de 30 rpm. Se suministró de manera constante nejayote diluido a una concentración de 2 g/l como demanda química de oxígeno (DQO), con equivalencia de 0.6 g/l como demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>). El RBR se operó a tres diferentes temperaturas (10, 20 y 30°C), manteniéndose un gasto constante de 20 l/día.

Por otra parte, se evaluó, a lo largo de cada experimento, la calidad fisicoquímica del agua, considerando como parámetros a medir el pH, el oxígeno disuelto, la DQO y la DBO<sub>5</sub>.

Durante la fase pseudoestable del RBR y bajo condiciones de operación constantes, se efectuó, en cada cámara y en los tres periodos experimentales de variación de temperatura, el registro de distribución y abundancia de los géneros y especies de protozoarios pertenecientes al Phylum Ciliophora.

De manera complementaria dentro del subreino Protozoa, se consideraron a los flagelados y a las amibas. También se tomó en cuenta a los metazoarios microscópicos (rotíferos y nemátodos) presentes en las muestras.

Desde el punto de vista fisicoquímico se observó que, a lo largo del RBR, durante los experimentos a tres temperaturas diferentes, el pH varió de neutro a ligeramente alcalino conforme avanzaba en la etapa depurativa, oscilando entre 7.0 y 8.2 unidades. Los niveles de oxígeno disuelto fueron superiores a 2 mg/l en las últimas cinco etapas del reactor. También se observó que a 30°C se obtuvo, 80 y 90 % más remoción, calculada como DQO, que a 20 y 10 °C, mientras que medido como DBO<sub>5</sub>, fue de 20 y 50 % para la misma secuencia de temperaturas. Aproximadamente el 75 % de la remoción total, medida como DQO y el 85 % como DBO<sub>5</sub>, ocurrió en las primeras cinco etapas del sistema de tratamiento, lo cual sugiere la disminución en el número de compartimentos del reactor. Esto, aunado al aumento en el número de discos o bien su área superficial (en las primeras cámaras), permitiría depurar efluentes más concentrados, empleando reactores más compactos.

Por otra parte, de acuerdo con los resultados obtenidos a 10 y 30°C, se observó, respecto a protozoarios, que el grupo más abundante lo constituyen los flagelados, mientras que a 20°C son los ciliados. Por otra parte el grupo menos abundante de protozoarios, para las tres temperaturas de estudio, fue el de las amibas, las cuales presentaron mayor abundancia a 30°C. En cuanto a micrometazoarios, hubo más abundancia de rotíferos que de nemátodos en cada periodo experimental. En términos generales, la mayor riqueza específica y abundancia de protozoarios y micrometazoarios se presenta a 20°C y la menor a 10°C.

La estructura de la comunidad microbiana (protozoarios y micrometazoarios) permite detectar de manera cualitativa la calidad del agua, en cuanto a su contenido de material orgánico disuelto biodegradable, siendo de mejor calidad a medida que el número de especies es mayor y la abundancia entre grupos de organismos es más homogénea.

Considerando de manera exclusiva a los protozoarios ciliados, la comunidad de los mismos incrementa su heterogeneidad conforme la temperatura en que se realiza el proceso depurativo aumenta.

Existe la posibilidad de emplear protozoarios ciliados, como indicadores del contenido de material orgánico biodegradable en un sistema de biodiscos, siempre y cuando se haga previamente una caracterización simultánea y una correlación posterior de este parámetro y de los ciliados presentes en las diferentes etapas del RBR, bajo condiciones de operación controladas.

## 1.- INTRODUCCION

México al igual que otros países, se enfrenta al grave y creciente problema que representa la generación de aguas contaminadas debido a su uso en actividades domésticas e industriales.

El agua contaminada no se restringe a un espacio pequeño, sino por el contrario trasciende a niveles inicialmente insospechados. Por un lado, al ser descargados los efluentes residuales en cuerpos de agua naturales como ríos y lagos, deterioran la calidad físico-química del agua, evitando así su uso potencial como fuente de agua potable. Provocan, además, la muerte masiva de la flora y la fauna acuáticas preexistentes y propician la generación de focos de infección dañinos para asentamientos humanos aledaños.

Por otra parte, al descargarse sobre el suelo, pueden ocasionar limitantes para su uso como tierras de cultivo, debido tanto al incremento de su salinidad, como de la potencialidad en la presencia de microorganismos patógenos. Además por infiltración pueden inducir la contaminación de mantos freáticos, principalmente de los más someros (Durán de Bazúa, 1987; Fernández-Galiano, 1985; Saavedra, 1982).

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

## 2.- ANTECEDENTES

### 2.1.-GENERALIDADES SOBRE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

El tratamiento de aguas residuales es una combinación de procesos primarios, secundarios y terciarios, los cuales pueden ser aplicados independientemente aunque siempre de manera secuencial y acorde con la finalidad que se persiga, aumentando su costo de manera proporcional al grado de descontaminación que se desee alcanzar (Duncan, op. cit.).

Los procesos primarios consisten en eliminar los sólidos de mayor tamaño, así como los más fácilmente sedimentables. Para lograrlo se usan métodos como cribado, sedimentación, flotación, filtración, etc. Estos procesos aunque no efectúan ningún tipo de eliminación de material contaminante disuelto en el agua, si evitan que haya una incorporación posterior por disolución, lo cual retardaría la depuración de ésta.

Los procesos secundarios o biológicos, son comúnmente empleados para eliminar el material orgánico disuelto (MOD). Estos procesos, involucran la intervención de organismos de tipo procarionte, como las bacterias, y de tipo eucarionte, como algas y hongos microscópicos, protozoarios y micrometazoarios. Estos organismos se encargan de transformar porciones considerables de MOD de fácil biodegradación, a sólidos biológicos de rápida sedimentación, generalmente nuevos organismos de las diferentes comunidades representadas a lo largo del proceso depurativo. Dentro de estos procesos se encuentran: reactores anaerobios de lecho empacado, lagunas facultativas, lagunas aerobias, lodos activados, filtros percoladores (lechos de oxidación biológica), reactores biológicos rotatorios, etcétera).

Los procesos terciarios se basan en principios físicos y químicos y son aplicados cuando se desea obtener agua de mejor calidad que la lograda en los tratamientos previos (primarios o secundarios) o inclusive sin que el agua de interés haya sido sometida a un tratamiento preliminar. Lo anterior va a depender del grado de contaminación inicial del agua por tratar. A partir de los procesos terciarios es posible la remoción de material orgánico no biodegradable o de difícil biodegradación y de compuestos con amonio. También pueden eliminarse microorganismos suspendidos, diversos iones y la coloración del agua. Dichos procesos son, entre otros, filtración, adsorción, cloración, coagulación e intercambio iónico (Duncan, op. cit.; Eckenfelder y Ford, 1970; Fernández, 1986; Pedroza, 1985).

De manera especial, los efluentes de la industria alimentaria presentan una alta concentración de materia orgánica, tanto disuelta como suspendida, para cuya degradación los sistemas de tratamiento biológicos resultan ser los más adecuados (Durán de Bazúa et al., 1982; González, 1986).

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

## 2.2.-PROCESOS SECUNDARIOS O BIOLÓGICOS

### División metabólica de los procesos biológicos

Los procesos biológicos pueden dividirse, en general, en función del tipo de metabolismo empleado por los microorganismos que en él intervienen, considerando además el nivel de oxígeno en solución presente en el líquido bajo tratamiento en:

### 1) Procesos biológicos anaerobios.

En ellos se desarrollan microorganismos que no requieren oxígeno molecular libre en solución, ya que las necesidades para su subsistencia, las obtienen de compuestos inorgánicos aceptores de electrones como son los nitritos y nitratos. Mediante la digestión en filtros y lagunas anaerobias se consigue remover la materia orgánica soluble (González y Marmolejo, 1986; Kennedy et al., 1985; Marmolejo, 1984).

### 2) Procesos biológicos aerobios.

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

### 3) Procesos biológicos mixtos o facultativos.

Consisten en una combinación de los dos procesos anteriores, intervienen microorganismos aerobios, microaerofílicos, anaerobios y de tipo facultativo. Como ejemplo de este proceso están las lagunas facultativas (Escárcega y Pulido, 1986).

### Formas de crecimiento microbiano

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

#### Crecimiento adherido:

Este tipo de crecimiento se realiza mediante la adhesión de los microorganismos a algún medio inerte que sirve de soporte, como son rocas, materiales plásticos, o cerámicos según sea el tipo de tratamiento biológico empleado. En la lama formada o película biológica activa fija, es donde se realiza la conversión de materia orgánica disuelta y otros constituyentes presentes en las aguas de desecho, a  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y otros metabolitos disueltos. A partir de esta conversión es posible que los microorganismos presentes obtengan la energía suficiente para mantener su metabolismo basal y, mediante su reproducción, incorporar nuevos individuos al medio de soporte.

## Crecimiento en suspensión:

En este caso, los microorganismos crecen suspendidos en el líquido bajo tratamiento, formando aglomerados o flóculos de diversos tamaños y consistencias; bajo esta estructura, logran una mayor superficie de contacto con los nutrientes en los que se encuentran inmersos, eliminando a la vez aquellos compuestos que no les son útiles.

De estos dos tipos de crecimiento el de película biológica activa fija, ha tenido mucho auge en los últimos diez años. Su uso se ha enfocado a los llamados "filtros percoladores" (lechos de oxidación biológica) y a los reactores biológicos rotatorios. Estos últimos presentan varias ventajas con respecto a los otros sistemas, las cuales se detallarán más adelante.

### 2.3.- APLICACION DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.

La industria de la nixtamalización del maíz es una de las más importantes de la industria alimentaria en México. El tratamiento de sus efluentes líquidos ha sido estudiado extensamente (Alvarez, 1986; Civit, et al., 1984; Durán de Bazúa, 1977, 1983, 1987; Escárcega y Pulido, 1986; Feria y Trejo, 1979; González et al., 1985; Luna-Pabello, 1987; Marmolejo, 1984; Montesinos y Durán, 1986; Pedroza y Durán, 1985).

El agua residual es conocida como nejayote (del Náhuatl: nextli= cenizas de cal; ayoh= caldo o cosa aguada y atl= agua). Contiene altas concentraciones de materia orgánica disuelta y en suspensión, provenientes tanto del material biológico del alimento como del material inorgánico aportado al proceso.

Las principales características fisicoquímicas del nejayote procedente de los molinos de nixtamal son: pH entre 12 y 14 unidades, alcalinidad de 2700 mg de  $\text{CaCO}_3$ /l, sólidos suspendidos cercanos a 2000 mg/l, demanda química de oxígeno (DQO) del orden de 20 000 mg OD/l, y demanda bioquímica de oxígeno en cinco días ( $\text{DBO}_5$ ) de 8000 mg OD/l. Se observa una relación carbono: nitrógeno:fósforo de aproximadamente 500:1:0.25 respectivamente, lo cual indica que es un efluente de tipo carbonoso o "carbonáceo".

La materia orgánica e inorgánica que contamina las aguas puede medirse por medio de su oxidación química. A esta medida se le conoce como demanda química de oxígeno o DQO (APHA, 1981).

Asimismo, puede ser degradada por microorganismos y entonces se le conoce como demanda bioquímica de oxígeno ( $\text{DBO}_5$ ). Esta es una prueba empírica para determinar la cantidad relativa de oxígeno requerido, por determinados microorganismos, para degradar la materia orgánica disuelta presente en las aguas contaminadas y estandarizada en un tiempo de cinco días a 20° centígrados.

#### 2.4.- TRATAMIENTO BIOLÓGICO DEL NEJAYOTE

Desde 1977 se han realizado diversas pruebas de tratamiento biológico a escala laboratorio para depurar las aguas residuales provenientes de la nixtamalización del maíz (nejayote).

Entre los sistemas empleados se encuentran:

**Lodos activados.-** Este sistema está compuesto de un tanque donde se deposita el agua de desecho por tratar, la que es aireada mecánicamente por agitación. Después de un determinado tiempo, el líquido aireado pasa a un sedimentador secundario, donde se separa por gravedad el agua tratada como sobrenadante y los lodos de desecho por el fondo del sedimentador. Parte de estos lodos son recirculados nuevamente al tanque como inóculo y el resto son eliminados (Durán de Bazúa y Hartmann, 1980; Hartmann y Durán de Bazúa, 1981).

**Contacto anaerobio.-** Consta de un recipiente herméticamente cerrado y el agua por tratar es depositada en su interior. Tiene una salida superior para gases y otra inferior que comunica con el sedimentador secundario, donde se separan los lodos de desecho y el agua tratada (Marmolejo, 1984).

**Reactor anaerobio empacado o filtro anaerobio.-** Son de forma generalmente cilíndrica, cerrados herméticamente, con tipos de empaque variable. Comúnmente el agua residual se introduce por la parte inferior del cilindro (película ascendente), aunque también pueden alimentarse las aguas residuales por la parte superior (película descendente). En el mismo reactor se realiza la separación del agua tratada y los gases producidos, así como los lodos generados, si resulta necesario (Civit et al., op. cit.).

**Reactor biológico rotatorio (RBR) o reactor de discos biológicos.-** Este sistema está formado por una serie de cámaras intercomunicadas entre sí por la parte superior. Cada cámara contiene un conjunto de discos ensablados a un eje. Aproximadamente el 40% de la superficie de dichos discos se encuentra sumergida en las aguas de desecho por tratar. El líquido una vez tratado pasa a un sedimentador secundario en donde los lodos de desecho y el agua tratada, se separan por gravedad (Pedroza, 1985).

De acuerdo con los resultados experimentales obtenidos en esos estudios, el sistema aerobio de discos biológicos rotatorios, resultó ser el más eficiente para la remoción de materia orgánica presente, así como para generar lodos densos fácilmente sedimentables (Durán de Bazúa, 1983, 1987; Escárcega y Pulido, op. cit.; González, op. cit.).

En consecuencia, a continuación se señalan algunos aspectos de interés con referencia a este sistema.

## 2.5.-REACTORES BIOLÓGICOS ROTATORIOS (RBR<sub>g</sub>).

### Generalidades sobre RBR<sub>g</sub>:

Los reactores biológicos rotatorios, comercialmente conocidos como reactores de biodiscos, han ido demostrando paulatinamente su importancia en el tratamiento de aguas que contengan material orgánico biodegradable tanto en concentraciones altas como bajas. Necesitan tiempos de residencia hidráulicos cortos debido a la gran área superficial expuesta; pueden operar en un amplio intervalo de gastos; no requieren tuberías de recirculación y sus costos de operación y mantenimiento son bajos, debido a su sencillez de operación, considerando su tamaño y funcionamiento. Sin embargo, requieren periodos largos para alcanzar la estabilidad y la inversión de capital inicial asociado a su construcción y arranque es alta, lo cual representa una gran desventaja para los países del tercer mundo (Antonie y Van Aacken, 1971; Durán de Bazúa, et al., 1982; Friedman et al., 1979; Klemetson y Rogers, 1982; Pedroza, 1985; Rushbrook y Wilke, 1980).

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

Existe una cantidad considerable de estudios referentes a la optimización estructural y de operación, de plantas de tratamiento de aguas residuales (Alvarez et al., 1985; Duncan, 1976; Durán de Bazúa, 1983; Escárcega y Pulido, 1986; Famularo et al., 1978; Gólcz, 1984; Hamoda y Wilson, 1989; Montesinos y Durán, 1987; Norouzián y Deloya, 1984; Norouzián y González-Martínez, 1985; Pano y Middlebrooks, 1982; Pedroza, 1985; Pedroza y Durán, 1986; Poon y Chao, 1979; Rittman et al., 1983; Shariff y Hassan, 1984; Starkey y Karr, 1984). Sin embargo, desde el punto de vista microbiológico, el entender con mayor claridad la importancia de las diferentes comunidades microbianas a lo largo del fenómeno de depuración biológica, permitiría identificar los posibles factores que inhiben o aceleran el funcionamiento de dichas plantas. No obstante, aunque se han realizado avances al respecto en sistemas convencionales, son pocos los estudios publicados con este enfoque (Bick, 1971; Curds et al., 1968; Mc Kinney y Gram, 1956; Wiggins y Alexander 1988; Yuhei et al., 1989).

## 2.6.-FORMACION DE LA PELICULA BIOLOGICA EN RBR<sub>g</sub>:

Respecto a este punto, se han realizado algunos estudios sobre el desarrollo global de la película biológica o biopelícula, el cual ha sido dividido en tres fases: Inducción, acumulación, y estabilización. El término de biopelícula no implica necesariamente una acumulación superficial uniforme en el tiempo y/o espacio (Characklis y Cooksey, 1983).

**Fase de inducción.**- Comprende la adsorción de los compuestos orgánicos sobre la superficie de los discos, mientras estos se encuentran en contacto, al sumergirse en el líquido por tratar. Se considera que la adsorción de los compuestos orgánicos en la superficie del soporte es un requisito previo para el desarrollo de la película biológica y la consecuente fijación de la biomasa (Norouzian y Deloya, 1984). Es decir, los microorganismos colonizan las superficies sólidas (formando la matriz gelatinosa microbiana), cuando las cantidades adecuadas de nutrientes orgánicos, sales minerales y oxígeno, están disponibles sobre dichas superficies (Hoehn y Ray, 1973; Pedroza op. cit.).

**Fase de acumulación.**- Durante esta fase, hay un crecimiento logarítmico de los microorganismos, continuando así, hasta que el soporte está completamente cubierto (Norouzian y Deloya, op. cit.). Se observa un período de acumulación constante, el cual termina por efecto del esfuerzo cortante entre la biopelícula y la superficie del líquido. Este proceso previene la acumulación de mayor cantidad de microorganismos. El "alimento" (substratos disueltos) y el oxígeno son suministrados a través de la película biológica por difusión. A medida que el grosor de la película aumenta, se hace más factible la generación, en los estratos más profundos, de zonas con procesos anaerobios (Famularo et al., 1978; Reiber y Stensel, 1985).

**Fase de estabilización o "plateau" (meseta).**- En esta fase la película biológica desprendida y la producida se encuentran en equilibrio dinámico, manteniéndose un espesor constante. El mantenimiento de la estructura de la biopelícula es el efecto combinado de la reproducción celular y la producción extracelular de polímeros de polisacáridos que mantienen la cohesión de la biomasa (Trulear y Characklis, 1982).

La condición de estabilidad persiste hasta que los nutrientes difundidos a través de la biopelícula se terminan. En ese momento los organismos de las capas basales mueren. La integridad estructural de la base de la película se pierde y ocurre un desprendimiento masivo (Characklis y Cooksey, op. cit.; Hoehn y Ray, 1973; Pedroza, 1985).

Durante el proceso depurativo se llevan a cabo fenómenos de difusión de substratos y metabolitos disueltos y gaseosos de manera reciproca entre el líquido y los aglomerados microbianos (grumos y película activa fija), los cuales no son activos en todo su espesor, sino únicamente en un intervalo que va de 21 µm, hasta 150 µm, dependiendo de los substratos o nutrientes limitantes (Famularo et al., 1978). Un esquema de la estructura de la película biológica activa, puede observarse en la Fig. 1.

La capacidad depuradora de la película biológica activa, alcanza su máximo cuando existe una capa delgada completamente aerobia, disminuyendo su eficiencia al incrementarse su espesor, transformándose en zonas microaerobias y anaerobias (Kornegay, 1975; en Escárcega y Pulido, 1986).

Por otra parte, diversos investigadores (Curds, 1975; Curds et al., 1968; Curds y Vandyke, 1966; Finaly, 1977; Moreno, 1985) consideran que la eficiencia de remoción de materia orgánica en sistemas de tratamiento biológico podría aumentar si se comprendieran no sólo los principios físicos y mecánicos de su funcionamiento, sino también la ecología de los diversos microorganismos que integran la comunidad, los cuales a su vez permitirían identificar los posibles factores que inhiben o aceleran el proceso de degradación biológica.

Al respecto, se sabe que en los reactores de biodiscos, la materia orgánica disuelta es biodegradada, de manera secuencial, por diferentes comunidades bacterianas según las condiciones ecológicas específicas prevalientes en cada etapa del sistema (Landon-Arnold, 1984; Luna-Pabello, 1987; Moreno, 1985; Pedroza, 1985; Wang et al., 1984).

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

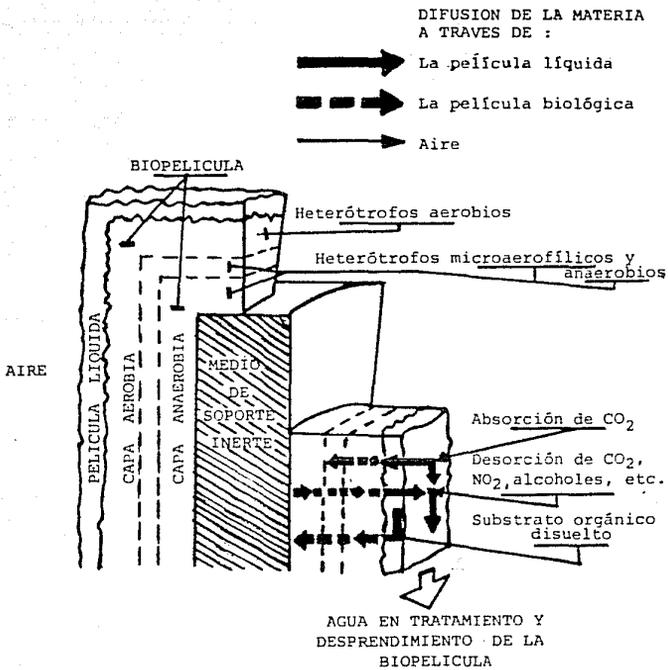


Fig. 1 Esquema de la película biológica activa fija.  
(Alleman et al, 1982 y Särner, 1986).

## 2.7.- IMPORTANCIA DE LOS PROTOZOARIOS DENTRO DEL PROCESO DEPURATIVO

### Aspectos generales

Los protozoarios, son microorganismos pertenecientes al Reino de los Protocistas (Margulis y Schwartz, 1981), o Protista (Corliss, 1984) y al Subreino Protozoa (Lee et al., 1985). El término Protocista fue introducido por John Hogg en 1861 para designar a "todas las criaturas inferiores, o a los seres orgánicos más primitivos, tanto Protophyta (de naturaleza más parecida a las plantas), como Protozoa (de naturaleza relacionada con los animales)". En la segunda mitad del siglo XIX, Copeland, propuso la creación del Reino de los Protocistas, para acomodar tanto a organismos unicelulares cuyos descendientes son iguales a los organismos paternos, como a algunos organismos multicelulares.

Por otra parte, la aplicación del término de Protista, para este grupo de organismos de características tan particulares, tiene como base el incorporar únicamente aquellos microorganismos eucariontes de tipo unicelular. En este trabajo se considerará a los protozoarios como un subreino del reino Protocista.

Los Protocistas son organismos eucariontes tanto de tipo unicelular como aquellos multicelulares que no forman tejidos verdaderos, presentan características, como núcleo delimitado por membrana nuclear, división nuclear por mitosis, nucleolo, estructura de Golgi, respiración mitocondrial, y en muchas ocasiones, con undilpodios 9+2, en algún estadio de su ciclo vital (Margulis y Schwarts, 1981). Los protocistas son acuáticos, algunos son principalmente marinos, otros son de agua dulce, y otros viven en tejidos de organismos con alto contenido acuoso. En general, presentan una destacada diversidad en organización celular y ciclo de vida, algunos son autótrofos y otros son heterótrofos. En muchas especies, el tipo de nutrición depende de las condiciones imperantes: fotosintetizan cuando hay luz abundante y en la obscuridad actúan como heterótrofos. Sin embargo, aunque los protocistas presentan mayor diversidad en estilo de vida y nutrición que los animales, hongos y plantas, metabólicamente son mucho menos variados que las bacterias.

### Aspectos ecológicos

Los protozoarios son organismos celulares, generalmente microscópicos, solitarios o coloniales. Se les ha encontrado en diversos ambientes tanto acuáticos como terrestres y aéreos, preferentemente en aquellos lugares donde existe humedad o por lo menos una película de agua (Bick, 1972; Fenchel, 1987). De acuerdo al tipo de organelo que emplean para su desplazamiento, pueden distinguirse tres grupos de protozoarios: los flagelados, quienes emplean estructuras a manera de látigo o flagelo; las amibas, las cuales se desplazan mediante pseudópodos o proyecciones citoplasmáticas y por último los ciliados, que emplean pequeños organelos denominados cilios.

Muchas especies de protozoarios presentan diversos grados de asociación con otros seres vivos (simbiosis), que va desde el mutualismo hasta el parasitismo estricto, tanto con otros protozoarios como con invertebrados y vertebrados (Equihua y Benitez, 1987; Curds, 1977).

Para el estudio de la ecología de comunidades es necesario conocer su diversidad o heterogeneidad, es decir tanto el número de especies (riqueza) como la abundancia relativa de las mismas (Krebs, 1985). De acuerdo con Peet (1974) en Krebs op. cit., la heterogeneidad de una comunidad será mayor en la medida que haya más especies y de que estas últimas sean igualmente abundantes.

Una forma ampliamente aceptada para medir la heterogeneidad de una comunidad (dada su independencia de cualquier distribución hipotética), es a la función de Shannon y Wiener, la cual en sentido estricto sólo debe emplearse con muestras aleatorias extraídas de un gran comunidad en que se conoce el número total de especies. El valor obtenido, como resultado de la aplicación de ésta función es, directamente proporcional al grado de diversidad presente en la comunidad bajo estudio.

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

Función de Shannon-Wiener:

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

Donde:

- H= cantidad de información de la muestra (bits/individuo)
- = índice de diversidad de la especie
- S= número de especies
- $p_i$  = proporción del total de la muestra que corresponde a la especie i

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

$$E = \frac{H}{H_{\text{máx}}}$$

Donde:

- E= Equidad o igualdad (gama de 0 a 1)
- H= Diversidad de especies observada
- $H_{\text{máx}}$  = Diversidad de especies máxima

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

S= Número de especies de la comunidad

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

#### Aspectos relativos a contaminación acuática

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

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

En términos generales los protozoarios representan un eslabón muy importante dentro de la cadena o trama alimentaria presente a lo largo del proceso de biodegradación de la materia orgánica existente tanto en cuerpos de agua natural como aquellos sometidos a tratamiento biológico.

Estos microorganismos son los responsables de disminuir de manera considerable la cantidad de bacterias en suspensión presentes en los líquidos residuales parcialmente tratados, lo cual reduce en la disminución del grado de turbiedad, debido al efecto depredador y de aglomeración que los protozoarios ejercen sobre las bacterias. Los protozoarios también inciden de manera directa sobre la mineralización de los compuestos orgánicos, es decir que propician la estabilidad del material contaminante, lo cual reduce la interacción de éste con el ambiente (Wiggins y Alexander, 1988). De manera particular, los protozoarios ciliados, son responsables de una considerable proporción de la purificación de aguas residuales. Resultados experimentales a nivel de laboratorio, empleando agua residual doméstica, tratada en ausencia y en presencia de ciliados, evidenciaron que cuando los ciliados están presentes existe mayor remoción de contaminantes. Los porcentajes de remoción logrados son superiores en 40% para el material orgánico disuelto (medido como demanda química de oxígeno), 50% en contenido de nitrógeno orgánico y de 70% tanto en sólidos suspendidos como en bacterias (Duncan, 1976).

## Aspectos taxonómicos

Clasificados como protozoarios se encuentran aproximadamente 65,000 especies. El esquema taxonómico de los protozoarios, de acuerdo con Corliss (1984), se empezó a desarrollar a principios de siglo, cuando se consideraron dos Subphyla, con base al tipo de organoides locomotores: Subphylum Plasmodroma, que agrupaba las Clases Mastigophora, Sarcodina, y Sporozoa ;y el Subphylum Ciliophora.

El esquema clásico de los protozoarios permaneció prácticamente sin modificaciones hasta que Honiberg *et al.* (1964), propusieron una clasificación en cuatro Subphyla: Sarcomastigophora, Sporozoa, Cnidospora y Ciliophora.

