



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

216
24

**“CUANTIFICACION DE
COMUNIDADES MICROBIANAS A
LO LARGO DE UN REACTOR
BIOLOGICO ROTATORIO
OPERADO A TRES DIFERENTES
TEMPERATURAS”**

*Tesis que para obtener el Título de Bióloga
Presenta*

ARTEMISA TORREBLANCA NAVARRO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO, D.F.
1992



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



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.

INDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCION.....	2
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	3
2.1.1. METABOLISMO MICROBIANO EN LOS SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	4
2.1.2. CRECIMIENTO MICROBIANO EN LOS SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	4
a) SISTEMAS DE TRATAMIENTO CON MICROORGANISMOS EN SUSPENSION.....	4
b) SISTEMAS DE TRATAMIENTO CON MICROORGANISMOS ADHERIDOS A UN SOPORTE.....	5
2.2. REACTOR BIOLÓGICO ROTATORIO (RBR).....	7
2.2.1. ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE UN RBR.....	7
2.2.2. PRINCIPALES VARIABLES QUE AFECTAN EL PROCESO.....	8
2.3. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE LOS SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	9
2.3.1. PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	13
a) BACTERIAS PRESENTES EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	13
b) PROTOZOARIOS PRESENTES EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	14
c) MICROMETAZOARIOS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	16
3. OBJETIVOS.....	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
4.1. ESTABLECIMIENTO DEL RÉGIMEN PERMANENTE.....	21
4.2. FASE EXPERIMENTAL EN EL RBR-20.....	21
4.2.1. REGISTROS FÍSICOQUÍMICOS.....	22
4.2.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA.....	22
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24

5.1.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS.....	24
	a) TEMPERATURA.....	24
	b) pH.....	27
	c) OXIGENO DISUELTO.....	27
	d) DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO Y DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO.....	32
	e) SOLIDOS.....	32
5.2.	ANALISIS MICROBIOLOGICO.....	43
	a) BACTERIAS.....	43
	b) PROTOZOARIOS Y MICROMETAZOARIOS.....	49
6.	CONCLUSIONES.....	58
	BIBLIOGRAFIA.....	59
	APENDICE.....	63

RESUMEN

Mediante la utilización de un sistema de tratamiento de aguas residuales conocido como reactor biológico rotatorio se hizo un estudio de la abundancia y distribución de los microorganismos presentes en el licor mezclado de las aguas de desecho de una industria de proceso. El sistema empleado posee la capacidad de tratar un total de 20 litros. El tiempo de residencia del líquido en el RBR fue 24 hrs. El líquido tratado tiene una concentración de materia orgánica de 2000 mg DQO/L. La rotación de los discos se mantuvo constante en 30 rpm.

El estudio se realizó a tres temperaturas experimentales, 10, 20 y 30° C. En cada una de ellas se hizo una cuantificación de bacterias mesófilas aerobias, protozoarios y micrometazoarios en muestras de licor mezclado para cada una de las diez cámaras del reactor.

La distribución y abundancia de los microorganismos se analizó en función de parámetros fisicoquímicos tales como sólidos, temperatura, pH, oxígeno disuelto, demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno. Los resultados muestran que la temperatura fue un factor muy importante a lo largo del proceso de depuración del agua residual. En las diferentes temperaturas se presentan los mismos grupos de microorganismos aunque sus abundancias varían.

Las bacterias y los micrometazoarios incrementan sus números a medida que la temperatura aumenta. Los protozoarios presentan su mayor abundancia a 20° C.

Con respecto a la distribución de los microorganismos, las bacterias y los protozoarios están presentes en todas las cámaras del reactor mientras que la distribución de los micrometazoarios se hace más evidente a partir de las cámaras intermedias del mismo.

1. INTRODUCCION

En México, el aprovechamiento de todos sus recursos debe optimizarse, ya sea que estos recursos se encuentren en forma de materia prima de la que se parte para la obtención de un producto, o si estos recursos son un subproducto o desecho de un proceso, como es el caso de las aguas residuales de la industria de proceso que contengan material biodegradable. Tomando en cuenta que los volúmenes desechados durante esos procesos son grandes y que al ser arrojados a los cuerpos de agua naturales o al suelo ocasionan problemas de contaminación, es necesario darles un tratamiento previo antes de su descarga.

Uno de los sistemas de tratamiento de aguas residuales carbonosas que ha probado ser exitoso es el reactor biológico rotatorio (Alvarez *et al.*, 1985; Escárcega y Pulido, 1986; Pedroza, 1985; Luna-Pabello, 1987, 1990), el cual permite la transformación del material orgánico disuelto contaminante, a partir del metabolismo microbiano, a biomasa microbiana que puede separarse por métodos físicos simples. La remoción de materia orgánica redundará en una menor contaminación por parte del efluente. Además, si se toma en cuenta que la biomasa microbiana generada en el proceso depurativo puede ser empleada como complemento nutritivo en dietas de animales debido a su alto contenido proteínico y que el agua tratada puede ser recirculada al mismo proceso, los costos de operación del proceso que genere estas aguas contaminadas pueden abatirse (García, 1988; Valderrama, 1989; Castro y Villegas, 1989).

El presente estudio es parte de una serie de trabajos realizados con el apoyo de CONACYT (Proyectos PCCBBNA-020395 y P122CCOT894272), de instancias internacionales (UNEP y gobierno de la RFA) y nacionales (industrias de proceso). El trabajo versa específicamente sobre el estudio de las comunidades microbianas que proliferan a lo largo de un reactor biológico rotatorio y su relación con parámetros fisicoquímicos que determinan la calidad del agua tratada, ya que las plantas de tratamiento municipales y privadas requieren de sistemas monitorios y de control. Si se encontrara una correlación entre las comunidades microbianas y la calidad del agua a lo largo de estos sistemas de tratamiento se reducirían los costos por concepto de análisis químicos y el uso de reactivos que, a la larga, contaminan el ambiente.

2.- ANTECEDENTES

2.1. Sistemas de tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales es un conjunto de operaciones unitarias por medio de las cuales se logra la depuración de un efluente líquido.

El esquema general de las plantas de tratamiento que depuran aguas residuales biodegradables es el siguiente:

AGUA CONTAMINADA -----> PRETRATAMIENTO-----> TRATAMIENTO
PRIMARIO
(Químico/Físico)

AGUA TRATADA <---- TRATAMIENTO TERCARIO <--- TRATAMIENTO
(Químico/Físico) SECUNDARIO
(Biológico)

La atención del presente trabajo se centra en el tratamiento secundario o biológico, debido a que se tiene interés en continuar con una línea de trabajos cuya finalidad es el estudio del tratamiento de las aguas residuales de la industria de proceso desde el punto de vista biológico. Antes de hablar de los sistemas biológicos de tratamiento conviene definir brevemente una serie de términos que se emplean en la descripción de tales sistemas.

2.1.1. Metabolismo microbiano en los sistemas de tratamiento de aguas residuales

Procesos aerobios

Son aquellos procesos en los que intervienen microorganismos que requieren para su metabolismo de oxígeno molecular disuelto. A los organismos que sólo pueden crecer en presencia de oxígeno se les llama aerobios obligados.

Procesos anaerobios

Son aquellos procesos en los que intervienen microorganismos que para su subsistencia no requieren de oxígeno molecular disuelto. A los organismos que sólo pueden crecer sin oxígeno se les llama anaerobios obligados.

Procesos facultativos

En estos procesos intervienen microorganismos que pueden cambiar su metabolismo, de manera que son capaces de crecer esté presente o no el oxígeno, a tales microorganismos se les llama aerobios facultativos o, con la misma exactitud, anaerobios facultativos.

2.1.2. Crecimiento microbiano en los sistemas de tratamiento de aguas residuales

Los procesos anteriormente mencionados pueden a su vez implantarse en dos tipos de sistemas: sistemas de tratamiento con microorganismos en suspensión y sistemas de tratamiento con microorganismos adheridos a un soporte.

a) Sistemas de tratamiento con microorganismos en suspensión

Los sistemas de crecimiento con microorganismos en suspensión son aquellos en los que los microorganismos responsables de la depuración del agua se encuentran flotando en pequeños grumos. De esta manera presentan la mayor área de contacto con el agua a tratar. Ejemplos de este tipo de sistemas son los procesos de lodos activados y las lagunas de aeración (Escárcega y Pulido, 1986).

b) Sistemas de tratamiento con microorganismos adheridos a un soporte.

En estos sistemas los microorganismos responsables de la conversión de materia orgánica soluble en materia insoluble están adheridos, formando una película, a un soporte inerte. La película está constituida principalmente por bacterias, las cuales por ser partículas cargadas se adsorben y fijan en el medio húmedo de soporte. Estos microorganismos se multiplican por varias generaciones y forman así una capa compacta. El material orgánico y el oxígeno disuelto pasan a la biopelícula por medio de difusión. Sin embargo cuando el grosor excede ciertos límites, el oxígeno que se difunde en la película es consumido antes de que penetre en su totalidad e igual sucede con la materia orgánica, la cual sólo es metabolizada por las capas más externas porque tampoco alcanza a difundirse. El intervalo de espesor de una biopelícula activa no está definido con exactitud, pero Sanders (en Escárcega y Pulido, 1986) lo calcula entre 21 y 150 micrómetros (S.I. de unidades) y considera al espesor función de los sustratos limitantes. Cuando el oxígeno y la materia orgánica no pueden difundirse completamente dentro de la biopelícula los microorganismos que están en contacto con el soporte inerte pierden su capacidad de adsorción. Consecuentemente, las capas más profundas se deterioran o mueren produciéndose así el desprendimiento de la película. Además por anaerobiosis pueden formarse metabolitos gaseosos de desecho, que de igual manera contribuyen al desprendimiento de la biopelícula. Un esquema de la película biológica puede observarse en la figura 1.

Entre los sistemas de tratamiento de película fija se encuentran los filtros percoladores y los reactores biológicos rotatorios. Estos últimos son de gran interés por las ventajas que ofrecen, entre las cuales están su bajo costo de operación y mantenimiento además de un bajo requerimiento de energía (Norouzian, 1984). A continuación y, dado que este último fue el sistema utilizado en este trabajo, se hará una descripción más amplia de su operación.

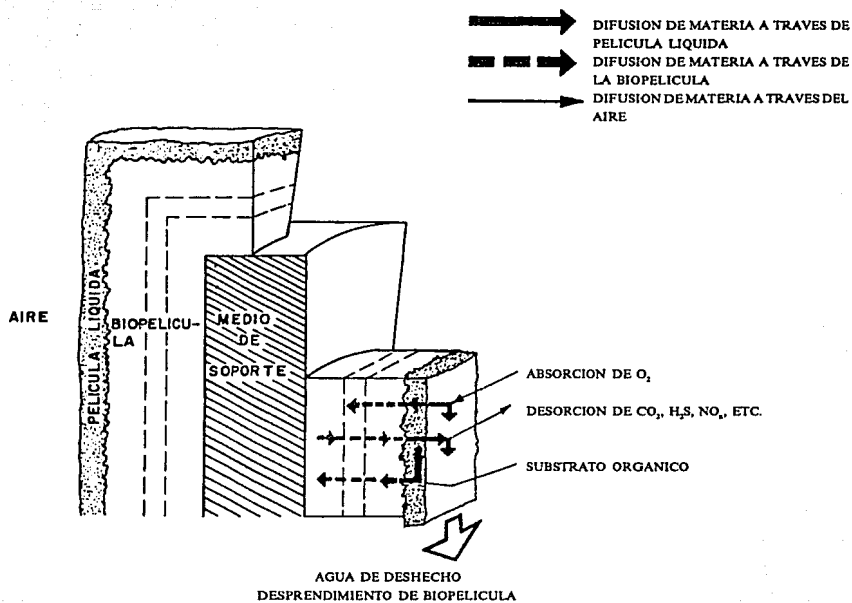


Fig.1. Esquema de una película biológica activa fija.
(Escárcega y Pulido, 1986)

2.2. Reactor biológico rotatorio (RBR)

2.2.1 Estructura y funcionamiento de un RBR

Un reactor biológico rotatorio está constituido por un conjunto de cámaras que pueden ser construidas con materiales tales como fibra de vidrio, concreto o acero y contienen un tren de discos cuya área superficial se encuentra sumergida generalmente un 40%. Todos los discos están ensamblados en una flecha. En algunos modelos a cada cámara se le asocia un motor; en otros hay un motor único que permite que la totalidad del tren gire al mismo tiempo. De manera complementaria a lo que es en sí el reactor se tiene un tanque de alimentación que lo abastece del líquido por tratar mediante una bomba peristáltica que además regula la cantidad de agua residual que es introducida a dicho sistema. Un sedimentador secundario sirve como sitio donde el agua tratada es separada de la biomasa. La biomasa sedimentada se recolecta en el fondo del sedimentador y el líquido sobrenadante tratado sale por la parte superior. El equipo usado en este trabajo se describe en el capítulo de materiales y métodos.

Una vez iniciado el arranque del RBR los microorganismos que se encuentran en el agua en tratamiento, por ser partículas cargadas, comienzan a adherirse al soporte, la carga eléctrica es un factor de selección secundaria muy importante ya que los microorganismos incapaces de adherirse al soporte son lavados del sistema (Pretorius, 1987). Cuando la totalidad de la superficie de los discos está cubierta por microorganismos, éstos empiezan a reproducirse rápidamente, aumentando con ello el grosor de la película.

La rotación de los discos propicia que la película se encuentre constantemente en contacto con el aire y con el líquido contenido en cada compartimiento, el oxígeno del aire y la materia orgánica se difunden al interior de la película como se explicó anteriormente. El exceso de biomasa de la película es removido por el proceso mismo de rotación de los discos al entrar al agua. Esta biomasa pasa a formar parte del licor mezclado y de esta manera se mantiene una cantidad de microorganismos relativamente constante sobre los discos.

2.2.2 Principales variables que afectan el proceso

Según Escárcega y Pulido (1986), las principales variables que afectan el proceso son la velocidad rotacional de los discos, la carga orgánica, el número de etapas del reactor y la temperatura.

a) Velocidad rotacional

La velocidad rotacional de los discos es un factor importante debido a que un incremento en las revoluciones por minuto al sistema provoca también un aumento en la transferencia de oxígeno al sistema, así como un desprendimiento mayor de la biopelícula. La velocidad rotacional depende de el tamaño y capacidad del reactor. Para equipos de tamaño industrial se recomienda de 2-3 rpm.

b) Carga orgánica

La carga orgánica puede ser tomada como un parámetro para el diseño de un reactor biológico rotatorio. Es recomendable tener por etapa la máxima carga orgánica por unidad de área que soporte el sistema, para obtener una mayor eficiencia en el proceso (Escárcega y Pulido, 1986).

Existen dos clases de cargas que se aplican a las unidades de tratamiento biológico: 1) Cargas hidráulicas, que gobiernan a los requerimientos hidráulicos y 2) cargas de proceso, en la forma de materia orgánica degradable o de nutrientes contenidas en el agua residual aplicada (Fair *et al.*, 1979).

c) Número de etapas

Basándose en un trabajo de Antonie (1976) y en experimentos afines Alvarez *et al.*, 1985; González *et al.*, 1985, Escárcega y Pulido, 1986 deducen que más de cuatro etapas en un reactor biológico rotatorio no mejoran notablemente el tratamiento de un efluente de tipo carbonoso, como lo es el nejayote.

d) Temperatura

Antonie y Van Aacken, 1971 (en Escárcega y Pulido, 1986) registran que entre 13° y 29° C no hay efectos apreciables de la temperatura en el tratamiento de aguas residuales, pero a temperaturas menores de 13° C la eficiencia de remoción desciende considerablemente, porque, la actividad metabólica de los organismos se reduce a bajas temperaturas. Pano y Middlebrook (1982) observaron que para un intervalo de temperatura entre 5 y 20 C el porcentaje de remoción logrado por el reactor es directamente proporcional.

Cabe mencionar que ambos estudios se hicieron desde el punto de vista de la cinética de RBR, sin considerar a los microorganismos presentes.

2.3. Aspectos microbiológicos de los sistemas de tratamiento de aguas residuales

Entre los grupos de organismos frecuentemente citados en estudios sobre tratamiento de aguas residuales, además de las bacterias se encuentran los protozoarios (ciliados, flagelados, sarcodinos del grupo de las amibas) y los micrometazoarios (rotíferos y nemátodos). Las bacterias son los organismos a los que se les atribuye la mayor participación en el proceso depurativo, tanto por su función como por su número; las bacterias son microorganismos depuradores y se presentan en grandes números. Los protozoarios consumen bacterias y remueven materia orgánica disuelta en el líquido a tratar, además se señala que pueden ser utilizados como organismos indicadores de grado de contaminación orgánica (Kinner 1984; Kinner y Curds, 1987). Los micrometazoarios también tienen participación en los procesos depurativos de aguas residuales pero su importancia, en general, es menor.

A continuación se da una descripción de los grupos de microorganismos presentes en sistemas de tratamiento biológico aerobio de aguas residuales.

Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariontes unicelulares. Pueden tener forma esférica, de bastón o espiralada. Las bacterias esféricas se llaman cocos; las de forma de bastón bacilos y las espiraladas, espirilos. Estas diferencias no son absolutas ni definen grupos taxonómicos apropiados, pero los términos descriptivos son de utilidad. Los cocos varían en diámetro entre 0.2 y 4 micrómetros; los bacilos y los espirilos de ordinario tienen el mismo diámetro que los cocos pero son más largos, llegando algunas veces hasta 40 micrómetros.

