



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE  
MEXICO**

---

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

**DETERMINACION DE LA CINETICA EN PELICULAS  
BIOLOGICAS POR MEDIO DE RESPIROMETRIA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**

**BIOLOGA**

**PRESENTA**

**CLAUDIA NAVA RAMIREZ**



**LOS REYES IZTACALA, 1992**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

*A tí mamá, por el cariño y estímulo  
que siempre me has brindado*

*A mi hermana, por contar  
contigo en todo momento*

*A mis abuelas Herme y Esther, por  
su ejemplo que siempre tengo  
presente.*

*Con especial afecto para: Ana  
Muñoz, Noelia Díaz, Simón  
González, Francisco Rivera,  
Leonardo Cisneros, Carlos  
Lechuga, Juan Carlos Aragón  
y Oscar González*

*A todos mis amigos.*

## **RECONOCIMIENTOS**

Al Dr. Simón González Martínez por su apoyo constante, dirección y paciencia durante el desarrollo de esta tesis.

A Juan Carlos Aragón, por su ayuda en la elaboración de un programa de cómputo el cual facilitó el procesamiento de datos.

Al personal del Instituto de Ingeniería y de la Planta para tratamiento de aguas residuales, que contribuyó de una u otra forma con la realización de este trabajo.

Al Instituto de Ingeniería de la UNAM, por las facilidades proporcionadas durante la elaboración de este trabajo.

## **RESUMEN**

## **INDICE**

<b>1. INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
1.1 Problemática	1
1.2 Objetivos y alcances	4
<b>2. TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES</b>	<b>5</b>
2.1 Procesos secundarios o biológicos	6
<b>3. BIODISCOS</b>	<b>7</b>
3.1 Descripción del sistema	8
3.1.1 Formación de la película biológica	9
3.2 Operación del proceso	10
<b>4. BIOQUIMICA Y ECOLOGIA DE SISTEMAS MICROBIANOS EN PELICULAS BIOLOGICAS</b>	<b>12</b>
4.1 Alimentación y metabolismo	13
4.1.1 Degradación de material carbonoso	14
4.1.2 Degradación de material nitrogenado	16
4.2 Ecología microbiana	17
4.2.1 Factores que determinan la diversidad y la abundancia de especies	18
4.2.2 Interacciones poblacionales en biodiscos	19
4.2.3 Especies y su distribución en biodiscos	22

<b>5. RESPIROMETRIA</b>	<b>25</b>
5.1 Respiración	25
5.2 Relación entre el consumo de sustrato y de oxígeno	26
5.3 Respirómetro Warburg	27
5.3.1 Funcionamiento del respirómetro Warburg	29
<b>6. CINETICA ENZIMATICA</b>	<b>32</b>
6.1 Ecuación de Michaelis y Menten	33
6.2 Ecuación de Lineaweaver y Burk	37
<b>7. MATERIAL Y METODO</b>	<b>39</b>
7.1 Descripción y funcionamiento del respirómetro	40
7.2 Condiciones de operación del sistema	43
7.2.1 Temperatura	43
7.2.2 pH	44
7.3 Generación y caracterización de las películas biológicas	44
7.4 Obtención del volumen y de las constantes de reacción	44
7.5 Verificación del sistema	45
7.6 Sustratos utilizados	46
7.7. Determinación de la cinética de eliminación de sustratos	46
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>49</b>
8.1 Verificación de la operación del sistema	49
8.2 Cinética de eliminación de sustratos orgánicos	52

8.2.1 Obtención del consumo específico de oxígeno para la degradación de material carbonoso	58
8.2.2 Obtención de las constantes de Michaelis y Menten para la degradación de material carbonoso	61
8.2.3 Cuantificación de biomasa	64
8.3 Cinética de eliminación de material nitrogenado	66
8.3.1 Obtención del consumo específico de oxígeno para material nitrogenado	69
8.3.2 Obtención de las constantes de Michaelis y Menten para la degradación de material nitrogenado	71
<b>9. CONCLUSIONES</b>	<b>74</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>77</b>
<b>APENDICE</b>	<b>80</b>

## RESUMEN

Este trabajo propone un método experimental para la determinación de la cinética de eliminación de sustratos (contaminantes en aguas residuales) orgánicos y nitrogenados al ser consumidos por películas biológicas. Se basa en la utilización de un respirómetro Warburg modificado el cual permite determinar las curvas de consumo de oxígeno, y por consecuencia, las de consumo de sustrato, así como de respiración endógena. Para los experimentos se utilizaron películas biológicas generadas en la primera y tercera etapas del BIODISCO de Ciudad Universitaria, D. F. Los sustratos utilizados fueron acetato de sodio, glucosa y aguas residuales para películas que eliminan material carbonoso, mientras que para películas nitrificantes, cloruro de amonio y agua de la tercera etapa del sistema. El modelo que se usó para la determinación de los parámetros cinéticos  $V_{max}$  y  $K_m$ , es el propuesto por Michaelis y Menten. Con este trabajo se concluye que :1) El método propuesto en este trabajo es una herramienta eficiente para la determinación de la cinética de eliminación de sustratos con películas biológicas 2) Los valores para las constantes de Michaelis y Menten son afectados por un gran número de procesos bioquímicos, fisiológicos y ecológicos. El conocimiento de estos valores y la adecuada interpretación de los mismos dan una base para el diseño de sistemas para tratamiento de aguas residuales.



## **1. INTRODUCCION**

### **1.1 PROBLEMATICA**

En México, así como en muchos países, el suministro de agua es uno de los principales problemas debido al incremento en la demanda de este recurso en los sectores agrícola, poblacional e industrial. Esto ha traído como consecuencia una sobreexplotación de los mantos freáticos con la consiguiente desaparición de gran parte del sistema lacustre que existía en la época prehispánica.

El agotamiento de las fuentes de suministro y la posible degradación de la calidad del agua como consecuencia de la explotación de su acuífero, han complicado el abastecimiento a la ciudad y obligado a utilizar fuentes cada vez más alejadas para contribuir a satisfacer los requerimientos de la población. La necesidad de agua ha obligado a transportarla de cuencas vecinas, primero de Lerma y recientemente de Cutzamala, construyéndose infraestructura muy costosa para su captación y conducción (Departamento del Distrito Federal, 1991).

El problema se agudiza aún más por el uso irreflexivo de parte de los usuarios del servicio; en este caso es indispensable establecer una nueva actitud basada en la convicción de que es posible alcanzar los mismos niveles de bienestar evitando el desperdicio y utilizando menores cantidades de agua. Asimismo, las actividades domésticas e industriales producen elevados volúmenes de agua contaminada, la cual, en la mayoría de los casos, es vertida en cuerpos de agua, desperdiciándose su potencial y constituyendo una fuente de contaminación (*idem*).

A pesar de lo anterior, el seguir suministrando este recurso con la calidad que la población requiere, es una meta factible de lograr sí se cuenta con la cooperación responsable por parte del usuario y el apoyo por parte de las autoridades responsables para el diseño e implantación de acciones orientadas a un mejor aprovechamiento de este recurso.

Las alternativas para el suministro de agua son cada vez más importantes y particularmente, el tratamiento biológico de aguas residuales y el reuso de agua tratada, ofrecen amplias posibilidades para la recuperación de este recurso (Comisión del Plan Nacional Hidráulico, 1981).

El tratamiento biológico es la forma más viable y económica para el tratamiento de aguas residuales. Por medio de este proceso y de una posterior desinfección de las aguas tratadas es posible utilizarlas para procesos industriales o riego de áreas verdes.

El objetivo principal del tratamiento biológico de aguas residuales es la eliminación de materia orgánica contaminante utilizando microorganismos. En este proceso se involucran necesariamente muchos aspectos entre los cuales la cinética enzimática, es decir el estudio de las reacciones enzimáticas catalizadas, tiene esencial importancia para:

- Saber que tipo de reacción enzimática se está llevando a cabo y conocer la rapidez con la cual se degradan los contaminantes.

-Conocer el potencial máximo de eliminación de materia contaminante en un sistema específico.

-El conocimiento de la cinética en películas biológicas y de la hidrodinámica del sistema permiten llegar a diseños óptimos de sistemas para tratamiento de aguas residuales (Segel, 1975).

Las formulaciones cinéticas y los modelos pueden llegar a ser ecuaciones predictivas y son útiles, como ya se mencionó, para el diseño y operación de los sistemas para tratamiento de aguas residuales.

Existen gran variedad de métodos físicos y químicos, para cuantificar cinética enzimática, sin embargo, muchos de ellos no dan resultados reproducibles. La experiencia práctica puede guiar a diseños adecuados y generalmente basados en consideraciones de tipo conservador, pero esto dificulta la optimización del diseño.

Las primeras determinaciones cinéticas en microorganismos vivos fueron hechas por Warburg en los años veinte. Estas se realizaron midiendo la absorción de oxígeno en glóbulos rojos con un respirómetro, el cual posteriormente llevó su nombre. Este aparato ha sido ampliamente utilizado en estudios de cinética enzimática en aguas de desecho, midiendo la cinética de consumo de oxígeno y consecuentemente la cinética de consumo de sustratos por organismos aerobios (Gaudy y Gaudy, 1981).

Los biodiscos, filtros rociadores, sistemas de película sumergida, etc. son sistemas aerobios para tratamiento secundario de aguas residuales. González y Duque (1991) y González y Elías (1989) señalan que algunos autores [Kornegay y Andrews (1968), Hartmann (1960), Opatken (1982), Stover y Kincannon (1982)] obtienen los parámetros cinéticos considerando a estos sistemas como caja negra lo cual es cuestionable, ya que los sistemas anteriormente mencionados constan de varias etapas degradativas (degradación secuencial) que difieren

entre sí en población microbiana, especializándose cada una de estas en degradar un sustrato específico.

## **1.2 OBJETIVOS Y ALCANCES**

Los objetivos de este trabajo son:

- Implementación del método de respirometría desarrollado por Warburg para realizar estudios de cinética enzimática en películas biológicas.

- Determinar la cinética de eliminación de material carbonoso y compuestos nitrogenados en películas biológicas.

Dentro de los alcances del trabajo se considera la utilización de un respirómetro Warburg modificado para la medición de la cinética de eliminación de sustratos a través de la medición del consumo de oxígeno. Las evaluaciones cinéticas se realizarán tomando como base el modelo cinético propuesto por Michaelis y Menten (Segel, 1975).

Como material para el estudio se utilizará la biopelícula generada en el Biodisco de la planta para tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria.

## **2. TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

El tratamiento de aguas residuales es una combinación de procesos primarios, secundarios y terciarios, los cuales pueden ser aplicados independientemente aunque siempre de manera secuencial y acorde con la finalidad que se persiga (Duncan, citado por Luna *et al*, 1990).

El objetivo de los procesos primarios es eliminar los sólidos de mayor tamaño, así como los más fácilmente sedimentables; para lograrlo se usan métodos como cribado, sedimentación, flotación, filtración, etc.

En los procesos secundarios o biológicos se utilizan microorganismos para eliminar el material orgánico disuelto. Estos procesos involucran la intervención de organismos de tipo procarionte como bacterias y algas verde-azules y de tipo eucarionte como algas, hongos, protozoarios y metazoarios. Dentro de estos procesos se encuentran: reactores anaerobios de lecho empacado, lagunas facultativas, lodos activados, biodiscos , filtros percoladores, etc.

Los procesos terciarios se basan en principios físicos y químicos y se aplican cuando se desea obtener agua de mejor calidad que la lograda en los tratamientos previos. A partir de estos procesos es posible eliminar material orgánico no biodegradable o de difícil biodegradación, iones y coloración del agua (Luna *et al*, 1990).

## **2.1 PROCESOS SECUNDARIOS O BIOLÓGICOS**

Los procesos biológicos pueden dividirse en función del tipo de metabolismo empleado por los microorganismos que intervienen en él. De acuerdo a este concepto existen tres tipos de procesos: anaerobios, aerobios y mixtos (1).

### **Procesos biológicos anaerobios.**

En estos procesos la remoción de materia orgánica se hace por medio de microorganismos que no requieren oxígeno molecular libre en solución, ya que las necesidades para su subsistencia las obtienen de compuestos inorgánicos aceptores de electrones como los nitritos y nitratos. Los reactores anaerobios de lecho empacado son un ejemplo de este tipo de procesos (1).

### **Procesos biológicos aerobios**

En este tipo de procesos la remoción de material orgánico soluble se hace por medio de microorganismos que requieren para su desarrollo de suficiente oxígeno molecular libre en solución. Procesos biológicos de estas características son los lodos activados, biodiscos, filtros rociadores, etc. (1).

### **Procesos biológicos mixtos o facultativos**

Consisten en una combinación de los procesos anteriores; por lo tanto intervienen microorganismos aerobios, microaerofílicos, anaerobios y facultativos. Como ejemplo de estos procesos están las lagunas facultativas (1).

(1): Luna *et al*, 1990

### **3. BIODISCOS**

El desarrollo moderno de los biodiscos se inició en Alemania en los años cincuenta y su comercialización masiva comenzó hasta principios de los años setenta en Estados Unidos.

Algunas de las ventajas de este sistema son: bajos requerimientos de energía, tiempos de retención hidráulica cortos, capacidad de soportar cargas orgánicas variables, baja producción de lodos, mantenimiento mínimo y no se requiere de personal técnico especializado para su operación, ni supervisión frecuente. Sin embargo, la inversión inicial de capital asociada a su construcción y arranque es alta (Antonie, 1975).

### 3.1 DESCRIPCION DEL SISTEMA

La figura 3.1 muestra un diagrama de un sistema de biodiscos.

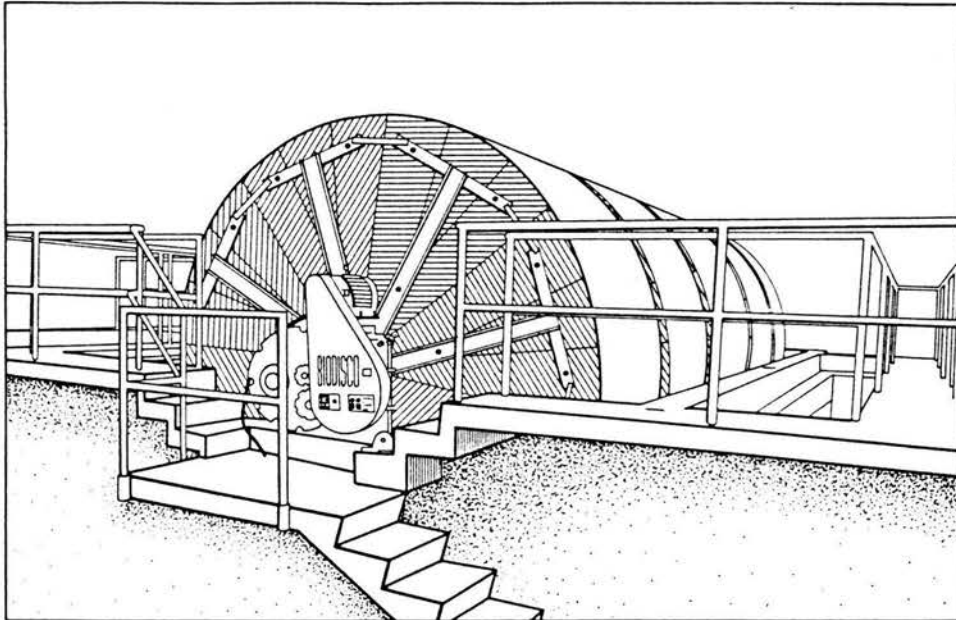


Figura 3.1 Unidad de biodiscos.

Los discos miden de 2 a 3m de diámetro, están fabricados de poliestireno o polietileno desplegado o corrugado o de metal desplegado de 10 a 20mm de ancho. Se encuentran montados sobre un eje horizontal y están ubicados en un tanque de concreto a través del cual fluyen las aguas residuales. El tanque se encuentra dividido en 3 ó 4 secciones o etapas, cada una especializada en degradar un sustrato diferente (Winkler, 1986).

El reactor gira lentamente en el tanque, usando sistemas de impulsión mecánicos o inducidos por aire. La porción sumergida de los discos es de aproximadamente 40% de la superficie total.

Una vez que el sistema comienza a funcionar, los microorganismos presentes en el agua de desecho se adhieren al medio de soporte y



comienzan a multiplicarse. Gradualmente, la superficie se va cubriendo de una película biológica, la cual puede medir de 1 a 4 mm, este proceso se lleva a cabo en aproximadamente una semana (Antonie, 1975).

### **3.1.1 FORMACION DE LA PELICULA BIOLOGICA**

El proceso de formación de la película biológica sobre la superficie de los biodiscos se divide en tres fases: inducción, acumulación y estabilización (1).

#### **Fase de inducción.**

Comprende la adsorción de los compuestos orgánicos sobre la superficie húmeda de los discos; lo cual se lleva a cabo durante las inmersiones del medio de soporte en el agua de desecho por tratar. Se considera que la adsorción de los compuestos orgánicos en la superficie húmeda del soporte es un requisito previo para el desarrollo de la película biológica y la consecuente fijación de la biomasa (Norouzian y Deloy, 1984 citados por Luna *et al*, 1990). Cuando las cantidades adecuadas de nutrientes orgánicos, sales minerales y oxígeno están disponibles sobre dichas superficies, los microorganismos colonizan las superficies húmedas sólidas formando una matriz gelatinosa (1).

#### **Fase de acumulación.**

En esta fase hay un crecimiento logarítmico de los microorganismos continuando así hasta que el medio de soporte está completamente cubierto. Se observa un periodo de acumulación constante, el cual termina por efecto del esfuerzo cortante entre la biopelícula y la superficie del líquido. Este proceso previene la acumulación de mayor cantidad de microorganismos. Los nutrientes y el oxígeno se suministran a través de la película biológica por difusión. A medida que el grosor de la película aumenta, se hace más factible la generación en los estratos más profundos de zonas con procesos anaerobios (1).

(1): Luna *et al*, 1990

### Fase de estabilización o "plateau" (meseta)

En esta fase la película biológica desprendida y la producida se encuentran en equilibrio dinámico, manteniéndose un espesor constante. El mantenimiento de la estructura de la biopelícula es el efecto combinado de la reproducción celular y la producción extracelular de polímeros de polisacáridos que mantienen la cohesión de la biomasa. La condición de estabilidad persiste hasta que los nutrientes difundidos a través de la biopelícula se terminan. En ese momento los organismos de las capas basales mueren. La integridad estructural de la base de la película se pierde y ocurre un desprendimiento masivo (1)

### 3.2 OPERACION DEL PROCESO

La figura 3.2 muestra un diagrama de una planta para tratamiento de aguas residuales.

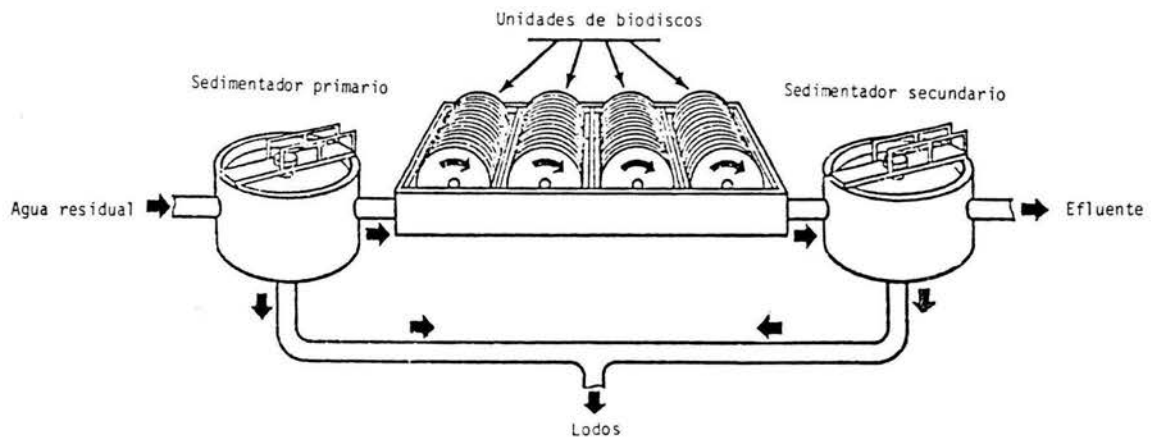


Figura 3.2 Planta para tratamiento de aguas residuales que incluye biodiscos (Autotrol, 1978)

El proceso se inicia cuando el agua residual pasa a través de un sistema primario para tratamiento de aguas residuales.

(1): Luna *et al*, 1990

Posteriormente, el agua se trata en el sistema biológico donde los microorganismos degradan a la materia orgánica del agua residual; la materia orgánica se utiliza para la respiración aerobia, para almacenarse como productos de reserva o para síntesis de biomasa.

Simultáneamente a la generación de biomasa se produce desprendimiento del exceso de película biológica, estableciéndose un equilibrio dinámico en la población microbiana. El desprendimiento de película se debe a dos efectos: al flujo del líquido dentro del tanque y a la velocidad de rotación del medio.

La rotación permite también la adherencia de una película de agua residual a la biomasa, esta película tiene dos funciones: proveer oxígeno disuelto y suministrar nutrientes (material orgánico) a los microorganismos. El proceso de rotación es continuo, por lo tanto, la película líquida se renueva constantemente; degradándose material orgánico y removiéndose oxígeno continuamente (Antonie, 1975).

El agua residual tratada y la biomasa excedente pasan a través cada una de las etapas del sistema, incrementándose el grado de purificación del agua en cada una de estas. La configuración por etapas garantiza la remoción secuencial de sustratos y conduce al desarrollo de diferentes poblaciones dentro del sistema.

El exceso de biomasa y el agua tratada salen de la última etapa del sistema y pasan a un sedimentador secundario, donde se separan los sólidos. Finalmente el efluente se desinfecta o puede someterse a algún tratamiento adicional.

#### **4. BIOQUIMICA Y ECOLOGIA DE SISTEMAS MICROBIANOS EN PELICULAS BIOLÓGICAS**

Los procesos biológicos involucrados en la degradación de la materia orgánica en sistemas para tratamiento de aguas residuales están determinados principalmente por mecanismos bioquímicos y ecológicos, por lo que es necesario el conocimiento de estos para lograr una mejora en la eficiencia del proceso de depuración.

Las aguas residuales domésticas contienen principalmente desechos resultantes de la actividad humana. La mayor parte del contenido de estos desechos son carbohidratos tales como glucosa, lactosa, galactosa, etc. (Painter, 1983). Estos compuestos junto con otros compuestos solubles, como ácidos y aminoácidos, se asimilan más fácilmente por una gran variedad de especies a diferencia de otros insolubles, tales como celulosa, algunos polipéptidos y grasas, los cuales son más difíciles de eliminar.

Algunos investigadores sugieren que todos los compuestos orgánicos contenidos en aguas de desecho municipales pueden ser metabolizados

por microorganismos, a excepción de algunas sustancias recalcitrantes, las cuales no son susceptibles a un ataque enzimático (González y Díaz, 1987).

#### 4.1 ALIMENTACION Y METABOLISMO

La nutrición y respiración microbianas se llevan a cabo a través de procesos de difusión; los cuales se muestran en la figura 4.1. Los nutrientes (contaminantes orgánicos) y el oxígeno del agua de desecho se difunden a través de la película líquida que se forma sobre la película biológica, hasta alcanzar las paredes celulares (Harremöes, 1978).