Posteriormente, debido al aporte de nuevos datos de gran importancia taxonómica obtenidos del empleo de técnicas sofisticadas como la de protargol, así como del descubrimiento de un mayor número de especies y del desarrollo del microscopio electrónico, Levine *et al.* (1980), proponen una nueva clasificación en la que elevan el nivel taxonómico de algunos Subphyla ya existentes, desaparecen otros y crean tres nuevos Phyla. Los siete Phyla propuestos son: Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Ascetospora, Myxozoa y Ciliophora.

Está última clasificación es modificada por Lee *et al.* (1985), como consecuencia de un nuevo enfoque en la jerarquización de las estructuras para agrupar a este tipo de microorganismos en los diferentes taxa.

De acuerdo con Lee *et al.*, 1985, el Subreino Protozoa se divide en seis Phyla: Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Myxozoa y Ciliophora.

En el esquema de clasificación del Phylum Ciliophora, propuesto por Small y Lynn en Lee *et al.*, 1985, sobresale la creación de tres Subphyla y la duplicación del número de Ordenes existentes.

El Phylum Ciliophora Doflein 1901, está formado por 3 Subphyla, 8 Clases, 15 Subclases y 48 Ordenes, 30 Subórdenes y 214 Familias. La diagnosis de este Phylum es la siguiente:

"Con cilios simples u organoides ciliares compuestos, cuando menos en un estado de un ciclo de vida; con infraciliatura aun cuando no existan cilios; dos tipos de núcleos; fisión binaria transversal, básicamente homototogénica y generalmente percinética, pero también ocurre gemación y fisión múltiple; la sexualidad está relacionada con la conjugación, autogamia y citogamia; nutrición heterótrofa; vacuola contráctil generalmente presente; la mayoría de las especies de vida libre, pero muchas comensales, algunas verdaderamente parásitas y otras como simforontes sobre gran variedad de hospederos" (Corliss, 1966).

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

A partir de dichos trabajos se puede inferir que es posible encontrar una correspondencia entre determinadas poblaciones de protozoarios ciliados y un tipo particular de agua contaminada, mediante el estudio previo y simultáneo de parámetros fisicoquímicos y el análisis ciliológico de muestras consuetudinarias de un sistema o cuerpo de agua particular. Sin embargo, debe aclararse que no debe hacerse una extrapolación indiscriminada de los resultados obtenidos de un estudio particular, trátese de un sistema de tratamiento biológico específico de estudio o de un cuerpo de agua natural contaminado. Para comparar cualitativamente las poblaciones de organismos ciliados en dos cuerpos de agua estos deben guardar una estrecha relación, no solamente de tipo estructural y funcional, sino también respecto al tipo y concentración de substratos contenidos.

Por otra parte es importante, para aumentar la eficiencia de un sistema de tratamiento biológico aerobio, proporcionar las condiciones óptimas para la proliferación de: a) los microorganismos que intervienen tanto, en la transformación del material orgánico disuelto biodegradable a sólidos biológicos suspendidos (reproducción bacteriana), b) los de aquellos que consumen bacterias suspendidas y promueven la floculación de las mismas (protozoarios y micrometazoarios), lo que da como resultado final un efluente de mejor calidad a la obtenida sin su presencia (Curds y Vandyke 1966. Curds, et al. 1968; Duncan, 1976; Wiggins y Alexander, 1988; Yuhei et al. 1989). Los principales factores a considerar pueden dividirse en aquellos dependientes de la estructura y operación del sistema de tratamiento seleccionado y los que dependen propiamente del ambiente (bióticos y abióticos).

- A) Dependientes de la estructura y operación, del sistema de tratamiento empleado, como son la mezcla homogénea del sustrato con los microorganismos; proporcionar un tiempo adecuado de interacción microorganismo-sustrato y concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 2 mg/l. (Cairns et al., 1979; Famularo et al., 1978; Pitter, 1976; Poon y Chao, 1979; Reiber y Stensel, 1985; Sack et al., 1986; Stakey y Karr, 1984).
- B) Dependientes del ambiente, como la concentración de sustrato (nutrientes); pH; salinidad; temperatura; presión atmosférica y tipo de microorganismos inoculados. (Fenchel, 1987; Finaly, 1977; Fiolitakis et al., 1987; Kinner y Curds, 1987; Margaleff, 1975; Pano y Middlebrooks, 1982; Särner, 1986; Vavilin, 1982).

Considerando que:

- 1.- En la actualidad existe un creciente interés en el empleo de los RBR<sub>s</sub> como sistemas biológicos para la depuración de efluentes líquidos, con mayor concentración de materia orgánica biodegradable, que la contenida en aguas domésticas,
- 2.- Estos sistemas aumentan el porcentaje de remoción de materia orgánica de manera directamente proporcional al incremento de temperatura, en un determinado intervalo, que oscila entre 0 y 35 °C,
- 3.- Las comunidades microbianas son fundamentales en este tipo de procesos, debido a que son las que transforman el material orgánico biodegradable disuelto, en sólidos biológicos suspendidos, formando grumos de poblaciones mixtas de microorganismos, susceptibles de ser separados posteriormente por procesos físicos relativamente sencillos,

se plantean los siguientes objetivos.

### 3.- OBJETIVOS

#### 3.1.-Objetivo general:

Estudiar las poblaciones, particularmente las de protozoarios ciliados, que se desarrollan a lo largo de las diferentes etapas de un reactor biológico rotatorio durante la fase de régimen permanente (independiente del tiempo), a tres diferentes temperaturas y depurando líquidos con mayor concentración de materia orgánica disuelta biodegradable que los domésticos, operando bajo condiciones controladas y constantes.

### 3.2.-Objetivos particulares:

- \* Diseñar un RBR a escala laboratorio para el estudio del efecto de la temperatura en las comunidades microbianas presentes durante el proceso depurativo.
- \* Establecer las condiciones de operación permanentes del RBR a lo largo de la fase experimental.
- \* Registrar la diversidad y abundancia de protozoarios ciliados en un RBR, durante su periodo estable a tres diferentes temperaturas (10, 20 y 30 °C).
- \* Registrar de manera complementaria la distribución y abundancia de flagelados, amibas y metazoarios.
- \* Describir la ecología del sistema de tratamiento asociado al cambio de temperatura del medio.

#### 4.- MATERIALES Y METODOS

##### 4.1.- EXPERIMENTACION PREVIA

De acuerdo con trabajos previos a nivel laboratorio se ha encontrado que los reactores biológicos rotatorios (RBR) de tipo aerobio son los más eficientes para degradar la materia orgánica disuelta contenida en las aguas residuales de molinos de nixtamal, las cuales son conocidas comúnmente como nejayote (Alvarez, et al., 1985; Durán de Bazúa, 1983; Escárcega y Pulido, 1986; González, 1986; González y Marmolejo, 1986; González, et al., 1985; Pedroza y Durán, 1985; Pedroza de Brenes y Durán de Bazúa, 1987; Pedroza-Islas y Durán de Bazúa, 1990). El objetivo de esta primera etapa consiste en diseñar, construir, arrancar, y operar un reactor biológico rotatorio a escala laboratorio para el tratamiento biológico aerobio del nejayote. Una vez conseguido, se procederá a la realización de los experimentos referentes al efecto de la temperatura sobre las poblaciones de protozoarios ciliados presentes en el en el RBR a lo largo del proceso depurativo.

##### 4.1.1.- Diseño y construcción del RBR

Considerando que para el diseño de RBR se emplean tradicionalmente relaciones empíricas entre la eficiencia de remoción de contaminantes y la tasa orgánica o hidráulica (Klemetson y Rogers, 1982; Hamoda y Wilson, 1989) y que comúnmente se recomienda una relación área/volumen cercana a  $150 \text{ m}^{-1}$  para aguas residuales domésticas (Kornegay y Andrews, 1968; Alvarez, 1986; Escárcega y Pulido, 1986; García-Díaz, 1988), se tomó como base, para el diseño del RBR experimental, un volumen total de trabajo de 20 litros y 10 divisiones o compartimentos.

De acuerdo con los cálculos realizados, en función del área requerida para el volumen de agua seleccionado, se determinó que con dos discos de 0.3 m de diámetro, se obtendría una relación de  $141 \text{ m}^{-1}$ , la cual es cercana a la recomendada (tabla 1).

Una vez conocidas las características básicas del diseño, se eligió el material para su construcción, tomando en cuenta para ello, su resistencia, disponibilidad y manejo. El material elegido para la construcción de los discos, las mamparas de separación y del sedimentador secundario fue el acrílico. Cabe hacer mención que tanto para facilitar la formación de la película biológica sobre los discos, como para evitar su desprendimiento prematuro, es recomendable que estos presenten una superficie rugosa, por lo cual se hace un raspado en ambos lados (Escárcega y Pulido 1986). Para la construcción de la base del RBR o recipiente del líquido por tratar, el material seleccionado fue lámina galvanizada. Como parte importante del diseño, se estableció que la base tendría forma semicilíndrica, con objeto de evitar al máximo la generación de zonas de mezclado deficiente y consecuente anaerobiosis.

Con el propósito de disminuir tanto la evaporación del líquido en tratamiento, como posibles fluctuaciones bruscas de temperatura durante los tres periodos experimentales programados, se estimó conveniente incorporar al RBR una tapa que cubriera la totalidad de las cámaras. Ambas estructuras, base y cubierta, se construirían de lámina galvanizada (Fig. 2).

Para evitar el retromezclado entre cámaras y favorecer el tratamiento secuencial del líquido suministrado (Durán de Bazúa, 1981; Alvarez, 1986; Escárcega y Pulido, 1986), se acoplaron el RBR y el sedimentador secundario a un soporte metálico con pendiente de inclinación negativa, aproximadamente  $1.5^{\circ}$  (Fig. 3).

Tabla 1. Sumario de las dimensiones del reactor biológico rotatorio (RBR) experimental.

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

#### Partes y especificaciones del reactor

El RBR se construyó en forma de un cilindro hueco horizontal dividido longitudinalmente en dos partes:

- 1) Parte superior. Constituye la cubierta del reactor, lo cual permite mantener relativamente constante la temperatura al interior de las cámaras y disminuir el volumen de evaporación del agua residual en tratamiento, que es aproximadamente de 10 % diario (2 litros) del volumen total de trabajo a temperatura ambiente.

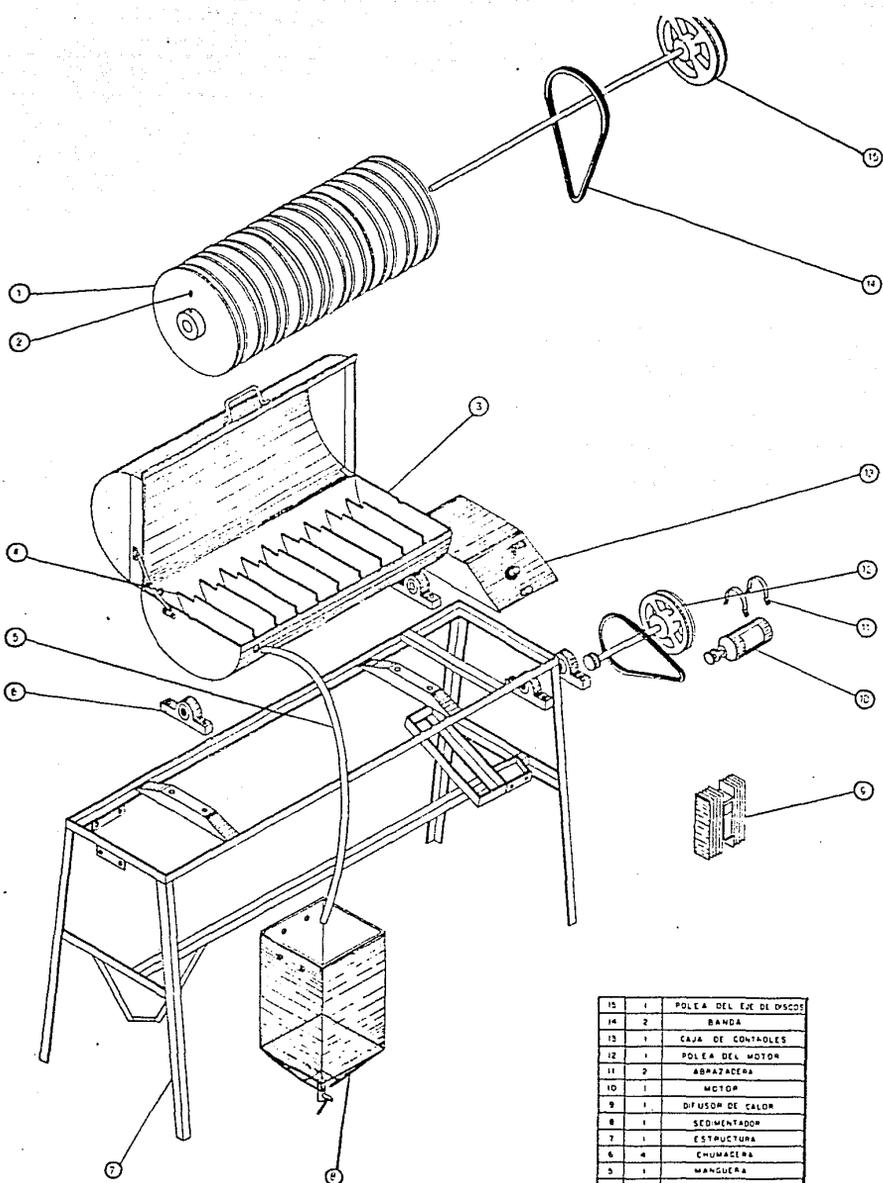


Fig. 2 Partes y especificaciones del RBR

15	1	POLEA DEL EJE DE DISCOS
14	2	BANDA
13	1	CAJA DE CONTADORES
12	1	POLEA DEL MOTOR
11	2	ABRAZADERA
10	1	MOTOR
9	1	DIFFUSOR DE CALOR
8	1	SEDIMENTADOR
7	1	ESTRUCTURA
6	4	CHUMACERA
5	1	MANGUERA
4	9	MAMPARAS
3	1	BASE
2	1	TORNILLO #10/32
1	20	DISCOS
No.	CANT.	NOMBRE

Esc. 1:18

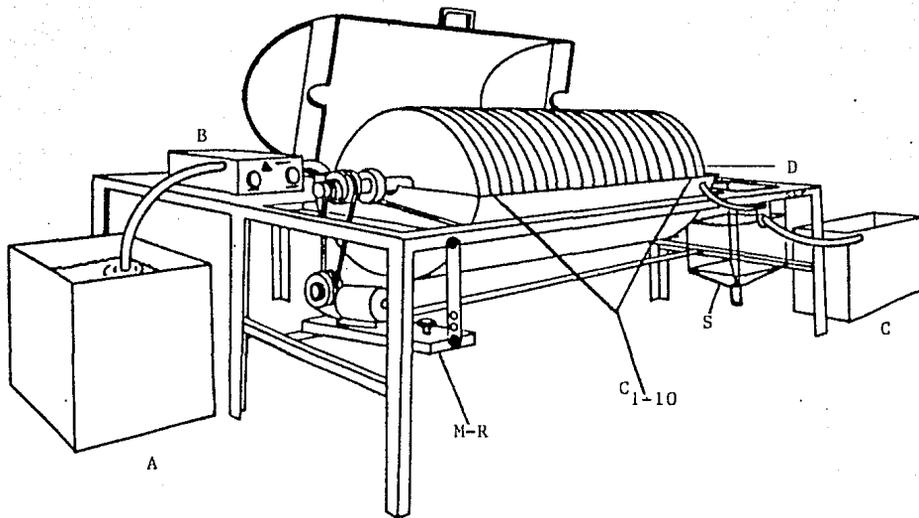


Fig. 3 Reactor biológico rotatorio (RBR) experimental.

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

- 2) Parte basal. Es el recipiente del líquido residual y los aglomerados microbianos generados durante el proceso de biodegradación. La base se subdividió en diez compartimentos de igual tamaño, separados por mamparas de acrílico. Las cámaras se intercomunican mediante un par de ranuras laterales localizadas en la parte superior extrema de cada mampara. Estas ranuras permiten el paso del líquido hacia la siguiente cámara, cuando éste ha llegado al nivel máximo de capacidad.

Cada cámara tiene un volumen aproximado de 2 litros y además, dos discos de 0.3 m de diámetro, sumergidos aproximadamente 40 % de su área superficial total. Los discos están sujetos a un sólo eje de acero inoxidable, el cual es movido, a partir de un juego de poleas acopladas a un motor eléctrico, de corriente directa de 1/10 Hp de potencia, cuya velocidad de rotación es regulada electrónicamente, permitiendo un intervalo en la rotación de los discos entre 6 a 30 rpm.

Una vez que el líquido en tratamiento ha pasado por las diez cámaras es colectado en el sedimentador secundario de 18 litros de capacidad.

#### 4.1.2.- Arranque y operación del RBR

El arranque del reactor se hizo con agua corriente para detectar posibles fugas entre mamparas, medir el volumen real de trabajo de cada cámara y total (con discos inmersos), así como posibles fallas en el motor y en el control de velocidad de rotación de los discos. También se realizaron algunos ajustes en la separación de los discos en cada cámara, con objeto de optimizar el mezclado del licor en el reactor.

#### Fase estable de la película biológica activa

Para acortar el tiempo requerido para la formación de la película biológica activa, en su fase estable o de meseta, se aceleraron en lo posible las fases previas de inducción y acumulación, con lo cual se redujo el tiempo empleado, de tres meses a un mes. El procedimiento fue el siguiente:

- Se incorporó, en todas las cámaras del reactor, líquido residual (nejayote diluido) a una concentración de materia orgánica constante (5000 mg/l, medida como DQO). El líquido influente se elaboraba a partir de nejayote concentrado (30,000 a 50,000 mg DQO/l).
- Se mantuvo la rotación de los discos a 6 rpm durante una semana, con la finalidad de facilitar la adsorción de los compuestos orgánicos y la adhesión de los microorganismos al soporte.

- Se inocularon las diez cámaras, al inicio de la operación y de manera periódica, con microorganismos obtenidos, tanto de otro reactor de biodiscos (que trataba también nejayote), como con microorganismos cultivados a partir de suelo y agua estancada.
- Durante este período (una semana), solamente se suministró de manera intermitente el líquido necesario para compensar el volumen evaporado, tratando así de evitar un cambio brusco de las características fisicoquímicas del agua contenida en el sistema. Lo anterior favorece la aclimatación más rápida, aunque paulatina, de los microorganismos sembrados y consecuentemente su crecimiento y reproducción dentro del sistema.
- Una vez lograda la inducción de la película, se suministró al RBR, líquido residual en forma continua, mediante una bomba peristáltica Masterflex, aumentando gradualmente el gasto (volumen incorporado por unidad de tiempo), hasta llegar a 0.833 l/h en las siguientes dos semanas. El líquido sirve como fuente de alimento permanente para los microorganismos establecidos, tanto en la superficie de los discos, como en el líquido contenido en las cámaras (licor mezclado). Lo anterior promueve que se incremente no sólo el área y grosor de la película biológica activa, sino también el número y tamaño, de los flóculos suspendidos (grumos microbianos).

#### 4.1.3.- Establecimiento de las condiciones de operación del RBR

Para establecer las condiciones de operación del RBR, que garantizaran la biodegradación aerobia de la solución de nejayote, se plantearon una serie de experimentos previos, relacionados con la velocidad rotacional de los discos y la concentración máxima del influente. Un requisito indispensable para iniciar dichos experimentos es lograr la estabilización del sistema de tratamiento, lo cual se describe más adelante.

Para evaluar el comportamiento fisicoquímico y detectar la estabilidad depurativa del RBR, fue necesario registrar rutinariamente in situ la temperatura y el pH con un multimetro Poly-Pram modelo PA-22 y de oxígeno disuelto con un medidor de oxígeno Presto-Tek, modelo HI-8043. También se realizaron análisis de demanda química de oxígeno (DQO) (APHA, 1981), de muestras provenientes de las cámaras del RBR, la metodología se basa en el empleo de un fuerte oxidante químico en medio ácido a 150°C durante 2 horas, para su realización se utilizó el equipo Behr. La técnica y el equipo utilizado se describen de manera más amplia en el anexo A.

#### Estabilización del RBR

Para conseguir la estabilización o régimen de equilibrio dinámico (pseudoestable) del reactor de biodiscos, después de obtener la fase meseta en la película biológica activa, se procedió de la siguiente manera:

- Considerar de manera subjetiva, que la película biológica adherida a los discos se encuentre distribuida homogéneamente y con grosor o espesor constante y que, además, presente resistencia al desprendimiento por contacto.
- Realizar análisis periódicos de concentración de materia orgánica disuelta mediante la prueba de DQO. La aplicación sistemática y consuetudinaria de esta prueba, permite conocer el porcentaje de remoción logrado en las aguas residuales después de un determinado tiempo de permanencia dentro del sistema de tratamiento.
- Mantener constante la concentración del influente suministrado al sistema. Esto permite que las cámaras del RBR reciban permanentemente y de manera secuencial la misma concentración de sustrato. Para verificar que este parámetro no presente variaciones considerables se hacen, cada tercer día, análisis de DQO, de muestras centrifugadas tanto del tanque de alimentación como de cámaras intercaladas del reactor (1, 3, 5, 7 y 10).
- Cuando los valores obtenidos, después de aplicarlos en tres ocasiones continuas, son similares (menos del 10 % de variación), se aumenta a diez, el número de muestras provenientes del reactor, es decir se toma una muestra de todas las cámaras. A estas muestras, se les hace DQO soluble, y si no se encuentra variación considerable después de tres análisis seguidos, se considera que el sistema ha alcanzado la estabilidad esperada.

De manera posterior, se inició la operación del RBR partiendo de una concentración de influente de 5000 mg/l, manteniendo al sistema "semi-cerrado" durante la primera semana de operación, aumentando gradualmente el gasto hasta llegar a 0.833 l/h en las siguientes dos semanas. El líquido influente se elaboraba a partir de nejayote concentrado (30, 000 a 50,000 mg DQO/l), el cual era convenientemente diluido para mantener controlada la concentración de materia orgánica disuelta. El suministro del líquido se hizo mediante una bomba peristáltica Masterflex con intervalo amplio para dosificación.

Cabe hacer mención que como parámetro constante durante la fase estable del RBR, se determinó que el tiempo de permanencia del líquido residual dentro del reactor fuera de un día, lo cual resulta equivalente a efectuar una dosificación continua de 833 ml por hora al sistema de tratamiento.

#### 4.1.4.-Operación y respuesta fisicoquímica preliminar del RBR experimental

Después de formada la película biológica activa sobre la superficie de los discos, se inició el primer experimento bajo las siguientes condiciones de operación:

## Condiciones de operación I

Concentración de materia orgánica en el influente, medida como DQO= 5000 mg/litro .

Velocidad de rotación de los discos= 10 rpm.

Bajo estas condiciones de operación, el intervalo de valores de pH a lo largo del RBR fue de 4.98 a 7.89 unidades, mientras que el de oxígeno disuelto osciló de 0.2 a 1 mg/l. Por otra parte, el influente del sistema presentó una disminución total, medida como DQO de 35 %

Se detectaron evidencias propias de procesos anaerobios, como son: olor característico, alta viscosidad y excesivo desprendimiento de la película biológica en forma de plastas.

Análisis del problema y modificaciones propuestas:

Los resultados fisicoquímicos obtenidos bajo las condiciones de operación I, indican que el pH se encuentra dentro de los límites aceptables de operación (Rivera et al., 1988), lo cual no sucede con los niveles de oxígeno disuelto, ya que es recomendable que su concentración sea superior a 2 mg/l, que es la concentración estimada para la actividad microbiana con metabolismo aerobio dentro del sistema (Winkler, 1983; Escárcega y Pulido, 1986).

Debido a que la concentración de oxígeno disuelto en el RBR fue muy baja, se optó por modificar las condiciones de operación iniciales, aumentando la rotación de los discos y disminuyendo la concentración del influente, esperando que así se pudiera obtener aerobiosis del líquido en el total de las cámaras del RBR (Alvarez, 1986; Escárcega y Pulido, 1986; Sack et al., 1986).

## Condiciones de operación II

Las nuevas condiciones de operación del RBR fueron:

Concentración de materia orgánica en el influente, medida como DQO= 2500 mg/litro.

Velocidad de rotación de los discos= 20 rpm.

En estas circunstancias de operación, el intervalo de valores de pH a lo largo del RBR fue de 5.02 a 8.16 unidades. El de oxígeno disuelto osciló de 0.2 a 1.5 mg/l en las primeras cuatro cámaras, mientras que en las restantes fue superior a 2 mg/l (de 2.2 a 5.3 mg/l). El porcentaje de remoción total, medido como DQO, fue de 45 %

A pesar de que se aumentó la velocidad de rotación de los discos, y de haber disminuido la concentración del influente, los niveles de oxígeno disuelto continuaron siendo menores de 2 mg/l en las primeras etapas del reactor. Debido a esto se planteó, por segunda ocasión, efectuar modificaciones las condiciones de operación.

### Condiciones de operación finales para experimentación a diferentes temperaturas

Las condiciones de operación, para esta segunda modificación, consistieron en disminuir la concentración del líquido alimentado al RBR, así como aumentar la velocidad de rotación de los discos, quedando de la siguiente manera:

Concentración de materia orgánica en el influente, medida como DQO= 2000 mg/litro.

Velocidad de rotación de los discos= 20 rpm.

Después de unos días de operación, una vez que la película biológica activa se formó, se evaluó nuevamente el sistema.

En esta ocasión, el intervalo para los valores de pH a lo largo del RBR fue de 5.10 a 8.18 unidades. Las concentraciones de oxígeno disuelto mayor a 2 mg/l (de 2.3 a 5.9 mg/l), en las últimas ocho cámaras del reactor. La remoción total como DQO, bajo estas condiciones, fue de 50 % .

En la tabla 2, se presentan las diferentes variaciones que se hicieron a la velocidad rotacional y a la concentración de influente en el RBR, hasta llegar a los valores finales para su funcionamiento en los experimentos de variación de temperatura. Cabe mencionar que el tiempo de permanencia del líquido dentro del sistema de tratamiento o tiempo de residencia hidráulico fue de un día para todos los experimentos.

Tabla 2. Síntesis de las modificaciones en las variables para los experimentos previos realizados en el RBR

Experimento	Variables			R e g i s t r o s		
	D.Q.O.	V	% R	O. D.		pH
	(mg/l)	(rpm)	total	(mg/l)		(unidades)
			DQO	<2	>2	
I	5000	10	35	1-10	-	4.98 - 7.89
II	2500	20	45	1- 4	5-10	5.02 - 8.16
III	2000	30	50	1- 2	3-10	5.10 - 8.18

De acuerdo con los resultados obtenidos al efectuar la serie de modificaciones en las condiciones de operación, se puede decir que:

1) No existe una variación drástica de pH al disminuir la concentración de influente y que el pH ácido del líquido alimentado al reactor se neutraliza en la primera cámara, pasando, en las cámaras subsecuentes del RBR, de pH neutro a neutro-alkalino. Lo anterior probablemente se deba a que al tener almacenado el nejayote en un recipiente cerrado, antes de elaborar la solución con que se alimenta al reactor, se presenten procesos metabólicos anaerobios con la consecuente producción de ácidos orgánicos volátiles. Dicha acidez inicial sería eliminada mediante el metabolismo aerobio de los microorganismos presentes en la cámara 1 del sistema de tratamiento.

2) En este reactor no se puede obtener la aerobiosis de todas las cámaras, con influentes de nejayote cuya concentración sea superior a 2000 mg DQO/l equivalente a 580 mg DBO<sub>5</sub>/l y tiempo de residencia hidráulico de un día, ni aún aumentando la velocidad rotacional de los discos a 30 rpm (tabla 4). La concentración de oxígeno disuelto tiende a aumentar a medida que se avanza, a través de las cámaras, hacia la parte final del sistema de tratamiento, conforme el contenido de material orgánico disuelto disminuye.

3) La remoción total de materia orgánica disuelta (medida como DQO), respecto a las condiciones de operación iniciales, solamente presentó un aumento de 15% .