La mayor parte de las bacterias tienen una pared celular definida, generalmente es nitrogenada. Estos microorganismos almacenan reservas alimenticias en una diversidad de formas, incluyendo gotitas de grasa, gránulos de proteína, así como gránulos especiales de polisacáridos de diversos tipos.

Las bacterias, como grupo, son los seres vivos más resistentes. Pueden sobrevivir durante años a temperaturas bajísimas o incluso superar la congelación total. Algunas especies habitan en manantiales de agua hirviendo y otras sobreviven, incluso, en ácidos calientes. Las bacterias psicrófilas se desarrollan a temperaturas de 10 a 20°C, las bacterias mesófilas entre 20 y 40°C y las bacterias termófilas de 45 a 60°C.

Algunas formas producen esporas. Todas las bacterias se reproducen asexualmente (Margulis y Schwartz, 1981).

Protozoarios

Los protozoarios son organismos eucariontes unicelulares. Su tamaño varía desde unos cuantos micrómetros hasta varios milímetros. Los protozoarios han tenido notable éxito; sus adaptaciones les han permitido la invasión y colonización de muy diversos hábitats; se encuentran en el suelo, en todas las clases de agua dulce y marinas y en todas las regiones climáticas, donde haya temperaturas superiores al punto de congelación. La temperatura óptima para el crecimiento de los protozoarios es de 16 a 25°C (Kudo, 1969). La forma del cuerpo es variada y va desde una masa esferoidal simple y pequeña hasta las formas grandes y muy complejas. Los protozoarios son unicelulares; la masa protoplasmática que forma su cuerpo sólo contiene un núcleo y está rodeada por una membrana (Fig. 2). El tipo de nutrición puede ser autótrofa o heterótrofa. Con respecto a los tipos de organoides locomotores se tienen tres tipos: pseudópodos, flagelos y cilios. La mayoría de los protozoarios presenta reproducción sexual y asexual. Algunos se reproducen sólo asexualmente. La división binaria es la forma más común de reproducción asexual (Meglitsch, 1978).

Micrometazoarios

a) Rotíferos

Los rotíferos son organismos pluricelulares, pseudocelomados, heterótrofos, se alimentan de bacterias, protozoarios, otros rotíferos, animales pequeños y materia orgánica suspendida en el agua. Los rotíferos constituyen uno de los grupos de animales multicelulares de menor tamaño, con longitudes desde 0.04 mm hasta unos 3.0 mm. Son muy comunes en ecosistemas acuáticos; hay especies descritas procedentes de las aguas dulces y de todas las regiones litorales marinas, así como de medios semiterrestres, entre los musgos y líquenes.

Predominan las formas de vida libre, sin embargo algunos rotíferos son epizoicos o parásitos. Son microorganismos no segmentados. Su nombre deriva de la corona ciliada situada en el extremo anterior de su cabeza y que por el movimiento de los cilios adquiere la apariencia de una rueda que gira. Sus cuerpos presentan simetría bilateral y están cubiertos por una capa externa de quitina que recibe el nombre de lóriga. En muchas especies la lóriga puede plegarse. Carecen de aparato circulatorio y respiran a través de la superficie corporal. Poseen una faringe muscular, y un aparato masticador llamado mástax el cual está equipado con mandíbulas duras llamadas trofos, que en distintas especies tiene una función de bombeo, trituración o captura de partículas. El alimento pasa a través del mástax hacia el estómago, en el que las glándulas gástricas segregan unas enzimas digestivas. El cerebro, de tamaño pequeño está situado en

posición dorsal respecto al mástax, y de él surgen pares de nervios que se extienden hacia el extremo posterior (Fig. 2).

Muchas poblaciones de rotíferos sólo constan de hembras que se reproducen partenogenéticamente, produciendo unos huevos que únicamente darán otras hembras. Muchas especies producen dos tipos de huevos, el tipo más común son los huevos diploides que sin fertilización producen hembras adultas, el otro tipo de huevos haploides se forma cuando los estanques se secan. Si no son fertilizados, estos huevos dan nacimiento a machos pequeños y degenerados. Estos machos, aunque son incapaces incluso de alimentarse a sí mismos pueden producir espermatozoides y fertilizar a otras hembras haploides (Meglitsch, 1978).

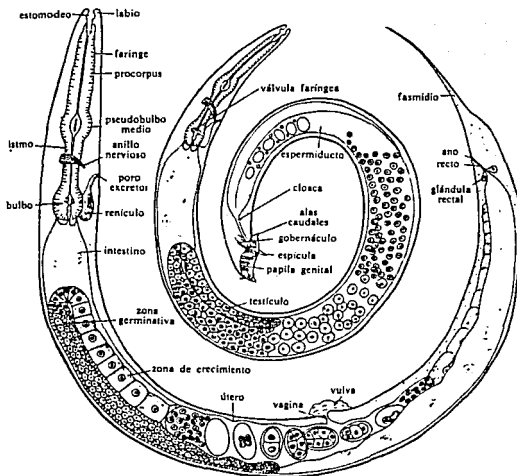
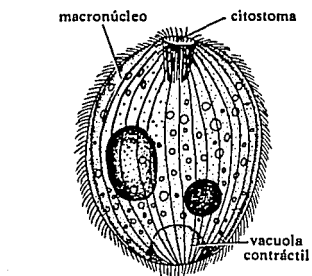
b) Nemátodos

Los nemátodos son organismos pluricelulares, pseudocelomados, heterótrofos. Un gran número de nemátodos son parásitos de la especie humana, de plantas y de animales domésticos. Por este motivo muchos miembros del grupo han sido estudiados muy intensamente. Los nemátodos de vida libre se encuentran en hábitats húmedos, en suelos, salinas, manantiales termales, playas arenosas, aguas estancadas y en los océanos. Muchos viven en tejidos vegetales; algunos forman agallas en las raíces mientras que otros viven en los frutos o en las grietas de la corteza de los árboles. El tamaño de estos organismos varía de unos pocos milímetros a un metro de longitud aproximadamente. El cuerpo es de sección circular y afilado en los extremos anterior y posterior. Poseen simetría bilateral, aunque hay tendencia a la simetría radial. No hay cabeza diferenciada. Carecen de segmentación y de cilios, excepto en los órganos sensoriales. Poseen abundantes músculos longitudinales. Los nemátodos carecen de órganos respiratorios especiales. Tampoco poseen un aparato circulatorio especializado. El aparato digestivo consta de una cavidad bucal y faringe, un intestino medio o intestino propiamente dicho, terminado en recto o cloaca de origen proctodeal y ano terminal. La cavidad bucal, que va desde un tamaño minúsculo a grande, a menudo está muy diferenciada. La faringe tiene una estructura histológica característica, con una sección triangular y fibras musculares radiales fuertes. La secreciones enzimáticas son proyectadas fuera de la boca, ablandando y haciendo una predigestión de los alimentos antes de su ingestión.

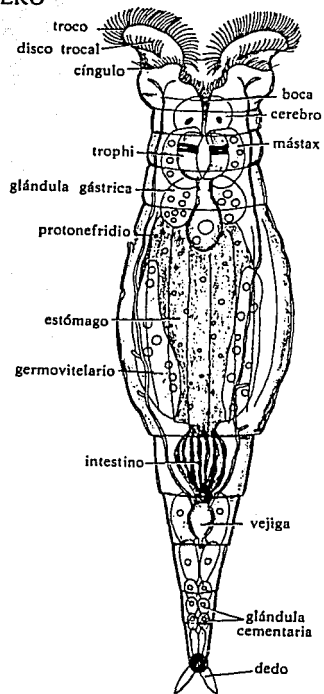
Los nemátodos poseen un sistema nervioso central que está compuesto por un anillo nervioso periesofágico con varios ganglios asociados y un sistema de nervios longitudinales. Poseen una gran cantidad de órganos sensoriales (Fig. 2).

Los sexos se hallan separados; en la mayoría de las especies el macho es más pequeño que la hembra. La reproducción es casi siempre sexual. Puede haber partenogénesis. Los machos tienen espículas copuladoras que utilizan para abrir la vulva de la hembra durante la copulación. En todos los casos conocidos, la fertilización es interna y las gónadas (un ovario y un testículo o en número de dos) se comunican con el exterior a través de un gonoporo en el sexo femenino, o a través de la cloaca en el sexo masculino (Meglitsch, 1978).

PROTOZOARIO CILIADO



ROTIFERO



NEMATODO

Fig. 2. Esquema de algunos grupos de microorganismos encontrados en sistemas de tratamiento de aguas de desecho. (Tomado de Meglitsch, 1978).

2.3.1. Presencia de microorganismos en sistemas de tratamiento de aguas residuales

a) Bacterias presentes en sistemas de tratamiento de aguas residuales

El papel de las bacterias en el proceso de tratamiento de aguas residuales es la remoción de materia orgánica disuelta. A este grupo de organismos se le atribuye el principal papel depurador del sistema (Kinner, 1984).

En los sistemas de tratamiento aerobio las bacterias más importantes son las bacterias mesófilas facultativas filamentosas. Estas bacterias son las responsables de la oxidación del material orgánico y además son capaces de exudar una capa floculenta la cual en algunas unidades de tratamiento (por ejemplo lodos activados) es un importante mecanismo en el proceso depurativo del líquido en tratamiento (Duncan, 1976).

Existen estudios de bacterias en diferentes procesos de tratamiento, por ejemplo en lodos activados, lechos de oxidación biológica y reactores biológicos rotatorios.

En lodos activados existen trabajos sobre enumeración y caracterización de poblaciones bacterianas (Gayford y Richards, 1970). También hay estudios taxonómicos en los que se registran los principales géneros de bacterias en lodos activados (Curds, 1975) y se menciona que la mayoría de las bacterias descritas son gram-negativas, siendo los principales géneros *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* y *Pseudomonas*.

En lechos de oxidación biológica existen variaciones en los números relativos y en la dominancia de las diferentes especies de bacterias que se encuentran a distintos niveles del filtro biológico y en diferentes épocas del año, junto con aquellas inducidas por las condiciones a las que esté operando el sistema. Sin embargo, Curds (1975) menciona que las poblaciones bacterianas no parecen ser marcadamente diferentes, en cuanto a dominancia de distintas especies, de la de lodos activados. Un género considerado dominante es *Zoogloea ramigera*. La bacteria coliforme *Escherichia coli* está universalmente presente en filtros, aunque no es un miembro autóctono de la comunidad del filtro. Los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* están presentes, particularmente en las capas más bajas de los filtros y producen efluentes nitrificados.

Los análisis microbiológicos en reactores biológicos rotatorios han evidenciado la presencia de bacterias filamentosas cubiertas por una capa floculenta del género *Sphaerotilus* (Kinner *et al.*, 1988). Alleman *et al.*, 1982, registran el género *Beggiatoa* dentro de la zona aerobia de una película fija.

b) Protozoarios presentes en sistemas de tratamiento de aguas residuales

La presencia de protozoarios en procesos de tratamiento de aguas residuales fue notada casi tan pronto como los procesos fueron introducidos (Curds, 1975), pero es sólo en años recientes que la importancia de estos organismos ha venido a manifestarse. Muchos de los primeros trabajos estuvieron relacionados con la descripción de los grupos de protozoarios encontrados en estos hábitats. Sin embargo, esto fue rápidamente seguido por un período en el que varios investigadores intentaron relacionar la presencia de determinados protozoarios con la calidad del efluente (Kinner, 1984; Kinner *et al.*, 1988).

Se han desarrollado listas de protozoarios encontrados en filtros percoladores que muestran que el grupo más abundante es generalmente el de los ciliados. Además, hay un estudio realizado por Curds y Cockburn (1970) sobre los microorganismos del licor mezclado de plantas de tratamiento de lodos activados. En estas listas, los ciliados fueron también el grupo dominante de protozoarios, aunque en alguna ocasión los sarcodarios del grupo de las amibas y flagelados alcanzaron grandes números.

Un trabajo muy importante es el realizado por Cairns *et al.*, 1972, su trabajo muestra que varios tipos de efluentes de plantas industriales provocan una reducción en el número de especies de organismos acuáticos, entre ellos el grupo de los protozoarios. Para ilustrar este trabajo el autor muestra unas gráficas que pueden verse en la figura 3.

Las gráficas muestran una reducción en el número de especies de formas superiores de organismos acuáticos tales como peces, acompañada por un incremento en el número de especies de organismos inferiores. En el tercer histograma se muestra una estación muy contaminada, en ella las especies han sido prácticamente eliminadas.

Otro trabajo considera el estudio de las sucesiones poblacionales de protozoarios y metazoarios de la película biológica de un reactor biológico rotatorio a escala piloto (Kinner y Curds, 1987). En este trabajo se resalta el papel de los protozoarios y metazoarios en la remoción de la turbiedad causada por las bacterias libres. Así como el hecho de que los protozoarios y metazoarios puedan ser empleados como indicadores apropiados de la calidad del agua tratada.

Con base en este trabajo, Kinner y Curds, 1988 realizaron otro estudio en el que, entre otras cosas, dan una lista de organismos cuya presencia en la película parece estar altamente correlacionada con la cantidad de materia orgánica, generalmente medida como demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅).

En México también se han desarrollado trabajos en esta área (Luna-Pabello, 1987; Luna-Pabello *et al.*, 1988, 1990; Moreno, 1985; Rivera *et al.*, 1988). De esos trabajos puede inferirse que la que la abundancia y diversidad de los protozoarios, particularmente los ciliados, están estrechamente relacionadas con la materia orgánica disuelta medida como DBO₅.

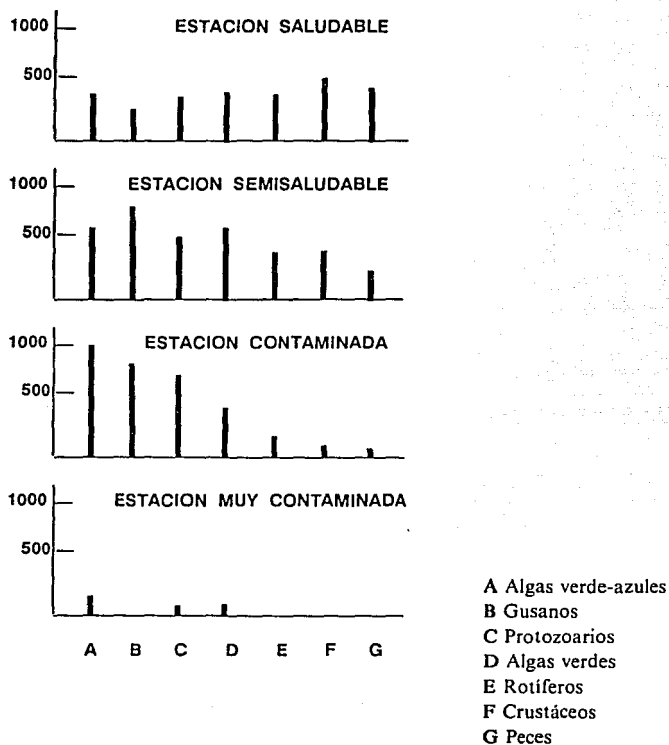


Fig.3. Histogramas que ilustran la respuesta de una comunidad acuática a la contaminación (Tomado de Patrick *et al.* 1949, en Cairns *et al.*, 1972).

c) Micrometazoarios presentes en sistemas de tratamiento de aguas residuales

1) Rotíferos

El papel de los rotíferos en los procesos de tratamiento de aguas residuales ha recibido muy poca atención debido probablemente a los bajos números registrados respecto a los protozoarios. Algunas características de los rotíferos, tales como su explotación oportunista de medios ambientes y su relativa incapacidad para responder, aún a pequeños cambios ambientales, pueden hacer de ellos especies indicadoras ideales.

Aunque Klímowicz (en Curds, 1975) ha realizado trabajos tendientes a informar la presencia de rotíferos en lodos activados a diferentes cargas orgánicas los resultados no son concluyentes.

Otros investigadores como Godeanu (1966) (en Curds, 1975) han tratado de agrupar las especies de rotíferos características de plantas de tratamiento y aquellas que aparecen y sobreviven en bajos números por breves períodos de tiempo. Sin embargo, ninguno de estos trabajos publicados da información cuantitativa confiable sobre los rotíferos y la mayoría de los estudios de los organismos de aguas residuales o los omite del todo o sólo los menciona brevemente.

Voigt (1957) (en Curds, 1975) hizo una clasificación a nivel familia basada en el tipo de mástax. Esta clasificación podría dar una buena evaluación del papel ecológico de una especie o género particular de rotífero y es, con frecuencia, tan válida como la definición misma de especie. Voigt divide a la clase Rotífera en tres órdenes, de los cuales uno, el Seisonidae es enteramente marino. Los otros dos, los Bdelloidea y Monogononta, están representados en diferentes proporciones en procesos de tratamiento de aguas residuales. Los Bdelloidea están formados por cuatro familias, de las cuales tres han sido registradas en lodos activados y en filtros percoladores. Los Monogononta están formados por 11 familias. Este grupo está representado principalmente en tanques de oxidación.