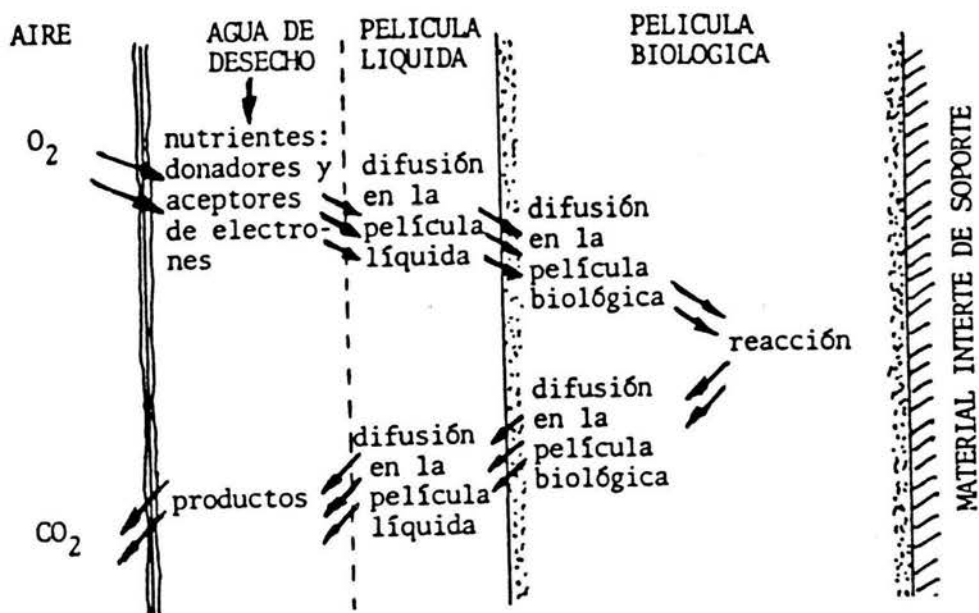


Figura 4.1 Procesos involucrados en el transporte de nutrientes y productos en la película biológica (Harremöes, 1978)

Los compuestos coloidales insolubles y las grandes moléculas orgánicas que por su tamaño no pueden atravesar la pared celular, se hidrolizan por enzimas extracelulares o enzimas ligadas a la superficie celular. Las pequeñas moléculas resultantes de la hidrólisis se

introducen entonces a la célula por diferentes mecanismos que van desde la difusión hasta el transporte activo por permeasas. Una vez en la célula, el sustrato se transforma y metaboliza por una serie de sistemas multienzimáticos, hidrolíticos, oxidativos y de síntesis (*idem*).

#### **4.1.1 Degradación de material carbonoso**

La degradación de materia orgánica se lleva cabo durante el metabolismo celular. Metabolismo es un término que involucra a todas las reacciones por medio de las cuales la célula procesa su alimento para obtener energía y obtiene los compuestos necesarios para formar nuevos componentes celulares. Este proceso tiene lugar a través de secuencias de reacciones consecutivas catalizadas enzimáticamente, en las cuales participan muchos compuestos intermediarios (Gaudy y Gaudy, 1981).

El metabolismo se divide en catabolismo y anabolismo. El catabolismo se refiere a la fase degradativa del metabolismo. Las moléculas orgánicas como carbohidratos, lípidos y proteínas se degradan a productos más pequeños y sencillos: por ejemplo, ácido láctico, ácido acético ó anhídrido carbónico. El catabolismo va acompañado de liberación de la energía inherente a la estructura de las moléculas orgánicas grandes, esta energía se conserva en forma de trifosfato de adenosina (ATP) (Lehninger, 1976).

El anabolismo es la fase de construcción o fase sintética del metabolismo, también se llama de biosíntesis. En el anabolismo las moléculas pequeñas de los precursores se ordenan para llegar a constituir los componentes moleculares relativamente grandes de las células tales como polisacáridos, ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. La biosíntesis ocasiona un incremento en el tamaño y en la complejidad de la estructura, por lo tanto, precisa de energía libre, la cual es aportada por la escisión de ATP. El catabolismo y el anabolismo suceden simultáneamente en las células (*idem*).

La degradación enzimática de los nutrientes (catabolismo) ya sean polisacáridos, lípidos o proteínas se lleva a cabo a través de reacciones enzimáticas consecutivas, organizadas en tres etapas (Lehninger, 1976), las cuales se muestran en la figura 4.1.1:

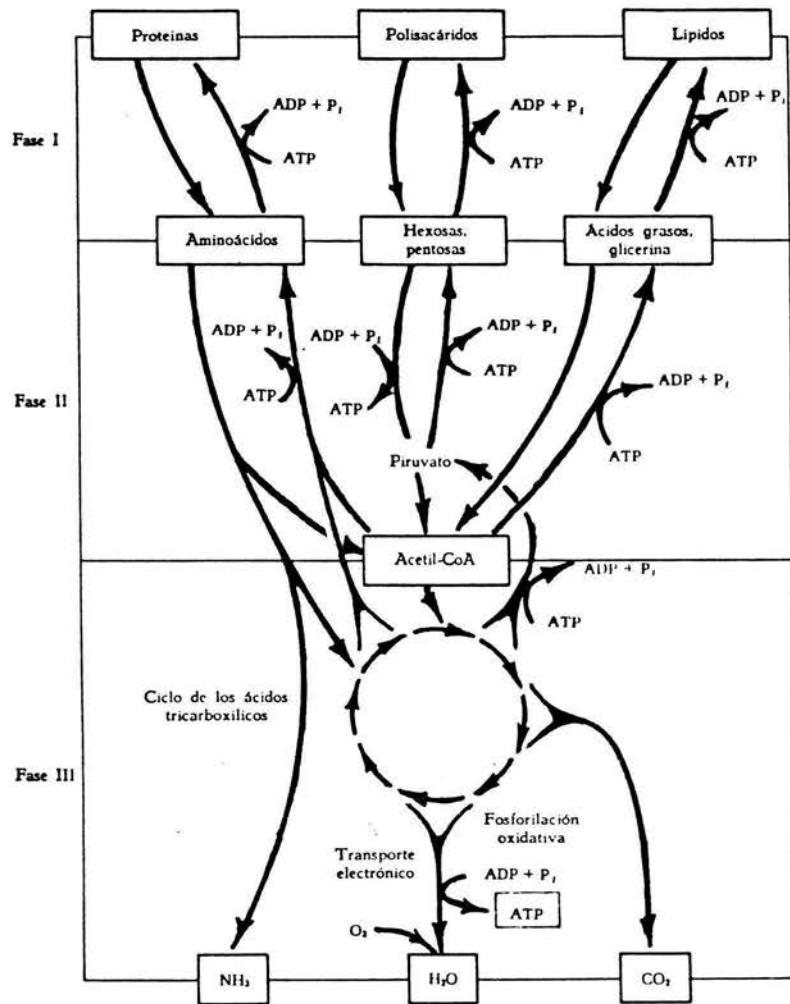


Figura 4.1.1 Fases del metabolismo aerobio (Lehninger, 1976)

En la figura 4.1.1 las flechas descendentes muestran las principales vías catabólicas o de degradación. En la primera fase, las macromoléculas se degradan a moléculas más pequeñas; en la segunda, los productos derivados del paso anterior son convertidos en compuestos intermediarios que entran a vías centrales catabólicas o de degradación. En la última fase o vía catabólica común, los compuestos intermediarios se oxidan a anhídrido carbónico y agua. Durante esta última etapa se libera gran cantidad de energía que se conserva en forma de enlace fosfato del adenosín trifosfato. La energía producida se usa para síntesis de nuevo material celular y para propósitos de mantenimiento, como locomoción, calentamiento, etc.

La síntesis celular ocurre durante las tres fases. En la figura 4.1.1 las flechas ascendentes muestran las vías de síntesis o anabólicas. La síntesis se inicia en la tercera fase del metabolismo, en esta fase se generan moléculas precursoras. En la segunda fase estas moléculas se convierten en moléculas que sirven como base para formar macromoléculas en la primera fase.

#### **4.1.2 Degradación de material nitrogenado**

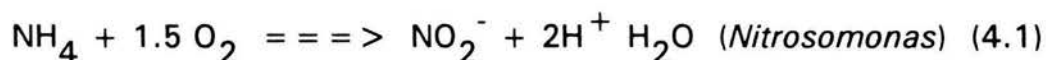
Entre los principales contaminantes de las aguas residuales se encuentran los compuestos nitrogenados. Estos se presentan en las aguas de desecho en forma de amoníaco, nitritos, nitratos, compuestos orgánicos solubles y materia orgánica en suspensión o en forma de partículas (aminoácidos y proteínas).

Durante los procesos catabólicos, la mayor parte de estos compuestos se degradan y desaminan para producir anhídrido carbónico y amoníaco (ver figura 4.1.1). Parte del amoníaco se asimila a la biomasa por medio de procesos anabólicos, sin embargo, el proceso biológico natural más importante para la eliminación de amoníaco es la oxidación bacteriana del amoníaco a nitritos y nitratos, denominándose a este proceso "nitrificación". Si bien la nitrificación elimina amoníaco, no remueve el nitrógeno, sino que lo convierte en una forma diferente.

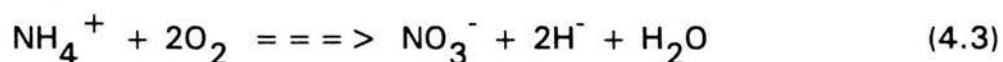


Los nitratos y nitritos pueden ser transformados mediante acción bioquímica a nitrógeno gaseoso, este proceso se conoce como desnitrificación el cual se realiza en condiciones anaerobias.

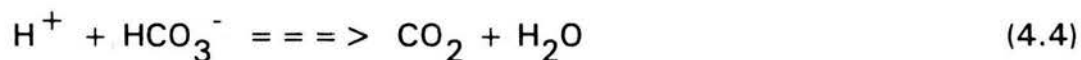
La nitrificación se lleva a cabo en dos pasos por dos especies de bacterias nitrificantes autótrofas:



La reacción global es entonces:



En la ecuación 4.1 se observa que durante la primera etapa se producen protones que acidifican el medio, de manera que el pH tenderá a bajar durante la nitrificación. Esto puede traer como consecuencia una reducción en la eficiencia de nitrificación; cuando la alcalinidad en el medio no logre amortiguar los cambios de pH. Asumiendo que el pH es menor que 8.5, la reacción que se lleva a cabo con los protones liberados, es la siguiente:



De esta forma, el anhídrido carbónico producido durante la neutralización se desprende del medio líquido en forma de burbujas, manteniendo el pH en valores de neutralidad.

## 4.2 ECOLOGIA MICROBIANA

Los sistemas microbianos que se encuentran de forma natural en cuerpos de agua y plantas para tratamiento de aguas residuales son producto de complicadas combinaciones de factores internos y

externos, bióticos y abióticos. La composición de organismos es producto principalmente del alimento disponible y tiene un equilibrio que sufre cambios dependiendo de cambios en los factores que lo afectan.

#### **4.2.1 Factores que determinan la diversidad y abundancia de especies**

Los principales factores que afectan la diversidad y abundancia de los organismos en los sistemas acuáticos naturales y los sistemas para tratamiento de aguas residuales son físicos, químicos y biológicos (Hawkes, 1983).

La composición química del agua residual es determinante para la existencia de los organismos. Sin embargo, en algunos casos algunos organismos que originalmente no están presentes en las aguas de desecho se desarrollan a expensas de productos metabólicos de otras especies

Los sistemas que tratan aguas residuales domésticas tienen usualmente mayor diversidad de organismos que los que tratan aguas con desechos industriales. Esto se debe a que generalmente contienen sustancias tóxicas y/o grandes cantidades de contaminantes que actúan inhibiendo el metabolismo. Al aumentar la concentración de material orgánico aumenta la abundancia y se reduce la diversidad y viceversa.

Los factores físicos más importantes que afectan la diversidad y abundancia de especies son las condiciones de operación del sistema para tratamiento de aguas residuales, entre las que se encuentran, temperatura, oxígeno disuelto, luz, naturaleza del medio de soporte y velocidad instantánea del agua dentro sistema (tiempo de retención hidráulica).

Los principales factores biológicos que afectan los parámetros anteriormente mencionados son las relaciones intraespecíficas e

interespecíficas, dentro de estas la competencia y depredación son determinantes en la composición de la biopelícula.

#### 4.2.2 Interacciones poblacionales en biodiscos

Desde el punto de vista de la Ecología, los sistemas biológicos para tratamiento de aguas residuales representan uno de los ambientes microbiológicos más complicados. El sistema de biodiscos contiene ecosistemas complejos en los que la pirámide alimenticia está bien definida (ver figura 4.2.2.).

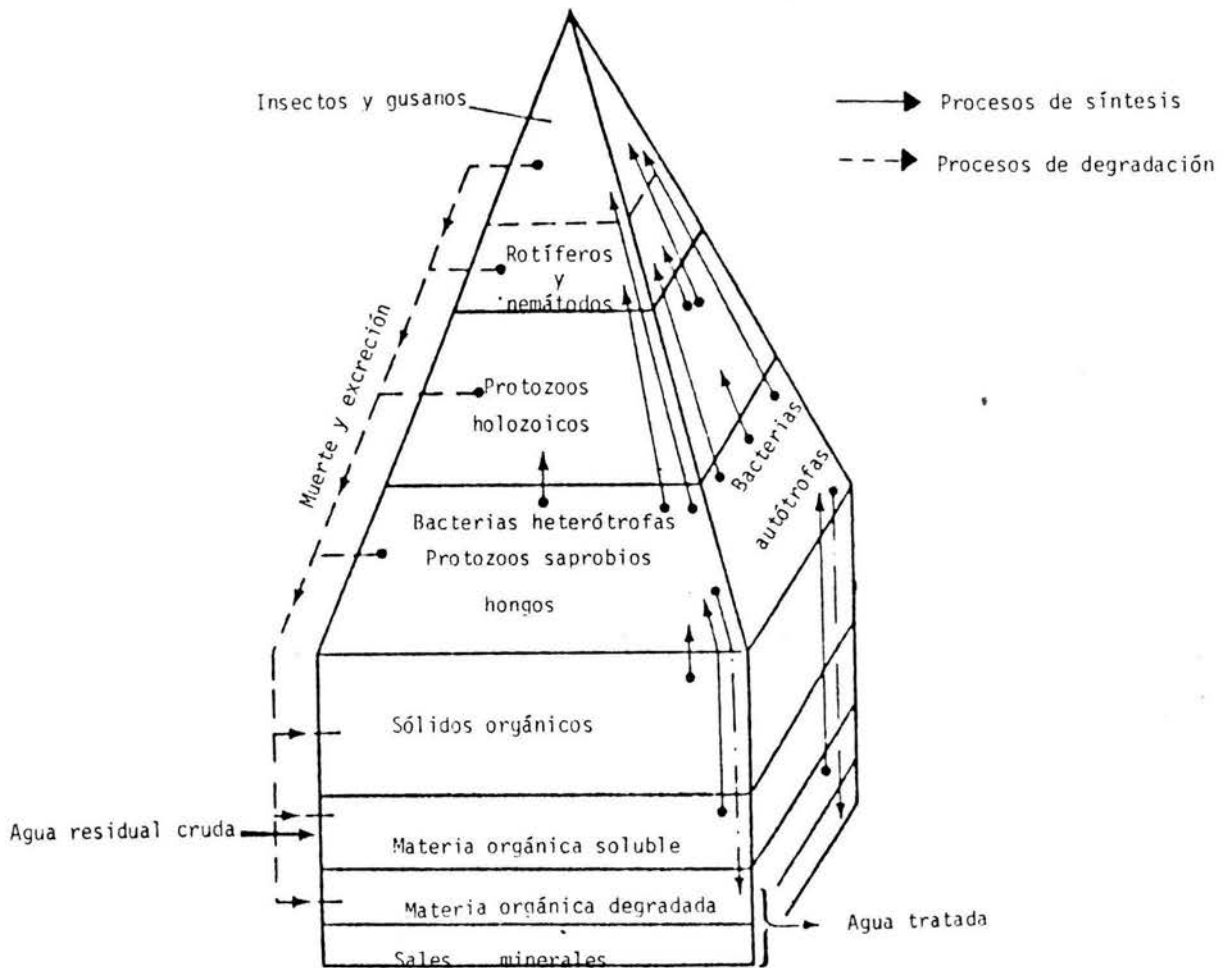


Figura 4.2.2 Pirámide alimenticia en el biodisco

La pirámide consta de dos partes principales:

-La base constituida principalmente por materia orgánica y sales minerales.

-La pirámide la cual representa a los diferentes niveles tróficos presentes en el sistema.

La pirámide representa a los diferentes grupos nutricionales en una comunidad, cada sección horizontal se conoce como nivel trófico.

La base de la figura representa la fuente de alimento de los organismos: sustancias inorgánicas y orgánicas. Las primeras intervienen activamente en el metabolismo celular. Los compuestos orgánicos forman parte de la materia contaminante de las aguas de desecho, y constituyen la fuente energética de los microorganismos. Ambos tipos de compuestos se utilizan para procesos de síntesis (figura 4.2.2, flechas continuas ascendentes). Asimismo, como resultado de los procesos de degradación (figura 4.2.2, flechas discontinuas descendentes) se produce material orgánico e inorgánico el cual se desecha con el efluente.

La pirámide está constituida por cuatro niveles tróficos. Los organismos que ocupan el mismo nivel trófico compiten por la misma fuente alimenticia y el resultado de esta competencia está determinado por los factores físicos y químicos anteriormente mencionados. Entre cada nivel trófico se establece una relación presa-depredador. El conjunto de interrelaciones poblacionales resulta en un balance dinámico de las poblaciones.

En el primer nivel trófico de la pirámide están los consumidores primarios: bacterias, protozoos osmotróficos y hongos saprofitos (Hawkes, 1963).

Las bacterias constituyen la mayor parte de la biomasa y el primer paso de la cadena trófica en los sistemas para tratamiento de aguas residuales. Las bacterias predominantes son saprofitas y son

responsables de la degradación y mineralización de compuestos orgánicos en las aguas de desecho. También se encuentran bacterias autótrofas quimiosintéticas (quimiolitotróficas) responsables de la oxidación del amoníaco a nitritos y nitratos (Hawkes, 1983).

La principal razón del éxito de las bacterias en la degradación de materiales de desecho en comparación con otros protistas está relacionado con su tamaño pequeño y su relativamente grande área superficial expuesta en proporción al volumen que ocupan, esto incrementa su capacidad para intercambio de nutrientes y para la eliminación de catabolitos (compuestos producidos durante el catabolismo celular).

Los hongos y los protozoos saprobios se encuentran en el mismo nivel que las bacterias sin embargo, su crecimiento no es tan rápido (2).

En el siguiente nivel están los protozoos holozoicos representados principalmente por ciliados, estos organismos depredan bacterias y otros protozoarios más pequeños lo que en la práctica ayuda a eliminar a las bacterias que causan turbiedad en el agua (2).

En la cumbre de la pirámide están los organismos que se dedican principalmente a depredar a la película biológica. Están representados por nemátodos, rotíferos, tardígrados y macrofauna que incluye a anélidos (Hawkes, 1983). También se pueden encontrar en el biodisco otros depredadores como moluscos e insectos. La presencia de los primeros generalmente se atribuye a bajas concentraciones de material orgánico. En cuanto a los insectos, muchos tienen acceso al biodisco pero son pocos los que realmente se establecen en él: por ejemplo, colémbolos y dípteros (2).

La población depredadora puede funcionar como un medio de control del espesor de la película biológica. Bal (1926) y Meiklejohn (1932) en Hawkes (1983) han atribuido a esta actividad la capacidad de incrementar la actividad bacteriana, ya que conservan a las bacterias (2): Hawkes, 1963

en la fase de crecimiento logarítmico, manteniéndolas en estado fisiológico joven y, por lo tanto, en actividad máxima.

No todas las especies de macrofauna son necesariamente consumidoras de la película biológica. Por ejemplo, la larva del díptero *Spaziphora hidromyzina* se alimenta de la materia orgánica que se encuentra en forma de humus (Hawkes, 1983).

Las algas están restringidas y no son agentes de importancia en la purificación de las aguas. Su presencia se puede observar principalmente en las áreas de la biopelícula expuestas a la luz.

Las relaciones de sinergismo contribuyen también al equilibrio dinámico dentro de las poblaciones del biodisco. Un ejemplo de este tipo de relaciones es descrito por Jones y Carrington (1972) en Painter (1983): Estos autores encontraron que la bacteria *Acinetobacter* no creció en un cultivo con glucosa como única fuente de carbono ya que es incapaz de utilizar este carbohidrato como alimento, sin embargo, al mezclarla con bacterias del género *Aeromonas* en el mismo medio sí hubo crecimiento, esto se debe a que esta última bacteria es productora de acetato el cual es fácilmente asimilado por *Acinetobacter*.

#### **4.2.3 Especies y su distribución en biodiscos**

La condición estática de la película biológica y las diferentes características del agua en cada una de las etapas del sistema permiten que existan diferentes poblaciones, las especies llegan a ser dominantes de acuerdo con el grado de tratamiento del agua.

Una mezcla de especies es más efectiva para remover contaminantes que una sola especie aislada. Esto se debe a que una mezcla de organismos es capaz de metabolizar diferentes compuestos y una sola especie degrada solamente algunos compuestos.

En las primeras etapas del sistema predominan bacterias heterótrofas , la mayor parte de estas son Gram negativas, tienen una temperatura óptima para su desarrollo de 22°C. Las principales especies son *Zooglea ramigera*, *Sphaerotillus natans*, *Beggiatoa sp*, *Achromobacter sp*, *Pseudomonas sp* y *Flavobacterium sp*. Johnson citado por Hawkes (1963) considera que *Zooglea ramigera* es probablemente el organismo más importante en estas etapas y constituye la base estructural y funcional de la película biológica.

En las etapas finales las bacterias autótrofas nitrificantes son los organismos dominantes. Los microorganismos responsables del proceso de nitrificación son las bacterias de los géneros *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Nitrosococcus* y *Nitrocystis*, los dos primeros géneros son los que participan más activamente (Ramírez, 1988).

Los hongos, organismos heterótrofos, se encuentran principalmente en las primeras etapas del sistema. Los géneros más comunes son *Fusarium sp*, *Geotrichum sp* y *Sepedonium sp*.

Los protozoos también presentan una sucesión de especies. Los protozoos de los phylum Sarcodina y Mastigophora, los cuales se alimentan de sustancias disueltas, se asocian con aguas de desecho con altas concentraciones de material orgánico, por lo cual se les encuentra en las primeras etapas del biodisco. En las etapas intermedias, debido a sus características de depredación, predominan los organismos del phylum Ciliophora. Conforme se incrementa la purificación del agua de desecho disminuye la concentración de material orgánico, aumentando el número de ciliados holozoicos y de otros ciliados que depredan a las bacterias de las películas biológicas.

Dentro de la población depredadora, los rotíferos son los organismos más activos, entre los cuales se encuentran de forma más común los géneros *Philodina* y *Rotifer*. Los platelmintos más comunes son turbelarios y céstodos, encontrándose planarias, para el primer caso y huevecillos de *Taenia sp* para el segundo caso (Hawkes, 1963).

En algunos biodiscos los anélidos son abundantes y en otros pueden estar ausentes. Los organismos más comunes son los oligoquetos y los hirudíneos. En los primeros la familia más común es Lumbricidae con la especie *Lumbricus rubellus*. Entre los hirudíneos se pueden encontrar a las especies *Erpobdella sp* y *Glossosiphonia sp (idem)*.

Las especies de moluscos que se han encontrado en este tipo de sistema pertenecen a los géneros *Lymnaea* y *Physa*. Generalmente en los biodiscos no existen insectos voladores sin embargo, pueden llegar a encontrarse dípteros de la especie *Psychoda alternata*, y colémbolos de los géneros *Achorutes*, *Tomocerus*, *Folsomia (idem)*.

El que una especie sea dominante en una etapa del sistema no significa que este organismo no encuentre en otras etapas: su abundancia de este decrece en las zonas donde las condiciones no son adecuadas para su desarrollo.



## **5. RESPIROMETRIA**

La respirometría se basa en la medición del consumo de oxígeno por microorganismos o por enzimas que utilizan el oxígeno atmosférico como último receptor de electrones. Conociendo el consumo de oxígeno con respecto al tiempo es posible determinar la cinética de eliminación de sustratos, ya que el consumo de oxígeno es función del consumo de sustratos.

### **5.1 RESPIRACION**

La respiración aerobia se define como la oxidación de materia orgánica por oxígeno molecular (Lehninger, 1976). A través de este proceso los microorganismos aerobios en los sistemas para tratamiento de aguas residuales obtienen energía al degradar la materia contaminante.

Cuando el agua de desecho entra en contacto con una población bacteriana heterótrofa, el oxígeno disuelto en el agua se utiliza para oxidar la materia orgánica a anhídrido carbónico y agua.

La cantidad de oxígeno consumido y la rapidez con la que se consume varía considerablemente con la especie, con la naturaleza del sustrato y con las condiciones del medio.

## 5.2 RELACION ENTRE EL CONSUMO DE SUSTRATO Y DE OXIGENO

El consumo total de oxígeno durante la degradación de un sustrato es la suma de la respiración endógena (respiración de la célula en ausencia de sustratos exógenos) y la respiración exógena (respiración para consumir el sustrato). Para cuantificar la respiración de un sustrato es necesario restar el valor de respiración endógena del valor de respiración exógena.

La figura 5.2 muestra la relación entre el consumo de sustrato y el consumo de oxígeno.

