



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

“Seguimiento en el cambio de poblaciones de microorganismos durante el tratamiento biológico combinado, anaerobio-anóxico-aerobio al tratar compuestos fenólicos”.

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIATURA EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTA: Gabriela Aguilar Arellano.

ASESOR DE TESIS: Dr. Edgar Ayala Herrera.

FECHA DE ENTREGA: 18/01/2016.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	
Eliminación biológica de nutrientes y compuestos fenólicos.	5
1.1 Eliminación biológica de nutrientes.	6
1.1.1 Nitrógeno	6
1.1.2 Remoción biológica de nitrógeno.	6
1.1.3 Amonificación.	7
1.1.4 Nitrificación.	8
1.1.5 Desnitrificación.	9
1.1.6 Fósforo.	10
1.1.7 Remoción biológica de fósforo.	11
1.2 Eliminación fenólica.	12
1.3 Eliminación de compuestos fenólicos clorados.	13
1.4 Potencial Oxido – Reducción (ORP).	14
1.5 Sistema Anaerobio y Aerobio.	15
1.5.1 Sistema Anaerobio.	15
1.5.2 Proceso de digestión anaerobia.	15
1.5.3 Metalogénesis.	16
1.6 Factores que afectan el proceso.	17
1.6.1 Hidrolisis.	17

	Página
1.7 Reactor Anaerobio (RAFA).	18
1.8 Sistema Aerobio.	18
1.8.1 Parámetros de control para el proceso Aerobio.	20
1.9 Sistema Anaerobio – Anóxico – Aerobio para la remoción de nutrientes.	21
1.10 Microbiología de los sistemas Anaerobio y Aerobio.	23
1.10.1 Bacterias.	25
1.10.2 Enterobacterias.	25
1.10.3 Bacterias dominantes.	26
1.11 Identificación de bacterias.	27
1.11.1 Poblaciones microbianas.	27
1.11.2 Protozoarios.	28
2. METODOLOGÍA.	
Métodos experimentales.	32
2.1 Descripción del sistema.	33
2.2 Construcción de Biorreactores Anaerobio - Anóxico – Aerobio.	33
2.3 Proceso de depuración llevada a cabo a escala de laboratorio.	35
2.3.1 Bioreactores Anaerobio y Anóxico.	35
2.3.2 Biorreactor Aerobio.	35
2.4 Agua residual preparada.	36
2.5 Seguimiento del proceso de depuración.	37

	Página.
2.6 Construcción del reactor Anaerobio – Anóxico – Aerobio.	38
2.7 Operación de los bioreactores Anaerobio – Anóxico – Aerobio.	39
2.8 Métodos microbiológicos.	40
2.8.1 Toma de muestra.	40
2.8.2 Identificación de Bacterias utilizando API20E.	41
2.8.3 Determinación de perfil numérico.	41
2.8.4 Limitaciones.	42
2.8.5 Identificación de protozoarios	42
2.8.6 Identificación de hongos utilizando ID32C.	43
2.8.7 ID32C.	43
2.8.8 Cromatografía de líquidos.	43
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	45
3.1 Etapa de adaptación sin recirculación.	46
3.1.1 Demanda Química de Oxígeno.	46
3.1.2 Ortofosfatos.	47
3.1.3 Nitrógeno Total.	48
3.1.4 Nitrógeno Amoniacal.	49
3.1.5 Conclusiones de los resultados de la etapa de adaptación.	50

	Página.
3.2 Proceso de estabilización con recirculación del agua residual de la etapa aerobia a la anóxica.	51
3.2.1 Demanda Química de Oxígeno.	51
3.2.2 Remoción de Fosforo.	52
3.2.3 Remoción de Nitrógeno.	54
3.2.4 Nitrógeno Amoniacal.	55
3.3 Medición del Potencial Oxido – Reducción.	56
3.4 Comentarios.	57
3.5 Eficiencia del sistema Anaerobio – Anóxico – Aerobio en la eliminación de nutrientes y fenol.	58
3.6 Demanda Química de Oxígeno.	59
3.7 Remoción de Fósforo.	60
3.8 Remoción de Nitrógeno Total.	62
3.9 Nitrógeno Amoniacal.	63
3.10 Medición de Potencial Oxido – Reducción.	64
3.11 Eliminación de Fenol.	65
3.12 Identificación Microbiológica.	67
3.12.1 Bacterias aisladas después de agregar compuestos fenólicos	69
3.12.2 Identificación de Protozoarios antes de agregar los compuestos fenólicos.	70

	Página.
3.12.3 Identificación de protozoarios después de agregar los compuestos fenólicos.	70
3.12.4 Identificación de hongos.	71
APÉNDICE. BIBLIOGRAFÍA	79

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS.

Figura.	Página.
1. Transformación de varias formas de Nitrógeno en los procesos de tratamiento biológico.	7
2. Diferentes rutas de digestión Anaerobia.	16
3. Representación del sistema Aerobio para el tratamiento de agua residual.	19
4. Remoción de Nitrógeno en el sistema Aerobio – Anóxico – Anaerobio.	22
5. Representación de la relación o cadena alimenticia en el proceso de lodos activados.	23
6. Dimensiones del sistema Anaerobio – Anóxico – Aerobio.	33
7. Descripción del biorreactor Anaerobio.	34
8. Partes que conforman el reactor Anaerobio tipo RAFA.	34

9. Funcionamiento del reactor Anaerobio tipo RAFA.	35
10. Descripción del reactor Aerobio.	36
Figura.	Página.
11. Parámetros de control para el proceso de depuración llevado a cabo en cada uno de los bioreactores.	37
12. Construcción del reactor Anaerobio – Anóxico – Aerobio.	38
13. Reactor Anaerobio – Anóxico – Aerobio.	38
14. Operación del reactor Anaerobio tipo RAFA a escala laboratorio.	39
15. Operación del reactor Aerobio a escala laboratorio.	39
16. Operación del reactor Anaerobio – Anóxico – Aerobio a escala laboratorio.	40
17. Identificación de protozoarios utilizando equipo de video.	42
18. Cromatografía para dar seguimiento en la degradación de los compuestos.	44
19. Gráfica de resultados del análisis de DQO en la etapa de adaptación sin recirculación.	46
20. Gráfica de resultados del análisis de Ortofosfatos en la etapa de adaptación sin recirculación.	47
21. Gráfica de resultados del análisis de Nitrógeno Total en la etapa de adaptación sin recirculación.	48
22. Gráfica de resultados del análisis de Nitrógeno Amoniacal.	49

23. Seguimiento de la remoción de DQO de las etapas Anaerobio – Anóxico – Aerobio durante la etapa de estabilización.	51
Figura.	Página.
24. Gráfica de porcentaje de DQO removido de las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia durante la estabilización.	52
25. Seguimiento de la remoción de fósforo en las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia durante la etapa de estabilización.	53
26. Gráfica de porcentaje de fósforo removido de las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia durante la etapa de estabilización.	54
27. Seguimiento en la remoción de Nitrógeno Total en las etapas Anaerobias – Anóxicas – Aerobias durante el proceso de estabilización.	54
28. Gráfica del porcentaje de remoción de Nitrógeno Total en cada una de las etapas, durante la etapa de estabilización.	55
29. Seguimiento del Nitrógeno Amoniacal en las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la etapa de estabilización.	56
30. Control de potencial de la Oxido – Reducción (ORP) en las etapas Anaerobio – Anóxico – Aerobio, durante el proceso de estabilización.	57
31. Seguimiento de la remoción de DQO en el sistema Anaerobio – Anóxico – Aerobio, durante la adición de fenol.	59
32. Porcentaje DQO removido de las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	60

33. Seguimiento en la remoción de fósforo de las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	61
---	----

Figura.	Página.
34. Porcentaje de fósforo removido en las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	62
35. Seguimiento en la remoción de Nitrogeno Total de las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	62
36. Porcentaje de Nitrogeno Total removido en las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	63
37. Seguimiento del Nitrogeno Amoniacal en las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	64
38. Control de ORP para la eliminación de nutrientes en las etapas Anaerobia – Anóxica – Aerobia, durante la adición de fenol.	65
39. Curva de calibración del HPLC.	66
40. Paramecium Aurelia 120 – 180 μm .	71
41. Paramecium caudatum 180 – 300 μm .	71
42. Chilodonella 130 – 150 μm .	72
43. Cercodobo crassicauda o pleuromonas jaculans.	72
44. Paraurostyla weissei 250 μm .	73
45. Thecamoeba spp 100 – 175 μm .	73
46. Litonotus y Amphileptos 130 μm .	73

47. Colpidium spp	74
48. Tracheophyllum pusillum.	74
49. Euplotes moebiusi.	74

Figura.	Página.
50. Habrotrocha sp.	75
51. Philodina.	75
52. Vorticela fromentelli.	75
53. Vorticela mocrstoma.	76

TABLAS.

Tabla.	Página.
1. Definiciones útiles en el tratamiento biológico de aguas residuales.	5
2. Resumen de la eliminación bilógica de la eliminación de fósforo.	12
3. Descripción de microorganismos en aguas naturales y residuales.	23
4. Funciones de las bacterias en el tratamiento de aguas residuales.	24
5. Principales géneros bacterianos encontrados en el proceso aerobio.	26
6. Principales géneros encontrados en el proceso anaerobio.	27
7. Protozoarios encontrados más frecuentemente en filtros percoladores.	30
8. Los protozoarios aliados más frecuentes.	31

9. Composición del agua residual preparada sintéticamente.	36
10. Resultados del análisis de DQO en la etapa de adaptación sin recirculación.	46
Tabla.	Página.
11. Resultados del análisis de ortofosfatos en la etapa de adaptación sin recirculación.	47
12. Resultados del análisis de Nitrógeno Total en la etapa de adaptación sin recirculación.	48
13. Resultados del análisis de Nitrógeno Amoniacal.	49
14. Resultados en la etapa de estabilización.	57
15. Ley federal de derechos en materia de Agua.	58
16. Datos obtenidos para la curva de calibración HPLC.	65
17. Resultados de la degradación de Fenol.	66
18. Resultados globales de la eliminación simultanea de nutrientes y fenol a través del sisma Anaerobio – Anoxico – Aerobio.	67
19. Bacterias identificadas antes de introducir compuestos fenólicos.	68
20. Bacterias identificadas después de introducir compuestos fenólicos.	69
21. Bacterias que crecieron en un medio selectivo de fenol 2, 4, 6, triclorofenol.	69

22. Identificación de protozoarios antes de introducir los compuestos fenólicos	70
---	----

Tabla.	Página.
23. Identificación de protozoarios después de introducir los compuestos fenólicos.	71

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental es causada principalmente por las actividades del hombre; sin embargo, hasta hace relativamente poco tiempo se la ha prestado atención, ya que en los últimos años ha aumentado en todo el mundo el número y la frecuencia de incidentes graves de contaminación, demostrando cada vez más los efectos adversos sobre el ambiente y la salud. Los efectos más graves ocurren cuando la entrada de los contaminantes al ambiente rebasa la capacidad de los ecosistemas para absorberlos y destruirlos.

Como sabemos, el agua tiene la capacidad de disolver, emulsionar y transportar numerosas sustancias líquidas o sólidas. Esta capacidad causa que tenga diferentes calidades. Cada país define por norma las características del agua para su uso. La calidad del agua se define en función de la concentración de algunos agentes químicos y biológicos, y también se consideran algunas de sus características físicas. En la mayoría de los países incluyendo México, se consideran como base de los parámetros de calidad del agua los siguientes: pH, temperatura, oxígeno disuelto, aceites y grasas, sólidos disueltos, turbiedad, nutrientes como compuestos de fósforo (P), de nitrógeno (N) y de carbono (C), materias en suspensión y microorganismos.

Además de estos parámetros específicos de la calidad del agua se han establecidos algunos otros llamados globales que indican la presencia de un conjunto de sustancias como por ejemplo la DBO (Demanda Biológica de Oxígeno) que indica la cantidad de materia biodegradable en una muestra de agua en particular, y la DQO (Demanda Química de Oxígeno) que mide la cantidad de material orgánico e inorgánico total presente en la muestra de agua.

La naturaleza del agua residual en las descargas industriales es tan variada como la cantidad de industrias, estas pueden incluir sustancias tóxicas o difícilmente degradables. Los tratamientos de depuración del agua son específicos para cada caso. Uno de los tratamientos de agua residual más utilizados, es el tratamiento biológico, que depende de la actividad metabólica y características físicas de los microorganismos involucrados en el proceso. La eficiencia del tratamiento biológico se lleva a cabo controlando los factores que pueden afectar al proceso como son pH, concentración de oxígeno disuelto (OD), potencial de óxido-reducción (ORP), carga de compuestos orgánicos y nutrientes, flujo del agua, etc.

Los procesos de tratamiento de aguas residuales de tipo biológico tienen problemas comunes que no pueden solucionarse completamente, estos métodos tienen las siguientes limitantes:

-
- No pueden degradarse completamente o eficientemente los compuestos recalcitrantes y xenobioticos (aromáticos, haloaromaticos, pesticidas, policíclicos aromáticos, etc.).
 - Generación elevada de lodos activados en exceso que requieren de otro proceso de tratamiento para su eliminación.
 - La remoción de nutrientes (N y P) no es suficiente.
 - Compuestos tóxicos (cianuros, metales pesados, agentes antibióticos, etc) bajan la eficiencia del tratamiento.
 - El tratamiento bajo condiciones extraordinarias (bajo o alto pH y temperatura, alta salinidad, etc.).

Uno de los problemas más importantes que no se pueden controlar es la introducción de compuestos tóxicos en el agua residual. Dentro de estos compuestos se encuentran los fenoles y sus derivados. Este tipo de compuestos ocasionan que la eficiencia del proceso biológico aerobio disminuya y en concentraciones más grandes, detiene el proceso.

Por estas razones se investiga una alternativa para solucionar los problemas antes mencionados utilizando un tratamiento biológico, con un arreglo secuencial anaerobio-anóxico-aerobio, para lograr:

- 1) Una remoción simultanea de nutrientes y compuestos fenólicos.
- 2) Que las concentraciones de los contaminantes del agua descargada durante este proceso estén por debajo de las normas gubernamentales.
- 3) Que la generación de lodos en exceso durante el tratamiento biológico sea mínimo y lograr la sustentabilidad del proceso.
- 4) Obtener los parámetros para el control del proceso y poder pasar de escala laboratorio a gran escala.

La capacidad de ciertas bacterias para poder degradar compuestos tóxicos ha tenido gran estudio en los últimos tiempos, por esta razón, en este trabajo se hace simultáneamente la investigación microbiológica del proceso teniendo como **objetivos**.

- 1) Identificar a los microorganismos (bacterias, hongos y protozoarios) en las etapas anaerobia, anóxica y aerobia; **antes** de agregar los compuestos tóxicos. Esto ocurre cuando se adapta el inóculo obtenido a nuevas condiciones de operación (velocidad de flujo, concentración de nutrientes, etc.) y así poder caracterizar los

microorganismos involucrados en un proceso normal de tratamiento de agua residual.

- 2) Identificar a los microorganismos (bacterias, hongos y protozoarios) en las etapas anaerobia, anóxica y aerobia; **después** de agregar los compuestos tóxicos. Con el fin de dar seguimiento a los cambios en las poblaciones de microorganismos involucrados en el proceso de depuración que puedan llevarse a cabo al introducir los compuestos tóxicos y poder ser representativos de un proceso a gran escala.
- 3) Una vez introduciendo los compuestos tóxicos, poder Aislar las bacterias degradadoras de estos compuestos tóxicos.

Así, con los resultados del análisis microbiológico se puede complementar la información de la operación del reactor y, al tener de ambas piezas de información, dar solución y explicación a los problemas de los procesos de depuración biológica del agua residual.

CAPITULO 1: ANTECEDENTES

1.1 ELIMINACIÓN BIOLÓGICA DE NUTRIENTES Y COMPUESTOS FENOLICOS

En el tratamiento de aguas residuales existen términos propios para los procesos biológicos y algunas de sus definiciones se encuentran en la tabla 1.

Tabla 1. Definiciones útiles en el tratamiento biológico de aguas residuales.

Término	Definición
Proceso aerobio	Proceso en el tratamiento biológico que ocurre en presencia del oxígeno.
Proceso anaerobio	Proceso en el tratamiento biológico que ocurre en ausencia de oxígeno.
Proceso anóxico	Proceso por medio del cual el nitrógeno de los nitratos se convierte biológicamente en nitrógeno gaseoso en ausencia de oxígeno. Este proceso se conoce también como desnitrificación anóxica.
Remoción de nutrientes biológicos	El término aplicado a la remoción del nitrógeno y del fósforo en los procesos de tratamiento biológico.
Desnitrificación	Proceso biológico por medio del cual el nitrato se convierte en nitrógeno y otros productos gaseosos finales.
Nitrificación	Proceso biológico de dos etapas por medio del cual el amoníaco se convierte primero en nitrito y luego en nitrato.
Estabilización	Proceso biológico por medio del cual se estabiliza la materia orgánica, presente en los lodos producidos en la sedimentación primaria y el tratamiento biológico, generalmente por la conversión en gases y tejido celular. Dependiendo si la estabilización se lleva a cabo bajo condiciones aerobias o anaerobias, se conoce como digestión aerobia o digestión anaerobia.
Sustrato	Término utilizado para indicar la materia orgánica o los nutrientes que se transforman durante los tratamientos biológicos, o aquella que puede ser limitante en dichos procesos. Por ejemplo, la materia orgánica carbonácea de las aguas residuales se considera como el sustrato que se transforma durante el tratamiento biológico.

(George Tchobanoglous, 2000).

1.1 Eliminación biológica de nutrientes

Dado que el nitrógeno y el fósforo son esenciales para el crecimiento biológico, reciben el nombre de nutrientes o bioestimulantes. Si el crecimiento de microorganismos es grande el oxígeno disuelto presente en el agua disminuirá a concentraciones mínimas contribuyendo a su contaminación, nitrógeno y fósforo son los más importantes debido a que son descargados en gran cantidad por industrias y en el hogar. La eliminación biológica de nutrientes está definida aquí como la eliminación de (N, P y C).

Se han usado reactores de lecho fijo para remover simultáneamente contaminantes de nitrógeno y fósforo con adición de fuentes de carbono con los resultados (DQO, N-NH₄ y P) de (87.2, 75.2 y 52.8) en porcentaje removidos. (Nam., *et al*; 2000).

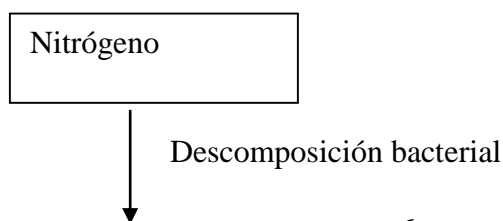
1.1.1 Nitrógeno

El nitrógeno es un constituyente de aminoácidos, ácidos nucleicos, aminoazúcares, y otros polímeros. Los iones de nitrógeno inorgánico, amonio, nitrito y nitrato se encuentran en sales que son altamente solubles en agua. Las plantas, animales y muchos microorganismos requieren formas combinadas de nitrógeno para incorporarla en la biomasa celular (Brown y Jonson 1977).

Las diferentes formas en que se encuentra el nitrógeno en el agua residual afectan de manera distinta, como por ejemplo, el amoniaco es un contaminante nitrogenado que se encuentra con mayor frecuencia, ya que además de ser un producto natural de descomposición, es un producto clave de muchas industrias y a concentraciones de 0.5 mg/l es tóxico para los peces.

1.1.2 Remoción biológica de nitrógeno

Hay dos mecanismos principales para la remoción biológica de nitrógeno, como se ilustra en la figura (1), por asimilación y por nitrificación-desnitrificación.



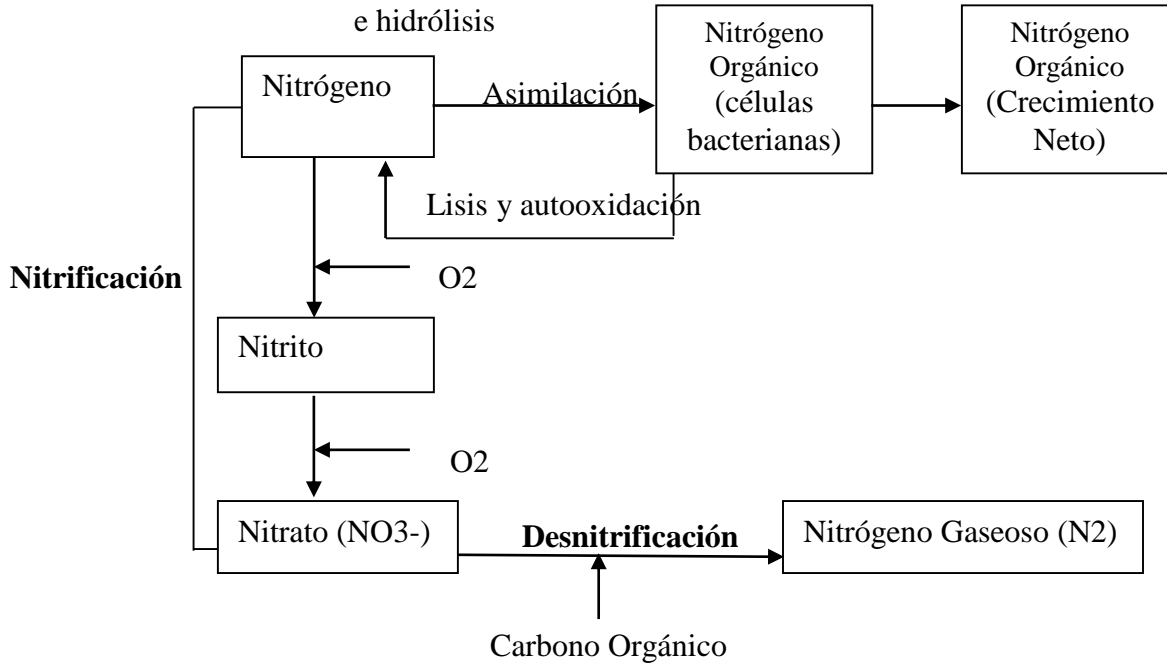


Figura 1. Transformación de varias formas de nitrógeno en los procesos de tratamiento biológico. (Adaptado de Sedlak, 1991)

1.1.3 Amonificación

Muchas plantas, animales, y microorganismos son capaces de amonificación, es un proceso en el cual el nitrógeno orgánico es convertido a amoniaco. El nitrógeno presente en aguas residuales frescas se encuentran principalmente en forma de proteína y urea, pero debido a la rápida acción de las bacterias (enzima ureasa) ambas formas cambian (se hidrolizan) a nitrógeno amoniacal.

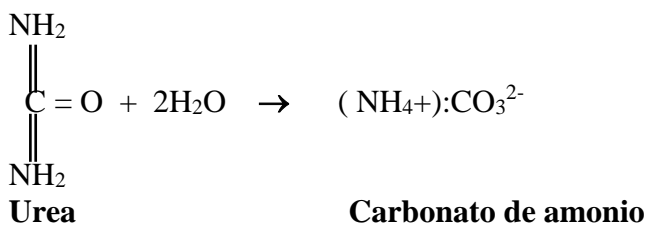


Figura 2. Reacción química de la Amonificación.

Los iones de amonio pueden ser asimilados por numerosas plantas y muchos microorganismos, donde estos son incorporados en aminoácidos.

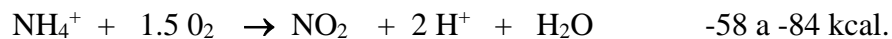
Los compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y que son producidos por un organismo pueden ser transferidos o asimilados por otros. La transformación de compuestos que contienen nitrógeno orgánico no está restringida solo por microorganismos. Los animales,

por ejemplo, producen desechos nitrogenados tales como ácido úrico por su proceso metabólico.

En la etapa anóxica de un proceso biológico, se puede hidrolizar 1000 mg/l de urea con una eficiencia del 92% a velocidades volumétricas de 0.6 kg-N-urea /m³d (**Chakrabarti and Subrahmanyam, 1981**). Usando un sistema anaerobio (**Latkar and Chakrabarti, 1994**) hidrolizaron urea a una velocidad de 1.5 kg-N-urea /m³d Utilizando condiciones anaerobias y anóxicas se puede convertir la urea a nitrógeno amoniacal a un 100% de conversión (**Garrido et al., 2001**).

1.1.4 Nitrificación

La reacción global de oxidación del amonio supone la conversión de amoniaco por bacterias autotróficas a compuestos inorgánicos oxidados del nitrógeno, como nitritos y nitratos. El proceso de nitrificación ocurre en dos distintas etapas, cada una involucra diferentes especies de bacterias nitrificantes. La primera etapa es la oxidación de iones amoniaco a nitrito (nitrosificación).



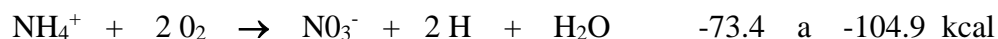
Esta reacción se considerada catalizada por el género *Nitrosomas*, y de éste hay dos especies *Nitrosomas europea* y *Nitrosomas monocella*. Hay otros géneros que pueden llevar a cabo esta primera etapa de nitrificación, incluyendo *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosocystis*, y *Nitrosogloea* (**Belser 1979**).

En la segunda etapa, el nitrito es oxidado a nitrato.



El género *Nitrobacter* es considerado el responsable de esta reacción nitrificante; *Nitrobacter winogradskyi* es la única especie bien definida y también *Nitrobacter agilis*, *Nitrocystis*, *Nitrococcus* y *Nitrospina* también se han citado como conductores de la oxidación de nitrito a nitrato (**Belser 1979, Winkler 1981**).

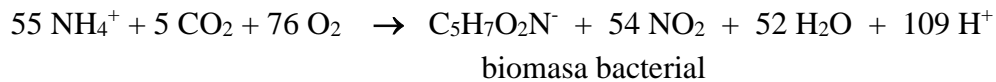
Las reacciones de nitrificación muestran que la oxidación de amoniaco a nitrato requiere grandes cantidades de oxígeno suministrado, cerca de 4.5 kg por cada kilogramo de nitrógeno amoniacal (NH₄-N) oxidado.



El oxígeno disuelto es usado como receptor de electrones por organismos nitrificantes y en términos generales la nitrificación es inhibida a bajas concentraciones de oxígeno disuelto. La velocidad de crecimiento de la bacteria nitrificante también varía en el rango de 8-30 °C; el género *Nitrosomas* tiene un incremento del 9.5% en la velocidad de crecimiento por cada incremento de 1°C. Su crecimiento óptimo a 30°C (**Loveless y Painter, 1968**).

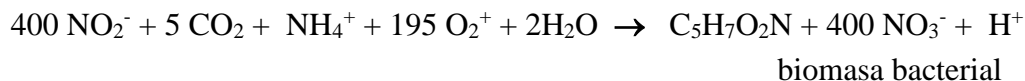
El proceso de nitrificación no remueve el nitrógeno del agua residual, este se transforma desde amoníaco a nitrato. Durante el proceso de nitrificación el amoníaco y nitrito son usados como fuente de energía y producen poca cantidad de biomasa en términos de N-NH₄ o N-NO₂ removido (**Water Research Centre 1972**).

Etapa 1:



ó

Etapa 2:



En la oxidación de 1 kg de N- NH₄ únicamente 150 g (peso seco) de biomasa bacterial está en forma de *Nitrosomas* la cual es producida en la primera etapa y 20 g (peso seco) de *Nitrobacter* en la segunda etapa. Aproximadamente el 2% de N- NH₄ original es asimilado en la biomasa y usado para formar nuevo material celular.