2) Nemátodos

Los nemátodos tienen una distribución amplia en medios acuáticos y terrestres, sin embargo en algunos sistemas de depuración de aguas residuales su taxonomía, su ecología y su importancia funcional es limitada porque los procesos de degradación están más relacionados con la actividad bacteriana. Por ejemplo, en el caso de lodos activados los metazoarios parecen tener un papel insignificante en el proceso de depuración. Sin embargo, en los sistemas de filtros percoladores, en los que pueden desarrollarse grandes poblaciones de nemátodos, su papel puede ser significativo.

Es importante mencionar que, en los procesos de tratamiento de aguas de desecho, los nemátodos han probado ser altamente específicos y de baja diversidad, debe mencionarse también que de las especies presentes sólo unas pocas muestran marcada predominancia. Goodey (1963) reconoce 10 órdenes, cinco de los cuales están representados en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Los órdenes son: Rhabditida, Enoplida, Dorylaimida y Monhysterida. De estos órdenes sólo el Rhabditida tiene una amplia representación, las especies de los otros órdenes son raramente encontradas (Curds, 1975).

Los nemátodos han sido registrados en las fases aerobias de varios procesos de tratamiento de aguas de desecho. Sus números sin embargo, son altamente variables. En general, ellos son de gran importancia en la película biológica de filtros percoladores y con frecuencia es el grupo más abundante de metazoarios en este sistema de tratamiento. Chang *et al.* (1962) (en Curds, 1975) observaron que los nemátodos son generalmente abundantes en tanques de oxidación y en viejos procesos depurativos tales como los tanques Imhoff y tanques de digestión. Los nemátodos están generalmente presentes en lodos activados, pero sus números en los floculos orgánicos son bajos; comparados con filtros percoladores su número en los procesos de lodos activados es menor.

Muchas de las especies registradas en plantas de tratamiento de aguas residuales son ampliamente conocidas en gran variedad de hábitats saprobios naturales (composta, estiércol) y biotopos contaminados de aguas dulces (Sládeček, 1973). Los metazoarios microscópicos, meiofauna, son generalmente abundantes en zonas de contaminación media (alfa, beta-mesosaprobio) pero tienden a evitar zonas fuertemente contaminadas (polisaprobio). Hay sin embargo, algunos registros de nemátodos que habitan medios polisaprobios. Se han encontrado especies tales como *Diplogasteritus nudicapitatus* y *Paroigolamella* junto con *Tobrilus gracilis* en ríos altamente contaminados. En estudios de organismos de agua dulce, Hirschmann 1952 (en Curds, 1975) a diferentes grados de contaminación, se han incluido miembros de las subfamilias Rhabditinae y Diplogasterinae como polisaprobios. Parece ser que los microorganismos en plantas de tratamiento de aguas residuales son más o menos idénticos a los de otros hábitats de aguas dulces. Algunos de los procesos de tratamiento de aguas residuales, especialmente filtros percoladores, dan condiciones ideales para especies polisaprobias, por ejemplo altos niveles de comida combinados con suficiente abasto de oxígeno y un soporte adecuado (Curds; 1975)

Otras investigaciones, en aguas residuales también, han mostrado el efecto de diferentes temperaturas en el número de estos microorganismos. Murad *et al* (1970) y Weninger (1971) (en Curds, 1975) observaron que la densidad poblacional de nemátodos se incrementa a medida que la temperatura descende. Sin embargo esto no es concluyente ya que la disminución en el número de estos organismos parece ser resultado de efectos multifactoriales antes que de una simple relación de temperatura.

3. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene tres objetivos principales:

- 1.- Cuantificar los distintos tipos de microorganismos que proliferan a lo largo de las diferentes etapas de un reactor biológico rotatorio de 20 litros (RBR-20) que trata aguas residuales de la industria de proceso (usando como ejemplo los efluentes líquidos de un molino de nixtamal conocidos como nejayote),
- 2.- Analizar la distribución y abundancia de las comunidades microbianas del sistema de tratamiento en función de los distintos parámetros físicoquímicos registrados y
- 3.- Comparar los puntos anteriores en función de la temperatura, evaluándolos a 10, 20 y 30° C.

4. MATERIALES Y METODOS

Se empleó como sistema de tratamiento de aguas residuales un reactor biológico rotatorio (RBR). Este sistema posee la capacidad de tratar un total de 20 litros. Está formado por 10 cámaras que almacenan el volumen de fluido a tratar que entra al sistema. A través de ellas se desplaza el líquido en tratamiento. Cada cámara contiene dos discos de acrílico ensamblados en un eje común. Los discos tienen un diámetro de 30 cm y 3 mm de espesor. El conjunto de discos gira dentro de las cámaras ayudado por un motor. Aproximadamente el 40% del área total de cada disco se encuentra sumergida en el agua por tratar (Fig. 4).

El diseño del reactor empleado presenta una base semicilíndrica para promover el mezclado homogéneo del líquido a tratar. El reactor cuenta también con una cubierta semicilíndrica que tiene como finalidad disminuir la evaporación del agua residual.

El agua residual en estudio proviene de un molino de nixtamal y es, esencialmente, el agua de cocción y lavado del maíz empleado en la elaboración de tortillas. Se le conoce con el nombre de origen náhuatl de **nejayote** (agua o nextli = cenizas de cal; ayoh = agua).

El RBR cuenta con algunas estructuras anexas, tales como un tanque de alimentación que contiene el volumen de **nejayote** diluido por tratar, una bomba peristáltica que introduce un caudal constante de **nejayote** diluido y un sedimentador secundario en el que se colecta el agua tratada y es separada la biomasa producida.

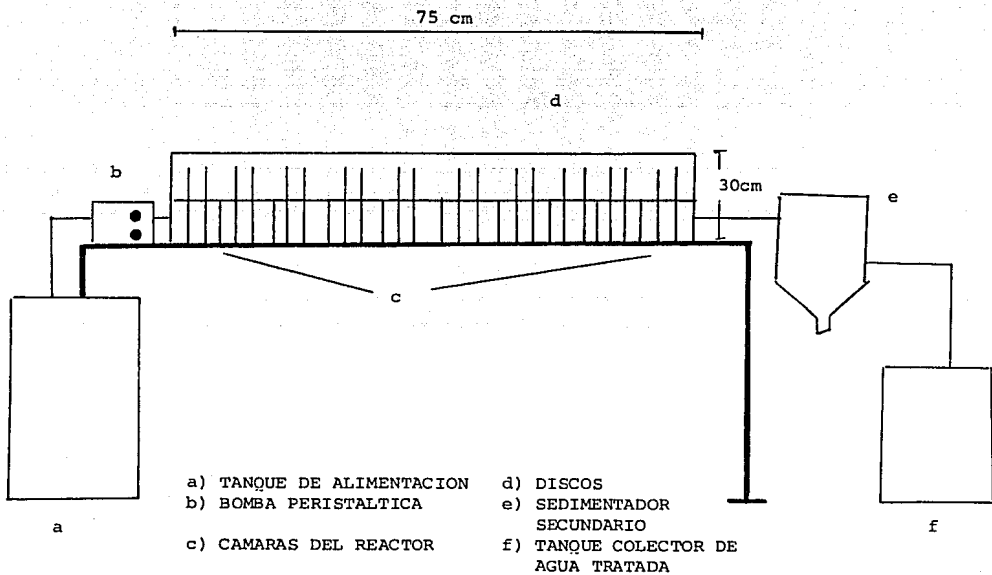


Fig. 4.Reactor biológico rotatorio.

4.1. Establecimiento del régimen permanente

Para que el sistema de tratamiento pueda empezar a funcionar eficientemente es necesario que las superficies húmedas de los discos que giran en las cámaras están cubiertas por microorganismos que se adhieran (o adsorban) a esas superficies. Una vez ahí, tales microorganismos empezarán a reproducirse en forma logarítmica. Para facilitar la distribución homogénea de tales microorganismos en la totalidad de la superficie de los discos y promover un grosor de la película constante y resistente al desprendimiento por esfuerzos de corte, se fijan las condiciones de operación del sistema. En este caso fueron una concentración de materia orgánica en disolución, medida como demanda química de oxígeno (DQO), de 2000 mg/l, velocidad rotacional de los discos de 30 RPM, y un gasto constante de 0.833 ml/h (aproximadamente 14 ml/min que da un tiempo de residencia hidráulico de casi un día). Estas condiciones se mantuvieron a lo largo de toda la fase experimental (Luna-Pabello, 1990). Al término de dos semanas aproximadamente se hicieron pruebas de demanda química de oxígeno (DQO) del líquido de alimentación y de las cámaras inicial y final (cámaras 1 y 10) del reactor, registrándose los valores obtenidos. Dichas pruebas se realizaron cada tercer día hasta que se obtuvieron valores que fueran $\pm 10\%$ de los valores anteriores. Posteriormente, se hicieron pruebas de DQO para la alimentación y de cada una de las cámaras del reactor (de la cámara 1 a la 10). Tales evaluaciones se repitieron cada tercer día, se consideró que el régimen pseudopermanente se alcanzó cuando los valores de la DQO tuvieran diferencias de $\pm 10\%$.

4.2. Fase experimental en el reactor biológico rotatorio de 20 litros (RBR-20)

Durante el período experimental de este trabajo, el RBR operó bajo tres distintos valores de temperatura. A 10° C (en este caso el reactor permaneció dentro de un cuarto frío), a 20° C (temperatura ambiente) y a 30° C (para mantener esta temperatura fue necesario ubicar el reactor en un cuarto caliente). Debe mencionarse que estas temperaturas no fueron exactas pero sí muy aproximadas. Cada período tuvo una duración de dos semanas, después de alcanzar el régimen permanente para cada caso.

4.2.1. Registros fisicoquímicos

En cada una de las fases de experimentación se realizaron registros fisicoquímicos y biológicos. Estos registros incluyeron, temperatura (del licor mezclado de cada una de las cámaras), pH, oxígeno disuelto (OD), demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) y sólidos totales. En el efluente obtenido no se hicieron registros fisicoquímicos ni biológicos consuetudinarios porque las características de este tipo (de acuerdo con análisis preliminares) son prácticamente iguales a la de la cámara 10.

Los registros de temperatura, pH, OD, de cada una de las cámaras se realizaron *in situ* diariamente con ayuda de un medidor de pH y un medidor de temperatura y oxígeno disuelto, marca Presto-Tek (EUA).

La demanda química de oxígeno (DQO) se efectuó cada tercer día; para ello se tomaron muestras del líquido de alimentación y de cada una de las cámaras y se procedió de acuerdo con la metodología que establece la APHA (1981) (Ver apéndice).

La demanda bioquímica de oxígeno se realizó una vez por semana con la ayuda de equipo especializado para ello (Voith Sapromat B6, RFA), tomándose muestras del líquido de alimentación y de las cámaras 1, 3, 5, 7 y 10 del RBR (Ver apéndice).

Con el fin de determinar la cantidad de materia orgánica presente en cada una de las muestras de licor mezclado de las cámara se hicieron determinaciones de sólidos totales, sólidos fijos y sólidos volátiles (Ver apéndice). Estas pruebas se realizaron dos veces por semana.

4.2.2. Análisis microbiológico de la muestra

Con respecto a las bacterias sólo se tomará en cuenta el grupo de mesófilos aerobios, sin entrar en detalles de clasificación dada la complejidad que representa el ubicar taxonómicamente los integrantes de este grupo.

Se escogió el grupo de los mesófilos aerobios porque el rango de crecimiento de estas bacterias incluye al menos dos de las temperaturas experimentales del presente estudio. Además nos interesa el estudio de las bacterias que viven en temperaturas en las que la concentración de oxígeno, aunque sea mínima, se adecuada para el metabolismo de los microorganismos presentes en el líquido a tratar.

Los análisis microbiológicos de las muestras se hicieron con el fin de identificar y cuantificar los distintos tipos de microorganismos contenidos en el licor mezclado del reactor, además de determinar su distribución en el sistema. En el caso de los nemátodos se utilizó como referencia general un trabajo de Goodey (1963), ya que contiene una descripción de casi todos los géneros de nemátodos acuáticos y terrestres, aunque en el presente estudio la identificación de los micrometazoarios se hizo a nivel familia. Para la determinación de rotíferos se utilizará el sistema de clasificación incluido en una publicación de Pennak (1953).

Cuenta de microorganismos

a) Cuenta de bacterias mesófilas aerobias

Con el fin de determinar la técnica de sembrado y el medio de cultivo a utilizar se hizo una prueba preliminar empleando dos medios de cultivo, CGY (caseína, glicerol y extracto de levadura) y Agar Cuenta Estándar. Para cada medio se utilizaron dos técnicas de sembrado, la técnica de vaciado y la técnica de espatulado. Tomando en cuenta que el mayor número de colonias se presentó en las placas que utilizaron la técnica de vaciado empleando como medio de cultivo agar cuenta estándar, se optó por este medio y esta técnica.

La técnica completa se describe en el apéndice.

Para la cuantificación de bacterias se consideró únicamente al grupo de mesófilos aerobios, por lo cual se incubaron las muestras diluidas de licor mezclado a una temperatura de 28° C durante 48 horas.

b) Cuenta de protozoarios y micrometazoarios

Se hicieron observaciones de muestras de licor mezclado, al microscopio óptico con contraste de fases integrado. Estas observaciones se realizaron la segunda semana de cada fase experimental (10, 20 y 30° C). Cada día se observaron en promedio tres cámaras, registrándose el tipo de microorganismo presente y cuantificando su abundancia. La metodología empleada para la cuantificación del grupo de los protozoarios y micrometazoarios fue una modificación a la técnica de Lackey, la cual consistió en contar el número de organismos existentes en un volumen de muestra de 0.1 ml (ver apéndice). Para cada grupo estudiado, excepto bacterias, se registraron las características morfológicas más relevantes.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Parámetros fisicoquímicos

A continuación se muestran y discuten los valores obtenidos para cada uno de los parámetros fisicoquímicos estudiados en el experimento. Se elaboraron gráficas con los valores promedio de cada uno de los parámetros fisicoquímicos.

a) Temperatura

Se evaluó el efecto de la temperatura a 10, 20, y 30° C. En cada caso la temperatura permaneció constante a lo largo de las diferentes cámaras del reactor. Independientemente de la temperatura de operación del reactor en cada una de las fases de experimentación, las fluctuaciones fueron muy pequeñas y debidas a la evaporación de agua al aire circundante. Tomando en cuenta esto puede decirse que el sistema presenta estabilidad térmica (Tabla 1).

El valor de la temperatura en las cámaras del reactor, cuando la temperatura de operación fue de 10°C, osciló entre 9.45° C y 9.7° C. En la fase experimental, realizada a temperatura de 20°C, el valor de la temperatura en las cámaras del reactor se mantuvo entre 19.43° C y 21.48° C. La fase experimental realizada a temperatura de 30°C, registró temperaturas a lo largo del reactor que fluctuaron entre 29.40 y 30.58° C (Fig. 5).

A las temperatura de 10 y 20° C no se aprecia gran sedimentación de los flocúlos del licor mezclado. Esto puede explicarse si se toma en cuenta que uno de los efectos de las bajas temperaturas es el bajo metabolismo de los microorganismos mesófilos, lo cual provoca escaso consumo del material orgánico disuelto y consecuentemente una baja depuración del agua tratada. Cuando la temperatura se incrementa a 30° C, puede observarse una sedimentación apreciable de los flocúlos, sobre todo en las últimas cámaras (de la cámara 6 a la 10).

Se encontró que la temperatura es un factor ampliamente relacionado con la abundancia de los microorganismos, ya que, en general, a medida que ésta aumentó también se incrementó el número de microorganismos.

Tabla 1. Valores promedio de temperatura obtenidos durante las tres fases experimentales.