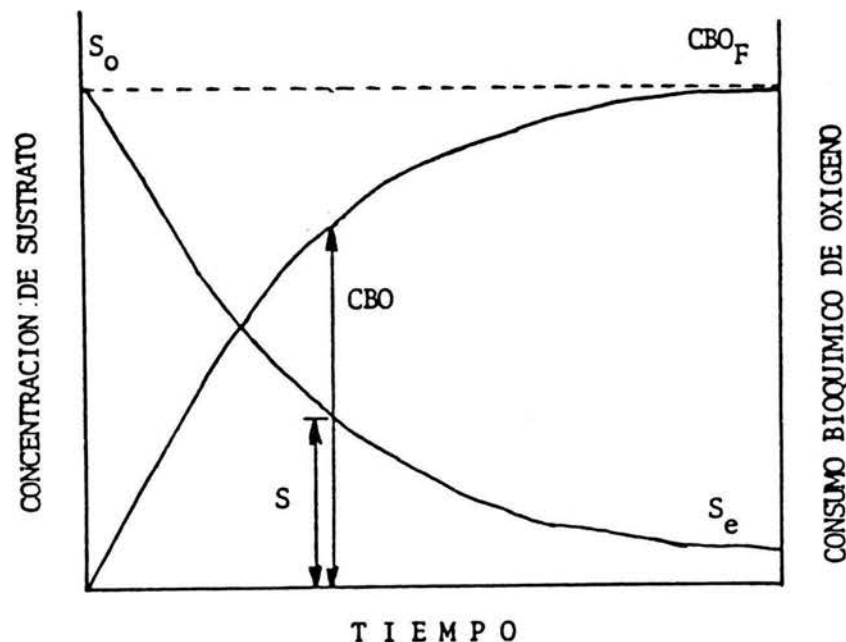


Figura 5.2. Relación entre consumo de sustrato y consumo de oxígeno (González y Díaz, 1987)

En la figura 5.2 se muestra como un sustrato con una concentración inicial  $S_0$  en un tiempo inicial igual a cero se degrada hasta alcanzar

una concentración diferente ( $S_e$ ) después de un tiempo  $t$ . Al mismo tiempo que se consume el sustrato se lleva a cabo el consumo bioquímico de oxígeno (CBO), el cual alcanza un valor máximo (CBO<sub>f</sub>) cuando el sustrato ha sido metabolizado completamente. La relación de las cantidades de sustrato y oxígeno consumidos se mantienen constantes para cualquier tiempo  $t$ , lo cual indica que la relación entre el consumo de oxígeno y de sustrato es constante y lineal.

Cuando el sustrato ha sido consumido, las células continúan respirando usando sustancias almacenadas dentro de la célula. Este metabolismo endógeno es el que le permite sobrevivir a la célula en condiciones adversas. Los primeros compuestos endógenos o almacenados que se oxidan son el glicógeno y el PHB (polihidroxibutiratos); otros constituyentes celulares (aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos) pueden ser degradados si la célula carece de material de reserva.

### **5.3 RESPIROMETRO WARBURG**

El respirómetro Warburg es el dispositivo más ampliamente usado para medir el oxígeno consumido por células. El uso del respirómetro Warburg tiene como ventajas:

- Posibilidad de efectuar determinaciones de varias muestras simultáneamente minimizando los errores de muestreo y los ocasionados por el pipeteado de diluciones.

- El valor de consumo de oxígeno se puede calcular sencillamente.

La figura 5.3 muestra un diagrama de este aparato.

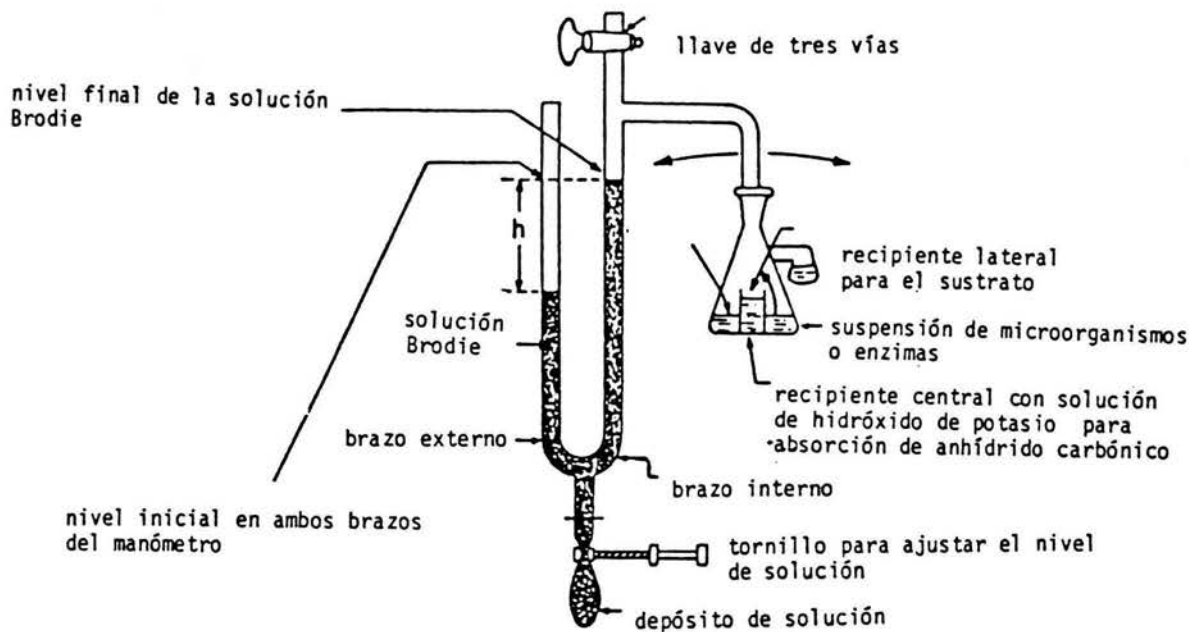


Figura 5.3 Respirómetro Warburg (Gaudy y Gaudy, 1981)

El respirómetro consiste en un baño de agua a temperatura constante, un conjunto de matraces especiales equipados con manómetros y un mecanismo agitador (Gaudy y Gaudy, 1981).

En este reactor se pueden utilizar varios frascos de reacción al mismo tiempo y su tamaño puede variar entre 15 y 150 ml. En la parte inferior de cada matraz hay un depósito interno central en el que se pone una solución de hidróxido de potasio, la cual sirve para absorber el anhídrido carbónico generado durante la oxidación biológica; la parte externa al depósito sirve para colocar la suspensión de microorganismos o enzimas. En la parte superior lateral hay otro recipiente donde se coloca la solución de sustrato.

El manómetro tiene una rama abierta y una cerrada que se conecta al matraz; en la parte superior tiene una válvula de tres pasos. Ambas ramas están graduadas en milímetros.

En la parte inferior de la unión de las dos ramas del manómetro se encuentra el depósito del fluido manométrico, el cual presionado por una pinza de tornillo, hace subir o bajar el nivel del fluido.

Los fluidos convencionalmente utilizados en los manómetros son la solución de Brodie y la solución de Kreb.

El mecanismo agitador realiza movimientos circulares que permiten el mezclado en el interior del recipiente.

### **5.3.1 Funcionamiento del respirómetro Warburg**

Inicialmente hay que seleccionar un punto de referencia en el manómetro (generalmente 250 ó 150 mm en la rama cerrada), al cual tendrá que ajustarse el nivel del fluido de esta misma rama antes de registrar cualquier cambio de presión.

Para iniciar las determinaciones experimentales es necesario que el contenido del matraz este mezclado completamente, una vez logrado lo anterior se procede a conectar el manómetro al matraz de reacción.

El recipiente de reacción se sumerge en el agua a temperatura constante. Una vez estabilizada la temperatura, el frasco y el manómetro se inclinan para que el sustrato vierta hacia el compartimiento principal y entre en contacto con la suspensión de microorganismos. Este procedimiento se toma como tiempo de inicio de reacción ( $t=0$ ).

Los cambios generados por variaciones de temperatura o presión son corregidos por un termobarómetro, este es un matraz que contiene agua destilada. Generalmente, en este matraz se emplea un volumen de agua, igual al que se encuentra en los matraces de reacción. Si el nivel del líquido en la rama abierta del termobarómetro se eleva, hay una disminución en la presión ambiente o un incremento en la temperatura del baño y viceversa.

Para la toma de lecturas, se gira la pinza de tornillo sobre el depósito de fluido manométrico para llevar su nivel al punto de referencia en la rama conectada a la válvula de tres pasos y se mantiene esta a presión atmosférica, se cierra la válvula y se toma la lectura de la rama abierta. Las lecturas se toman generalmente cada 5 minutos, durante este intervalo de tiempo los microorganismos consumen el oxígeno presente, haciendo que el nivel de fluido suba en la rama cerrada y baje en la rama abierta. Nuevamente, se ajusta el nivel de solución de la rama cerrada al nivel de referencia, para mantener constante el volumen de gas en la rama del matraz y se toma la lectura de la rama abierta.

Como ya se mencionó, la respiración biológica consume oxígeno y produce anhídrido carbónico. El agotamiento del oxígeno disuelto hace que el oxígeno del aire existente sobre el líquido se disuelva en él disminuyendo la presión en el frasco. La cantidad de oxígeno consumido puede calcularse entonces, por la caída de presión medida por el manómetro.

El valor de consumo de oxígeno se obtiene por medio de la fórmula 5.1:

$$\text{Consumo de oxígeno (mg de O}_2\text{/l)} = h ( k ) \quad (5.1)$$

donde:

h = diferencia de presión medida en milímetros.

k = constante del frasco de reacción

La constante de cada frasco se obtiene a través de la fórmula:

$$k = 0.143 \left[ V_g \frac{273}{T} + V_f \alpha_{O_2} \right] \frac{1}{V_r} \quad (5.2)$$

donde:

$V_g$  = volumen del gas dentro del frasco y en el manómetro hasta la marca de referencia (ml)

$V_r$  = volumen de la suspensión de microorganismos más el volumen del sustrato (ml).

$V_f$  = volumen de la solución de potasio y de sustrato más el volumen de la suspensión de microorganismos. (ml)

$T$  = temperatura ( $^{\circ}K$ )

$\alpha_{O_2}$  = coeficiente de difusión oxígeno en agua a la temperatura de experimentación

Graficando la suma acumulativa del consumo de oxígeno y el tiempo se obtiene una gráfica similar a la siguiente:

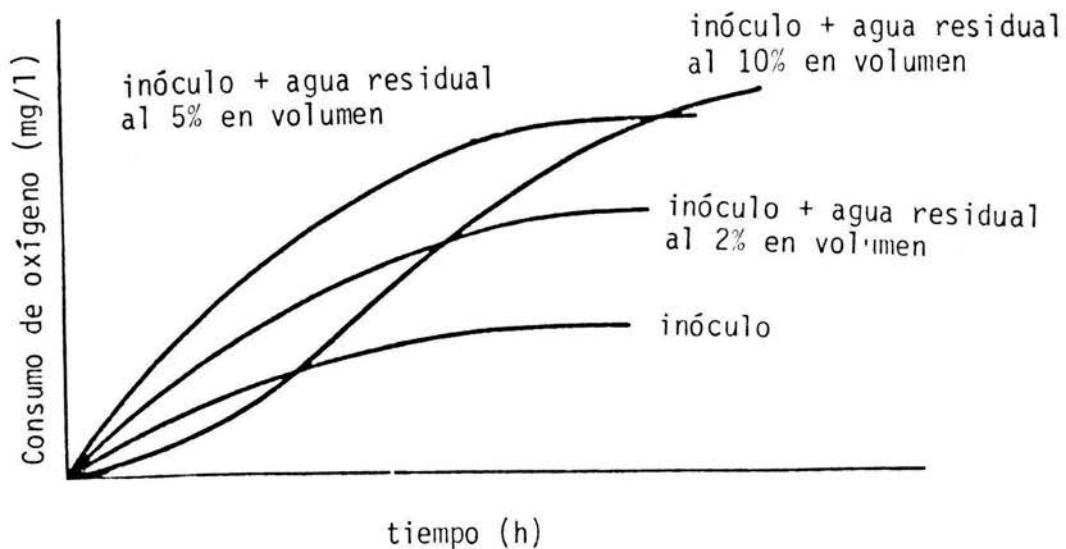


Figura 5.3.1 Consumo de oxígeno con diferentes concentraciones de aguas residuales.

Como se observa en la figura 5.3.1, el comportamiento seguido al inicio de la degradación de un sustrato es lineal, hasta que se alcanza una estabilización en el consumo de oxígeno, en este punto no hay consumo de oxígeno, por lo tanto, el sustrato ha sido degradado.

## **6. CINETICA ENZIMATICA**

La rapidez de las reacciones que se realizan en sistemas para tratamiento de aguas residuales de película biológica está limitada por diferentes fenómenos. El sustrato (donadores y aceptores de electrones) y los nutrientes necesitan ser transportados del agua residual a la película biológica donde se lleva a cabo la reacción y los productos, excepto la biomasa, tienen que salir de la célula (Harremoës, 1978). Los fenómenos involucrados son:

- Transporte de sustratos y nutrientes del agua residual a la película biológica.
- Difusión de las moléculas nutritivas hacia la célula, a través de la película líquida que se forma sobre la película biológica.
- Fijación de nutrientes en la superficie celular .
- Hidrólisis de las moléculas fijadas.
- Transporte activo por medio de transferasas, hasta los centros de procesamiento.
- Asimilación de sustratos y nutrientes por medio de reacciones enzimáticas.



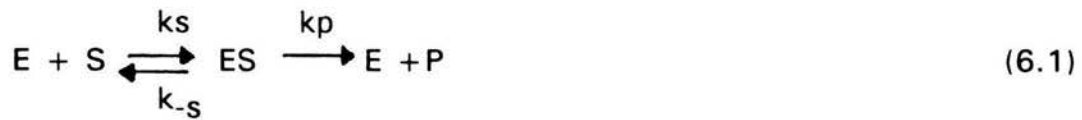
Este último paso es el más lento del proceso, por lo tanto, es el que controla la rapidez global de la reacción. El proceso degradativo por medio del cual se elimina la materia orgánica de las aguas residuales puede describirse por medio de la teoría de Michaelis y Menten, ya que el paso que controla la rapidez de este, es la reacción enzimática (Segel, 1975).

## 6.1 ECUACION DE MICHAELIS Y MENTEN

El primer modelo para describir la degradación enzimática fue propuesto por Henri en 1903. Este modelo considera que la rapidez inicial de la reacción es directamente proporcional a la concentración de enzima, incrementándose de manera no lineal con el incremento de la concentración de sustrato, hasta alcanzarse la rapidez máxima limitante. La ecuación de Henri está basada en los siguientes postulados (Segel, 1975):

- La enzima es un catalizador (propuesto en 1835 por Berzelius).
- La enzima y el sustrato reaccionan rápidamente para formar un complejo enzima-sustrato (propuesto en 1902 por Brown).
- Solamente se involucran un sustrato y un complejo enzima-sustrato, este complejo se rompe para formar enzima libre y producto.
- La enzima, el sustrato y el complejo enzima-sustrato están en equilibrio, esto significa que la rapidez con la cual el complejo enzima-sustrato se disocia a enzima y producto es más rápida que la velocidad con la cual el complejo enzima-sustrato se rompe para formar enzima y producto.
- La concentración de sustrato es mucho mayor que la concentración de enzima; la formación del complejo enzima-sustrato no altera la concentración de sustrato.
- La rapidez global de la reacción está limitada por la ruptura del complejo enzima-sustrato para formar enzima libre y producto.
- La rapidez se mide durante las primeras etapas de la reacción, considerando que la reacción inversa es insignificante.

La reacción global puede escribirse de la siguiente manera:



donde:

E = enzima total (libre y combinada)

S = sustrato

ES = complejo enzima-sustrato

P = producto

$k_s$ ,  $k_{-s}$  y  $k_p$  = constantes de rapidez de la reacción

La ecuación obtenida basandose en los postulados anteriores es la siguiente:

$$v = \frac{K [S]}{1 + \frac{[S]}{K_s}} \quad (6.2)$$

donde:

[S] = concentración de sustrato

$v$  = rapidez inicial de la reacción. Durante  $v$  la aparición del producto es lineal con respecto al tiempo, asimismo, no se utiliza más del 5% del sustrato

$K_s$  = constante de disociación del complejo ES  
 $= k_{-1}/k_1 = [E] [S] / [ES]$

$K$  = constante, característica de la enzima  
 $= k_p [E]_t / K_s$ , donde  $[E]_t$  es la concentración total de enzima,  $[E] + [ES]$

Diez años más tarde Michaelis y Menten confirmaron el trabajo experimental de Henri y presentaron una versión ligeramente modificada de la ecuación original (Segel, 1975). La formulación de esta teoría se basa en la ecuación 6.1; partiendo de esta ecuación se

hace un balance de masa que exprese la distribución de enzima total [E]<sub>t</sub>:

$$[E]_t = [E] + [ES] \quad (6.3)$$

La rapidez inicial es igual a las concentraciones de todos los productos formados, cada uno multiplicado por su constante catalítica. Cuando solamente hay una especie formadora de producto [ES], la ecuación es la siguiente:

$$v = k_p [ES] \quad (6.4)$$

Dividiendo el término izquierdo de la ecuación anterior entre [E]<sub>t</sub> y el derecho entre [E]<sub>t</sub>, expresado como la suma de las formas en las que puede estar la enzima:

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_p [ES]}{[E] + [ES]} \quad (6.5)$$

Si se expresa la concentración de cada especie enzimática en términos de enzima libre es necesario reorganizar las expresiones para los diferentes equilibrios. Para una sola reacción solo hay un equilibrio:

$$k_s = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad \text{por lo tanto,} \quad [ES] = \frac{[S]}{k_s} [E] \quad (6.6)$$

Substituyendo la ecuación 6.6 en la ecuación 6.5:

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_p \frac{[S]}{k_s} [E]}{[E] + \frac{[S]}{k_s} [E]} \quad (6.7)$$

Cancelando [E] y denominando a  $k_p [E]_t$  como  $V_{max}$ :

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{1 + [S]/k_s} \quad (6.8)$$

La ecuación 6.8 puede convertirse a la forma usual de la ecuación de Michaelis y Menten multiplicando el numerador y el denominador del segundo término de la ecuación por  $K_s$ .

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_s + [S]} \quad (6.9)$$

En esta ecuación se supone que la concentración de sustrato es mucho mayor que la de la enzima y que solamente se mide rapidez inicial de las reacciones.

La representación gráfica de la ecuación de Michaelis y Menten es una hipérbola en la que se presentan reacciones de primer orden y de orden cero.

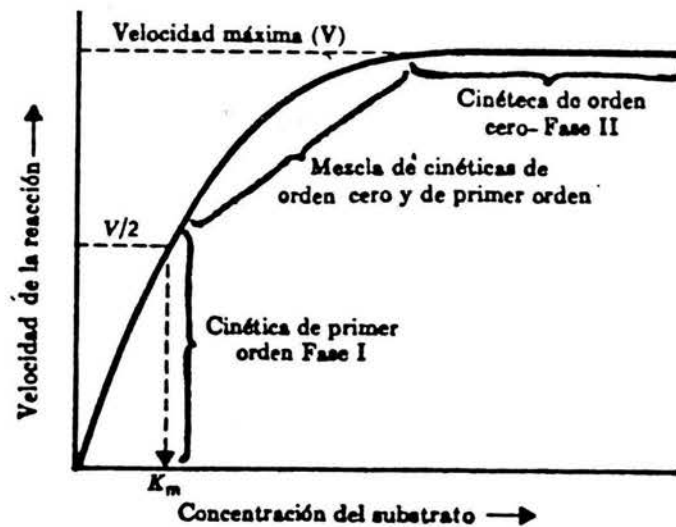


Figura 6.1 Efecto de la concentración de sustrato en la rapidez de reacción (Conn y Stumpf, 1988)

Como se observa en la gráfica 6.1, un aumento de sustrato manteniendo fija la concentración de enzima produce al principio un aumento considerable en la rapidez de la reacción. A medida que aumenta la concentración de sustrato la aceleración de la rapidez de reacción empieza a disminuir, produciéndose una reacción de orden mixto. Finalmente, cuando la concentración del sustrato es elevada no se observa cambio en la rapidez, en este punto se alcanza la rapidez máxima de la reacción, este efecto se conoce como efecto de saturación enzimática; una vez que se ha alcanzado es independiente de la concentración de sustrato.

En la parte lineal de la gráfica los sitios activos de las enzimas no están saturados con el sustrato. A medida que aumenta el número de las moléculas de sustrato, dichos sitios se van cubriendo cada vez en mayor grado hasta que en el punto de saturación (reacción de orden cero) no queda ninguno disponible, la enzima trabaja a su máxima capacidad.

## 6.2 ECUACION DE LINEAWEAVER Y BURK

En 1934 Lineaweaver y Burk propusieron un método simplificado para determinar los valores de los coeficientes cinéticos cinética a partir del modelo de Michaelis y Menten. Mostraron que sí se usan los recíprocos de la ecuación 6.11 se tiene:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{1}{[S]} \cdot \frac{1}{V_{\max}} \quad (6.10)$$

De donde se obtiene la ecuación de Lineaweaver-Burk

$$\frac{1}{V} = \frac{[S]}{V_{\max}[S]} + \frac{K_m}{V_{\max}[S]} \quad (6.11)$$

Sí se representa gráficamente  $1/V$  en función de  $1/[S]$ , se obtiene una línea recta la cual se muestra en la figura 6.2.

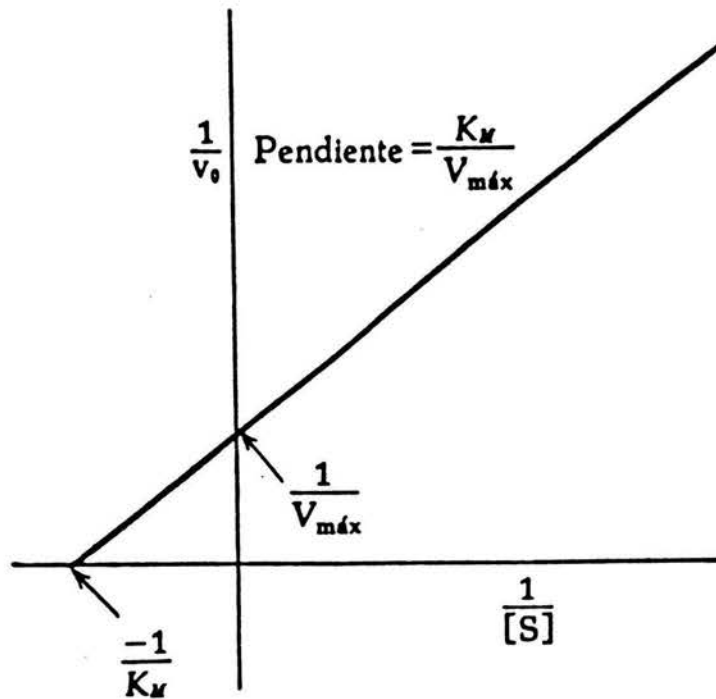


Figura 6.2 Forma linealizada de la ecuación de Michaelis y Menten (Lenninger, 1976)

A partir de esta gráfica es posible obtener las constantes de Michaelis y Menten y la rapidez máxima del proceso ( $V_{max}$ ), ya que la pendiente es igual a  $K_M / V_{max}$ , el punto de intersección con la ordenada al origen es igual a  $1/V_{max}$  y el punto de intersección con el lado negativo de la abscisa es igual a  $-1/K_M$ .

## **7. MATERIAL Y METODO**

En el presente capítulo se hace una descripción del método que se utilizó para determinar las constantes cinéticas en películas biológicas. Se utilizó un respirómetro Warburg modificado el cual permite determinar las curvas de consumo de oxígeno (DBO). Para los experimentos se utilizaron películas biológicas generadas en la primera y tercera etapas del BIODISCO de la Ciudad Universitaria, D.F. Los sustratos utilizados fueron acetato de sodio, glucosa y aguas residuales para películas que eliminan material carbonoso, mientras que para películas nitrificantes, cloruro de amonio y agua de la tercera etapa del sistema. La determinación de los parámetros cinéticos  $K_m$  y  $V_{max}$ , se realizó con base en el modelo propuesto por Michaelis y Menten.

## 7.1 DESCRIPCIÓN Y FUNCIONAMIENTO DEL RESPIROMETRO

El sistema es cerrado y consta de 6 unidades independientes y cada una tiene dos partes principales: un manómetro y un frasco de reacción. La figura 7.1 muestra el diagrama de una unidad.