Debe tenerse en cuenta que la incorporación de oxígeno al líquido en tratamiento se ve limitada no solamente por la presencia de material orgánico disuelto y suspendido, sino además por el consumo directo del oxígeno disuelto por parte de los microorganismos aerobios y microaerobios presentes. Debido a esto el área superficial de los discos que está en contacto con el aire y la turbulencia ocasionada por su rotación, resultan insuficientes para suministrar por transferencia de la atmósfera al licor mezclado contenido en las cámaras del RBR, el oxígeno requerido para mantener concentraciones iguales o superiores a 2 mg OD/l, principalmente en las primeras cámaras.

Considerando que la concentración del influente se disminuyó en un 60% y que la velocidad de rotación se aumentó en un 200%, y además que 8 de las 10 cámaras presentaban valores superiores a los 2 mg/l se juzgó pertinente considerarlas como condiciones permanentes de operación, iniciando así la etapa experimental propuesta.

Las condiciones de operación para realizar los experimentos sobre el cambio poblacional de protozoarios ciliados en el RBR a diferentes temperaturas son: tiempo de residencia hidráulica= 24 h, equivalente a 0.833 l/h; concentración del influente= 2000 mg/l, medido como DQO; velocidad rotacional de los discos= 30 rpm.

## 4.2.- BIODEGRADACION DE NEJAYOTE EMPLEANDO DIFERENTES INOCULOS

Con objeto de conocer si las poblaciones de protozoarios inciden de manera considerable en la biodegradación del material orgánico disuelto, se planteó un experimento comparativo, en el cual se suministraron, a un sustrato de iguales características fisicoquímicas y bajo circunstancias ambientales similares, dos diferentes tipos de inóculos: el primero consistente solamente de poblaciones bacterianas y el segundo integrado por poblaciones mixtas de bacterias y protozoarios. La diferencia entre ambos consumos permitirá inferir, el consumo de oxígeno disuelto empleado metabólicamente por los protozoarios y consecuentemente la cantidad de materia orgánica biodegradada.

En la realización del experimento, se empleó el respirómetro Voith-Sapromat B-6, el cual permite la evaluación simultánea de seis diferentes muestras, durante un periodo variable. Suministra de manera continua, por electrólisis, el oxígeno requerido por los microorganismos a lo largo del proceso de biodegradación manteniendo las muestras en continua agitación y bajo temperatura controlada. El procedimiento de uso y una descripción más detallada del equipo se encuentra en el anexo B. Con este equipo se midió el consumo de oxígeno debido a la respiración microbiana, durante un periodo de diez días consecutivos.

### 4.2.1.- Elaboración de medio y obtención de inóculo

Para cuantificar la cantidad de oxígeno consumido, por los diferentes tipos de microorganismos incorporados a un mismo sustrato, se realizó una evaluación doble tanto de muestras de nejayote diluido e inoculado con bacterias, como con inóculo de bacterias y de protozoarios, considerándose además un doble testigo: uno para verificar el buen funcionamiento del equipo y otro para cerciorarse de que el líquido empleado en el experimento fuera estéril. Cabe hacer mención que un miligramo de oxígeno consumido equivale a un miligramo de materia orgánica biodegradable.

Los inóculos se obtuvieron a partir de la centrifugación, a 3600 rpm durante 2 minutos, de muestras de licor mezclado. Del sobrenadante se utilizó para inocular con bacterias mientras que la biomasa sedimentada se empleó como inóculo de bacterias y protozoarios (inóculo mixto).

La concentración de materia orgánica oxidable químicamente, contenida en los matraces antes y después de la inoculación de microorganismos, se estimó mediante la técnica de demanda química de oxígeno (DQO), la cual se encuentra descrita en el apéndice A. De esta manera es posible intentar, al final de los experimentos, obtener un factor de equivalencia, entre la DQO y la DBO, para un mismo sustrato con diferentes inóculos.

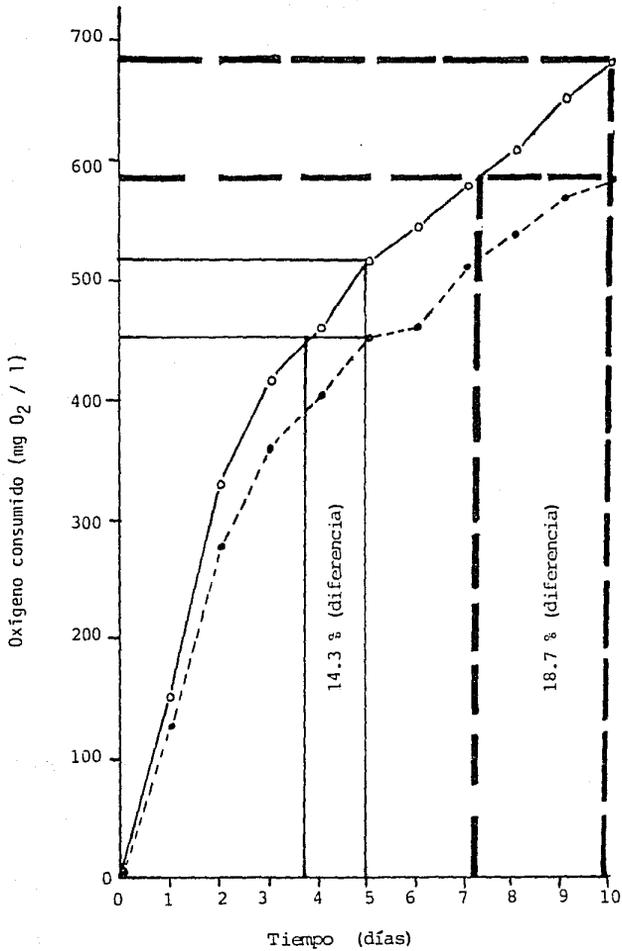
La solución de nejayote se elaboró de la siguiente manera: Se diluyeron 29.4 ml de nejayote concentrado (DQO= 8530 mg/l), en agua destilada estéril con aforo a 1250 ml. Este volumen se repartió por igual en cinco de los seis matraces disponibles, 250 ml de solución por matraz, previa etiquetación. Cuatro de estos matraces fueron inoculados con microorganismos, los dos primeros matraces (A y B), con bacterias y los dos siguientes (C y D), con bacterias y protozoarios y el quinto matraz (E), permaneció sin inocular. Al sexto matraz (F) sólo se le adicionaron 250 ml de agua destilada estéril.

#### 4.2.2.- Efecto del inóculo en la biodegradación de nejayote

A partir de las tablas 3 y 4, se obtiene que para una solución de nejayote, cuya concentración de material orgánico disuelto inicial es de 1706 mg DQO/l, con inóculo bacteriano, se presenta una relación  $DBO_5/DQO$  de 0.26 y de  $DBO_{10}$  de 0.33, mientras que para la misma secuencia de relaciones, pero empleando un inóculo mixto de bacterias y protozoarios, es de aproximadamente 0.30 y 0.40, respectivamente.

Por otra parte se aprecia que existe una diferencia de aproximadamente 65 mg/l de oxígeno disuelto consumido (14.3 %), medido como DBO a los cinco días y de aproximadamente 100 mg/l (17.6 %) a los 10 días, entre las muestras que contienen únicamente poblaciones bacterianas y las que se inocularon con comunidades mixtas de bacterias y protozoarios.

De acuerdo a la gráfica 1, el consumo mayor de oxígeno, para una concentración de sustrato similar, en el mismo tiempo de contacto (organismo-sustrato), corresponde al inóculo con comunidades mixtas, lo cual permite inferir que al suministrar a un mismo sustrato poblaciones de protozoarios, se presenta un mayor consumo de oxígeno disuelto y por ende de materia orgánica disuelta biodegradable, que el consumido por poblaciones exclusivamente de tipo bacteriano. También puede decirse que con comunidades de tipo mixto (bacterias y protozoarios), se requiere menor tiempo para degradar biológicamente una determinada cantidad de material orgánico disuelto, que el requerido al emplear de manera exclusiva poblaciones bacterianas, lo cual concuerda con lo reportado por McKinney y Gram (1956), Curds et al. (1968), Curds (1975) y Duncan (1976).



Graf. 1 Consumo de oxígeno disuelto, en una solución de nejayote, empleando inóculo de bacterias (●—●—●) y bacterias con protozoarios (○—○—○).

Tabla 3. Prueba comparativa de demanda bioquímica de oxígeno en diez días a 20°C, con inóculo bacteriano y de bacterias con protozoarios.

	Matraz	D I A S				DBO <sub>5</sub>
		1	2	3	4	5
Solución de nejayote con inóculo bacteriano	A	121	274	356	400	451
	B	126	279	358	400	450
	X	123.5	276.5	357	400	<u>450.5</u>
Solución de nejayote con inóculo bacteriano y con protozoarios	C	156	331	421	468	520
	D	147	325	412	450	510
	$\bar{X}$	151.5	328	416.5	459	<u>515</u>
Agua destilada estéril (testigo)	E	0	0	0	0	0
Solución de nejayote estéril (testigo)	F	0	0	0	0	0
	Matraz	D I A S				DBO Final
		6	7	8	9	10
Solución de nejayote con inóculo bacteriano	A	477	509	536	565	578
	B	479	510	539	569	581
	X	478	509.5	537.5	567	<u>579.5</u>
Solución de nejayote con inóculo bacteriano y con protozoarios	C	548	583	617	661	688
	D	147	325	412	450	510
	$\bar{X}$	541.5	578.5	608.5	652	<u>681.5</u>
Agua destilada estéril (testigo)	E	0	0	0	0	0
Solución de nejayote estéril (testigo)	F	0	0	0	0	0

Tabla 4. Comparación del consumo de oxígeno, medido como DBO5 y como DQO, para diferentes inóculos con un mismo sustrato.

	D B O <sub>5</sub> ( mg/l O <sub>D</sub> )	D B O <sub>10</sub> (mg/l O <sub>D</sub> )	D Q O ( mg/l O D )
Consumo promedio de oxígeno de muestras con inóculo bacteriano.	450.5	579.5	1706
Consumo promedio de oxígeno de muestras con inóculo bacteriano y de protozoarios.	515	681.5	1706

#### 4.3.- EXPERIMENTACION A DIFERENTES TEMPERATURAS

De acuerdo con los objetivos planteados anteriormente, referentes a realizar el estudio de las comunidades de protozoarios ciliados, en un RBR, a diferentes temperaturas, es necesario llevar acabo los experimentos bajo condiciones de operación similares, variando solamente el factor temperatura. Consecuentemente, la metodología de análisis fisicoquímico, bioquímico y de observaciones al microscopio, empleada durante la fase de régimen permanente, es la misma, para las tres temperaturas seleccionadas, que son 10, 20 y 30° centígrados.

Durante el período experimental a 10°C se operó al RBR dentro de un "cuarto frío", el cual tiene la capacidad de ser ajustado a un intervalo de temperatura en su interior, entre 7 y 15°C±1°C, lo cual lo hace idóneo para los fines perseguidos.

Para la realización de los experimentos a 20°C, se mantuvo al RBR dentro del laboratorio, a temperatura ambiente. Para prevenir posibles bajas de temperatura ambiental, principalmente por las noches, se colocó cerca del reactor un calentador de aire ajustable entre 15 y 40°C, el cual autorregula la temperatura seleccionada.

Por último, para la experimentación a 30°C, se introdujo al RBR a una cámara de incubación o "cuarto caliente", el cual puede mantener una temperatura constante en su interior dentro de un intervalo de 25 a 35°C±2° centígrados.

#### 4.3.1.-Análisis fisicoquímico y bioquímico del agua

De los diversos parámetros existentes para evaluar la calidad del agua, se seleccionaron tanto aquellos que se consideraron fundamentales para ponderar el funcionamiento del sistema, demanda química y bioquímica de oxígeno (DQO y DBO<sub>5</sub>, respectivamente), como los útiles desde el punto de vista biológico, pH y oxígeno disuelto, que permitieran conocer lo tolerable del medio acuoso para la actividad microbiana. Para verificar que la temperatura a la que se realizaba cada experimento fuera acorde con la seleccionada, se efectuaron registros tanto de la temperatura ambiente como del líquido contenido en el recipiente de alimentación como de cada una de las cámaras del reactor.

##### Registros de temperatura, pH y oxígeno disuelto

Se continuaron los registros diarios, in situ, de temperatura y pH, con un multimetro Poly-Prum modelo PA-22. Los registros de oxígeno disuelto se efectuaron con un medidor de oxígeno Presto-Tek, modelo HI-8043, de acuerdo con el manual de operación.

##### Prueba de demanda química de oxígeno (DQO)

Este análisis se realizó con una frecuencia de tres veces por semana, previa toma y centrifugación de las muestras. La metodología seguida fue la aprobada por la APHA (1981), la cual consiste en llevar a cabo una fuerte oxidación química en medio ácido a una temperatura de 150°C. El equipo empleado es un Behr, la técnica y el equipo utilizado se describen de manera más amplia en el anexo A.

##### Prueba de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

Esta prueba consiste en estimar, durante un periodo de cinco días a 20°C, la cantidad de oxígeno requerido, consecuencia de la actividad metabólica de los microorganismos inoculados. A partir de dicho metabolismo, los microorganismos efectúan la transformación de sustrato (material orgánico disuelto utilizable), en energía metabólicamente disponible. El equipo utilizado fue un respirómetro Voith-Sapromat B-6, el cual se apega a los requerimientos establecidos por la APHA (1981). El procedimiento de su uso y una descripción más detallada del equipo se encuentra en el anexo B.

La evaluación de DBO<sub>5</sub> se efectuó una vez a la semana, aplicándola únicamente a seis de las diez cámaras del RBR, debido a las limitaciones en compartimentos del modelo empleado.

#### 4.4.- OBSERVACIONES AL MICROSCOPIO

Para determinar la diversidad, abundancia y distribución de protozoarios ciliados presentes a lo largo de las diferentes etapas (10 cámaras) del RBR, se realizaron observaciones al microscopio, tanto en preparaciones frescas o temporales, como de preparaciones permanentes. De ambas observaciones se registraron algunas de las características morfológicas relevantes, como son longitud y anchura total del organismo, ciliatura somática y bucal, posición y forma del macronúcleo. Finalmente se fotografiaron ejemplares de los organismos observados. El microscopio utilizado fue un American Optical Twenty-One, con contraste de fases y cámara fotográfica acoplados.

##### 4.4.1.- Preparaciones frescas o temporales

En este tipo de preparaciones se observaron a los microorganismos tanto sin colorantes vitales, empleando la técnica de contraste de fases para resaltar estructuras de importancia, como con ellos.

Observaciones con colorantes vitales.- Estas observaciones se hicieron con la finalidad de conocer en lo posible, los géneros presentes en las diferentes etapas del reactor. Se emplearon colorantes vitales en solución acuosa (0.5 a 1%), como azul de metileno y verde de metilo, para resaltar estructuras citoplasmáticas y nucleares. También se empleó como contrastante del medio la solución acuosa de nigrosina (0.5 a 1%), con objeto de resaltar la ciliatura existente, sin causar o causando la mínima alteración posible desde el punto de vista fisicoquímico del citoplasma, es decir, tratando de dejar intacta la vitalidad celular. Se aplicaron las técnicas siguiendo lo indicado por Kudo (1969), Gaviño (1972), Wilkinson (1976) y Langeron y Locquin (1985).

Cuenta de microorganismos.- Para estimar su cantidad en un volumen de muestra conocido, se tomó como base la metodología propuesta por Lackey, la cual está aprobada a nivel internacional (APHA, 1981). Esta metodología consiste fundamentalmente en depositar un volumen conocido de muestra en un portaobjetos y taparlo con un cubreobjetos. Posteriormente se realiza la cuenta de microorganismos observados en un determinado número de franjas (área parcial) a lo largo del cubreobjetos. Con estos datos de cuenta parcial se puede, mediante una ecuación, obtener el número de organismos por mililitro de muestra.

En este trabajo se contó el número de protozoarios presentes en 0.1 ml, revisando la totalidad del área de cubreobjetos. Para facilitar la cuenta se incorporó una solución acuosa de yodo y Bouin diluidos. La descripción más amplia de esta metodología se encuentra en el anexo B.

Cabe hacer mención que el empleo de la metodología de Lackey, está estrechamente relacionada con el tiempo invertido en la revisión al microscopio de la preparación. Este tiempo a su vez depende de la abundancia y diversidad de microorganismos existentes en el volumen observado.

De acuerdo con las observaciones cuantitativas preliminares se estableció que la frecuencia de muestreo y el número de preparaciones frescas por muestra, factible de ser observado de manera periódica a lo largo de la fase experimental y que aportara datos representativos, fuera para la cuenta de microorganismos de 3 veces por semana, revisando 3 etapas por sesión, observando en promedio, una preparación temporal por cada etapa.

#### 4.4.2.- Preparaciones permanentes

Por otra parte se llevaron a cabo varios cultivos con el fin de aumentar el número de individuos por especie y realizar preparaciones permanentes, las cuales son útiles tanto para el estudio morfológico de los ciliados, como para su identificación o determinación, dado que ésta se basa en el reconocimiento de estructuras particulares. Las técnicas empleadas fueron la impregnación argéntica de Klein (1958) y la de Protargol de Lee et al. (1985).

Ambas técnicas permiten resaltar las estructuras argentófilas como cinetosomas, cinetias, poros de las vacuolas contráctiles, citostoma y citoprocto, así como el macronúcleo y micronúcleo. La primera tiene como ventaja sobre la segunda, su relativa sencillez de aplicación, los buenos resultados que se obtienen y el poco tiempo empleado en su ejecución. La segunda técnica es importante, dado que permite la observación con mayor detalle del argiroma de los ciliados, pero su aplicación es más lenta y complicada. La descripción de estas técnicas se encuentra en el anexo B.

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

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

## 5.- RESULTADOS

A continuación, se presentan los valores promedio obtenidos de la evaluación fisicoquímica y bioquímica del líquido contenido en el tanque de alimentación, así como de cada una de las 10 cámaras del RBR, durante la fase de régimen permanente o de equilibrio pseudoestable, a 10, 20 y 30°C. También se da la ubicación taxonómica y una breve descripción y comentario de las especies de ciliados encontrados durante las tres periodos experimentales, y por último las tablas de la cuenta por cámara, para cada temperatura, de las especies de protozoarios ciliados y micrometazoarios observados.

### 5.1.- REGISTROS FISICOQUIMICOS Y BIOQUIMICOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

A 10°C, los valores promedio obtenidos de la evaluación fisicoquímica y bioquímica del líquido de alimentación y de las 10 cámaras del RBR, durante la fase de régimen permanente (tabla 5), demuestran que el factor temperatura permaneció relativamente estable (9.5 a 9.7±0.5°C). También puede apreciarse que el valor promedio de pH del líquido suministrado al RBR fue ácido (5.9±0.4). Dicha acidez inicial es eliminada en la cámara 1, en donde el líquido en tratamiento adquiere un valor de pH cercano a la neutralidad (7.2±0.2). Posteriormente (cámaras 2 a 10), el pH se torna ligeramente básico (entre 7.5 y 7.9±0.1). En cuanto al oxígeno disuelto, éste tiende a incrementarse (0.24 a 7.46±0.6 mg OD/l) conforme el líquido avanza a través de las cámaras del reactor, logrando concentraciones superiores a 2 mg OD/l a partir de la segunda cámara. Por último, los valores promedio de concentración de materia orgánica disuelta, medida como DQO y DBO<sub>5</sub>, presentan una disminución gradual, siendo menos perceptible a partir de la cámara 6. Cabe mencionar que para ambos parámetros, la mayor remoción de material orgánico disuelto se efectuó en las 5 primeras cámaras del RBR.

Tabla 5. Valores promedio de diferentes factores fisicoquímicos procedentes del RBR bajo temperatura de experimentación a 10°C.

Etapa	Temp. (°C)	pH	oxi. dis. (mg/l)	D Q O (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem	D B O <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem
A	9.7±0.4	5.9±0.4	1.03±0.27	2010± 80	0	585±20	0
1	9.6±0.5	7.2±0.2	0.24±0.18	1860±100	7.5	410±10	29.9
2	9.6±0.5	7.5±0.1	3.70±1.00	1620±100	19.4	-	-
3	9.6±0.5	7.7±0.1	5.18±1.15	1500±100	25.4	320±10	45.3
4	9.6±0.4	7.8±0.1	6.56±0.73	1340± 80	33.3	-	-
5	9.5±0.5	7.8±0.1	6.81±0.83	1200± 70	40.3	265±15	54.7
6	9.6±0.5	7.7±0.1	5.94±0.84	1170± 60	41.8	-	-
7	9.5±0.5	7.8±0.1	6.77±0.52	1160± 60	42.3	235±5	59.8
8	9.5±0.5	7.8±0.1	6.97±0.37	1120± 60	44.3	-	-
9	9.5±0.5	7.9±0.1	7.52±0.25	1110± 40	44.8	-	-
10	9.5±0.5	7.9±0.1	7.46±0.44	1110± 60	44.8	215±5	63.2

A 20°C, durante la fase de régimen permanente, la evaluación fisicoquímica y bioquímica del líquido de alimentación y de las 10 cámaras del RBR (tabla 6), mostraron que la temperatura en que se desarrolló el experimento no varió de manera drástica (19.4 a 21.5±1.1°C). También se puede ver que el valor promedio de pH del líquido suministrado al RBR pasa de ácido (5.4±0.2) a neutro-alkalino (7.3 a 8.1±0.2) a lo largo de las 10 cámaras del reactor. En cuanto al oxígeno disuelto, éste se incrementa paulatinamente conforme el líquido avanza a través de las cámaras del reactor (0.45 a 6.00±0.6 mg OD/l), logrando concentraciones superiores a 2 mg/l a partir de la tercera cámara. Finalmente, la concentración promedio de materia orgánica disuelta de cada punto muestreado (alimentación y cámaras 1 a 10), evaluada como DQO y DBO<sub>5</sub>, permiten constatar que en el RBR se lleva a cabo una disminución gradual de ambos parámetros, disminuyendo su magnitud después de la cámara 5. La mayor remoción de DQO y DBO<sub>5</sub>, se realiza entre las cámaras 1 y 5 del reactor.

Tabla 6. Valores promedio de diferentes factores fisicoquímicos procedentes del RBR bajo temperatura de experimentación a 20°C.

Etapa	Temp. (°C)	pH	oxi. dis. (mg/l)	D Q O (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem	D B O <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem
A	21.5±0.7	5.4±0.2	0.45±0.15	2040±150	0	585±5	0
1	19.9±0.9	7.3±0.5	0.35±0.29	1760±130	13.7	535±10	8.5
2	19.7±1.0	7.8±0.2	1.36±0.49	1600±100	21.6	-	-
3	19.6±1.1	7.9±0.1	2.48±0.24	1470± 80	27.9	255±20	56.4
4	19.5±1.1	7.9±0.1	3,17±0.28	1420± 90	30.4	-	-
5	19.6±1.2	8.0±0.1	5.08±0.51	1290± 50	36.8	140±10	76.1
6	19.5±1.2	8.0±0.3	5.06±0.66	1250± 30	38.7	-	-
7	19.4±1.1	8.1±0.1	5.51±0.39	1200± 20	41.2	110±5	81.2
8	19.5±1.1	8.1±0.1	5.70±0.40	1160± 40	43.1	-	-
9	19.7±1.0	8.0±0.1	5.41±0.18	1080± 60	47.1	-	-
10	20.0±1.0	8.1±0.1	6.00±0.16	1040±100	49.0	95±5	83.8

A 30°C, en fase de régimen permanente, se detectó que desde el punto de vista fisicoquímico y bioquímico (tabla 7), no hubo cambios bruscos de temperatura durante el desarrollo del experimento, (29.1 a 30.6±0.7°C), tanto en el líquido alimentado al reactor como en cada una de las 10 cámaras que lo componen. También se observó que el pH promedio del líquido alimentado al RBR cambia de ácido (5.8±0.3) a neutro-alkalino (7.0 a 8.2±0.2) a lo largo de las 10 cámaras del reactor. Respecto al oxígeno disuelto, se nota un aumento gradual a medida que el líquido se traslada hacia la porción final del reactor (0.36 a 5.14±0.4 mg OD/l), detectándose concentraciones superiores a 2 mg/l a partir de la quinta cámara.

Por otra parte la remoción de contaminantes orgánicos medidos como DQO y DBO<sub>5</sub> (mg/l), se efectúa de manera gradual,

disminuyendo la concentración de ambos parámetros, de manera mas evidente, entre las cámaras 1 y 5 del reactor.

Tabla 7. Valores promedio de diferentes factores fisicoquímicos procedentes del RBR bajo temperatura de experimentación a 30°C.

Etapa	Temp. (°C)	pH	oxi. dis. (mg/l)	D Q O (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem.	D B O <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /l)	% Rem
A	29.1±0.4	5.8±0.3	0.36±0.23	2050±130	0	580±5	0
1	29.7±0.5	7.0±0.3	0.13±0.06	1130±140	44.9	450±15	22.4
2	30.1±0.6	7.4±0.3	0.20±0.11	810±140	60.5	-	-
3	30.3±0.7	7.6±0.3	0.28±0.09	680± 60	66.8	260±15	52.2
4	30.5±0.7	7.8±0.2	0.67±0.37	550± 40	73.2	-	-
5	30.6±0.8	7.9±0.2	1.86±1.16	470± 80	77.1	115±5	80.2
6	30.4±0.8	8.0±0.1	2.59±0.68	410± 60	80.0	-	-
7	30.2±0.7	8.1±0.1	4.26±0.87	400± 40	80.5	45±5	92.2
8	29.9±0.7	8.2±0.1	4.84±0.69	340± 20	83.4	-	-
9	29.6±0.8	8.2±0.1	5.29±0.40	320± 30	84.4	-	-
10	29.4±0.8	8.2±0.1	5.14±0.34	270± 50	86.8	25±5	95.7

Considerando los registros rutinarios de temperatura, tanto ambiental como del líquido de alimentación y cámaras del RBR, durante el régimen permanente a 10, 20 y 30°C (tabla 8), los intervalos de variación fueron estrechos lo que indica un buen control de esta variable ambiental en cada periodo experimental.

Tabla 8. Resumen de valores promedio e intervalos registrados, de la temperatura (°C) del líquido de alimentación (A), de las cámaras del RBR (1 a 10) y del ambiente (Amb.), durante el periodo de régimen permanente, para las tres fases experimentales.

ETAPA	F A S E (10°C)		E X P E R I M E N T A L (20°C)		(30°C)	
	Prom.	Interv.	Prom.	Interv.	Prom.	Interv.
A	9.7±0.4	9.0-10	21.5±0.7	20.0-22.8	29.1±0.4	28.0-29.8
1	9.6±0.5	8.8-10	19.9±0.9	18.3-21.1	29.7±0.5	28.3-30.2
2	9.6±0.5	9.0-10	19.7±1.0	18.1-21.2	30.1±0.6	29.0-31.0
3	9.6±0.5	9.0-10	19.6±1.1	17.9-21.2	30.3±0.7	29.0-31.5
4	9.6±0.4	9.0-10	19.5±1.1	17.6-21.3	30.5±0.7	29.0-32.0
5	9.5±0.5	9.0-10	19.6±1.2	17.3-21.3	30.6±0.8	29.1-31.5
6	9.6±0.5	9.0-10	19.5±1.2	17.2-21.3	30.4±0.8	29.0-31.5
7	9.5±0.5	9.0-10	19.4±1.1	17.1-21.3	30.2±0.7	28.7-31.2
8	9.5±0.5	9.0-10	19.5±1.1	17.2-21.2	29.9±0.7	28.5-30.8
9	9.5±0.5	9.0-10	19.7±1.0	17.7-21.2	29.6±0.8	28.1-30.6
10	9.5±0.5	9.0-10	20.0±1.0	18.4-21.5	29.4±0.8	28.0-30.4
Amb.	10.3±0.9	9.0-12	22.5±1.3	20.0-25.0	30.1±0.7	29.3-31.0

## 5.2.- OBSERVACIONES AL MICROSCOPIO

De acuerdo con las observaciones realizadas tanto en preparaciones temporales como permanentes, se identificaron 11 especies de protozoarios ciliados, de los cuales se da a continuación la ubicación taxonómica de acuerdo con el esquema propuesto por Small y Lynn (en Lee, et al., 1985), así como una breve descripción morfológica e indicación de su presencia en otros sistemas de tratamiento biológico y por último una tabla de los intervalos de tolerancia para algunos parámetros ambientales.