CAMARA DEL REACTOR	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 10 C	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 20 C	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 30 C
A	9.7 ± 0.4	21.48 ± 0.7	29.12 ± 0.4
1	9.58 ± 0.5	19.86 ± 0.9	29.74 ± 0.5
2	9.58 ± 0.5	19.66 ± 1.0	30.86 ± 0.6
3	9.58 ± 0.5	19.56 ± 1.1	30.3 ± 0.7
4	9.58 ± 0.4	19.53 ± 1.1	30.5 ± 0.7
5	9.51 ± 0.5	19.55 ± 1.2	30.58 ± 0.8
6	9.55 ± 0.5	19.51 ± 1.2	30.42 ± 0.8
7	9.51 ± 0.5	19.43 ± 1.1	30.2 ± 0.7
8	9.49 ± 0.5	19.51 ± 1.1	29.9 ± 0.7
9	9.47 ± 0.5	19.65 ± 1.0	29.6 ± 0.8
10	9.45 ± 0.5	19.95 ± 1.0	29.4 ± 0.8

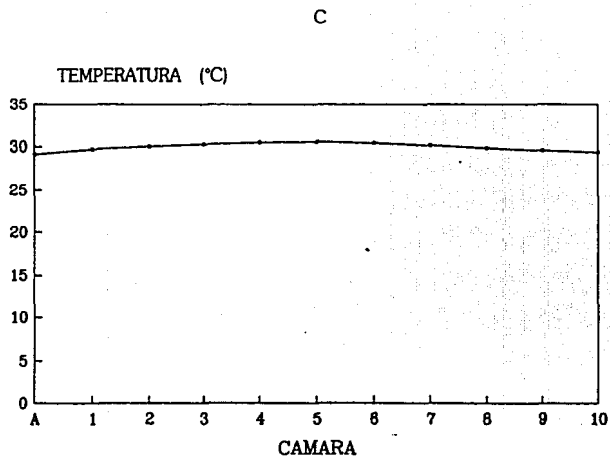
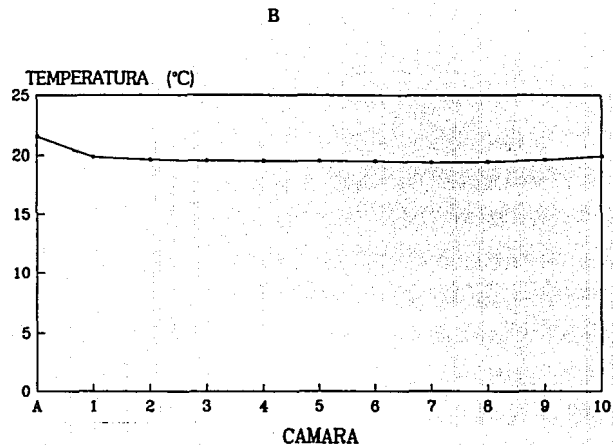
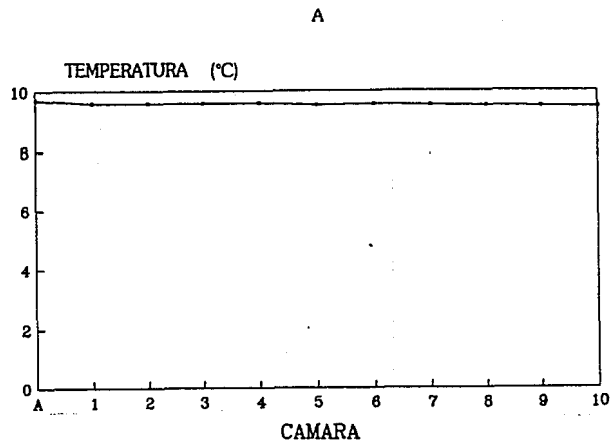


Fig. 5 Valores promedio de temperatura del líquido de alimentación de las muestras de licor mezclado de cada cámara del RBR a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

b) pH

Los valores de pH obtenidos a lo largo del RBR se mantuvieron cercanos a la neutralidad, oscilando de 7 a 8 unidades. La alimentación presentó valores de pH más ácidos, situados entre 5.39 y 5.77 unidades (Tabla 2).

Las gráficas de la figura 6 registran los valores promedio de pH obtenidos a las distintas temperaturas de operación del reactor.

Estos valores de pH obtenidos resultaron adecuados para el proceso depurativo ya que permitieron el desarrollo de los microorganismos responsables de la degradación de la materia orgánica (Kudo, 1969). Sin embargo, no se visualiza una relación clara entre el pH y la abundancia de los microorganismos, debido quizá a que los valores registrados de pH no presentan grandes diferencias entre sí.

Los valores de pH registrados para la cámara de alimentación en las tres fases experimentales de temperatura difieren de manera más marcada con respecto a la cámara 1. Este incremento en el pH puede deberse a que la aereación mecánica del líquido incrementa la cantidad de oxígeno en el licor mezclado, lo cual permite que mediante el metabolismo aerobio puedan consumirse los ácidos orgánicos generados anteriormente, esto provoca una disminución en la acidez del líquido, permitiendo el desarrollo de mayor número de especies de protozoarios (Curds, 1975).

c) Oxígeno disuelto (OD)

Los valores de oxígeno disuelto se incrementaron a lo largo de las cámaras del reactor en cada una de las fases del experimento (Tabla 3). Esto demuestra que, a pesar de haber consumo de oxígeno debido a la actividad metabólica microbiana, el aporte generado por la rotación de los discos es suficiente para mantener el nivel de oxígeno superior a 2 mg/l, valor que se considera como la concentración mínima de oxígeno para la proliferación de microorganismos aerobios (Winkler, 1986).

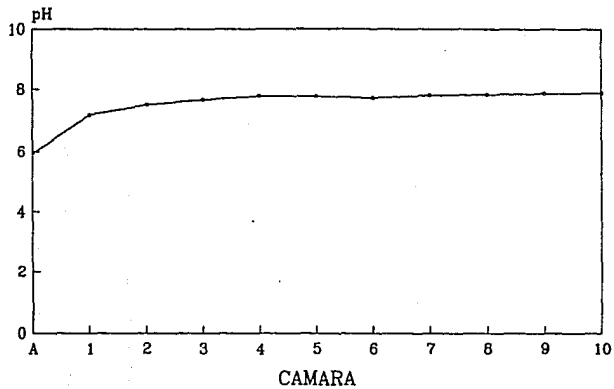
El cambio de microaerobiosis a aerobiosis está influenciado por la temperatura de operación del sistema, la concentración de materia orgánica disuelta y la actividad metabólica de los microorganismos. Un aumento en la temperatura produce una disminución en la disponibilidad del oxígeno disuelto y un aumento en la tasa a la que se consume, esto último debido al incremento en la actividad metabólica de los microorganismos. Las sustancias disueltas, en este caso materia orgánica, también provocan una reducción en la solubilidad del oxígeno. Cuando la temperatura fue de 10° C las condiciones aerobias se presentaron a partir de la cámara 2, a temperatura de 20° C la aerobiosis se presentó desde la cámara 3 y a 30° C se presentó a partir de la cámara 5.

La cantidad de oxígeno no fue, aparentemente, un factor limitante en el proceso de depuración, ya que, aún en etapas de microaerobiosis se presenta alto consumo de materia orgánica disuelta por parte de los microorganismos del sistema. Esto se muestra cuantitativamente en los valores de DQO Y DBO₅ registrados en las cámaras "microaerobias" del reactor.

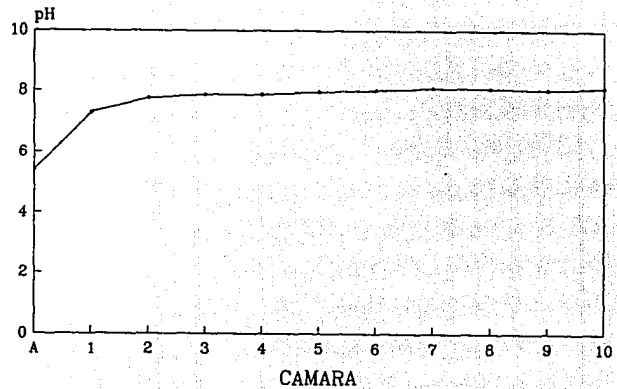
Tabla 2. Valores promedio de pH y desviaciones estandar obtenidos durante las tres fases experimentales.

CAMARA DEL REACTOR	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 18 °C	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 20 °C	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 30 °C
A	5.94 ± 0.4	5.39 ± 0.2	5.77 ± 0.3
1	7.18 ± 0.2	7.3 ± 0.5	7.81 ± 0.3
2	7.5 ± 0.1	7.75 ± 0.2	7.43 ± 0.3
3	7.67 ± 0.1	7.87 ± 0.1	7.6 ± 0.3
4	7.77 ± 0.1	7.86 ± 0.1	7.76 ± 0.2
5	7.77 ± 0.1	7.95 ± 0.1	7.9 ± 0.2
6	7.72 ± 0.1	8 ± 0.3	8.82 ± 0.1
7	7.8 ± 0.1	8.88 ± 0.1	8.1 ± 0.1
8	7.83 ± 0.1	8.88 ± 0.1	8.18 ± 0.1
9	7.86 ± 0.1	8.84 ± 0.1	8.19 ± 0.1
10	7.88 ± 0.1	8.11 ± 0.1	8.18 ± 0.1

A



B



C

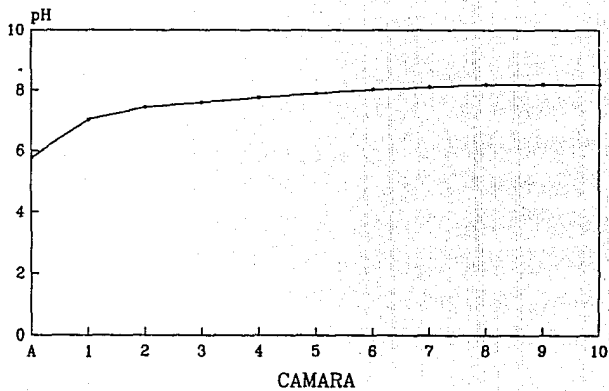


Fig. 6 Valores promedio del pH del líquido de alimentación de las muestras de licor mezclado de cada cámara del RBR a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

Tabla 3. Valores promedio de oxígeno disuelto (OD) y desviaciones estandar obtenidos durante las tres fases experimentales.

CAMARA DEL REACTOR	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 10 ° C OD (mg/l)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 20 ° C OD (mg/l)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 30 ° C OD (mg/l)
A	1.83 ± 0.27	0.45 ± 0.15	0.36 ± 0.23
1	0.24 ± 0.18	0.35 ± 0.29	0.13 ± 0.06
2	3.7 ± 1.00	1.36 ± 0.49	0.20 ± 0.11
3	5.10 ± 1.15	2.40 ± 0.24	0.20 ± 0.09
4	6.56 ± 0.73	3.17 ± 0.28	0.67 ± 0.37
5	6.81 ± 0.83	5.00 ± 0.51	1.86 ± 1.16
6	5.94 ± 0.04	5.06 ± 0.66	2.59 ± 0.60
7	6.77 ± 0.52	5.51 ± 0.39	4.26 ± 0.87
8	6.97 ± 0.37	5.70 ± 0.40	4.84 ± 0.69
9	7.52 ± 0.25	5.41 ± 0.18	5.29 ± 0.40
10	7.46 ± 0.44	6.00 ± 0.16	5.14 ± 0.34

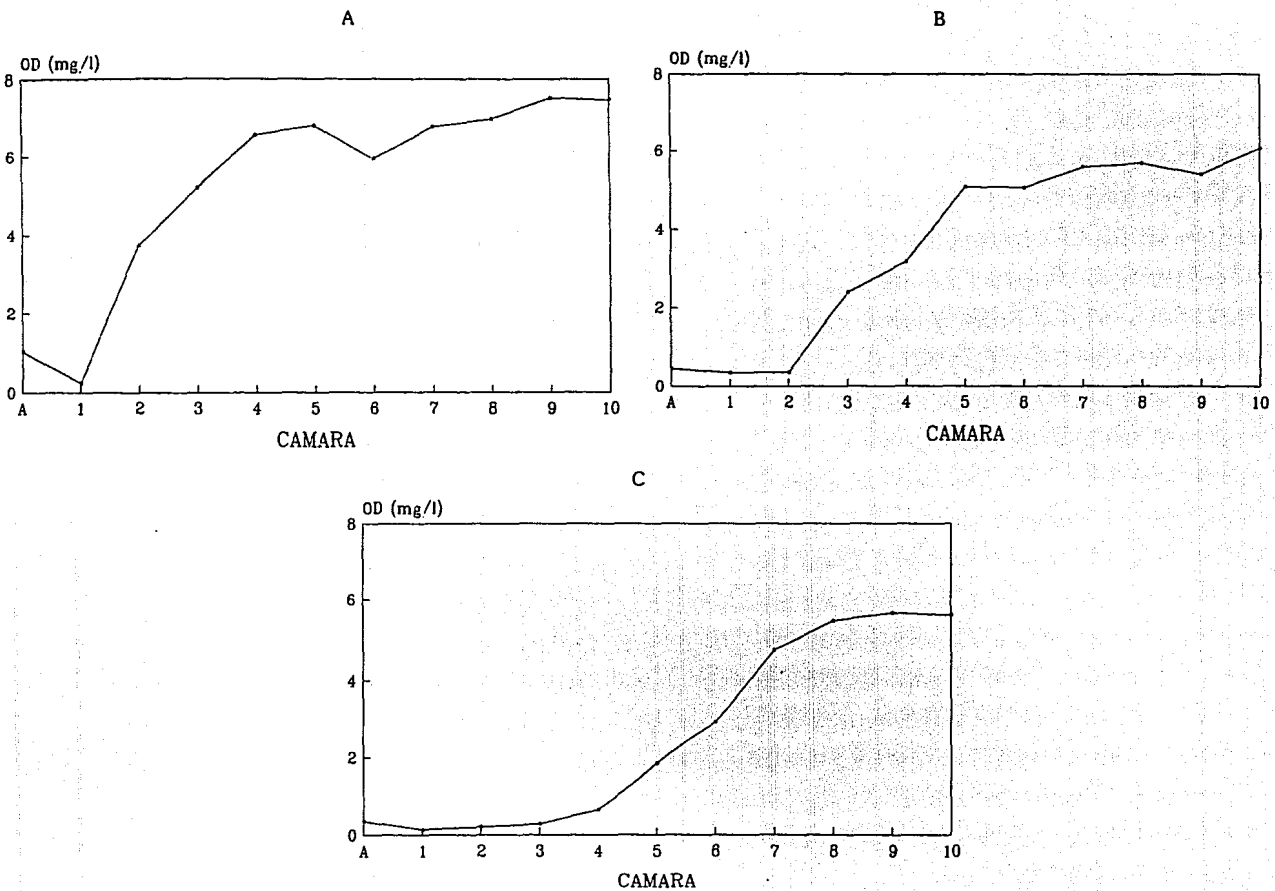


Fig. 7 Valores promedio de oxígeno disuelto (OD) del líquido de alimentación de las muestras de licor mezclado de cada cámara del RBR a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

Al parecer, la variación en la concentración de oxígeno disuelto no tiene mucha relación con la abundancia de los microorganismos porque aún a bajas concentraciones de oxígeno disuelto se manifiesta la presencia de protozoarios en diferentes proporciones. Por otro lado, parece que la concentración de oxígeno disuelto influye en la distribución de los micrometazoarios, los cuales sólo se presentan en las cámaras intermedias del reactor en donde las concentraciones del oxígeno disuelto son mayores de 2.40 mg/l (excepto a 30° C).

Las variaciones en la concentración de oxígeno disuelto en el sistema de tratamiento se muestran en la figura 7.

d) Demanda química y bioquímica de oxígeno (DQO y DBO₅)

Los cambios registrados en la DQO en el sistema a diferentes temperaturas son visualizadas en la figura 8 (Tabla 4). Se puede apreciar en los tres casos una disminución gradual de la DQO. El único cambio brusco se presenta a 30° C entre la cámara de alimentación, que presenta una DQO promedio de 2050 130 mg/l y la cámara 1, que registra un valor promedio de 1130 140 mg/l (la diferencia es de 45 %).

La demanda bioquímica de oxígeno presentó variaciones que también fueron registradas (Tabla 5). La figura 9 muestra las fluctuaciones que se presentaron durante la totalidad de la fase experimental. Se nota una tendencia gradual a la disminución de la DBO₅, esta tendencia es más marcada cuando el valor de la temperatura es de 30° C. La máxima remoción se da entre la etapa de alimentación y la cámara 5, en las tres fases experimentales del proceso, siendo menos evidente en las últimas cámaras del RBR.

La mayor remoción de compuestos orgánicos se alcanzó durante la fase realizada a 30° C, con una remoción total de 87% de DQO y 95.7 % de DBO₅. El menor porcentaje de remoción total de DQO y DBO₅ se presentó a 10° C, con valores de remoción del 45% y 63%, respectivamente.

Puede decirse que la remoción de compuestos orgánicos está relacionada con la presencia de microorganismos ya que en general la mayor abundancia de éstos se registra cuando la remoción de materia orgánica es mayor y viceversa.

e) Sólidos totales

Los resultados de la determinación de sólidos totales (STT) efectuada en el licor mezclado de cada cámara del reactor, y la alimentación, se muestran en las tablas 6 a 8 y en la figura 10.

En la fase realizada a 10° C los sólidos totales disminuyen en pequeña medida (5%) de la cámara 1 a la cámara 4. De la cámara 4 a la 6 aumentan alcanzando un valor que difiere del inicial en 2652.5 mg/l (37.16%). En la última cámara se tiene un valor en la concentración de sólidos totales, un poco mayor que el de la cámara 1 (10 %).

Tabla 4. Valores promedio de DQO y desviaciones estandar obtenidos durante las tres fases experimentales.