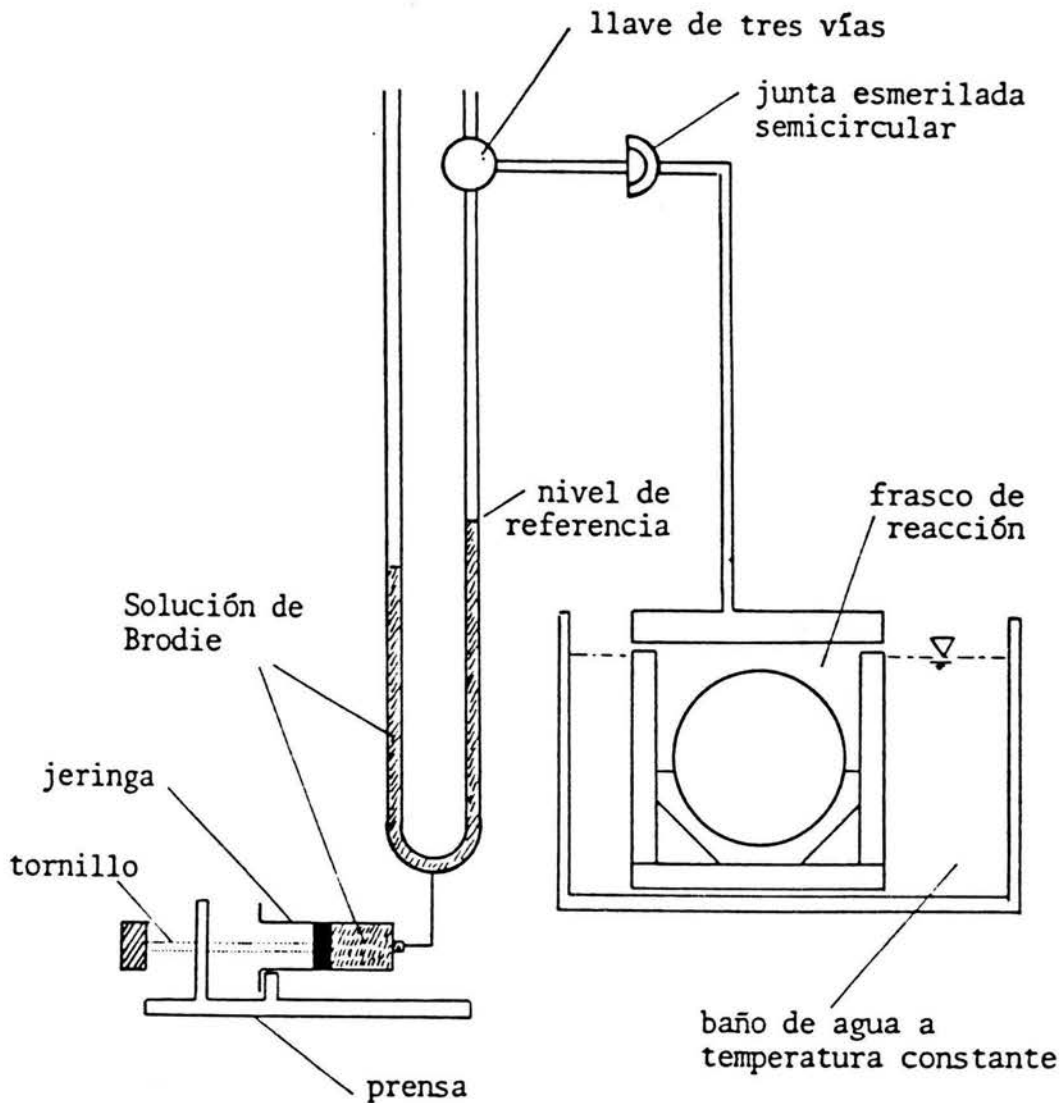


Figura 7.1 Unidad del respirómetro Warburg modificado

Se utilizaron discos de vidrio esmerilado como medio de soporte para el desarrollo de microorganismos; se escogió este tipo de superficie porque permite una buena adhesión de los microorganismos a la misma. Los discos miden 10 cm de diámetro y 3 mm de espesor, en el



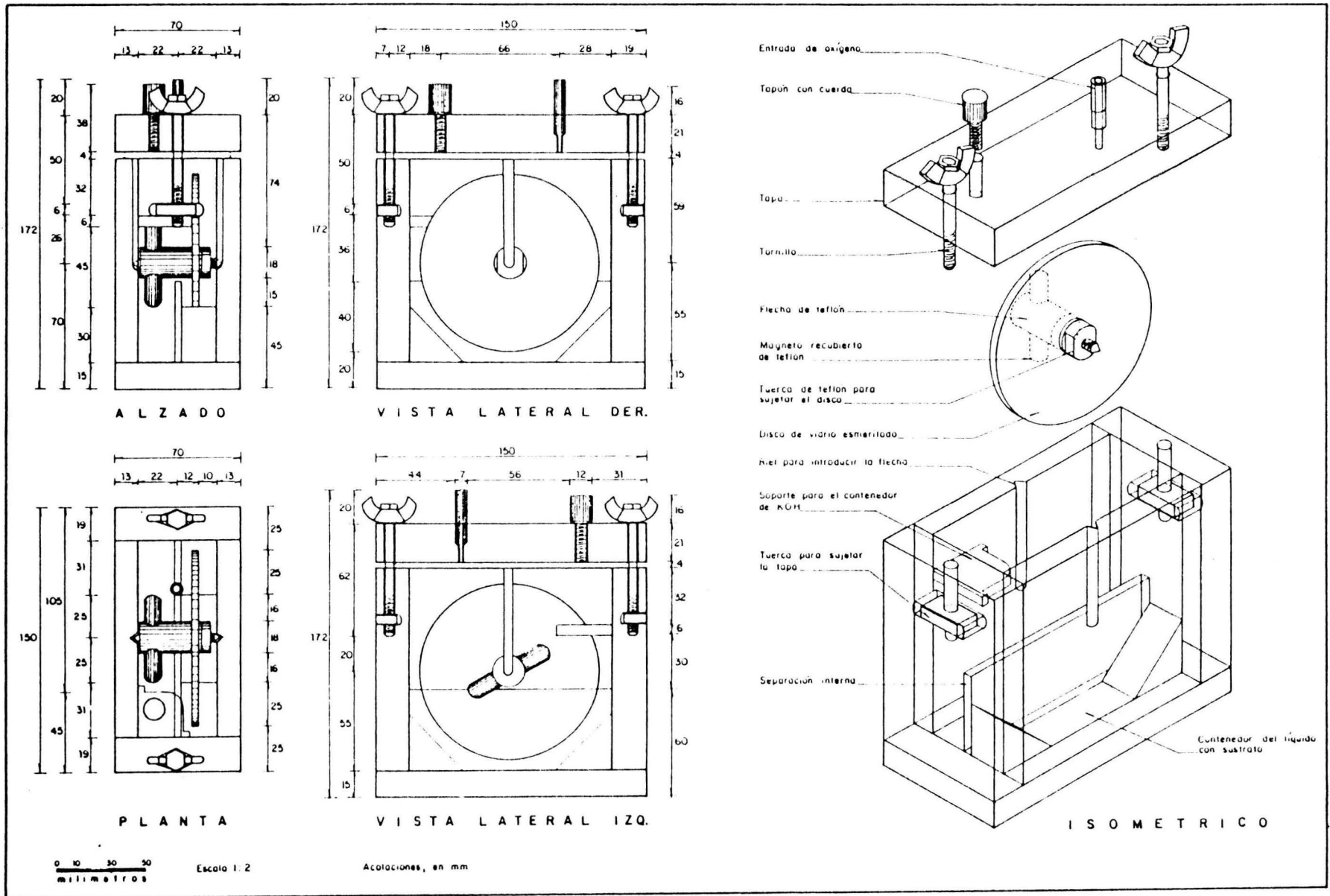


Figura 7.2 Estructura y dimensiones de los frascos de reacción del respirómetro Warburg

centro tienen un orificio, que sirve para sujetarlos a una flecha sobre la cual pueden girar.

Los frascos de reacción, figura 7.2, están hechos de acrílico, en su parte inferior el recipiente está dividido longitudinalmente en dos: una sirve para colocar la solución con sustrato y la otra proporciona el espacio necesario para que gire un magneto incluido en la flecha de los discos esmerilados. Al introducirse el disco queda colocado de tal forma que la película biológica se sumerge en la solución nutritiva aproximadamente en 40% de su superficie. En la parte superior interna se colocó un soporte que se utiliza como contenedor de hidróxido de potasio para absorber el anhídrido carbónico producido por los microorganismos.

En la tapa de los frascos de reacción hay 4 perforaciones; 2 sirven para colocar tornillos que sujetan la tapa al recipiente, una tercera perforación sirve para conectar el recipiente al equipo de medición y la última tiene un tapón para introducir la solución con sustrato.

Cada uno de los frascos está conectado a un manómetro de 40 cm de longitud, por medio de una junta esmerilada semiesférica. En la parte inferior del manómetro se ajustó una jeringa como recipiente para la solución Brodie. El émbolo de la jeringa se acciona por una pequeña prensa de tornillo que permite mover el émbolo de la jeringa y así ajustar los niveles del líquido en el manómetro.

El sistema de tracción consiste de 6 poleas de aluminio colocadas en forma vertical y separadas entre ellas 20 cm de centro a centro. Sobre cada polea se fijó un magneto permanente para que al girar las poleas por medio de una banda accionada por un motor de velocidad variable acoplado con una fuente de poder, impulsen a los magnetos acoplados a la flecha dentro del recipiente.

El funcionamiento del sistema es similar al descrito en el subcapítulo 5.3.1; la función principal es entonces, la medición de la diferencia de

presión originada por la disminución de la cantidad de oxígeno en el frasco de reacción.

La toma de lecturas se hace ajustando el nivel de solución Brodie por medio de la prensa de tornillo hasta la marca de referencia; la lectura se hace en el lado izquierdo del manómetro. La toma de lecturas se hizo cada 5 minutos y el periodo de tiempo durante el cual se hicieron las lecturas se determinó con base en trabajos anteriores (González y Díaz, 1987 y Göbel-Meurer, 1979); el principal criterio para la determinación del tiempo de degradación es la complejidad estructural del sustrato.

## **7.2 CONDICIONES DE OPERACION DEL SISTEMA**

### **7.2.1 Temperatura.**

Los frascos se mantuvieron a temperatura constante por inmersión en un baño de agua. La temperatura con la que se trabajó fué de 20°C. Para mantenerla así se utilizaron un termostato y un espiral de cobre para flujo de agua fría con el fin de subir o bajar la temperatura, respectivamente.

La mayoría de los organismos presentes en las aguas de desecho se desarrollan a aproximadamente 20°C, por lo que se eligió esta temperatura para evitar que los microorganismos sufran cambios ambientales drásticos que afecten su metabolismo. Temperaturas menores a este rango afectan los sistemas de transporte membranal, disminuyendo la rapidez de difusión de sustratos, lo que impide que los sustratos puedan entrar rápidamente a la célula, dando como resultado una baja rapidez de crecimiento. Con el incremento de la temperatura los lípidos de la membrana pueden fundirse, causando una pérdida de la integridad estructural de la membrana, lo que provoca a su vez la fuga de contenidos celulares, por otro lado, sí se incrementa la temperatura se induce a que la reacción se lleve a cabo rápidamente, lo que podría dificultar una definición clara de las distintas etapas de degradación de cada uno de los sustratos.

### **7.2.2 pH.**

El valor de pH se ajustó a 7.2 por medio de una solución amortiguadora de fosfatos (monobásico y dibásico de potasio) en la que se solubilizó el sustrato. Se eligió este valor de pH considerando que las aguas residuales de origen municipal tienen valores neutros y que la mayoría de los organismos tienen un pH óptimo cercano a la neutralidad; en el rango de 5 a 9. Valores de pH mayores o menores a los señalados afectan principalmente a la actividad enzimática, puesto que cada enzima es activa en un rango específico de valores de pH.

### **7.3 GENERACION Y CARACTERIZACION DE LAS PELICULAS BIOLÓGICAS**

Las películas biológicas se generaron en el biodisco de la planta para tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria. Los discos de vidrio esmerilado se fijaron por medio de soportes sobre el empaque plástico del biodisco.

Para la generación de películas que eliminan material carbonoso los discos se pusieron en la primera etapa del biodisco durante un periodo de 3 a 5 días. Para películas nitrificantes los discos se colocaron en la tercera etapa del sistema durante dos semanas aproximadamente.

La biomasa se cuantificó midiendo el grosor de la película biológica y por medio de sólidos suspendidos totales y nitrógeno Kjeldahl (APHA/AWWA/WPCF, 1985).

### **7.4 OBTENCION DEL VOLUMEN Y DE LAS CONSTANTES DE REACCION**

Para conocer el valor de consumo de oxígeno durante la degradación un sustrato es necesario determinar el valor de  $k$  o constante de los frascos de reacción, este valor se determinó a partir de la ecuación 5.2.

Realizando el segundo producto de esta ecuación y considerando que  $V_R$  es igual a  $V_f$ , ya que el volumen de microorganismos es mínimo, se tiene:

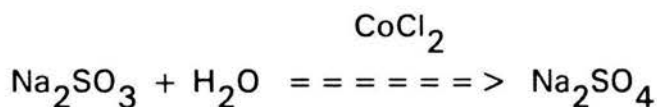
$$k = 0.143 \left( \frac{V_g}{V_f} \cdot \frac{273}{T} + \alpha O_2 \right) \quad (7.4)$$

Con esta ecuación se determinaron los valores para las constantes de cada uno de los frascos. Al valor de  $V_g$  (volumen de gas dentro del frasco de reacción más el volumen del manómetro hasta la marca de referencia) se le restaron los valores de los volúmenes de la solución con sustrato y del disco y la flecha.

Una vez obtenido el valor de  $k$  para cada uno de los frascos, se utilizó la ecuación 5.1 (cap. 5), lo que permitió obtener la cantidad de oxígeno utilizado durante la degradación del sustrato presente.

## 7.5 VERIFICACION DEL SISTEMA

Antes de realizar corridas utilizando películas biológicas se verificó que el respirómetro Warburg funcionara adecuadamente. Con este fin se hicieron corridas usando sulfito de sodio. Se usó este compuesto por ser susceptible de oxidarse al estar disuelto en agua y en presencia de oxígeno molecular (Quintero, 1981). La reacción es la siguiente:



Por medio del respirómetro se cuantificó la cantidad de oxígeno necesaria para que se lleve a cabo esta oxidación.

Con el objetivo de verificar el funcionamiento del sistema, se compararon los valores de consumo de oxígeno obtenidos experimentalmente con, los valores teóricos obtenidos a través de la estequiometría de la reacción.

## **7.6 SUSTRATOS UTILIZADOS**

Las corridas iniciales con películas biológicas se hicieron con sustratos de fácil degradación: acetato de sodio y glucosa. Las concentraciones utilizadas fueron 36, 108, 145 y 100, 200, 300 mg/l, respectivamente, la elección de estos valores se hizo con base en los trabajos realizados por González y Díaz, 1987. Esto sirvió para tener un patrón del comportamiento seguido durante la eliminación de material carbonoso y para poder comparar valores teóricos (obtenidos a través de la estequiometría de la reacción) con experimentales. Una vez determinada la cinética de eliminación de los sustratos anteriores se utilizó como sustrato el agua residual que llega al biodisco de la planta para tratamiento de Ciudad Universitaria, la medida de contaminantes se cuantificó por medio de una demanda química de oxígeno (APHA/AWWA/WPCF, 1985)

Para la determinación de la cinética de eliminación de material nitrogenado, se utilizaron como sustratos cloruro de amonio y aguas tratadas de la tercera etapa del biodisco. El cloruro de amonio se utilizó con los mismos objetivos que el acetato de sodio y la glucosa, las concentraciones utilizadas fueron 5, 10 y 20 mg N/l las cuales se eligieron con base en los trabajos realizados por Göbel-Meurer (1979). La cantidad de amoniaco presente en las aguas de desecho se determinó por medio de destilación (APHA/AWWA/WPCF, 1985).

## **7.7 DETERMINACION DE LA CINETICA DE ELIMINACION DE SUSTRATOS**

Para determinar la cinética de eliminación de sustratos a través del método propuesto por Lineaweaver y Burk, es necesario trabajar con un mínimo de tres concentraciones diferentes de sustrato; por lo tanto

se dispusieron de cuatro frascos de reacción para la medición de la respiración por sustrato, un frasco más con solución Buffer sin sustrato, se utilizó para cuantificar la respiración endógena y un último frasco con agua destilada y sin película biológica sirvió como termobarómetro para compensar los cambios originados por las diferencias de presión atmosférica y temperatura. En todos los frascos el volumen total de solución fue de 65 ml.

Antes de cada serie de mediciones fue necesario lavar a las películas biológicas durante una hora con solución Buffer para eliminar el material contaminante que pudiera servir de alimento a las bacterias.

Los cálculos de los valores de consumo de oxígeno se obtuvieron a partir de un programa de computadora realizado con este fin.

Para la determinación de la cinética de eliminación de sustratos se trabajó con los valores netos de respiración, estos se obtuvieron restando la respiración endógena a la respiración combinada (respiración endógena más respiración exógena).

La obtención de las constantes cinéticas se hizo por medio de métodos gráficos. Inicialmente se graficó el consumo de oxígeno para cada uno de los sustratos, contra el tiempo; a partir de estas gráficas se obtuvo el consumo final de oxígeno y la velocidad de degradación para cada una de las concentraciones iniciales utilizadas.

Con los valores de rapidez obtenidos de las gráficas anteriores se determinaron las constantes: rapidez máxima de degradación y constante de Michaelis y Menten, con base en el método propuesto por Lineaweaver y Burk.

Para la obtención del consumo específico de oxígeno para cada sustrato, se graficaron las concentraciones de sustrato utilizadas contra el consumo final de oxígeno para cada una de estas.

Los resultados para las constantes se obtuvieron utilizando análisis de regresión lineal.



## 8. RESULTADOS

### 8.1 VERIFICACION DE LA OPERACION DEL SISTEMA

Utilizando tres concentraciones de sulfito de sodio en el respirómetro, se obtuvieron las curvas de la figura 8.1. Los valores de consumo de oxígeno a partir de los cuales se obtiene esta gráfica se muestran en la tabla A del apéndice.

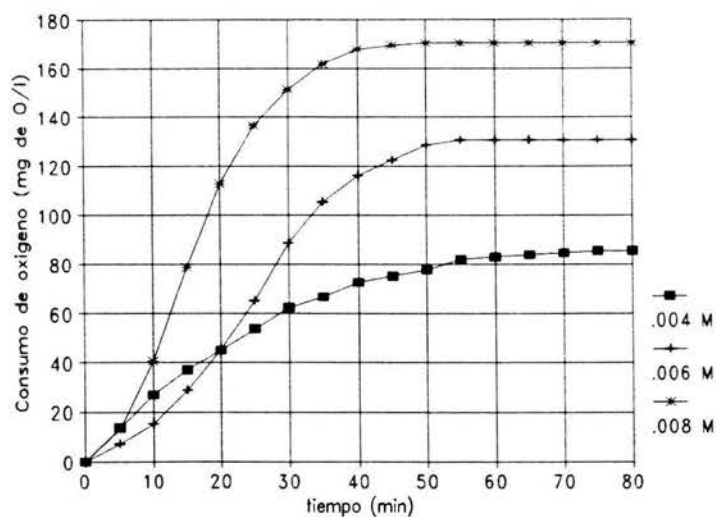


Figura 8.1 Consumo de oxígeno para sulfito de sodio

En la figura 8.1 se grafica el oxígeno consumido para la oxidación de sulfito de sodio contra el tiempo. Después de aproximadamente 60 minutos el sulfito de sodio en los tres frascos de reacción había sido oxidado completamente.

Se obtuvieron los valores finales de consumo de oxígeno (CFO) para cada concentración los que corresponden a los puntos en los cuales la curva es asíntotica al eje de las abscisas. En la tabla 8.1 se muestran los valores experimentales y teóricos para CFO; estos últimos se obtuvieron por medio de la estequiometría de la reacción.

**TABLA 8.1 CONSUMO DE OXIGENO PARA SULFITO DE SODIO**

Concentración de sulfito de sodio (g mol/l)	CFO (mg de O <sub>2</sub> /l)	
	Valores experimentales	Valores teóricos
.004	87	96
.006	133	144
.008	173	192

Los resultados anteriores consideran que, según fabricante, el sulfito de sodio tiene una pureza de 98.2%.

Como se observa en la tabla 8.1, los valores teóricos y los experimentales difieren entre 8 y 10%, siendo estos últimos, en todos los casos, inferiores. Tomando en cuenta este hecho, se realizó la prueba de la demanda química de oxígeno (DQO) para conocer la cantidad real de sulfito de sodio oxidable, de esta prueba se obtuvo que el 7.95% del reactivo no es oxidable debido a impurezas no reportadas en el análisis del laboratorio proveedor, este valor es adicional al 1.8% de impurezas reportadas (98.2% de pureza).

Restando 7.95% al valor teórico la diferencia entre los valores teóricos y experimentales es de 1 a 3 mg de O<sub>2</sub>/l (ver tabla 8.2).

**TABLA 8.2 CONSUMO DE OXIGENO PARA SULFITO DE SODIO**

Concentración de sulfito de sodio (g mol/l)	CFO (mg de O <sub>2</sub> /l)	
	Valores experimentales	Valores teóricos
.004	87	88
.006	133	132
.008	173	176

A partir de los resultados de la tabla 8.2 se determinó que los valores obtenidos con el respirómetro Warburg tienen un nivel de confianza de 98%, por lo tanto, se considera que son confiables.

## 8.2 CINETICA DE ELIMINACION DE SUSTRATOS ORGANICOS

Las figuras 8.2.1, 8.2.2 y 8.2.3 muestran las gráficas correspondientes a la respiración de tres sustratos orgánicos: acetato de sodio, glucosa y aguas residuales de Ciudad Universitaria. Los valores de consumo de oxígeno a partir de los cuales se obtuvieron estas últimas figuras se muestran en el apéndice en las tablas B, C y D respectivamente. Cada gráfica muestra curvas correspondientes al consumo de oxígeno durante la degradación bioquímica de soluciones con diferentes concentraciones.