### 5.2.1.- Diversidad y ubicación taxonómica de protozoarios ciliados

Phylum	CILIOPHORA Doflein, 1901.
Subphylum	CYRTOPHORA Small, 1976.
Clase	PHYLLOFARYNGEA de Puytorac <u>et al.</u> , 1974.
Subclase	SUCTORIA Claparède y Lachmann, 1858.
Orden	EXOGENIDA Collin, 1912.
Familia	PODOPHRYIDAE Haeckel, 1866.

#### 1.- Podophrya fixa (Quennerstedt, 1867). (Lám. 1, Fig. 1) (Lám. 3, Fig. 1)

**Morfología:** Cuerpo de forma esférica, diámetro 20-38 µm. Presenta un pedúnculo de aproximadamente 37 µm. Tiene de doce a quince tentáculos suctores, distribuidos regularmente y de tamaño uniforme. El aparato nuclear está constituido por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos localizados en el centro. Una vacuola contráctil en posición anterior.

**Alimento:** Ciliados (Bick, 1976).

**Comentario:** Distribución cosmopolita, presente en aguas contaminadas con material biodegradable (Bick, 1972). Se han encontrado en filtros percoladores y lodos activados (Bick, 1972; Curds, 1975). Se observó adherido a grumos bacterianos y detritos.

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

#### 1.- Paramecium aurelia Ehrenberg, 1831. (Lám. 2, Fig. 1) (Lám. 3, Fig. 2)

**Morfología:** Cuerpo ovoido, con la parte anterior redondeada y la posterior en forma de un cono amplio (ángulo de 90° aproximadamente). Longitud de 80-170 µm. Con un macronúcleo central del cuerpo y dos micronúcleos pequeños, cercanos a éste.

Dos vacuolas contráctiles con canales radiales cortos.

Alimento: Bacterias

Comentario: Prolifera en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975).

Clase	OLIGOHYMENOPHOREA de Puytorac <u>et al.</u> , 1974.
Subclase	HYMENOSTOMATIA Delage y Hérouard, 1896.
Orden	HYMENOSTOMATIDA Delage y Hérouard, 1896.
Suborden	TETRAHYMENINA Fauré-Fremiet, en Corliss, 1956.
Familia	GLAUCOMIDAE Corliss, 1971.

- 1.- Glaucoma scintillans Ehrenberg, 1831.  
(Lám. 1, Fig. 2) (Lám. 4, Fig. 1)

Morfología: Cuerpo elipsoide, ventralmente aplanado. Longitud de 40-80  $\mu\text{m}$ . Ciliatura somática uniforme, compuesta de treinta a cuarenta cinetias. Citostoma a lo largo del eje longitudinal del cuerpo. Cavidad bucal con una larga membrana paroral y tres membranas adorales. Aparato nuclear formado por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos ubicados en la parte central del cuerpo. una vacuola contráctil en el extremo lateral posterior.

Alimento: Bacterias (Bick, 1976).

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

Familia TETRAHYMENIDAE Corliss, 1952.

- 1.- Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg, 1831).  
(Lám. 1, Fig. 4) (Lám. 4, Fig. 2)

Morfología: Cuerpo ovoide, con el extremo anterior puntiagudo y el posterior redondeado. Longitud de 30-60  $\mu\text{m}$ . Ciliatura somática uniforme, con diez y siete a veinticinco cinetias. El citostoma se localiza al centro de la línea media ventral y en posición anterior. La ciliatura bucal es tetrahiménica, constituida por tres membranelas que forman la zona adoral de membranelas, colocadas del lado izquierdo del ciliado y una membrana paroral del lado derecho. Aparato nuclear formado por un macronúcleo y un micronúcleo esféricos centrales. Vacuola contráctil en el extremo posterior.

Alimento: Detritos, bacterias y algas (Bick, 1976).

Comentario: Distribución cosmopolita, es común que cambie de forma en respuesta a presiones locales. Habita aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Prolifera en filtros percoladores, lagunas de oxidación y canales de aguas residuales domésticas (Bick, 1976; Curds, 1975).

1.- Colpidium campylum (Stokes, 1886).  
(Lám. 1, Fig. 4) (Lám. 5, Fig. 1)

Morfología: Cuerpo reniforme, alargado. Longitud 45-50  $\mu\text{m}$ . La ciliatura es uniforme constituida por veinte a veinticuatro cinétias, con cilios más largos en el extremo posterior. La sutura preoral es curva y ligeramente desplazada a la derecha. Cavidad bucal anterior pequeña y cerca del lado derecho del cuerpo, aproximadamente a 1/4 de la longitud total de éste. La ciliatura bucal es tetrahiménica. Un macronúcleo esférico y un micronúcleo en la parte central del cuerpo. Una vacuola contráctil posterior cercana al margen derecho, en la región de la cinetia cinco.

Alimento: Detritos, bacterias, flagelados y algas (Bick, 1976).

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

2.- C. colpidium (Schewiakoff, 1889).  
(Lám. 1, Fig. 5) (Lám. 5, Fig. 2)

Morfología: Reniforme, alargado. Longitud del cuerpo 50-60  $\mu\text{m}$ . ciliatura uniforme excepto por un grupo de cilios largos en el polo posterior, tiene de veinticuatro a veinticinco cinétias. La sutura preoral desplazada hacia el lado ventral. La cavidad bucal pequeña localizada en la porción media del polo anterior, aproximadamente a 1/4 de la longitud total del cuerpo. La ciliatura bucal es tetrahiménica. Aparato nuclear formado por un macronúcleo esférico y un micronúcleo en la parte central del cuerpo. Una vacuola contráctil localizada cerca de la cinetia 5, en el último tercio del cuerpo.

Alimento: Ingiere bacterias, detritos y flagelados.

Comentario: Probablemente cosmopolita.

Orden	SCUTICOCILIATIDA Small, 1967.
Suborden	PLEURONEMATINA Fauré-Fremiet en Corliss, 1956.
Familia	CYCLIDIIDAE Ehrenberg, 1838.

1.- Cyclidium glaucoma O. F. Muller, 1786.  
(Lám. 1, Fig. 6) (Lám. 6, Fig. 1)

Morfología: Longitud 20-30  $\mu\text{m}$ . Cuerpo ovoide con la región anterior ligeramente truncada y la posterior redondeada. Ciliatura somática dispuesta en diez cinétias regularmente espaciadas, presenta un cilio caudal largo. La cavidad bucal desplazada hacia el lado derecho del organismo, se extiende desde el extremo anterior hasta la región ecuatorial. Aparato nuclear constituido por un macronúcleo esférico y un micronúcleo ubicados en la parte anterior. La vacuola contráctil es posterior.

Alimento: Bacterias y algas (Bick, 1972).

Comentario: Distribución amplia, se desarrolla en aguas con materia orgánica en procesos de descomposición (Bick, 1976). Se ha reportado que habita en filtros percoladores, lodos activados y tanques Imhoff (Curds, 1975).

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

1.- Epistylis plicatillis (Ehrenberg, 1838).  
(Lám. 2, Fig. 2) (Lám. 6, Fig. 2)

Morfología: Es un organismo que forma colonias de 2 a 3 mm, ramificadas dicotómicamente. Longitud de las ramas de aproximadamente 90 a 100  $\mu\text{m}$ , no estriadas, ni segmentadas y sin mionemas. Longitud del zooides de 70-100  $\mu\text{m}$ , en forma de vaso o campana invertida, puede presentar ligeras contracciones. El zooides presenta película ligeramente anillada y pliegues característicos en la porción final. La ciliatura se encuentra distribuida alrededor del peristoma apical. El aparato nuclear esta compuesto de un macronúcleo en forma de C y un micronúcleo, ubicados en la parte anterior. La vacuola contráctil localizada cerca de la cavidad bucal.

Alimento: Bacterias (Bick, 1972).

Comentario: Se encuentra en aguas con materia orgánica disuelta (Bick, 1972). Presente en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975). Se adhiere a detritos y agregados bacterianos.

Familia OPERCULARIIDAE Fauré- Fremiet en Corliss, 1979.

1.- Opercularia coarctata Claparède y Lachmann, 1858.  
(Lám. 2, Fig. 3) (Lám. 7, Fig. 1)

Morfología: Forman colonias pequeñas de tres a seis individuos, la ramificación es dicotómica sin mionemas. Las ramas son de 60 a 100  $\mu\text{m}$  de longitud. Los zooides miden de 60 a 75  $\mu\text{m}$ . Cada zooides es en forma de campana. Disco peristomial de aproximadamente 1/5 parte de la longitud total del cuerpo y soportado por un pequeño proceso denominado opérculo. Macronúcleo en forma de herradura, ubicado en la porción anterior. Vacuola contráctil en el extremo anterior.

Alimento: Bacterias (Bick, 1976).

Comentario: Distribución cosmopolita. Se desarrolla en aguas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Han sido registrados en lagunas de oxidación, lodos activados, filtros percoladores y tanques Imhoff (Curds, 1975). Se adhieren a detritos y grumos bacterianos.

2.- Opercularia microdiscum (Fauré - Fremiet, 1961).  
(Lám. 2, Fig. 4) (Lám. 7, Fig. 2)

Morfología: Las colonias de regular tamaño (0.5 a 1 mm), ramificadas dicotómicamente y sin mionemas. Los zooides miden de 50-90  $\mu\text{m}$ . El pedúnculo es de 60-70  $\mu\text{m}$ , estriado y no segmentado. Los zooides tienen forma de barril con película ligeramente anillada. Disco peristomial de aproximadamente 1/5 de la longitud total del cuerpo, sobre un pequeño tallo retráctil (opérculo). Macronúcleo en forma de herradura, localizado en la porción anterior del zoide. La vacuola contráctil ubicada en la parte media anterior del organismo.

Alimento: Se observó que ingería bacterias, detritos y flagelados.

Comentario: Son organismos que al igual que los anteriores se desarrollan en cuerpos de agua con materia orgánica en descomposición. Se han registrado en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975). Se adhiere a detritos y grumos bacterianos.

Familia VORTICELLIDAE Ehrenberg, 1838.

1.- Vorticella campanula Ehrenberg, 1831.  
(Lám. 2, Fig. 2) (Lám. 8, Fig. 1)

Morfología: Es un organismo solitario, sésil, de pedúnculo contráctil, con una longitud aproximada de 250 a 350  $\mu\text{m}$  y de 6 a 12  $\mu\text{m}$  de ancho. Zoide en forma de campana, con una longitud de 50-160  $\mu\text{m}$  y anchura de 35-100  $\mu\text{m}$ , algunas veces con pliegues posteriores. El zoide contiene gránulos de reserva refringentes, debido a esto, los organismos son muy conspicuos teniendo su cuerpo apariencia negruzca. El peristoma se extiende hacia afuera. La cavidad bucal es muy grande y equipada con una membrana paroral exterior. La película débilmente anillada. Macronúcleo acintado, extendido más o menos a lo largo del eje longitudinal de la célula, un sólo micronúcleo. Una vacuola contráctil cerca de la cavidad bucal. La parte basal del zoide puede algunas veces cubrir la parte superior del pedúnculo.

Alimento: Bacterias (Bick, 1972).

Comentario: Distribución cosmopolita, se presenta frecuentemente a lo largo de todo el año, en todo tipo de aguas, tanto fluidas como estancadas. Evitan las aguas sucias. Usualmente se encuentran adheridos a diversos soportes. Se ha reportado que habita en filtros percoladores y lodos activados (Curds, 1975).

5.2.2.- Abundancia y distribución de protozoarios ciliados a diferentes temperaturas

Los resultados de la cuenta de protozoarios y micrometazoarios en las temperaturas experimentales de 10, 20 y 30°C, durante el periodo de régimen permanente del RBR, pueden observarse en las tablas 9, 10 y 11 A, B y C, respectivamente. El número de organismos presentes por mililitro, de acuerdo con la técnica de Lackey (1981) descrita en el anexo A, se obtiene de multiplicar el valor de cada cifra individual por 10.

Tabla 9 A, B y C. Número de microorganismos registrados a 10°C en las diferentes etapas del RBR.

9 A

MICROORGANISMO	RBR									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Colpidium campylum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Colpidium colpidium	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
Cyclidium glaucoma	0	0	2	1	9	5	8	14	18	14
Glaucoma scintillans	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Paramecium aurelia	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Tetrahymena pyriformis	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0
Oxitrico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Suma de ciliados libres nadadores	0	1	3	4	11	5	10	14	18	16
Epistylis plicatillis	8	20	67	83	94	139	185	103	70	43
Opercularia coarctata	2	15	14	18	12	24	36	20	18	0
Opercularia microdiscum	0	0	0	1	4	0	0	0	8	4
Podophrya fixa	0	0	0	0	0	0	6	4	3	0
Vorticella campanula	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Formas móviles de peritrico	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
Suma de ciliados sésiles y formas móviles de peritrico	10	35	81	107	110	163	227	127	99	47
Flagelados	604	821	748	540	910	420	380	350	320	530
Amibas	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1
Nemátodos	0	3	1	1	3	5	24	27	30	31
Rotíferos	0	0	0	26	46	66	141	150	137	130
T O T A L	614	860	833	678	1080	659	782	668	614	755

De acuerdo con la cuenta de protozoarios y micrometazoarios efectuada durante la fase de régimen permanente a 10°C (tablas 9 A, B y C), los protozoarios resultaron ser más abundantes que los micrometazoarios, tanto en cada una de las cámaras del RBR como en la suma de ellas. De los protozoarios el grupo con mayor abundancia relativa para esta temperatura fue el de los flagelados. En cuanto a los ciliados, las especies con mayor abundancia fueron Epistylis plicatillis y Opercularia coarctata, las cuales además presentaron una amplia distribución en el reactor.

9 B

MICROORGANISMO	E T A P A RBR									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ciliados	10	36	84	111	121	168	237	141	117	63
Flagelados	604	821	748	540	910	420	380	350	320	530
Amibas	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1
Nemátodos	0	3	1	1	3	5	24	27	30	31
Rotíferos	0	0	0	26	46	66	141	150	137	130
T O T A L	614	860	833	678	1080	659	782	668	614	755

9 C

MICROORGANISMO	E T A P A RBR										TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
PROTOZOARIO	614	857	832	651	1031	588	617	491	447	594	6722
METAZOARIO	0	3	1	27	49	71	165	177	167	161	821
T O T A L	614	860	833	678	1080	659	782	668	614	755	7543

Considerando los resultados obtenidos de la cuenta de protozoarios y micrometazoarios durante la fase estable del RBR a 20°C (tablas 10 A, B y C), la mayor abundancia fue para los protozoarios, de los cuales los más numerosos fueron los ciliados. Las especies de ciliados que resultaron con mayor abundancia relativa son Cyclidium glaucoma y Vorticella campanula, las cuales además se presentaron en casi la totalidad de las camaras del reactor de biodiscos.

Tabla 10 A, B y C. Número de microorganismos registrados a 20°C en las diferentes etapas del RBR.

10 A

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

## 10 B

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

## 10 C

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

Respecto a la cuenta de protozoarios y micrometazoarios realizada durante el régimen pseudoestable del RBR a 30°C (tablas 11 A, B, y C), al igual que en las temperaturas anteriores (10 y 20°) la suma de protozoarios fue mayor que la de micrometazoarios. En ésta temperatura experimental el grupo de protozoarios flagelados resulto ser el de mayor abundancia relativa entre los protozoarios. En cuanto a los ciliados, se presentaron un total de doce especies distribuidas a lo largo del RBR, las más abundantes fueron Paramecium aurelia, Colpidium colpidium y las formas móviles de peritrico.

Tabla 11 A, B y C. Número de microorganismos registrados a 30°C en las diferentes etapas del RBR.

11 A

MICROORGANISMO	E T A P A RBR									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Colpidium campylum	0	0	0	23	0	18	0	16	0	0
Colpidium colpidium	0	7	9	30	37	66	19	24	0	0
Cyclidium glaucoma	0	2	10	35	7	15	30	7	2	0
Glaucoma scintillans	0	3	0	0	2	0	0	0	0	0
Paramecium aurelia	0	18	75	99	93	88	0	98	91	28
Tetrahymena pyriformis	19	11	28	24	7	0	0	0	0	3
Oxitrico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
Suma de ciliados libres nadadores	19	41	122	211	146	187	49	145	93	31
Epistylis plicatillis	4	0	0	37	4	0	0	0	0	15
Opercularia coarctata	0	5	11	12	0	0	0	1	0	39
Opercularia microdiscum	0	0	0	0	4	0	14	0	0	1
Podophrya fixa	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0
Vorticella campanula	0	0	1	20	73	0	0	0	0	0
Formas móviles de peritrico	0	158	246	72	158	0	44	25	8	0
Suma de ciliados sésiles y formas móviles de peritrico	4	163	258	152	239	0	58	26	8	69
Flagelados	445	510	1330	674	213	0	29	2	50	374
Amibas	0	30	68	385	241	189	260	12	90	8
Nemátodos	0	1	4	2	1	1	0	1	2	8
Rotíferos	0	0	0	664	89	310	365	269	433	109
T O T A L	468	745	1782	2088	929	687	761	455	676	599

## 11 B

MICROORGANISMO	E T A P A R B R									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ciliados	23	204	380	363	385	187	107	171	101	100
Flagelados	445	510	1330	674	213	0	29	2	50	374
Amibas	0	30	68	385	241	189	260	12	90	8
Nemátodos	0	1	4	2	1	1	0	1	2	8
Rotíferos	0	0	0	664	89	310	365	269	433	109
T O T A L	468	745	1782	2088	929	687	761	455	676	599

## 11 C

MICROORGANISMO	E T A P A R B R									TOTAL	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
PROTOZOARIO	468	744	1778	1422	839	376	396	185	241	482	6931
METAZOARIO	0	1	4	666	90	311	365	270	435	117	2259
T O T A L	468	745	1782	2088	929	687	761	455	676	599	9190

De manera comparativa, entre las tres temperaturas experimentales estudiadas, la abundancia de microorganismos en el RBR es mayor a 20°C que a 10 y 30°C. En los tres casos, se presenta un aumento paulatino en la abundancia de protozoarios y micrometazoarios durante las primeras etapas, empezando a disminuir gradualmente a partir de porción media del reactor (tabla 12), es decir la distribución a lo largo del proceso depurativo es de tipo normal, a manera de curva gaussiana.

Tabla 12. Resumen del número total de microorganismos contados por cada etapa del RBR a diferentes temperaturas.

TEMPERATURA EXPERIMENTAL	NUMERO TOTAL DE PROTOZOARIOS Y MICROMETAZOARIOS POR CADA ETAPA DEL R B R									TOTAL	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
10°C	614	860	833	678	1080	659	782	668	614	755	7,543
20°C	1501	1986	2931	998	639	450	739	758	415	354	10,771
30°C	468	745	1782	2088	929	687	761	455	676	599	9,190

Separando la cuenta total de protozoarios ciliados en número de organismos por especie (tabal 13), puede notarse que para el periodo experimental realizado a 10°C la especie más abundante fue Epistylis plicatillis, mientras que para la temperatura experimental de 20°C fue Cyclidium glaucoma y por último, durante la experimentación a 30°C el organismo de mayor abundancia fue Paramecium aurelia.

Tabla 13. Número total de individuos por especie de ciliado, para cada una de las tres temperaturas experimentales.

C I L I A D O	F A S E E X P E R I M E N T A L		
	10°C	20°C	30°C
Colpidium campylum	1	137	57
Colpidium colpidium	3	307	192
Cyclidium glaucoma	71	3384	108
Glaucoma scintillans	1	9	5
Paramecium aurelia	1	76	590
Tetrahymena pyriformis	5	256	92
Oxitrico	0	0	14
Epistylis plicatillis	812	290	60
Opercularia coarctata	159	283	68
Opercularia microdiscum	17	149	19
Podophrya fixa	13	70	11
Vorticella campanula	0	1308	94
T O T A L	1083	6269	1310

De las doce especies de ciliados encontrados durante la experimentación realizada a tres diferentes temperaturas, once de ellos fueron identificados, de éstos, diez han sido reportados como habitantes comunes ya sea en algún sistema de tratamiento biológico (que trata aguas residuales de origen doméstico), o bien en aguas negras sin tratar (tabla 14). La especie no identificada corresponde a un oxitrico, el cual únicamente se presentó en la última cámara del reactor, durante la experimentación efectuada a 30°C.

Por otra parte, para nueve de las once especies identificadas, existe en la literatura información referente a los intervalos de tolerancia para algunos parámetros ambientales relevantes, como son temperatura (T), pH, oxígeno disuelto (OD) y demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO<sub>5</sub>) (tabla 15). De acuerdo con esos datos, los ciliados encontrados en el RBR durante la experimentación a diferentes temperaturas, están dentro de los límites para su desarrollo respecto a los factores T, pH y OD, sin embargo, para el parámetro de DBO<sub>5</sub>, los valores reportados son inferiores a los encontrados durante la experimentación.

Tabla 14. Protozoarios ciliados registrados en las diferentes etapas del RBR y su presencia en sistemas de tratamiento.

PROTOZOARIO CILIADO	P R E S E N C I A E N				
	AN	TI	FP	LA	RBR
	*	---	**	---	***
Colpidium campylum (Stokes)	-	-	+	+	-
Colpidium colpidium (Schewiakoff)	-	-	-	-	-
Cyclidium glaucoma (Müller)	+	+	+	+	+
Glaucoma scintillans Ehrenberg	-	-	+	+	+
Paramecium aurelia Ehrenberg	+	-	+	+	-
Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg) Schewiakoff	+	-	+	+	+
Oxitrico	-	-	-	-	-
Epistylis plicatillis Ehrenberg	-	-	+	+	-
Opercularia coarctata Claparède y Lachmann	-	+	+	+	-
Opercularia microdiscum Fauré-Fremiet	-	-	+	+	-
Podophrya fixa (Quennerstedt)	-	-	+	+	-
Vorticella campanula Ehrenberg	-	-	+	+	+

De acuerdo con: \* Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976.  
 \*\* Curds, 1975. \*\*\* Rivera et al., 1988.  
 - ausencia; + presencia

AN= Aguas negras; TI= Tanques imhoff; FP= Filtros percoladores;  
 LA= Lodos activados y RBR= reactores biológicos rotatorios.

Tabla 15. Especies de ciliados encontradas en el RBR durante las tres temperaturas experimentales, y su intervalo de tolerancia reportado para diferentes factores ambientales.

C I L I A D O	T(°C)*	pH*	OD(mg/l)*	DBO <sub>5</sub> ** (mg/l)
Colpidium campylum	4-30	4.0-8.9	0.0-11.0	50-100
Colpidium colpidium	-	-	-	-
Cyclidium glaucoma	1-51	5.7-9.8	0.0-16.0	10-15
Glaucoma scintillans	0-30	3.8-8.6	0.0-8.9	5-100
Paramecium aurelia	1-42	6.0-9.0	0.1-12.5	5-15
Tetrahymena pyriformis	1-40	7.8-8.9	0.0-10.0	50-100
Epistylis plicatillis	4-25	6.4-8.3	0.2-14.0	10-15
Opercularia coarctata	10-22	5.0-8.0	9.0-11.0	10-100
Opercularia microdiscum	-	-	-	5-15
Podophrya fixa	4-19	-	-	10-100
Vorticella campanula	0-23	6.9-9.0	4.5-12.0	5-10

\* Tomado de Bick, 1972, 1976 a, b.  
 T= Temperatura, OD= Oxígeno disuelto.

\*\* Tomado de Sládeck, 1973.  
 DBO<sub>5</sub>= Demanda bioquímica de oxígeno en cinco días a 20°C.

## 6.-ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 6.1.- Efecto de la temperatura en el proceso depurativo de reactores biológicos rotatorios

Durante la fase pseudoestable del RBR, para cada temperatura experimental se evaluó su comportamiento tanto fisicoquímica como bioquímica, realizando simultáneamente observaciones sobre la distribución y abundancia de los protozoarios y micrometazoarios en cada cámara. No se tomaron muestras periódicas del recipiente de alimentación debido a que durante las observaciones preliminares solamente se apreció la presencia en el líquido almacenado de bacterias y flagelados pero no de ciliados, nemátodos o rotíferos. Además para evitar la eventual acumulación de protozoarios y micrometazoarios en el recipiente de alimentación, este se lavaba diariamente.

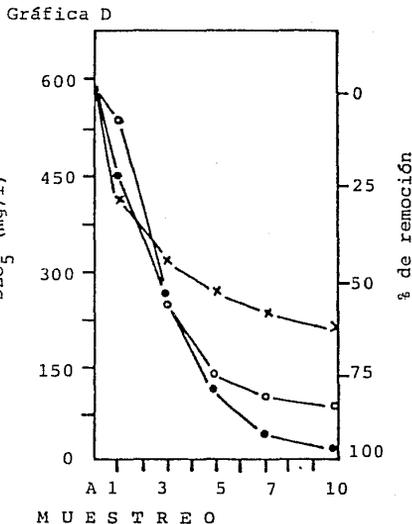
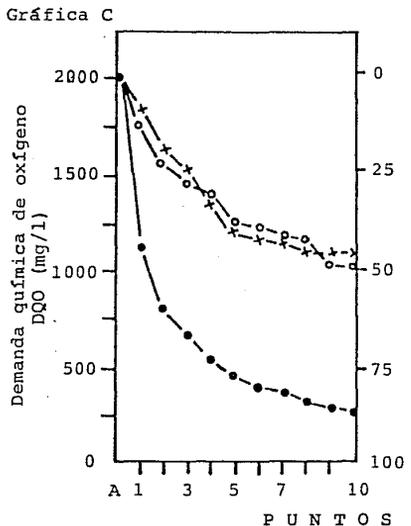
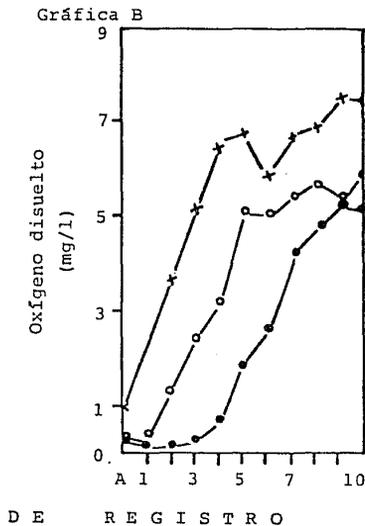
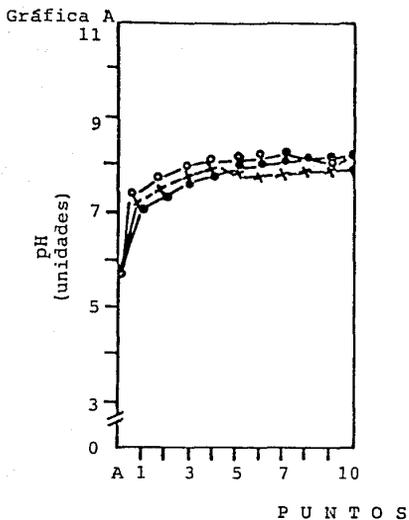
En la tabla 8, se presentan los valores promedio e intervalos registrados de temperatura del líquido en las diferentes etapas del RBR, para las tres temperaturas experimentales, lo cual permite corroborar que no se presentaron variaciones considerables durante la fase experimental.

#### Parámetros fisicoquímicos y bioquímicos

Considerando la relación área/volumen del reactor experimental ( $141 \text{ m}^2/\text{m}^3$ ), la concentración de influente suministrado (2000 mg DQO/l), la velocidad de rotación de los discos (30 rpm) y el tiempo de residencia hidráulico (un día), se observa que la acidez inicial del líquido alimentado al RBR es neutralizada en la primera etapa en las tres temperaturas experimentales en que se operó el sistema. Asimismo se aprecia que no se presentan fuertes oscilaciones de pH en las cámaras subsiguientes, manteniéndose dentro de un intervalo de 7.2 a 8.2 unidades es decir, con poca variación (gráfica 2-A). Este comportamiento es similar al observado durante la etapa para establecer las condiciones de operación permanentes del sistema.