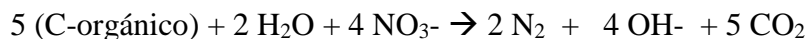
1.1.5 Desnitrificación

Este es un proceso biológico el cual ocurre a bajas concentraciones de oxígeno disuelto, donde las formas oxidadas de nitrógeno, nitrito o nitrato, son reducidos a nitrógeno molecular. Este proceso ocurre en cualquier efluente nitrificado donde se priva de oxígeno. La concentración de oxígeno disuelto es muy bajo pero no necesariamente cero (menos del 2%); en un proceso aerobio esto ocurre únicamente en la capa de lodos formada en el tanque de sedimentación. El proceso únicamente puede ocurrir bajo condiciones anóxicas

La desnitrificación es la actividad metabólica de bacterias heterótrofas y aerobias facultativas que emplean el carbono orgánico como fuente de energía y utilizan los iones nitrito y nitrato como receptores de electrones finales.

En el proceso de desnitrificación los nitratos y nitritos se reducen a compuestos de nitrógeno gaseosos, en un mecanismo respiratorio a fin de sustituir el oxígeno, en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno se necesita un sustrato oxidable que suministre energía. La mayoría de los organismos nitrificantes son heterótrofos y oxidan sustancias orgánicas, y también existen ciertas bacterias autotróficas que realizan la desnitrificación por medio de una fuente inorgánica de energía. Una amplia variedad de organismos facultativos pueden efectuar la desnitrificación, donde se encuentran *Alcaligenes*, *Acromobacter*, *Pseudomonas* y *Micrococcus*. Algunos organismos sólo pueden reducir nitratos a nitritos, algunos sólo nitritos a nitrógeno.

La oxidación de un sustrato orgánico en un proceso de desnitrificación, se puede presentar como:



La desnitrificación puede ocurrir bajo condiciones anaerobias estrictas ó bajo condiciones reductoras de oxígeno.

1.1.6 Fósforo

La mayor cantidad de fórmulas diseñadas para detergentes sintéticos de uso en el hogar, contiene grandes cantidades de polifosfatos . Varios de estos detergentes contienen de 12 a 13 por ciento de fósforo o arriba del 50 por ciento de polifosfatos. El uso de estos materiales como sustituto de jabón ha incrementado notablemente el contenido de fósforo en las aguas residuales domésticas.

1.1.7 Remoción biológica de fósforo

Las bacterias utilizan el fósforo para la síntesis celular y el transporte de energía. Como resultado, el 10 al 30% de fósforo afluente se remueve durante el tratamiento biológico secundario. Bajo ciertas condiciones de operación, los microorganismos toman más fósforo del necesario, realizándose la remoción del mismo al retirar las células que lo contienen en

exceso. El fundamento para la remoción de fósforo en los sistemas biológicos se basa en las siguientes observaciones (**Sedlak, 1991**):

1. Un número de bacterias son capaces de almacenar en sus células cantidades de fósforo en exceso en forma de polifosfatos.
2. En presencia de productos de fermentación simple producidos bajo condiciones anaerobias (p.ej., ácidos grasos volátiles), estas bacterias los asimilarán en la forma de productos de almacenamiento dentro de las células, con la liberación concomitante de fósforo.
3. Bajo condiciones aerobias, la energía producida dentro de las células se incrementa, debido a la oxidación de los productos de almacenamiento y los polifosfatos.

Uno de los modelos mas aceptados es el de (**Comeau y Wentzel, 1986**), el cual considera a las bacterias del género *Acinetobacter* como las responsables de la remoción de fósforo. *Acinetobacter* es una bacteria estricta aerobia que utiliza el acetato como fuente de carbono en la fase anaerobia y lo almacena como poli- β -hidroxibutirato (PHB), utilizando como fuente de energía la hidrólisis de polifosfatos (poliP). De esta manera son liberados ortofosfatos (Pi) al medio.

En la etapa aerobia subsecuente, ocurre la captura de los Pi en una cantidad mayor que la originalmente presente. Durante esta fase, los Pi se transforman a poliP cuando el PHB es utilizado como fuente de carbono para producir acetylCoA, que es reincorporada al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (CAT) y la cadena respiratoria. A través de esta vía se produce la energía necesaria para reactivar todo el metabolismo celular, incluyendo el crecimiento. En este momento se lleva a cabo la separación del fósforo del agua residual, a través de la extracción de los lodos de purga.

Este mecanismo indica que el nivel de remoción biológica de fósforo se relaciona directamente con la cantidad de sustrato que pueda ser fermentado en la fase anaerobia y subsecuentemente asimilada y almacenada como productos de fermentación.

Tabla 2. Resumen de la eliminación biológica de fósforo

ZONA	CARACTERÍSTICAS
Anaerobia <ul style="list-style-type: none">• Fermentación.	<ul style="list-style-type: none">• De la DBO soluble se producen ácidos grasos volátiles (AGV) por organismos facultativos.

<ul style="list-style-type: none"> • Liberación de fósforo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Los AGV son transferidos al interior de la célula acumuladora para generar PHB a través de la liberación de energía por los ortofosfatos.
<p>Aerobia</p> <ul style="list-style-type: none"> • Captura de fósforo. • Producción de nuevas células. 	<ul style="list-style-type: none"> • Los PHB son oxidados • Los ortofosfatos son capturados y retenidos en el interior de la célula como poliP y por lo tanto removidos de la solución. El fósforo es separado del sistema vía purga de lodos. • La energía es capturada en las cadenas de polifosfatos para crecimiento y almacenamiento (a niveles que exceden en lo requerido para reproducción y crecimiento)

La relación de fosfato y la toma de acetato es variable y aparentemente dependiente del contenido de polifosfatos (**Hesselmann et al., 2000**). El modelo bioquímico propuesto para explicar los resultados experimentales está en términos de remoción de fuentes de carbón, el potencial redox y los balances de energía.

1.2 Eliminación de fenol

Los fenoles son tóxicos a diversas funciones bioquímicas y a la vida acuática. El fenol es tóxico y letal a peces a bajas concentraciones 5-25 mg/l y agrega un olor y sabor característicos a estas concentraciones (**Hill and Robinson, 1975**). En los últimos años se ha estudiado la capacidad de los microorganismos para degradar contaminantes de los efluentes industriales que contengan compuestos orgánicos tóxicos, sin embargo en la práctica muy pocos sistemas son eficientes principalmente por el escaso control de los organismos involucrados en el proceso de degradación.

La capacidad de degradación de fenol en los lodos activados puede lograrse por la aclimatación del inóculo (**Buitrón, 1998**). Existen bacterias, levaduras, hongos, capaces de utilizar compuestos fenólicos que son encontrados en el suelo. Los microorganismos atacan los anillos aromáticos de acuerdo a diferentes rutas de degradación. Los compuestos

aromáticos son ricos en contenido de carbón y una vez que estos anillos se rompen por las enzimas, los productos (ácidos orgánicos) entran al ciclo energético

El fenol puede degradarse dependiendo de su concentración y tiempo de retención hidráulico (Nam., *et al.*; 2000). Resultados similares han sido reportados por (Yang and Humphrey, 1975; Rozich *et al.* 1983; Allsop *et al.* 1993) que han variado estos parámetros.

El rompimiento de estos compuestos depende del estado de oxidación y el ambiente en el cual se lleva a cabo la degradación. Si el oxígeno molecular está presente, entonces el rompimiento de anillos es por oxidación y el oxígeno molecular está involucrado como reactante (Gottschalk, 1986). Por otra parte, si no hay oxígeno molecular, entonces el rompimiento del anillo es por reacciones de reducción y requiere de una clase diferente de enzimas (Harwood *et al.*, 1999).

1.3 Eliminación de compuestos fenólicos clorados

Los compuestos fenólicos clorados constituyen una clase importante de contaminante por su gran utilización en la industria y su toxicidad y persistencia en el ambiente (Hagblom, 1990). Los clorofenoles tienen una gran aplicación como preservadores de la madera, pesticidas y biocidas. Los monoclorofenoles pueden ser formados durante la cloración del agua residual y como un resultado de rompimiento de pesticidas y compuestos aromáticos clorados (Pritchard *et al.*, 1987). Los clorofenoles pueden fácilmente migrar con diferentes ambientes acuosos donde la solubilidad en el agua es relativamente alta (Smith y Novak, 1987).

La estrategia para obtener una alta degradación de compuestos fenólicos clorados es la utilización de un proceso combinado en el cual las moléculas son primero atacadas anaeróbicamente para la reducción de estos compuestos hasta el punto donde estos pueden ser degradados aeróbicamente en el siguiente paso.

Diferentes grupos de investigadores han tratado la biodegradación de compuestos fenólicos clorados (Fathepure and Vogel, 1991; Armenante *et al.* , 1992; Kafkewitz *et al.*, 1992; Fahmi *et al.*, 1994; Rintala and Puhakka, 1994; Wilson *et al.*, 1997) y otro gran número de compuestos tóxicos (Zitomer and Speece, 1993; Kuttunen and Rintala, 1995; Field *et al.*, 1995; Berchtold *et al.*, 1996). Armenante *et al.*, 1992; Kafkewitz *et al.*, 1992; Buitrón *et al.*, 1998; Armenante *et al.*, 1999 demostraron que los pasos anaerobio-aerobio son efectivos para degradar 2, 4, 6 triclorofenol, y para la deshalogenación de compuestos.

La declaración de askareles por reducción anaeróbica es un proceso secuencial en que se reemplaza un cloro por un hidrógeno (**Mohn and Tiedje, 1992**). Se presume que bajo condiciones anaerobias ocurre una halorespiración, donde los compuestos halogenados son usados como aceptores terminales de electrones (**Abramowicz, 1990; Mohn and Tiedje, 1992**). Además, se ha demostrado que una población mixta de bacterias degrada un amplio rango de compuestos clorados (**Christiansen et al., 1995; Mohn and Tiedje, 1992**).

1.4 Potencial de óxido-reducción (ORP)

Las bacterias obtienen la energía necesaria para su proceso metabólico y reproducción mediante reacciones de óxido-reducción. Los ambientes más importantes donde ocurren las reacciones de óxido-reducción son en el agua y suelo. Las bacterias son esenciales en muchos ciclos naturales importantes, incluyendo los del nitrógeno, carbón y azufre.

Se han interesado en el uso del potencial de óxido-reducción como parámetro de control para sistemas de tratamiento de agua residual (**Poduska and Anderson, 1981; Eilbeck, 1984; Sekine et al., 1985; Charpentier et al., 1987, 1989; Heduit and Thevenot, 1989; de la Menardiere, 1991**). Las estrategias para el control del tratamiento del agua residual basados en cambios relativos en ORP con respecto al tiempo a sido estudiada (**Koch and Oldham, 1985; Koch et al ., 1988; Jenkins and Mavinic; 1989a,b; Peddie et al., 1988, 1990; Wareham et al., 1993**).

El ORP se usa para establecer e integrar sistemas de tratamiento con una estrategia de control, la cual puede ser ajustada automáticamente ante la variación de condiciones de tratamiento (**Ra et al., 2000**). Donde la correlación entre oxígeno, nitrato y ORP está establecida (**Koch and Oldham, 1985; Sekine et al., 1985**) también se han utilizado mediciones de ORP para conducir a la remoción óptima de nutrientes, disminución de los costos de energía (**Watanabe et al., 1985; Charpentier et al., 1987, 1989; Nakanishi et al., 1990; Moriyama et al., 1990; Lo et al., 1994**). En su estudio el perfil ORP-tiempo fue utilizado para controlar el proceso de nitrificación-desnitrificación. Esto fue realizado en reactores secuenciales por lotes, mostrando un control automático del reactor para la remoción de nitrógeno **Saune et al., (1996) y por Wareham et al. (1993-1994)**. Los valores de ORP en un sistema pueden ser afectados por especies químicas, concentración de sólidos, actividad biológica, pH y temperatura. (**Ra et al., 2000**).

1.5 SISTEMAS ANAEROBIO Y AEROBIO

Existen dos tipos de procesos biológicos que son frecuentemente usados para el tratamiento de agua residual.

1.5.1 Sistema anaerobio

Los avances en el entendimiento de los mecanismos microbiológicos y bioquímicos en la digestión anaerobia nos dan la oportunidad de controlar y optimizar el proceso, principalmente durante la operación de estos digestores para mantenerlos estables. En este proceso se involucra la conversión de material orgánico complejo, como polisacáridos, lípidos y proteínas, que son convertidos a metano y dióxido de carbono. De acuerdo a sus requerimientos tróficos las bacterias pueden ser divididas en tres categorías. Las primeras como bacterias hidrolíticas, comúnmente referidas como acidogénicas, porque hidrolizan el sustrato en ácidos orgánicos cortos y otras moléculas pequeñas. El segundo grupo son heteroacetogénicas las cuales producen ácido acético e hidrógeno, y el tercer grupo metanogénicas, las cuales producen metano. Los miembros del primer grupo pueden ser anaerobias estrictas o facultativas.

1.5.2 Proceso de digestión anaerobia.

El proceso de digestión anaerobia consiste en tres principales etapas.

PRIMERO. Los compuestos de alto peso molecular (proteínas y polisacáridos) son descompuestos en sustancias solubles de bajo peso molecular (aminoácidos y azúcares). Los principales microorganismos son los hidrolíticos (**Wheatley, 1990**).

SEGUNDO. Los nutrientes orgánicos son convertidos en ácidos grasos. A este proceso se le conoce como “fermentación ácida”, que baja el pH del sistema. Los principales ácidos que se forman son el acético, propiónico y butírico con pequeñas cantidades de valérico. El ácido acético se convierte en acetato e hidrogeno gracias a los microorganismos acetogénicos (**Wheatley, 1990**).

TERCERO. Esta etapa se conoce como “metanogénica”, los ácidos orgánicos son convertidos en metano, dióxido de carbono y una pequeña cantidad de hidrógeno (**Wheatley, 1990**). El equilibrio en la producción de ácidos y de metano es importante. Los organismos productores de metano son muy sensibles a bajos niveles de pH, esto pueden ocasionar el cese de la producción de metano (**Winkler, 1986**). La formación de metano se realiza por bacterias anaerobias estrictas.

1.5.3 Metanogénesis.

El metano es el producto formado en un proceso de digestión anaerobia, también es llamado “biogas” y tiene un papel importante en la producción de energía como resultado de la eliminación de residuos orgánicos. La concentración del metano varía entre 60 a 80% dependiendo de la composición del lodo, el resto consiste de dióxido de carbono con trazas de nitrógeno, hidrogeno, y ácido sulfhídrico.

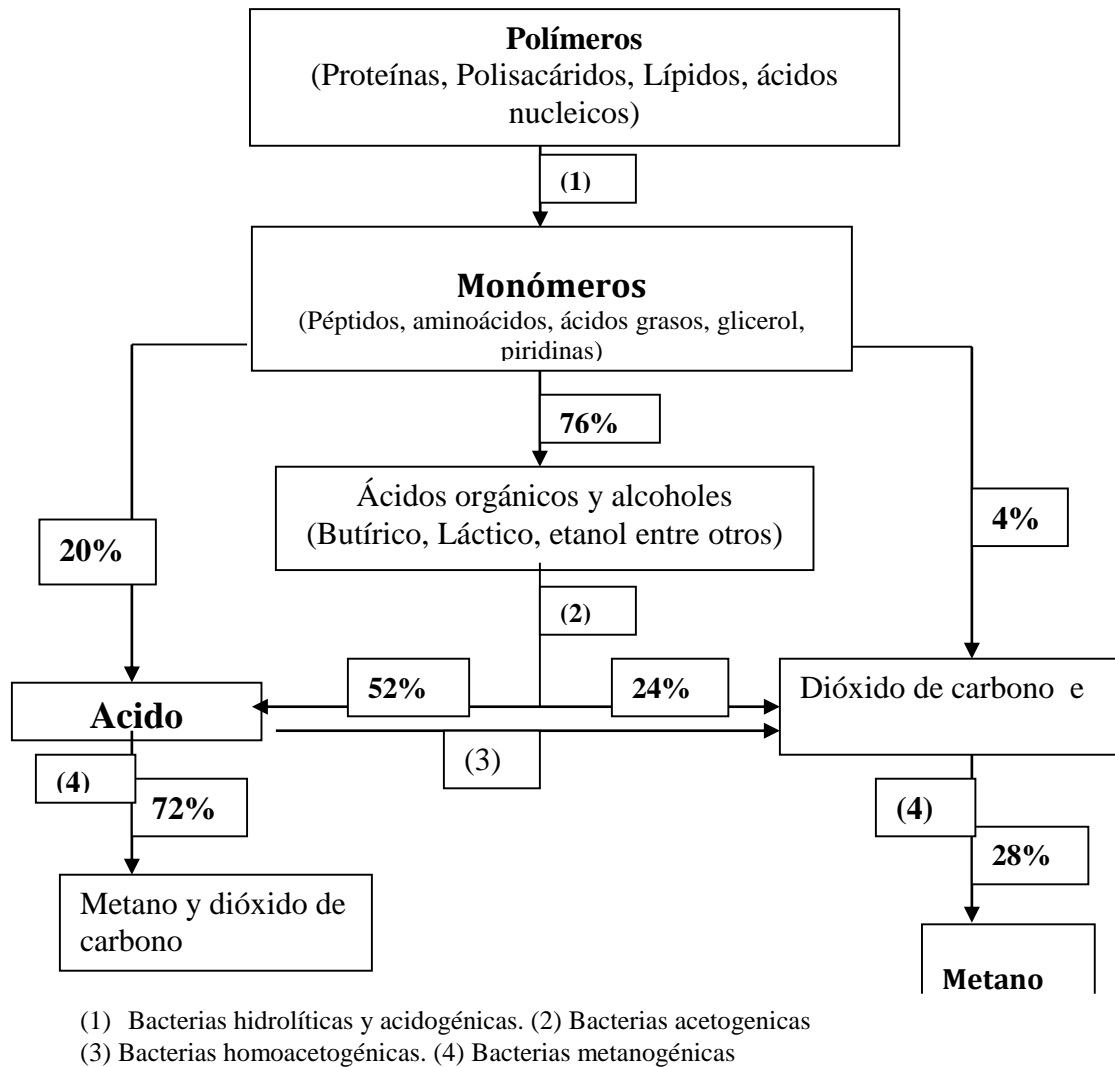


Figura 2. Diferentes rutas de la digestión anaerobia.

1.6 Factores que afectan al proceso

La temperatura, el pH, la concentración de nutrientes y sustancias tóxicas son factores para controlar el proceso de digestión anaerobia. El sistema anaerobio trabaja muy bien en un rango de **temperatura** desde 6-38 °C aproximadamente, la temperatura afecta únicamente la velocidad del metabolismo y del crecimiento celular, que tienden a incrementarse a temperaturas moderadamente altas, ya que los microorganismos presentan un crecimiento óptimo a una temperatura específica. Particularmente, el límite superior depende de la termoestabilidad de las proteínas sintetizadas para cada tipo de microorganismo (**Gunnerson, 1986**).

Numerosas o prolongadas caídas de temperatura provocan la presencia de poblaciones inestables que provocan problemas relacionados con el pH que se discutirá posteriormente (**Wheatley, 1990**). Los sistemas anaerobios trabajan en un rango de pH de 6-8 teniendo un rendimiento óptimo en 7 ó un poco mayor, casi cercano a 8. La resistencia que puede ofrecer los iones bicarbonato al cambio de pH ayuda a prevenir los efectos adversos de pH bajo y sin afectar el proceso metabólico de las bacterias (**Gunnerson, 1986**).

También existen otras estrategias para corregir alteraciones de pH, (condiciones de pH bajos en el digestor). Una es detener la alimentación para dar tiempo a la población metanogénica de reducir la concentración de ácidos, con esta operación hace que el pH aumente a niveles aceptables

En la concentración de nutrientes los sistemas anaerobios presentan requerimientos aparentemente sencillos. Estos incluyen nitrógeno, fósforo, magnesio, calcio, hierro, y fuentes de carbono. Los niveles nutricionales se deben mantener en exceso, en relación con los requeridos por los organismos metanogénicos, ya que son inhibidos por deficiencia en su alimento.

1.6.1 Hidrólisis

La hidrólisis, involucra la adición de H₂O a una molécula, acompañada por la ruptura de la molécula en dos productos. Es un paso importante en la degradación microbiológica de compuestos contaminantes, especialmente ésteres y amidas. El sistema anaerobio lleva a cabo este proceso.

1.7 Reactor anaerobio

Reactor anaerobio de lecho fijo con flujo ascendente (RAFA).

El reactor RAFA ó (UASB) en inglés (anaerobic upflow sludge blanket), se desarrolló en los países bajos (**Lettinga et al., 1980**) y se utiliza ampliamente en Europa y en América del Sur. En este tipo de reactor el agua se introduce por la parte inferior, en donde el agua se debe distribuir uniformemente. El agua contaminada fluye a través del lecho biológico ascendiendo a la parte superior, los contaminantes del agua son eliminados mientras pasan a través del lecho por contacto con los lodos biológicos, el biogas (metano y el dióxido de carbono) producido durante el proceso es capturado en el domo del reactor.

El reactor requiere de lodos de alta densidad para que no puedan ser arrastrados fuera del reactor por la generación de gases y de la velocidad ascendente del flujo. También se pueden realizar modificaciones del reactor introduciendo un arreglo en el diseño para evitar el arrastre de lodos y hacer una buena separación gas-sólido

También el grado de mezclado en el lecho es función de la producción de gas y de la velocidad de entrada de alimentación (**Eckenfelder, 1989**). La granulación es un proceso natural y una combinación de la morfología microbial, naturaleza del sustrato y acumulación de sales orgánicas. Una formación rápida de gránulos a partir de un inóculo se lleva alrededor de 50 días. Para reducir el tiempo de adaptación es muy común comenzar con un inóculo de un gránulo ya formado (**Eckenfelder, 1989**). Dentro de los reactores anaerobios, el reactor anaerobio tipo RAFA es el más utilizado en el tratamiento de aguas residuales industriales (30% de las plantas construidas).

1.8 Sistema aerobio

El sistema aerobio es el proceso biológico más utilizado para el tratamiento de aguas residuales. Este proceso, está constituido por un estanque de lodos activados equipado con un sistema de aereación. Dentro del estanque por lo general viven millones de bacterias, microorganismos y pequeños seres vivos, que parcialmente se agrupan entre sí para formar los llamados flóculos del lodo activado.

La composición exacta del lodo activado es diversa para cada planta de tratamiento, pero con cierta similitud para cada tipo de aguas residuales y hasta cierto grado, puede ser influido por los parámetros de control del proceso.

Durante este proceso metabólico se presentan simultáneamente las reacciones de síntesis y respiración. La síntesis se produce cuando toman una parte de “alimento” y la utilizan para la producción de nuevas células o protoplasma celular. Conjuntamente llevan a cabo la reacción de respiración que es la liberación de energía producida a través de la conversión u oxidación de la “comida ó alimento” en compuestos más simples de bajo peso molecular o contenido energético como, CO_2 , H_2O , NO_3 , PO_4 , SO_4 , etc, además, una vez que han agotado

la cantidad de “comida o alimento” disponible, las bacterias o microorganismos buscan alguna fuente de energía para mantenerse en respiración y se empieza a desencadenar la reacción de fase endógena que consiste en degradación bacteriana (“canibalismo bacteriano”), donde las bacterias asimilan la suspensión coloidal de proteínas y carbohidratos contenida en la célula. Durante este proceso de lisis se libera el nitrógeno de las células, que es aprovechado por los restantes microorganismos para oxidarlo a forma más simple de nitrato.

Dentro de las funciones más importantes de los lodos activados aerobios es que deben ser eficientes en la adsorción y subsecuente absorción de la materia orgánica del agua residual, pero también debe de haber una buena separación de las fases sólido (lodo) y líquido (agua tratada) en el tanque de sedimentación, para poder descargar el agua tratada a los cuerpos receptores. Este paso es muy importante ya que, cualquier cambio en la operación del reactor puede afectar al proceso de separación de fases, teniendo agua turbia, es estar fuera de los parámetros de calidad del agua.

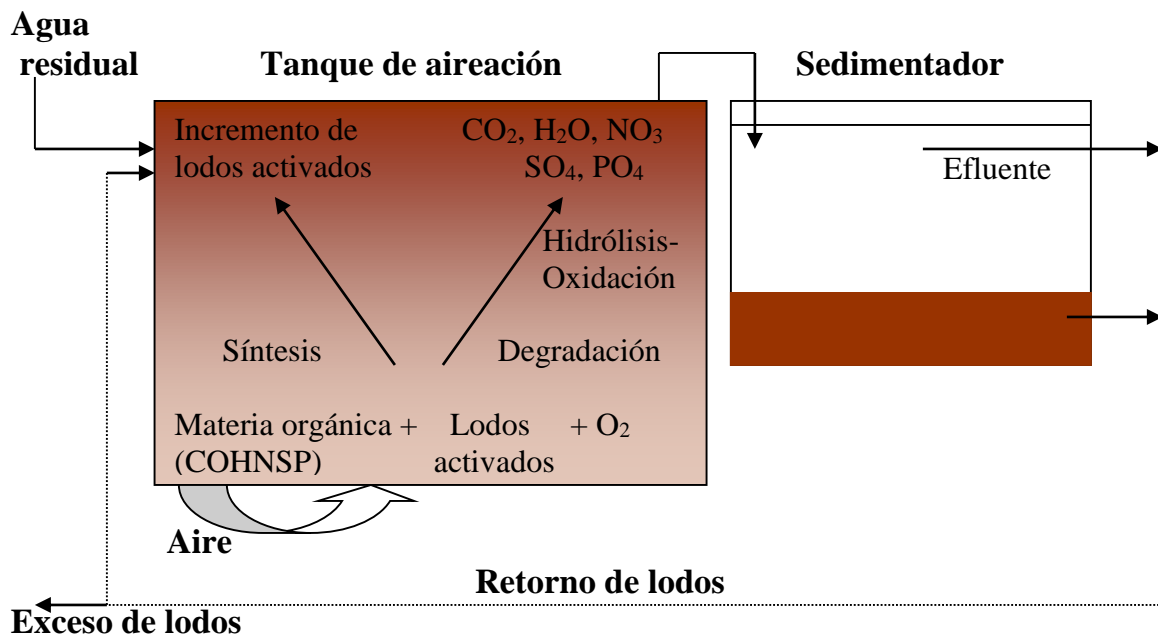


Figura 3. Representación del sistema aerobio para el tratamiento de agua residual

El proceso aerobio puede ser afectado por diversas causas: pH fuera de rango, deficiencia de nutrientes, cargas tóxicas, déficit de oxígeno disuelto (O.D), altas temperaturas, desnitrificación en el clarificador, etc.

1.8.1 Parámetros de control para el proceso aerobio:

- Índice volumétrico de lodos (IVL)

-
- Relación F/M (Food/microorganism) ó (alimento/microorganismos)
 - Tiempo medio de retención celular

Índice volumétrico de lodos (IVL)

Un parámetro establecido para medir la capacidad de sedimentación de los lodos activados es el (IVL). Este índice es obtenido al determinar el volumen que ocupa la fase de lodos de un litro de muestra después de 30 minutos de sedimentación bajo condiciones de quietud en una probeta de un litro. El volumen ocupado por la fase de lodos (VL) es dividido entre el contenido de sólidos suspendidos totales, medidos como masa seca, obteniéndose:

$$\text{IVL} = \text{VL} / \text{SST} \quad (\text{ml/l}) / (\text{gr/l}) = (\text{ml/gr})$$

Un lodo con buenas características de sedimentación tendrá un IVL comprendido en el rango de 60 – 120 ml/gr. Un IVL mayor al rango mencionado indicará un lodo con malas características de sedimentación ó aislamiento, esta situación, principalmente esta referido a esponjamiento ó abultamiento de lodos, por presencia de organismos filamentosos; mientras que un IVL menor de 60 ml/gr se referirá a un lodo muy denso, que fácilmente sedimenta y que requerirá una agitación mayor a la normal para mantenerse en suspensión.