CAMARA DEL REACTOR	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 18° C DQO (mg/l)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 28° C DQO (mg/l)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 38° C DQO (mg/l)
A	2010 ± 80	2040 ± 150	2050 ± 130
1	1860 ± 100	1760 ± 130	1130 ± 140
2	1620 ± 100	1600 ± 100	810 ± 140
3	1500 ± 100	1470 ± 80	600 ± 60
4	1340 ± 80	1420 ± 90	550 ± 40
5	1280 ± 70	1290 ± 50	470 ± 80
6	1170 ± 60	1250 ± 30	410 ± 60
7	1160 ± 60	1200 ± 20	400 ± 40
8	1120 ± 60	1160 ± 40	340 ± 20
9	1110 ± 40	1000 ± 60	320 ± 30
10	1110 ± 60	1040 ± 100	270 ± 50
EFICIENCIA GLOBAL DE REMOCION	44.02	40.98	86.93

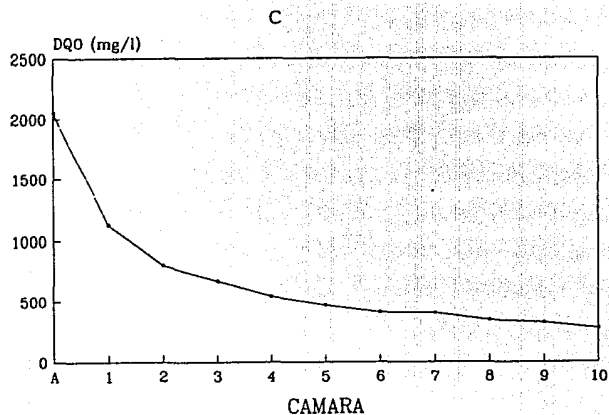
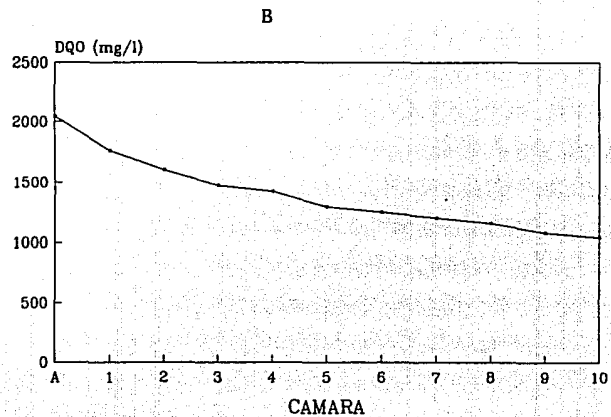
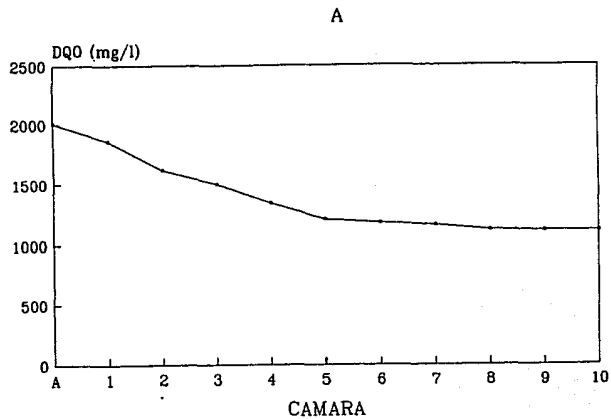


Fig. 8 Valores promedio de la demanda química de oxígeno (DQO) del líquido de alimentación de las muestras de licor mezclado de cada cámara del RBR a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C). (Tomado de Luna-Pabello, 1990)

Tabla 5. Valores promedio de DBO₅ y desviaciones estandar obtenidos durante las tres fases experimentales.

CAMARA DEL REACTOR	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 10 ° C DBO ₅ (mg/l)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 20 ° C DBO ₅ (mg/l)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 30 ° C DBO ₅ (mg/l)
A	585 ± 20	585 ± 5	588 ± 5
1	410 ± 10	535 ± 10	450 ± 15
3	320 ± 10	255 ± 20	260 ± 15
5	265 ± 15	140 ± 10	115 ± 5
7	235 ± 5	110 ± 5	45 ± 5
10	215 ± 5	95 ± 5	25 ± 5
EFICIENCIA GLOBAL DE REMOCION	63.14	84.10	95.78

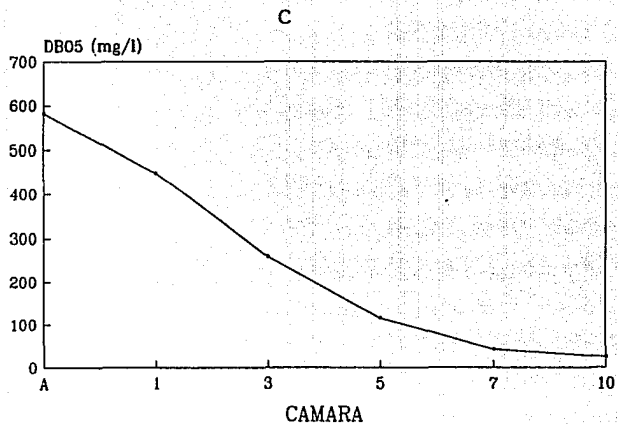
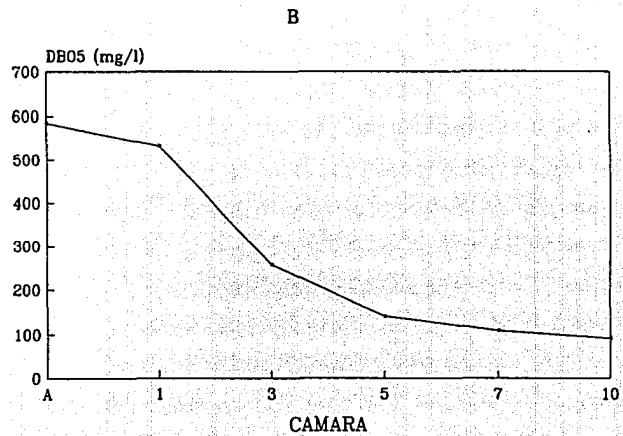
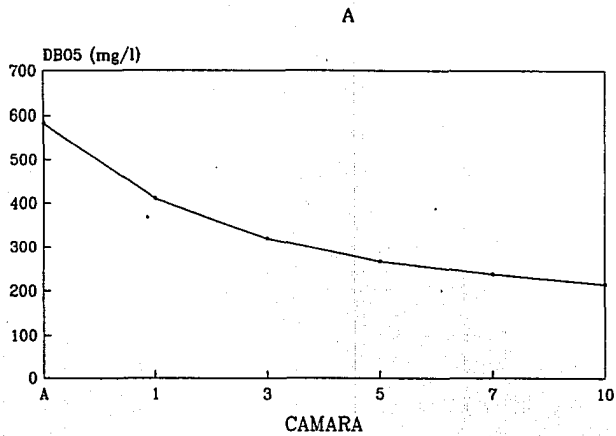


Fig. 9 Valores promedio de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) del líquido de alimentación de las muestras de licor mezclado de cada cámara del RBR a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

(Tomado de Luna-Pabello, 1990)

Tabla 6. Valores promedio y desviaciones estandar de los diferentes tipos de solidos obtenidos durante la fase experimental a 10 °C.

CAMARA DEL REACTOR	SOLIDOS TOTALES (ng/l)		
	TOTALES	VOLATILES	FIJOS
A	2400 ± 150.33	1395 ± 319.40	1005 ± 368.46
1	7137.5 ± 162.76	5817.5 ± 150.82	1320 ± 274.10
2	6132.5 ± 275.97	4870 ± 88.32	1262.5 ± 309.25
3	6667.5 ± 170.56	5410 ± 201.83	1257.5 ± 261.70
4	6760 ± 204.12	5345 ± 109.09	1415 ± 193.26
5	7032.5 ± 561.15	4967.5 ± 113.25	2065 ± 117.90
6	9790 ± 504.29	7402.5 ± 107.60	2387.5 ± 243.63
7	0647.5 ± 302.24	6340 ± 190.99	2307.5 ± 173.00
8	0072.5 ± 217.73	5102.5 ± 400.42	2090 ± 162.60
9	7002.5 ± 740.39	5690 ± 239.50	2112.5 ± 50.66
10	6435 ± 593.21	4255 ± 426.26	2100 ± 213.23

Tabla 7. Valores promedio y desviaciones estandar de los diferentes tipos de solidos durante la fase experimental a 20°C.

CAMARA DEL REACTOR	SOLIDOS TOTALES (mg/l)		
	TOTALES	VOLATILES	FIJOS
A	3415 ± 296.93	2202.5 ± 109.05	1212.5 ± 68.98
1	5367.5 ± 372.05	4490 ± 249.53	877.5 ± 37.75
2	5712.5 ± 168.21	4782.5 ± 266.88	930 ± 64.81
3	5517.5 ± 182.11	4677.5 ± 254.64	840 ± 82.87
4	5550 ± 255.21	4692.5 ± 109.04	857.5 ± 116.08
5	4405 ± 163.53	4447.5 ± 153.92	957.5 ± 106.18
6	4312.5 ± 97.77	3430 ± 200.83	882.5 ± 253.72
7	5127.5 ± 231.57	4232.5 ± 122.85	895 ± 17.32
8	4385 ± 328.76	3517.5 ± 145.00	867.5 ± 27.54
9	5730 ± 315.91	4652.5 ± 237.68	1077.5 ± 80.57
10	4367.5 ± 235.99	3515 ± 272.50	920 ± 18.26

Tabla 8. Valores promedio y desviaciones estandar de los diferentes tipos de solidos obtenidos durante la fase experimental a 38°C .

CAMARA DEL REACTOR	SOLIDOS TOTALES (mg/l)		
	TOTALES	VOLATILES	FIJOS
A	1515 ± 81.84	897.5 ± 87.78	617.5 ± 35.93
1	6842.5 ± 131.58	5587.5 ± 483.51	1255 ± 53.23
2	6487.5 ± 171.53	5787.5 ± 416.84	788 ± 58.87
3	8842.5 ± 385.51	6675 ± 258.16	1217.5 ± 254.44
4	9242.5 ± 276.45	6632.5 ± 434.54	2618 ± 183.68
5	8438 ± 383.24	6847.5 ± 91.21	2382.5 ± 114.92
6	5452.5 ± 393.81	2645 ± 58.88	2887.5 ± 91.79
7	1887.5 ± 51.88	987.5 ± 67.63	988 ± 33.41
8	1942.5 ± 12.58	767.5 ± 78.89	1175 ± 52.76
9	2888 ± 254.29	982.55 ± 45.18	1897.5 ± 129.26
10	2627.5 ± 123.86	1152.5 ± 136.81	1475 ± 48.21

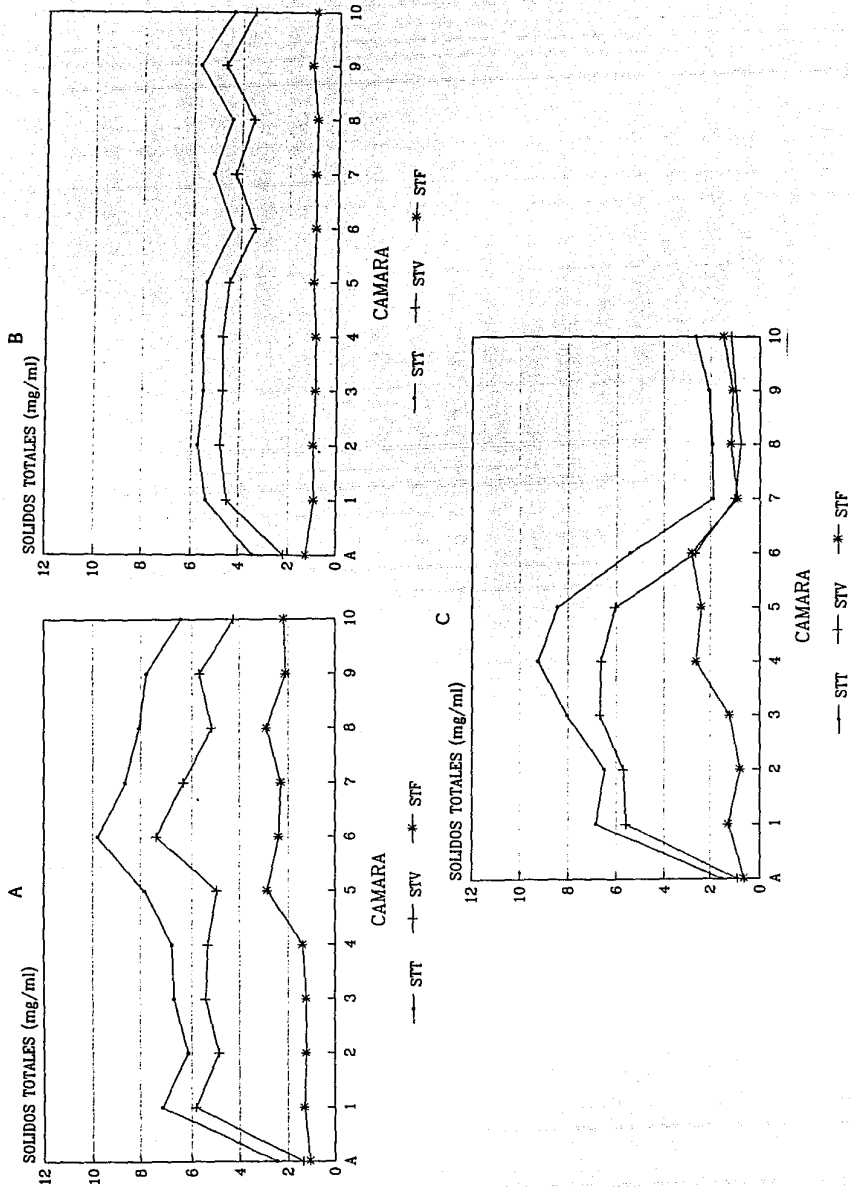


Fig. 10 Contenido de sólidos totales (STT), sólidos totales volátiles (STV) y sólidos totales fijos (STF) del líquido de alimentación de las muestras de licor mezclado de cada cámara del RBR a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

En esta misma fase experimental el comportamiento de los sólidos totales volátiles es muy parecido al de los sólidos totales, aunque la diferencia en la concentración de las cámaras 1 y 10 es mayor en el caso de los sólidos totales volátiles (27 %).

Con respecto a los sólidos totales fijos, puede decirse que aumentan de 1320 mg/l en la cámara 1 a 2180 mg/l en la cámara 10.

En la fase experimental realizada a 20° C se observa también un comportamiento muy parecido para los sólidos totales y los sólidos totales volátiles. Ambos tipos de sólidos se mantienen más o menos constantes de la cámara 1 a la cámara 6, después descienden en la cámara 6 y a partir de ella ascienden y descienden hasta que finalmente disminuyen en la cámara 10.

En la fase experimental realizada a 20° C se observa un comportamiento en la curva de sólidos totales y en los sólidos totales volátiles muy parecido al de la fase realizada a 10° C. Ambos tipos de sólidos se mantienen más o menos constantes de la cámara 1 a la cámara 5 (0.69 %). En la cámara 6 descienden y a partir de ahí ascienden y descienden, hasta que finalmente, disminuyen en la cámara 10. El porcentaje de variación de la cámara 1 a la cámara 10 es del 18.64 %.

A 20° C los sólidos totales fijos, se mantienen más o menos constantes presentando un incremento en la cámara 9 y un pequeño descenso en la 10. El valor final de sólidos totales fijos, es sólo un poco mayor que en la cámara inicial (4.84 %). Esto indica sólo un pequeño porcentaje de la mineralización de la materia orgánica.

Cuando la temperatura de experimentación fue de 30° C se tuvieron resultados similares en los valores de sólidos totales y sólidos totales volátiles. En esta fase se observa en la concentración de ambos tipos de sólidos tiende a incrementarse de la cámara 1 a la cámara 5 y a partir de ahí descienden considerablemente. En el caso de los sólidos totales, el porcentaje de disminución en la concentración en la cámara 1 a la cámara 10 es de 61.6 %. Los sólidos totales volátiles, disminuyen de la cámara 1 a la cámara 10 en un 79.38 %.

Con respecto a los sólidos totales fijos, aunque los valores presentan oscilaciones mayores que a 10 y 20° C, también se observa un pequeño aumento en el valor de los mismos.

Analizando los resultados obtenidos puede inferirse que las mayores concentraciones en los tres tipos de sólidos se registran a 10° C, después se encuentran las concentraciones registradas a 30° C y finalmente las de 20° C. La tendencia general de los STT y los STV es disminuir a lo largo del proceso depurativo, independientemente de la temperatura de operación del sistema. A 10 y 20° C esta disminución es pequeña, sin embargo es bastante considerable a 30° C.

En el caso de sólidos totales fijos, el comportamiento también es similar en las tres fases experimentales; en todos los casos hay incremento en la concentración de estos sólidos, presentándose el mayor a 10° C.

De los resultados de sólidos anteriormente presentados puede inferirse que la cantidad de materia orgánica disminuye en cada una de las fases experimentales transformándose en microorganismos suspendidos.

La cantidad de compuestos orgánicos biodegradables en solución, medida como demanda bioquímica de oxígeno en cinco días (DBO_5) y la cantidad de microorganismos presentes en el sistema de tratamiento, incluyendo bacterias, protozoarios y micrometazoarios, medida como sólidos totales volátiles (STV), pueden analizarse una en función de la otra. Los resultados muestran que si se hace una comparación entre DBO_5 y STV se observa que cuando se tuvo un valor bajo de sólidos totales volátiles, el valor registrado para DBO_5 fue alto y viceversa. Esto quiere decir que cuando las poblaciones de microorganismos fueron bajas, la cantidad de compuestos orgánicos solubles presentes en el medio se mantuvo en niveles altos al no haber gran demanda y/o disposición de alimento por parte de la población de microorganismos. Por el contrario, cuando el número de microorganismos aumentó en el sistema, la cantidad de los compuestos orgánicos solubles disminuyó (Figs. 9 y 10).

La magnitud de estos valores numéricos (tanto de STV como de DBO_5) se muestra altamente influenciada por la temperatura de operación del reactor. Estos resultados son de esperarse ya que la actividad metabólica de los microorganismos se ve afectada por la temperatura. A 30°C se tuvo mayor abundancia de microorganismos en el sistema que a 10°C y consecuentemente, la mayor degradación de material orgánico soluble también se presentó a 30°C .

5.2. Análisis microbiológico

a) Bacterias

La cuenta en placa se realizó una vez cada tercer día durante dos semanas para cada temperatura experimental.