Es importante resaltar que la acidez inicial del nejayote suministrado al reactor, es neutralizada en la primera cámara, tendiendo de manera paulatina y constante a un pH neutro-alcalino en las cámaras subsiguientes. Debido a esto no es necesario dar un pretratamiento de neutralización al líquido para su incorporación al reactor biológico (Poon y Chao, 1979).

En la gráfica 2-B, puede notarse que el RBR no alcanza la aerobiosis total, dentro de un intervalo de temperatura de 10 a 30°C y que la concentración de oxígeno disuelto en el líquido bajo tratamiento, tiende a aumentar conforme avanza, hacia la última cámara del reactor de biodiscos, presentando microaerobiosis en la porción media inicial y aerobiosis a partir de la porción media final. Comparando los resultados de oxígeno disuelto a diferentes temperaturas se aprecia que a 10°C se presentan más etapas aerobias que a 20 y 30°C (9, 8 y 5 etapas, respectivamente), lo cual, puede asociarse con la mayor capacidad



Gráfica 2. Valores promedio de pH (A), concentración de oxígeno disuelto (B), demanda química de oxígeno (C), y demanda bioquímica de oxígeno (D), del líquido contenido en cada etapa del RBR, operado a 10°C (x---x), 20°C (o---o), y 30 (0---o).

A= Alimentación, 1-10= Cámaras del RBR.

de disolución de oxígeno tanto a temperaturas menores, como a concentraciones menores de sólidos disueltos y suspendidos, en el agua bajo tratamiento (Starkey y Karr, 1984; Vavilin 1982).

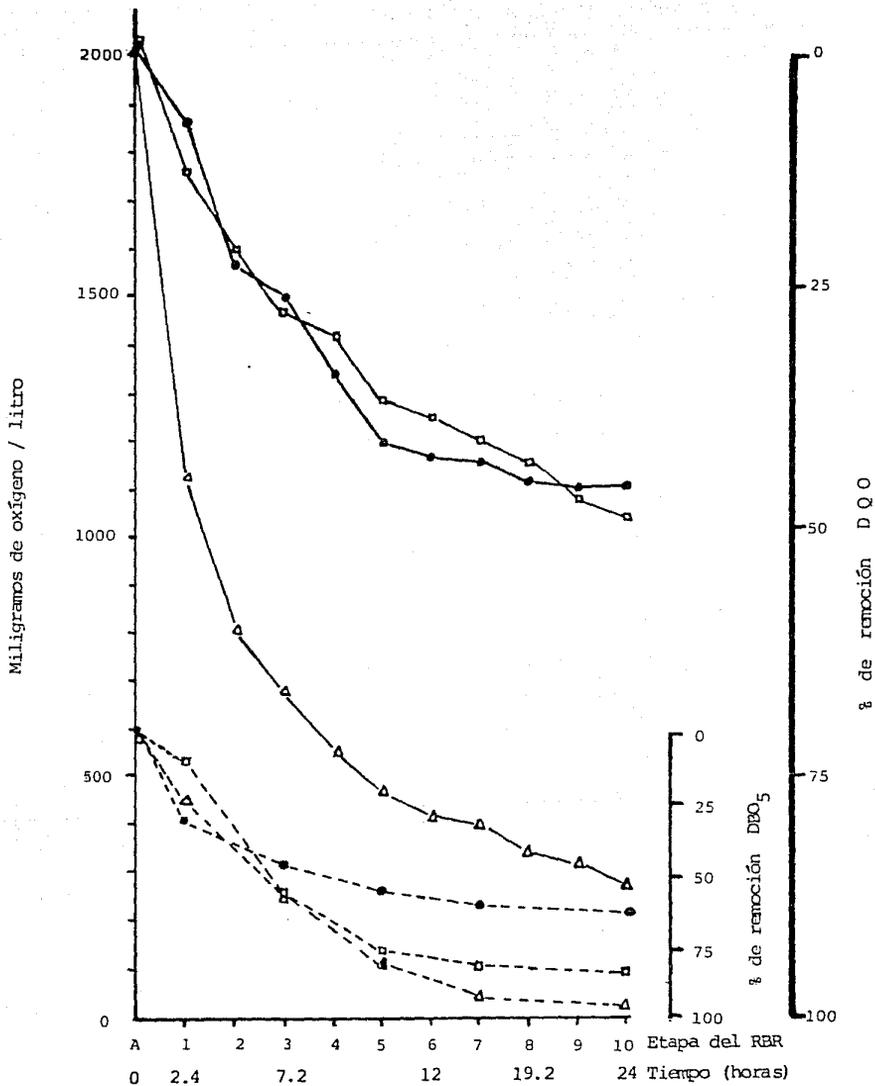
A pesar de que la remoción de materia orgánica disuelta, se incrementa de manera proporcional al aumento de temperatura (Pano y Middlebroks, 1982), la diferencia de remoción registrada, en términos de DQO, es baja (5 %) tomando como referencia 10 y 20°C (45 y 50 %, respectivamente). Comparando estas dos remociones con la lograda a 30°C (87 %), se observa que, a esta temperatura se obtiene 85 % más remoción (relativa), es decir casi el doble de lo degradado en las temperaturas experimentales de 10 y 20°C (gráfica 2-C).

Por otra parte, evaluando la remoción del sistema, mediante DBO<sub>5</sub>, se aprecia que los porcentajes de remoción al final del proceso, son mayores al aumentar la temperatura de operación en RBR. Los valores obtenidos son de aproximadamente 65, 85 y 95 % a 10, 20 y 30°C respectivamente (gráfica 2-D).

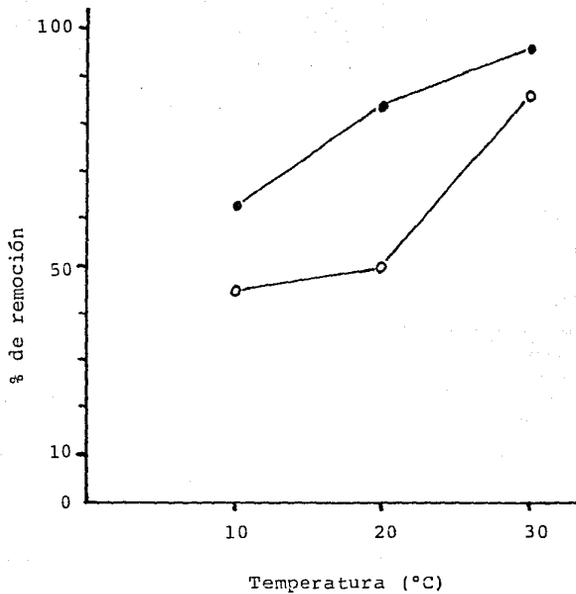
Cabe hacer mención, que el 75 y 85 % de remoción total, medida como DQO y como DBO<sub>5</sub> respectivamente, realizada por el sistema de tratamiento (para las tres temperaturas experimentales), ocurrió en las primeras cinco etapas (gráfica 3). Consecuentemente es factible, mediante el RBR empleado, disminuir el tiempo requerido para depurar el agua contaminada, o bien, tratar concentraciones de materia orgánica superiores a 2000 mg/g/l como DQO y 580 mg/l como DBO<sub>5</sub>, pero en igual o mayor tiempo de tratamiento, sin detrimento en el grado de remoción alcanzado.

El incremento proporcional de los porcentajes de remoción, al aumentar la temperatura dentro del intervalo de 10 a 30°C (gráfica 4), coincide con lo esperado en procesos depurativos de tipo biológico, dado que la actividad microbiana se ve favorecida cuando se incrementa la temperatura dentro de los intervalos en que se efectuó el experimento. Conviene enfatizar que los valores de DBO<sub>5</sub>, solamente representan una porción del material orgánico disuelto biodegradable en un determinado intervalo de tiempo. Constituyen por lo tanto sólo una porción de la totalidad del material oxidable químicamente (por DQO). Debido a esto, aún cuando numéricamente los porcentajes son mayores, la cantidad de contaminantes orgánicos disueltos, removidos en términos de DBO<sub>5</sub>, son aproximadamente tres veces menores a los evaluados mediante DQO.

En síntesis, desde el punto de vista fisicoquímico y bioquímico, el reactor biológico rotatorio experimental fue diseñado con una relación área/volumen de aproximadamente 140. Debido a la estructura en serie de sus compartimentos, es posible en este sistema realizar el tratamiento secuencial de los diferentes substratos orgánicos disueltos que componen el nejayote. Como resultado de la combinación de variables de operación del sistema: velocidad de rotación de los discos, de 30 rpm y tiempo de residencia hidráulico de un día, se obtuvo que



Gráf. 3 Concentración de oxígeno consumido, medido como demanda química (—) y bioquímica (----) de oxígeno a 10°C (●); 20°C (◻); y 30°C (▲) en las diferentes cámaras del RBR en fase de régimen permanente.



Gráf. 4 Porcentaje de remoción total, medido como demanda química de oxígeno (○) y demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (●), en el RBR a diferentes temperaturas de operación.

el RBR puede depurar, con 80% de las etapas en condiciones aerobias, aguas residuales de tipo "carbonáceo" con concentraciones de materia orgánica disuelta de 2000 mg/l y 585 mg/l medidos como DQO y DBO<sub>5</sub>, respectivamente.

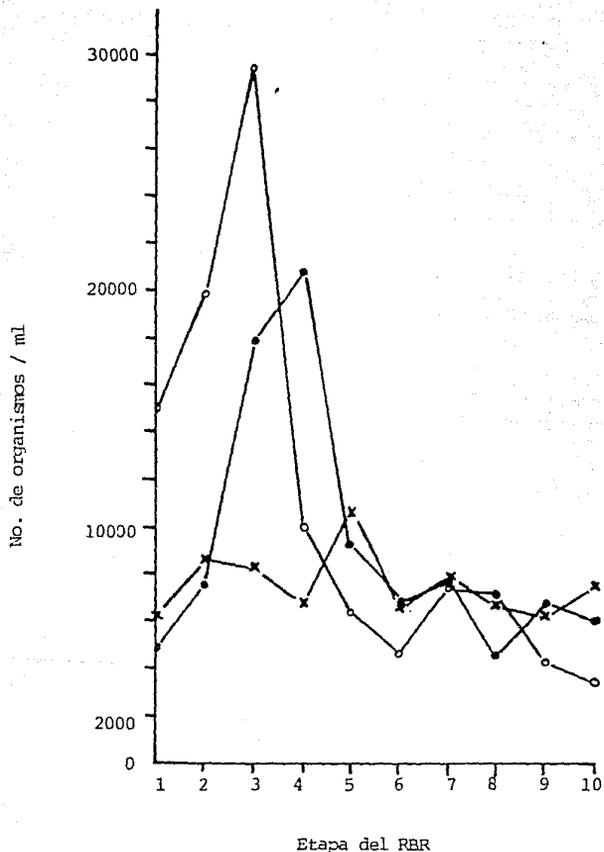
## 6.2.- Abundancia y diversidad microbiana y su relación con los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos

De acuerdo con los registros de pH durante el proceso depurativo (gráfica 2-A), estos valores no presentan variación drástica, al modificar la temperatura de operación (10, 20 y 30°C), manteniéndose dentro de un intervalo de 7 a 8.2 unidades, lo cual resulta conveniente para la proliferación de la mayoría los microorganismos propios de medios saprobios acuosos. Consecuentemente, este parámetro no significa una limitante en la degradación biológica aerobia de compuestos orgánicos disueltos. Reflejo de lo anterior es la relativamente alta densidad poblacional microbiana (protozoarios y micrometazoarios) registrada en las cámaras iniciales del RBR (gráfica 5).

En cuanto a los niveles de aerobiosis del sistema (gráfica 2-B), aproximadamente 7 de las 10 cámaras presentaron de manera permanente concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 2 mg/l, lo cual no impidió la presencia de microorganismos tróficamente activos en las etapas iniciales (gráfica 5). Cabe resaltar que gran parte de los microorganismos presentes en plantas depuradoras, incluidas las de discos biológicos, han sido reportados como de tipo facultativo (bacterias principalmente) o bien toleran bajas concentraciones de oxígeno disuelto durante intervalos de tiempo variables (protozoarios y micrometazoarios).

Con respecto a la transformación del material orgánico disuelto, medido como DQO y DBO<sub>5</sub>, se observa una clara tendencia a disminuir hacia las últimas cámaras del reactor, presentando un comportamiento asintótico en la porción final del mismo (gráfica 3). Al relacionar estos resultados con los registros de abundancia total por etapa a diferentes temperaturas de operación (gráfica 5, tabla 16), es posible explicar en parte porque existe mayor abundancia en la parte media del proceso que al final, pues al haber mayor concentración de material orgánico disponible, es posible mantener una población mayor de microorganismos que en donde la disponibilidad es menor. Esto no quiere decir que la abundancia de los microorganismos esté directamente relacionada con el material orgánico biodegradable disponible (pues no es su fuente principal de alimento), sino que dicha relación es indirecta ya que el material orgánico constituye la fuente principal de alimento para bacterias, las cuales sí representan el alimento principal de protozoarios y micrometazoarios.

Una probable explicación de porqué existe menor abundancia de protozoarios y micrometazoarios en las primeras cámaras del RBR es, que se encuentran en una fase de cambio tanto en niveles de oxigenación y pH como de tonicidad de medio acuoso, propiciado por el material orgánico e inorgánico disuelto. Lo anterior



Gráf. 5 Distribución y abundancia de microorganismos totales (protozoarios y metazoarios) registrados a lo largo del RER a 10°C (x), 20°C (o) y 30°C (●).

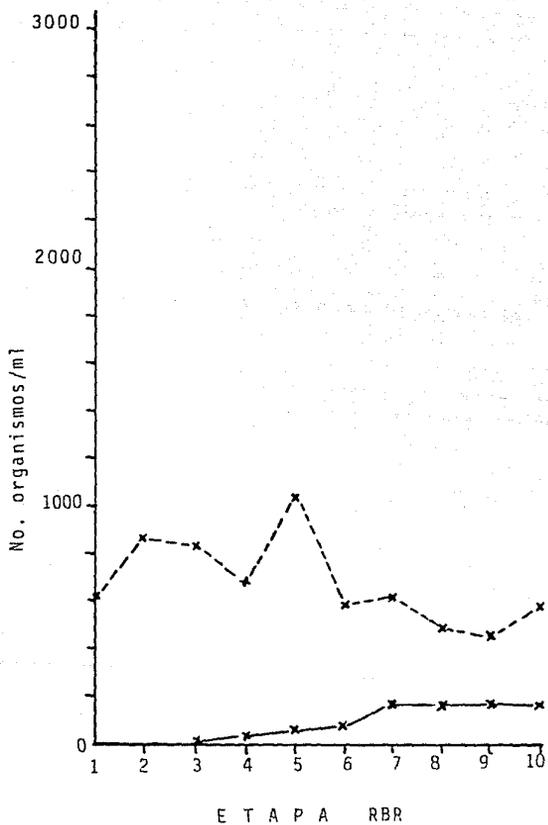
redunda en una continua tensión para estos microorganismos por lo cual sólo algunos, los de mayor intervalo de tolerancia a cambios ambientales (euribiontes), pueden manifestarse tróficamente y reproducirse.

Tabla 16. Resumen del número total de microorganismos contados por cada etapa del RBR a diferentes temperaturas.

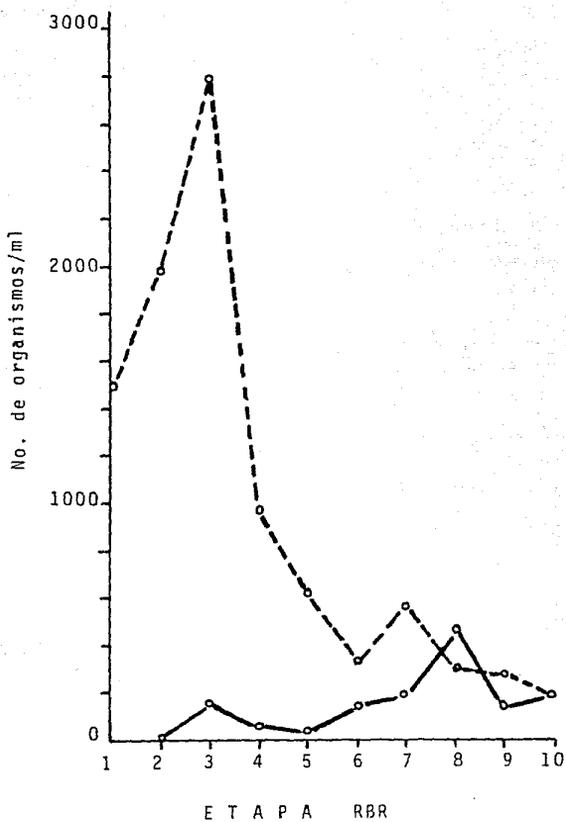
NUMERO TOTAL DE PROTOZOARIOS Y MICROMETAZOARIOS POR CADA ETAPA DEL R B R											
TEMPERATURA EXPERIMENTAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TOTAL
10°C	614	860	833	678	1080	659	782	668	614	755	7,543
20°C	1501	1986	2931	998	639	450	739	758	415	354	10,771
30°C	468	745	1782	2088	929	687	761	455	676	599	9,190

Cabe hacer mención que la distribución de protozoarios abarca toda la extensión del RBR, lo cual no ocurre con los micrometazoarios ya que estos se encuentran ausentes al inicio del proceso depurativo (gráficas 6, 7 y 8). La amplia distribución que presentan los protozoarios permite que se les considere como un grupo de alto interés para la caracterización y evaluación biológica en este tipo de sistemas. En todos los registros de abundancia realizados en las 10 cámaras a diferentes temperaturas, la abundancia de protozoarios siempre fue superior a la de micrometazoarios, tendiendo a ser menor la diferencia en densidades al final del proceso, lo cual es un indicio de estabilidad en la estructura comunitaria y de un sistema o cuerpo de agua más estable y menos contaminado. Es decir, que a medida que existan, en un cuerpo de agua, más grupos de organismos representados y que sus abundancias por grupo sean más homogéneas, el grado de contaminación por materia orgánica biodegradable será menor y viceversa, lo cual concuerda con los estudios realizados por Patrick et al., 1954, en Cairns 1972 (gráficas 12 y 13).

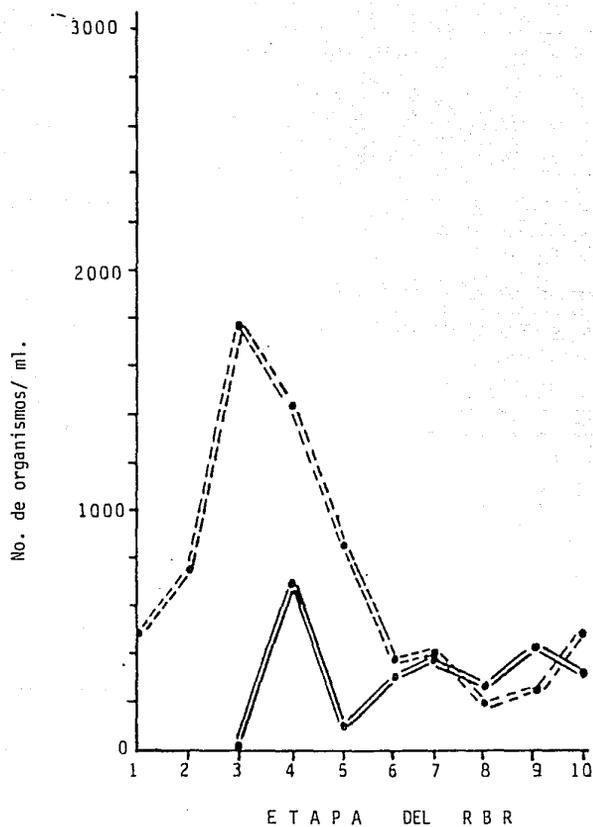
Lo anteriormente descrito, se ve reforzado al comparar entre sí, los porcentajes totales por grupo de organismos contados en las 10 cámaras del RBR a diferentes temperaturas de operación del sistema (gráficas 9, 10 y 11). Los valores más homogéneos en porcentaje se presentan a 30°C, que es la temperatura a la que el RBR removió mayor concentración de contaminantes orgánicos, mientras que la menor homogeneidad porcentual se observó a 10°C que es la temperatura a la que la remoción coseguida fue menor, siendo consecuentemente la más contaminada.



Gráf.6 Distribución y abundancia de protozoarios (---) y metazoarios (—) a lo largo del RBR a 10°C

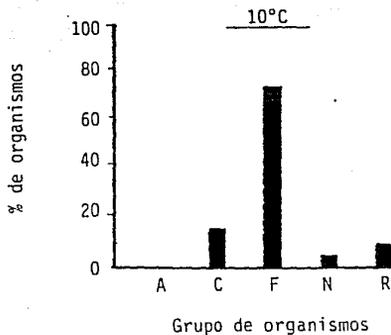


Gráf.7 Distribución y abundancia de protozoarios (---) y metazoarios (—) a lo largo del RBR a 20°C.

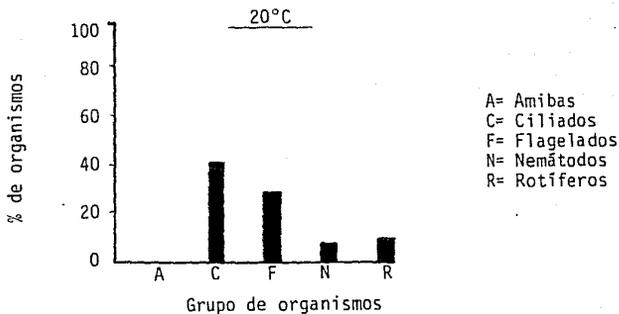


Gráf. 8 Distribución y abundancia de protozoarios (====) y metazoarios (——) a lo largo del RBR a 30°C.

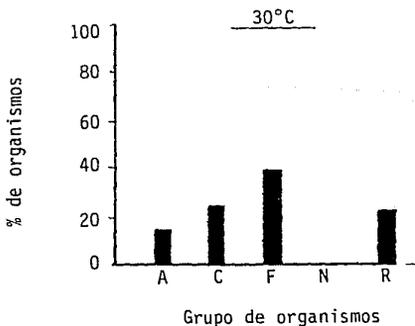
Gráf. 9



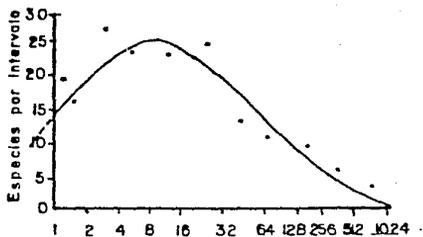
Gráf. 10



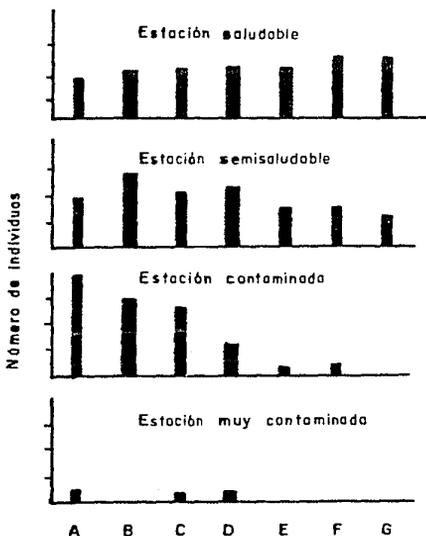
Gráf. 11



Gráfs. 9, 10, y 11. Porcentajes relativos por grupos de organismos en el RBR a diferentes temperaturas de operación.



Gráf. 12 Número de individuos por especie vs. especies por intervalo. (Tomado de Patrick *et. al.*, 1954, en Cairns, 1972).



Gráf. 13 Especies vs. número de individuos. (Tomado de Patrick *op. cit.*)

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

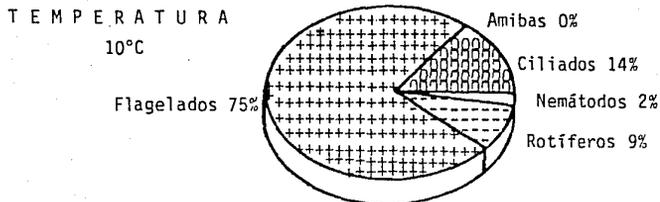
Subdividiendo la cuenta de microorganismos, efectuada para cada temperatura experimental, en protozoarios (ciliados, flagelados y amibas, y en micrometazoarios (nematodos y rotíferos) (tabla 17, gráfica 14), se aprecia que a 10 y 30°C, el grupo más abundante es el de flagelados, mientras que a 20°C lo constituyen los ciliados. Asimismo, puede observarse que el grupo de las amibas es el de menor abundancia tanto a 10 como a 20°C, y el de nemátodos lo es a 30°C.

Tabla 17. Porcentajes relativos de los microorganismos registrados en el RBR a diferentes temperaturas experimentales.

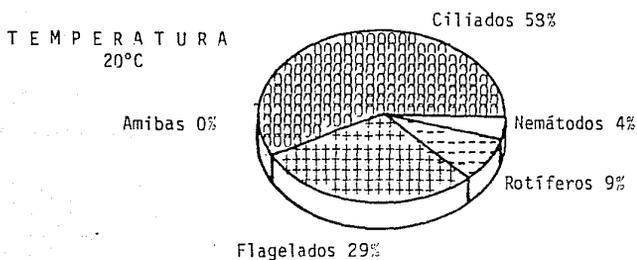
MICROORGANISMO (%)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL		
	10°C	20°C	30°C
Ciliados	14.42	58.30	21.99
Flagelados	74.55	29.15	39.47
Amibas	0.15	0.16	13.96
Nematodos	1.64	3.83	0.22
Rotíferos	9.14	8.56	24.36
T O T A L	100.00	100.00	100.00

La graficación de estos resultados muestra que existe un aumento numérico inicial de todos ellos, continuando con esa tendencia hasta la porción media del RBR, y finalmente, disminuyendo en las etapas últimas del reactor (gráficas 15, 16 y 17). Las diferencias numéricas entre los grupos de microorganismos recién mencionados, son menores en la cámara 10, es decir al final del proceso, donde el agua tratada presenta menor contaminación orgánica, lo cual apoya la idea propuesta por Patrick *et al.*, (1954), en Cairns, 1972 (gráfica 13).

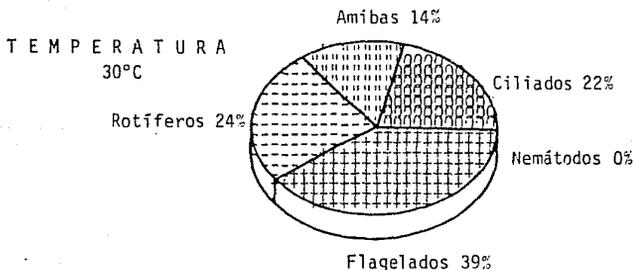
A continuación se abordará de manera particular al grupo de los protozoarios ciliados, los cuales representan un grupo de gran interés debido principalmente a su actividad depuradora y a su potencialidad como indicadores de calidad de agua tanto en cuerpos naturales como en sistemas de tratamiento biológico aerobio. De manera general se observa que el grupo de los ciliados presenta mayor abundancia por unidad de volumen a 20°C, posteriormente a 30°C y por último a 10°C. Su distribución abarca todas las cámaras del RBR. Numéricamente se presenta un aumento constante a partir de la cámara inicial hasta la porción media del sistema y una disminución paulatina hacia el final del proceso (gráficas 15, 16 y 17), lo cual como se mencionó con anterioridad, está asociado con la cantidad de alimento disponible.