Relación f/m.

Una medida importante para el control del proceso de depuración es la llamada relación f/m (food/mass, por sus siglas en ingles). Por f/m se entiende que es una relación entre la carga orgánica diaria que entra al sistema expresada en kilogramo de demanda biológica de oxígeno (kg DBO₅/d) y la masa de lodo activado en el tanque de aireación expresada en kilogramo de masa seca (Sólidos suspendidos en el licor mezclado, SSLM). La carga orgánica se obtiene del producto de la DBO₅ multiplicada por el flujo diario de agua a tratar:

$$\text{Carga orgánica} = \text{DBO}_5 * \text{Flujo de agua a tratar}$$

La masa de lodo activado del estanque de aireación se obtienen a partir del volumen del estanque y de la concentración de sólidos:

$$\text{Masa de lodo activado} = \text{volumen del estanque} * \text{concentración de sólidos}$$

Utilizando estos cálculos se obtiene la f/m:

$$f/m = \text{Carga orgánica} / (\text{Volumen del estanque} * \text{SSLM}) = \text{kg DBO}_5 / \text{kg SSLM-día}$$

Tiempo medio de retención celular (TMRC)

El tiempo medio de retención celular (TMRC) se refiere al tiempo transcurrido desde que una célula originada en el sistema de lodos activados es mantenida dentro de él y, hasta que es retirada por medio de la corriente de lodo excedente.

El TMRC se calcula utilizando el contenido de sólidos del estanque de aireación y el de la corriente de lodo excedente:

$$\text{TMRC} = (\text{Volumen de tanque} * \text{SSLM}) / (\text{Tasa de desechos de lodos})$$

$$\text{TMRC} = (\text{m}^3 * \text{kg SST} / \text{m}^3) / (\text{m}^3/\text{día} * \text{kg SST} / \text{m}^3) = \text{días}$$

Un TMRC bajo (menor a 5 días) caracteriza un lodo joven que se reducirá con una elevada tasa de crecimiento, que a la vez será muy inestable y no tendrá una diversidad importante de microorganismos para lograr una degradación completa de la materia orgánica. Un TMRC alto (mayor de 45 días) indica un lodo mineralizado cuyos flóculos sedimentan rápidamente y que producirán un efluente libre de turbidez.

1.9 Sistema anaerobio-anóxico-aerobio para la remoción de nutrientes

La **remoción biológica de nitrógeno** utilizando una combinación entre etapas anóxica y aerobia involucra (a) La oxidación bacteriana (nitrificación) de amoníaco a nitrito y después a nitrato; y (b) La reducción microbiológica (desnitrificación) de los nitritos y nitratos a compuestos de nitrógeno gaseoso (**Cole, 1994**). La desnitrificación no es inhibida por concentraciones relativamente altas de amoníaco (**Sánchez et al., 1998**) Encontrando que no fue inhibitorio para la desnitrificación de un influente sintético en dos filtros anóxicos a concentraciones de 300-400mg/l de NH₃. El pH durante la actividad desnitrificadora es relativamente alto 6-9.8 (**Sheng-Kun et al., 1991**). Cuando hay suficiente fuente de carbón en el influente, ambas, la desnitrificación y la producción de metano pueden llevarse a cabo en el mismo sistema. (**Hanaki and Polprasert, 1989; Akunna et al., 1992**).

La desnitrificación fue llevada a cabo en la presencia de altas concentraciones de un tóxico, como formaldehído, sobre 700 mg/l, a un alto pH, entre 8.5 y 9.3 y concentraciones de

amoniaco libre de 100 N-NH₃mg/l . La metinificación no fue inhibida por concentraciones de amoniaco altas que se producen por el proceso de nitrificación. (Garrido *et al.*,2001).

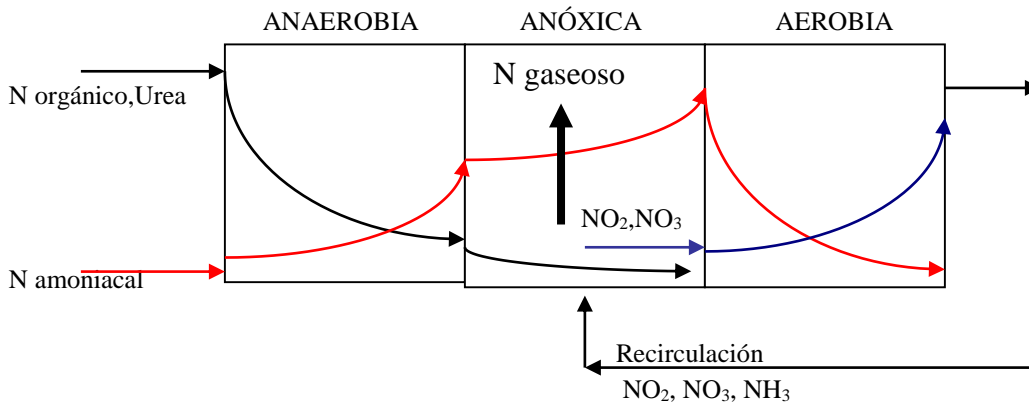


Figura 4. Remoción de nitrógeno en el sistema anaerobio-anóxico-aerobio.

La **capacidad de remover fósforo** del agua residual utilizando un sistema de lodos activados fue propuesta por (Barnard, 1975), quien postuló que para lograrla es necesario que los organismos responsables de dicho proceso se sometieran a una secuencia anaerobia-aerobia.

En la práctica, la remoción biológica de fósforo se logra al secuenciar y producir condiciones ambientales apropiadas dentro de los reactores. Bajo condiciones anaerobias, un número de organismos responde a ácidos grasos volátiles (AGV) que están presentes en las aguas residuales afluentes, liberando al fósforo almacenado. Cuando la zona anaerobia es seguida de una zona aerobia, los microorganismos muestran una toma de fósforo por encima de los niveles normales, el cual no se utiliza para el mantenimiento de la célula, la síntesis y el transporte de energía, sino que es almacenamiento para su uso posterior. El exceso de lodo es purgado ó removido y tratado en una corriente paralela para liberar dicho exceso. La liberación del fósforo ocurre bajo condiciones anóxicas. Por tanto, la remoción biológica de fósforo requiere tanto reactores con condiciones aerobias como condiciones anaerobias o zonas dentro del reactor.

La remoción biológica del fósforo se puede lograr en conjunto con plantas de tratamiento que nitrifiquen o desnitrifiquen, con y sin sedimentación primaria. En aquellas plantas que no fueron diseñadas especialmente para retirar fósforo, la remoción de éste puede obtenerse por medio de la utilización de un fermentador externo (Daigger y Bown, 1996).

1.10 MICROBIOLOGIA DE LOS SISTEMAS ANAEROBIO Y AEROBIO

Se les denomina lodos activados a la suspensión de microorganismos tanto vivos como muertos en una agua residual, la cual consiste de coloides suspendidos y materia orgánica e inorgánica disuelta. En este proceso toman parte reacciones metabólicas de microorganismos para lograr una calidad aceptable del agua residual. El grupo de seres biológicos como lo son las levaduras, hongos, bacterias, algas y protozoarios que se asemejan por su pequeñez y por su estructura, son denominados genéricamente microorganismos. Llevan a cabo una complicada fisiología, ya que son capaces de efectuar las mismas funciones fundamentales que los organismos superiores, como la utilización de los alimentos y energía, la formación de nuevo protoplasma y reproducción.

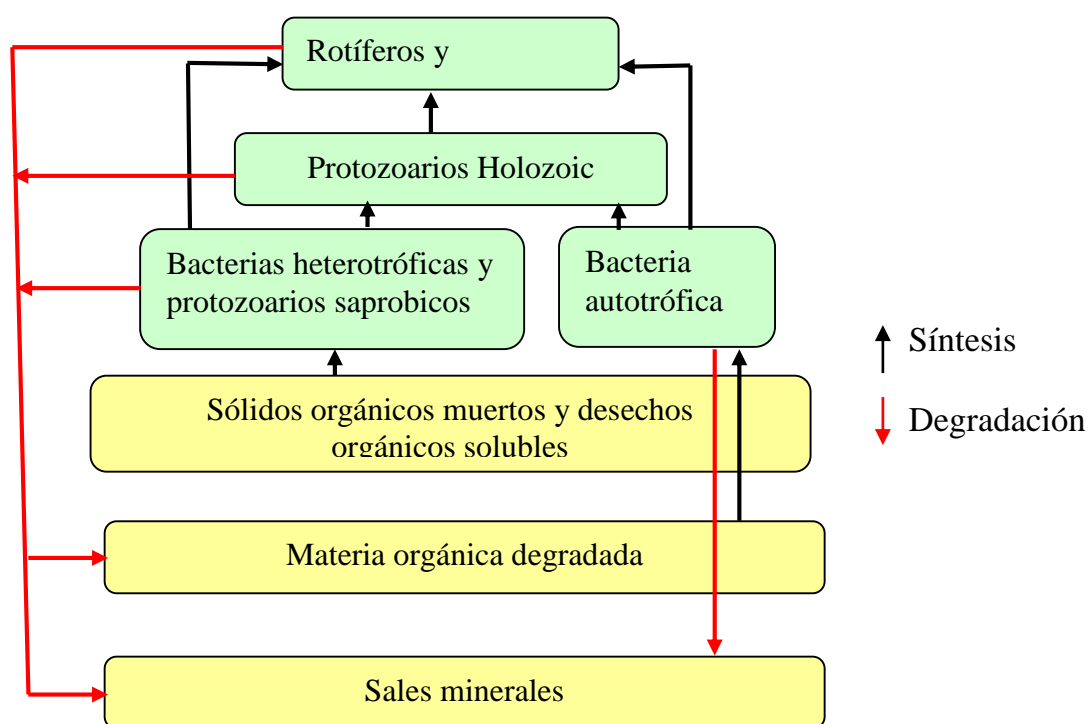


Figura 5. Representación de la relación o cadena alimenticia en el proceso de lodos activados. (Adaptado Hawkes 1983).

Tabla 3. Descripción de microorganismos en aguas naturales y residuales.

Organismo	Descripción.
Bacterias	Las bacterias son organismos procarióticos unicelulares. El interior de la célula contiene una suspensión coloidal de proteínas, carbohidratos, y otros compuestos orgánicos complejos, llamada citoplasma. La región citoplasmática contiene ácido ribonucleico (ARN), cuyo papel principal es la síntesis de proteínas. Dentro del citoplasma también se encuentra la región del

	núcleo que es rica en ácido desoxirribonucleico (ADN). El ADN contiene la información genética necesaria para la reproducción de todos los componentes celulares y puede considerarse como una heliografía de la célula. Su reproducción se realiza por fisión binaria, aunque algunas especies se reproducen sexualmente o por gemación.
Hongos	Los hongos son eucarióticos multicelulares y heterotróficos. Son aerobios estrictos y se reproducen en forma sexual o asexual, por fisión binaria, por gemación, o por formación de esporas. Los mohos o “hongos verdaderos” producen unidades microscópicas que al agruparse forman una masa filamentosas llamada micelio. Las levaduras son hongos que no pueden formar un micelio, de ahí que sean unicelulares. Los hongos tienen la capacidad de crecer en condiciones de baja humedad y con deficiencias de nitrógeno; además, soportan ambientes con pH bajos. La capacidad de sobrevivir bajo limitaciones de nitrógeno y pH bajo, junto con la capacidad de algunos de ellos de degradar celulosa, hacen de los hongos un grupo muy importante a la hora de compostar los lodos.
Protozoos	Los protozoos son móviles, de tamaño microscópico, con estructura eucariótica y generalmente unicelulares. La mayoría de los protozoos son aerobios heterótrofos, algunos anaerobios aerotolerantes y un grupo reducido de anaerobios. Por lo general, los protozoos son de tamaño mayor a las de las bacterias y con frecuencia las usan como fuente de energía. Es por eso que los protozoos son usados en el pulimento de los efluentes de procesos de tratamiento biológico, al alimentarse de bacterias y materia orgánica particulada.
Rotíferos	Los rotíferos son animales eucarióticos aerobios, heterotróficos y multicelulares. Su nombre se deriva del hecho que tienen dos juegos de cilios sobre la cabeza que usan para moverse y capturar comida. Los rotíferos son muy efectivos en el consumo de bacterias floculadas y dispersas, y algunas partículas de materia orgánica. Su presencia en un efluente indica un proceso de purificación biológica bajo condiciones aerobias muy eficientes.
Algas	Las algas son eucarióticos unicelulares o multicelulares, autotróficos y fotosintéticos. Son importantes en los procesos de tratamiento biológico, especialmente en los procesos de aguas residuales con lagunas de estabilización, en donde su capacidad de producir oxígeno por fotosíntesis es vital para el ambiente ecológico del agua.

Las bacterias obtienen sus alimentos por difusión mediante su pared celular que es rígida, como lo hacen los vegetales, pero no poseen núcleo bien definido, por lo que se les designa como células procarióticas.

1.10.1 Bacterias

El papel específico de las bacterias en el proceso de tratamiento de agua residual están listadas en la siguiente tabla:

Tabla 4. Funciones de las bacterias en el tratamiento de aguas residuales

Objetivos específicos de las bacterias en el tratamiento de aguas residuales
Nitrificación
Desnitrificación
Acumulación de fosfato
Degradación xenobiotica
Detoxificación (Materiales pesados, Tóxicos)
Formación de floculos
Crecimiento atribuido (formación de nuevas células).

Estas funciones están generalmente asociadas con grupos específicos de bacterias las cuales pueden no ser dominantes en el proceso.

En el tratamiento de agua residual se puede observar la competencia por el sustrato por varios miembros de la comunidad microbiana, en la que se puede observar una variedad de bacterias sobre cada nivel trófico. Además, los compuestos orgánicos contenidos en el influente son oxidados y/o hidrolizados en sus metabolitos, causando competencia secundaria entre los miembros capaces de utilizar los metabolitos. Nitrógeno, fósforo y oxígeno en el proceso aerobio son otros compuestos por los que puede existir competencia

Por esta razón el dominio de algún grupo de bacterias va a depender del tipo de sustrato. Por ejemplo, en la industria de la elaboración de la cerveza los desechos ó desperdicios producidos durante su elaboración son arrastrados al agua de desecho y hacen que crezcan una determinada población microbiana, donde las bacterias que predominan son Gram-negativas en especial enterobacterias.

1.10.2 Enterobacterias

La familia de enterobacterias comprende un gran número de especies de bacterias de diferentes sistemas ecológicos. Los siguientes géneros son incluidos dentro de la familia: *Escherichia*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Erwina*, *Kluyvera*, *Serratia*, *Cedecea*, *Morganella*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, *Providencia*, *Proteus*, *Yersina*, *Obesumbacterium*, *Xenorhabdus*, *Ranbella* y *Tatumella* (Brenner, 1984).

Las enterobacterias son, bacilos largos 0.3-1.0 μm x 1.0-6.0 μm Gram negativos. No forman endosporas, son anaerobias facultativas, resistentes a sales biliares y son capaces de crecer en un medio de sales minerales teniendo glucosa como única fuente de energía. Sin embargo algunas requieren aminoácidos y/o vitaminas. Todas las especies importantes en la elaboración de cerveza son catalasa positiva y oxidasa negativa. El nitrato es reducido a nitrito excepto por *Erwina* y *Yersina*.

Las Enterobactereas fermentan D-glucosa produciendo CO_2 y H_2 , ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, etanol. La concentración de estos metabolitos depende de la cantidad de especies presentes.

Ocurren dos tipos principales de fermentaciones. La fermentación ácida típica por *Escherichia coli*, en la cual se forman etanol y ácidos, con poca o nada de producción de acetoin y 2,3 butadienol. En contraste, *Klebsiella spp* produce grandes cantidades de acetoin y 2,3 butadienol, pero con pequeñas cantidades de ácido.

1.10.3 Bacterias dominantes

La adaptación de bacterias bajo ciertas condiciones de operación puede dar especies que dominen el proceso de tratamiento. Hay diferentes dificultades metodológicas en la caracterización cuantitativa de la flora bacteriana en el proceso de tratamiento de aguas residuales. Las especies predominantes son de difícil identificación, pero el género bacterial no, frecuentemente separadas o aisladas desde los procesos aeróbico y anaeróbico están listadas en la tabla (5) En los procesos aerobios, la flora bacteriana de lodos activados se ha estudiado más. Las bacterias dominantes en este proceso comprende los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y otros géneros Gram-negativos tales como *Acitenobacter*, *Zoogloea*, etc. Entre las bacterias Gram-positivas algunas veces son aisladas como dominantes *Bacillus*, *Arthrobacter* y *Micrococcus*.

Tabla 5. Principales géneros bacterianos encontrados en el proceso aerobio.

<i>Achromobacter</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Spirillum</i>	<i>Mycobacterium</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Zoogloea</i>	<i>Nocardia</i>
<i>Azotobacter</i>	<i>Lophomonas</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Sarcina</i>
<i>Bacterium</i>	<i>Nitrosomas</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Chromobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Coryneform group</i>	
<i>Comamonas</i>	<i>Sphaerotilus</i>	<i>Micrococcus</i>	

La degradación microbiológica de fenol y compuestos fenólicos clorados se conoce, pero en la práctica se tiene baja eficiencia por el pobre control de los organismos involucrados. Sin embargo puede realizarse por aclimatación de los lodos activados (**Buitrón y Capdeville, 1995**). Una variedad de fenómenos se han propuesto para la fase de aclimatación. (**Wiggings et al. 1987**) que sugiere que hay una selección y multiplicación de microorganismos especializados durante esta fase. La identificación de bacterias degradadoras de fenol y compuestos fenólicos clorados ha sido estudiada (**Buitrón et al., 1998**).

Tabla 6. Principales géneros encontrados en el proceso anaerobio.

<i>Clostridium</i>	<i>Methanobacterium</i>	<i>Methanospirillum</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Desulfovibrio</i>	<i>Methanobrevibacterium</i>	<i>Methanothrix</i>	<i>Syntrophobacter</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Methanosarcina</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>Syntrophomonas</i>

1.11 Identificación de bacterias

Los diferentes grupos de bacterias han sido identificadas con ciertos criterios o características, como lo son caracteres morfológicos y fisiológicos, entre otros. Los criterios principales de esta clasificación son los siguientes:

1. Requisitos físicos para el crecimiento
2. Diferencias morfológicas principales
3. Características de color al teñirse con colorantes comunes
4. Capacidad para producir esporas
5. Actividades bioquímicas y metabólicas
6. Estructura antigénica y otras formas de reacciones

1.11.1 Poblaciones microbianas

También llamados consorcios microbianos, es una asociación interactiva entre microorganismos que generalmente da como resultado actividades metabólicas combinadas. Las interacciones se pueden dar de diversos tipos, tanto positivas como negativas. **Las interacciones positivas** son aquellas donde una o ambas partes recibe beneficios de la interacción y entre ellas se encuentran:

Comensalismo: Es una relación donde una población recibe beneficios y la otra no se ve afectada.

Sinergismo: Es una relación donde las dos o más poblaciones microbianas se ven beneficiadas, no es una asociación obligatoria.

Mutualismo (Simbiosis). Es una relación obligatoria donde las dos poblaciones se ven beneficiadas; se puede ver como una extensión del sinergismo.

Las interacciones negativas son aquellas en las que una o ambas partes se ven afectadas negativamente y entre ellas se encuentran:

Neutralismo: No existe interacción entre las dos poblaciones.

Competencia: Es una relación negativa donde las dos poblaciones se ven afectadas con respecto a su crecimiento y supervivencia.

Amensalismo (Antagonismo): Es cuando los microorganismos producen sustancias tóxicas que inhiben a otras poblaciones.

Parasitismo: Dentro de esta relación la población que recibe el beneficio es el parásito, normalmente toma los nutrientes de la población que parasita.

Depredación. En el mundo microbiano la depredación y el parasitismo vienen siendo lo mismo, la depredación típica ocurre cuando el organismo predador engulle o digiere a otro organismo, la presa. La combinación entre poblaciones de microorganismos presentan una gran capacidad para la degradación de compuestos xenobióticos; ya que se ve incrementada la actividad catabólica en comparación de una sola especie. En diferentes estudios de biodegradación se han utilizado consorcios microbianos para tener una completa mineralización del compuesto xenobiótico.

1.11.2 Protozoarios

Los protozoarios son componentes comunes de los lodos activados, son células simples, microscópicas y la mayoría de los protozoarios son heterótrofos aeróbicos, sin embargo existen algunos que son anaerobios. Se desarrollan a partir de la materia orgánica y se alimentan de bacterias por lo tanto contribuyen a la clarificación del agua, también pueden actuar sobre la superficie del flóculo, alimentándose de las bacterias arrancadas, provocando efectos positivos sobre la biomasa bacteriana, que se renueva con más facilidad y se mantiene

más activa. Son fácilmente identificables al microscopio y son muy sensibles a los cambios ambientales. Los diferentes tipos de protozoarios son:

Flagelados. Corresponden a los primeros estados de sucesión de los lodos activados. Si su presencia es muy importante, cuando el flóculo es maduro, indican problemas (carga excesiva, choque de tóxicos).

Rizopodos (amebas). La presencia de algunos tipos (*Euglypha*) indica buena eliminación de materia orgánica.

Ciliados. Son los más abundantes e importantes, (10^{*6} ciliados/litro es habitual, 10^{*7} ciliados/litro se considera óptimo).

De estos son de diferentes tipos:

Holótricos (paramecio). Los pequeños (>130 micras) indican alta carga y los grandes indican buena depuración.

Espirótricos. *Eupocles* indica buena eliminación de carbono.
Aspidisca lynceus indican buena depuración.

Perítricos. *Vorticella convalaria* indica buena depuración.

Los protozoarios juegan un papel importante en el proceso de purificación como depredadoras de bacterias. Esto tiene dos efectos principales, primero regula el número bacteriano y evitan descargar efluentes turbios. Los protistas como otros organismos se han utilizado como indicadores de tal contaminación. La comunidad de protistas es tan compleja, y varía de acuerdo al sustrato.

El papel de los protozoarios en filtros percoladores es similar al de los lodos activados, que se alimentan de bacterias que viven libres y clarifican los efluentes con la estimulación del crecimiento bacteriano pero reduciendo la densidad de la población. En general los ciliados son dominantes sobre los flagelados (**Frye and Becker 1929; Brink 1967**). Los flagelados son dominantes en filtros percoladores (**Gray 1980**).

Hay una gran diversidad y abundancia de ciliados a diferentes profundidades del filtro sobre todo donde hay variación de la materia orgánica a través del filtro. Las especies que tienden a predominar a ciertas profundidades son, *Vorticella microstoma*, *Glaucoma scintillans*, y *Colpidium colpoda* que se encuentran en la superficie del filtro (polisaprobica), *Paramecium caudatum*, *Chilodonella uncinata*, *Uronema nigricans*, *Opercularia coarctata*, y *Podophyra*

fixa son típicas en regiones medias del filtro. (-mesosaprobica). *Aspidisca costata* es generalmente encontrada en regiones bajas del filtro con bajos niveles de materia orgánica (-mesosaprobica). **Gray** encontró que a bajas cargas hay una distribución de ciliados en las profundidades del filtro, y ciertas especies están limitadas a regiones específicas y no incrementan en diversidad de especies y abundancia con la profundidad. En altas cargas orgánicas, la máxima diversidad de especies y la abundancia de protozoarios se encuentran en la mitad de abajo del filtro.

Las clases de ciliados está dividida en cuatro clases:

1. **Suctoría** son depredadores y no poseen cilios o órganos locomotores, ellos toman otros protozoarios por tentáculos. Se han visto dos tipos de tentáculos. Los generos típicos incluyen *Tokophyra*, *Acinata*, *Podophyra*, y *Sphaerophyra*.
2. **Peritrichia** son especies que no tienen cilios en el cuerpo, pero tiene cilios orales. Su cuerpo de barril ó de campana invertida en el cual puede ser contráctil. Genero típico es *Vorticell*, *Carchesium*, *Opercularia*, y *Epistylis*.
3. **Holotrichia** son protozoarios que nadan libres, tienen un cuerpo uniformemente ciliado. Incluyen el género *Chilodonella*, *Colpoda*, *Colpidium*, *Paramecium*, y *Uronema*.
4. **Spirotrichia**, en contraste, no tiene cilios uniformemente distribuidos sobre su cuerpo, genero, *Stentor*, *Aspidisca*, *Euplotes*, *Stylonchia*, y *Oxytrichia*.
5. Los ciliados *Metopus es*, *Trimyema compressa* y *Saprodinium putrinum* y los flagelados *Trepomonas agilis* aparecen como anaerobios obligados, y otras formas que se encuentran en tales tanques son las amoebae *Euglypha alveolata*, *Vahlkampfia guttula* y las flageladas *Cercobodo caudata*, *Pleuromonas jaculans* y *Hexamita inflata*.

Tabla 7. Protozoarios encontrados más frecuentemente en filtros percoladores (Curd and Cockburn 1970)

Clase	Especie
<i>Phytomastigophorea</i>	<i>Paranema trichophorum</i>
<i>Zoomastigophorea</i>	<i>Bodo caudatus</i>
	<i>Trepomonas agilis</i>
<i>Rhizopodea</i>	<i>Small amoebae</i>
	<i>Arcella vulgaris</i>
<i>Ciliados</i>	<i>Aspidisca costata</i>

	<i>Carchesium polypinum</i> <i>Chilodonella uncinata</i> <i>Cinetochilum margaritaceum</i> <i>Opercularia coarctata</i> <i>Opercularia microdiscum</i> <i>Trachelophyllum pusillum</i> <i>Vorticella convallaria</i> <i>Vorticella striata var. Octava</i>
--	---

Los protozoarios ciliados más frecuentemente encontrados en una planta de tratamiento de agua residual se presentan en la tabla (8). En cada caso las especies están listadas en orden a su frecuencia en plantas y el tipo de tratamiento. Curds y Cockburn (1970).

Tabla 8. Los protozoarios ciliados más frecuentemente

Filtros percoladores	% con alto número	Plantas de lodos activados	% con alto número
<i>Chilodonella uncinata</i>	4	<i>Vorticella microstoma</i> *	10
<i>Vorticella convallaria</i> *	10	<i>Aspidisca costata</i> ^	35
<i>Opercularia microdiscum</i> *	44	<i>Trachelophyllum pusillum</i>	15
<i>Carchesium polypinum</i> *	15	<i>Vorticella convallaria</i> *	19
<i>Opercularia coarctata</i> *	2	<i>Opercularia coarctata</i> *	12
<i>Aspidisca costata</i> ^	-	<i>Vorticella alba</i> *	11
<i>Cinetochilum margararitaceum</i>	-	<i>Euplotes moebiusi</i> ^	5
<i>Vorticella striata</i> *	2	<i>Vorticella striata</i> *	2
<i>Trachelophyllum pusillum</i>	-	<i>Vorticella fromenteli</i> *	4
<i>Opercularia phryganeae</i> *	4	<i>Carchesium polypinum</i> *	8

* Ciliada peritrich

^ Ciliada Hipotrich

De 56 plantas de lodos activados examinados en este estudio, tres contienen no ciliados, además de los ciliados dominantes *Arcella* y *Paranema*. En filtros percoladores se observaron flagelados (como *Oikomonas*, *Bodo*, *Peranema*), y diferentes ciliados que nadan libres, *Paramecium* aparece y dominante después de dos semanas. Después de cuatro semanas éstos ciliados son remplazados por otros como, *Aspidisca* y *Vorticella spp.* Finalmente en un sistema maduro estos dos últimos compiten por la dominancia.