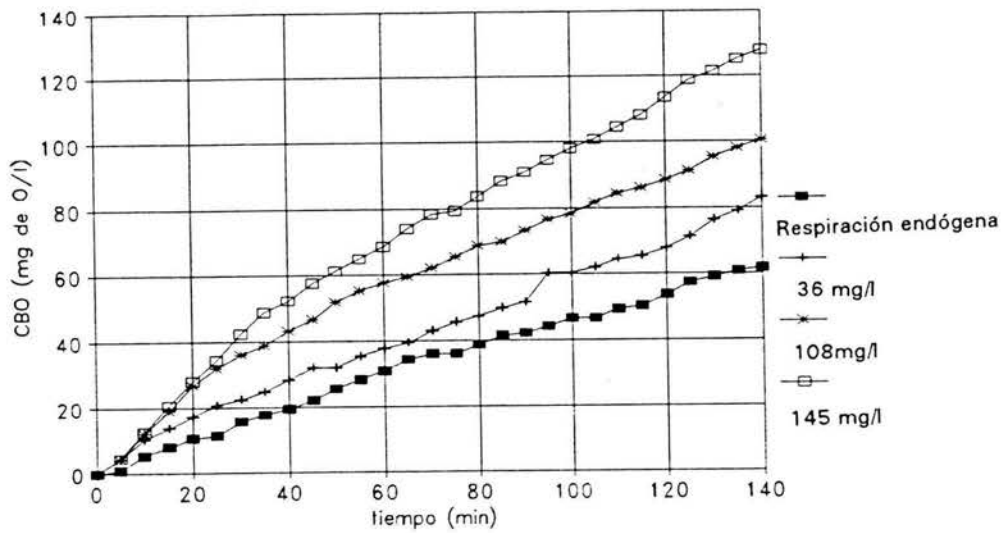


Figura 8.2 Consumo bioquímico de oxígeno para acetato de sodio

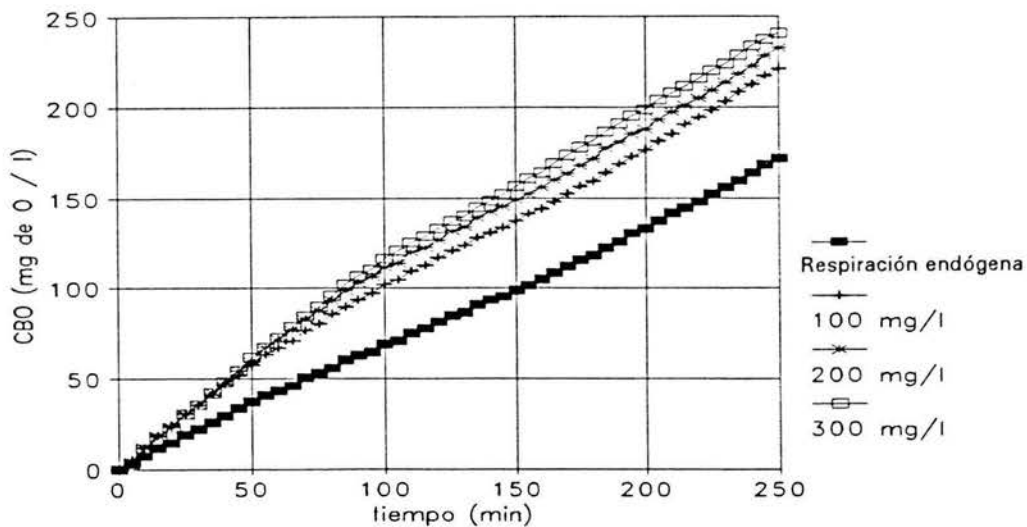


Figura 8.3 Consumo bioquímico de oxígeno para glucosa

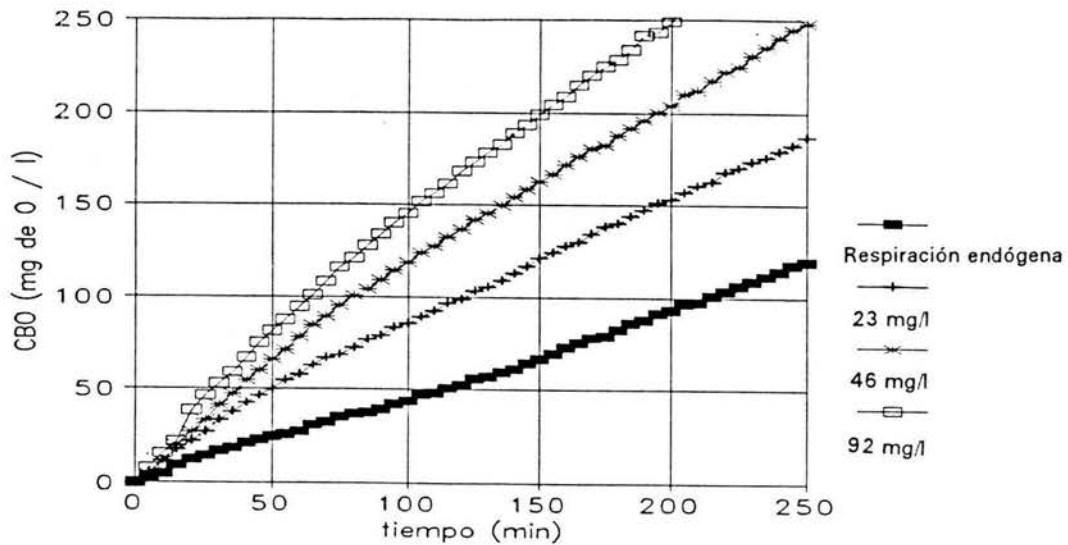


Figura 8.4 Consumo bioquímico de oxígeno para aguas residuales de Ciudad Universitaria

Como se observa en las figuras anteriores, el consumo de oxígeno se incrementa en el momento en el que se proporciona a los microorganismos un sustrato; el valor de respiración exógena se mantiene sobre el valor de respiración endógena, independientemente de la concentración utilizada.

El valor de respiración endógena obtenido a partir de las gráficas anteriores representa entre 40 y 70% de la respiración combinada ó total.

Las figuras 8.5, 8.6 y 8.7 muestran las gráficas correspondientes a la respiración de los tres sustratos orgánicos utilizados después de haber restado la respiración endógena. Los valores utilizados para realizar estas gráficas se muestran en el apéndice en las tablas B, C y D, respectivamente. Las curvas obtenidas indican únicamente la cantidad de oxígeno requerida para la degradación de los sustratos.

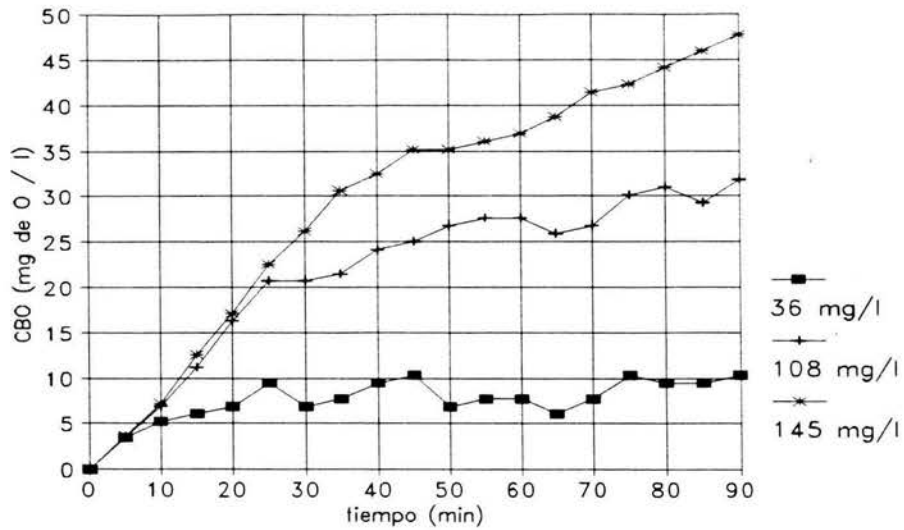


Figura 8.5 Consumo bioquímico de oxígeno para acetato de sodio

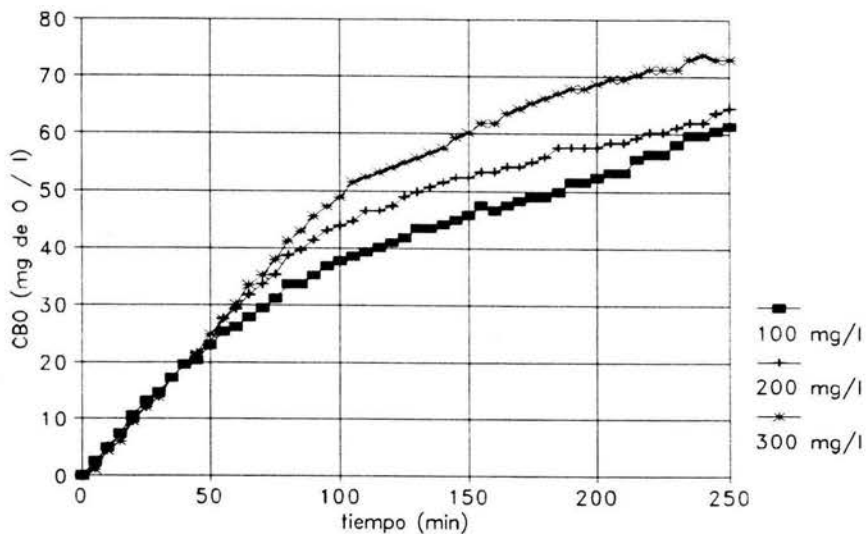


Figura 8.6 Consumo bioquímico de oxígeno para glucosa

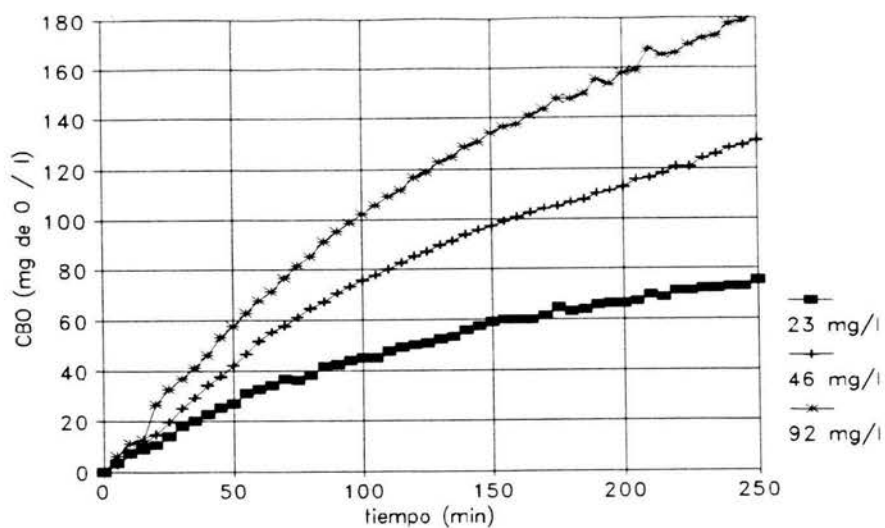


Figura 8.7 Consumo bioquímico de oxígeno utilizando aguas residuales de Ciudad Universitaria.

En las gráficas anteriores se observa que el tiempo de degradación del sustrato, el consumo bioquímico de oxígeno (CBO) y la rapidez inicial de consumo (pendiente inicial de la parte lineal de la curva) se incrementan al aumentar la concentración de sustrato.

En la parte inicial las curvas presentan una pendiente similar, en este lapso de tiempo los microorganismos cuentan con la concentración de sustrato necesaria para funcionar a su máxima capacidad respiratoria cubriendo todos los sitios activos de las enzimas que participan en la degradación (reacción de orden cero); una vez que el sustrato no es suficiente para cubrir dichos sitios se presenta una disminución en la pendiente al observarse una disminución en la respiración (Conn y Stumpf, 1988),

El punto en el que se alcanza la asíntota de la curva corresponde al valor de consumo bioquímico de oxígeno final (CBO<sub>f</sub>), en este punto las células agotaron el sustrato presente. La estimación de este punto se basa en observaciones de las gráficas.

Considerando que cuando se alcanza el valor para CBO<sub>f</sub> se ha agotado el sustrato, es de suponerse que a partir de este punto se presente una

asíntota en las curvas puesto que no hay consumo de oxígeno debido a respiración exógena. En las gráficas anteriores se observa que cuando se alcanza el valor de CBO<sub>f</sub> la pendiente de las curvas se sigue incrementando, este incremento refleja el consumo de oxígeno requerido para la degradación de sustratos endógenos, los cuales son producto del almacenamiento de los sustratos previamente administrados, el comportamiento descrito es más evidente en las gráficas obtenidas durante la degradación de glucosa y aguas residuales.

En la tabla 8.3 se resumen los resultados de las gráficas anteriores.

**TABLA 8.3 VALORES DE CONSUMO FINAL DE OXIGENO Y DE RAPIDEZ DE DEGRADACION**

Sustrato	concentración inicial (mg/l)	CBO <sub>f</sub> (mg de O <sub>2</sub> /l)	rapidez inicial de consumo (mg de O <sub>2</sub> /l min)	coeficiente de correlación
acetato de sodio	36	9.44	0.68	1
	108	24.08	0.83	0.994
	145	35.12	0.90	0.993
glucosa	100	31.11	0.45	0.993
	200	52.47	0.49	0.997
	300	71.28	0.52	0.997
aguas residuales	23	34.38	0.55	0.993
	46	75.70	0.87	0.997
	92	122.80	1.14	0.994

En la tabla anterior se puede observar que cuando se utilizaron aguas residuales los valores de consumo de oxígeno obtenidos con el respirómetro son mayores que los valores de DQO. Teóricamente estos últimos deberían superar a los primeros, considerando que la DQO oxida prácticamente a toda la materia orgánica contenida en la muestra a diferencia del consumo o demanda bioquímica de oxígeno (DBO), en la solamente se oxida a la materia orgánica biodegradable. El valor de estos resultados puede deberse a las siguientes razones:

-Diferencias (bioquímicas, ecológicas, etc.) existentes entre las películas biológicas de los diferentes discos. En este caso particular, es posible suponer que la respiración endógena registrada en el frasco



testigo fue menor que la de los frascos con sustrato lo que resulta en una sobreestimación de la respiración exógena.

-Incremento en los valores de respiración endógena en los frascos con sustrato. Painter (1983) demostró que la respiración endógena es mayor en presencia de sustratos fácilmente biodegradables. Para los organismos de los sistemas para tratamiento de aguas residuales el sustrato preferencial es el agua de desecho al que están aclimatados y en el cual se desarrollan de forma espontánea: los microorganismos cuentan con un sistema enzimático especializado en la degradación de este tipo de sustrato. Por lo tanto, el incremento en la respiración endógena en los frascos con sustrato produce también una sobreestimación de la respiración exógena al no aumentar de forma proporcional en el frasco testigo.

### 8.2.1 Obtención del consumo específico de oxígeno para la degradación de material carbonoso

Graficando los valores finales de consumo de oxígeno (tabla 8.3) de cada sustrato contra la concentración de sustrato inicial se obtuvieron las figuras 8.8, 8.9 y 8.10:

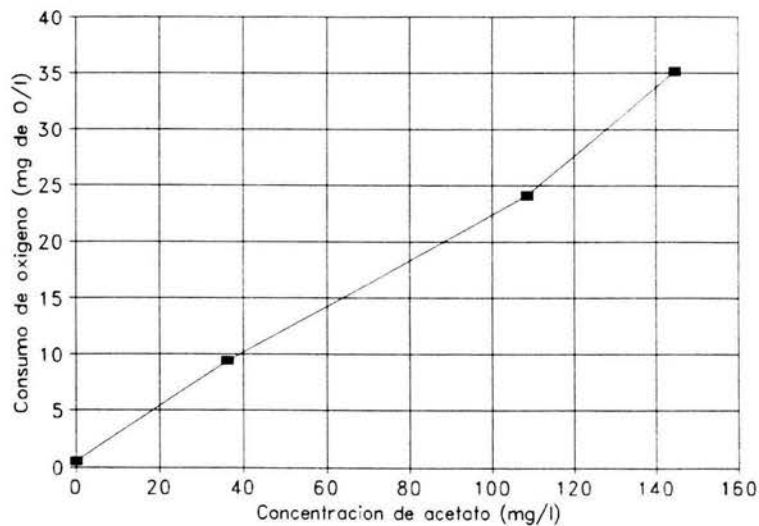


Figura 8.8 Obtención del consumo específico de oxígeno para acetato de sodio

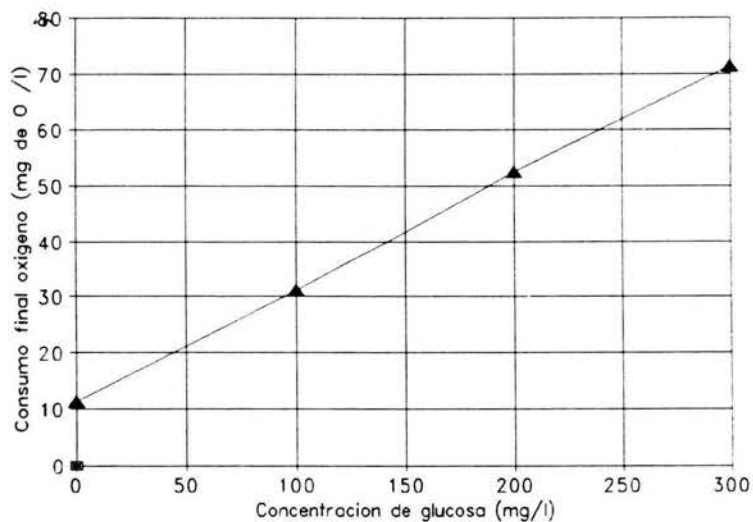


Figura 8.9 Obtención del consumo específico de oxígeno utilizando glucosa

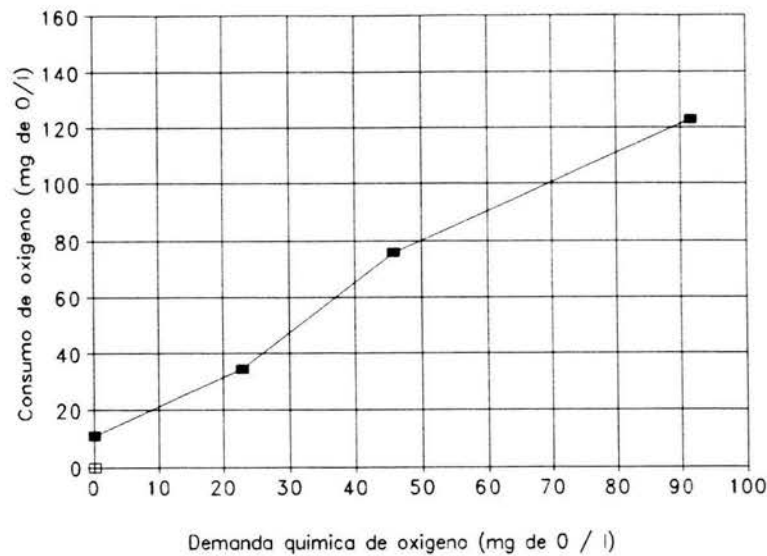


Figura 8.10 Obtención del consumo específico de oxígeno para aguas residuales de Ciudad Universitaria

El valor del consumo específico de oxígeno (CEO) corresponde a la pendiente de cada una de las rectas.

La tabla 8.4 muestra los resultados obtenidos a partir de las gráficas 8.8, 8.9 y 8.10.

-----  
**TABLA 8.4 VALORES DE CONSUMO ESPECIFICO DE OXIGENO**  
 -----

Sustrato	CEO teórico (mgO <sub>2</sub> /mg S)	CEO experimental (mg O <sub>2</sub> /mg S)	ordenada al origen (mgO <sub>2</sub> /l)	coeficiente de correlación
acetato de sodio	0.975	0.23	0.53	0.998
glucosa	1.06	0.20	11.45	0.998
aguas residuales		1.24	9.34	0.984

-----

De la representación gráfica para la obtención del consumo específico de oxígeno (CEO) para cada uno de los sustratos se obtiene una recta en la que se esperaría tener una ordenada al origen en cero o un valor muy próximo a él, puesto que en ausencia de sustrato no hay consumo de oxígeno.

De acuerdo con los resultados obtenidos la ordenada al origen para los tres sustratos es superior a cero. Göbel-Meurer (1979) y Peters (1979) proponen que el consumo de oxígeno diferente a cero (ver tabla 8.4), indicado por la ordenada al origen se debe al consumo de oxígeno requerido para la síntesis de las enzimas implicadas en el proceso de degradación del sustrato involucrado. Esta explicación es factible para la degradación de acetato de sodio y glucosa, ya que la célula no está adaptada a la degradación de sustratos en condiciones puras, por consiguiente, requiere un periodo de síntesis enzimática. Sin embargo, para la degradación de aguas residuales, los microorganismos de los sistemas para tratamiento cuentan con un complejo enzimático acondicionado para llevar a cabo la asimilación de este tipo de sustrato. En este caso, el valor de la ordenada al origen se incrementó por la subestimación del consumo de oxígeno para la mayor concentración de sustrato (tercer punto de la gráfica), lo cual se puede atribuir a diferencias de las características entre cada una de las películas utilizadas. Esto se puede deber a diferencias poblacionales que suceden durante la generación de la biopelícula y que contribuyen con los errores experimentales, estas diferencias se confirmaron cuando se realizaron observaciones microscópicas con el fin de determinar el grosor de la película biológica, las más evidentes fueron en las poblaciones de nématodos, rotíferos y protozoarios.

Los valores teóricos de CEO para acetato de sodio y glucosa son 0.975 y 1.06 respectivamente, los cuales son superiores a los valores obtenidos experimentalmente (tabla 8.4). Esto se debe a que durante el lavado de las películas biológicas, los microorganismos consumen material endógeno (glucógeno, grasas, etc) para su mantenimiento, ya que no cuentan con una fuente exógena de nutrientes. El sustrato que se suministra cuando las biopelículas se encuentran en este estado celular, es utilizado por los microorganismos para cubrir necesidades inmediatas (respiración) y con fines de mantenimiento celular (reabastecimiento de sustancias de reserva, síntesis de material celular y material extracapsular, etc) (Schlegel,1985). Los procesos mencionados traen como resultado que el sustrato administrado no

corresponda con el oxidado, por lo que los valores de respiración exógena son bajos, reflejándose esto en una disminución en la pendiente y por lo tanto, en el consumo específico de oxígeno. Lo anterior es confirmado por Painter (1968) y Placak y Ruchhoft (1947) en Painter (1983); ellos reportan valores de consumo de oxígeno que, para el caso de la oxidación de glucosa, van de 8 a 31 % del valor teórico esperado.

### 8.2.2 Obtención de la constantes de Michaelis y Menten para la degradación de material carbonoso.

Graficando los valores de los inversos de velocidad inicial de degradación contra los inversos de las concentraciones de cada uno de los sustratos, se obtienen las figuras 8.11, 8.12 y 8.13:

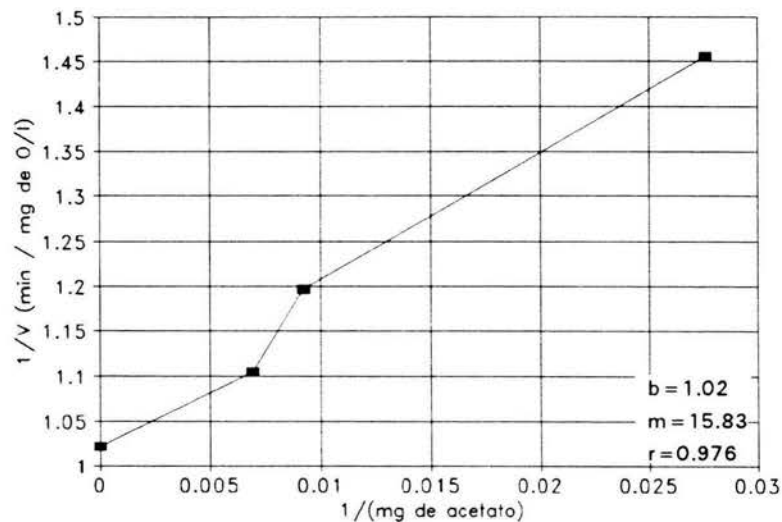


Figura 8.11 Linearización de Lineaweaver y Burk utilizando acetato de sodio

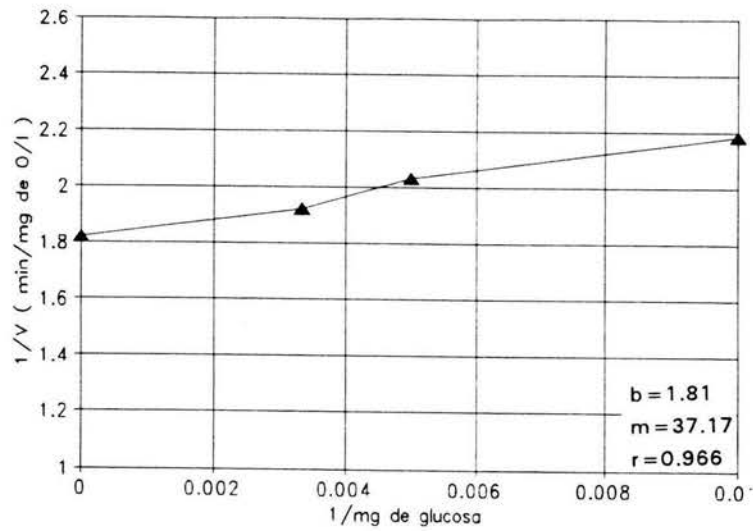


Figura 8.12 Linearización de Lineaweaver y Burk utilizando glucosa

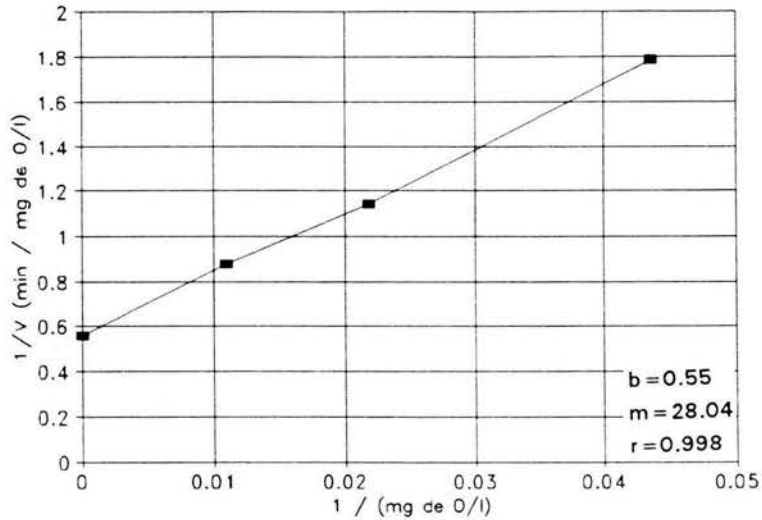


Figura 8.13 Linearización de Lineaweaver y Burk utilizando aguas residuales

Los valores de las constantes para los tres sustratos se muestran en la tabla 8.5:

**TABLA 8.5 VALORES DE LAS CONSTANTES DE MICHAELIS Y MENTEN**

Sustrato	$V_{\max}$ (mg O <sub>2</sub> /l min)	K <sub>m</sub> (mg S/l)	coef. de correlación
acetato de sodio	0.97	15.51	0.976
glucosa	0.54	20.43	0.966
aguas residuales	1.80	50.47	0.998

El valor más bajo de K<sub>m</sub> se obtuvo utilizando acetato de sodio, lo cual indica una elevada afinidad entre el sustrato y las enzimas implicadas en el proceso de degradación. El ión acetato es introducido directamente, como acetilCoA, en el sistema enzimático que se conoce como ciclo de los ácidos tricarboxílicos o vía final común para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas; esta es una vía metabólica eficiente y universal presente en organismos aerobios. La degradación del compuesto consiste en la separación del sodio y el acetato y la posterior incorporación de este último en forma de acetilCoA, a la vía metabólica anteriormente mencionada. El valor obtenido para la rapidez máxima, se encuentra relacionado con la sencillez del proceso de degradación y con K<sub>m</sub>.