Los resultados de la cuenta unidades formadoras de colonias (u.f.c.) de bacterias se dan de las tablas 9 a 11. A partir de estas tablas se construyeron gráficas del número unidades formadoras de colonias versus cámara del reactor incluyendo el tanque de alimentación. Los resultados se muestran en la figura 11. Las gráficas de la figura 12 expresan los resultados obtenidos en forma de logaritmo.

Durante la fase experimental realizada a 10° C los números de u.f.c. de bacterias mesófilas aerobias fueron los más bajos que se registraron. En todas las muestras tomadas se observa que la abundancia de los microorganismos fue, en general, mayor en la primera cámara que en las restantes, en las cuales las bacterias presentan una tendencia homogénea a disminuir, probablemente debido a que a medida que tan pronto como se desarrollan las poblaciones de bacterias aparecen los protozoarios, quienes las consumen.

En la fase efectuada a 20° C se presentan oscilaciones en el número de bacterias, observándose una tendencia a la disminución.

A 30° C se presentan oscilaciones muy marcadas en la abundancia de bacterias. Independientemente del número de microorganismos que se registre en la cámara inicial, hay una tendencia a la disminución.

Si se compara la densidad poblacional de u.f.c. de bacterias/ml con la de protozoarios y micrometazoarios se observa que ésta no se vio claramente modificada por el desarrollo de poblaciones de protozoarios y micrometazoarios. A partir de esto puede decirse, tomando en cuenta las altas concentraciones de bacterias, que el abasto de alimento para protozoarios y micrometazoarios fue mayor de lo que dichos microorganismos demandaban, razón por la cual se infiere que no hubo competencia entre ellos por alimento.

El crecimiento bacteriano estuvo fuertemente afectado por la temperatura de operación del reactor. A 10° C las poblaciones bacterianas tuvieron escaso desarrollo (valores del orden de millones), mientras que a 30° C la densidad aumentó considerablemente (valores del orden de billones). Sin embargo, hubo una tendencia a la disminución en el número de poblaciones bacterianas hacia el final del reactor en cada una de las fases experimentales de temperatura.

Con respecto a la remoción de materia orgánica disuelta del efluente puede decirse que aún en condiciones de microaerobiosis (cámara 1 a 3) se tuvieron altos consumos de materia orgánica. En general estos consumos son mayores en proporción que los logrados en condiciones aerobias. Esto puede corroborarse

Tabla 9. Cuenta total de bacterias mesofilas aerobias en muestras del liquido de alimentacion y camaras del RBR a 18° C

CAMARA REACTOR	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS/ml							
		Log 10		Log 10		Log 10		Log 10
A	5×10^6	6.30	3.5×10^6	6.30	1.1×10^7	7.26	4.5×10^7	7.53
1	1.8×10^9	9.18	3×10^8	8.48	1.5×10^9	9.15	1.7×10^9	9.26
2	1.7×10^8	8.23	6.5×10^7	7.93	4.9×10^8	8.78	4.9×10^8	8.69
3	1.9×10^8	8.38	3.5×10^8	8.54	1.6×10^8	8.18	1.4×10^9	8.96
4	4×10^7	7.53	1.3×10^8	8.11	1.3×10^8	8.04	2×10^9	9.30
5	1.4×10^8	8.11	1.4×10^8	8.34	1.7×10^8	8.28	1×10^9	8.84
6	1.6×10^8	8.18	1.9×10^8	8.38	2.7×10^8	8.32	3.7×10^8	8.68
7	1.1×10^8	7.97	1.1×10^8	8	1.1×10^8	8	1.5×10^8	8.87
8	1×10^8	8	7.3×10^7	7.85	2×10^8	8.28	1.9×10^8	8.28
9	6.5×10^7	7.78	1×10^8	8.84	1.8×10^8	8.23	1.1×10^8	7.97
10	1.4×10^8	8.18	6.2×10^7	7.93	1.2×10^8	8	6.8×10^7	7.84
FECHA	2 OCTUBRE		4 OCTUBRE		9 OCTUBRE		11 OCTUBRE	

Tabla 10. Cuenta total de bacterias mesofilas aerobias en muestras del liquido de alimentacion y canaras del RBR a 20° C

CAMARA REACTOR	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS/ml							
	Log 10		Log 10		Log 10		Log 10	
A	3×10^8	8.48	2.1×10^8	8.32	3×10^7	7.48	1×10^7	7
1	1.1×10^9	9.02	5.6×10^8	8.74	6.1×10^8	8.78	1.7×10^8	8.22
2	7.6×10^8	8.88	6.1×10^8	8.78	2.4×10^9	9.38	1.6×10^8	8.20
3	3.3×10^8	8.52	5×10^8	8.70	1.2×10^8	8.06	1.8×10^8	8.24
4	5.7×10^9	9.76	$5. \times 10^8$	8.77	6.3×10^8	8.80	2.1×10^8	8.32
5	4.4×10^8	8.64	4.3×10^8	8.64	1.2×10^8	8.06	8×10^8	8.90
6	3.2×10^8	8.50	4.3×10^8	8.63	4.3×10^8	8.63	7.5×10^8	8.88
7	1.4×10^8	8.15	4×10^8	8.60	2.2×10^8	8.34	6×10^7	7.78
8	1.1×10^9	9.02	5.6×10^8	8.74	2.3×10^8	8.36	3.5×10^7	7.54
9	3.7×10^8	8.57	1.3×10^8	8.11	1.9×10^8	8.27	7.5×10^7	7.88
10	5.7×10^8	8.76	3.3×10^8	8.51	2.2×10^8	8.34	6×10^7	7.78
FECHA	12 JUNIO		14 JUNIO		19 JUNIO		21 JUNIO	

Tabla 11. Cuenta total de bacterias mesofilas aerobias en muestras del liquido de alimentacion y camaras del RBR a 38 ° C

CAMARA REACTOR	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS/ml							
		Log 10		Log 10		Log 10		Log 10
A	2×10^7	7.30	0	0	0	0	2.7×10^9	9.43
1	1.3×10^8	8.11	5.4×10^8	8.73	1.2×10^9	9.09	1.2×10^{10}	10.06
2	6×10^7	7.70	1.2×10^8	8.08	6.4×10^8	8.81	1×10^7	7
3	1×10^7	7	8.5×10^7	7.99	1×10^{10}	10.02	4.9×10^9	9.6
4	1.8×10^8	8.30	2.5×10^8	8.39	9.1×10^9	9.96	5.7×10^9	9.76
5	5×10^7	7.70	1.5×10^9	9.19	1.7×10^8	8.23	6.9×10^8	8.84
6	4×10^7	7.60	1.1×10^9	9.06	3.2×10^8	8.51	1.7×10^9	9.22
7	1×10^7	7	2.9×10^8	8.45	9×10^7	7.95	1×10^9	9.02
8	4.9×10^8	8.7	2.5×10^7	7.40	1.6×10^9	9.21	4.6×10^8	8.66
9	3×10^7	7.40	3.4×10^9	9.53	2.7×10^8	8.42	2×10^8	8.30
10	1×10^7	7	9×10^7	7.95	3.7×10^8	8.57	1.6×10^{10}	10.21
FECHA	14 AGOSTO		16 AGOSTO		21 AGOSTO		23 AGOSTO	

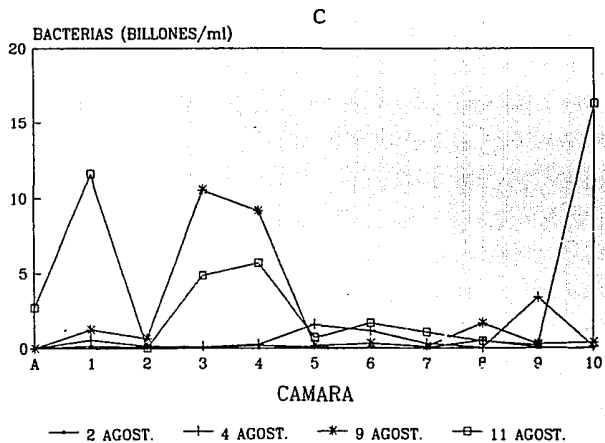
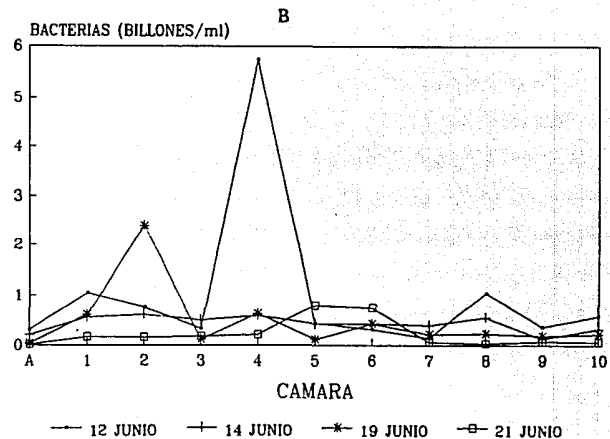
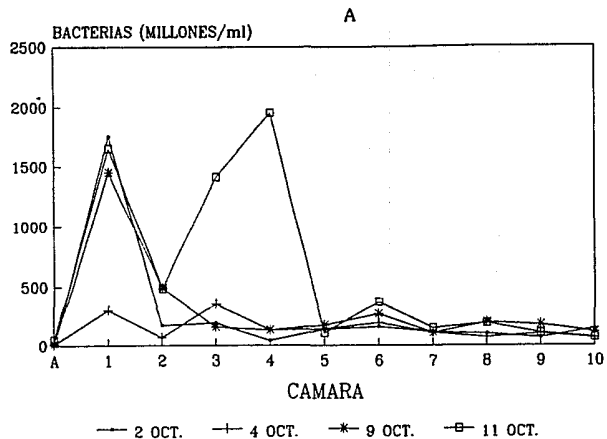
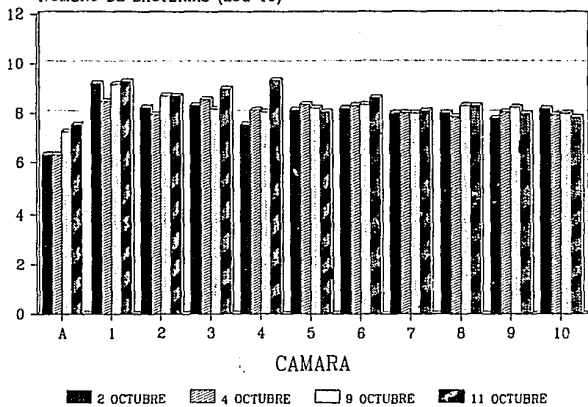


Fig. 11 Unidades formadoras de colonias (U.F.C.) de bacterias mesófilas aerobias en el licor mezclado a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

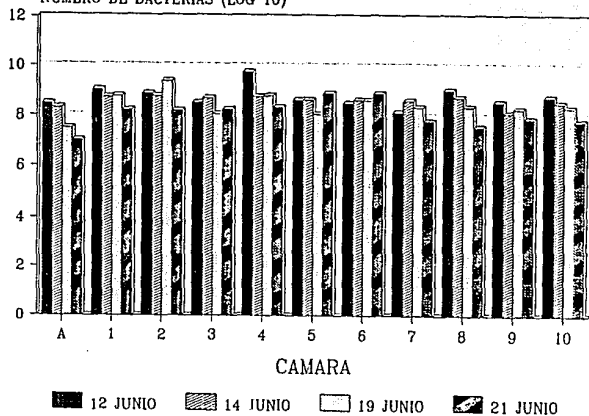
A

NUMERO DE BACTERIAS (LOG 10)



B

NUMERO DE BACTERIAS (LOG 10)



C

NUMERO DE BACTERIAS (LOG 10)

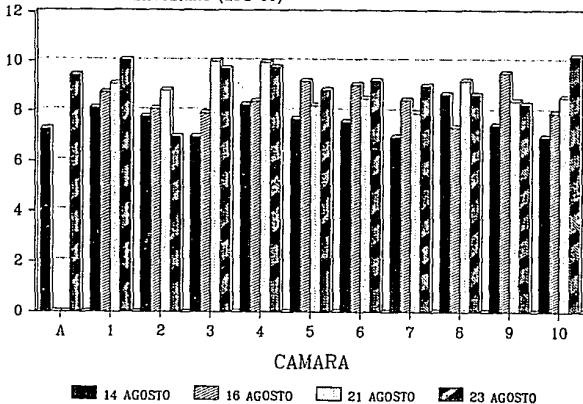


Fig. 12 Gráficas del crecimiento de las poblaciones de bacterias mesófilas aerobias expresado en logaritmos a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

a partir de las gráficas de oxígeno disuelto, DQO y DBO₅. La diferencia entre los valores de DQO y DBO₅ registrados es mayor en las primeras cámaras del reactor que en las últimas. Así mismo en las primeras cámaras se registran los valores más bajos de oxígeno y en las últimas los más altos.

b) Protozoarios y micrometazoarios

Los análisis al microscopio del contenido de microorganismos en el licor mezclado mostraron la presencia de ciliados, flagelados, amibas, rotíferos y nemátodos. Además se encontraron hifas de hongos y levaduras. Con respecto a los ciliados se encontraron miembros del grupo de los himenostomados. El grupo de rotíferos tuvo representantes de la familia Brachionidae, Philodinidae y Notommatidae. Los nemátodos encontrados correspondieron a la familia Rhabditidae. En general estos microorganismos son habitantes comunes de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Los resultados de la cuantificación de estos organismos se muestran de las tablas 12 y 13. A partir de estas tablas se obtuvieron gráficas que permiten un análisis de estos resultados en forma más clara.

Se realizaron varios tipos de gráficas que muestran la abundancia de los microorganismos. En la figura 13 se muestran gráficas de la abundancia comparativa de protozoarios y micrometazoarios en la totalidad del reactor haciéndose una suma de los microorganismos encontrados en todas las cámaras (cámara 1 a 10) para cada una de las fases experimentales de temperatura.

La figura 14 también muestra la abundancia comparativa de los microorganismos para cada temperatura, pero toma en cuenta los grupos de protozoarios, rotíferos y nemátodos.

De cada una de las gráficas anteriores se hicieron otras con los porcentajes de abundancia (Figs. 15 y 16).

Las gráficas de la figura 17 muestran la abundancia comparativa de protozoarios y micrometazoarios para cada una de las fases del experimento pero, a diferencia de las de la figura 13, considera los valores registrados para cada cámara del reactor.

A partir de los datos anteriores puede decirse, con respecto a la abundancia de protozoarios y micrometazoarios que, en todas las fases experimentales, las poblaciones de protozoarios exceden claramente a las de micrometazoarios. El mayor número de protozoarios se presenta a 20° C y el menor a 10° C (Fig. 14). La mayor abundancia de micrometazoarios se registra a 30° C, con un porcentaje de 25%, y la menor a 10° C, con un porcentaje del 11% (Fig. 15).

Con respecto a los micrometazoarios se observa que el grupo más abundante es el de los rotíferos, mostrando el mayor porcentaje de abundancia (24%) a 30° C. A 20° C descienden al 9%, manteniéndose con ese porcentaje aunque la temperatura disminuya a 10° C (Fig. 16). Estos resultados son diferentes a los encontrados en la bibliografía, ya que según lo citado en Curds (1975) los rotíferos poseen una relativa incapacidad para responder aún a pequeños cambios ambientales.

Tabla 12. Número de protozoarios, y micrometazoarios en cada temperatura experimental.

MICROORGANISMOS	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 18 °C (no. m.o./ml)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 28 °C (no. m.o./ml)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 30 °C (no. m.o./ml)
PROTOZOARIOS	67228	94268	69318
MICROMETAZOARIOS	8218	13358	22598
SUMA	75438	107618	91988

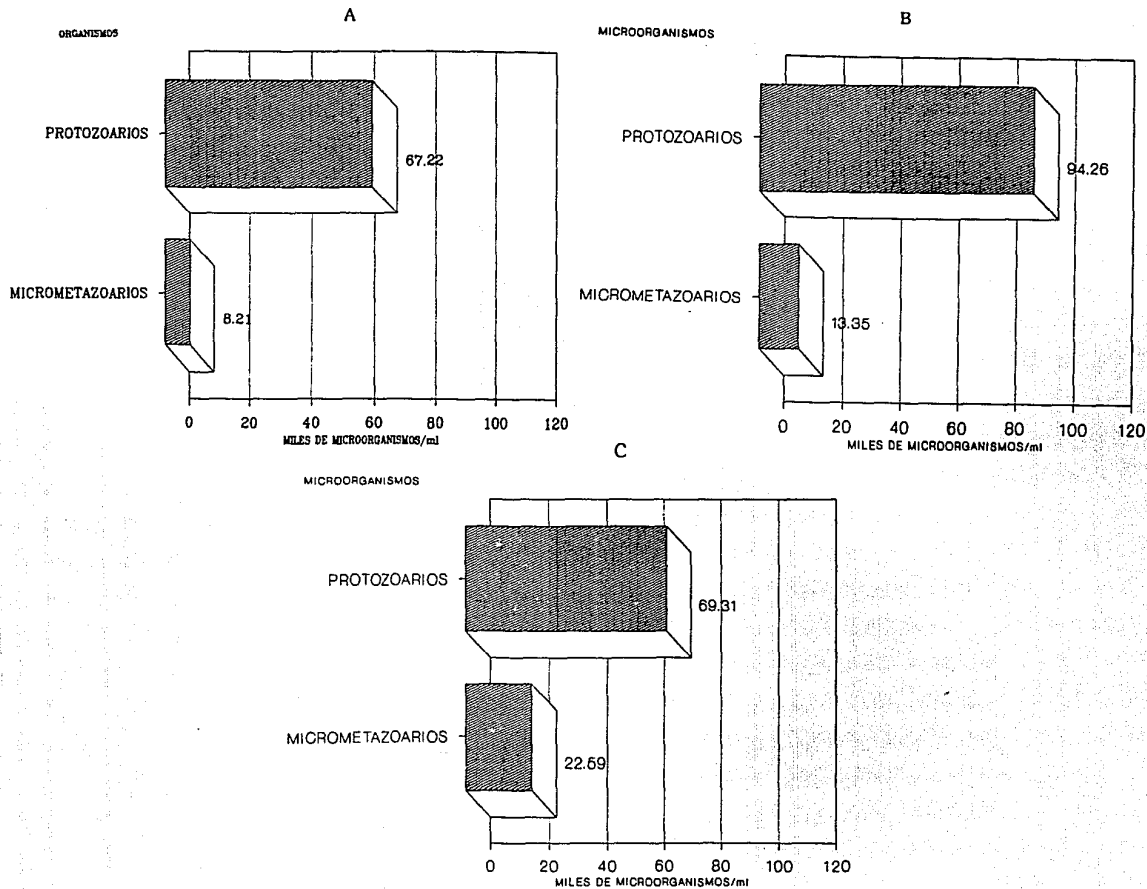


Fig. 13 Abundancia total de protozoarios y micrometazoarios a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

Tabla 13. Número de protozoarios, rotíferos y nematodos en cada temperatura experimental.