En plantas de lodos activados en Tokio se producen efluentes claros (DQO cerca de 10 mg/l) y contienen 104 protozoarios por ml, y efluentes pobres (DQO cerca de 40 mg/l) tienen cerca de 102 protozoarios por ml. (Sudo y Aiba, 1984). En presencia de grandes cantidades de ciliados la oxidación biológica aumenta y la cantidad de sólidos residuales son reducidos lo que también puede reducir los niveles de bacterias patógenas en el efluente.



CAPITULO 2: METODOLOGÍA

METODOS EXPERIMENTALES

2.1 DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA

El proceso para la depuración del agua residual es un sistema biológico combinado anaerobio-anóxico-aerobio, el arreglo del bioreactor tiene las dimensiones de acuerdo al siguiente esquema:

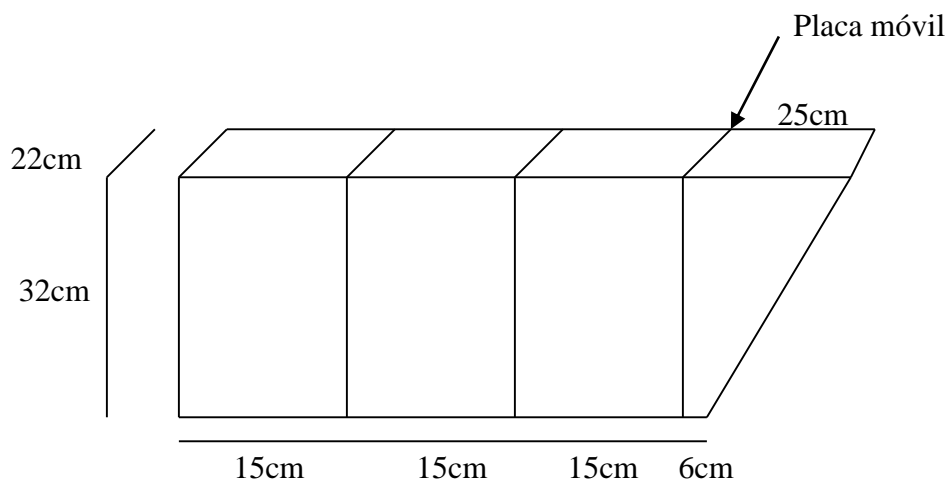


Figura 6. Dimensiones del sistema anaerobio-anóxico-aerobio

El tanque de la alimentación es de 10 litros en volumen, el cual consta de una tapa para cerrarlo herméticamente y evitar alteraciones en su composición. El reactor es de acrílico de 6mm de espesor, el volumen de los reactores anaerobio y anóxico es de 9.9 L. El volumen del reactor aerobio es de 13.5 L, el tanque de sedimentación es de 10 L, con un volumen total de 43.3 L.

2.2 Construcción de los bioreactores anaerobio-anóxico-aerobio

Los reactores anaerobios y anóxicos son de tipo RAFA (Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente). Estos están contruidos de la siguiente manera:

Constan de una base de acrílico con perforaciones circulares y está localizada a 5 cm de altura, esta tiene como objetivo el desplazar uniformemente la alimentación a través de todo el reactor y tener un mejor contacto con todo el lecho biológico.

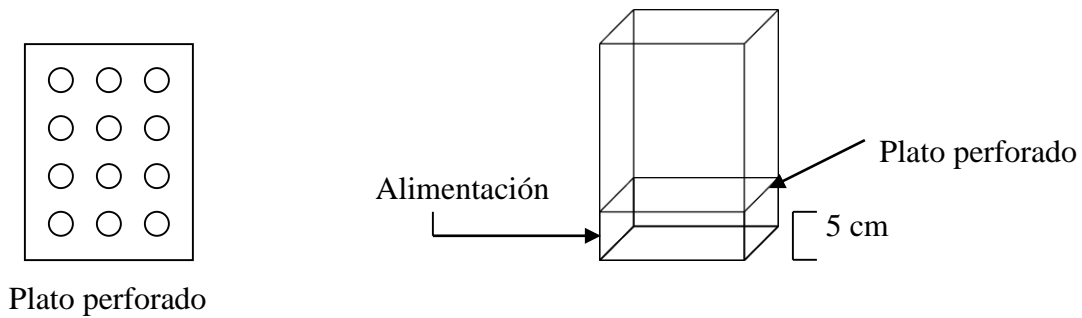


Figura 7. Descripción del bioreactor anaerobio.

Este plato perforado también tiene como objetivo el de sostener la caja que contiene los lodos activados en la parte superior del plato. Y con el fin de manipular la entrada de los lodos biológicos al reactor, se cuenta con una caja de acrílico que entra y sale adecuadamente en el reactor. Esta caja cuenta con dos mamparas con el fin de que los lodos no salgan arrastrados fuera del reactor por efecto de la producción del gas metano. También estas cajas tienen en el fondo malla de diámetro de poro pequeño (0.5 mm) para no dejar pasar los lodos a la parte inferior del reactor y evitar tapan la entrada de la alimentación. El reactor anaerobio tiene en la parte superior una tapa con una perforación con el fin de capturar el biogas.

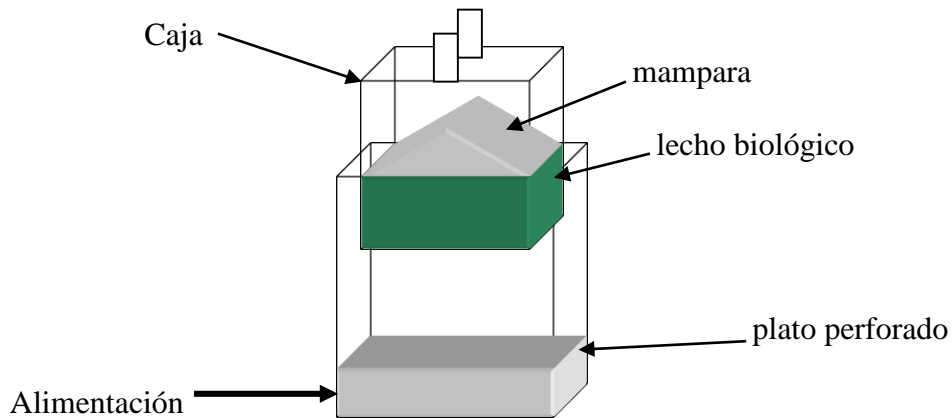


Figura 8. Partes que conforman al reactor anaerobio tipo RAFA.

El reactor anóxico es igual que el anaerobio, las únicas diferencias es que cuenta con dos perforaciones laterales en la parte inferior del reactor, la primera para la entrada de la alimentación que proviene de la etapa anaerobia y la otra para la recirculación que proviene de la etapa aerobia. Posteriormente conforme va ascendiendo el flujo en el reactor anóxico el agua tratada sale por un orificio de la parte superior de la pared y poder entrar a la etapa aerobia, y con un pequeño ángulo de inclinación hace que los reactores anóxico-aerobio no se mezclen por el orificio.

2.3 Proceso de depuración llevado a cabo en los bioreactores a escala laboratorio.

2.3.1 Bioreactores anaerobio y anóxico

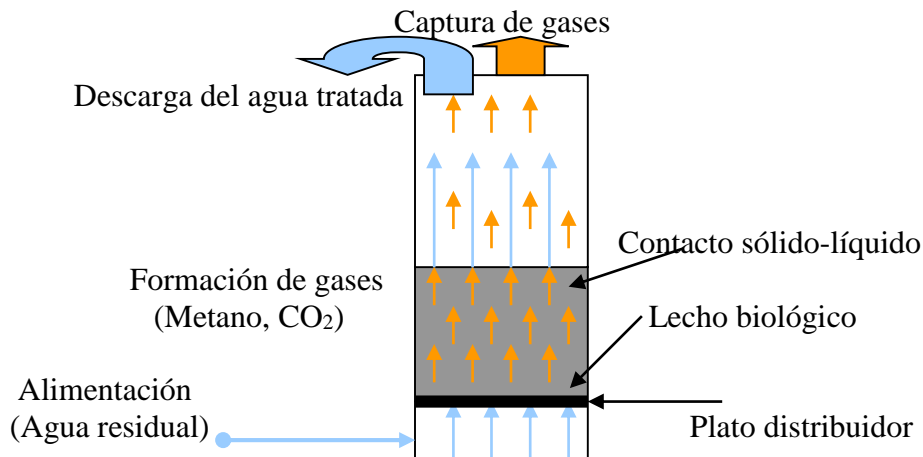


Figura 9. Funcionamiento del reactor anaerobio tipo RAFA

Para transportar la alimentación al reactor anaerobio y después pasar al anóxico se utilizó una bomba peristáltica marca Masterflex (Cole Parmer) 7518-14. Con adaptación de dos cabezales para hacer que la velocidad de flujo sea el mismo para ambos reactores. Para recircular del reactor aerobio al anóxico se utilizó otra bomba peristáltica, ambas bombas con capacidad 6-600 rpm.

2.3.2 Bioreactor aerobio

El reactor aerobio es de tanque agitado, en el cual se mantienen en suspensión los lodos activados utilizando un difusor para pecera, este difusor produce burbujas pequeñas consiguiendo una mayor área superficial entre el oxígeno y el agua residual. La introducción de aire se realiza utilizando un compresor marca Masterflex.

Posteriormente el licor mezclado pasa al sedimentador en donde se separan las fases líquido-sólido, el agua tratada sale por la parte superior y una parte va a la descarga del sistema y otra parte va a recirculación a la etapa anóxica. En el sedimentador se cuenta con una purga en la parte inferior para poder sacar el lodo en exceso.

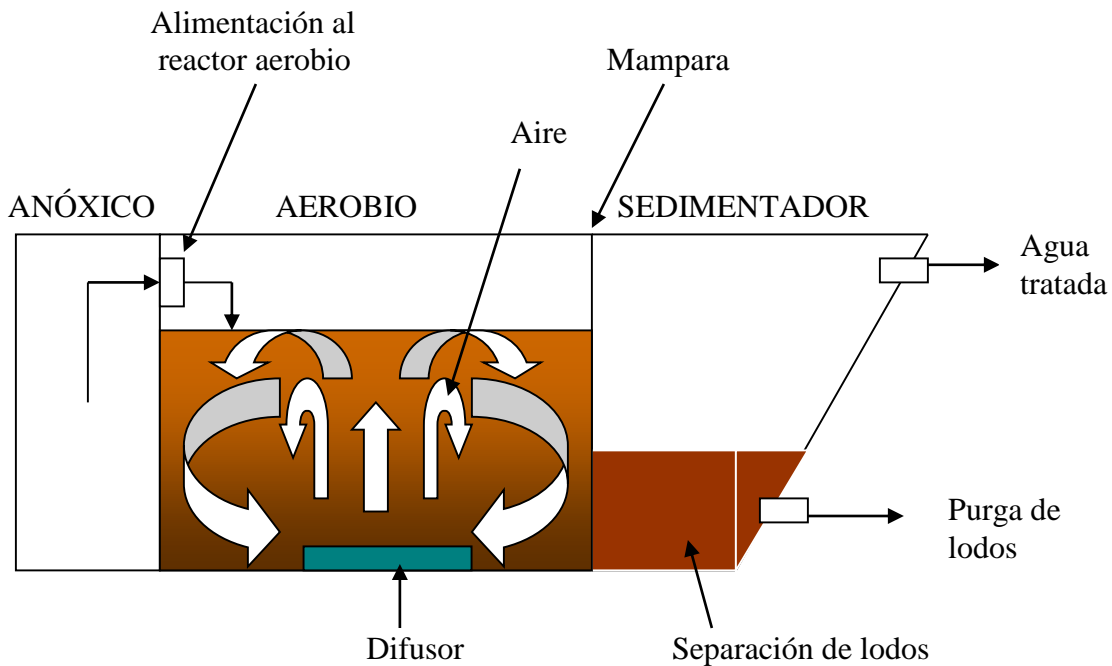


Figura 10. Descripción del reactor aerobio.

2.4 Agua residual preparada sintéticamente

El agua residual se preparó sintéticamente con las características promedio y con la siguiente composición. Esta composición contiene los contaminantes de nitrógeno, fósforo, carbono, además de minerales. Una vez que el sistema alcanzó la estabilización se añadió los compuestos tóxicos. Primero el fenol a una concentración de 5 ppm y aumentando hasta 27 ppm. Posteriormente introducir el 2,4,6-Triclorofenol a una concentración de 5 ppm.

Tabla 9. Composición del agua residual preparada sintéticamente.

Compuesto	Concentración (gr/l)
Azúcar	1.7
Extracto de Levadura (Bioxon)	0.392
Urea	0.124
Fosfato monoácido de Potasio	0.00652
Fosfato diácido de Potasio	0.00580
Sulfato de Magnesio	0.00450
Cloruro de Calcio	0.00550
Cloruro Férrico	0.00005
Bicarbonato de Sodio	0.05

2.5 Seguimiento del proceso de depuración

Para saber el rendimiento del sistema, se hace el seguimiento de los parámetros de calidad del agua, como son: La DQO como parámetro importante en el proceso de depuración ya que engloba la mayor parte de material contaminante. Se realizó el análisis de Fósforo (Ortofosfatos), Nitrogeno (Total, Amoniacal), DBO₅. Estos parámetros se realizaron en la alimentación y en la descarga de los bioreactores anaerobio, anóxico, aerobio.

Y como parámetros de control, pH, sólidos suspendidos, para determinar la velocidad de recirculación se realizó la medición del Potencial de Oxido-Reducción (ORP). Una vez que se introdujeron los compuestos fenólicos se hizo el análisis de estos compuestos por medio de Cromatografía de Líquidos (HPLC). Los parámetros de control se muestran en la figura.

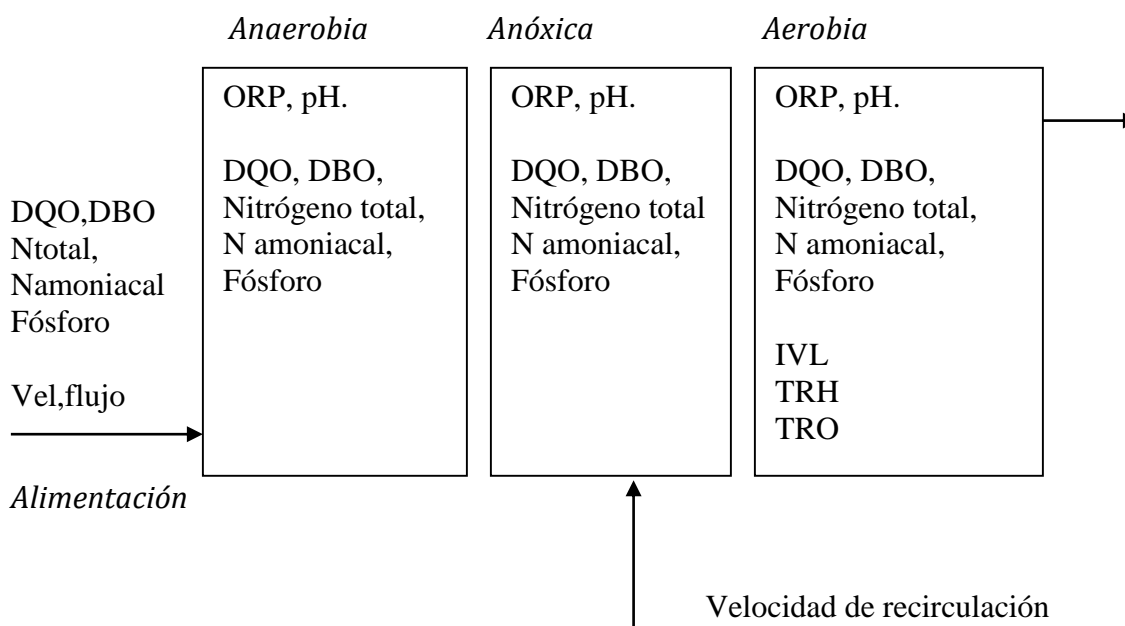


Figura 11. Parámetros de control para el proceso de depuración llevados a cabo en cada uno de los bioreactores.

Los lodos anaerobios fueron obtenidos de una planta de tratamiento de agua residual de una industria cervecera (**Central de Malta, Lara Grajales Puebla**). El lodo biológico aerobio fue obtenido de la planta de tratamiento de agua residual de la **Universidad de las Américas-Puebla**.

2.6 Construcción del reactor anaerobio-anóxico-aerobio.

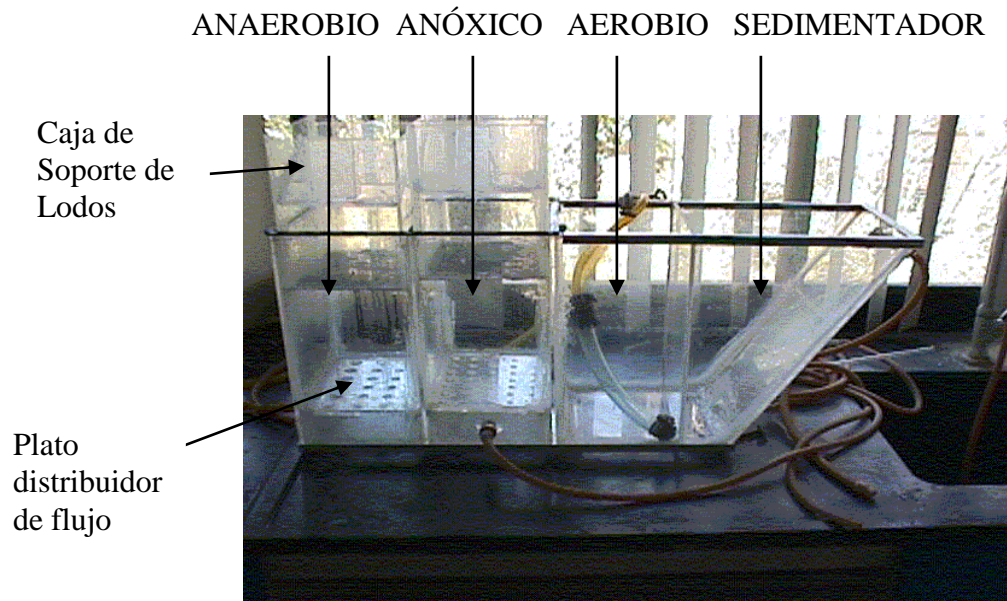


Figura 12. Construcción del reactor anaerobio-anóxico-aerobio.

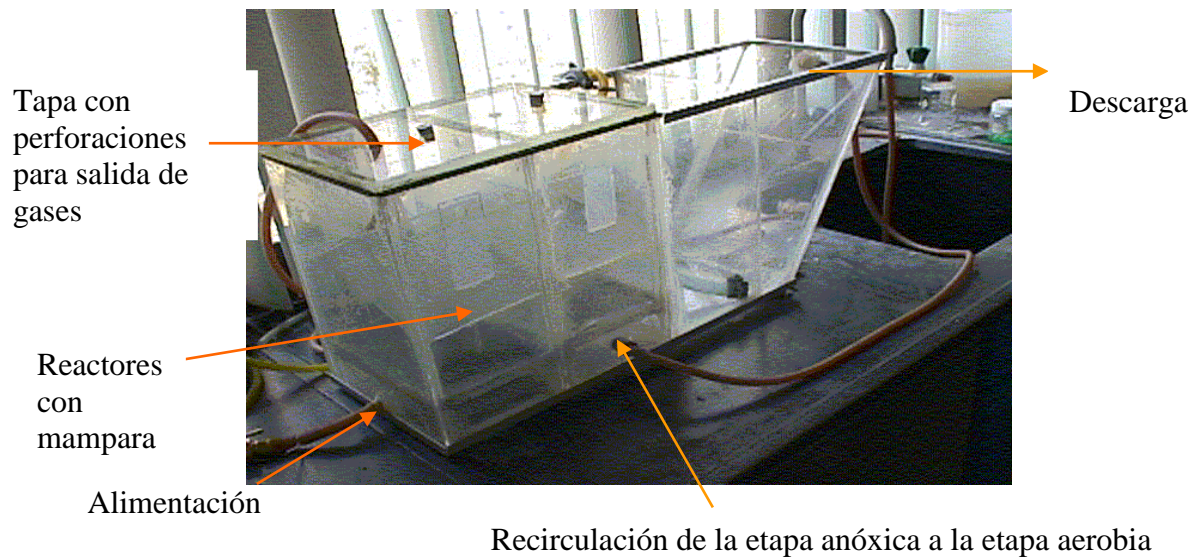


Figura 13. Reactor anaerobio-anóxico-aerobio.

2.7 Operación de los bioreactores anaerobio-anóxico-aerobio a escala laboratorio.

2.7.1 Bioreactores anaerobio y anóxico.

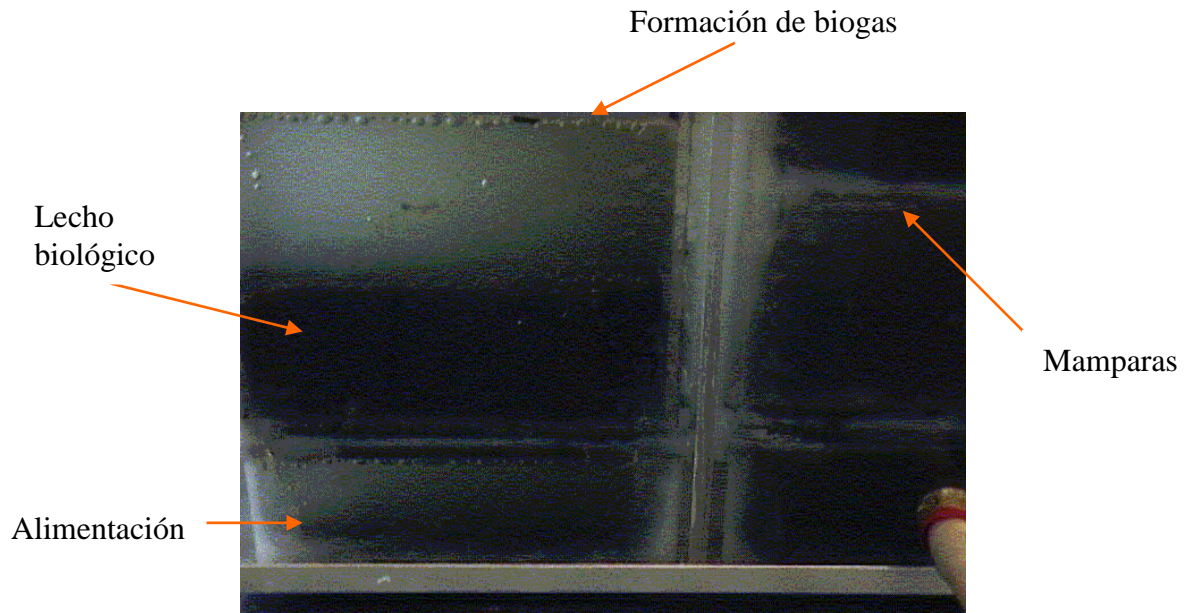


Figura 14. Operación del reactor anaerobio tipo RAFA a escala laboratorio

2.7.2 Bioreactor aerobio

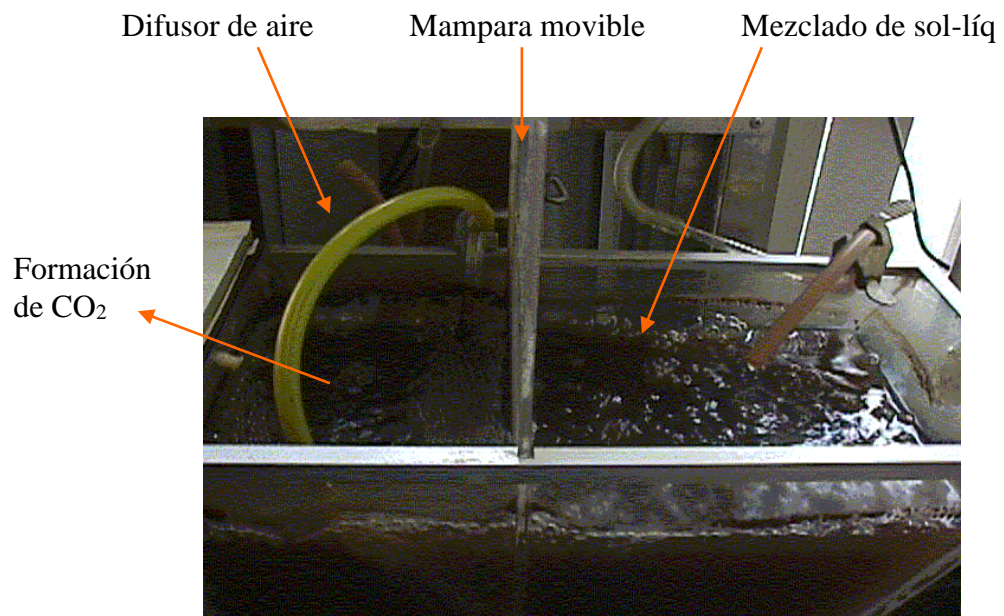


Figura 15. Operación del reactor aerobio a escala laboratorio.

Operación del sistema anaerobio-anóxico-aerobio



Figura 16. Operación del reactor anaerobio-anóxico-aerobio a escala laboratorio.

2.8 Métodos microbiológicos

Se identificaron las bacterias predominantes en cada una de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia. El procedimiento para aislar las bacterias y hacer las pruebas correspondientes son las siguientes:

2.8.1 Toma de muestra

La toma de muestra se realizó de la siguiente manera. Para el reactor anaerobio y anóxico, se tomó una muestra compuesta, por ser estos reactores de lecho fijo, entonces se tomaron dos mililitros en puntos diferentes a través del lecho y después mezclarla completamente para obtener la muestra representativa del reactor correspondiente. La toma de muestra del reactor aerobio fue en el tanque de aireación, es decir del licor mezclado.

- Medios de cultivo utilizados (McConkey, 2XYT, PDA, Medio mínimo).
- Siembra por la técnica de dilución y vertido en placa.
- Determinación de la (morfología colonial)
- Resiembra de las colonias mas abundantes en medios nuevos por estría cruzada.
- Determinación de la morfología microscópica.
- Aislamiento de las colonias.
- Utilización de galerías API20E
- Utilización del manual de las galerías API20E

2.8.2 Identificación de bacterias utilizando API 20E

Utilización.

API20E es un sistema para la identificación de las Enterobacterias y otros bacilos Gram-negativos no exigentes que utiliza 23 pruebas bioquímicas estandarizadas y miniaturizadas, y una base de datos.

Principio.

API20E consta de 20 microtubos conteniendo substratos deshidratados. Estas pruebas se incuban con una suspensión bacteriana la cual hidrata el medio. Durante la incubación, se producen cambios de color espontáneos o revelados por adición de reactivos. La lectura de las reacciones se hace de acuerdo con la tabla de lectura y la identificación mediante el API 20E index o el programa informático para identificación.

2.8.3 Determinación del perfil numérico:

En la hoja de resultados, las pruebas están separados en grupos de tres y un valor 1, 2, ó 4 se indica para cada uno. La galería API 20E consta de 20 pruebas, los valores en el interior de cada grupo corresponden a las reacciones positivas. La prueba de la oxidasa es la número 21 y si es positivo se le asigna el valor 4. Sumando los valores de las pruebas positivas para cada grupo se obtiene 7 cifras que corresponden al perfil numérico.

Identificación

La identificación se obtuvo a partir del perfil numérico y con la ayuda del programa informático para identificación: Introducir manualmente con el teclado el perfil numérico de 7 cifras.

En algunos casos, el perfil de 7 cifras no discrimina suficientemente, debiendo realizarse las pruebas complementarias:

- Reducción de los nitratos a nitritos (NO₂)
- Reducción de los nitratos a nitrógeno (N)
- Movilidad (MOOB)
- Cultivo en MacConkey (McC)
- Oxidación de la glucosa (OF-O)

-
- Fermentación de la glucosa (OF-F)

Las pruebas complementarias mencionadas pueden ser utilizadas para componer un perfil de 9 cifras, descifrable por el programa de identificación.