La degradación de glucosa comienza a partir de la glucólisis para ser transformada en piruvato, el cual es posteriormente transformado en AcetilCoA e incorporado al ciclo de los ácidos tricarboxílicos. La utilización de esta vía involucra el uso de un mayor número de enzimas que en el caso del acetato de sodio y que, de acuerdo con los resultados obtenidos, tienen menor afinidad por los sustratos producidos durante la glucólisis. La utilización de esta vía implica un incremento en el valor de K<sub>m</sub> y una disminución en la rapidez de degradación con respecto a los valores obtenidos para acetato de sodio.

El mayor valor de K<sub>m</sub> se obtuvo durante la degradación de aguas residuales. Esto indica que este sustrato es el menos afín al sistema enzimático de los microorganismos; sin embargo, es el que alcanza una mayor rapidez máxima de degradación ( $V_{\max} = 1.80$  mg de O<sub>2</sub>/l min).

Esto se debe a que los microorganismos están aclimatados para degradar a la materia orgánica contenida en las aguas de desecho. Gils en Painter (1983), ha encontrado que los microorganismos aclimatados a cierto tipo de sustrato, son capaces de degradar a este más rápidamente que los microorganismos no aclimatados.

### **8.2.3 Cuantificación de biomasa**

Debido a que la rapidez de degradación está en función de la biomasa presente (Shieh y Mulcahy, 1986) se procedió a su cuantificación. Se analizaron tres casos al azar, casos A, B y C. La tabla 8.6 muestra los resultados de las determinaciones practicadas.

**TABLA 8.6 CUANTIFICACION DE BIOMASA EN TRES DIFERENTES PELICULAS**

Película	espesor (micras)	nitrógeno Kjeldahl (mg N/cm <sup>2</sup> )	sólidos suspendidos totales (mg/cm <sup>2</sup> )
A	138	0.12	1.37
B	360	0.12	1.85
C	460	0.13	1.94

En la tabla 8.6 se observa que el contenido de SST aumenta al aumentar el espesor, aunque no de forma proporcional. El hecho de que el nitrógeno orgánico tenga prácticamente el mismo valor en las tres películas analizadas indica que, independientemente del contenido de material carbonoso, la cantidad de proteína presente es constante. Es posible que al aumentar el espesor de la biopelícula solo aumente el contenido de sustancias de reserva, tales como los polímeros intra y extracelulares sin que aumente el número de células (Schlegel, 1985). Las características antes mencionadas dependerán de las condiciones bajo las cuales se opere el Biodisco donde se genera la biopelícula. Es



de suponerse que el espesor de la biopelícula aumenta al aumentar la carga orgánica.

### 8.3 CINETICA DE ELIMINACION DE MATERIAL NITROGENADO

Las figuras 8.14 y 8.15 muestran las curvas de consumo de oxígeno para la oxidación de cloruro de amonio y de aguas tratadas de tercera etapa del sistema. Los valores de consumo de oxígeno a partir de los cuales se obtuvieron estas gráficas se muestran en el apéndice, en las tablas E y F, respectivamente.

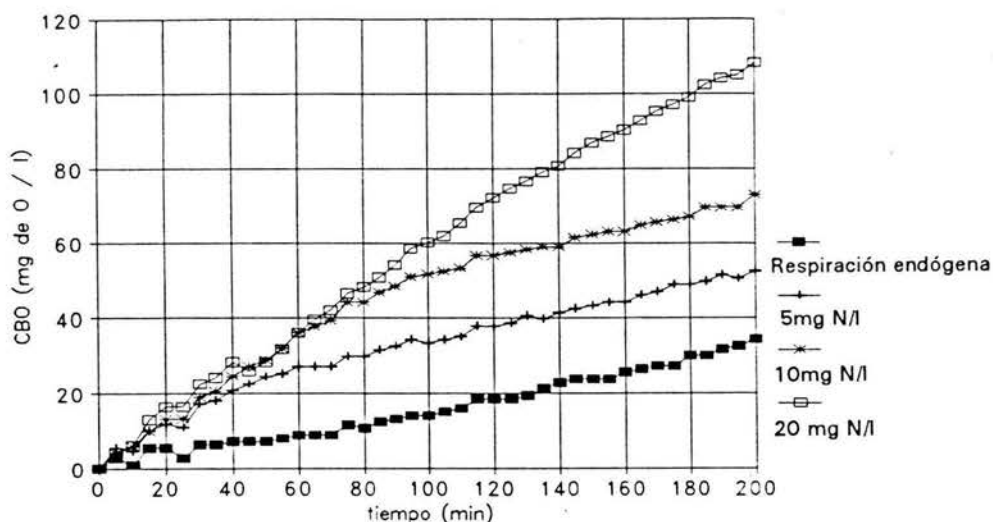


Figura 8.14 Consumo bioquímico de oxígeno para cloruro de amonio

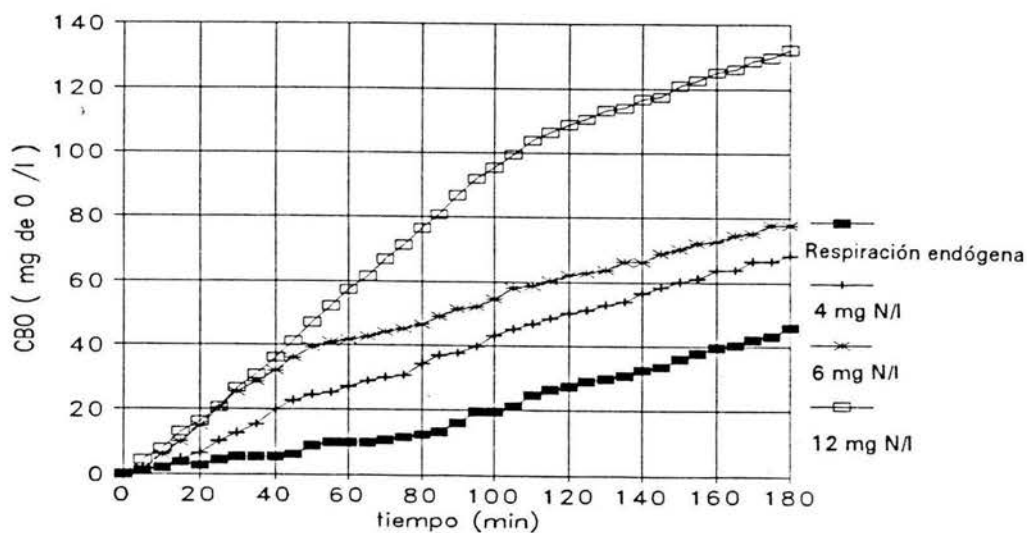


Figura 8.15 Consumo bioquímico de oxígeno para aguas tratadas de la tercera etapa del sistema

El valor de respiración endógena obtenido durante la degradación de material nitrogenado fue de 20 a 35% de la respiración total, el cual es menor que el obtenido para la eliminación de material carbonoso (40-70% de la respiración total).

Es necesario aclarar que las diferentes concentraciones de amoníaco en el caso de la utilización de aguas tratadas de la tercera etapa del biodisco se lograron por dilución con agua destilada. Al diluir el agua tratada también se diluyó el contenido de material orgánico que llega en pequeñas cantidades a la tercera etapa del biodisco.

Las figuras 8.16 y 8.17 muestran las gráficas correspondientes a la respiración exógena utilizando cloruro de amonio y aguas tratadas de la tercera etapa del sistema. Los valores utilizados para realizar estas gráficas se muestran en el apéndice en las tablas E y F, respectivamente.

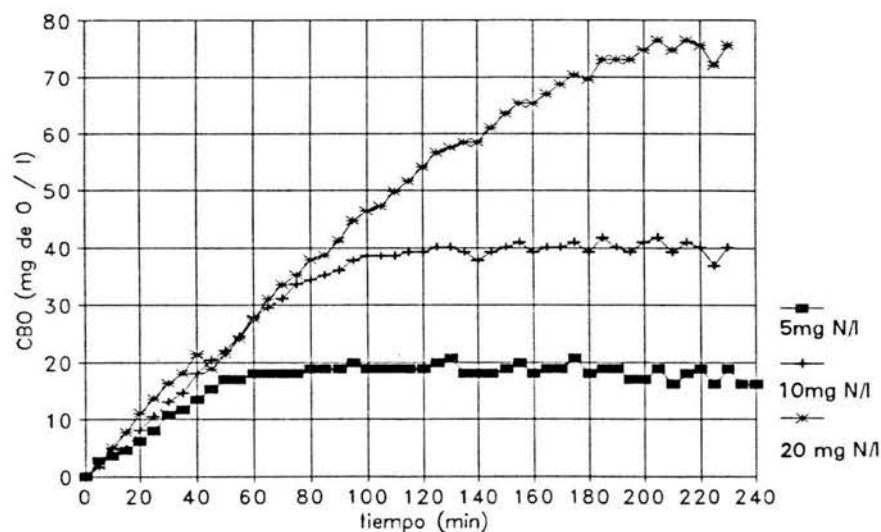


Figura 8.16 Consumo bioquímico de oxígeno para cloruro de amonio

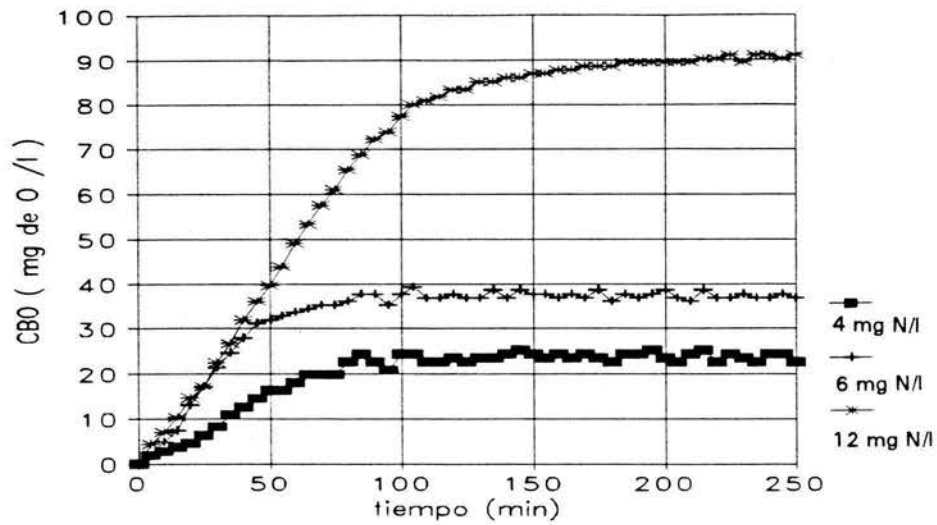


Figura 8.17 Consumo bioquímico de oxígeno para aguas tratadas de la tercera etapa del sistema

En las gráficas anteriores se observa un mínimo, pero no significativo incremento en las pendientes en la parte asintótica de algunas de las curvas, por lo tanto, se considera que prácticamente no existen procesos de almacenamiento en organismos nitrificantes.

Los resultados obtenidos a partir de la figuras 8.16 y 8.17 se muestran en la tabla 8.7:

TABLA 8.7 VALORES DE CONSUMO FINAL DE OXIGENO Y DE RAPIDEZ DE DEGRADACION

Sustrato	concentración inicial (mg/l)	CBO <sub>f</sub> (mg de O <sub>2</sub> /l)	rapidez inicial de consumo (mg de O <sub>2</sub> /l min)	coeficiente de correlación
cloruro de amonio	5	18.91	0.32	0.973
	10	40.11	0.45	0.994
	20	73.85	0.54	0.998
aguas tratadas	4	22.51	0.50	0.999
	6	37.66	0.73	0.978
	12	88.45	0.91	0.994

La tabla 8.7 muestra que los valores de CBO<sub>f</sub> y de rapidez de reacción inicial son mayores para aguas tratadas de la tercera etapa del sistema

que para cloruro de amonio. Esto se debe a que las aguas residuales tienen material orgánico que, al ser degradado, contribuye con el consumo de oxígeno y su valor se suma al consumo por oxidación de amoniaco.

### 8.3.1 Obtención del consumo específico de oxígeno para material nitrogenado

Graficando los valores finales de consumo de oxígeno (tabla 8.7) de cada sustrato nitrogenado contra la concentración de sustrato inicial se obtuvieron las figuras 8.18 y 8.19:

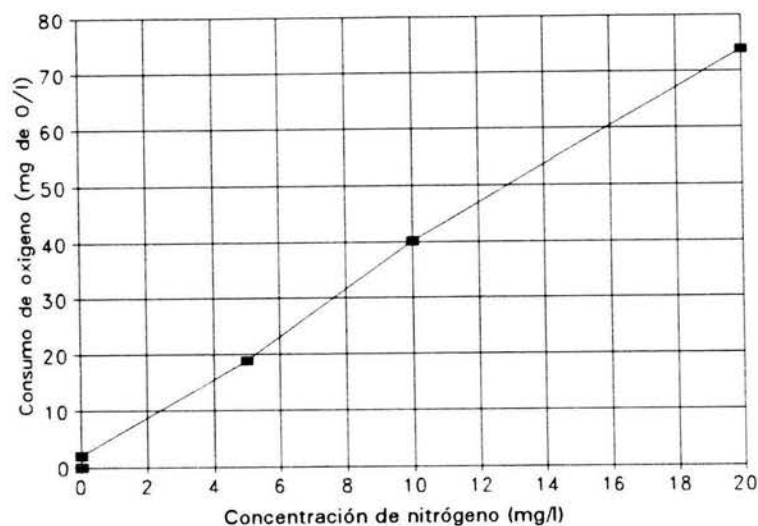


Figura 8.18 Obtención del consumo específico de oxígeno para cloruro de amonio

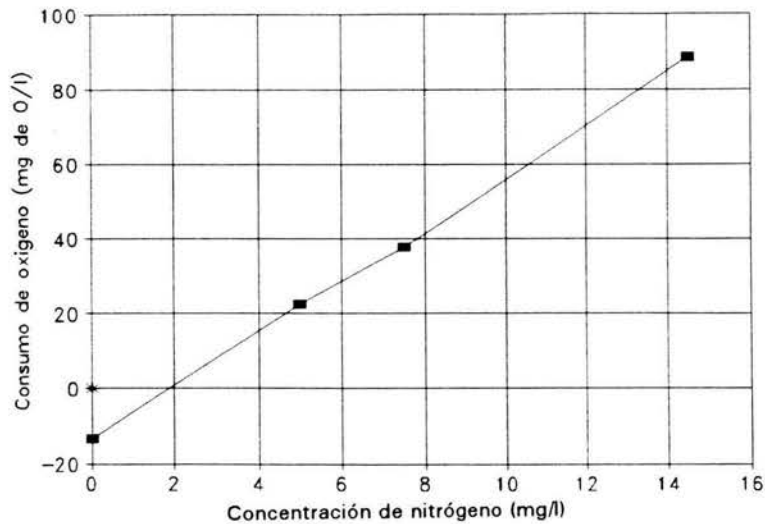


Figura 8.19 Obtención del consumo específico de oxígeno para aguas tratadas de la tercera etapa del sistema

La tabla 8.8 muestra los resultados obtenidos a partir de las gráficas 8.18 y 8.19.

**TABLA 8.8 VALORES DE CONSUMO ESPECIFICO DE OXIGENO**

Sustrato	CEO teórico (mgO <sub>2</sub> /mg S)	CEO experimental (mg O <sub>2</sub> /mg S)	ordenada al origen (mgO <sub>2</sub> /l)	coeficiente de correlación
cloruro de amonio	4.57	3.62	2.04	0.996
aguas tratadas	4.57	8.29	-11.28	0.999

Como se observa en la tabla 8.8 el valor de CEO experimental para cloruro de amonio es muy similar al teórico, obtenido por medio de la estequiometría de la reacción. Sin embargo, cuando se utilizaron aguas tratadas de la tercera etapa del sistema el valor experimental supera al teórico, aproximadamente 50%, esto se debe a la presencia de organismos heterótrofos, los cuales consumen oxígeno para degradar el material carbonoso no asimilado en las primeras etapas del sistema.

El valor de la ordenada al origen utilizando cloruro de amonio fue de

2.04 mg de  $O_2/l$ , este valor se atribuye al consumo de oxígeno requerido para la síntesis de las enzimas involucradas en el proceso de degradación. Para aguas tratadas de la tercera etapa del sistema el valor obtenido fue de -11.28 mg de  $O_2/l$ , el cual puede deberse, como en el caso de la degradación de material carbonoso a subestimación de los valores de consumo de oxígeno debido a procesos metabólicos con fines de mantenimiento celular ó a errores experimentales (fugas mínimas en sitios de unión, por ejemplo, en la junta esmerilada, errores en la toma de lecturas, etc.)

### 8.3.2 Obtención de las constantes de Michaelis y Menten para la degradación de material nitrogenado

Las figuras 8.20 y 8.21 muestran las gráficas obtenidas a través del método propuesto por Lineaweaver y Burk, utilizando cloruro de amonio y aguas tratadas de la tercera etapa del biodisco.

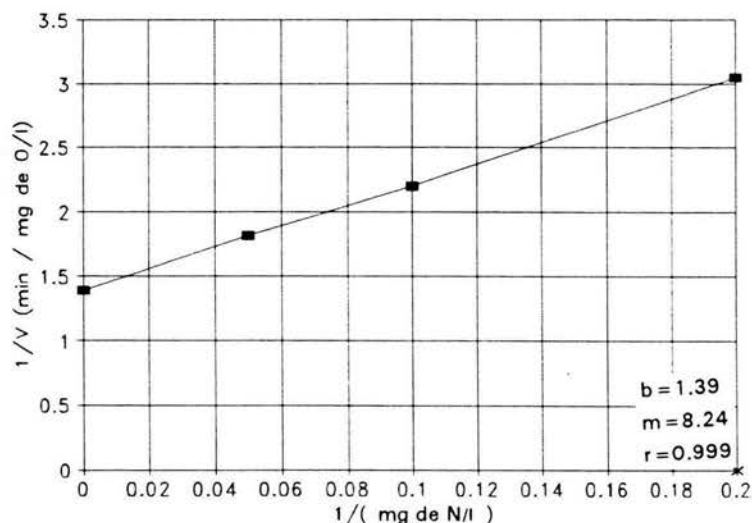


Figura 8.20 Linearización de Lineaweaver y Burk utilizando cloruro de amonio

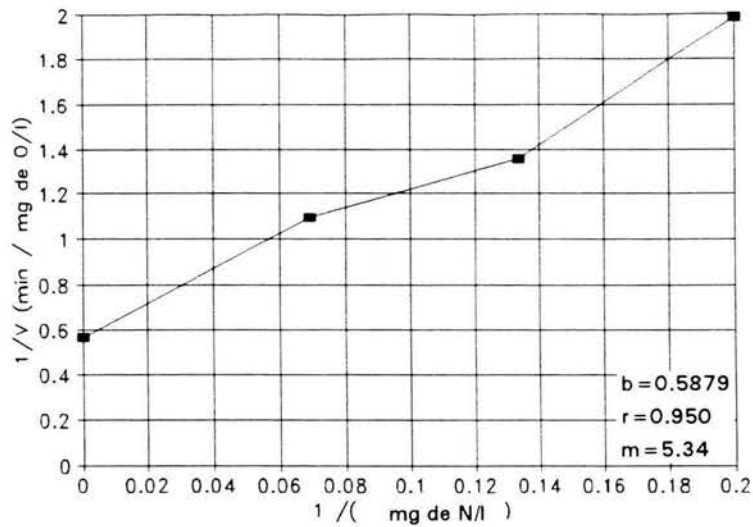


Figura 8.21 Linearización de Lineaweaver y Burk utilizando aguas tratadas de la tercera etapa del sistema

A partir de las gráficas 8.20 y 8.21 se obtienen los valores de las constantes para los tres sustratos los cuales se muestran en la tabla 8.9:

**TABLA 8.9 VALORES DE LAS CONSTANTES DE MICHAELIS Y MENTEN**

Sustrato	Vmax (mg O <sub>2</sub> /l min)	Km (mgS/l)	coef. de correlación
Cloruro de amonio	0.71	5.91	0.999
Aguas tratadas de la tercera etapa	1.70	9.10	0.950

De acuerdo con los resultados de la tabla 8.9, el sustrato nitrogenado más afín al sistema enzimático de los microorganismos es el cloruro de amonio. (menor valor de Km). En el caso de las aguas tratadas de la tercera etapa del sistema, se obtuvo un valor mayor para Km, sin embargo, este sustrato se degrada más rápidamente que el cloruro de



amonio, esto es consecuencia de la aclimatación de los microorganismos al medio ambiente en el cual se desarrollan.

Finalmente, es necesario aclarar que el valor de  $V_{max}$  y de  $K_m$  para el agua tratada de la tercera etapa del sistema de biodiscos, se ve influenciado también por dos tipos de sustancias que actúan de forma simultánea sobre el consumo de oxígeno: amoníaco y material carbonoso. En este último caso, con la información existente, no es posible delimitar el consumo de oxígeno entre una u otra sustancia. Como los grupos de bacterias que actúan sobre los dos sustratos tienen metabolismos diferentes y no competitivos entre sí, es posible considerar entonces que el consumo de oxígeno total es la suma de la respiración endógena, más la respiración de amoníaco y la respiración de material carbonoso.

## **9. CONCLUSIONES**

Las conclusiones de este trabajo son:

-El método propuesto en este trabajo sí sirve, de forma confiable, para la determinación de la cinética de eliminación de sustratos con películas biológicas.

-El método utilizado en este trabajo permite usar películas eliminadoras de carbono y películas nitrificantes para realizar determinaciones cinéticas durante la oxidación de carbono y de amonio, respectivamente.

-El modelo propuesto por Michaelis y Menten es adecuado para describir el comportamiento cinético involucrado en la degradación de material carbonoso y nitrogenado en películas biológicas.

-Las cinéticas de eliminación de material carbonoso y nitrogenado son diferentes, por lo tanto, deben ser estudiadas de manera independiente.

Las diferencias se deben principalmente a los procesos bioquímicos, ecológicos y fisiológicos involucrados: las bacterias nitrificantes son autótrofas y las eliminadoras de carbono heterótrofas.

-Los valores para consumo específico de oxígeno y para las constantes de Michaelis y Menten son afectados por un gran número de procesos bioquímicos, fisiológicos y ecológicos.

-El valor de consumo específico de oxígeno (CEO) durante la degradación de material carbonoso (acetato de sodio y glucosa) es menor que su valor estequiométrico debido a los procesos de almacenamiento celular.

El valor experimental de CEO para material nitrogenado utilizando cloruro de amonio es muy similar al teórico. Sin embargo, al utilizar aguas tratadas de la tercera etapa del sistema de biodiscos el valor de CEO se incrementa aproximadamente 50% sobre el valor teórico esto se debe al oxígeno consumido por los organismos heterótrofos presentes en las películas nitrificantes, los cuales degradan el material carbonoso no asimilado en las primeras etapas del sistema de biodiscos.