Número total de individuos= 7, 544

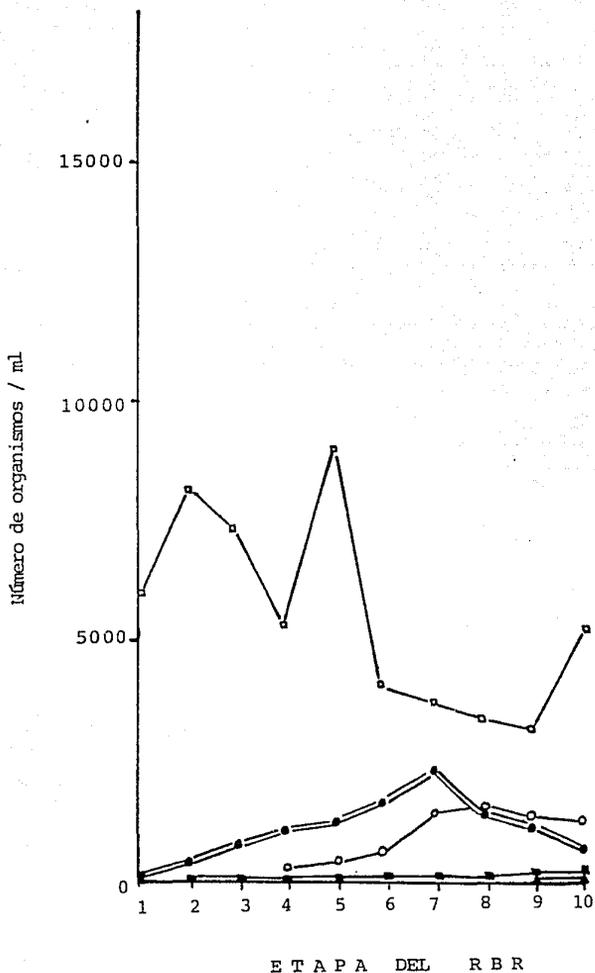


Número total de individuos= 10, 771



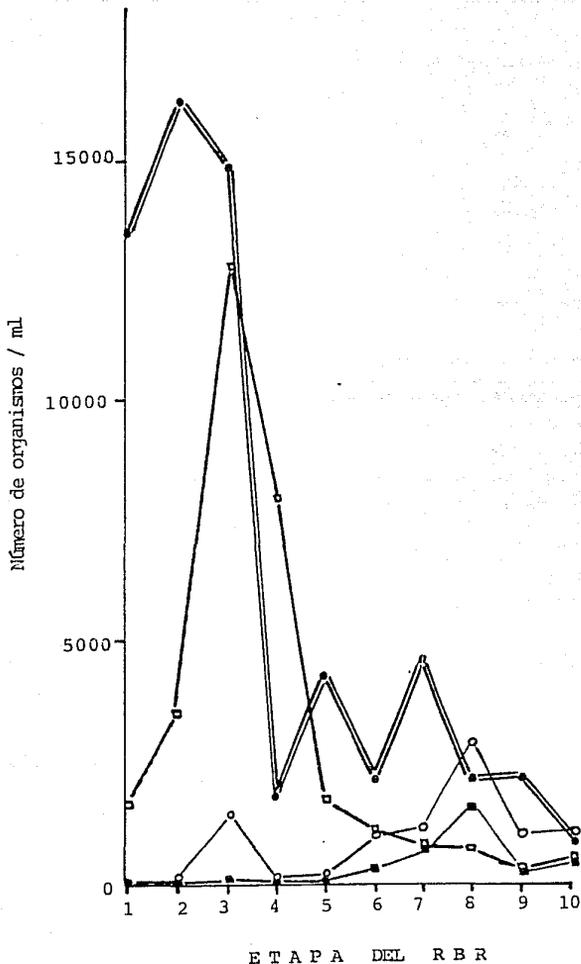
Número total de individuos= 9, 200

Gráfica 14. Porcentajes relativos, por grupos de organismos, a diferentes temperaturas de operación del reactor biológico rotatorio.

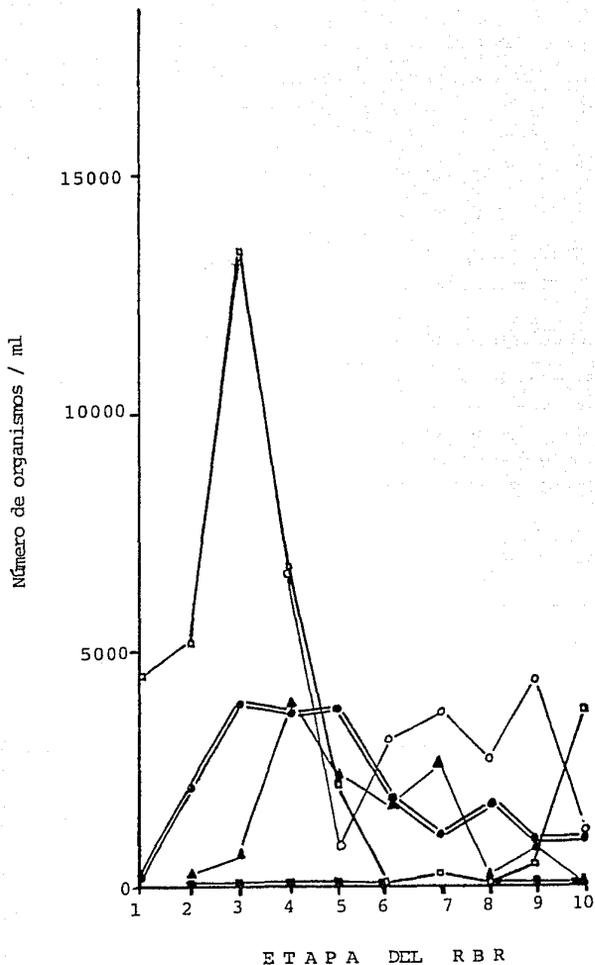


Gráf.15 Distribución y abundancia de:

Flagelados (□—□); Ciliados (○—○); Amibas (▲—▲)  
 Rotíferos (○—○) y Nemátodos (■—■), a 10°C en las  
 diferentes etapas del RBR.



Graf. 16 Distribución y abundancia de:  
 Flagelados (□—□); Ciliados (●—●); Amibas (▲—▲)  
 Rotíferos (○—○) y Nemátodos (■—■), a 20°C en las  
 diferentes etapas del RBR.



Graf.17 Distribución y abundancia de:  
 Flagelados (□) ; Ciliados (○) ; Amibas (▲) ;  
 Rotíferos (○) y Nemátodos (■), a 30°C en las  
 diferentes etapas del RBR.

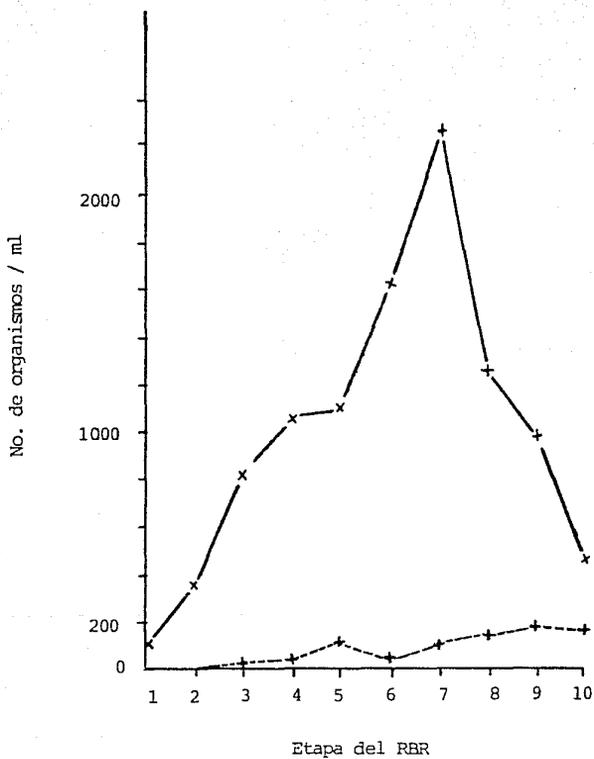
Dividiendo a los protozoarios ciliados en dos grupos: ciliados sésiles o pedunculados y ciliados móviles o libres nadadores, es posible notar que hay un claro predominio a 10°C de los pedunculados, sobre los libres nadadores (gráfica 18). A 20°C, el predominio inicial es por parte de los ciliados libres nadadores, disminuyendo sus diferencias numéricas en las últimas cámaras del reactor (gráfica 19). Por último a 30°C, se presenta una distribución y abundancia similar para ambos tipos de ciliados (gráfica 20).

A 20°C tanto los ciliados adheridos como los móviles incrementan de manera considerable su abundancia. El grupo de ciliados adheridos es, comparativamente, inferior al de ciliados móviles en las primeras cámaras del sistema, invirtiéndose esta situación al final del mismo (gráfica 19). Este comportamiento puede explicarse también en términos de la energía metabólica empleada para la obtención de alimento, ya que al no tener que desplazarse para conseguirlo, gastan menos energía lo cual los hace altamente competitivos en ambientes en donde no hay excesiva abundancia de alimento, tal es el caso de las etapas finales del RBR.

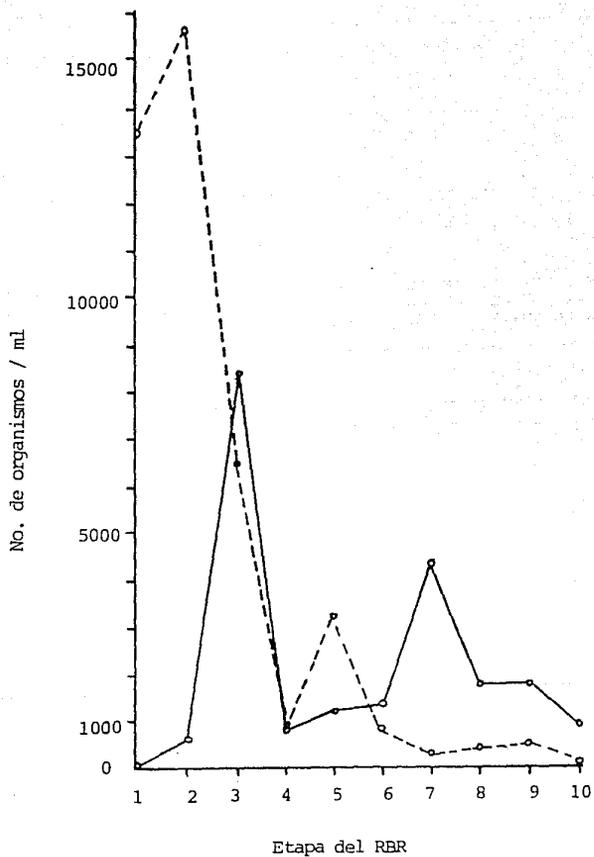
A 30°C hay un ligero predominio numérico, por parte de los ciliados adheridos sobre los libres nadadores en las cámaras iniciales del reactor, lo cual se invierte en las últimas etapas (gráfica 20). Cabe destacar que a esta temperatura se presenta mayor abundancia de formas móviles de peritrico por cámara, que a 10 y 20°C. La presencia de estas formas, alcanzó aproximadamente el 75% del total de los peritricos contados a lo largo del reactor de biodiscos en este período experimental (tabla 18). Este comportamiento pudo ser ocasionado por efecto de la temperatura del líquido, ya que la formas móviles de los peritricos en ocasiones se presentan cuando las condiciones ambientales son poco propicias para su establecimiento como colonias o como individuos sésiles.

Respecto al número de especies de protozoarios ciliados, éste fue similar en las tres temperaturas experimentales, pero con diferentes porcentajes relativos (tabla 18). A 10°C, los ciliados adheridos resultaron los de mayor predominancia siendo Epistylis plicatillis, el más numeroso (74.7%). A 20°C, los ciliados libres nadadores predominaron sobre los adheridos, correspondiendo en este caso a Cyclidium glaucoma el mayor porcentaje (53.9%). Por último, a 30°C, el predominio global corresponde a los ciliados libres nadadores, pero el mayor porcentaje individual es para formas móviles de ciliados peritricos (35.2%).

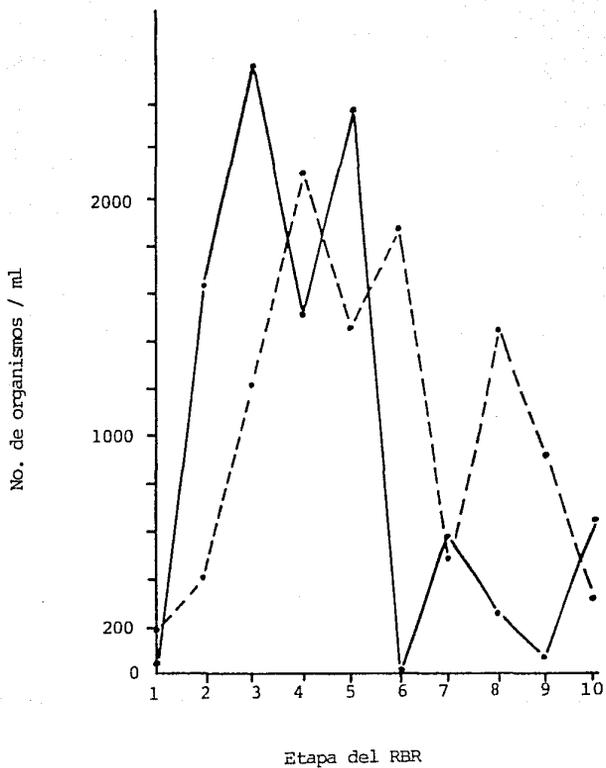
De los doce diferentes protozoarios ciliados encontrados a lo largo del RBR en los tres períodos experimentales (10, 20 y 30°C) diez de ellos han sido reportados como habitantes comunes en algún tipo de sistema de tratamiento aerobio o en aguas negras sin tratar. Esto implica que poseen una amplia tolerancia y adecuación a medios acuosos no sólo respecto al contenido de substratos orgánicos disueltos, sino de otros parámetros ambientales como el oxígeno y el pH los cuales presentan



Gráf. 18 Distribución y abundancia de protozoarios ciliados libres (—) y adheridos (---) a lo largo del RBR, a 10°C.



Gráf. 19 Distribución y abundancia de protozoarios ciliados libres (---) y adheridos (—) a lo largo del RBR, a 20°C.



Gráf. 20 Distribución y abundancia de protozoarios ciliados libres (---) y adheridos (—) a lo largo del RBR, a 30°C.

variación en función del tipo de tratamiento al que esten sujetas las aguas contaminadas.

Tabla 18. Porcentajes relativos de los protozoarios ciliados registrados en el RBR a diferentes temperaturas experimentales.

MICROORGANISMO	TEMPERATURA EXPERIMENTAL		
	10°C	20°C	30°C
Colpidium campylum	0.09	2.18	2.82
Colpidium colpidium	0.27	4.89	9.50
Cyclidium glaucoma	6.56	53.89	5.34
Glaucoma scintillans	0.09	0.14	0.25
Paramecium aurelia	0.09	1.22	29.20
Tetrahymena pyriformis	0.36	4.08	4.55
Oxitrico	0.00	0.00	0.69
Subtotal	7.46	66.40	52.35
Epistylis plicatillis	74.70	4.62	2.97
Opercularia coarctata	14.63	4.51	3.36
Opercularia microdiscum	1.56	2.37	0.94
Podophrya fixa	1.19	1.11	0.54
Vorticella campanula	0.00	20.83	4.65
Formas móviles de peritrico	0.46	0.16	35.19
Subtotal	92.54	33.60	47.65
T O T A L (100%)	100.00	100.00	100.00

A partir del cálculo numérico del valor del índice de diversidad de Shannon y Wiener (H), es posible conocer la magnitud de orden o desorden de un sistema. El valor de H, relaciona tanto el número de especies presente en una comunidad, como la abundancia relativa de las mismas. La diversidad o heterogeneidad de una comunidad será mayor si hay mas especies y estas últimas son igualmente abundantes. Numéricamente el valor del índice es directamente proporcional a la diversidad de la comunidad a la que le fue aplicado.

De acuerdo con los cálculos realizados del índice de diversidad (tablas 19, 20 y 21), a 10°C, se obtiene un valor de H= 1.2336, a 20°C, H= 2.1720 y a 30°C, H= 2.6319 y los valores de equidad (E) son, a 10°C, E= 0.3719, 20°C, E= 0.6279 y a 30°C, E= 0.7341, lo cual confirma numéricamente que la diversidad es mayor conforme la temperatura del medio acuoso aumenta. El incremento de temperatura está directamente asociado con el grado de depuración logrado por el sistema el cual como se mencionó anteriormente, presentó mayor porcentaje de remoción a 30°C que a temperaturas inferiores (10 y 20°C), es decir que la diversidad es superior en medios acuosos con menor concentración de contaminantes orgánicos disueltos.

Tabla 19. Datos requeridos para la obtención del índice de diversidad (H) de Shannon y Wiener, para la comunidad de protozoarios ciliados presente en el RBR a 10°C.

C I L I A D O	No. total	pi	pi(log pi)
Colpidium campylum	1	9.234 X 10 <sup>-4</sup>	-2.802 X 10 <sup>-3</sup>
Colpidium colpidium	3	2.770 X 10 <sup>-3</sup>	-7.084 X 10 <sup>-3</sup>
Cyclidium glaucoma	71	0.0656	-0.0776
Glaucoma scintillans	1	9.234 X 10 <sup>-4</sup>	-2.802 X 10 <sup>-3</sup>
Paramecium aurelia	1	9.234 X 10 <sup>-4</sup>	-2.802 X 10 <sup>-3</sup>
Tetrahymena pyriformis	5	4.617 X 10 <sup>-3</sup>	-0.0108
Oxitrico	0	0	0
Epistylis plicatillis	812	0.7498	-0.0938
Opercularia coarctata	159	0.1468	-0.1223
Opercularia microdiscum	17	0.0157	-0.0283
Podophrya fixa	13	0.0120	-0.0230
Vorticella campanula	0	0	0
T O T A L	1083	1.0	-0.3713

A 10°C H= 1.2336

Tabla 20. Datos requeridos para la obtención del índice de diversidad (H) de Shannon y Wiener, para la comunidad de protozoarios ciliados presente en el RBR a 20°C.

C I L I A D O	No. total	pi	pi(log pi)
Colpidium campylum	137	0.0219	-0.0362
Colpidium colpidium	307	0.0491	-0.0642
Cyclidium glaucoma	3384	0.5398	-0.1445
Glaucoma scintillans	9	1.436 X 10 <sup>-3</sup>	-4.081 X 10 <sup>-3</sup>
Paramecium aurelia	76	0.0121	-0.0232
Tetrahymena pyriformis	256	0.0408	-0.0567
Oxitrico	0	0	0
Epistylis plicatillis	290	0.0463	-0.0618
Opercularia coarctata	283	0.0453	-0.0607
Opercularia microdiscum	149	0.0238	-0.0386
Podophrya fixa	70	0.0112	-0.0218
Vorticella campanula	1308	0.2086	-0.1420
T O T A L	6269	1.0	-0.6539

A 20°C H= 2.1722

Tabla 21. Datos requeridos para la obtención del índice de diversidad (H) de Shannon y Wiener, para la comunidad de protozoarios ciliados presente en el RBR a 30°C.

C I L I A D O	No. total	pi	pi(log pi)
Colpidium campylum	57	0.0435	-0.0592
Colpidium colpidium	192	0.1466	-0.1222
Cyclidium glaucoma	108	0.0824	-0.0893
Glaucoma scintillans	5	$3.817 \times 10^{-3}$	$-9.230 \times 10^{-3}$
Paramecium aurelia	590	0.4504	-0.1560
Tetrahymena pyriformis	92	0.0702	-0.0810
Oxitrico	14	0.017	-0.0210
Epistylis plicatillis	60	0.0458	-0.0613
Opercularia coarctata	68	0.0519	-0.0667
Opercularia microdiscum	19	0.0145	-0.0267
Podophrya fixa	11	$8.397 \times 10^{-3}$	-0.0174
Vorticella campanula	94	0.0717	-0.0821
T O T A L	1310	1.0	-0.7923

A 30°C H= 2.6319

Para el cálculo de la igualdad o equidad (E) de la comunidad de ciliados a diferentes temperaturas, se aplica la siguiente fórmula:

$$E = \frac{H}{H_{\text{máx}}}$$

Donde:

E= Igualdad o equitatividad (0 a 1)

H= Diversidad de especies observada

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

S= Número total de especies

A 10°C el valor de E es de 0.3713, a 20°C de 0.6279 y a 30°C de 0.7341, lo que implica, como se mencionó anteriormente, que la comunidad de ciliados es más equitativa a medida que la temperatura aumenta.

Tomando en cuenta los valores de  $H_{\max}$  o diversidad máxima susceptible de ser encontrada, para la comunidad presente a 10°C (10 especies),  $H_{\max} = 3.3219$ . Al comparar este valor con el de la diversidad encontrada ( $H = 1.2336$ ) es posible constatar que solamente poco más de una tercera parte de la comunidad potencial se encuentra de manera real en el sistema. Para 20°C (11 especies),  $H_{\max} = 3.4594$  y  $H = 2.1720$ . En este caso, más de la mitad de la comunidad potencial se encuentra presente. Por último, a 30°C (12 especies)  $H_{\max} = 3.5849$  y  $H = 2.6319$ ; es decir, casi tres cuartas partes de la Comunidad potencial se encuentra de manera real a esta temperatura. De lo anterior se infiere que, a medida que aumenta la temperatura dentro de un intervalo de 10 a 30°C, en el cual se operó el RBR, la comunidad real de ciliados se manifiesta de manera más cercana a la que potencialmente pudiera desarrollarse.

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

Para el caso específico de la distribución de los protozoarios ciliados dentro del RBR experimental se tiene lo siguiente:

A 10°C Colpidium campylum, Glaucoma scintillans, Paramecium aurelia, Podophrya fixa, Tetrahymena pyriformis y las formas móviles de peritrico, presentan distribución estenosaprobia (variación menor a 50 mg DBO<sub>5</sub>/l), restringida entre una y tres cámaras, mientras que a la misma temperatura Epistylis plicatillis, Opercularia coarctata y Cyclidium glaucoma, presentan distribución eurisaprobia (más de 50 mg DBO<sub>5</sub>/l), abarcando casi la totalidad de las etapas del reactor (tabla 22).

A 20°C solamente Colpidium campylum y C. colpidium presentan distribución estenosaprobia, mientras que las especies restantes, presentan distribución más amplia, siendo consecuentemente de tipo eurisaprobia (tabla 23).

Tabla 22. Distribución y abundancia\*\* de protozoarios ciliados, a lo largo del reactor biológico rotatorio a 10°C y algunos parámetros ambientales asociados,

\*\* El área de cada cuadro en blanco equivale a 2000 organismos/ml.

ETAPA DEL REACTOR

PROTOZOARIO CILIADO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<u>Colpidium camyplum</u>										
<u>Colpidium colpidium</u>										
<u>Cyclidium glaucoma</u>										
<u>Glaucoma scintillans</u>										
Oxitrico										
<u>Paramecium aurelia</u>										
<u>Tetrahymena pyriformis</u>										
<u>Epistylis plicatillis</u>										
<u>Opercularia coarctata</u>										
<u>Opercularia microdiscum</u>										
<u>Vorticella campanula</u>										
<u>Podophrya fixa</u>										
Formas móviles de peritrico										
Oxígeno disuelto (mg/l)	0.24 ± 0.18	3.70 ± 1.00	5.18 ± 1.15	6.56 ± 0.73	6.81 ± 0.83	5.94 ± 0.84	6.77 ± 0.52	6.97 ± 0.37	7.52 ± 0.25	
Demanda bioquímica de oxígeno (mg/l)	410 ±10	-	320 ±10	-	265 ±15	-	235 ± 5	-	-	215 ± 5
Demanda química de oxígeno (mg/l)	1860 ±100	1160 ±100	1500 ±100	1340 ± 80	1200 ± 70	1170 ± 60	1160 ± 60	1120 ± 60	1110 ± 40	1110 ± 60

ESTA  
 TERCERA  
 HOJA  
 DE LA  
 SERIE

Tabla 23. Distribución y abundancia\*\* de protozoarios ciliados, a lo largo del reactor biológico rotatorio a 20°C y algunos parámetros ambientales asociados.

\*\* El área de cada cuadro en blanco equivale a 12000 organismos/ml.

ETAPA DEL REACTOR

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

Tabla 24. Distribución y abundancia\*\* de protozoarios ciliados, a lo largo del reactor biológico rotatorio a 30°C y algunos parámetros ambientales asociados,

\*\* El área de cada cuadro en blanco equivale a 2000 organismos/ml.

ETAPA DEL REACTOR

PROTOZOARIO CILIADO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Colpidium campylum</i>				■		■		■		
<i>Colpidium colpidium</i>		■	■	■	■	■	■	■		
<i>Cyclidium glaucoma</i>		■		■	■	■	■	■	■	
<i>Glaucoma scintillans</i>		■			■					
Oxitrico										■
<i>Paramecium aurelia</i>		■	■	■	■	■		■	■	■
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	■	■	■	■	■					■
<i>Epistylis plicatillis</i>	■			■	■					■
<i>Opercularia coarctata</i>		■	■	■						■
<i>Opercularia microdiscum</i>					■		■			■
<i>Vorticella campanula</i>			■	■	■					
<i>Podophrya fixa</i>				■						
Formas móviles de peritrico		■	■	■	■		■	■	■	
Oxígeno disuelto (mg/l)	0.13 ± 0.16	0.20 ± 0.11	0.28 ± 0.09	0.67 ± 0.37	1.86 ± 1.16	2.59 ± 0.68	4.26 ± 0.37	4.84 ± 0.69	5.29 ± 0.40	5.14 ± 0.34
Demanda bioquímica de oxígeno (mg/l)	457 ±15	-	260 ±15	-	115 ± 5	-	45 ±5	-	-	25 ±5
Demanda química de oxígeno (mg/l)	1130 ±140	810 ±140	680 ±60	550 ±40	470 ±80	410 ±60	400 ±40	340 ±20	320 ±30	270 ±50

A 30°C no se presentan organismos de distribución estenosaprobia, por lo que las especies presentes a esta temperatura corresponden a una distribución de tipo eurisaprobia (tabla 24).

La distribución de las especies encontradas en el RBR a diferentes temperaturas puede observarse en la tabla 25. En términos generales puede decirse que para una riqueza de especies similar, los protozoarios ciliados se distribuyen más ampliamente cuando el RBR trabaja a 30°C que a temperaturas menores (10 y 20°C). La distribución de los ciliados puede estar asociada a la combinación de efectos que resulta de variar la temperatura del medio líquido contenido en el reactor. Por ejemplo al aumentar la temperatura del licor mezclado (líquido contenido en cada cámara del RBR), la concentración de oxígeno disuelto en el disminuye, facilitándose su abatimiento a partir del metabolismo aerobio de las comunidades microbianas presentes. Por otra parte, aunque de manera simultánea, el sistema aumenta su capacidad para remover contaminantes orgánicos disueltos, dado que al aumentar la temperatura hay incremento en el metabolismo microbiano (dentro del intervalo experimental). Disminuyendo la concentración de los contaminantes disueltos la capacidad de disolución de oxígeno en el agua se incrementa, permitiendo a su vez la posibilidad de mayor permanencia en fase trófica no sólo de los ciliados y protozoarios en general, sino también de los micrometazoarios de tipo aerobio.

Tabla 25. Distribución de protozoarios ciliados en el RBR, para las tres temperaturas experimentales.

PROTOZOARIO CILIADO	10°C	E T A P A	RBR 30°C
Colpidium campylum	10	1-3	4, 6, 8
Colpidium colpidium	7-10	1-3	2-8
Cyclidium glaucoma	3-10	1-9	2-9
Glaucoma scintillans	5	1-3, 8	2, 5
Paramecium aurelia	5	1-5, 7-9	2-6, 8-10
Tetrahymena pyriformis	2-4	1-3, 5-7, 10	1-5, 10
Oxitrico	-	-	10
Epistylis plicatillis	1-10	1-4, 6, 9	1, 4-5, 10
Opercularia coarctata	1-9	2-10	2, 4, 8, 10
Opercularia microdiscum	4-5, 9-10	2-5, 7-10	5, 7, 10
Podophrya fixa	7-9	2-8	4
Vorticella campanula	-	2-10	3-5
Formas móviles de peritrico	4	1-2, 8-9	2-5, 7-9

En las tablas 26, 27 y 28, se pueden apreciar los intervalos de tolerancia para algunos parámetros ambientales, de las diferentes especies encontradas en el reactor biológico rotatorio experimental, a las diferentes temperaturas de operación.

De esos parámetros ambientales, el de  $DBO_5$  reviste mayor interés ya que es una prueba que aporta, como se mencionó anteriormente, información valiosa sobre la calidad de agua, pero que tarda más tiempo que las restantes. Por lo cual, establecer una correlación entre un intervalo lo más estrecho posible de este parámetro y un ciliado particular es deseable.