2.8.4 Limitaciones

El sistema API 20E está destinado únicamente a la identificación de los bacilos Gram-negativos y no exigentes incluidos en la base de datos. No sirve para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.

2.8.5 Identificación de protozoarios

La toma de muestra fue compuesta y con varias repeticiones, en el biorreactor anaerobio y anóxico la toma de muestra se llevó a cabo a diferentes profundidades a través del lecho y en el bioreactor aerobio la muestra fue tomada del licor mezclado. La identificación de protozoarios se hizo al microscopio. La utilización de un microscopio con cámara de video que está conectada a una televisión y está a una videograbadora. Las imágenes son grabadas en videocasete, como se ilustra en la siguiente figura:

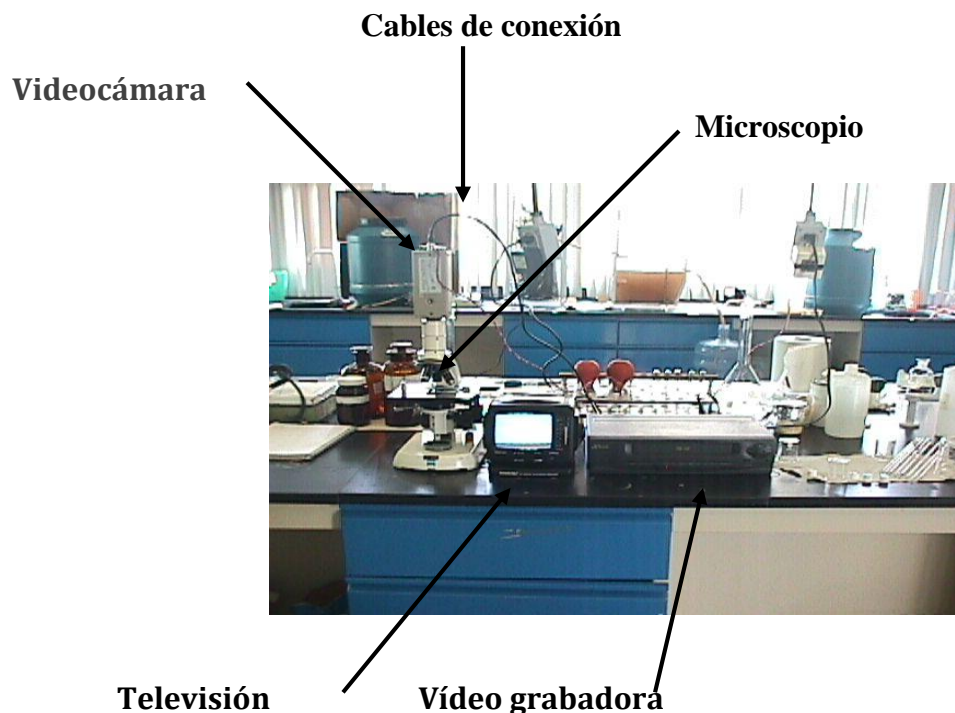


Figura 17. Identificación de protozoarios utilizando equipo de video.

Posteriormente se utilizó una computadora con un software para grabar imágenes en particulares de los protozoarios localizados. La identificación se hace en comparación con las imágenes grabadas y con las de la literatura.

2.8.6 Identificación de hongos utilizando ID 32C

Durante la identificación de bacterias, hongos y protozoarios antes de introducir compuestos fenólicos no se detectó un crecimiento importante de hongos por lo tanto no hubo la necesidad de identificarlos, después de agregar los compuestos fenólicos se tuvo el crecimiento de un hongo en las etapas anaerobia y anóxica, el cual creció en PDA y en 2XYT. Por lo tanto se identificó el hongo con la utilización de la galería ID 32C que tiene las siguientes características:

2.8.7 ID 32C

Es un sistema de identificación de levaduras compuesto por pruebas de asimilación estandarizados, así como una base de datos especialmente adaptada.

Principio

La galería ID 32C se compone de 32 cúpulas que contienen cada una un sustrato carbonado deshidratado. La levadura a identificar se pone en suspensión en un medio sintético semisólido. Después de 24-48 horas de incubación, el crecimiento en cada cúpula se lee con ATB Expresión, miniAPI o de manera visual. La identificación se obtiene con la ayuda de un programa de identificación.

2.8.8 Cromatografía de Líquidos

La degradación de fenol y 2,4,6, triclorofenol se hizo utilizando cromatografía de líquidos (Espectrofotometro (DR/4000 HACH)).

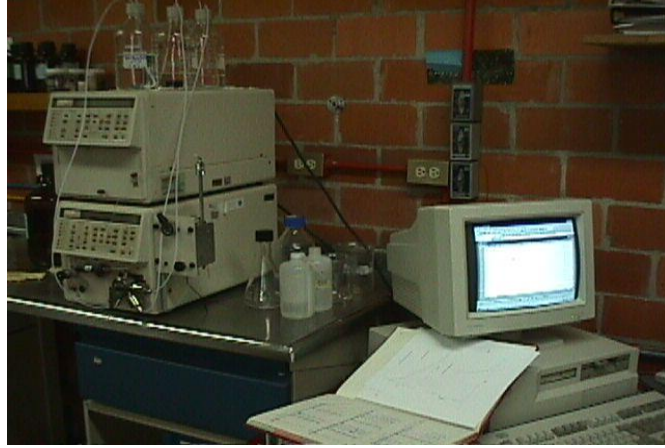


Figura 18. Cromatografía para la dar seguimiento en la degradación de los compuestos fenólicos

CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y RESULTADOS.

Los métodos de análisis para determinar los parámetros de calidad del agua se encuentran en el Apéndice A.

3.1 ETAPA DE ADAPTACIÓN (Sin recirculación)

3.1.1 DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO) (mg/l)

DIA			ALIMENTACION	ANAEROBIO	ANOXICO	AEROBIO
20			2900	1621	696	112.64
21			2800	1648	868	119.3
22			2882	1622	696	76
23			2948	1620	720	110
24			3002	1948	904	95.2
25			3010	1600	780	90
26			3008	1472	720	87.2
27			3012	1470	764	85
28	3000	1480	796			88

Tabla 10. Resultados del análisis de DQO en la etapa de adaptación sin recirculación.

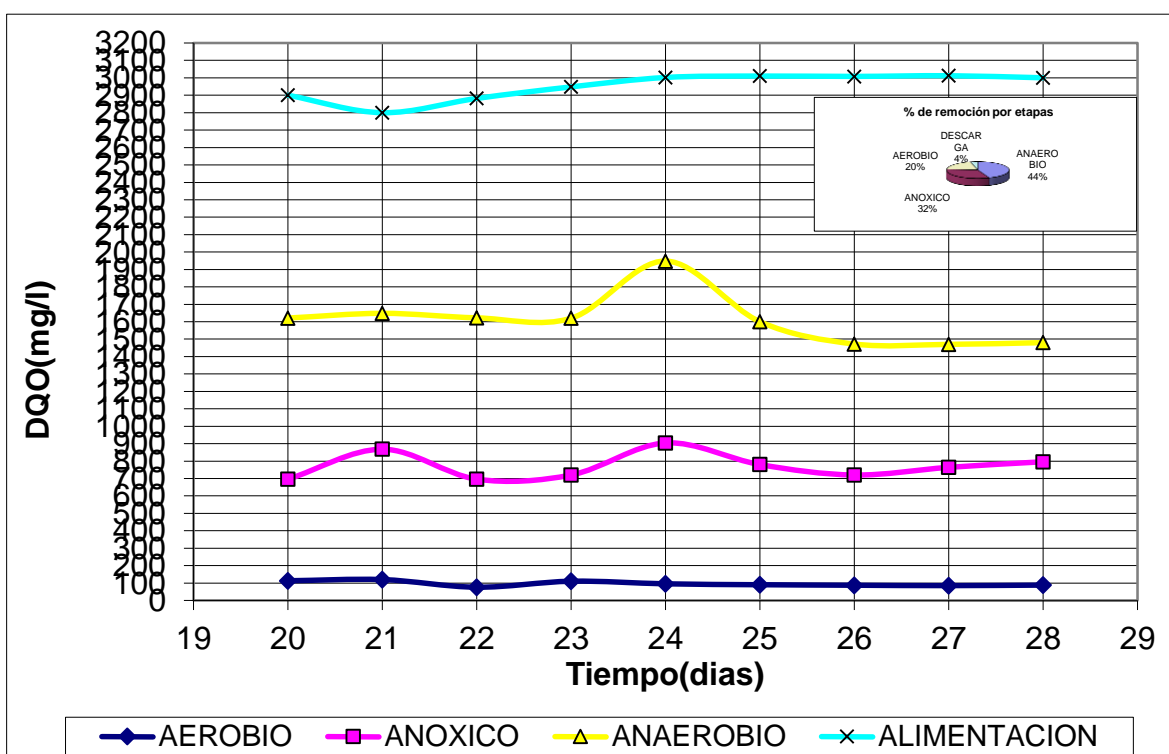


Figura 19. Gráfica de resultados del análisis de DQO en la etapa de adaptación sin recirculación se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

ETAPA DE ADAPTACIÓN (Sin recirculación)

3.1.2 ORTOFOSFATOS (mg/l)

DIA	ALIMENTACION	ANAEROBIO	ANÓXICO	AEROBIO
20	17.2	14.2	13.8	9.5
22	16.5	15.3	12.5	8.9
24	16.8	14.7	13.4	9.2
26	15.7	13.2	12.5	8.7
28	15.9	12.8	12.4	8.5

Tabla 11. Resultados del análisis de Ortofosfatos en la etapa de adaptación sin recirculación.

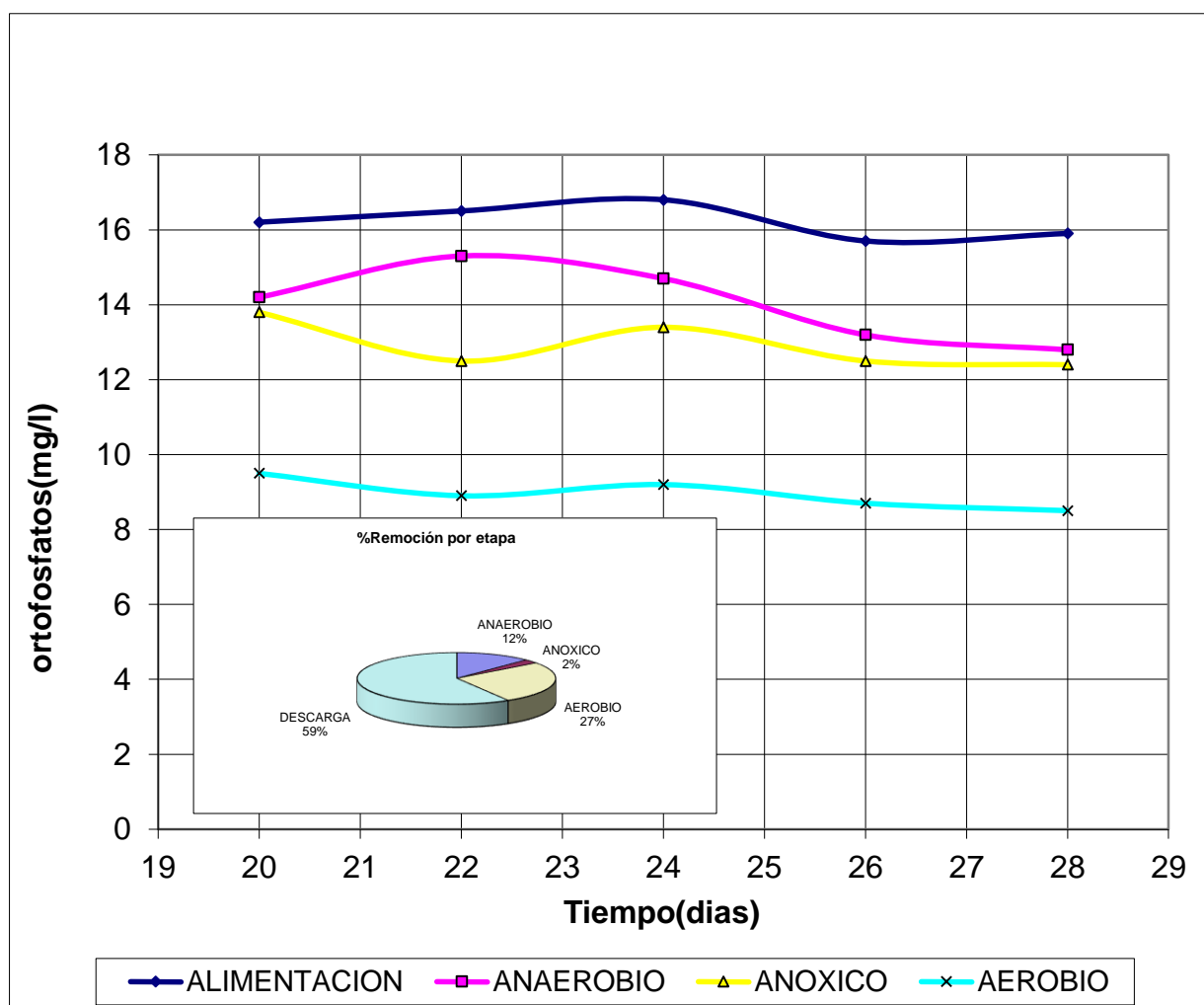


Figura 20. Gráfica de resultados del análisis de ortofosfatos en la etapa de adaptación sin recirculación se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

ETAPA DE ADAPTACIÓN (sin recirculación)

3.1.3 NITRÓGENO TOTAL (mg/l)

DIA	ALIMENTACION	ANAEROBIO	ANOXICO	AEROBIO
20	170	120	120	100
22	180	110	100	90
24	170	120	110	85
26	180	120	120	75
28	180	110	110	75

Tabla 12. Resultados del análisis de Nitrógeno total en la etapa de adaptación sin recirculación.

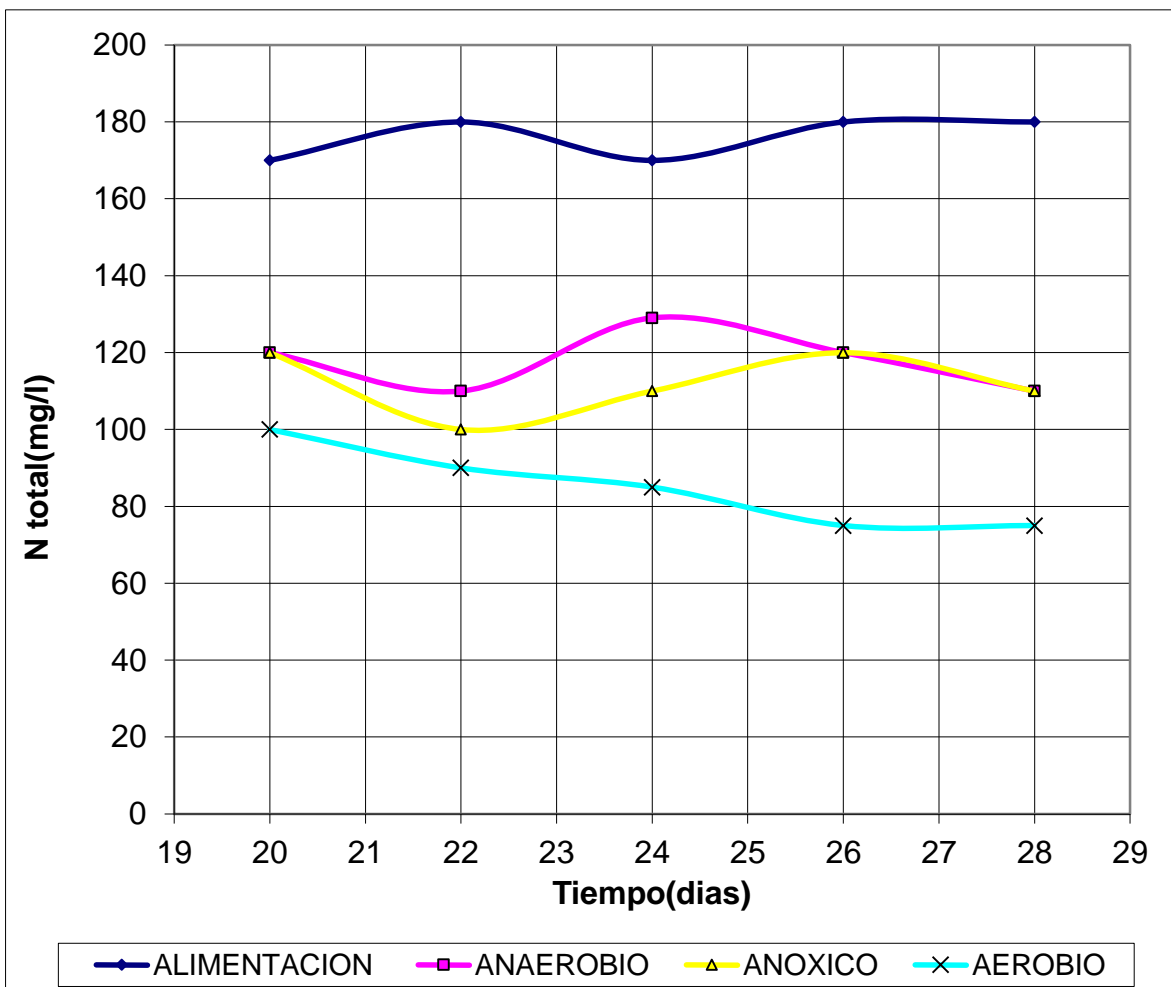


Figura 21. Gráfica de resultados del análisis de DQO en la etapa de adaptación sin recirculación se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

3.1.4 NITRÓGENO AMONICAL (mg/l)

DIA	ALIMENTACION	ANAEROBIO	ANOXICO	AEROBIO
20	4.5	101.2	110.5	8.2
22	5.1	104.3	92.8	9.5
24	6.4	98.4	105.4	8.6
26	5.6	103.2	112.5	8.4
28	4.8	104.2	108.1	9.3

Tabla 13. Resultados del análisis de Nitrógeno Amoniacal.

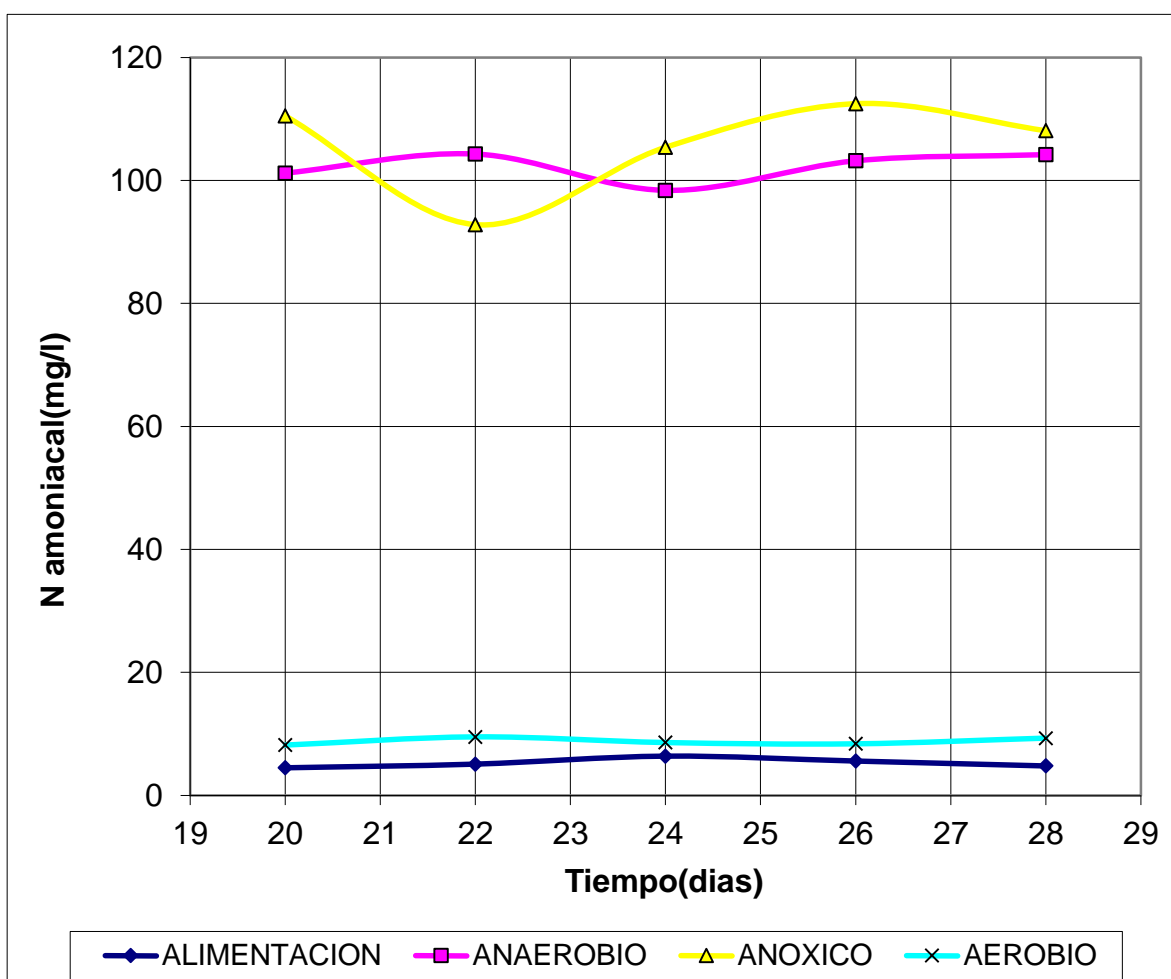


Figura 22. Gráfica de resultados del análisis de Nitrógeno Amoniacal se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

3.1.5 Conclusiones de los resultados de la etapa de adaptación

Se observó que en la etapa de adaptación **sin recirculación** parcial de la etapa aerobia a la etapa anóxica, se obtuvo una buena remoción de DQO, donde el mayor porcentaje de remoción se llevó a cabo en la etapa anaerobia.

La mayor parte de eliminación de fósforo fue en la etapa aerobia y la mayor parte de eliminación de nitrógeno total se llevó a cabo en la etapa anaerobia.

La causa de que no se eliminó la mayor parte de nitrógeno y de fósforo en esta etapa de adaptación, es por el cambio de condiciones, como es la nueva carga de nutrientes y de las condiciones de operación.

También porque no se realizó la recirculación de la etapa aerobia a la etapa anóxica, lo cual es uno de los objetivos de este proyecto el de eliminar estos nutrientes (P,N) con este arreglo.

Se observó que todo el Nitrógeno total es transformado la mayor parte a Nitrógeno amoniacal en la etapa anaerobia y casi en su totalidad en la etapa anóxica esto es por degradación bacteriana e hidrólisis. En la etapa aerobia todo el nitrógeno amoniacal es transformado a nitritos y nitratos, Este proceso supone la conversión de amoniaco por bacterias autotróficas a compuestos inorgánicos oxidados del nitrógeno, como nitritos y nitratos pero aun así el nitrógeno no se ha eliminado en forma gaseosa como lo demuestran los resultados experimentales.

3.2 PROCESO DE ESTABILIZACIÓN CON RECIRCULACIÓN DEL AGUA RESIDUAL DE LA ETAPA AEROBIA A LA ANÓXICA.

Después del proceso de adaptación de los lodos activados, la velocidad de flujo de la alimentación se aumentó a 7.5 ml/min y se empezó a recircular de la etapa aerobia a la etapa anóxica. Esta condición se mantuvo hasta que el sistema alcanzó la estabilización, dando seguimiento a la remoción de nutrientes (fuentes de nitrógeno, fósforo y carbono) con las análisis correspondientes de nitrógeno total y amoniacal, ortofosfatos, DQO.

3.2.1 Demanda Química de Oxígeno

La figura (23) muestra la eliminación de la DQO a través del sistema durante la etapa de estabilización. La variación de la concentración de DQO en cada una de las etapas es mínima, en los últimos días casi no existe variación en la DQO. Este fue uno de los criterios para saber que el sistema se estabilizó.

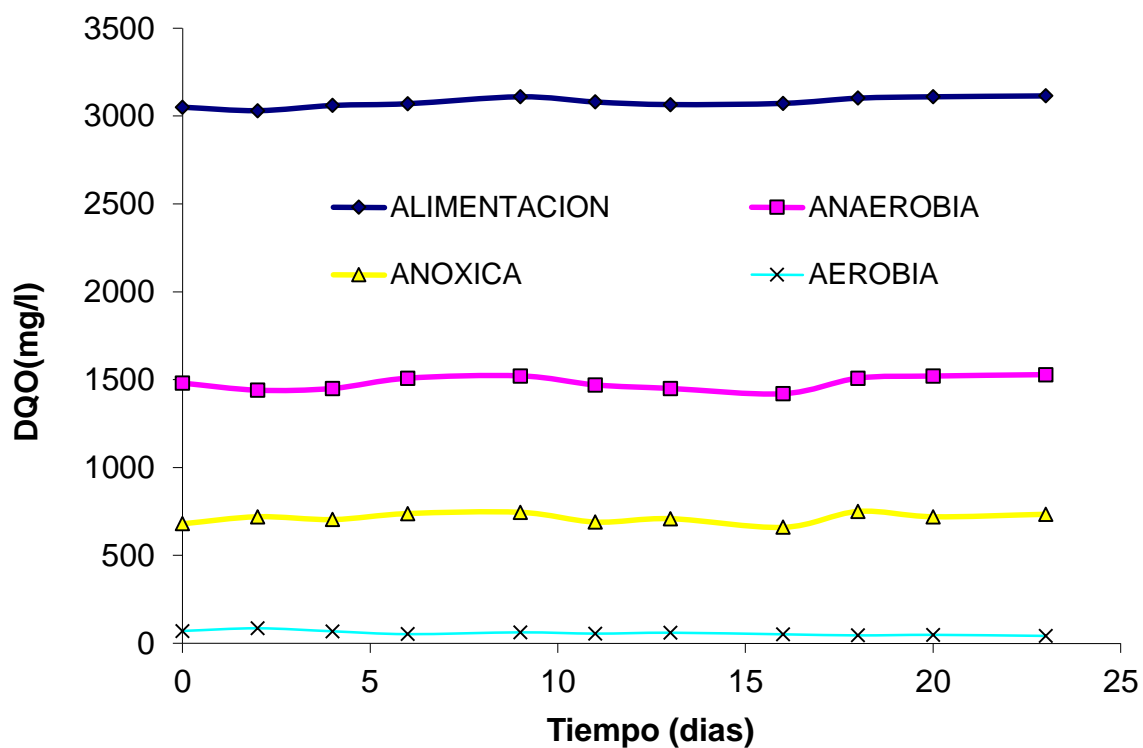
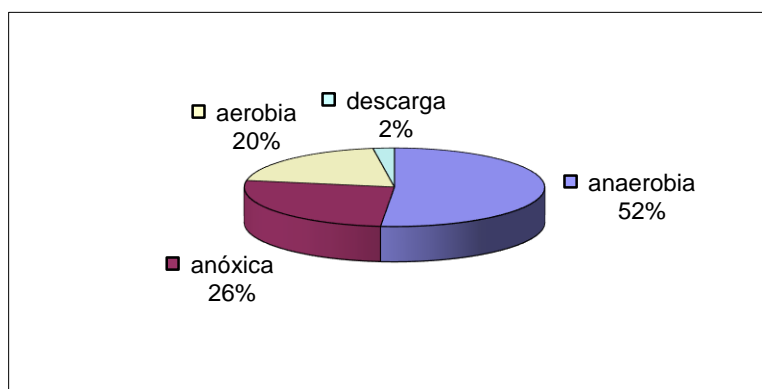


Figura 23. Seguimiento de la remoción de DQO de las etapas anaerobio-anóxico-aerobio, durante la etapa de estabilización se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

Conforme transcurrió la estabilización del sistema, la variación del pH fue mínima, hasta mantenerse en valores de 7.4 a 7.8 en la etapa anaerobia, de 7.8 a 8.1 en la etapa anóxica y en la etapa aerobia con valores de 8.2.