-El agua residual cruda presenta una rapidez máxima de degradación superior a la de glucosa o acetato de sodio. Los valores de  $K_m$  son menores para acetato de sodio después para glucosa y finalmente para aguas residuales crudas.

El sustrato nitrogenado con los valores mayores de  $K_m$  y  $V_{max}$  corresponden al agua de la tercera etapa del sistema de biodiscos.

-El agua residual cruda y el agua tratada de la tercera etapa del sistema se degradan más rápidamente (valores mayores de  $V_{max}$ ) que los sustratos puros esto es consecuencia de la aclimatación de los microorganismos a estos sustratos.

-La ausencia de procesos de almacenamiento celular en organismos nitrificantes, facilita la interpretación de las gráficas obtenidas e incrementa la precisión en la obtención de los valores de consumo de oxígeno.

-La biopelícula de la tercera etapa del biodisco, aunque aparenta ser extremadamente delgada y casi imperceptible, es casi tan activa como la de las etapas anteriores para eliminar carbono, además de eliminar amoníaco.

-Los valores de las constantes de Michaelis y Menten obtenidos en este trabajo son característicos para los sistemas enzima-sustrato con los que se trabajó. El conocimiento de estos valores y la adecuada interpretación de los mismos, dan una base para el diseño de sistemas para tratamiento de aguas residuales.

Con el objetivo de incrementar el conocimiento sobre la cinética de películas biológicas durante la eliminación de sustratos, se hacen las siguientes recomendaciones:

-Se propone hacer corridas variando el grosor de las películas biológicas para conocer la influencia de este parámetro.

-Para una mejor comprensión de la cinética de eliminación de sustratos es necesario profundizar en los mecanismos básicos de los procesos microbianos (difusión, transporte, etc.)

## BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA y WPCF (1985) *Standard methods for the examination of waste and wastewater*, 16a edición. American Public Health Association, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation, Washington, EUA.

Antonie R. (1975) *Fixed biological surfaces. Wastewater treatment*, CRC Press Inc, Ohio.

Autotrol Corporation (1978) *Design manual. Wastewater treatment systems*, Autotrol Corporation, Milwaukee, WI

Comisión del Plan Nacional Hidráulico (1981) "Disponibilidad de agua y suelo". Anexo 2 del Plan Nacional Hidráulico, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México.

Conn, E. y Stumpf, K. (1988) *Bioquímica fundamental*, Limusa, 3a. edición. México.

Departamento del Distrito Federal (1991). "Programa de uso eficiente del agua". Departamento del Distrito Federal, Secretaría General de Obras y Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica, México.

Gaudy, A. y Gaudy, E. (1981) *Microbiology for environmental scientists and engineers*, McGraw Hill series in Water resources and environmental engineering. E.U.A.

Göbel-Meurer, H. (1979) *Der Einfluss von pH-wert und Temperatur auf die Kinetik mikrobieller Systeme am Beispiel von **Sporosarcina ureae***, Institut für Ingenieurbiologie und Biotechnologie des Abwassers., Universidad Karlsruhe, Alemania.

González, S. y Díaz, L. (1987) "Determinación de la cinética en películas biológicas para tratamiento de aguas de desecho". Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Ingeniería. UNAM, México.

González S. y Duque J. (1991) "Aerobic submerged biofilm reactors for wastewater treatment". *Wat. Res.* vol 26 No 6 pp 825-833, Gran Bretaña.

González, S. y Elías G.(1989) "Diseño de biodiscos". Reporte técnico No. 520. Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Harremöes, P. (1978) Biofilm kinetics. En: *Water Pollution Microbiology*, vol 2 Mitchell, R. (ed) John Wiley and Sons, E.U.A.

Hawkes, H. (1963) *The ecology of wastewater treatment*, Pergamon Press. EUA.

Hawkes, H. (1983) "The applied significance of ecological studies of aerobic process". En: *Ecological aspects of used-water treatment*, vol 3, Curds, C. y Hawkes, H. (eds) Academic Press, EUA.

Lehninger, A. (1976) *Bioquímica*, Omega. Barcelona, España.

Luna V., Aladro M. y Durán C. (1990) *Microorganismos indicadores del tratamiento biológico de aguas residuales: Efecto de la temperatura sobre la diversidad y abundancia de protozoarios ciliados*. Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental, Facultad de Química, UNAM.

Painter, H. (1983) "Metabolism and physiology of aerobic bacteria". En: *Ecological aspects of used-water treatment*, vol. 2 Curds, C. y Hawkes H. (eds), Academic Press. EUA.

Peters, H. (1979) *Einfluss der Temperatur auf die bsb-Kinetik gezeigt am beispiel Escherichia coli* Institut für Ingenieurbiologie und Biotechnologie des Abwassers. Universidad Karlsruhe, Alemania.

Quintero R. (1981) *Ingeniería Bioquímica*. Alhambra Mexicana, México.

Ramírez C. (1988) "Nitrificación y destrucción de la alcalinidad en una unidad de biodiscos estructuralmente modificada y su efecto sobre el crecimiento de algas en el efluente almacenado". Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental, División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería. UNAM, México.

Schlegel, H. (1985) *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme, Alemania

Segel, I. (1975) *Enzyme kinetics*, John Wiley and Sons. E.U.A.

Shieh, W. y Mulcahy L. (1986) "Experimental determination of intrinsic kinetic coefficients for biological wastewater treatment systems". *Wat. Sci. Tech.* vol 18 pp1-10, Gran Bretaña.

Winkler, M. (1986) *Tratamiento biológico de aguas de desecho*, Limusa, México.

## APENDICE

Los valores para las constantes de los frascos de reacción se muestran en la siguiente tabla:

### VALORES DE LAS CONSTANTES DE LOS FRASCOS DE REACCION

Número de frasco	Temperatura	
	18°C	20°C
1	0.8664	0.8603
2	0.9070	0.9006
3	0.8245	0.8187
4	0.8864	0.8802
5	0.8649	0.8588



**TABLAS CON LOS VALORES  
DE CONSUMO DE OXIGENO  
OBTENIDOS A TRAVES DEL  
RESPIROMETRO WARBURG**

TABLA A VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO OBTENIDOS DURANTE LA OXIDACION DE SULFITO DE SODIO

TIEMPO (minutos)	LECTURAS (mm)			termobarometro	
	004 M Man 1	006 M Man 2	008 M Man 5		
0	0	0	0	0	0
5		16	8	15	0
10		31	17	47	0
15		49	32	91	0
20		52	50	130	0
25		62	77	158	0
30		72	98	175	0
35		77	116	187	0
40		84	128	194	0
45		87	135	196	0
50		90	142	197	0
55		95	144	197	0
60		96	144	197	0
65		97	144	197	0
70		98	144	197	0
75		99	144	197	0
80		99	144	197	0

VALORES FINALES DE CONSUMO DE OXIGENO

(mg de oxigeno / l)

004 M	006 M	008 M
0	0	0
14.8624	2.256	12.9735
26.8584	15.419	40.6503
37.2557	29.024	78.7059
45.0528	45.35	112.437
53.7168	65.304	136.6542
62.3808	88.886	151.3575
66.7128	105.212	161.7363
72.7776	116.096	167.7906
75.3768	122.445	169.5204
77.976	128.794	170.3853
82.308	130.608	170.3853
83.1744	130.608	170.3853
84.0408	130.608	170.3853
84.9072	130.608	170.3853
85.7736	130.608	170.3853
85.7736	130.608	170.3853

LOS VALORES FINALES DE CONSUMO DE OXIGENO CORRESPONDEN A LA FIGURA 8.1

TABLA 8 VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO DURANTE LA DEGRADACION DE ACETATO DE SODIO

TIEMPO (minutos)	LECTURAS termobar r e	SUMAS ACUMULATIVAS						VALORES DE RESPIRACION COMBINADA					
		36 mg/l		108 mg/l		145 mg/l r e		36 mg/l		108 mg/l		145 mg/l r e	
		Man. 4	Man. 5	Man. 2									
0						1	5	5	5	0	0	0	0
5	0	1	5	5	5	6	12	14	14	0.8802	4.294	4.3015	4.503
10	-2	5	7	9	9	9	16	22	23	5.2812	10.3056	12.0442	12.6084
15	0	3	4	8	9	12	20	31	31	7.9218	13.7408	18.9266	20.7138
20	-2	3	4	9	8	13	24	37	38	10.5624	17.176	26.6693	27.9186
25	-2	1	4	6	7	18	26	42	47	11.4426	20.6117	31.8311	34.2278
30	-2	5	2	5	9	20	29	45	54	15.8436	22.3288	36.1326	42.3282
35	0	2	3	3	7	22	33	50	58	17.604	24.9052	38.7135	48.6324
40	-2	2	4	5	4	25	37	54	64	19.3644	28.3404	43.015	52.2348
45	-2	3	4	4	6	29	37	60	68	22.005	31.7756	46.4562	57.6384
50	-1	4	0	6	4	32	41	64	72	25.5258	31.7756	51.618	61.2408
55	-1	3	4	4	4	35	44	67	76	28.1664	35.2108	55.0592	64.8432
60	-1	3	3	3	4	39	46	69	82	30.807	37.7872	57.6401	68.4456
65	-1	4	2	2	6	41	50	72	87	34.3278	39.5048	59.3607	73.8492
70	-1	2	4	3	5	41	53	76	88	36.0882	42.94	61.9416	78.3522
75	-2	0	3	4	1	44	55	80	93	36.0882	45.5164	65.3828	79.2528
80	-2	3	2	4	5	47	58	81	98	38.7288	47.234	68.824	83.7558
85	0	3	3	1	5	48	60	85	101	41.3694	49.8104	69.6843	88.2588
90	-1	1	2	4	3	50	70	89	105	42.2496	51.528	73.1255	90.9606
95	-1	2	10	4	4	53	70	91	109	44.01	60.116	76.5667	94.563
100	-1	3	0	2	4	53	72	95	112	46.6506	60.116	78.2873	98.1654
105	-1	0	2	4	3	56	75	98	116	46.6506	61.8336	81.7285	100.8672
110	-2	3	3	3	4	57	76	100	120	49.2912	64.41	84.3094	104.4696
115	0	1	1	2	4	61	79	103	126	50.1714	65.2688	86.03	108.072
120	-1	4	3	3	6	65	83	106	132	53.6922	67.8452	88.6109	113.4756
125	1	4	4	3	6	67	89	111	135	57.213	71.2804	91.1918	118.8732
130	0	2	6	5	3	69	92	114	139	58.9734	76.4332	95.4933	121.581
135	-1	2	3	3	4	70	97	117	142	60.7338	79.0096	98.0742	125.1834
140	-1	1	5	3	3	73	101	120	146	61.614	83.3036	100.6551	127.8852
145	-1	3	4	3	4	76	105	122	150	64.2546	86.7388	103.236	131.4876
150	0	3	4	2	4	80	109	125	157	66.8952	90.174	104.9566	135.09
155	0	4	4	3	7	81	115	127	160	70.416	93.6092	107.5375	141.3942
160	1	1	6	2	3	81		127	160	71.2962	98.762	109.2581	144.096

VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO SUMAS ACUMULATIVAS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO

36 mg/l	108 mg/l	145 mg/l	36 mg/l	108 mg/l	145 mg/l	36 mg/l	108 mg/l	145 mg/l
0	0	0	4	4	4	0	0	0
4	4	4	6	8	8	3 4352	3 4412	3 6024
2	4	4	7	13	14	5 1528	6 8824	7 2048
1	5	5	8	19	19	5 0116	11 1839	12 6084
1	6	5	11	24	25	6 8704	16 3457	17 1114
3	5	6	8	24	29	9 4468	20 6472	22 515
-3	0	4	9	25	34	6 8704	20 6472	26 1174
1	1	5	11	28	36	7 7292	21 5075	30 6204
2	3	2	12	29	39	9 4468	24 0884	32 4216
1	1	3	8	31	39	10 3056	24 9487	35 1234
-4	2	0	9	32	40	6 8704	26 6693	35 1234
1	1	1	9	32	41	7 7292	27 5296	36 024
0	0	1	7	30	43	7 7292	27 5296	36 9246
-2	-2	2	9	31	46	6 0116	25 809	38 7258
2	1	3	12	35	47	7 7292	26 6693	41 4276
3	4	1	11	36	49	10 3056	30 1105	42 3282
-1	1	2	11	34	51	9 4468	30 9708	44 1294
0	-2	2	12	37	53	9 4468	29 2502	45 9306
1	3	2	20	39	55	10 3056	31 8311	47 7318
8	2	2	17	38	56	17 176	33 5517	49 533
-3	-1	1	19	42	59	14 5996	32 6914	50 4336
2	4	3	19	42	60	16 3172	36 1326	53 1354
0	0	1	19	43	63	16 3172	36 1326	54 036
0	1	3	18	42	65	16 3172	36 9929	56 7378
-1	-1	2	18	41	67	15 4584	36 1326	58 539
0	-1	2	22	44	68	15 4584	35 2723	60 3402
4	3	1	23	45	70	18 8936	37 8532	61 2408
1	1	2	27	47	72	19 7524	38 7135	63 042
4	2	2	28	47	73	23 1876	40 4341	64 8432
1	0	1	29	46	74	24 0464	40 4341	65 7438
1	-1	1	29	45	77	24 9052	39 5738	66 6444
0	-1	3	34	46	79	24 9052	38 7135	69 3462
5	1	2	34	46	79	29 1992	39 5738	71 1474

LOS VALORES DE RESPIRACION COMBINADA CORRESPONDEN A LA FIGURA 8 2  
 LOS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO CORRESPONDEN A LA FIGURA 8 5

TABLA C VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO DURANTE LA DEGRADACION DE GLUCOSA

TIEMPO (minutos)	LECTURAS					SUMAS ACUMULATIVAS			VALORES DE RESPIRACION COMBINADA								
	re	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		re	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l				
	Man 4	Man 3	Man 1	Man 5	0	0	0	0	0	0	0	0					
5	1	3	6	5	4	3	6	5	4	7	6406	4	9122	4	3015	3	4352
10	0	5	8	9	9	8	14	14	13	7	0416	11	4618	12	0442	11	1644
15	0	5	8	7	7	13	22	21	20	11	4426	18	0114	18	0663	17	176
20	0	3	7	6	7	16	29	27	27	14	0832	23	7423	23	2281	23	1876
25	-1	5	8	8	8	21	37	35	35	18	4842	30	2919	30	1105	30	058
30	0	4	6	6	6	25	43	41	41	22	005	35	2041	35	2723	35	2108
35	0	4	7	8	8	29	50	49	49	25	5258	40	935	42	1547	42	0812
40	0	4	7	7	7	33	57	56	56	29	0466	46	6659	48	1768	48	0928
45	0	5	6	7	7	38	63	63	63	33	4476	51	5781	54	1989	54	1044
50	0	4	7	6	8	42	70	69	71	36	9684	57	309	59	3607	60	9748
55	-1	4	7	9	7	46	77	78	78	40	4892	63	0399	67	1034	66	9864
60	0	3	4	5	6	49	81	83	84	43	1298	66	3147	71	4049	72	1392
65	0	3	5	6	7	52	86	89	91	45	7704	70	4082	76	5667	78	1508
70	-1	5	7	7	7	57	93	96	98	50	1714	76	1391	82	5888	84	1624
75	0	3	5	5	6	60	98	101	104	52	812	80	2326	86	8903	89	3152
80	0	3	6	7	7	63	104	108	111	55	4526	85	1448	92	9124	95	3268
85	-1	5	5	6	7	68	109	114	118	59	8536	89	2383	98	0742	101	3384
90	-1	3	5	5	6	71	114	119	124	62	4942	93	3318	102	3757	106	4912
95	0	2	4	4	4	73	118	123	128	64	2546	96	6066	105	8169	109	9264
100	-1	5	6	6	7	78	124	129	135	68	6556	101	5188	110	9787	115	938
105	0	2	3	3	5	80	127	132	140	70	416	103	9749	113	5596	120	232
110	-1	5	6	7	6	85	133	139	146	74	817	108	8871	119	5817	125	3848
115	0	3	4	3	4	88	137	142	150	77	4576	112	1619	122	1626	128	82
120	0	4	5	5	5	92	142	147	155	80	9784	116	2554	126	4641	133	114
125	-1	4	5	6	5	96	147	153	160	84	4992	120	3489	131	6259	137	408
130	0	2	4	3	3	98	151	156	163	86	2596	123	6237	134	2068	139	9844
135	-1	5	5	6	6	103	156	162	169	90	6606	127	7172	139	3686	145	1372
140	-1	3	4	4	4	106	160	166	173	93	3012	130	992	142	8098	148	5724
145	0	2	3	3	4	108	163	169	177	95	0616	133	4481	145	3907	152	0076
150	0	4	5	4	5	112	168	173	182	98	5824	137	5416	148	8319	156	3016
155	0	3	5	4	5	115	173	177	187	101	223	141	6351	152	2731	160	5956
160	0	4	3	4	4	119	176	181	191	104	7438	144	0912	155	7143	164	0308
165	0	4	5	5	6	123	181	186	197	108	2646	148	1847	160	0158	169	1836
170	0	4	5	4	5	127	186	190	202	111	7854	152	2782	163	457	173	4776
175	0	4	5	5	5	131	191	195	207	115	3062	156	3717	167	7585	177	7716
180	1	3	3	4	4	134	194	199	211	117	9468	158	8278	171	1997	181	2068
185	0	5	6	7	6	139	200	206	217	122	3478	163	74	177	2218	186	3596
190	0	4	6	4	5	143	206	210	222	125	8686	168	6522	180	663	190	6536
195	0	5	5	5	5	148	211	215	227	130	2696	172	7457	184	9645	194	9476
200	1	3	4	3	4	151	215	218	231	132	9102	176	0205	187	5454	198	3828
205	0	5	6	6	6	156	221	224	237	137	3112	180	9327	192	7072	203	5356
210	0	5	5	5	5	161	226	229	242	141	7122	185	0262	197	0087	207	8296
215	1	3	6	4	4	164	232	233	246	144	3528	189	9384	200	4499	211	2648
220	0	4	5	5	5	168	237	238	251	147	8736	194	0319	204	7514	215	5588
225	0	5	5	5	5	173	242	243	256	152	2746	198	1254	209	0529	219	8528
230	0	4	6	5	4	177	248	248	260	155	7954	203	0376	213	3544	223	288
235	1	4	6	5	6	181	254	253	266	159	3162	207	9498	217	6559	228	4408
240	1	5	5	5	6	186	259	258	272	163	7172	212	0433	221	9574	233	5936
245	0	5	6	7	4	191	265	265	276	168	1182	216	9555	227	9795	237	0288
250	1	4	5	5	4	195	270	270	280	171	639	221	049	232	281	240	464

VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO SUMAS ACUMULATIVAS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO

100 mg/l	200 mg/l	300 mg/l	100 mg/l	200 mg/l	300 mg/l	100 mg/l	200 mg/l	300 mg/l
0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2	1	3	2	1	2.4561	1.7206	0.8588
3	4	4	6	6	5	4.9122	5.1618	4.294
3	2	2	9	8	7	7.3683	6.8824	6.0116
4	3	4	13	11	11	10.6431	9.4633	9.4468
3	3	3	16	14	14	13.0992	12.0442	12.0232
2	2	2	18	16	16	14.7366	13.7648	13.7408
3	4	4	21	20	20	17.1927	17.206	17.176
3	3	3	24	23	23	19.6488	19.7869	19.7524
1	2	2	25	25	25	20.4675	21.5075	21.47
3	2	4	28	27	29	22.9236	23.2281	24.9052
3	5	3	31	32	32	25.3797	27.5296	27.4816
1	2	3	32	34	35	26.1984	29.2502	30.058
2	3	4	34	37	39	27.8358	31.8311	33.4932
2	2	2	36	39	41	29.4732	33.5517	35.2108
2	2	3	38	41	44	31.1106	35.2723	37.7872
3	4	4	41	45	48	33.5667	38.7135	41.2224
0	1	2	41	46	50	33.5667	39.5738	42.94
2	2	3	43	48	53	35.2041	41.2944	45.5164
2	2	2	45	50	55	36.8415	43.015	47.234
1	1	2	46	51	57	37.6602	43.8753	48.9516
1	1	3	47	52	60	38.4789	44.7356	51.528
1	2	1	48	54	61	39.2976	46.4562	52.3868
1	0	1	49	54	62	40.1163	46.4562	53.2456
1	1	1	50	55	63	40.935	47.3165	54.1044
1	2	1	51	57	64	41.7537	49.0371	54.9632
2	1	1	53	58	65	43.3911	49.8974	55.822
0	1	1	53	59	66	43.3911	50.7577	56.6808
1	1	1	54	60	67	44.2098	51.618	57.5396
1	1	2	55	61	69	45.0285	52.4783	59.2572
1	0	1	56	61	70	45.8472	52.4783	60.116
2	1	2	58	62	72	47.4846	53.3386	61.8336
-1	0	0	57	62	72	46.6659	53.3386	61.8336
1	1	2	58	63	74	47.4846	54.1989	63.5512
1	0	1	59	63	75	48.3033	54.1989	64.41
1	1	1	60	64	76	49.122	55.0592	65.2688
0	1	1	60	65	77	49.122	55.9195	66.1276
1	2	1	61	67	78	49.9407	57.6401	66.9864
2	0	1	63	67	79	51.5781	57.6401	67.8452
0	0	0	63	67	79	51.5781	57.6401	67.8452
1	0	1	64	67	80	52.3968	57.6401	68.704
1	1	1	65	68	81	53.2155	58.5004	69.5628
0	0	0	65	68	81	53.2155	58.5004	69.5628
3	1	1	68	69	82	55.6716	59.3607	70.4216
1	1	1	69	70	83	56.4903	60.221	71.2804
0	0	0	69	70	83	56.4903	60.221	71.2804
2	1	0	71	71	83	58.1277	61.0813	71.2804
2	1	2	73	72	85	59.7651	61.9416	72.998
0	0	1	73	72	86	59.7651	61.9416	73.8568
1	2	-1	74	74	85	60.5838	63.6622	72.998
1	1	0	75	75	85	61.4025	64.5225	72.998

LOS VALORES DE RESPIRACION COMBINADA CORRESPONDEN A LA FIGURA 8.3

LOS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO CORRESPONDEN A LA FIGURA 8.6