A  $10^{\circ}C$ , Colpidium campylum, Glaucoma scintillans y Paramecium aurelia son las especies que presentan un intervalo de variación (tolerancia) menor para el parámetro de  $DBO_5$ , siendo para la primera especie de  $215 \pm 5$  mg  $DBO_5/l$  y  $265 \pm$  mg  $DBO_5/l$  para las siguientes dos (tabla 26). A  $20^{\circ}C$ , las especies con intervalo de  $DBO_5$  más estrecho son C. campylum, C. colpidium y G. scintillans, en este caso el intervalo de tolerancia de concentración como  $DBO_5$  es más amplio, entre 255 y 535 mg  $DBO_5/l$ , para las tres especies (tabla 27). A  $30^{\circ}C$  solamente Vorticella campanula y Podophrya fixa, son las especies que presentan un intervalo de presencia estrecho, oscilando entre 115 y 260 mg  $DBO_5/l$  para ambas, además se presentó una especie de oxitrico en un intervalo de concentración comprendido entre  $25 \pm 5$  mg/l de  $DBO_5$  (tabla 28).

Tabla 26. Protozoarios ciliados observados en el RBR y diversos intervalos de tolerancia ambiental, durante la fase experimental a  $10^{\circ}C$ .

PROTOZOARIO CILIADO	INTERVALO DE		
	$DBO_5$	DQO	Oxi. dis.
<u>Colpidium campylum</u>	215	1110	7.46
<u>Colpidium colpidium</u>	215-235	1110-1160	6.77-7.52
<u>Cyclidium glaucoma</u>	215-320	1110-1500	5.18-7.52
<u>Glaucoma scintillans</u>	>235, <320	>1170, <1340	>5.94, <6.56
<u>Paramecium aurelia</u>	>235, <320	>1170, <1340	>5.94, <6.56
<u>Tetrahymena pyriformis</u> oxitrico	>265, >410 -	1340-1620 -	3.70-6.56 -
<u>Epistylis plicatillis</u>	215-410	1110-1860	0.24-7.52
<u>Opercularia coarctata</u>	>215-410	1110-1860	0.24-7.52
<u>Opercularia microdiscum</u>	215, <320	1110-1340	6.56-7.52
<u>Podophrya fixa</u>	>215, <235	1110-1160	6.77-7.52
<u>Vorticella campanula</u> Formas móviles de peritrico	- - >265, <320	- - >1200, <1500	- - <6.81, >5.18

Tabla 27. Protozoarios ciliados registrados en el RBR y diversos intervalos de tolerancia ambiental, durante la fase experimental a 20°C.

PROTOZOARIO CILIADO	INTERVALO		DE
	DBO <sub>5</sub>	DQO	Oxl. dis.
Colpidium campylum	255-535	1470-1760	0.35-2.48
Colpidium colpidium	255-535	1470-1760	0.35-2.48
Cyclidium glaucoma	>95-535	1080-1760	0.35-5.41
Glaucoma scintillans	>95-535	1080-1760	0.35-2.48
Paramecium aurelia	>95-535	1080-1760	0.35-5.41
Tetrahymena pyriformis	95-535	1040-1760	0.35-6.00
Oxitrico	-	-	-
Epistylis plicatillis	>95-535	1080-1760	0.35-5.41
Opercularia coarctata	95-<535	1040-1600	1.36-6.00
Opercularia microdiscum	95-<535	1040-1600	1.36-6.00
Podophrya fixa	>95-<535	1160-1600	1.36-5.70
Vorticella campanula	95-<535	1040-1600	1.36-6.00
Formas móviles			
de peritrico	>95-535	1080-1760	0.35-5.41

Tabla 28. Protozoarios ciliados registrados en el RBR y diversos intervalos de tolerancia ambiental, durante la fase experimental a 30°C.

PROTOZOARIO CILIADO	INTERVALO		DE
	DBO <sub>5</sub>	DQO	Oxl. dis.
Colpidium campylum	>25-<260	340-550	0.67-4.84
Colpidium colpidium	>25-<450	340-810	0.20-4.84
Cyclidium glaucoma	>25-<450	320-810	0.20-5.29
Glaucoma scintillans	115-<450	470-810	0.20-1.86
Paramecium aurelia	>25-<450	270-810	0.20-5.14
Tetrahymena pyriformis	25- 450	270-1130	0.13-5.14
Oxitrico	25	270	5.14
Epistylis plicatillis	25-450	270-1130	0.13-5.14
Opercularia coarctata	25-<450	270-810	0.20-5.14
Opercularia microdiscum	25-115	270-470	1.86-5.14
Podophrya fixa	>115-<260	>470-<680	>0.28-<1.86
Vorticella campanula	115-260	470-680	0.28-1.86
Formas móviles			
de peritrico	>25-<450	320-810	0.20-5.29

De manera general, puede decirse que no existe una especie de protozoario ciliado con características de indicador ideal, de aquí que solamente sea posible encontrar y, por consiguiente utilizar, aquellos que se presenten bajo un intervalo de condiciones de interés particular. Dicho intervalo puede ser fijado arbitrariamente, pero siempre acorde al parámetro del que se pretenda obtener información y, mientras más estrecho sea este intervalo la calidad del indicador será mejor. En la búsqueda y uso de indicadores de calidad de agua debe tenerse en consideración no sólo los antecedentes al respecto, sino las características operacionales del sistema en estudio, ya que existe la posibilidad de que un organismo reportado como buen indicador en un estudio específico, no lo sea bajo condiciones ambientales diferentes. De aquí que sea necesario establecer la correlación "in situ" de parámetros bióticos con abióticos, si se tiene como objetivo el empleo de organismos para evaluar el comportamiento del sistema así como la calidad del líquido a diferentes tiempos de tratamiento.

## 7.-CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos a lo largo del experimento se concluye lo siguiente:

- 1.- El reactor diseñado no funciona globalmente de manera aerobia con influentes de nejayote, cuya concentración sea superior a 2000 mg/l como DQO o 600 mg/l como DBO<sub>5</sub>, tiempo de residencia hidráulico de un día y velocidad rotacional de 30 rpm.
- 2.- Las comunidades mixtas de bacterias y protozoarios presentan mayor consumo de oxígeno disuelto y, consecuentemente, de material orgánico que las comunidades exclusivamente bacterianas, a 20°C con agitación continua y sin limitación de oxígeno.
- 3.- La solución de nejayote presenta una relación DBO<sub>5</sub>/DQO de 0.26 y DBO<sub>10</sub>/DQO de 0.33, cuando se inocula sólo con bacterias. Para la misma secuencia de relaciones, pero empleando inóculo de bacterias y protozoarios, se obtuvieron valores aproximados de 0.30 y 0.40, respectivamente.
- 4.- El pH ácido del líquido alimentado al reactor es neutralizado en la primera cámara, pasando de neutro a neutro-alcalino en su recorrido por las diez cámaras.
- 5.- La concentración de oxígeno disuelto, en el licor mezclado, tiende a aumentar a medida que avanza hacia la parte final del RBR.
- 6.- Existe mayor número de etapas aerobias en el RBR a menor temperatura de operación.
- 7.- La remoción de contaminantes orgánicos disueltos, efectuada por el RBR, aumenta al incrementar la temperatura de operación dentro del intervalo de 10 a 30°C.
- 8.- En las tres temperaturas experimentales, más del 50% de la remoción se llevó a cabo en las primeras cinco cámaras del reactor.
- 9.- Existe aproximadamente el doble de remoción, medida como DQO, a 30°C que a 10 y a 20°C.
- 10.-El RBR remueve mayor porcentaje de material orgánico disuelto medido como DBO<sub>5</sub> que como DQO.
- 11.-Se presentan protozoarios y micrometazoarios durante el proceso depurativo dentro del intervalo de temperatura de 10 a 30°C, siendo más abundantes los primeros.
- 12.-A 10 y 30°C, los protozoarios flagelados constituyeron el grupo de mayor abundancia relativa, mientras que a 20°C lo fueron los protozoarios ciliados.

- 13.-Los nemátodos y rotíferos presentan baja abundancia a 10 y 20°C, en tanto que a 30°C, los nemátodos están prácticamente ausentes y los rotíferos y las amibas, adquieren mayor abundancia que a temperaturas inferiores.
- 14.-Las doce especies de ciliados (Phylum Ciliophora) encontrados durante el régimen permanente del RBR a tres diferentes temperaturas, se ubican en 2 Subphyla, 4 Clases, 5 Subclases, 6 Ordenes, 4 Subórdenes, 10 Familias y 10 Géneros.
- 15.-Diez de las doce especies de ciliados encontrados han sido registrados como habitantes comunes de sistemas de tratamiento biológico de aguas de tipo doméstico.
- 16.-La mayor abundancia de ciliados se presenta en las etapas intermedias de contaminación con materia orgánica disuelta.
- 17.-La comunidad de protozoarios ciliados es más heterogénea o diversa a medida que la temperatura del medio acuoso depurado en el RBR aumenta, dentro del intervalo de 10 a 30°C.
- 18.-La diversidad (H) encontrada en el RBR a diferentes temperaturas se hace más similar a la diversidad máxima (H<sub>máx</sub>) susceptible de encontrarse conforme la temperatura aumenta.
- 19.-La mayoría de las especies de ciliados presentes en las diferentes fases experimentales, presentan amplios intervalos de tolerancia a concentraciones de materia orgánica disuelta medida como DBO<sub>5</sub>.
- 20.-El número de individuos, por especie de protozoario ciliado, varía por efecto de la temperatura, siendo mayor a 20°C que a 10 y a 30 °C.
- 21.-El ciliado más abundante, a 10°C, fue Epistylis plicatillis; a 20°C, Cyclidium glaucoma y a 30°C las formas móviles de peritrico.
- 22.-Se presenta mayor número de formas móviles de peritrico conforme aumenta la temperatura dentro del intervalo de 10 a 30°C.
- 23.-La estructura comunitaria de protozoarios y micrometazoarios permite obtener información cualitativa de la calidad del agua en proceso de tratamiento y, consecuentemente, del comportamiento fisicoquímico del RBR.
- 24.-La mayor riqueza de especies ciliadas, de abundancia similar se presenta en donde el medio acuoso contiene menos contaminantes orgánicos disueltos.
- 25.-Es posible establecer para el RBR, una correlación entre las especies de protozoarios ciliados y la concentración de contaminantes orgánicos biodegradables disueltos.

## Recomendaciones para estudios posteriores

- 1.-Aumentar en las primeras cámaras el área superficial por unidad de volumen, para garantizar mayor transferencia del oxígeno atmosférico a líquido en tratamiento. Esto permitiría no sólo tratar líquidos más contaminados con materia orgánica disuelta, sino disminuir el número de etapas del RBR.
- 2.-Profundizar en la metodología de muestreo y análisis de muestra para reactores biológicos rotatorios.
- 3.-Establecer una técnica más ágil para la cuenta de microorganismos, considerando los inconvenientes que representan tanto la presencia de flóculos en el licor mezclado y la abundancia de protozoarios y metazoarios, como la identificación de especies presentes.
- 4.-Implantar un método adecuado para separar, de la materia orgánica suspendida, tanto a los protozoarios adheridos como a los libres nadadores, con objeto de facilitar su determinación mediante técnicas permanentes como la de protargol.
- 5.-Con base a las abundancias registradas y a su amplia tolerancia a cambios de temperatura, promover las condiciones más adecuadas que favorezcan la proliferación de aquellas especies de protozoarios ciliados que incidan de manera más evidente en la mejora de la calidad del agua tratada.
- 6.-Continuar con los estudios sobre la ecología de microorganismos en RBR<sub>g</sub> (dadas las ventajas que éste ofrece), empleando diferentes substratos.

## Reconocimientos

Agradezco el apoyo económico, en forma de beca, otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México, para la realización de los estudios de la Maestría en Ciencias (Biología), en la Facultad de Ciencias UNAM. La tesis se desarrolló en las instalaciones del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la División de Ingeniería de la Facultad de Química-UNAM, en el marco del proyecto "Estudio para mantener el control de calidad en sistemas de tratamiento biológico empleando microorganismos", a cargo de la Dra. Carmen Durán de Bazúa.

Este proyecto fue financiado por el CONACYT (Clave P122CCOT894272) y por la UNAM (Facultad de Química). El equipo analítico empleado fue donado por el gobierno de la República Federal de Alemania (Proyecto BMFT FP/0402-82-01 (2280) y por el Programa de las Naciones Unidas para el medio Ambiente (UNEP Nairobi, proyecto BCT 252).

Se agradece al I. Q. Vicente Felguéres su continua colaboración. También deseo agradecer el constante apoyo académico, proporcionado por los profesores del Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias. Asimismo se hace patente el reconocimiento por el apoyo técnico y de infraestructura, brindado por las siguientes dependencias de la UNAM: Taller de Electrónica de la Facultad de Química, Centro de Diseño Mecánico e Innovación Tecnológica de la Facultad de Ingeniería y Laboratorio de Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la División de Estudios de Posgrado de la misma Facultad, así como a la Coordinación de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería.

## 8.- BIBLIOGRAFIA

- Alleman, J.; Veil, J. y Canaday, J. 1982. Scanning electron microscope evaluation of rotating biological contactor biofilm. Wat. Res., 16: 543-551
- Alvarez, A. 1986. Diseño y construcción de un reactor biológico rotatorio para tratamiento aerobio de efluentes. Tesis Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. 98 pp.
- Alvarez, A.; Escárcega, C.; Pulido, R. y Durán de Bazúa, C. 1985. Diseño, construcción y puesta en marcha de un reactor biológico rotatorio (RBR) para el tratamiento de aguas residuales. Análisis de su comportamiento durante el arranque y operación. Memorias del VI Encuentro Nacional de la AMIDIQ. Marzo 21 y 22. Universidad de las Américas y UAM-Iztapalapa. México D.F. México. 19 pp.
- Antonie, R. y Van Aacken, K. 1971. Rotating discs fulfill dual wastewater role. Water and Waste Engineering, 8:37-38.
- A.P.H.A. 1981. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 14a. Ed. Washington, EUA. 1134 pp.
- Bick, H. 1963. A Review of Central European Methods for the Biological Estimation of Water Pollution Levels. Bull. Org. Mond. Santé, 29:401-413.
- Bick, H. 1968. Untersuchungen zur Verträglichkeit von Meer- und Brackwasser für Ciliaten des Saprobiensystems der Wassergütebeurteilung. Helgoländer Wiss. Meeresunters, 17:257-268.
- Bick, H. 1971. The potentialities of ciliated protozoa in the biological assessment of water pollution levels. Intl. Symp. Identif. Measurement Environm Pollutants. Ottawa, Ont. Canadá. Pp. 305-309.
- Bick, H. 1972. An ilustrated guide to ciliated protozoa used as "Biological Indicators". En Fresh Water Ecology. Fasc. I-IX, W.H.O. Washington , D. C. EUA.
- Bick, H. 1976a. Ciliaten als Indikatororganismen bei der Gewässeruntersuchung. Vorträge der Tagung über Umweltforschung der Universität Hohenheim, 19:173-179.
- Bick, H. 1976b. Zusammenstellung von autökologischen und saprobiologischen Befunden. Arch. Hydrobiol., 20:338-384
- Cairns, J. Jr. 1967. The use of quality control techniques in the management of aquatic ecosystems. Wat. Resour. Bull., 3(4):47-53.

- Cairns, J. 1969. Rate of species diversity restoration following stress in freshwater. Protozoan communities. The University of Kansas Science Bull., 48(6):209-224.
- Cairns, J. Jr. 1982. Freshwater protozoan communities. Microbial Interactions and Communities, Vol. 1 A. T. Bull and London. Pp. 249-285.
- Cairns, J. Jr., Kuhn, D. L. y Plafkin, J. L. 1979. Protozoan colonization of artificial substrates. Methods and Measurements of perifiton communities: A Review. Weitzel, R. L. Ed. Am. Soc. Testing and Materials. Philadelphia, PN. EUA. Pp. 34-56.
- Cairns, J., Lanza, R. G. y Parker, C. B. 1972. Pollution related structural and functional changes in acuatic communities with emphasis in freshwater algae and protozoa. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 124(5):79-127.
- Characklis W. G. y Cooksey, K. E. 1983. Biofilms and Microbial Fouling. Advances in applied Microbiology, 29:93-138.
- Civit, E., Durán de Bazúa, C., Engelmann, G., González, S. y Hartmann, L. 1984. Anaerobic treatment of maize processing wastewater (Nejayote) in a packed bed reactor cascade. Environ. Technol. Letters, 5(2):89-94.
- Corliss, J.O. 1966. The Ciliated Protozoa. Pergamon Press. Oxford, Inglaterra. 455 pp.
- Corliss, J. O. 1984. The Kingdom Protista and its 45 Phyla. Biosystems, 17:87-126
- Curds, C. R. 1969. An Illustrated Key to the British Freshwater Ciliated Protozoa Commonly Found in Activated Sludge. Water Pollution Research Laboratory. Ministry of Technology, HMSO. Technical paper No. 12, Londres, Inglaterra. 90 pp.
- Curds, C.R. 1975. Protozoa. In Ecological Aspects of Used-Water Treatment. Ed. Curds, C.R. y Howkes, H.A. Academic Press. Inglaterra. Pp. 203-268.
- Curds, C. R. 1977. Microbial Interaction Involving Protozoa. En Aquatic microbiology. Skinner, F. A. y Shewan, J. M. Eds. Soc. Appl. Bact. Symp. Sereies No. 6. Academic Press. Londres, Inglaterra. Pp. 69-105.
- Curds, C. R. 1983. British and other ciliated protozoa. Kermack, D. M. and Barnes, R. S. K. Eds. Synopses of the British Fauna. No. 22 Part. I. Publ. the Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-water Sciences Association. Londres, Inglaterra. 387 pp.

- Curds, C.R.; Cockburn, A. y Vandyke, J.M. 1968. An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated-sludge process, J.W.P.C.F., 67:312-329.
- Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970a. Protozoa in biological sewage treatment process. I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated sludge plants. Water Research., 4:225-236.
- Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970b. Protozoa in biological sewage treatment process. II. Protozoa as indicators in the activated sludge process. Water Research., 4:237-249.
- Curds, C. R., Gates, M. A. y Roberts, D. Mcl. 1983. British and other ciliated protozoa. Kermack, D. M. and Barnes, R. S. K. Eds. Synopses of the British Fauna. No. 23 Part. II. Publ. the Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-water Sciences Association. Londres, Inglaterra. 474 pp.
- Curds, C. R. y Vandyke, J. M. 1966. The feeding habitats and growth rates of some fresh-water ciliates found in activated-sludge plants. J. Appl. Ecol., 3:127-137.
- D. D. F. 1981. Evaluación de daños a la salud por el uso de aguas renovadas. Secretaria de Obras y Servicios. D. G. C. O. H.-D. D. F. Laboratorios ABC. Química, Investigación y Análisis S. A. México D. F. 2(1). Pp. 270-300.
- Duncan, M.D. 1976. Sewage Treatment in Hot Climates. John Wiley and Sons. Pub. Co. Londres, Inglaterra. 168 pp.
- Durán de Bazúa, C. 1977. Proteínas unicelulares (PUC) y su producción a partir de desechos agropecuarios. En Seminarios Académicos de la Unidad de Laboratorios del INIA-SARH. Chapingo, México. 10 pp.
- Durán de Bazúa, C. 1983. Tratamiento de los efluentes de la industria del maíz en México. Tesis doctoral. Universidad de Karlsruhe, R.F.A. Versión en español. Pub. Facultad de Química, UNAM. México D.F. 236 pp.
- Durán de Bazúa, C. 1987. Effluents of the food industry in México. Environmental Impacts on Soils and Water Resources and Possible Solution Using the Biotechnology Approach. Case Problem: The Corn Industry. In Global Bioconversions Vol. III Cap. 4. CRC Press. Inc. Boca Raton, EUA. Pp 75-120.
- Durán de Bazúa, C., Engelmann, G. y Hartmann, L. 1982. Aprovechamiento de efluentes de la industria alimentaria. En Seminario: Ecotecnologías para el desarrollo de México. Inst. Mex. Technol. Aprovechadas e Inst. Ecología. México. Pp. 119-123.

- Durán de Bazúa, C. y Hartmann, L. 1980. Produktion und Verwertbarkeit aus Prozessabwasser der Nixtamalization. Wiss. Abschlussber., 15 Intls. Sem. Juli. Universitaet Karlsruhe. RFA. Pp. 214-232.
- Eckenfelder, W. W. y Ford, D. L. 1970. Water Pollution Control. Experimental procedures for process design. Jenkins Book Pub. Co. NY, EUA. Pp. 45-90.
- Edmonson, W.T. 1959. Fresh Water Biology. 2a. Ed. John Wiley and Sons. Inc. NY, EUA. 1245 pp.
- Equihua, Z. M. y Benitez, B. G. 1987. Dinámica de las poblaciones ecológicas. Trillas. ANUIES. México, D.F. 120 pp.
- Escárcega, C.A. y Pulido, R. 1986. Modelo cinético para un reactor biológico rotatorio usado en el tratamiento aerobio de efluentes. Tesis Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México D.F.
- Famularo, J., Muller, J. y Mulligan, T. 1978. Application of mass transfer to rotating biological contactors. J.W.P.C.F., 50:633-671.
- Fenchel, T. 1987. Ecology of Protozoa. The biology of Free-living Phagotrophic protists. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience. 1a Ed. Wisconsin, EUA. 197 pp.
- Feria, A. M. y Trejo, A. 1979. Reutilización del nejayote. En "Resúmenes de la XIX Convención Nacional del IMIQ". Resumen IV. Nov. 7-10. Guanajuato, Gto., México.
- Fernández-Galiano, D. 1985. Los protozoos y la contaminación de las aguas dulces. III Curso y simposio sobre biología de la contaminación. ENEP-Iztacala, UNAM. México, D.F. Pp. 16-17.
- Fernández, G. 1986. Apuntes de Química Ambiental. Div. Est. Posg. Fac. Ing. UNAM. México, D. F. Pp. 172-174.
- Finaly, B. J. 1977. The dependence of reproductive rate on cell size and temperature in freshwater ciliated protozoa. Oecologia, 30:75-81.
- Fiolitakis, E.; Grobbelaar, J. U.; Hegewald, E. y Soeder, C. J. 1987. Deterministic interpretation of the temperature response of microbial growth. Biotechnol. Bioeng., 30:541-547.
- Friedman, A. A.; Robbins, I. E. y Woods, R. C. 1979. Effect of disk rotational speed on biological contactor efficiency. J.W.P.C.F., 5:2678-2690.

- García-Díaz, G. 1988. Producción de proteína microbiana a partir del tratamiento biológico aerobio de las aguas residuales de un ingenio azucarero. Proyecto terminal. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F. 89 pp.
- Gaviño, T. G., Juárez, L.C. y Figueroa, T. H. 1972. Técnicas selectas de laboratorio y campo. Limusa, México, D. F. 251 pp.
- Gólcz, A. 1984. Novel evaluation of activated sludge process in chemical plant. Eff. Wat. Treat. J., :267-269.
- González, M. S. 1986. Tratamiento de aguas de desecho de la industria del nixtamal. Instituto de Ingeniería, UNAM. México, D. F. 94 pp.
- González, S. y Marmolejo, C. 1986. Tratamiento de aguas de desecho de la industria del nixtamal en un reactor anaerobio empacado. Instituto de Ingeniería. UNAM. México, D. F. 86 pp.
- González, M. S., Pedroza de Brenes, R., Durán de Bazúa, C. y Norouzián, M. 1985. Treatment of wastewater from the alkaline cooking of maize in a RBC-System. En Proc. Speciality Conf., Environm. Eng. Div., ASCE. Ed. J.C. O Shaughnessy, Boston, EUA. Pp. 606-613.
- Hamoda, M. F. y Wilson, F. 1989. Kinetic analysis of rotating biological contactors treating high strength wastes. En prensa. 21 pp.
- Hartmann, L. y Durán de Bazúa, C. 1981. Biological treatment of maize processing effluents (Nejayote) in batch and continuous laboratory tests. En Proc. 2th World Congress of Chemical Engineering. Montreal, Canada.
- Henebery, S. M. y Ridgeway, T. B. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. Trans. Amer. Micros. Soc., 98(4):495-508.
- Hoehen, R. C. y Ray, A. D. 1973. Effects of Thickness on bacterial film. J.W.P.C.F., 45(11):2302-2320.
- Honigberg, B. M., Balamuth, W., Bovee, E. C. Corliss, J. O., Godjics, M., Hall, R. P., Kudo, R. R., Levine, N. D., Loeblich, J. A. R., Weiser, J. y Wenrich, D. H. 1964. A revised classification of the phylum protozoa. J. Protozool., 11:7-20.
- Kahl, A. 1930-1935. Urtiere Order Protozoa. I Wimpertiere order ciliata (Infusoria), eine Bearbeitung der Freilebenden und ectocommensalen Infusorian der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae. En Dahl, F., Die Tierwelt Deutschlands. G. Fisher, Jena. 886 pp.

- Kennedy, K. J., Muzar, M. y Coop, G. H. 1985. Stability and performance of mesophilic anaerobic fixed-film reactors during organic overloading. Biotechnol. Bioeng., 27:86-93 pp.
- Kinner, N. E. 1984. An evaluation of feasibility of using protozoa and metazoa as indicators of RBR effluent quality. Second International Conference on Fixed-Film Biological Process. Arlington, Virginia, EUA. 1:74-122.
- Kinner, N. E. y Curds, C. R. 1987. Development of Protozoan and Metazoan Communities in Rotating Biological Contactor Biofilm. Wat. Res., 21(4):481-490
- Kinner, N. E., Curds, C. R. y Meeker, L. D. 1988. Protozoa and metazoa as indicators of effluent quality in rotating biological contactors. Wat. Sci. Tech. 20(11/12):199-204.
- Klein, B. M. 1958. The Dry Silver Method and Its Proper Use. J. Protozool., 5:99.
- Klemetson, S. L. y Rogers, G. L. 1982. The future of biological fixed-film processes and their application to environmental problems. In First International Conference of Fixed-Film Biological Processes. Kings Island, Ohio, EUA. 1:146-154
- Kornegay, B. H. y Andrews, J. F. 1968. Kinetics of fixed-film biological reactors. J.W.P.C.F., 40(11):460-468.
- Krebs, C. J. 1985. Ecología, 2a. ed. Harla, México, D. F. 753 pp.
- Kudo, R. R. 1969. Protozoología. CECSA. México D.F. 905 pp.
- Landon-Arnold, S. 1984. Correlation of microorganisms to efficiencies associated with a rotating biological contactor subjected to high organic loadings of a fluorinated fire fighting foam. Second International Conference on Fixed-Film Biological Processes. Arlington, Virginia, EUA. 1:48-73.
- Langeron, M. y Locquin, M. 1985. Manual de microscopía. 1a. ed. Labor. Barcelona, España. 373 pp.
- Lee, J. J., Hutner, S. H. y Bovee, E. C. 1985. An illustrated guide to the Protozoa. Society of Protozoologists. Allen Press Inc. EUA. 629 pp.
- Levine, N. D., Corliss, J. O., Cox, F. E. G., Deroux, G., Grain, J., Honlberg, B. M. Leedale, G. F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynns, D., Merinfeld, E. G., Page, E. C., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J. y Wallace, F. G. 1980. A newly revised classification of the protozoa. J. Protozool., 27 (1): 37-58. Traducción al español: Dra. Ma. Antonieta Aladro Lubel. Laboratorio de Protozoología. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F.