La mayor parte de remoción de la DQO la tiene la etapa anaerobia con un 52% como se muestra en la figura (24). Las etapas anóxica y aerobia mejoraron su eficiencia en la remoción de la DQO conforme transcurre el tiempo, esto se debe a la adaptación de la velocidad de recirculación entre las etapas aerobia y anóxica. El valor de la DQO en la descarga es mínimo, por lo cual la eficiencia del sistema es muy alta.

Figura 24. Porcentaje de DQO removido de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la etapa de estabilización.



3.2.2 Remoción de fósforo (mg/l)

La figura (25) muestra la remoción de fósforo a través del sistema de tratamiento durante el proceso de estabilización. La variación de la concentración de fósforo en la alimentación en los primeros días se debe a las medidas correctivas para mantener en buenas condiciones el lodo aerobio.

La etapa anaerobia muestra una variación en los primeros días, por la disminución de la concentración de fosfatos en la alimentación, de 16 a 14 ppm, posteriormente se mantiene constante hasta alcanzar la estabilización.

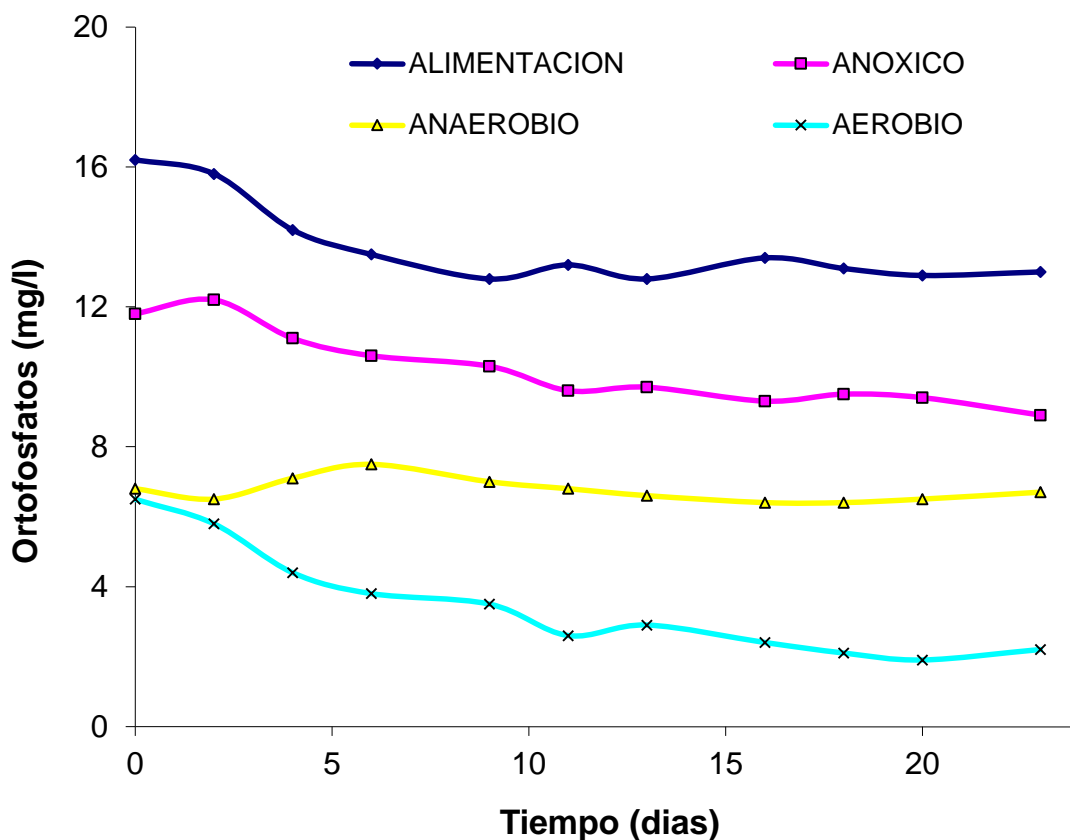


Figura 25. Seguimiento de la remoción de fósforo en las etapas anaerobio-anóxico-aerobio, durante la etapa de estabilización se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

Las etapas anóxica y aerobia muestran una gran variación en los primeros días, hasta el día 7, por el ajuste en la alimentación. La variación de la velocidad de recirculación, produjo otro cambio en la concentración de ortofosfatos en la etapa aerobia entre los días 7 y 15; la figura (6) muestra un comportamiento estable en los últimos días.

La mayor remoción de fósforo la tiene la etapa aerobia como lo muestra la figura (26). El mejoramiento en la eficiencia de la remoción de fósforo en la etapa aerobia se dio por la recirculación y por el manejo de los parámetros de operación de esta etapa, como son la relación F/M (Relacion alimento/ microorganismos) y el tiempo de residencia hidráulica.

El fósforo en la descarga del sistema es bajo, lo que implica una alta eficiencia del sistema. La remoción total de fósforo fue del 85%.

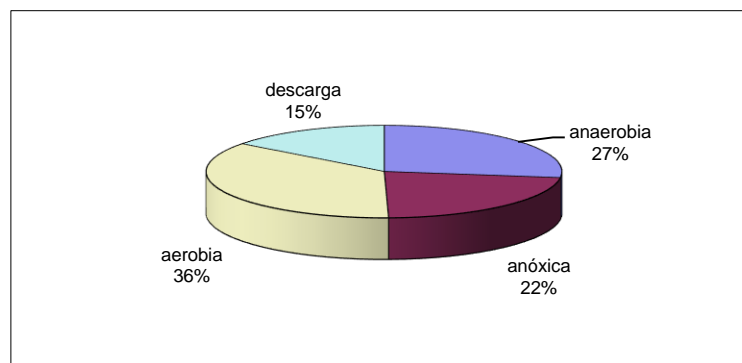


Figura 26. Porcentaje de fósforo removido de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la etapa de estabilización.

3.2.3 Remoción de Nitrógeno (mg/l)

La figura (27) muestra la eliminación de nitrógeno total a través del sistema; el comportamiento de cada etapa en los últimos días es estable, con poca variación en las concentraciones registradas.

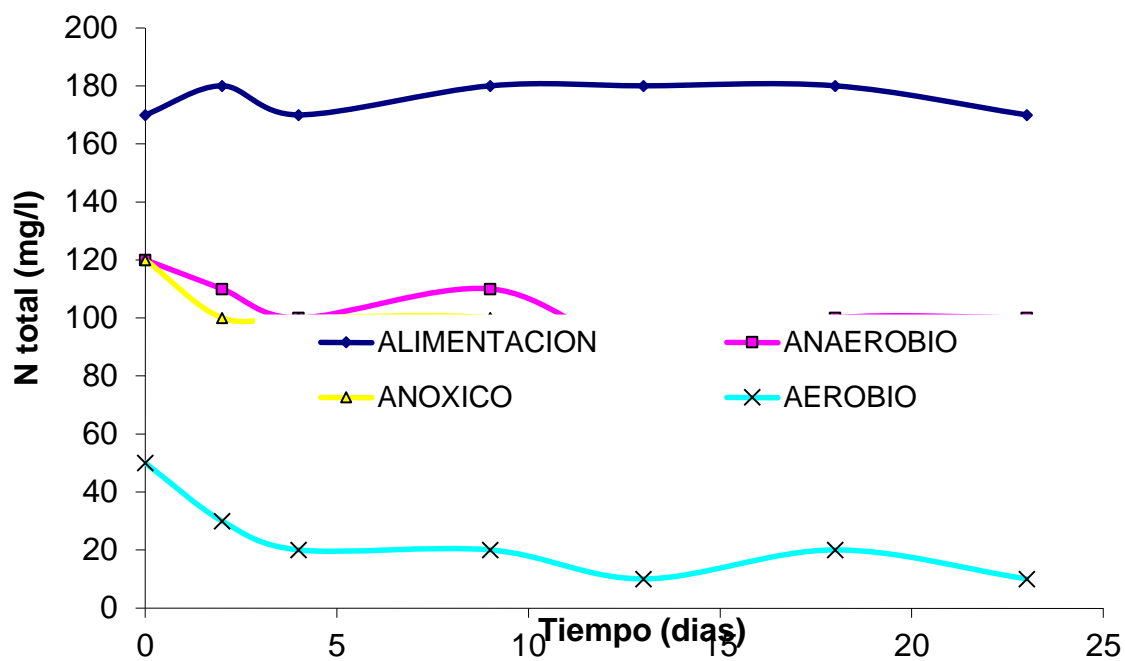


Figura 27. Seguimiento en la remoción de nitrógeno total en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante el proceso de estabilización.

La etapa aerobia en los primeros días muestra un mejoramiento en la remoción de nitrógeno total, debido a la introducción de la recirculación. El proceso de desnitrificación se completa al recircular los nitratos de la etapa aerobia a la etapa reductora anóxica. En consecuencia, en la figura (28) se muestra que la mayor parte de remoción del nitrógeno total la realizan la combinación de las etapas anóxica y aerobia.

Como se observa hay una gran diferencia en el nitrógeno total removido desde el proceso de adaptación hasta que el proceso se estabilizó. Esto se debe al control de los parámetros de operación, y al proceso de recirculación además de que los lodos activados están más maduros.

La descarga de nitrógeno total a través de todo el sistema es mínima, por lo que la eficiencia en la remoción de nitrógeno es buena.

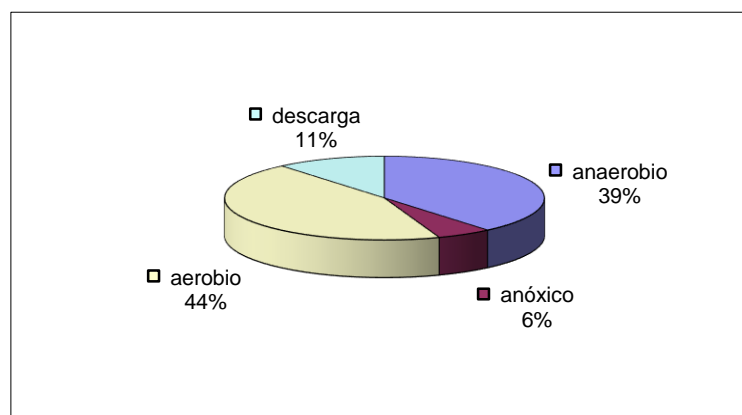


Figura 28. Porcentaje de remoción de nitrógeno total en cada una de las etapas, durante la etapa de estabilización.

3.2.4 Nitrógeno amoniacal

La figura (29) muestra el nitrógeno amoniacal a través del sistema, observando que las etapas anaerobia y anóxica tienen una gran conversión del nitrógeno orgánico a amoniacal y en la etapa aerobia disminuye a cantidades mínimas, debido a que el nitrógeno amoniacal es convertido a nitratos y que son después eliminados en forma gaseosa por la recirculación a la etapa anóxica por lo tanto la remoción de nitrógeno total es muy alta. Con los resultados de nitrógeno amoniacal y nitrógeno total se ve más claro el proceso de nitrificación y desnitrificación.

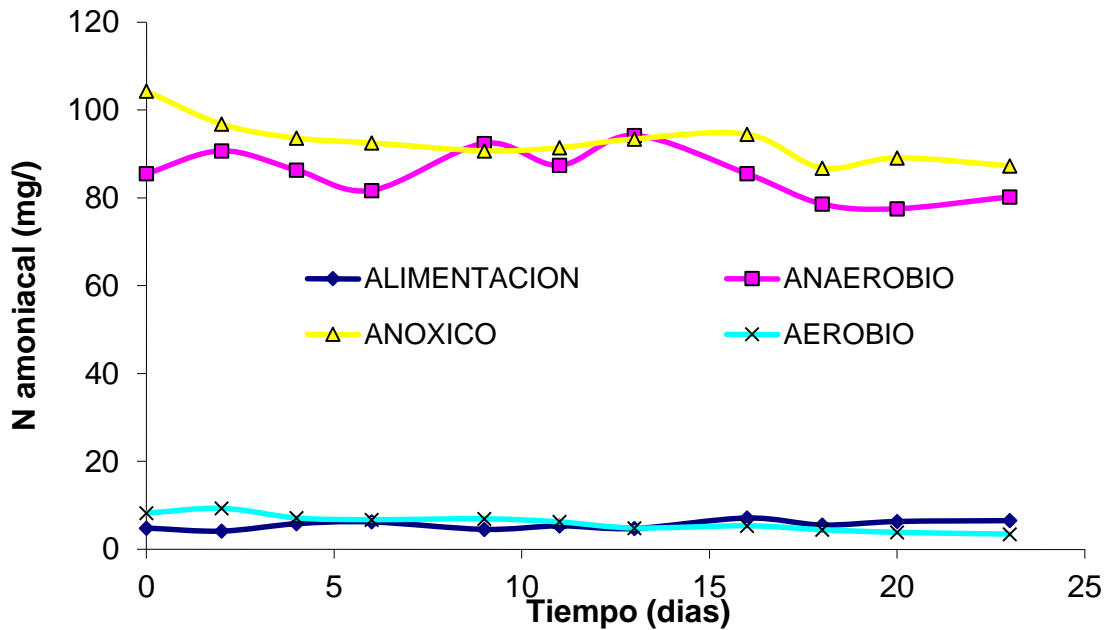


Figura 29. Seguimiento del nitrógeno amoniacal en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la etapa de estabilización se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

3.3 Medición del potencial de óxido-reducción

Para controlar la velocidad de recirculación de la etapa aerobia a la etapa anóxica, y tener una mayor eficiencia en la eliminación de nutrientes, se mantuvo un valor de ORP negativo en la etapa anóxica por lo que tiene una condición muy reductora. Este valor fue cercano – 380 mV, como se observa en la figura (30). La etapa aerobia mantiene un valor de ORP positivo por lo cual esta etapa tiene la condición de oxidante. La etapa anaerobia tiene una variación en los primeros días debido al ajuste en la velocidad de flujo que se hizo en la entrada al sistema, pero posteriormente se mantiene estable. Esto también se debe a la estabilización del pH que mantiene un mejor trabajo de todo el sistema.

La etapa anóxica tiene una mayor variación durante el proceso de estabilización, debido a la variación en la velocidad de recirculación. En los últimos días se mantiene estable, porque con la velocidad de recirculación encontrada se alcanzó una buena eliminación de nutrientes.

Uno de los aspectos que se cuidó al ajustar el flujo recirculado, fue que el valor del ORP de la etapa anóxica mantuviera la condición más reductora que la etapa anaerobia. Con esto se promueve la capacidad desnitrificadora de esta etapa.

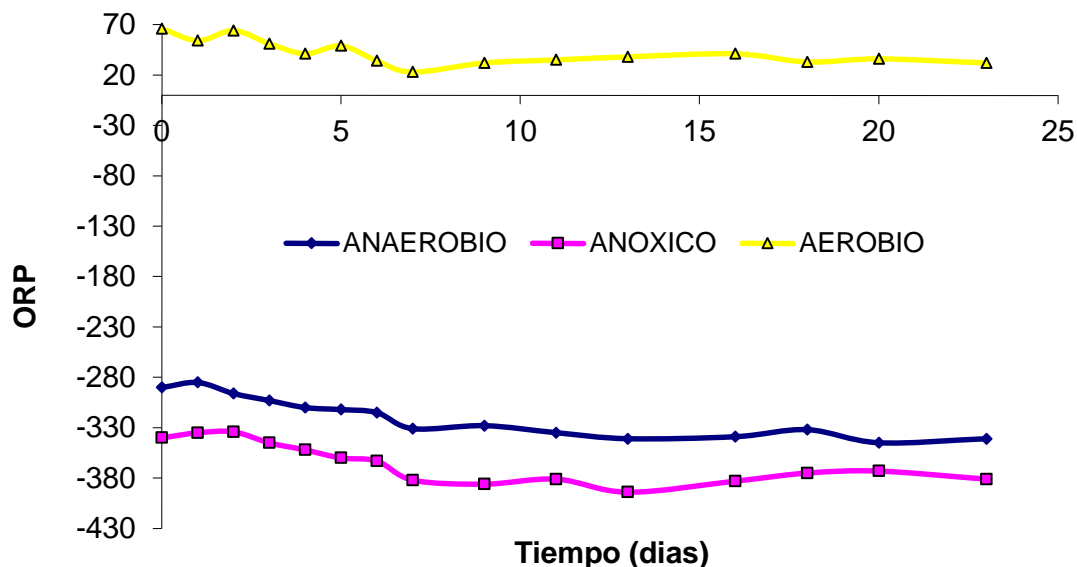


Figura 30. Control del potencial de óxido reducción (ORP) en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia durante el proceso de estabilización se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

3.4 Comentarios

Los resultados en la etapa de estabilización son eficientes, debido a que la remoción de los nutrientes es muy alta a través de todo el sistema. El proceso de recirculación cumplió con sus objetivos al mejorar la eliminación nitrógeno y fósforo. Como podemos observar en la siguiente tabla, el resumen de los parámetros de medición, indican que los resultados promedio del tratamiento están muy por debajo de las Normas Oficiales Mexicanas.

Tabla 14. Resultados en la etapa de estabilización.

	Entrada	Salida
DQO (mg/l)	3050	50
Ortofosfatos (mg/l)	13	2.3
Nitrógeno total (mg/l)	180	15

Nitrógeno amoniacal(mg/l)	6.0	4.2
---------------------------	-----	-----

La experimentación también muestra que una vez que el proceso llega a la estabilización, requiere mínima supervisión.

Tabla 15. Ley federal de derechos en materia de agua.

Artículo 278-A Los cuerpos de propiedad nacional, receptores de las descargas de aguas residuales. Límites máximos permisibles para contaminantes básicos, metales pesados y cianuros.

CUERPOS RECEPTORES

Parámetros Mg/l	Ríos con uso en riego agrícola; acuíferos	Aguas costeras con explotación pesquera, navegación y otros usos.	Suelo con uso en riego agrícola	Ríos con uso público urbano; acuíferos	Embalses naturales y artificiales con uso en riego agrícola	Aguas costeras con uso en recreación	Estuarios	Humedales naturales	Ríos con uso en protección de vida acuática Embalses naturales y artificiales con uso público urbano, acuíferos
DBO5	150	150	N.A	75.0	75.0	75.0	75.0	75.0	30.0
Nitrógeno Total	40.0	N.A	N.A.	40.0	40.0	N.A.	15.0	N.A	15.0
Fósforo Total	20.0	N.A	N.A	20.0	20.0	N.A.	5.0	N.A	5.0

3.5 Eficiencia del sistema anaerobio-anóxico-aerobio en la eliminación simultanea de nutrientes y fenol.

Una vez que el sistema se estabilizó, se adicionó fenol en la alimentación para observar el efecto que pueda tener en el rendimiento de eliminación de nutrientes. Pero además un objetivo es el de eliminar compuestos tóxicos por medio de este sistema combinado de tratamiento. Al empezar a adicionar fenol se hizo a concentraciones de 5 ppm, los primeros tres días; después se aumentó la concentración a 25 ppm. Esto para no provocar un cambio o inhibición del sistema al introducir cantidades muy grandes de fenol de un día a otro.

3.6 Demanda Química de Oxígeno

La figura (31) muestra el seguimiento de la DQO a través del sistema y se observa que mantiene la estabilidad en cada una de las etapas, además hay una mayor remoción en cada una de las etapas.

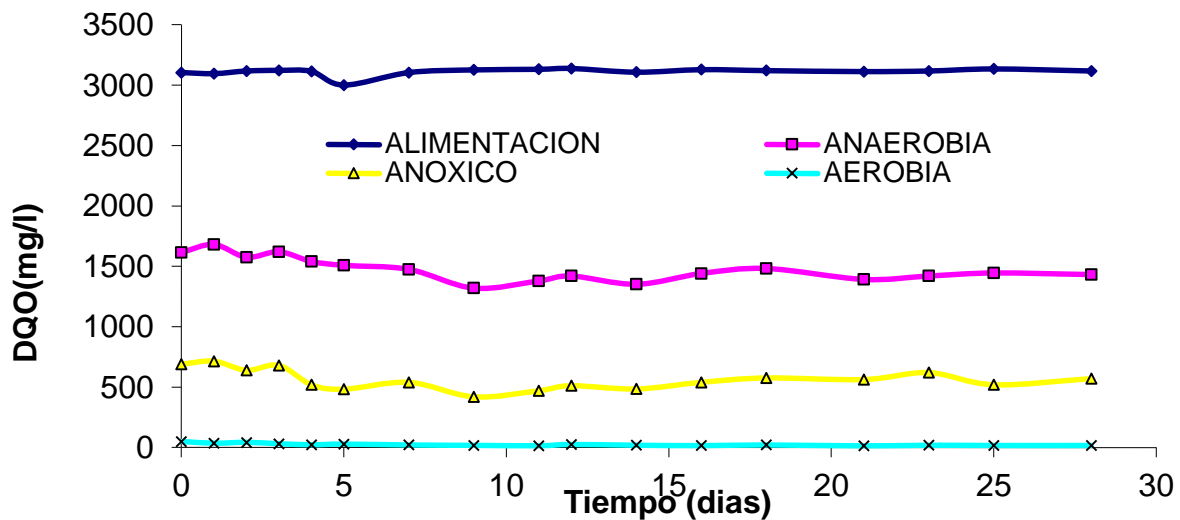


Figura 31. Seguimiento de la remoción de DQO en el sistema anaerobio-anóxico-aerobio durante la adición de fenol se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

La figura 32, muestra que la mayor parte de remoción de DQO la realiza la etapa anaerobia con un 55% y en comparación con el proceso de estabilización mejoró en un 3%, la etapa anóxica mejoró en un 1%. Por esta razón el agua residual al entrar a la etapa aerobia tiene una DQO de 550mg/L siendo menor que en el proceso de estabilización que fue de 720mg/l, por lo tanto se vieron afectados los parámetros de control de la etapa aerobia como son f/m, TRH, TRC. La DQO que entra a la etapa aerobia es de 550mg/l y se remueve el 97.27%.

Se descargan 15 mg/L de DQO, siendo el 0.49% de la DQO que entra al sistema. El valor de la DQO descargada está muy por debajo de las normas gubernamentales por lo tanto el sistema anaerobio-anóxico-aerobio se encuentra en excelentes condiciones.

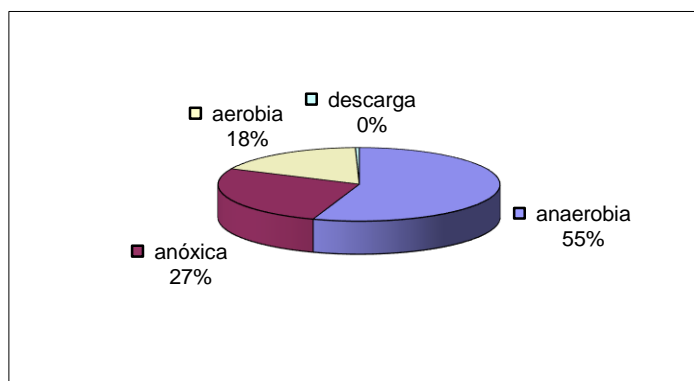


Figura 32. Porcentaje de DQO removido de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la adición de fenol.

3.7 Remoción de fósforo

La remoción de fósforo se vio afectada en los primeros días de experimentación con adición de fenol, pero la variación no fue muy grande. En poco tiempo se estabiliza el proceso, y se logra una buena remoción de fósforo. La etapa aerobia tiene la mayor parte de la remoción, como lo muestra la figura (33) en esta figura se da el seguimiento en la degradación de fósforo por etapas. La etapa anaerobia también muestra una buena remoción de fósforo, debido a que tiene una gran actividad metabólica (degrada la mayor parte de la DQO alimentada).

En la figura (34) se observa que la etapa aerobia no se vio afectada por la adición de fenol que es una de las etapas más sensibles al introducir este tipo de compuestos tóxicos. Esto se debe a que la etapa anaerobia remueve gran parte del fenol, y al entrar a la etapa aerobia las concentraciones de fenol son muy bajas y con bajo efecto tóxico.

La buena remoción de fósforo y la buena eliminación de DQO reflejan un estado saludable de los lodos activados en presencia de fenol.

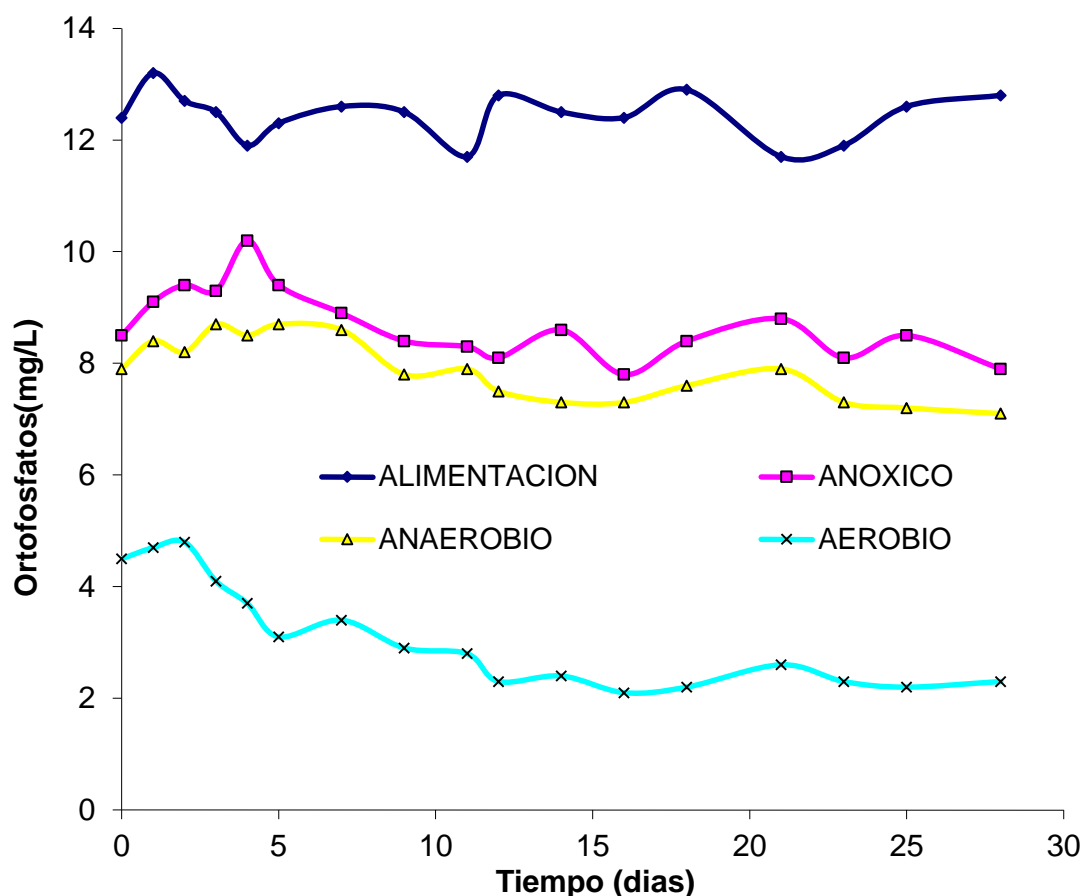


Figura 33. Seguimiento en la remoción de fósforo de las etapas anaerobia-anóxica aerobia, durante la adición de fenol se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

En el proceso de estabilización la remoción de fósforo fue de 13.0 a 2.2 mg/L, y al agregar fenol de 12.5 a 2.3mg/L. La variación fue mínima por lo que se mantuvo la buena remoción de fósforo.