MICROORGANISMOS	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 10 °C (no. M.o./ml)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 20 °C (no.M.o./ml)	TEMPERATURA EXPERIMENTAL 30 °C (no.M.o./ml)
PROTOZOARIOS	67220	94268	69310
ROTIFEROS	6968	9220	22390
NEMATODOS	1250	4130	280
SUMA	75438	107618	91980

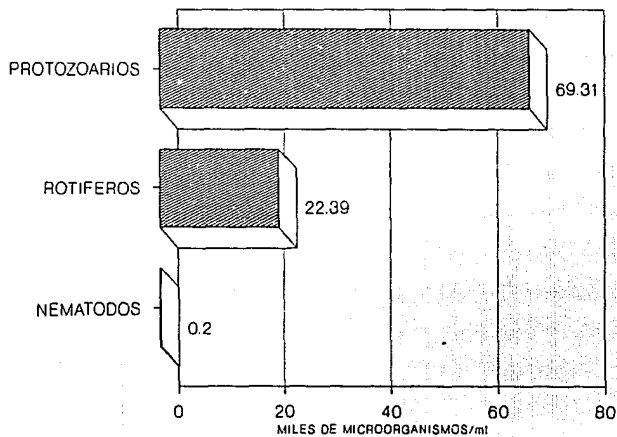
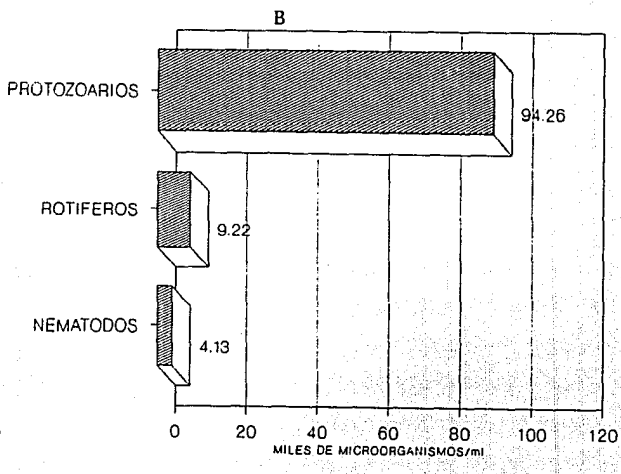
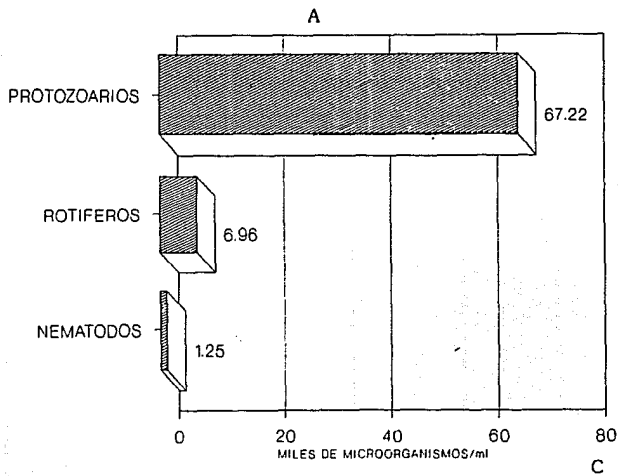
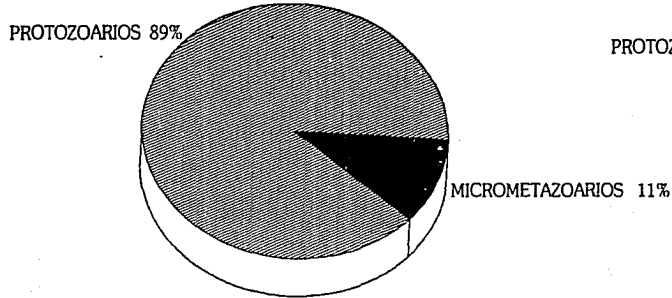
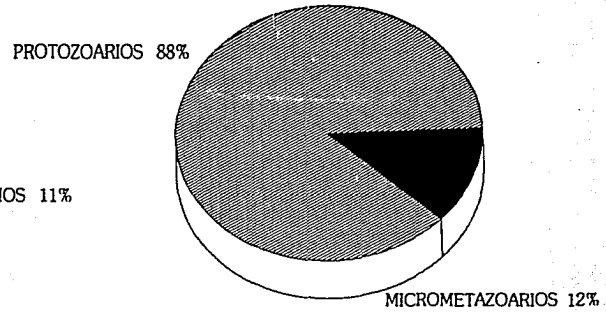


Fig. 14 Abundancia total de protozoarios, rotíferos y nemátodos a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

A



B



C

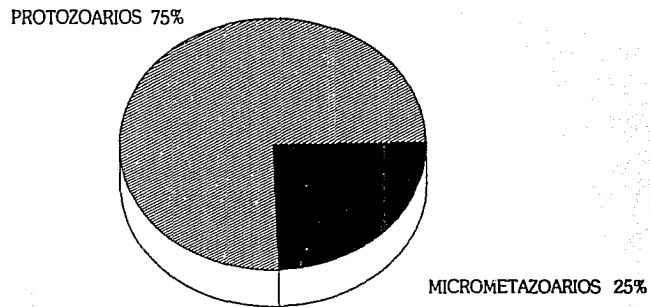


Fig. 15 Porcentaje total de protozoarios y micrometazoarios a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C. (C)

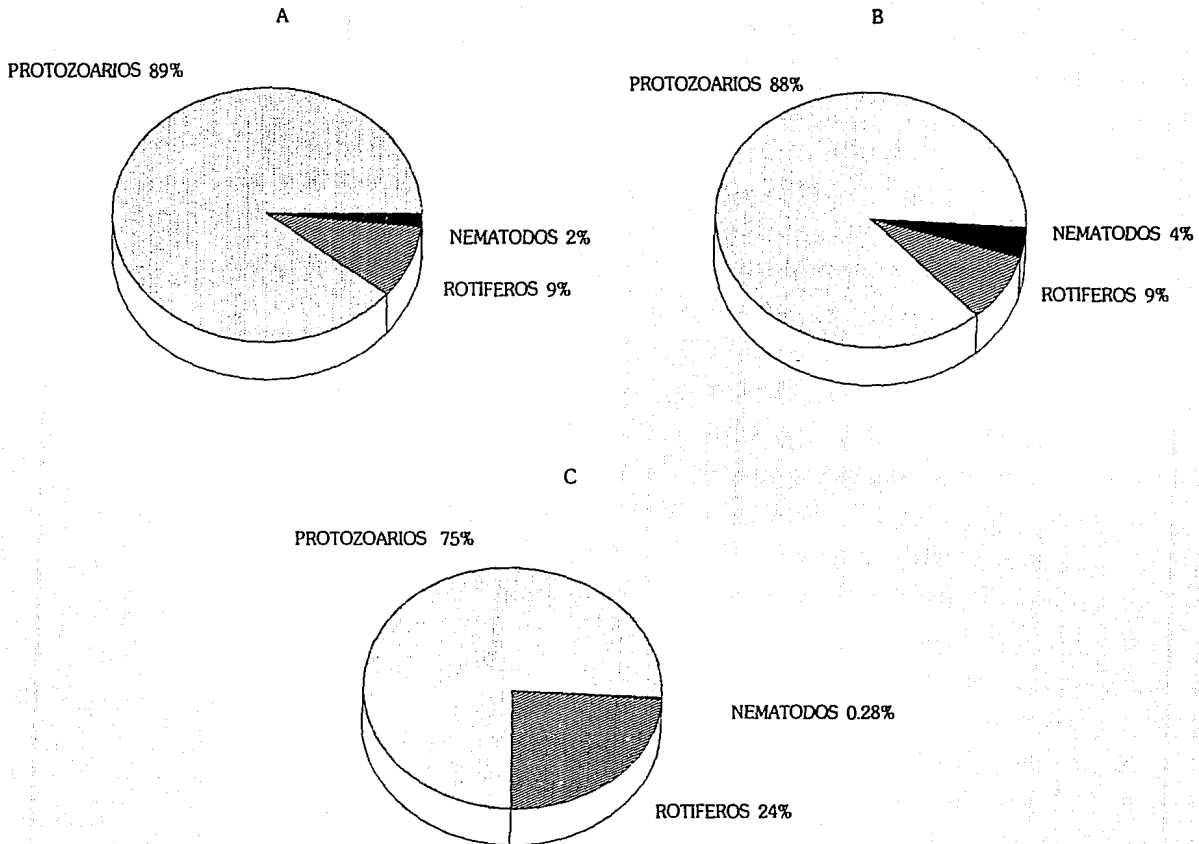


Fig. 16 Porcentaje total de protozoarios, rotíferos y nemátodos a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

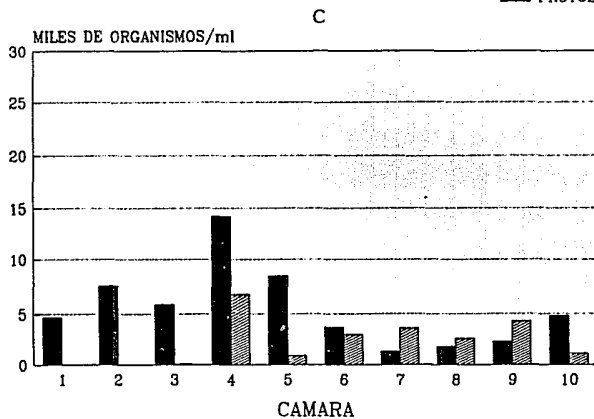
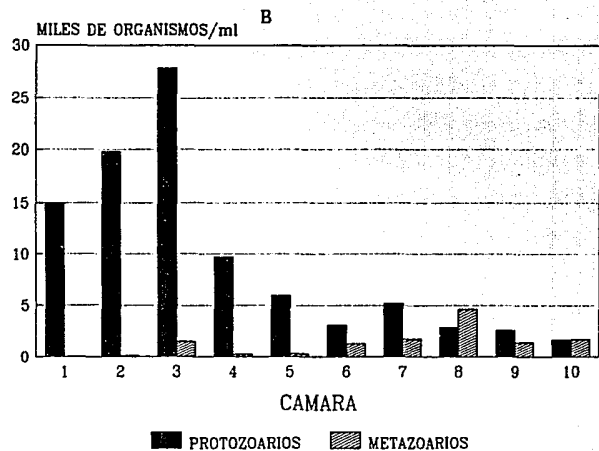
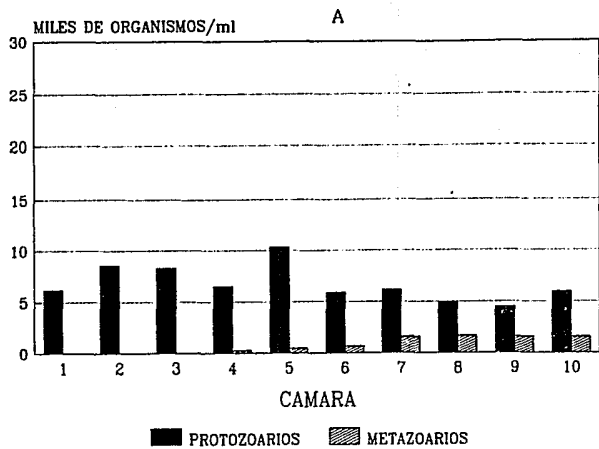


Fig. 17 Abundancia y distribución de protozoarios y micrometazoarios en cada cámara del reactor a 10°C (A), 20°C (B) y 30°C (C).

Analizando las gráficas que muestran comparativamente los valores numéricos de protozoarios y micrometazoarios obtenidos para cada una de las cámaras del reactor (Fig. 17) se tiene que en la fase realizada a 10° C la abundancia de protozoarios más o menos homogénea en todas las cámaras del reactor. Con respecto a los micrometazoarios puede decirse que están ausentes en las cámaras 1 y 3, en la cámara 2 su presencia apenas es perceptible. A partir de la cámara 4 se manifiestan más claramente y tienden a incrementar su número hasta que en las tres últimas cámaras permanecen casi constantes. Sin embargo, a pesar de este incremento no alcanzan los valores numéricos que presentan los protozoarios. El valor más alto en el número de micrometazoarios no alcanza ni la mitad del valor mínimo que los protozoarios presentan.

En la fase realizada a 20° C, la abundancia de los protozoarios es la más grande que se registra para estos organismos en las tres primeras cámaras, alcanzando valores que sobrepasan en más del doble los valores correspondientes en las otras dos fases experimentales. A partir de la cámara 4 hay un decremento en el número de estos microorganismos que continúa hasta las últimas cámaras. Con respecto a los micrometazoarios no se tiene una tendencia muy clara. En las dos primeras cámaras están prácticamente ausentes, en las cámaras 3, 4 y 5 el número de estos microorganismos con respecto a los protozoarios es muy pequeño, a partir de la cámara 6 el número de micrometazoarios se incrementa y su población constituye la mitad de la población de protozoarios. En la última cámara las poblaciones de micrometazoarios y protozoarios son prácticamente iguales, estos últimos muestran una notable disminución (93.64 %) comparadas con su abundancia en las primeras cámaras.

A la temperatura de 30° C las poblaciones de protozoarios presentan una tendencia a incrementarse en las cuatro primeras cámaras. Aunque a partir de la quinta cámara parecen disminuir, se observa en la octava cámara un pequeño despunte, no obstante los valores numéricos presentados en estas cámaras se encuentran entre los más pequeños que se registraron durante las tres fases del experimento. En estas últimas cámaras (7, 8 y 9) excepto la 10, los valores numéricos de micrometazoarios exceden los valores de los protozoarios.

La mayor densidad en las poblaciones de protozoarios con respecto a las de micrometazoarios en las tres fases experimentales es más evidente a 20° C (Fig. 17). Además en ellas se observa que la presencia de micrometazoarios es más evidente en las 4 últimas cámaras del reactor, sin que alcancen grandes números en comparación con los protozoarios.

6.- CONCLUSIONES

Como conclusiones del presente trabajo se tienen las siguientes:

- La remoción de compuestos orgánicos disueltos está altamente relacionada con la temperatura de operación del reactor. La mayor remoción de compuestos orgánicos se alcanzó durante la fase realizada a 30° C, y la menor a 10° C

-Los sólidos totales y los sólidos totales volátiles disminuyen a lo largo del proceso depurativo independientemente de la temperatura de operación del sistema, mientras que los sólidos totales fijos, aumentan

- La abundancia de los microorganismos presentes en el sistema de tratamiento estuvo fuertemente afectada por la temperatura de operación del reactor. En general, a medida que aumentó la temperatura el número de microorganismos se incrementó.

-Las bacterias y los rotíferos registraron su mayor abundancia a 30° C.

-Los protozoarios y los nemátodos registraron su mayor abundancia a 20° C.

-La distribución de los microorganismos varía, pero al parecer no está muy influenciada por la temperatura de operación del reactor.

-Las bacterias presentan grandes números en las 5 primeras cámaras del reactor y después disminuyen. Este hecho puede asociarse con la cantidad de materia orgánica medida como DQO y DBO₅, ya que en las cinco primeras cámaras se encuentra también la mayor cantidad de materia orgánica y al disminuir ésta disminuye también el número de bacterias.

-Los protozoarios están presentes en todas las cámaras del reactor, mientras que los micrometazoarios se hacen más evidentes a partir de la cuarta cámara del reactor.

-En general, los intervalos de los parámetros fisicoquímicos registrados a lo largo del experimento no afectaron de manera clara la distribución de los microorganismos, sin embargo la abundancia se ve claramente afectada por la temperatura.

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.; 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., Rotating discs fulfill dual wastewater role. *Water and Waste Engineering*, 8 (1971) 37-38.

A.P.H.A. 1981. *Standard Methods for Examination of Water and Waste Water*. 14a. Ed. Washington, E.U.A. 1134 pp.