- López-Ochoterena, E. 1965. Ciliados mesosapróbicos Chapultepec. Sistemática, Morfología, Ecología. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 26:115-247.
- Luna-Pabello, V. M. 1987. Estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema de tratamiento por medio de "biodiscos". Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 86 pp.
- Luna-Pabello, V. M.; Durán de Bazúa, C.; Mayén-Estrada, R.; Aladro-Lubel, Ma. A.; Olvera-Viascan, V. y Saavedra-Solá, J. 1988. Estudio de los protozoarios ciliados para determinar la calidad depurativa de sistemas rotatorios biológicos para tratamiento de aguas residuales. Universidad y Ciencia, 5(10):109-132.
- Luna-Pabello, V. M.; Mayén-Estarda, R.; Olvera-Viascan, V.; Saavedra, J. y Durán de Bazúa, C. 1990. Ciliated protozoa as indicators of a wastewater treatment system performance. Biol. Wastes, 31(2):81-90.
- Margaleff, R. 1975. Ecología. Ed. Omega. Barcelona, España. 951 pp.
- Margulis, L. y Schwartz, K. V. 1981. Cinco Reinos. Guía ilustrada de los phyla de la vida en la Tierra. Ed. Labor. Barcelona, España. 335 pp.
- Marmolejo, C. 1984. Estudio de los productos del metabolismo anaerobio durante el tratamiento de las aguas de desecho de la industria nixtamalizadora. Tesis Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. 98 pp.
- McKinney, R. E. y Gram, A. 1956. Protozoan and activated sludge. Sewage and Industrial Wastes. 28:1219-1231.
- Montesinos Ma. A. y Durán, C. 1987. Estudio dinámico de un reactor biológico en la producción de proteína microbiana. En prensa. Tecnol. Aliment. (Méx.)
- Moreno, R. G. 1985. Análisis de protozoarios en un sistema de biodiscos empleado en la planta de tratamiento de C. U. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 90 pp.
- Norouzian, M. 1984. La microbiología de procesos de película fija. Inst. Ingeniería. UNAM. México, D. F. 14 pp.
- Norouzian, M. y Deloya, M. M. 1984. Estudio del comportamiento de una unidad de biodiscos estructuralmente modificada. Pub. Inst. Ingeniería. UNAM. México, D. F. Pp. 123-142.
- Norouzian, M. Y. y González-Martínez, S. 1985. A performance evaluation of a full scale rotating biological contactor (RBC) system. Environ. Technol. Letters., 6:79-86.

- Pano, A. y Middlebrooks, J. K. 1982. The kinetics of rotating biological contactors at temperatures of 5°C, 15°C and 20°C. In First International Conference of Fixed-Film Biological Processes. 1:261-305.
- Pedroza, R. 1985. Estudio de la degradación biológica aerobia de los efluentes de la nixtamalización. Tesis de Maestría, Universidad Iberoamericana. México, D. F. 163 pp.
- Pedroza-Islas, R. y Durán de Bazúa, C. 1990. Aerobic treatment of maize processing wastewater in a 50-liter rotating biological reactor. Biol. Wastes, 32(1):17-27.
- Pedroza, R. y Durán, C. 1985. Producción de proteína unicelular de desechos (PUDC) a partir de efluentes de la industrialización del maíz para consumo humano. Tecnol. Aliment. (Méx.), 20(6):3-10.
- Pedroza, R. y Durán, C. 1986. Laboratory performance of a rotating biological contactor (RBC) for nejayote (corn processing wastewater) biological degradation. En "Food Engineering and Process Applications" M. Le Maguer Ed. Elsevier Appl. Sci., Pub. Ltd. Essex, England (London) Vol.2 Cap. 29, Pp. 345-555.
- Pedroza de Brenes, R. y Durán de Bazúa, C. 1987. RBC characteristics for nejayote aerobic treatment. Environ. Technol. Letters, 8:579-588.
- Pitter, P. 1976. Determination of Biological Degradability of Organic Substances. Wat. Res., 10:231-235.
- Poon, C. P. C. y Chao, Y. L. 1979. Factors controlling biological contactor performance. J.W.P.C.F., 51(3):601-611.
- Pratt, J. R. y Cairns, J. Jr. 1985. Functional groups in the protozoa: Roles deffering ecosystems. J. Protozool., 32(3):415-423.
- Reiber, S. y Stensel, D. 1985. Biologically enhanced oxygen transfer in a fixed-film system J.W.P.C.F., 57(2):135-142.
- Rico-Ferrat, G. y López-Ochoterna E. 1976. Aspectos biológicos de los protozoarios de las aguas negras de la zona metropolitana de la Ciudad de México. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 37:221-227.
- Rico-Ferrat, G. y López-Ochoterna E. 1976. Protozoarios ciliados de México. XXIII. Frecuencia de algunas especies que habitan en el drenaje doméstico. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 37:229-232.
- Rittman, B. E., Suozzo, R. y Romero, B. R. 1983. Temperature effects on oxygen transfer to rotating biological contactors. J.W.P.C.F., 55(3):270-277.

- Rivera, F., Bonilla, P., Soriano, S. Reyes, J. L., Lares, F. y Islas, J. 1987. Bacterial analysis of Chromobacterium sp. and Flavobacterium sp. in a waste stabilization pond system. Wat. Air and Soil Pollut. J., :397-406.
- Rivera, F., Castro, F., Moreno, G., Lugo, A., Gallegos, E. y Norouzian, M. 1988. Protozoa of a rotatory biological contactor in a water treatment plant in México. Water, Air and Soil Pollut., 42:281-301 pp.
- Rushbrook, E. L. y Wilke, D. A. 1980. Energy conservation and alternative energy sources in wastewater treatment. J.W.P.C.F., 52(10):2477-2483.
- Saavedra, S. J. 1982. Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de la calidad del agua del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 83 pp.
- Sack, W. A., Cutright, J. A., Neely, R. G., Soccorsi, P. M. y Carroll, T. A. 1986. Operation of air drive rotating biological contactors. J.W.P.C.F., 58(11):1050-1056.
- Särner, E. 1986. Removal of particulate and dissolved organics in aerobic fixed-film biological processes. J.W.P.C.F., 58(2):165-172.
- Shariff, N. y Hassan, R. S. 1984. Engineering and nutritional parameters affecting biofilm development. Effluent Wat. Treat., 25:423-425.
- Sládeček, V. 1973. System of water quality from the biological points of view. Arch. Hydrobiol., 7:1-218.
- Sládeček, V. 1976. Relation of saprobic to trophic levels. Verb. Internat Verein. Limnol., 20:1885-1889.
- Sládeček, V. 1977. Zum Verhältnis Saprobität: Trophie. Arch. Hydrobiol. Belth., 2:79-93.
- Sládeček, V. 1979. Continental system for the assessment of river water quality. En Biological indicators of water quality. John Wiley and Sons. Great Britain, Cap. 3 Pp. 541-547.
- Sládeček, V. 1985. System of water quality. III Curso y Simposio sobre Biología de la Contaminación. ENEP-Iztacala, UNAM. México, D. F. Pp. 50-54.
- Sládeček, V. 1985. Scale of Saprobity. Verb. Internat Verein. Limnol., 22:2337-2341.
- Starkey, J. E. y Karr, P. R. 1984. Effect of low dissolved oxygen concentration on effluent turbidity. J.W.P.C.F., 56(7):837-843.

- Trulear, M. G. y Characklis, W. G. 1982. Dynamics of biofilm processes. J.W.P.C.F., 54(9):1288-1301.
- Vavilin, V. A. 1982. The effect of temperature, in let pollutant concentration, and microorganism concentration, on rate of aerobic biological treatment. Biotechnol. Bioeng., 24:2609-2625 pp.
- Wagtendonk, V. W. 1974. Paramecium. A Current Survey. Elsevier Scientific Publishing Company. Netherlands, Amsterdam. Pp. 31-38.
- Wang, K., Wang, M. H. y Poon, C. P. C. 1984. Rotating Biological Contactors. Eff. Wat. Treat. J., 24:93-97.
- Wiggins, B. A. y Alexander, M. 1988. Role of protozoa in microbial acclimation for mineralization of organic chemicals in sewage. Can. J. Microbiol., 34:661-666.
- Wilkinson, S. F. 1976. Introducción a la microbiología. H. Blume Eds. España. 161 pp.
- Winkler, M. A. 1986. Tratamiento biológico de aguas de desecho. 1a. ed. Limusa, México, D. F. 338 pp.
- Yuhei, I.; Yuko, K.; Ryuichi, S. y Minako, K., 1989. Role of Ciliated Protozoa in Control of the Growth of Filamentous Microorganisms. Water Sci. Technol., 21(12):1887-1890.

9. - A N E X O "A"

PARAMETROS FISICOQUIMICOS

## 9.1.- PRUEBA QUIMICA:

### Demanda química de oxígeno (DQO).

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

#### Fundamento:

El método se basa en una oxidación enérgica de la materia orgánica e inorgánica oxidable, que se encuentra en el agua en un medio fuertemente ácido, con una solución valorada de dicromato de potasio. El exceso de agente oxidante después de un período de reflujo a 150°C durante 2 horas, se determina con una solución valorada de sulfato ferroso amoniacal, en presencia de un complejo ferroso de ortofenantrolina (ferroin indicador) como indicador interno. El valor obtenido se introduce a una ecuación, cuyo desarrollo da como resultado la concentración (mg/l) de materia oxidable químicamente.

#### Interferencias:

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

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

Nota: mediante esta prueba no es posible conocer el tipo de compuestos orgánicos presentes, ni diferenciar entre material biodegradable y sustancias tóxicas, por lo cual sólo constituye un análisis para la determinación de carbono orgánico total.

#### Reactivos:

- Solución acuosa de dicromato de potasio 0.25 N
- Sulfato de plata (cristales)
- Solución de sulfato de plata en ácido sulfúrico. Esta se prepara disolviendo 22 g de sulfato de plata en 4 kg de ácido sulfúrico. La solución debe protegerse de la luz.
- Acido sulfúrico concentrado
- Solución indicadora de ferroin
- Solución de sulfato ferroso amoniacal para valoración en una concentración aproximada de 0.05 N
- Sulfato mercurico

#### Equipo:

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

De manera complementaria a lo que es propiamente el equipo para la prueba de DQO, está un recipiente de PVC que contiene agua para el enfriamiento de los vasos de reacción después de haber puesto las muestras a reflujo (Fig. 4).

#### Procedimiento:

##### Tratamiento de la muestra

- 1.- Centrifugar las muestras por analizar (3,600 rpm a 5°C durante 15 minutos).
- 2.- Poner en el recipiente de reflujo:
  - 10 ml de muestra diluida (con agua destilada) en proporciones 1:50 para muestras concentradas y 5:50 para aquellas provenientes del sistema de tratamiento. En la preparación del blanco (testigo) se utilizaban 10 ml de agua destilada como muestra.
  - 0.2 g de sulfato mercurico
  - 5 ml de dicromato de potasio 0.25 N
- 3.- Colocar el refrigerante y añadir lentamente 15 ml de solución de plata en ácido sulfúrico concentrado.

##### Reflujo:

- 4.- Colocar los matraces de reacción en la parrilla eléctrica, manteniendolos en reflujo, a 150°C, durante dos horas.

##### Valoración de la muestra:

Al acabarse el reflujo, una parte del dicromato ya ha reaccionado con la materia orgánica. El dicromato restante se valora de la siguiente manera:

- Agregar al recipiente de reflujo 40 ml de agua destilada y dos gotas de ferroin indicador, homogeneizar.
- Titular con sulfato ferroso amoniacal 0.05 N. El punto final de la valoración (titulación) es el cambio de coloración de azul verdoso a pardo rojizo.

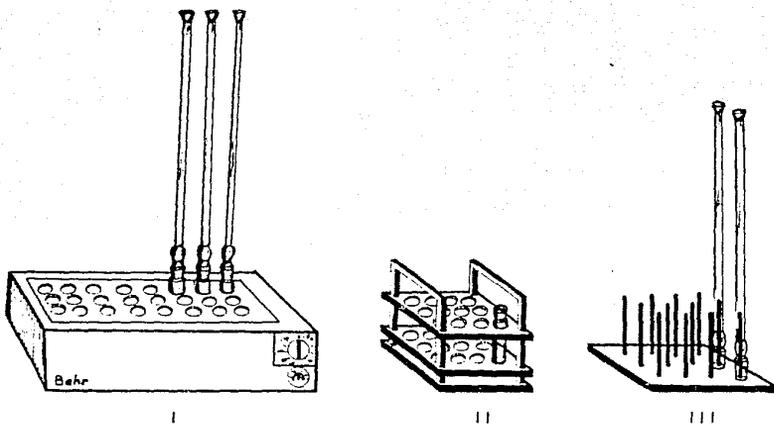


Fig. 4 Equipo Behr de 24 unidades para determinación de DQO.

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

### Obtención de resultados:

La fórmula empleada es la siguiente:

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

Donde: a = Volumen de sulfato ferroso amoniacal gastado para valorar el blanco (testigo).

b = Volumen de sulfato ferroso amoniacal gastado para valorar la muestra.

N = Normalidad del sulfato ferroso amoniacal.

f = Fracción volumétrica decimal de la muestra inicial en la solución de la cual se tomó la alícuota de 120 ml para la determinación.

### Normalidad del sulfato ferroso amoniacal (SFA)

En un matraz se colocan:

- 10 ml de dicromato de potasio 0.05 N
- 40 ml de agua destilada
- 10 ml de ácido sulfúrico concentrado (enfriando constantemente)

Después de enfriar se le agregan 2 gotas de ferroín indicador y se agita.

### Valoración:

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

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

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

$$N = \frac{0.5}{\text{SFA ml SFA empleados}}$$

10.- A N E X O "B"

PARAMETROS BIOLOGICOS

## 10.1.- PRUEBA BIOQUIMICA

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

#### **Fundamento:**

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

#### **Interferencias:**

Interfieren con la determinación de DBO, la acidez o alcalinidad presentes en las aguas, el cloro residual, una sobresaturación de oxígeno disuelto, la presencia de substancias tóxicas para los microorganismos y los procesos de nitrificación.

Estas interferencias pueden removerse si se le da un pretratamiento adecuado a la muestra.

**Nota:** La extrapolación de los resultados de DBO<sub>5</sub> a cuerpos de agua es altamente cuestionable debido a que el ambiente de laboratorio no reproduce las condiciones naturales tales como temperatura, luz solar, poblaciones biológicas, movimiento del agua y concentración de oxígeno.

No deben compararse resultados de DBO<sub>5</sub> obtenidos bajo circunstancias y procedimientos diferentes.

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

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

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

El Sapromat tipo B-6 (6 unidades), consiste de un graficador directo de curvas de consumo de oxígeno disuelto (I), una unidad de enfriamiento (II) y un baño de agua con temperatura controlada (III), el cual contiene 6 unidades de medición (Fig. 5).

Cada unidad de medición (Fig. 6) está formada por un vaso de reacción (C), con un captador de  $\text{CO}_2$  (3) montado en el tapón, un generador de oxígeno (B), y un indicador de presión (A), interconectados con mangueras. El vaso del sistema de medición está sellado, así que las fluctuaciones de la presión del aire (barométricas) no afectan los resultados.

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

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

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

#### Obtención de resultados:

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

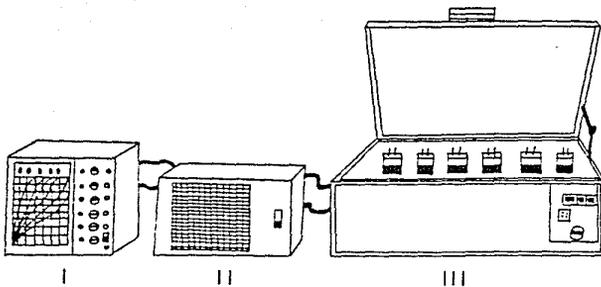


Fig. 5 Voith — Sapromat B6

I Graficador de curvas

II Unidad de enfriamiento

III Baño de agua con temperatura controlada

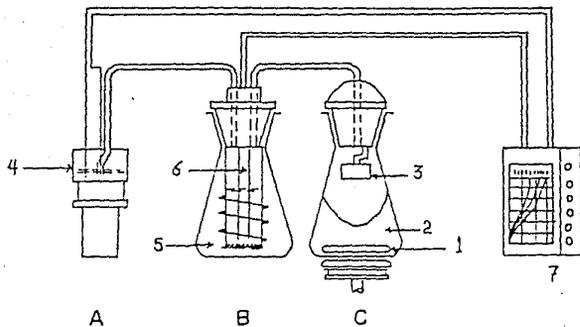


Fig. 6 Diagrama de una unidad de medición

- A. Indicador de presión
- B. Generador de oxígeno
- C. Vaso de reacción
- 1. barra magnética
- 2. muestra (250)ml.)
- 3. captador de CO<sub>2</sub>
- 4. indicador de presión
- 5. electrolito
- 6. electrodos
- 7. registro (graficador)

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

$$\begin{array}{l} \text{Cálculo del factor} \\ \text{de dilución (f) :} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{VT} \\ f = \frac{\text{---}}{\text{X}} \end{array} \quad \begin{array}{c} 250 \\ f = \frac{\text{---}}{50} = 5 \end{array}$$

Donde:

VT= volumen total (ml)  
X= volumen de muestra no diluido (ml)

#### Procedimiento:

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

## 10.2.- TECNICA PARA CUENTA DE MICROORGANISMOS

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

### Procedimiento:

- 1.- Tomar una volumen conocido de muestra homogénea.
- 2.- Colocarla en la parte central del portaobjetos.
- 3.- Colocar un cubreobjetos de 22 X 22 mm, cuidando de no crear burbujas.
- 4.- Contar los organismos en tres o cuatro franjas.

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

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

Donde:

- C = Número de organismos contados.  
TA = Area del cubreobjetos en mm<sup>2</sup>.  
A = Area de una franja en mm<sup>2</sup>.  
S = Número de franjas contadas.  
V = Volumen de la muestra debajo del cubreobjetos.

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

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

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

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

Donde:

C = Número de organismos de interés contados en 0.1 ml.

F = Factor de conversión a ml, en este caso vale 10, dado que:

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

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

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

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

### 10.3.- PREPARACIONES PERMANENTES

#### 10.3.1.- Técnica de Klein

La técnica de Klein no utiliza ningún fijador, sino simplemente se deja secar, lo cual puede ocasionar que los organismos sufran una ligera deformación. Sin embargo, es una técnica que resalta las estructuras argentófilas, tales como los cinetosomas, las cinetias, los poros de las vacuolas contráctiles, el citostoma y el citoprocto.

#### Procedimiento:

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

#### 10.3.2.- Técnica de protargol

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

Procedimiento:

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

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

### Técnicas de adhesión

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

#### Adhesivo de Haupt

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

#### Procedimiento:

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

#### Adhesión de Curds-Gates-Roberts

#### Procedimiento:

- 1.- En un recipiente pequeño, fijar los ciliados por 5 a 10 minutos con Bouin (75 ml de solución saturada de ácido picrico, 25 ml de formol, 5 ml de ácido acético glacial). No se debe mantener a los ciliados con este fijador por periodos largos.
- 2.- Deshidratar en alcohol isopropílico de 70% y absoluto. No es necesario remover todo el fijador durante este procedimiento. Centrifugar a baja revolución (100 - 200 rpm).

- 3.- Esparcir sobre el cubreobjetos una mezcla de albumina : glicerina (2:1) y secar en una placa caliente (45-50°C) hasta que este pegajosa. Añadir una gota del cultivo y dejarlo en la placa por 1 a 2 minutos para que se evapore el alcohol y la glicerina. La albumina o clara de huevo debe ser fresca.
- 4.- Cubrir con alcohol/formol (proporción 1:1) y dejarlo de 5 a 30 minutos para que se asiente la albumina. El formol es de tipo comercial (40%) y el alcohol es etílico absoluto.
- 5.- Trasladar el cubreobjetos en la siguiente secuencia de alcoholes: isopropílico 95%, etílico absoluto (2 veces) y metílico absoluto, durante 5 minutos en cada uno, para deshidratar a los organismos.
- 6.- Sumergir en alcohol metílico absoluto con parlodión al 0.5%, hasta que tenga apariencia lechosa.
- 7.- Trasladar a la siguiente secuencia de alcoholes: Isopropílico 70%, 50%, y 30 %, durante 5 minutos cada uno, para hidratar los organismos.
- 8.- Lavar rápidamente tres veces en agua destilada. Una inmersión más prolongada en el agua tiende a desprender la albúmina.
- 9.- Aplicar la técnica de tinción supravital seleccionada.

### 10.3.3.- Ubicación taxonómica de los protozoarios ciliados encontrados en el RBR

La siguiente ubicación taxonómica de los ciliados es de acuerdo con el esquema propuesto por Small y Lynn, en Lee et al, 1985.

Phylum	CILIOPHORA Doflein, 1901.
Subphylum	POSTCILIODESMATOPHORA Gerassimova y Seravin, 1976.
Clase	SPIROTRICHEA Bütschli, 1889.
Subclase	STICHOTRICHIA n. subclase.
Orden	STICHOTRICHIDA Fauré-Fremiet, 1961.
Suborden	SPORADOTRICHINA Fauré-Fremiet, 1961.
Familia	OXYTRICHIDAE Ehrenberg, 1838.
Subphylum	CYRTOPHORA Small, 1976.

Clase PHYLLOPHARINGEA de Puytorac et al., 1974.  
Subclase SUCTORIA Claparède y Lachmann, 1858.  
Orden EXOGENIDA Collin, 1912.  
Familia PODOPHRYIDAE Haeckel, 1866.  
Podophrya fixa (Quennerstedt, 1867)

Clase NASSOPHOREA Small y Lynn, 1981.  
Subclase NASSOPHORIA Small y Lynn, 1981.  
Orden PENICULIDA Fauré-Fremiet en Corliss, 1956.  
Suborden PARAMECIINA Jankowski, n. suborden.  
Familia PARAMECIIDAE Dujardin, 1840.  
Paramecium aurelia Ehrenberg, 1831.

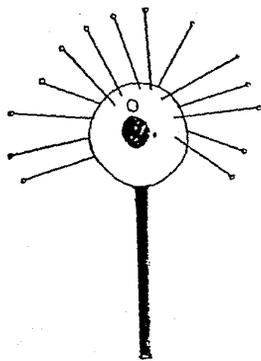
Clase OLIGOHYMENOPHOREA de Puytorac et al., 1974.  
Subclase HYMENOSTOMATIA Delage y Hérouard, 1896.  
Orden HYMENOSTOMATIDA Delage y Hérouard, 1896.  
Suborden TETRAHYMENINA Fauré-Fremiet en Corliss, 1956.  
Familia GLAUCOMIDAE Corliss, 1971.  
Glaucoma scintillans Ehrenberg, 1831.

Familia TETRAHYMENIDAE Corliss, 1952.  
Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg, 1831).

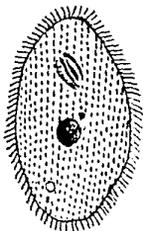
Familia TURANIELLIDAE Didier, 1971.  
Colpidium campylum (Stokes, 1886).  
Colpidium colpidium (Schewiakoff, 1889).

Orden SCUTICOCILIATIDA Small, 1967.  
Suborden PLEURONEMATINA Fauré-Fremiet en Corliss, 1956.  
Familia CYCLIDIIDAE Ehrenberg, 1838.  
Cyclidium glaucoma O. F. Müller, 1786.

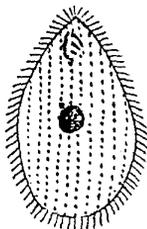
Subclase PERITRICHIA Stein, 1859.  
Orden SESSILIDA Kahl, 1933.  
Familia EPISTYLIDIDAE Khal, 1933.  
Epistylis plicatillis (Ehrenberg, 1838).  
Familia OPERCULARIIDAE Fauré-Fremiet en Corliss, 1979.  
Opercularia coarctata Claparède y Lachmann, 1858.  
Opercularia microdiscum (Fauré-Fremiet, 1961).  
Familia VORTICELLIDAE Ehrenberg, 1838.  
Vorticella campanula Ehrenberg, 1831.



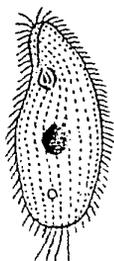
1



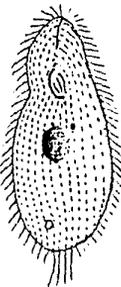
2



3



4



5

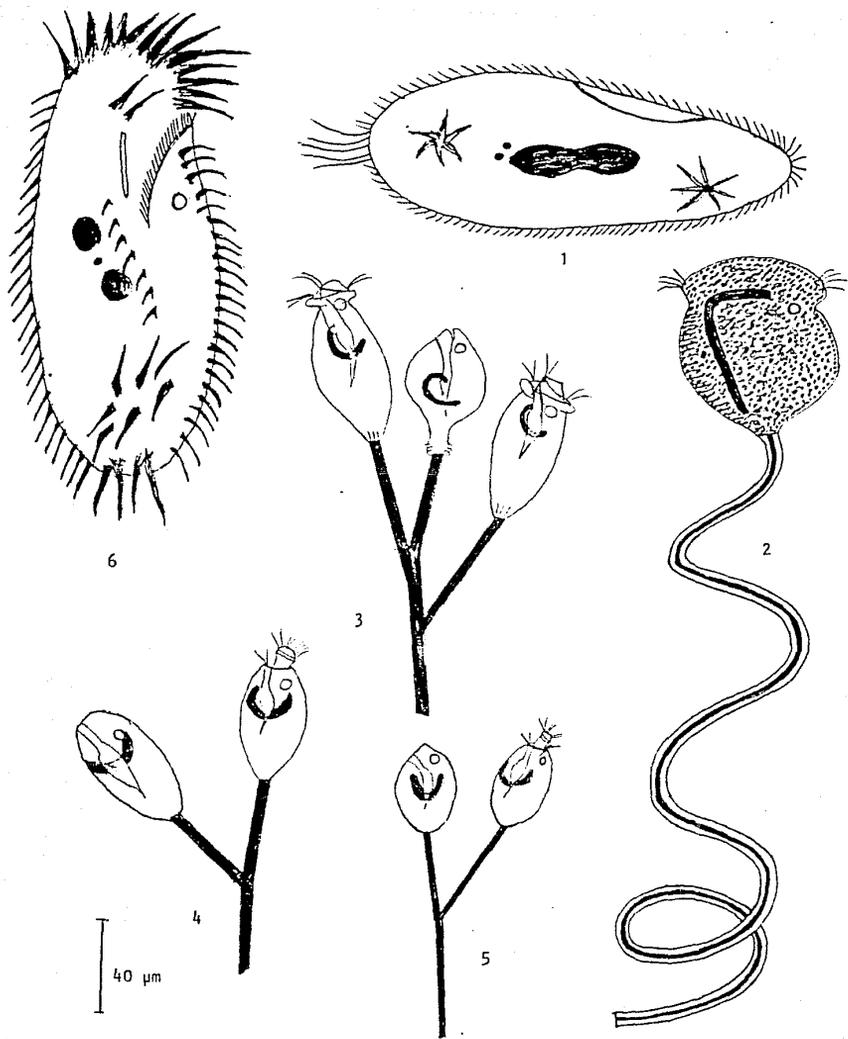


6

10  $\mu$ m

L A M I N A 1.

Fig. 1 Podophrya fixa (Quennerstedt). Long. 20-38  $\mu$ m. Fig. 2 Glaucome scintillans Ehrenberg. Long. 40-55  $\mu$ m. Fig. 3 Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg). Long. 35-50  $\mu$ m. Fig. 4 Colpidium campylum (Stokes). Long. 45-50  $\mu$ m. Fig. 5 C. colpidium (Sche wiakoff). Long. 50-60  $\mu$ m. Fig. 6 Cyclidium glaucome O. F. Müller. Long. 20-30  $\mu$ m.



L A M I N A 2.

Fig. 1 *Paramecium aurelia* (Ehrenberg). Long. 150-170  $\mu$ m. Fig. 2 *Vorticella campanula* Ehrenberg. Long. z. 50-160  $\mu$ m, long. t. 250-300  $\mu$ m. Fig. 3 *Epistylis plicatilis* (Ehrenberg). Long. z. 70-100  $\mu$ m, long. t. 90-100  $\mu$ m. Fig. 4 *Opercularia coarctata* Claparède y Lachmann. Long. z. 60-75  $\mu$ m, long. t. 60-70  $\mu$ m. Fig. 5 *Q. microdiscum* (Fauré-Fremiet). Long. z. 50-60  $\mu$ m, long. t. 60-70  $\mu$ m. Fig. 6 Oxitric. Long. 180-200  $\mu$ m. z. = zooide; t. = tallo o rama.