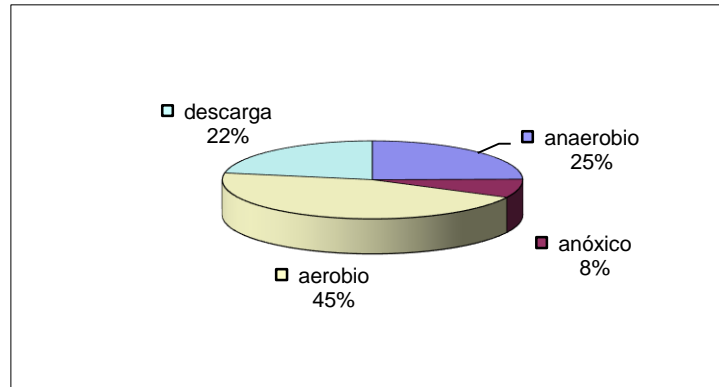


Figura 34. Porcentaje de fósforo removido en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la adición de fenol.

3.8 Remoción de nitrógeno total

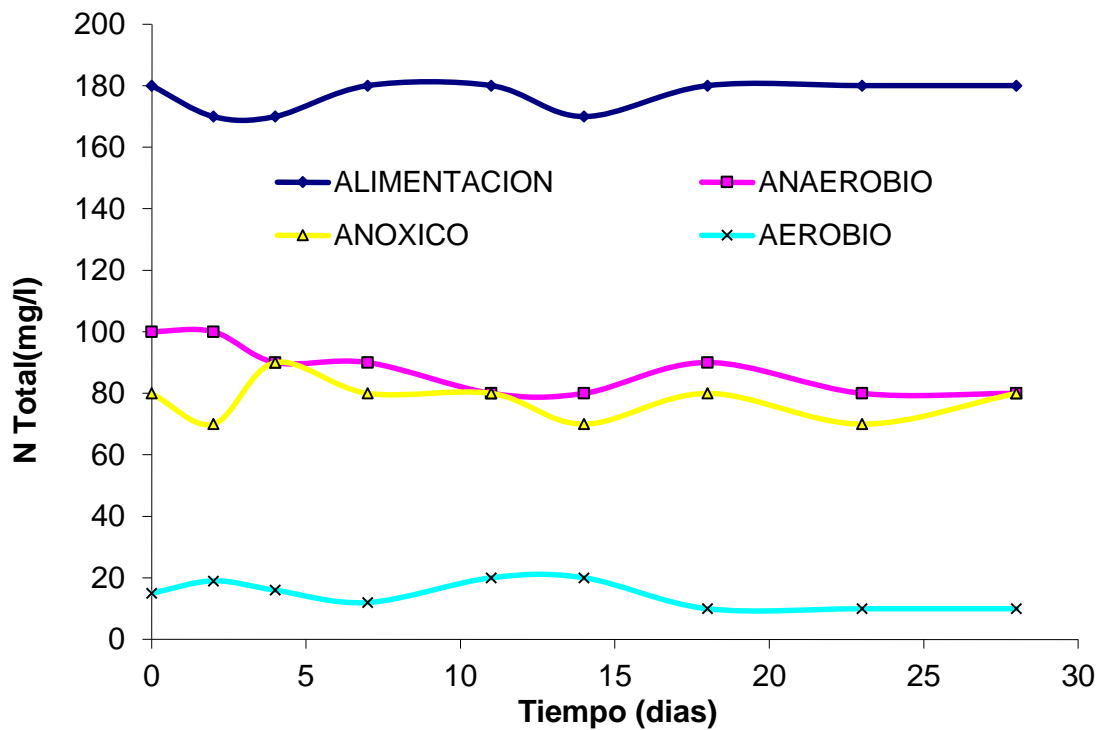


Figura 35. Seguimiento en la remoción de nitrógeno total de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la adición de fenol se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

En la figura (35). Se muestra la eliminación de nitrógeno total por etapas durante la adición de fenol. No se observa un cambio negativo al introducir fenol, sino una mayor eficiencia al eliminarlo en cada etapa. La etapa anaerobia muestra una gran remoción de nitrógeno total y las etapas anóxica-aerobia muestran una alta eficiencia porque siguen cumpliendo eficientemente el proceso de nitrificación- desnitrificación

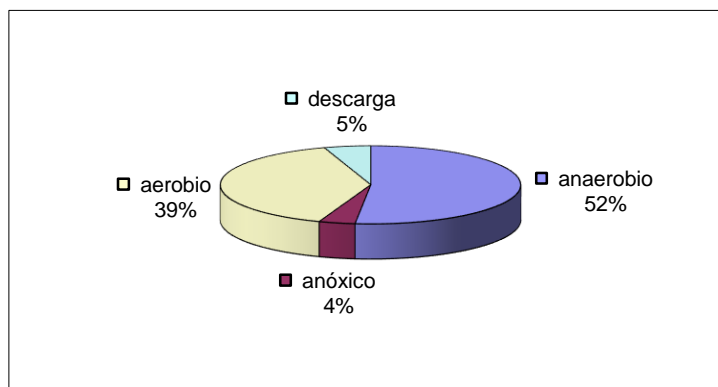


Figura 36. Porcentaje de nitrógeno total removido en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la adición de fenol.

3.9 Nitrógeno amoniacal

La figura (37) muestra el seguimiento del nitrógeno amoniacal en todo el sistema, durante la adición de fenol. La eliminación de nitrógeno amoniacal no se vio afectada por la adición de fenol, donde la descarga de nitrógeno amoniacal en el proceso de estabilización mantuvo un valor de 4.2 mg/L y al agregar fenol disminuyó a 2.2mg/L.

Al salir 80mg/L de nitrógeno total de la etapa anaerobia, 68.3 mg/L son de nitrógeno amoniacal que es el 85.3% del nitrógeno total lo cual aumento su capacidad para hidrolizar los compuestos orgánicos con respecto al proceso de estabilización.

De 70 mg/l de nitrógeno total que salen de la etapa anóxica, 69.7 mg/l son de nitrógeno amoniacal siendo el 99.5% del nitrógeno total.

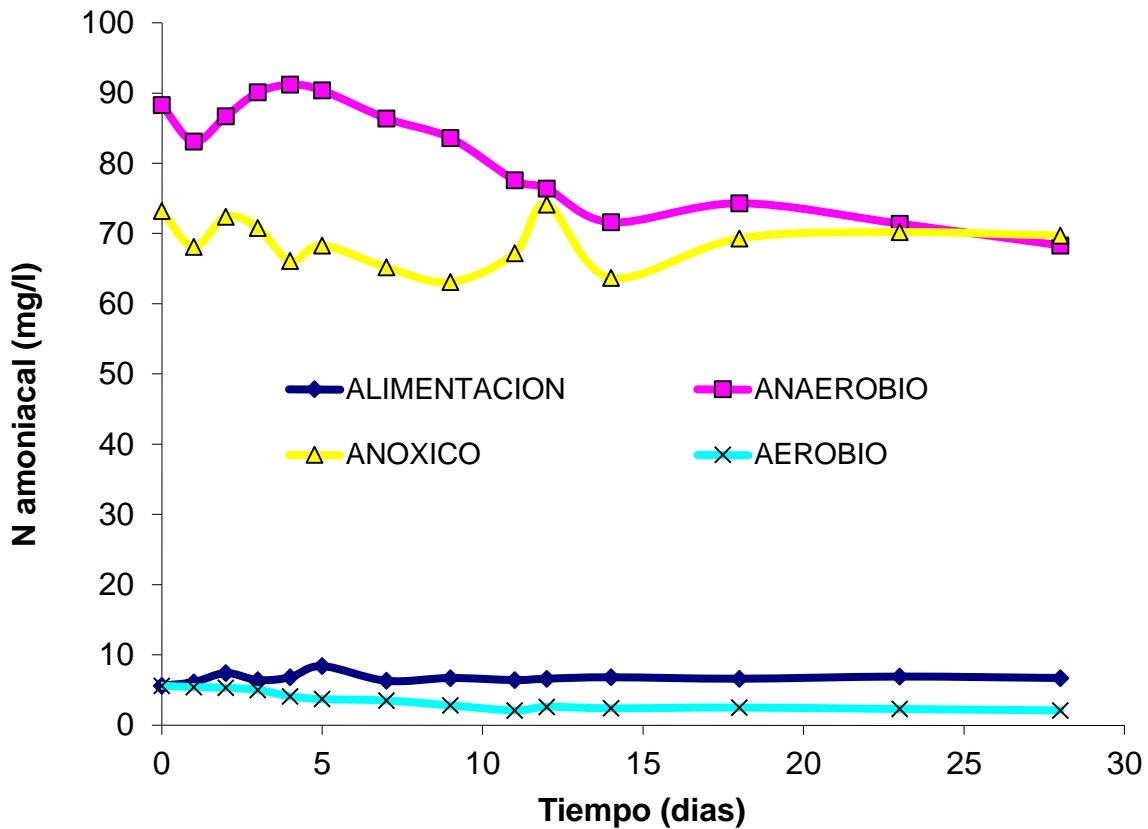


Figura 37. Seguimiento del nitrógeno amoniacal en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la adición de fenol se muestra una disminución del contaminante en esta etapa.

3.10 Medición del potencial de óxido-reducción

El control en la velocidad de recirculación se dio por el seguimiento del ORP, manteniendo un valor de -340mV en la etapa anaerobia, -380mV en la etapa anóxica y 45mV en la etapa aerobia. Con esto se obtuvo un buen rendimiento en la eficiencia de la remoción de nitrógeno. La figura (38) muestra el seguimiento del ORP por etapas, durante la adición de fenol. Las etapas anaerobias y anóxica mantuvieron su potencial reductor y la etapa aerobia su capacidad oxidante.

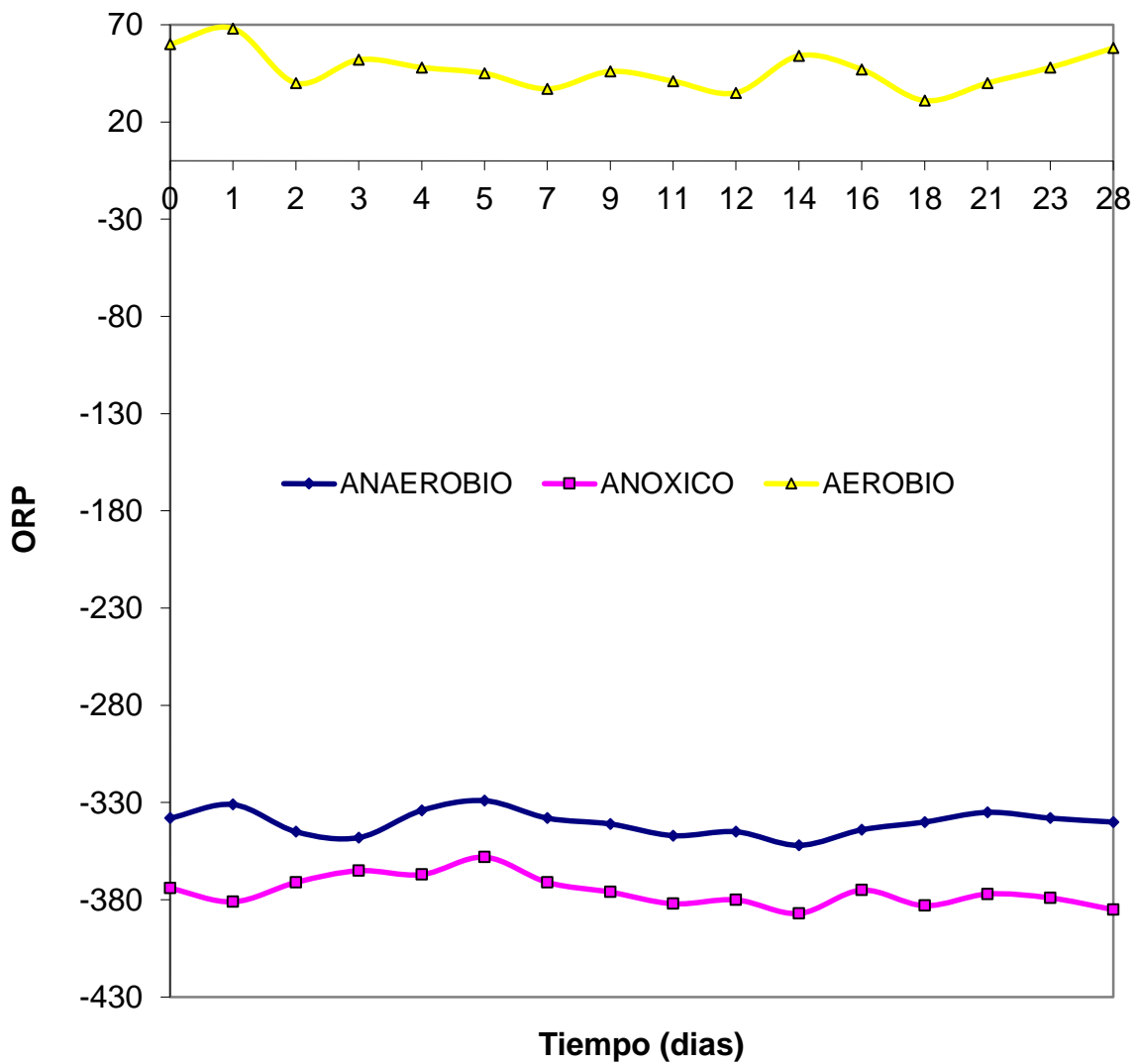


Figura 38. Control del ORP para la eliminación de nutrientes en las etapas anaerobia-anóxica-aerobia, durante la adición de fenol.

3.11 Eliminación de fenol

Los resultados realizados por cromatografía de líquidos (HPLC) son los siguientes:

Curva de calibración:

Tabla 16. Datos obtenidos para la curva de calibración del HPLC.

Concentración de fenol, ppm	Area bajo la curva	Tiempo de retención (min)
25	4075	4.752
50	8357	4.774
75	12712	4.817
100	19662	4.787

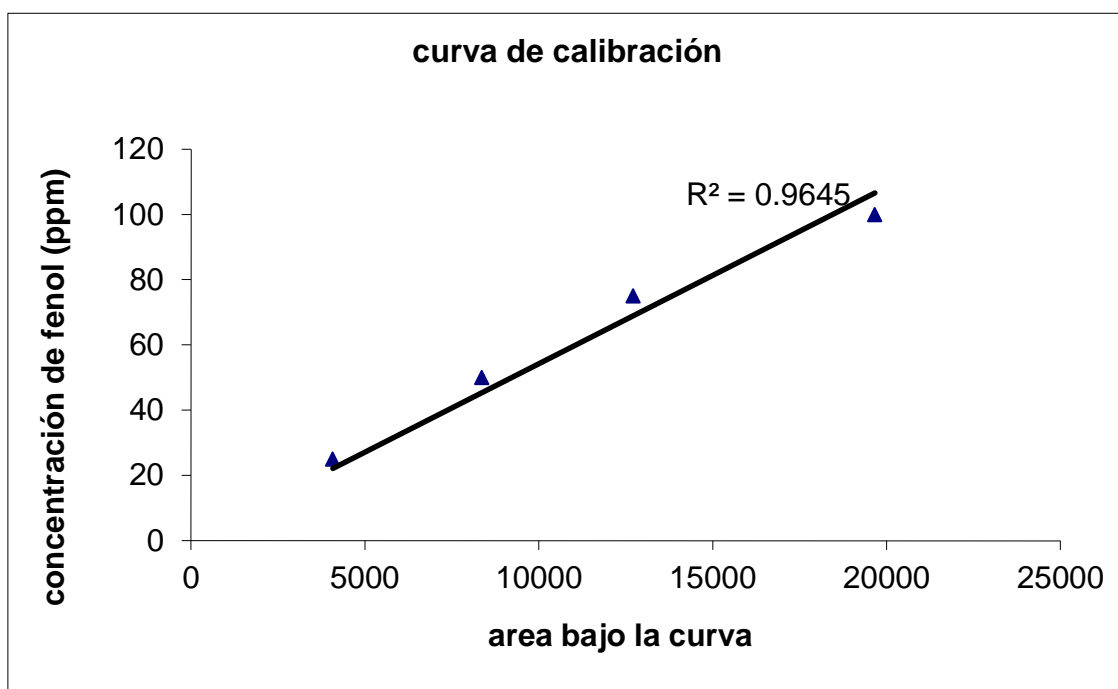


Figura39. Curva de calibración del HPLC.

La determinación de fenol en el sistema anaerobio-anóxico-aerobio fue:

Tabla 17. Resultados de la degradación de fenol.

Etapa	Área bajo la curva	Concentración de fenol (ppm)
Alimentación	4477	27.4
Anaerobia	2502	15.3
Anóxica	1432	8.7
Aerobia	-	>5

La etapa con mayor degradación de fenol es la etapa anaerobia, con una remoción del 44%, la etapa anóxica con una remoción del 31% y con una degradación en el proceso completo de aproximadamente 99.5%. Como la concentración de fenol en la descarga fue muy baja, se utilizó el método de la 2,4 aminoantipiridina que tiene un rango de detección de 0-5mg/L dando una concentración final de 0.85mg/L.

Los resultados globales de la eliminación simultanea de nutrientes y fenol a través del sistema anaerobio-anóxico-aerobio se muestran en la siguiente tabla (concentraciones en mg/L), que son los resultados promedio y en estado estable.

Tabla 18. Resultados globales de la eliminación simultanea de nutrientes y fenol a través del sistema anaerobio-anóxico-aerobio.

	Alimentación	Anaerobia	Anóxica	Aerobia
DQO	3120	1440	560	18
Fósforo	12.5	8.2	7.3	2.3
Nitrógeno total	180	80	70	10
Nitrógeno am	6.7	71.4	69.7	2.3
Fenol	27.4	15.3	8.7	0.85

3.12 IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA

Bacterias aisladas e identificadas antes de agregar los compuestos fenólicos

Antes de introducir los compuestos fenólicos en cada una de las etapas se aislaron e identificaron las bacterias anaerobias y aerobias facultativas más abundantes, las cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 19. Bacterias identificadas antes de introducir los compuestos fenólicos.

Etapa anaerobia	Etapa anóxica	Etapa aerobia
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Citrobacter koseri/farmeri</i>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	<i>Kluyvera spp</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Citrobacter koseri/farmeri</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Klebsiella planticola</i>	<i>Acitenobacter</i>
<i>Kluyvera spp</i>	<i>Kluyvera spp</i>	

Como se observa, la mayoría de las bacterias son gram (-) en especial enterobacterias, este tipo de bacterias no es frecuente encontrarlas como dominantes en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Es probable que la presencia de estas bacterias se daba al tipo de lodos activados anaerobios usados en este trabajo, ya que estos provienen de una planta de tratamiento de una industria procesadora de malta. Hay informes de que estas bacterias son comunes en el proceso de descomposición de los desechos de la cerveza por lo que su presencia está justificada.

Las bacterias anaerobias estrictas fueron detectadas por la producción de biogas, en su equivalente en la degradación de DQO por que en las etapas anaerobias y anóxica no se obtuvo generación de lodos en exceso.

Los resultados muestran las bacterias “predominantes” en cada una de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia. Son del género, *Klebsiella*

Las bacterias del género *Acitenobacter* remueven eficientemente el fósforo por lo que se encontraron en la etapa aerobia del proceso ya que en esta etapa se remueve una gran cantidad de fósforo.

3.12.1 Bacterias aisladas e identificadas después de agregar los compuestos fenólicos.

Después de que el sistema alcanzó el estado estable, se introdujeron los compuestos fenólicos, observándose un cambio en las especies bacterianas predominantes en cada una de las etapas del proceso como se indica a continuación:

Tabla 20. Bacterias identificadas después de introducir los compuestos fenólicos.

ANAEROBIA	ANOXICA	AEROBIA
<i>Enterobacter Cloacae</i>	<i>Enterobacter Cloacae</i>	<i>Enterobacter Cloacae</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas hidrophila</i>	<i>Flavomonas oryzihabitants</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	<i>Kluyvera.spp.</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>

Una vez que se aislaron las bacterias e identificaron después de introducir los compuestos fenólicos aparece también la necesidad de saber cuáles son las bacterias selectivas para degradar fenol y 2, 4, 6, triclorofenol. Haciendo un medio de cultivo adecuado es decir que unos contienen fenol y otros 2, 4,6 triclorofenol al hacer una presión de selección se lograron identificar las siguientes bacterias.

Tabla 21. Bacterias que crecieron en un medio selectivo de fenol y 2,4,6, triclorofenol.

Anaerobio	Anóxica	Aerobia
<i>Enterobacter Cloacae</i>	<i>Enterobacter Cloacae</i>	<i>Enterobacter Cloacae</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Flavomonas oryzihabitants</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>

Tanto *Enterobacter cloacae* y *Aeromonas hydrophilica*. se encontraron en mayor cantidad como degradadoras de fenol y en menor cantidad como degradadoras de 2,4,6, triclorofenol.

Por el contrario *Pseudomonas fluorescens/putida* se encontraron en mayor cantidad como degradadoras de 2,4,6 triclorofenol y en menor cantidad como degradadoras de fenol. En la etapa anaerobia se observó la mayor cantidad de estas bacterias y en la anóxica la menor cantidad. En la etapa aerobia predomina *Enterobacter cloacae*. Esto se debe a que el fenol y 2,4,6, triclorofenol entran en mayor cantidad en la etapa anaerobia y conforme pasan estos compuestos a través del sistema su concentración va disminuyendo, por lo tanto la cantidad de estas bacterias no es tan grande como en la etapa anaerobia. Las bacterias *Flavomonas oryzihabitans* presentes en la etapa aerobia se encuentran en muy poca cantidad, posiblemente debido al proceso de adaptación y crecimiento de este tipo de bacterias al introducir los compuestos fenólicos.

3.12.2 Identificación de protozoarios antes de agregar los compuestos fenólicos

Los protozoarios encontrados antes de agregar los compuestos fenólicos en cada una de las etapas anaerobia-anóxica-aerobia fueron las siguientes:

Tabla 22. Identificación de protozoarios antes de introducir los compuestos fenólicos.

Anaerobia	Anóxica	Aerobia
<i>Paramecium</i> <i>Cercobodo crassicauda</i>	<i>Paramecium</i> <i>Cercobodo crassicauda</i>	<i>Vorticella spp.</i>

3.12.3 Identificación de protozoarios después de agregar los compuestos fenólicos

Los protozoarios identificados después de introducir los compuestos fenólicos y mantenerse en estado estable se muestran en la tabla 23.

Tabla 23. Identificación de protozoarios después de introducir los compuestos fenólicos.

Anaerobia	Anóxica	Aerobia
<i>Paramecium aurelia</i> <i>Paramecium caudatum</i> <i>Chilodonella</i> <i>Paraurostyla</i> <i>Thecamoeba spp.</i> <i>Litonotus</i> <i>Amphileptus</i> <i>Cercobodo crassicauda</i> <i>Euplotes spp.</i> <i>Colpidium spp</i> <i>Trachelophillum pusillum.</i>	<i>Paramecium spp.</i> <i>Litonotus</i> <i>Cercobodo crassicauda</i> <i>Euplotes spp.</i> <i>Colpidium spp.</i> <i>Thecamoeba spp.</i>	<i>Paramecium spp.</i> <i>Euplotes spp.</i> <i>Vorticella fromenteli</i> <i>Vorticella microstoma</i> <i>Habrotrocha spp.</i> <i>Philodina spp.</i>

3.12.4 Identificación de hongos

Antes de introducir los compuestos fenólicos no se detectó algún crecimiento importante de hongos, pero después de introducir los compuestos fenólicos se observó el crecimiento de hongos, este hongo también creció en el 2XYT que fue utilizado para bacterias como también en PDA. El hongo fue detectado en la etapa anaerobia y anóxica. Por lo tanto se utilizó una galería para la identificación del hongo. Los resultados mostraron que se trata de *Candida silvícola*.

Imágenes para la identificación de protozoarios

Figura 40. *Paramecium aurelia* 120-180 μ m

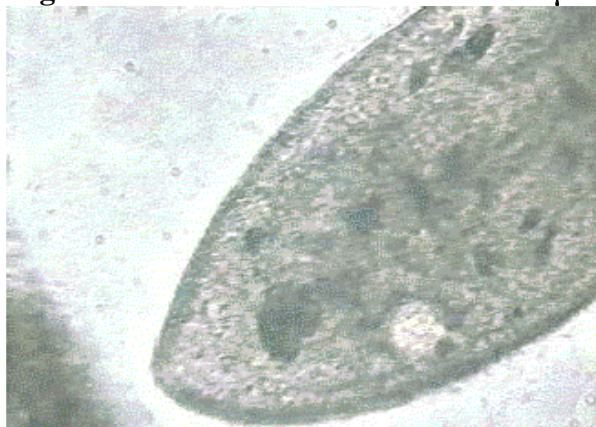


Figura 41. *Paramecium Caudatum* 180-300 μ m



Figura 42. *Chilodonella* 130-150 μ m



FLAGELADO Figura 43. *Cercobodo crassicauda* ó *Pleuromonas jaculans*



Figura 44. *Paraurostyla weissei* 250 μ m



Figura 45. *Thecamoeba* spp. 100-175 μ m

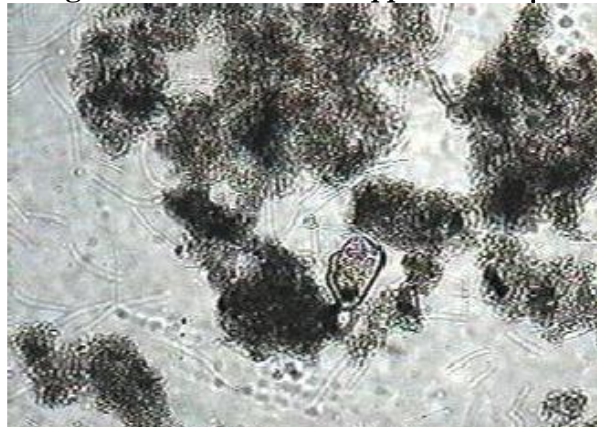


Figura 46. *Litonotus* y *Amphileptus* 130 μ m

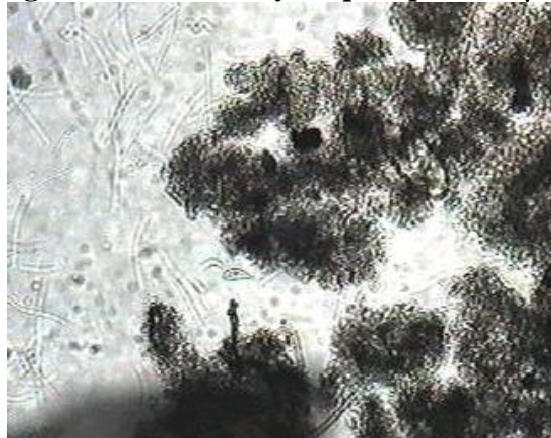


Figura 47. *Colpidium* spp.



Figura 48. *Trachelophyllum pusillum*



CILIADO Figura 49. *Euplotes moebiusi*



ROTÍFERO Figura 50. *Habrotrocha sp.*



Figura 51. *Philodina sp.*



CILIADO Figura 52. *Vorticella fromenteli*





CILIADO **Figura 53.** *Vorticella microstoma*



CONCLUSIONES

1. La eliminación de nutrientes no se vio afectada negativamente por la adición de fenol. Encontrando que el rendimiento del sistema para eliminar nutrientes aumento. La eliminación de fenol de aproximadamente el 90%. Se encontró que la etapa anaerobia es clave para el sistema, ya que tiene gran capacidad de remover fenol y nutrientes.