Cairns, J.; Lanza, R. G.G. y Parker, C.B. 1972. Pollution related structural and functional changes in aquatic communities with emphasis in freshwater algae and protozoa. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 124 (5): 79-127.

Castro, J.M. y Villegas, R. 1989. Obtención de proteína microbiana empleando como sustrato vinazas de ingenios azucareros-alcoholeros. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P. México. 101 pp.

Curds, C.R. 1975. *Ecological Aspects of Used-Water Treatment*. Ed. Curds, C.R. y Hawkes, H.A. Academic Press. Inglaterra. pp.

Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970. Protozoa in biological sewage treatment process. II. Protozoa as indicators in the activated sludge process. *Wat. Res.*, 4 237-249

Duncan, M.D. 1976. *Sewage Treatment in Hot Climates* John Wiley and Sons. Pub. Co. Londres, Inglaterra. 168 pp.

Escárcega, C.A. y Pulido, R. 1986. Modelo cinético para un reactor biológico rotatorio usado en el tratamiento aerobio de efluentes. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México D.F. 193 pp.

Fair, G.M.; Geyer, J.C. y Okun, D.A. 1979. Purificación de aguas y tratamiento y remoción de aguas residuales. LIMUSA. México. 769 pp.

García, G. 1988. Producción de proteína microbiana a partir del tratamiento biológico aerobio de las aguas residuales de un ingenio azucarero. Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F. 89 pp.

Gayford, C.G. y Richards J.P. 1970. Isolation and Enumeration of Aerobic Heterotrophic Bacteria in Activated Sludge. *J. Appl. Bact.*, 33 342-350.

Goodey, T. 1963 *.Soil and Freshwater Nematodes*. John Willey and Sons Inc. 544 pp.

González, M.S.; Pedroza de Brenes, R.; Durán de Bazúa, C. y Norouzian, M. 1985. Treatment of wastewater from the alkaline cooking of maize in RBC-System. En Proc. Speciality Conf., Environm. Eng. Div., ASCE. Ed. J.C. O Shaughnessy, Boston, EUA. Pp. 606-613.

Kinner, N.E. 1984. An evaluation of the feasibility of using protozoa and metazoa as indicator of RBC effluent quality. Second International Conference on Fixed-Film Biological Processes. Arlington, Virginia.U.S.A. 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. The microbiology of rotating biological contactor. In First International Conference of Fixed-Film Biological Processes. Kings Island, Ohio, EUA. 1:184-209.

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.

Kudo, R. R. 1969. *Protozoología*. CECSA. México D.F. 905 pp.

Luna-Pabello, V.M. 1987. Estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema de tratamiento por medio de "biodiscos". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, D.F. 86 pp.

Luna-Pabello, V.M. Durán de Bazúa, C.; Mayén-Estrada, R.; Aladro- Lubel, Ma. A.; Olvera-Viascán, 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: 109-132.

Luna-Pabello, V.M. 1990. Efecto de la temperatura en las poblaciones de protozoarios ciliados en un reactor de "biodiscos" Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, D.F. 115 pp.

Moreno, R. G. 1985. Análisis de protozoarios en un sistema de biodiscos empleado en la planta de tratamiento de C.U. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 90 pp.

Margulis, L. y Schuwartz, K.V. 1981. *Cinco reinos. Guía Ilustrada de los phyla de la vida en la Tierra*. Ed. Labor. Barcelona , España. 335 pp.

Meglitsch, P.A. 1978. *Zoología de Invertebrados*. Ciencias de la Naturaleza. H. Blume Ediciones. México, D.F. 906 pp.

Norouzian, M. 1984. A microbiological study of structurally modified RBC system. Second International Conference on Fixed- Film Biological Processes. Arlington, Virginia.U.S.A. 2:123-142.

Pennak, R.W. 1953. *Fresh-water Invertebrates of the United States*. Ronald Press Co. New York. 769 pp.

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 efluente de la nixtamalización. Tesis de Maestría. Universidad Iberoamericana. México D.F. 163 pp.

Pretorius, W.A. 1987. A conceptual basis for microbial selection in a biological wastewater treatment. *Wat. Res.*, 21(8):891-894.

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.

Sládeček, V. 1973. System of water quality from the biological points of view. *Arch. Hydrobiol.*, 7:1-218.

Valderrama, B. 1989. Estudios químicos y biológicos de la biomasa microbiana generada en un sistema aerobio de tratamiento de aguas residuales de la industria alimentaria. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. U.N.A.M. México D.F. 85 pp.

Winkler, M.A. 1986. *Tratamiento biológico de aguas de desecho*. Edit. Limusa, México, D. F. 338 pp.

APENDICE

A-1.DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO(DQO)*

METODO VOLUMETRICO DE REFLUJO CON DICROMATO DE POTASIO (APHA, 1981)

FUNDAMENTOS:

El método se basa en una oxidación enérgica de la materia orgánica y la 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 se determina con una solución valorada de sulfato ferroso amoniacal, en presencia de un complejo ferroso de ortofenantrolina (ferroín indicador) como indicador interno.

INTERFERENCIAS:

Las sustancias inorgánicas como los iones ferroso (Fe^{++}), sulfato ($S=$), sulfitos (SO_3) y tiosulfitos (S_2SO_3) se oxidan bajo ciertas condiciones y crean una DQO inorgánica, la cual interfiere cuando se estima el contenido del agua residual.

El ion cloruro interfiere, pero se elimina al agregar el sulfato mercúrico.

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 concentrado
- Solución indicadora de ferroín
- Solución de sulfato ferroso amoniacal para la valoración en una concentración aproximada de 0.05 N
- Sulfato mercúrico

*Tomado de Luna-Pabello, 1987

PROCEDIMIENTO:

Tratamiento de la muestra

- 1.- Centrifugar las muestras por analizar (3 600 rpm a 5° C durante 15 min).
- 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 mercúrico
 - 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 en la parrilla eléctrica, manteniéndolas en reflujo 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.

CALCULO

La fórmula empleada es la siguiente :

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

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 alicuota de 10 ml para la determinación.

Normalidad del sulfato ferroso amoniacal (SFA)

En un matraz se coloca :

- 10 ml de dicromato de potasio 0.05 N
- 40 ml de agua destilada
- 10 ml de ácido sulfúrico concentrado (enfriado 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 pardo rojizo.

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

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

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

A-2.DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO EN CINCO DIAS (DBO₅)*

METODO DE INCUBACION A 20° C

FUNDAMENTO:

El método se basa en la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de 5 días de incubación a 20° C.

INTERFERENCIAS:

Interfieren con la determinación de DBO₅, la acidez o alcalinidad presentes en las aguas, el cloro residual, una sobresaturación de oxígeno disuelto, la presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos y los procesos de nitrificación.

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

Nota: La extrapolación de los resultados de DBO₅ 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 la DBO₅ realizados en circunstancias diferentes.

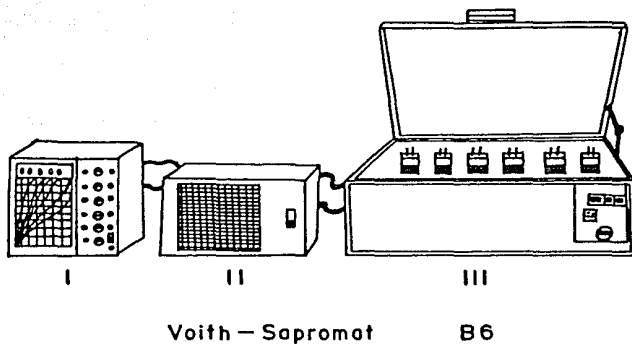
En la determinación de la DBO₅ se utilizó el aparato Vortin- Sapromat B6 el cual proporciona los requerimientos especificados por la APHA (1981).

DESCRIPCION DEL APARATO VOITH-SAPROMAT B6 220V, 60 Hz.

El Sapromat tipo B6 (6 unidades) consiste de un graficador directo de curvas de descomposición, una unidad de enfriamiento y un baño de agua con temperatura regulada el cual contiene seis unidades de medición (Fig.1).

Cada unidad de medición (Fig.2) está formada por un vaso de reacción (C), con un captador de CO₂ (3) montado en el tapón, un generador de oxígeno (B), y un indicador de presión (A), interconectadas con mangueras. El vaso del sistema de medición está sellado, así que las fluctuaciones de la presión del aire (barométricas) no afectan adversamente los resultados.

*Tomado de Luna-Pabello, 1990



I Graficador de curvas

II Unidad de enfriamiento

III Baño de agua con temperatura controlada

Fig. 1 Sapromat tipo B6 (Tomado de Luna -Pabello, 1987)

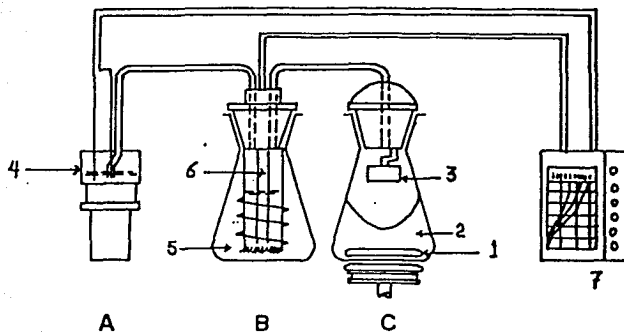


Diagrama de una unidad de medición

A. Indicador de presión

B. Generador de oxígeno

C. Vaso de reacción

1. barra magnética

2. muestra (250)ml.)

3. captador de CO₂

4. indicador de presión

5. electrolito

6. electrodos

7. registro (graficador)

Fig. 2. Diagrama de una unidad de medición (Tomado de Luna-Pabello, 1987)

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

La actividad de los microorganismos en la muestra crea un vacío que es registrado por un indicador de presión. Este regula tanto el oxígeno generado electrolíticamente como la indicación y la gráfica de los valores medidos (Puntos 5, 6 y 7 de la Fig.2).

Cuando el análisis del efluente (por determinación de valores de KMnO_4 o de demanda química de oxígeno (DQO) indica que la DBO_5 puede exceder de 1000 mg O_2/l , entonces se diluye la muestra. En el presente trabajo la dilución empleada fue de cinco, ya que empleaban 50 ml de muestra no diluida más 200 ml de agua corriente, dado que la DQO inicial (alimentación) era de 5000 mg O_2/l .

El valor numérico aparecido en el indicador digital y el de la línea de puntos graficada deben ser multiplicados por el factor de dilución "f"

$$\begin{array}{r} \text{VT} \\ \text{f}=\text{-----} \\ \text{X} \end{array} \qquad \begin{array}{r} 250 \\ \text{f}=\text{-----} = 5 \\ 50 \end{array}$$

donde :

VT= volumen total (ml)

X= volumen de muestra no diluida (ml)

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Obtención de muestras centrifugadas provenientes tanto de la alimentación como de las cinco cámaras (1, 3, 5, 7 y 10) que forman parte del sistema de tratamiento (3 600 rpm a 5° C, durante 15 min).
- 2.- Depositar en el vaso de reacción 50 ml de muestra más 200 ml de agua corriente así como una barra de agitación.
- 3.- Colocar en el tapón del vaso de reacción cal de sodio granulada (para captar CO_2 producido) previo calentamiento a 103° C durante una hora.
- 4.- Cerrar y asegurar el tapón al vaso de reacción.

- 5.- En el graficador realizar las anotaciones pertinentes (fecha, hora, procedencia de la muestra y color correspondiente en la gráfica) y ajustar los indicadores digitales (perillas a cero).
- 6.- Introducir el vaso de reacción en el baño de agua.
- 7.- Realizar las conexiones necesarias de mangueras y electrodos.
- 8.- Encender el mecanismo de agitación y regulación de temperatura así como el graficador.
- 9.- Ajustar el indicador de presión.
- 10.- Registrar después de cinco días la lectura obtenida en las perillas del graficador y retirar las muestras.

A-3. SÓLIDOS TOTALES TOTALES, TOTALES FIJOS Y TOTALES VOLÁTILES

Uno de los principales objetivos de determinar el contenido de sólidos en aguas residuales, es obtener una medida de la cantidad de materia orgánica presente. La definición usual de sólidos totales, se refiere a la materia remanente después de que una solución acuosa ha sido sometida a evaporación y secado a 103° C. La prueba de determinación de sólidos es completada con un procedimiento de combustión, a 550° C (sólidos totales fijos) en el cual la materia orgánica es convertida a CO₂ y H₂O. La pérdida de peso después de la combustión (sólidos totales menos sólidos fijos) es interpretada en términos de materia orgánica (o sólidos volátiles).

PROCEDIMIENTO:

1. Calcinar las cápsulas de evaporación a 550 ± 50° C por una hora en la mufla. Enfriar, desecar, pesar y almacenar en un desecador hasta que se usen (Peso A).
2. Medir 10 ml de la muestra con una pipeta volumétrica y transferirlos a la cápsula previamente tarada. Evaporar la muestra a sequedad en la estufa a 103 - 105° C. El secado por una hora es suficiente, después de haber evaporado en baño de agua, o bien, cuando se evapora en la estufa dejar 24 hrs (sólidos totales).
3. Enfriar, desecar y pesar (Peso B). Para determinar sólidos volátiles, calcinar el residuo de la evaporación a 550° C hasta peso constante. Generalmente para residuos de efluentes y aguas residuales el peso constante se alcanza entre los 15 y 20 minutos de calcinación. Enfriar un poco a temperatura ambiente, pase al desecador y pesar (Peso C).

CÁLCULOS:

$$STT = (B-A) \times 1000 \times 1000/\text{ml muestra} = \text{mg/l}$$

$$STF = (B-C) \times 1000 \times 1000/\text{ml muestra} = \text{mg/l}$$

$$STV = ST - STF = \text{mg/l}$$

donde:

STT= Sólidos totales totales

STF= Sólidos totales fijos

STV= Sólidos totales volátiles

A-4.CUENTA EN PLACA TECNICA DE VACIADO EN PLACA

Para cuantificar el número de bacterias mesófilas aerobias presentes en el sistema de tratamiento se tomó una muestra de licor mezclado de cada clara, se mezcló con un medio sólido rico en nutrientes (en este caso se utilizó Agar Cuenta en Placa de Merck) y se incubó a una temperatura de 28° C.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- En un matraz Erlenmeyer se prepara el medio de cultivo según las indicaciones del fabricante, procurando que el volumen del medio de cultivo no exceda la mitad de la capacidad del matraz, para evitar que durante la ebullición se derrame. La cantidad de medio de cultivo que se prepare se determina tomando en cuenta el número de cajas Petri que se van a preparar.
- 2.- A cada tubo de ensaye se le agregan 9 ml de agua destilada y se tapan sin que el tapón selle completamente para permitir la entrada de vapor en el momento de la esterilización.
- 3.- El medio de cultivo, las pipetas graduadas, las puntas de pipeta (dispuestas en un recipiente a medio cerrar), los frascos para muestra y los tubos anteriormente preparados se esterilizan en una autoclave durante 15 minutos a 1.5 lb de presión y 121° C.
- 4.- Una vez esterilizado el material se toma una muestra de 2 ml de licor mezclado de cada clara del reactor incluyendo el tanque de alimentación.
- 5.- De la muestra se toma 1 ml y se vierte en un tubo de ensaye que contenga 9 ml de agua destilada, se tapa y se agita (la manera en que se agite y el número de agitaciones deberá ser igual para todos los tubos de dilución que se elaboren). Lo importante es homogeneizar la solución que se prepare.
- 6.- Del tubo anterior se toma 1 ml con otra punta de pipeta estéril y se diluye en otro tubo de ensaye que contenga 9 ml de agua destilada. Este procedimiento se repite hasta obtener el número de diluciones deseado. En el presente trabajo las diluciones empleadas fueron 1×10^{-6} para la temperatura de 10° C y 1×10^{-7} para las temperaturas de 20 y 30° C.
- 7.- Una vez que se tiene la dilución deseada se toma 1 ml de ella y se vierte en una caja de Petri.
- 8.- A la caja de Petri conteniendo 1 ml de dilución se le agrega medio de cultivo líquido y se cubre con él la base de la caja (aprox. 20 ml).

9.-La caja de Petri se mueve 5 veces en el sentido de las manecillas del reloj y 5 veces en el sentido opuesto. Se preparan también un par de cajas testigo, estas sólo contendrán el medio agar cuenta en placa.

10.-Se espera a que solidifique el medio de cultivo y se invierte la caja.

11.- En una estufa a 28° C se incuban las cajas con medio de cultivo durante 48 hrs.

12.- Transcurridas las 48 hrs. se revisa el crecimiento de bacterias en las cajas, se cuantifican y promedian las que tengan entre 30 y 300 unidades formadoras de colonias (ufc).

13.- El número total de ufc en la dilución utilizada se calcula multiplicando el número contado por el inverso de la dilución utilizada.

A-5. CUENTA MICRODIAGONAL DE LACKEY MODIFICADA

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

PROCEDIMIENTO:

1. Tomar un 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 milímetro cuadrado es la siguiente:

$$\frac{\text{Organismos } C \text{ (TA)}}{\text{milímetro } (A) \text{ (S) (V)}}$$

Donde:

C = Número de organismos contados.

TA = Area del cubreobjetos en mm².

A = Area de una franja en mm²

S = Número de franjas contadas.

V = Volumen de la muestra debajo del cubreobjetos

El empleo de esta 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 22 x 22 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:

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