TABLA D VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO OBTENIDOS DURANTE LA DEGRADACION DE AGUAS RESIDUALES

TIEMPO (minutos)	LECTURAS					SUMAS ACUMULATIVAS			VALORES DE RESPIRACION COMBINADA				
	r e	23 mg/l	46 mg/l	92 mg/l	r e	23 mg/l	46 mg/l	92 mg/l	r e	23 mg/l	46 mg/l	92 mg/l	
	termobar	Man. 4	Man. 3	Man. 1	Man. 5								
0													
5	1	2	6	5	9	2	6	5	9	1 7604	4 9122	4 3015	7 7292
10	1	3	8	8	9	5	14	13	18	4 401	11 4618	11 1839	15 4584
15	0	5	7	10	7	10	21	23	25	8 802	17 1927	19 7869	21 47
20	-1	4	6	8	20	14	27	31	45	12 3228	22 1049	26 6693	38 646
25	-1	2	6	8	9	16	33	39	54	14 0832	27 0171	33 5517	46 3752
30	-1	3	8	9	8	19	41	48	62	16 7238	33 5667	41 2944	53 2456
35	0	2	5	7	7	21	46	55	69	18 4842	37 6602	47 3165	59 2572
40	-1	3	6	9	9	24	52	64	78	21 1248	42 5724	55 0592	66 9864
45	0	2	5	6	10	26	57	70	88	22 8852	46 6659	60 221	75 5744
50	0	2	4	7	7	28	61	77	95	24 6456	49 9407	66 2431	81 586
55	0	1	6	6	7	29	67	83	102	25 5258	54 8529	71 4049	87 5976
60	0	2	4	8	8	31	71	91	110	27 2862	58 1277	78 2873	94 468
65	-1	4	6	8	8	35	77	99	118	30 807	63 0399	85 1697	101 3384
70	-1	2	5	5	8	37	82	104	126	32 5674	67 1334	89 4712	108 2088
75	-2	3	2	7	9	40	84	111	135	35 208	68 7708	95 4933	115 938
80	-2	2	5	6	6	42	89	117	141	36 9684	72 8643	100 6551	121 0908
85	-1	1	5	4	8	43	94	121	149	37 8486	76 9578	104 0963	127 9612
90	-1	2	3	6	7	45	97	127	156	39 609	79 4139	109 2581	133 9728
95	-2	3	5	6	7	48	102	133	163	42 2496	83 5074	114 4199	139 9844
100	-1	2	3	5	6	50	105	138	169	44 01	85 9635	118 7214	145 1372
105	-2	4	4	6	8	54	109	144	177	47 5308	89 2383	123 8832	152 0076
110	0	1	4	4	5	55	113	148	182	48 411	92 5131	127 3244	156 3016
115	-1	3	5	6	6	58	118	154	188	51 0516	96 6066	132 4862	161 4544
120	-1	2	3	5	8	60	121	159	196	52 812	99 0627	136 7877	168 3248
125	-2	4	5	6	6	64	126	165	202	56 3328	103 1562	141 9495	173 4776
130	-1	1	3	4	6	65	129	169	208	57 213	105 6123	145 3907	178 6304
135	-1	3	4	5	5	68	133	174	213	59 8536	108 8871	149 6922	182 9244
140	0	2	5	5	7	70	138	179	220	61 614	112 9806	153 4937	188 936
145	0	3	5	5	5	73	143	184	225	64 2546	117 0741	158 2952	193 23
150	0	3	5	5	7	76	148	189	232	66 8952	121 1676	162 5967	199 2416
155	0	3	4	5	6	79	152	194	238	69 5358	124 4424	166 8982	204 3944
160	-1	4	4	6	5	83	156	200	243	73 0566	127 7172	172 06	208 6884
165	-1	3	3	5	7	86	159	205	250	75 6972	130 1733	176 3615	214 7
170	-2	3	5	5	6	89	164	210	256	78 3378	134 2668	180 663	219 8528
175	0	1	5	2	6	90	169	212	262	79 218	138 3603	182 3836	225 0056
180	-1	4	2	6	4	94	171	218	266	82 7388	139 9977	187 5454	228 4408
185	-1	4	5	5	6	98	176	223	272	86 2596	144 0912	191 8469	233 5936
190	0	2	4	5	9	100	180	228	281	88 02	147 366	196 1484	241 3228
195	-1	4	5	5	2	104	185	233	283	91 5408	151 4595	200 4499	243 0404
200	-1	2	2	4	7	106	187	237	290	93 3012	153 0969	203 8911	249 052
205	-2	4	5	7	5	110	192	244	295	96 822	157 1904	209 9132	253 346
210	0	1	4	2	11	111	196	246	306	97 7022	160 4652	211 6338	262 7928
215	-1	4	3	6	1	115	199	252	307	101 223	162 9213	216 7956	263 6516
220	-1	3	6	6	4	118	205	258	311	103 8636	167 8335	221 9574	267 0868
225	0	3	3	3	7	121	208	261	318	106 5042	170 2896	224 5383	273 0984
230	-1	3	4	7	6	124	212	268	324	109 1448	173 5644	230 5604	278 2512
235	0	3	3	5	4	127	215	273	328	111 7854	176 0205	234 8619	281 6864
240	-1	3	4	6	9	130	219	279	337	114 426	179 2953	240 0237	289 4156
245	-1	4	4	5	5	134	223	284	342	117 9468	182 5701	244 3252	293 7096
250	0	2	5	4	5	136	228	288	347	119 7072	186 6636	247 7664	298 0036

VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO SUMAS ACUMULATIVAS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO

23 mg/l 46 mg/l 92 mg/l 23 mg/l 46 mg/l 92 mg/l 23 mg/l 46 mg/l 92 mg/l

						0	0	0
4	3	7	4	3	7	3 2748	2 5809	6. 0116
5	5	8	9	8	15	7 3683	6 8824	12 882
2	5	8	11	13	23	9. 0057	11 1839	19 7524
2	4	8	13	17	31	10 6431	14 6251	26 6228
4	6	7	17	23	38	13 9179	19 7869	32 6344
5	6	5	22	29	43	18. 0114	24 9487	36. 9284
3	5	5	25	34	48	20 4675	29 2502	41. 2224
3	6	6	28	40	54	22 9236	34 412	46 3752
3	4	8	31	44	62	25 3797	37 8532	53. 2456
2	5	5	33	49	67	27 0171	42 1547	57. 5396
5	5	6	38	54	73	31 1106	46 4562	62 6924
2	6	6	40	60	79	32 748	51 618	67 8452
2	4	4	42	64	83	34 3854	55 0592	71 2804
3	3	6	45	67	89	36 8415	57 6401	76 4332
-1	4	6	44	71	95	36 0228	61 0813	81 586
3	4	4	47	75	99	38 4789	64 5225	85 0212
4	3	7	51	78	106	41 7537	67 1034	91 0328
1	4	5	52	82	111	42 5724	70 5446	95 3268
2	3	4	54	85	115	44 2098	73 1255	98 762
1	3	4	55	88	119	45 0285	75 7064	102 1972
0	2	4	55	90	123	45 0285	77 427	105 6324
3	3	4	58	93	127	47 4846	80 0079	109 0676
2	3	3	60	96	130	49 122	82 5888	111 644
1	3	6	61	99	136	49 9407	85 1697	116 7968
1	2	2	62	101	138	50 7594	86 8903	118 5144
2	3	5	64	104	143	52 3968	89 4712	122 8084
1	2	2	65	106	145	53 2155	91 1918	124 526
3	3	5	68	109	150	55 6716	93 7727	128 82
2	2	2	70	111	152	57 309	95 4933	130 5376
2	2	4	72	113	156	58 9464	97 2139	133 9728
1	2	3	73	115	159	59 7651	98 9345	136 5492
0	2	1	73	117	160	59 7651	100 6551	137 408
0	2	4	73	119	164	59 7651	102 3757	140 8432
2	2	3	75	121	167	61 4025	104 0963	143 4196
4	1	5	79	122	172	64 6773	104 9566	147 7136
-2	2	0	77	124	172	63 0399	106 6772	147 7136
1	1	2	78	125	174	63 8586	107 5375	149 4312
2	3	7	80	128	181	65 496	110 1184	155 4428
1	1	-2	81	129	179	66 3147	110 9787	153 7252
0	2	5	81	131	184	66 3147	112 6993	158 0192
1	3	1	82	134	185	67 1334	115 2802	158 878
3	1	10	85	135	195	69 5895	116 1405	167 466
-1	2	-3	84	137	192	68 7708	117 8611	164 8896
3	3	1	87	140	193	71 2269	120 442	165 7484
0	0	4	87	140	197	71 2269	120 442	169 1836
1	4	3	88	144	200	72 0456	123 8832	171 76
0	2	1	88	146	201	72 0456	125 6038	172 6188
1	3	6	89	149	207	72 8643	128 1847	177 7716

LOS VALORES DE RESPIRACION COMBINADA CORRESPONDEN A LA FIGURA 8 4

LOS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO CORRESPONDEN A LA FIGURA 8 7



TABLA E. VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO DURANTE LA DEGRADACION DE CLORURO DE AMONIO

TIEMPO minutos	LECTURAS				SUMAS ACUMULATIVAS			VALORES DE RESPIRACION COMBINADA					
	termobar	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	re	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	re	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	
	Man. 4	Man. 2	Man. 3	Man. 5									
0					3	6	5	5	0	0	0	0	
5	-2	3	6	5	5	1	5	7	7	2.6406	5.4036	4.0935	4.294
10	2	-2	-1	2	2	6	11	12	15	0.8802	4.503	5.7309	6.0116
15	-2	5	6	5	8	6	13	16	19	5.2812	9.9066	9.8244	12.882
20	-2	0	2	4	4	3	12	16	19	5.2812	11.7078	13.0992	16.3172
25	2	-3	-1	0	0	7	19	23	26	2.6406	10.8072	13.0992	16.3172
30	-1	4	7	7	7	7	20	25	28	6.1614	17.1114	18.8301	22.3288
35	0	0	1	2	2	8	23	30	33	6.1614	18.012	20.4675	24.0464
40	-1	1	3	5	5	8	25	33	30	7.0416	20.7138	24.561	28.3404
45	0	0	2	3	-3	8	27	35	33	7.0416	22.515	27.0171	25.764
50	0	0	2	2	3	9	28	39	37	7.0416	24.3162	28.6545	28.3404
55	0	1	1	4	4	10	30	44	42	7.9218	25.2168	31.9293	31.7756
60	-1	1	2	5	5	10	30	46	46	8.802	27.018	36.0228	36.0696
65	0	0	0	2	4	10	30	48	49	8.802	27.018	37.6602	39.5048
70	1	0	0	2	3	13	33	54	54	8.802	27.018	39.2976	42.0812
75	-1	3	3	6	5	12	33	54	56	11.4426	29.7198	44.2098	46.3752
80	1	-1	0	0	2	14	35	57	59	10.5624	29.7198	44.2098	48.0928
85	0	2	2	3	3	15	36	59	63	12.3228	31.521	46.6659	50.6692
90	0	1	1	2	4	16	38	62	68	13.203	32.4216	48.3033	54.1044
95	-1	1	2	3	5	16	37	63	70	14.0832	34.2228	50.7594	58.3984
100	0	0	-1	1	2	17	38	64	72	14.0832	33.3222	51.5781	60.116
105	1	1	1	1	2	18	39	65	76	14.9634	34.2228	52.3968	61.8336
110	1	1	1	1	4	21	42	69	81	15.8436	35.1234	53.2155	65.2688
115	-1	3	3	4	5	21	42	69	84	18.4842	37.8252	56.4903	69.5628
120	0	0	0	0	3	21	43	70	87	18.4842	37.8252	56.4903	72.1392
125	0	0	1	1	3	22	45	71	89	18.4842	38.7258	57.309	74.7156
130	1	1	2	1	2	24	44	72	92	19.3644	40.527	58.1277	76.4332
135	1	2	-1	1	3	26	46	72	94	21.1248	39.6264	58.9464	79.0096
140	1	2	2	0	2	27	47	75	98	22.8852	41.4276	58.9464	80.7272
145	0	1	1	3	4	27	48	76	101	23.7654	42.3282	61.4025	84.1624
150	0	0	1	1	3	27	49	77	103	23.7654	43.2288	62.2212	86.7388
155	0	0	1	1	2	29	49	77	105	23.7654	44.1294	63.0399	88.4564
160	1	2	0	0	2	30	51	79	108	25.5258	44.1294	63.0399	90.174
165	1	1	2	2	3	31	52	80	111	26.406	45.9306	64.6773	92.7504
170	1	1	1	1	3	31	54	81	113	27.2862	46.8312	65.496	95.3268
175	0	0	2	1	2	34	54	82	115	27.2862	48.6324	66.3147	97.0444
180	1	3	0	1	2	34	55	85	119	29.9268	48.6324	67.1334	98.762
185	0	0	1	3	4	36	57	85	121	29.9268	49.533	69.5895	102.1972
190	0	2	2	0	2	37	56	85	122	31.6872	51.3342	69.5895	103.9148
195	2	1	-1	0	1	39	58	89	126	32.5674	50.4336	69.5895	104.7736
200	0	2	2	4	4	39	60	90	128	34.3278	52.2348	72.8643	108.2088
205	0	0	2	1	2	42	60	90	129	34.3278	54.036	73.683	109.9264
210	2	3	0	0	1	42	62	92	131	36.9684	54.036	73.683	110.7852
215	1	0	2	2	2	44	65	93	132	36.9684	55.8372	75.3204	112.5028
220	1	2	3	1	1	48	66	93	132	38.7288	58.539	76.1391	113.3616
225	1	4	1	0	0	48	66	93	132	42.2496	59.4396	76.1391	113.3616

VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO SUMAS ACUMULATIVAS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO

	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l
	0	0	0	3	2	2	0	0	0
	3	2	2	4	6	6	2 7018	1 6374	1 7206
	1	4	4	5	6	9	3 6024	4 9122	5 1618
	1	0	3	7	10	13	4 503	4 9122	7 7427
	2	4	4	9	13	16	6 3042	8 187	11 1839
	2	3	3	12	16	19	8 1054	10 6431	13 7648
	3	3	3	13	18	21	10 8072	13 0992	16 3457
	1	2	2	15	22	25	11 7078	14 7366	18 0663
	2	4	4	17	25	28	13 509	18 0114	21 5075
	2	3	3	14	27	31	15 3102	20 4675	24 0884
	2	2	3	14	30	35	17 1114	22 1049	26 6693
	0	3	4	20	34	39	17 1114	24 561	30 1105
	1	4	4	20	36	42	18 012	27 8358	33 5517
	0	2	3	20	38	44	18 012	29 4732	36 1326
	0	2	2	20	41	47	18 012	31 1106	37 8532
	0	3	3	21	42	48	18 012	33 5667	40 4341
	1	1	1	21	43	51	18 9126	34 3854	41 2944
	0	1	3	21	44	55	18 9126	35 2041	43 8753
	0	1	4	22	46	57	18 9126	36 0228	47 3165
	1	2	2	21	47	58	19 8132	37 6602	49 0371
	-1	1	1	21	47	61	18 9126	38 4789	49 8974
	0	0	3	21	47	63	18 9126	38 4789	52 4783
	0	0	2	21	48	66	18 9126	38 4789	54 1989
	0	1	3	21	48	69	18 9126	39 2976	56 7798
	0	0	3	22	49	70	18 9126	39 2976	59 3607
	1	1	1	23	49	71	19 8132	40 1163	60 221
	1	0	1	20	48	71	20 7138	40 1163	61 0813
	-3	-1	0	20	46	74	18 012	39 2976	61 0813
	0	-2	3	20	48	77	18 012	37 6602	63 6622
	0	2	3	21	49	79	18 012	39 2976	66 2431
	1	1	2	22	50	79	18 9126	40 1163	67 9637
	1	1	0	20	48	81	19 8132	40 935	67 9637
	-2	-2	2	21	49	83	18 012	39 2976	69 6843
	1	1	2	21	49	85	18 9126	40 1163	71 4049
	0	0	2	23	50	84	18 9126	40 1163	73 1255
	2	1	-1	20	48	88	20 7138	40 935	72 2652
	-3	-2	4	21	51	88	18 012	39 2976	75 7064
	1	3	0	21	49	88	18 9126	41 7537	75 7064
	0	-2	0	19	48	90	18 9126	40 1163	75 7064
	-2	-1	2	19	50	92	17 1114	39 2976	77 427
	0	2	2	21	51	90	17 1114	40 935	79 1476
	2	1	-2	18	48	92	18 9126	41 7537	77 427
	-3	-3	2	20	50	91	16 2108	39 2976	79 1476
	2	2	-1	21	49	87	18 012	40 935	78 2873
	1	-1	-4	21	49	87	18 9126	40 1163	74 8461

LOS VALORES DE RESPIRACION COMBINADA CORRESPONDEN A LA FIGURA 8.14

LOS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO CORRESPONDEN A LA FIGURA 8.16

TABLA F VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO DURANTE LA DEGRADACION DE AGUAS TRATADAS DE LA TERCERA ETAPA DEL BIODISCO

TIEMPO (minutos)	LECTURAS				SUMAS ACUMULATIVAS				VALORES DE RESPIRACION COMBINADA				
	re	4 mg/l	6 mg/l	12 mg/l	re	4 mg/l	6 mg/l	12 mg/l	re	4 mg/l	6 mg/l	12 mg/l	
	Man 4	Man 2	Man 3	Man 5									
0					1	2	2	5	0	0	0	0	
5	0	0	2	2	5	2	2	7	9	0.8802	1.8012	1.6374	4.294
10	0	1	0	5	4	4	5	12	15	1.7604	1.8012	5.7309	7.7292
15	-1	2	3	5	6	3	7	18	19	3.5208	4.503	9.8244	12.882
20	0	-1	2	6	4	5	11	25	24	2.6406	6.3042	14.7366	16.3172
25	-1	2	4	7	5	6	14	31	31	4.401	9.9066	20.4675	20.6112
30	-1	1	3	6	7	6	17	35	36	5.2812	12.6084	25.3797	26.6228
35	-1	0	3	4	5	6	22	39	42	5.2812	15.3102	28.6545	30.9168
40	0	0	5	4	6	7	25	44	48	5.2812	19.8132	31.9293	36.0696
45	0	1	3	5	6	10	27	48	55	6.1614	22.515	36.0228	41.2224
50	-1	3	2	4	7	11	28	50	61	8.802	24.3162	39.2976	47.234
55	-1	1	1	2	6	11	30	51	67	9.6822	25.2168	40.935	52.3868
60	-1	0	2	1	6	11	32	52	72	9.6822	27.018	41.7537	57.5396
65	0	0	2	1	5	12	33	54	78	9.6822	28.8192	42.5724	61.8336
70	0	1	1	2	6	13	34	55	83	10.5624	29.7198	44.2098	66.9864
75	0	1	1	1	5	14	38	57	89	11.4426	30.6204	45.0285	71.2804
80	1	1	4	2	6	15	41	60	94	12.3228	34.2228	46.6659	76.4332
85	2	1	3	3	5	18	42	63	101	13.203	36.9246	49.122	80.7272
90	1	3	1	3	7	22	44	64	107	15.8436	37.8252	51.5781	86.7388
95	0	4	2	1	6	22	48	67	111	19.3644	39.6264	52.3968	91.8916
100	1	0	4	3	4	24	50	71	116	19.3644	43.2288	54.8529	95.3268
105	1	2	2	4	5	28	52	72	121	21.1248	45.03	58.1277	99.6208
110	0	4	2	1	5	30	54	74	124	24.6456	46.8312	58.9464	103.9148
115	0	2	2	2	3	31	56	76	127	26.406	48.6324	60.5838	106.4912
120	0	1	2	2	3	33	57	77	129	27.2862	50.4336	62.2212	109.0676
125	0	2	1	1	2	34	59	78	132	29.0466	51.3342	63.0399	110.7852
130	0	1	2	1	3	35	60	81	133	29.9268	53.1354	63.8586	113.3616
135	1	1	1	3	1	37	63	81	136	30.807	54.036	66.3147	114.2204
140	0	2	3	0	3	38	65	84	137	32.5674	56.7378	66.3147	116.7968
145	1	1	2	3	1	41	67	86	141	33.4476	58.539	68.7708	117.6556
150	0	3	2	2	4	43	68	88	143	36.0882	60.3402	70.4082	121.0908
155	0	2	1	2	2	45	71	89	146	37.8486	61.2408	72.0456	122.8084
160	0	2	3	1	3	46	71	91	147	39.609	63.9426	72.8643	125.3848
165	1	1	0	2	1	48	74	92	150	40.4892	63.9426	74.5017	126.2436
170	0	2	3	1	3	49	74	95	151	42.2496	66.6444	75.3204	128.82
175	1	1	0	3	1	52	76	95	154	43.1298	66.6444	77.7765	129.6788
180	0	3	2	0	3	52	78	97	155	45.7704	68.4456	77.7765	132.2552
185	1	0	2	2	1	55	81	99	158	45.7704	70.2468	79.4139	133.114
190	1	3	3	2	3	57	84	102	160	48.411	72.9486	81.0513	135.6904
195	1	2	3	3	2	59	84	105	162	50.1714	75.6504	83.5074	137.408
200	1	2	0	3	2	62	86	106	165	51.9318	75.6504	85.9635	139.1256
205	0	3	2	1	3	64	90	107	167	54.5724	77.4516	86.7822	141.702
210	1	2	4	1	2	65	92	111	169	56.3328	81.054	87.6009	143.4196
215	2	1	2	4	2	69	93	113	173	57.213	82.8552	90.8757	145.1372
220	0	4	1	2	4	70	96	114	175	60.7338	83.7558	92.5131	148.5724
225	0	1	3	1	2	72	97	117	175	61.614	86.4576	93.3318	150.29
230	1	2	1	3	0	75	99	119	180	63.3744	87.3582	95.7879	150.29
235	0	3	2	2	5	76	102	120	181	66.015	89.1594	97.4253	154.584

240	1	1	3	1	1	78	104	123	182	66	8952	91	8612	98	244	155	4478
245	2	2	2	3	1	81	105	125	186	68	6556	93	6624	100	7001	156	3016
250	1	3	1	2	4	83	110	127	189	71	2962	94	563	102	3375	159	7368
255	1	2	5	2	3	85	111	131	190	73	0566	99	066	103	9749	162	3137
260	2	2	1	4	1	89	114	131	195	74	817	99	9666	107	2497	163	172
265	0	4	3	0	5	90	116	134	196	78	3378	102	6684	107	2497	167	466
270	2	1	2	3	1	90	116	134	196	79	218	104	4696	109	7058	168	3248

VALORES DE CONSUMO DE OXIGENO SUMAS ACUMULATIVAS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO

4 mg/l	6 mg/l	12 mg/l	4 mg/l	6 mg/l	12 mg/l	4 mg/l	6 mg/l	12 mg/l
0	0	0	2	2	5	0	0	0
2	2	5	5	6	10	1 8012	1 6374	4 294
3	4	5	8	9	16	4 503	4 9122	8 588
3	3	6	11	16	21	7 2048	7 3683	13 7408
3	7	5	13	21	27	9 9066	13 0992	18 0348
2	5	6	15	26	32	11 7078	17 1927	23 1876
2	5	5	17	30	37	13 509	21 2862	27 4816
2	4	5	19	34	42	15 3102	24 561	31 7756
2	4	5	20	38	48	17 1114	27 8358	36 0696
1	4	6	21	39	53	18 012	31 1106	41 2224
1	1	5	21	40	56	18 9126	31 9293	45 5164
0	1	3	23	41	59	18 9126	32 748	48 0928
2	1	3	25	42	63	20 7138	33 5667	50 6692
2	1	4	25	43	67	22 515	34 3854	54 1044
0	1	4	25	43	71	22 515	35 2041	57 5396
0	0	4	28	44	75	22 515	35 2041	60 9748
3	1	4	30	46	79	25 2168	36 0228	64 41
2	2	4	28	46	83	27 018	37 6602	67 8452
-2	0	4	26	43	85	25 2168	37 6602	71 2804
-2	-3	2	30	46	89	23 4156	35 2041	72 998
4	3	4	30	48	92	27 018	37 6602	76 4332
0	2	3	28	45	93	27 018	39 2976	79 0096
-2	-3	1	28	45	94	25 2168	36 8415	79 8684
0	0	1	29	46	96	25 2168	36 8415	80 7272
1	1	2	28	45	96	26 1174	37 6602	82 4448
-1	-1	0	29	45	98	25 2168	36 8415	82 4448
1	0	2	29	47	98	26 1174	36 8415	84 1624
0	2	0	30	45	99	26 1174	38 4789	84 1624
1	-2	1	31	47	99	27 018	36 8415	85 0212
1	2	0	30	46	100	27 9186	38 4789	85 0212
-1	-1	1	29	46	100	27 018	37 6602	85 88
-1	0	0	30	45	101	26 1174	37 6602	85 88
1	-1	1	29	46	101	27 018	36 8415	86 7388
-1	1	0	30	45	102	26 1174	37 6602	86 7388
1	-1	1	29	47	102	27 018	36 8415	87 5976
-1	2	0	28	44	102	26 1174	38 4789	87 5976
-1	-3	0	30	46	103	25 2168	36 0228	87 5976
2	2	1	30	45	103	27 018	37 6602	88 4564
0	-1	0	31	46	103	27 018	36 8415	88 4564
1	1	0	29	47	103	27 9186	37 6602	88 4564
-2	1	0	28	45	103	26 1174	38 4789	88 4564
-1	-2	0	30	44	103	25 2168	36 8415	88 4564
2	-1	0	31	47	104	27 018	36 0228	88 4564
1	3	1	28	45	104	27 9186	38 4789	89 3152
-3	-2	0	30	45	105	25 2168	36 8415	89 3152
2	0	1	29	46	103	27 018	36 8415	90 174
-1	1	-2	28	45	105	26 1174	37 6602	88 4564
-1	-1	2	30	45	105	25 2168	36 8415	90 174

2	0	0	30	46	104	27.018	36.8415
0	1	-1	28	45	105	27.018	37.6602
-2	-1	1	31	45	106	25.2168	36.8415
3	0	1	30	47	105	27.9186	36.8415
-1	2	-1	29	43	106	27.018	38.4789
-1	-4	1	30	45	106	26.1174	35.2041
1	2	0	30	45	106	27.018	36.8415
0	0	0	30	45	106	27.018	36.8415

LOS VALORES DE RESPIRACION COMBINADA CORRESPONDEN A LA FIGURA 8 15

LOS VALORES NETOS DE CONSUMO DE OXIGENO CORRESPONDEN A LA FIGURA 8 17