Resultados globales del sistema de tratamiento al introducir fenol.

Parámetro	Entrada	Salida
DQO (mg/l)	3120	18
Ntotal (mg/l)	180	>15
P ortofosfatos (mg/l)	12	3
Namoniacal (mg/l)	6	4
Fenol (mg/l)	27	0.85

Límites máximos permisibles para contaminantes básicos, metales pesados y cianuros.

CUERPOS RECEPTORES

Parámetros Mg/l	Ríos con uso en riego agrícola; acuíferos	Aguas costeras con explotación pesquera, navegación y otros usos.	Suelo con uso en riego agrícola	Ríos con uso público urbano; acuíferos	Embalses naturales y artificiales con uso en riego agrícola	Aguas costeras con uso en recreación	Estuarios	Humedales naturales	Ríos con uso en protección de vida acuática Embalses naturales y artificiales con uso público urbano, acuíferos
DBO ₅	150	150	N.A	75.0	75.0	75.0	75.0	75.0	30.0
Nitrógeno Total	40.0	N.A	N.A.	40.0	40.0	N.A.	15.0	N.A	15.0
Fósforo Total	20.0	N.A	N.A	20.0	20.0	N.A.	5.0	N.A	5.0

2. Los resultados muestran que al introducir los compuestos fenólicos se hace una presión de selección de especies que toleran estos compuestos, apareciendo *Pseudomonas* en las etapas aerobia-anóxica las cuales no se detectaron antes de

introducir los compuestos fenólicos, *Enterobacter cloacae* aparece en las etapas anaerobia y anóxica como dominantes siendo ya identificada en la etapa aerobia, *Aeromonas hydrophila* aparecen en las etapas anaerobia y anóxica con una presencia importante la cual tampoco se detectó antes de introducir los compuestos fenólicos, *Klebsiella oxytoca* mantiene su presencia en la etapa anóxica y *kluyvera spp.* mantiene su presencia en la etapa aerobia.

3. Las otras enterobacterias que fueron detectadas antes de introducir los compuestos fenólicos ya no se detectaron, esto no quiere decir que forzosamente hayan desaparecido, sino que su presencia ya no es importante. Hay informes de que *Aeromonas*, *Klebsiella* y *Enterobacter cloacae* tienen la capacidad de metabolizar compuestos fenólicos por lo que no es extraño que aparezcan en el momento en que se introduce una presión de selección como es la presencia de contaminantes refractarios.
4. La variedad de protozoarios identificados antes de introducir los compuestos fenólicos no es muy abundante, donde predominan en las etapas anaerobia y anóxica *Paramecium*, y en la etapa aerobia hay muy pocas especies como son *Vorticella*. Esto no indica que se tenga mala operación del proceso de tratamiento, dado que la presencia de *paramecium* como *vorticella* son indicadores de buenas calidades de efluentes como indica la literatura.

APENDICE

Métodos de análisis para determinar los parámetros de calidad del agua.

Demanda Química de Oxígeno

Objetivo.

Determinación de la presencia de materia orgánica químicamente oxidable en agua por los métodos colorimétrico y por titulación.

Fundamento.

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) es la medida de la cantidad de oxígeno molecular requerido para oxidar la materia orgánica presente en una muestra de agua, bajo condiciones oxidantes generadas por el dicromato de potasio en medio ácido, a una temperatura de 150°C y en un periodo de digestión o reflujo de 2 horas. *La DQO nos da la medida de la materia orgánica biodegradable y no biodegradable presente en el agua. Por ejemplo, en el caso de aguas de desecho industrial, se tiene materiales tóxicos no biodegradables, la DQO nos da la medida de oxígeno equivalente necesario para llevar a cabo dicha oxidación de forma química. Esta medida, cuando se aplica a aguas residuales urbanas, puede ser un indicativo indirecto de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) que se requiere para degradar biológicamente a la materia orgánica en condiciones de incubación especiales, que por lo general es la “tercera o quinta” parte del valor de la DQO.*

En el método, la digestión con dicromato es catalizada con sulfato de plata, y en ocasiones, se utiliza iones mercurícos para la eliminación de las interferencias por cloruros. Después de la digestión, el exceso de dicromato no utilizado, es titulado con una solución estándar de sulfato ferroso amoniacal (FAS) utilizando un indicador de ferroina. La cantidad de oxígeno utilizada se calculará en base a la diferencia con respecto a un blanco.

La digestión para determinar la DQO, llevada con dicromato de potasio no alcanza a oxidar los siguientes tipos de compuestos: hidrocarburos de cadenas alifáticas lineales

polimerizadas, como el polietileno en partículas, polipropileno; algunos hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno, naftaleno, antraceno piridina. Sin embargo, si son degradados los jabones, ácidos grasos, proteínas carbohidratos, material celulósico.

Tiempo aproximado: 2 h. 30min.

Medidas de seguridad: Se tiene tener mucha precaución al manejar la solución de dicromato de potasio en medio ácido ya que es tóxica, oxidante y corrosiva, se debe evitar todo contacto con esta solución con cualquier parte del cuerpo. La dosificación debe hacerse en la campana, evitando cualquier derrame. Los desechos generados deberán guardarse en un frasco especial para residuos para su posterior tratamiento y disposición ya que se considera un residuo peligroso.

Reactivos

Reactivo de digestión.

Solución estándar de dicromato de potasio.

Solución de sulfato ferroso amoniacal.(FAS).

Indicador de ferroina.

Ftalato ácido de potasio

Método experimental

1. En un vial limpio y seco, colocar la muestra posteriormente agregar la solución digestora de potasio y luego la solución ácida, de acuerdo a la siguiente tabla dependiendo del volumen de los viales:

Volumen total	Muestra	Sol. Digestora de Dicromato de Potasio	Sol. de Ácido Sulfúrico
---------------	---------	---	----------------------------

7.5 ml	2.5 ml	1.5 ml	3.5ml
15 ml	5 ml	3 ml	7 ml
22.5 ml	7.5 ml	4.5 ml	10.5 ml

Al agregar la solución de ácido sulfúrico, debe de hacerse lentamente y dejarla caer lentamente por las paredes del tubo ya que ocurre una reacción exotérmica por lo tanto deben utilizarse guantes de seguridad. Si la muestra está muy concentrada y al añadirle los reactivos toma una coloración verde antes del proceso de digestión, debe realizarse una dilución, la coloración es amarilla durante la digestión.

Vertir varias ocasiones el vial para mezclar perfectamente los reactivos.

2. Prepara otra muestra igual, pero esta vez utilizando agua destilada en lugar de la muestra. Esta será nuestro blanco.
3. Colocar el vial en el digestor y calentar la reacción a 150°C durante 2 horas.
4. Ya que ha transcurrido ese tiempo se deja enfriar y se transfiere el contenido en un matraz erlenmeyer de 25ml. Se enjuaga 2 veces con dos porciones de agua destilada y se transfiere al matraz.
5. Añadirle de 1 a 2 gotas de indicador ferroina a cada matraz.

Titular con una solución de sulfato ferroso amoniacal utilizando micropipetas hasta que la solución pase de color verde a café rojizo en el punto de vire. Cuando se presenta un cambio de verde a azul verde indica que el punto de vire esta muy cercano.

6. Calcular el valor de la DQO utilizando la siguiente ecuación:

$$DQO = (A - B)(8.0 \text{ mg/peso equiv})(M \text{ FAS})(1000 \text{ ml/l}) / \text{Volumen de la muestra en ml}$$

A = Volumen de titulante para el blanco en ml.

B = Volumen de titulante para la muestra en ml.

M FAS = Molaridad de la solución titulante FAS (0.1)

La DQO se expresa en = mg/l de oxígeno.

7. Para el método colorimétrico se ingresa el programa 2720 del espectrofotómetro, a una longitud de onda de 620 nm.

2 b. Fósforo

Objetivo:

Determinación de la presencia de ortofosfatos en agua por método de formación de complejo con azul de molibdato.

Fundamento:

El fósforo presente en diferentes formas, tanto en aguas residuales como en aguas de desecho. El fosfato es el término químico para las diferentes combinaciones entre el fósforo y el oxígeno. La más abundante y frecuente es la forma soluble conocida como ortofosfato, (PO_4^- ⁻³). La presencia de este anión deriva de descargas de aguas domésticas e industriales con alto contenido de material biodegradable conteniendo fósforo, como son las proteínas y detergentes que normalmente tiene altas concentraciones de fosfato, en la función de ablandar el agua y facilitar el proceso de lavado. También los fosfatos pueden estar presentes por los arrastres de lluvia, de fertilizantes agrícolas o de disolución de rocas fosfóricas.

La mayoría de los detergentes sintéticos contienen grandes cantidades de fosfatos como aditivos. Se considera que al sustituir el uso del jabón por los detergentes se aumentó en 200% a 300% la concentración de fósforo inorgánico en el agua superficial del planeta.

El método analítico para determinar la presencia de fosfato soluble es mediante la reacción con molibdato de amonio en medio ácido, lo que produce ácido fosfomolibdico, que después es reducido con cloruro estañoso, para formar un complejo azul. La intensidad de la coloración generada es proporcional a la concentración de ortofosfato presente.

Tiempo aproximado: 45 min.

Medidas de seguridad:

Las precauciones que se deben tener al manejar las soluciones ácidas y básicas, así como el reactivo de molibdato, son las normales al manejar materiales corrosivos. Los desechos generados deberán guardarse en un frasco especial para residuos y una vez que se han neutralizados podrán ser descargados al drenaje.

Reactivos

Solución estándar de fosfatos

Solución de ácido clorhídrico

Indicador fenolftaleína.

Reactivo de molibdato de amonio

Reactivo de cloruro estañoso.

Solución de carbonato de sodio

Procedimiento:

NOTA: Preparar casi simultáneamente cinco muestras siguiendo la técnica que aparece a continuación, una de solución estándar de fosfatos al 100%, otra al 50%, y otra al 30%, diluyendo con agua desionizada, otra con la muestra problema, y otra con agua desionizada.

1. Tomar con una pipeta graduada 0.5ml de muestra y colocarla en un matraz aforado de 10ml. Aforar a 10 ml con agua desionizada y mezclar perfectamente bien.
2. Vaciar la muestra en un matraz erlenmeyer de 25ml, añadir una gota de fenolftaleina y ajustar al vire (desaparición de color) añadiendo una gota o más de ácido diluido.

Si no se observa coloración previa al vire, agregar unas gotas de base (Solución de carbonato de sodio hasta que aparezca el color rosa) posteriormente, añadir unas gotas de ácido diluido hasta llegar a su desaparición.

3. Agregar 0.4ml de reactivo de molibdato de amonio, mezclar y después agregar 2 gotas de cloruro estañoso. Mezclar y dejar reaccionar 10min.
4. En caso de contar con un espectrofotómetro, construir la curva de calibración con la escala de estándares de fosfatos, trabajando a una longitud de onda de 690nm. Ajustar al 100% de transmitancia con agua desionizada. Antes de que se excedan los 12min de desarrollado el color hacer las mediciones de cada estándar y de cada muestra.

2 c. Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅)

Objetivo.

Determinar el oxígeno gastado en la descomposición biológica de una muestra residual.

Fundamento:

La DBO₅ definida como la cantidad de oxígeno molecular que es requerido, durante un periodo específico de incubación, para la degradación biológica de la materia orgánica los microorganismos requieren de oxígeno para oxidar el material orgánico como también compuestos de azufre y hierro. El periodo de incubación que se utiliza de manera estándar es de 5 días a una temperatura de 20 °C. La determinación de la DBO₅ se realiza midiendo el oxígeno disuelto inicial y final del periodo de incubación, de tal manera que la diferencia entre estos valores sirven para el cálculo de la DBO₅. Debido al crecimiento de los microorganismos, estos requieren nutrientes como nitrógeno, fósforo y minerales, estos son añadidos a la muestra, a su vez esta es amortiguada para asegurar que el pH de muestra incubada permanezca a un rango neutral para el crecimiento microbiano.

Material y equipo

- Botellas Winkler o Wheaton de 300ml.
- Medidor de Oxígeno Disuelto
- Incubadora
- Medidor de pH
- Bomba para airear

Reactivos

- Solución amortiguadora de fosfatos.
- Solución de sulfato de magnesio.
- Solución de cloruro de calcio.
- Solución de cloruro férrico.
- Solución de ácido sulfúrico 0.1N.
- Solución de hidróxido de sodio 0.1N.

Procedimiento.

-
1. Preparación del agua de dilución:
 - a) La cantidad de agua de dilución que se prepara depende del número de pruebas que se vayan a realizar.
 - b) En un matraz aforado de 1lt se agregan 1ml de cada una de las siguientes soluciones: solución amortiguadora de fosfatos, solución de sulfato de magnesio, solución de cloruro de calcio y solución de cloruro férrico (y aforar a un litro con agua destilada).
 - c) Se debe llevar el agua de dilución a una temperatura de 20C antes de su uso y airearse durante 30min, para aumentar el contenido de oxígeno disuelto hasta el punto de sobresaturación.
 2. Las muestras alcalinas o ácidas deben neutralizarse a un pH entre 6.5 y 7.5 con soluciones de ácido sulfúrico ó hidróxido de sodio. No diluir la muestra mas del 0.5%.
 3. Se debe efectuar, como mínimo, dos diluciones diferentes para cada muestra. Las diluciones recomendadas son entre 0.1% y 1.0%.
 4. Se colocan directamente en botellas Wheton los volúmenes apropiados de la muestra, para la dilución que se va a realizar, esto se realiza utilizando una pipeta volumétrica.
 5. Se llena el resto de la botella con agua de dilución suficiente para que, al colocar el tapón, éste desplace todo el aire sin dejar burbujas.
 6. Se mide la cantidad de oxígeno disuelto inmediatamente después de haber agregado el agua de dilución, y esta medición se registra como OD₁. Se debe remplazar cualquier contenido de la botella que haya sido desplazado con agua de dilución para mantener el sello hidráulico. Se debe tener cuidado en enjuagar el electrodo entre cada medición de oxígeno disuelto para evitar cualquier contaminación de las muestras.
 7. Se deja incubar la botella durante 5 días a 20C y en obscuridad.
 8. Se determina la cantidad de Oxígeno disuelto después del periodo de incubación, este se registra como OD₂.

Calculos:

$DBO_5 \text{ (mg/l)} = OD_1 - OD_2 / \% \text{ dilución}$

$\% \text{ dilución} = \text{Volumen de la muestra en (ml)} / \text{Volumen de la botella (ml)}$

2 d. Nitrógeno total

Objetivo:

Determinar la presencia de nitrógeno total en una muestra por medio de una digestión alcalina con persulfato.

Introducción:

El nitrógeno total en una muestra está conformada por nitratos, nitritos, nitrógeno amoniacal y nitrógeno orgánico, cada una de estas formas son interconvertibles bioquímicamente al igual que el nitrógeno molecular.

Se realiza una digestión alcalina con persulfato que convierte todas las formas de nitrógeno a nitrato. Después de la digestión se añade metasulfito de sodio para eliminar interferencias causadas por óxidos halogenados. El nitrato reacciona con el ácido cromotrópico bajo condiciones fuertemente ácidas para formar un complejo amarillo con una absorbancia máxima a 410nm. Material y equipo

- Digestor Hach.
- Espectrofotómetro (DR/4000 Hach)

Reactivos

Reactivos Hach 26722-00 para la determinación de nitrógeno total:

- Viales de hidróxido para nitrógeno total, 0.1N.

-
- Reactivo en polvo de persulfato de nitrógeno total.
 - Reactivo de polvo A para nitrógeno total.
 - Reactivo de polvo B para nitrógeno total.
 - Viales de reactivo C para nitrógeno total.

Procedimiento:

1. Calentar el digestor entre 103 y 106 C.
2. Utilizando un embudo, añadir el contenido de uno de los sobres con reactivo de polvo de persulfato a cada uno de dos viales de hidróxido. Se debe limpiar cualquier cantidad de reactivo que pudiera haber quedado en la tapa.
3. Añadir dos mililitros de muestra a uno de los viales y al otro añadirle dos mililitros de agua destilada, este último será el blanco. Tapar ambos viales y agitar vigorosamente por más de 30 segundos, poner los viales en el reactor y calentar por 30 minutos. El reactivo de persulfato puede no disolverse totalmente después del mezclado.
4. Remover los viales calientes del digestor y dejar que alcancen la temperatura ambiente. Es importante remover los viales del reactor exactamente después de 30 minutos.
5. Se ingresa el programa número 2558 al espectrofotómetro, este programa selecciona automáticamente la longitud de onda de 410nm.
6. Remover las tapas de los viales y añadir a cada uno el contenido de uno de los sobres con el reactivo en polvo A para nitrógeno total. Se vuelven a tapar los viales y se agitan vigorosamente durante 15 segundos.
7. Se deja pasar un periodo de reacción de 3 minutos después del cual se vuelven a destapar los viales y se les añade a cada uno el contenido de uno de los sobres con reactivo en polvo B para el nitrógeno total. Se tapan los viales y se agitan de nuevo vigorosamente durante 15 segundos.

-
8. Se deja pasar un periodo de reacción de 2 minutos después de la agitación, El reactivo no se disolverá totalmente y la solución comenzara a tornarse de color amarillo.
 9. Después de este periodo de reacción se destapan dos viales de reactivo C para nitrógeno total, a uno de los cuales se le agregan dos mililitros de la muestra tratada y al otro vial se le agregan dos mililitros de blanco tratado.
 10. Se tapan los viales y se vierten diez veces para mezclar su contenido. Se debe usar movimientos lentos para asegurar una inversión total del líquido dentro del vial, cada inversión toma alrededor de tres segundos, por lo que se mezclarán los viales aproximadamente 30 segundos. Se debe tener cuidado ya que los viales se calentarán.
 11. Se deja pasar un periodo de reacción de 5 minutos en el cual el color amarillo se intensificará. Una vez pasado el periodo de reacción se debe limpiar por afuera los viales con un trapo limpio y seco.
 12. Se coloca el vial con el blanco en el espectrofotómetro y se presiona la tecla ZERO.
 13. Se coloca el vial con la muestra tratada en el espectrofotómetro y el resultado aparecerá en la pantalla en mg/l de nitrógeno total.

2 e. Nitrógeno amoniacal

Fundamento:

El nitrógeno amoniacal está presente de manera natural tanto en aguas residuales como ríos y lagos. Es producido en su mayoría por la desaminación de los compuestos que tienen nitrógeno orgánico y por la hidrólisis de la urea. Se encuentra en concentraciones menores a los 10µg/l en aguas naturales y en concentraciones mayores a los 30mg/l en las aguas residuales. En este método el estabilizador mineral acompleja la dureza de la muestra. El alcohol provinílico añade la formación de coloración en la reacción del reactivo de Nessler con los iones amonio. Se forma un color amarillo de manera proporcional a la concentración de amoniaco.

Equipo:

- Espectrofotómetro (DR/4000 HACH).

Reactivos

Reactivos HACH 24582-00 para la determinación de nitrógeno amoniacal:

- Reactivo de Nessler
- Estabilizador mineral
- Alcohol provinílico como agente dispersor

Procedimiento.

1. Se ingresa el programa número 2400 al espectrofotómetro, este programa selecciona automáticamente la longitud de onda de 425nm.
2. Se coloca 25ml de muestra en un matraz aforado y 25ml de agua en otro matraz de 25ml, está última servirá como blanco o como testigo.

-
3. Se añaden 3 gotas de estabilizador mineral a cada matraz. Se tapan y se vierten varias veces para mezclar los componentes.
 4. Se agregan 3 gotas de alcohol provinílico como agente dispersor a cada matraz. Se vuelve a tapar y a mezclar.
 5. Se añade 1ml de reactivo de Nessler a cada matraz, se tapa y se invierte para mezclar los componentes. Se debe de tener cuidado al manejar el reactivo de Nessler ya que es tóxico y corrosivo. En este punto se desarrollará un color amarillo en la muestra si es que se encuentra presente amoniaco.
 6. Se deja reaccionar durante 1 minuto mientras el cual se debe de poner a cada una de las soluciones en la celda.
 7. Una vez transcurrido el minuto anterior se coloca la celda del blanco en el espectrofotómetro.
 8. Se presiona la tecla ZERO del espectrofotómetro, el cual dará una lectura de 0.00 mg/l N-NH₃.
 9. Se coloca la celda con la muestra en el espectrofotómetro, los resultados se encuentran expresados en mg/l N-NH₃, Mg/l NH₃ o mg/l NH₄. Se desarrollará este paso antes de que transcurran 15 minutos de realizado el paso 5.

2e. Determinación de sólidos suspendidos totales, volátiles y no volátiles..

Definición:

Los sólidos suspendidos totales son definidos como la porción de los sólidos totales contenidos en la muestra que son retenidos por un filtro de 20 μ m o menor. Los sólidos no volátiles son los sólidos que permanecen en el filtro después de someterlo a una temperatura de 550C. El término de sólidos volátiles es definido como la diferencia de peso de los sólidos suspendidos totales y el peso de los sólidos no volátiles.

Este método consiste en una filtración al vacío de la muestra, a continuación cierto volumen del filtrado y de la misma muestra sin filtrar son secados en un horno, la diferencia entre estas dos cantidades nos determina la cantidad de sólidos suspendidos totales. Los residuos son quemados en una mufla para determinar por diferencia de pesos los sólidos suspendidos volátiles.

Procedimiento.

1. Se debe poner los crisoles a peso constante, esto se logra colocando los crisoles en la estufa a 103C por una hora aproximadamente, después se deja enfriar en el desecador y se pesan, se repite este procedimiento al menos dos veces. Se considera que los crisoles están a peso constante cuando se tiene una diferencia de peso al 4%.
2. Una vez que se encuentra a peso constante los crisoles, se dejan enfriar los crisoles y se pesan en la balanza analítica, registrando el peso del crisol número 1 como W1T y el crisol del número 2 como W1,D.
3. En el crisol 1 se colocan 20ml de muestra sin filtrar.
4. Se filtra otra parte de la muestra al vacío, de tal modo que se obtenga un volumen de 20ml, el cual es puesto en el crisol número 2.
5. Se colocan los crisoles en la estufa a igual temperatura con el fin de evaporar el agua de la muestra, esto requiere aproximadamente 1hr.

-
6. Se sacan los crisoles de la estufa y se dejan enfriar en el desecador para lograr un balance entre temperatura y peso. Una vez fríos se pesan hasta obtener un peso constante. Se registra el peso del crisol número 1 como W_{2,T} el peso del crisol número 2 como W_{2,D}.
 7. Se procede a colocar los crisoles en la mufla a 550C para incinerar la muestra, esto se logra aproximadamente 40min. Se dejan enfriar los crisoles y se pesan, repitiendo el ciclo de la mufla y el desecador las veces necesarias para obtener un peso constante. Se registra el peso del crisol número 1 como W_{3,T} el peso del crisol número 2 como W_{3,D}.

Cálculos.

Sólidos totales (mg/l) = $(W_{2,T} - W_{1,T}) * 1000 * 1000 / \text{Volumen de la muestra (ml)}$

Sólidos disueltos (mg/l) = $(W_{2,D} - W_{1,D}) * 1000 * 1000 / \text{Volumen de muestra (ml)}$

Sólidos suspendidos (mg/l) = Sólidos totales – Sólidos disueltos

Sólidos no volátiles totales (mg/l) = $(W_{3,T} - W_{2,T}) * 1000 * 1000 / \text{Vol de muestra}$

Sólidos no volátiles suspendidos = Sólidos no volátiles totales – Sólidos no volátiles disueltos

Sólidos volátiles suspendidos = Sólidos suspendidos totales – Sólidos no volátiles suspendidos.

Dónde:

W_{1,T} = Peso del crisol donde se realiza la prueba con la muestra sin filtrar.

W_{1,D} = Peso del crisol donde se realiza la prueba con la muestra filtrada.

$W_{2,T}$ = Peso de la muestra seca sin filtrar + peso del crisol

$W_{2,D}$ = Peso de la muestra seca filtrada + peso del crisol.

$W_{3,T}$ = Peso de la muestra incinerada sin filtrar + peso del crisol.

$W_{3,D}$ = Peso de la muestra incinerada filtrada + peso del crisol.

BIBLIOGRAFÍA

Libros

Activated sludge “theory and practice”. N.F Gray, Oxford University Press, 1990.

How to know the protozoa, Theodore Louis Jahn; The pictured key nature series, 1979.

Microbial ecology “fundamentals and application” .Ronald M Atlas/Richard Bartha , The Benjamin/ Cummings publishing company, inc; 1987.

Protozoa and other protists, Michael Sleight; Edward Arnold a division of hodder, 1989.

Sistemas de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados. (tomo1,2,) Crites*Tchobanoglous; Mc. Gras Hill, 2000.

Standar Methods for Examination of water and wastewater; American public health association; APHA, 1997.

Artículos

Buitron G. Gonzalez., Biodegration of phenolic compounds by an acclimated activated sludge and isolated bacteria; Water Science and Technology; et al ; Vol 37, 1998.

Peter Holubar et al; Effects of bacterivorous ciliated protozoans on degradation efficiency of a petrochemical activated sludge process; Water Research, vol. 34, No 7, pp2051-2060; 2000.

R.P.X. Hesselmann, et al; Anaerobic metabolism of bacteria performing enhanced biological phosphate removal; Wat Res, vol 34 No14 pp 3487-3494; 2000.

Kazuya Watanabe, et al; Molecular detection, isolation, and physiological characterization of functionally dominant phenol-degrading bacteria in activated sludge; *Applied and Environmental Microbiology* vol, 64 No 11; pp 4396-4402, 1998.

Oscar Monroy, et al; Anaerobic digestion for wastewater treatment in México: State of the technology; *Wat Res*; vol 34 No 6 pp1803-1816; 2000.

The variation on the mutagenicity of CNP during anaerobic biodegradation; *Wat Res*, vol 35 No 11, pp 2589-2594; 2001.

A.P, Herrmann, et al; Degradation of natural polyphenols by methanogenic consortia enriched from digested municipal sludge; *Wat Res*, vol 35 No 11 pp 2575-2582; 2001.

Capabilities of biological nitrogen removal processes from wastewater; *Wat Sci Tech*, Vol 31, Kyoto, pp 669-679; 1991.

Piero Armenante et al; Anaerobic-Aerobic treatment of halogenated phenolic compounds; *Wat Res*, vol 33, No3, pp 681-692; 1999.

Evan W. Low, et al; Uncoupling of metabolism to reduce biomass production in the activated sludge process; *Wat Res*, vol 34, No 12, pp3204-3212; 2000.

C.K.Lo et al; Enhanced nutrient removal by oxidation-reduction potential (ORP) controlled aeration in a laboratory scale extended aeration treatment system; *Wat Res*, vol 28, No10, pp 2087-2094; 1994.

Z ning, et al; Chlorophenol sorption to anaerobic granules under dynamic conditions; *Wat Res*, vol 33, No 1, pp 180-188, 1997.

H. U. Nam; Enhanced biological nutrients removal using the combined fixed-film reactor with by pass flow; *Wat Res*, vol 34, No 5, pp 1570-1574, 2000.

Mulegeta Kibret , et al; Characterization of a phenol degrading mixed population by enzyme assay; *Wat Res*, vol 34, No 4, pp 1127-1134; 2000.

A. P. Herrmann; Cofermentation of rutin and hesperidin during two-stage anaerobic pre-treatment of high-loaded brewery wastewater; *Wat Res*, vol 35, No 11, pp 2583-2588; 2001.

Wendy M. Rostron et al; Nitrification of high strength ammonia wastewater comparative study of immobilization media; *Wat Res*, Vol 35, No 5, pp 1169-1178; 2001.

Fang Herbert et al; Degradation of phenol in wastewater in an upflow anaerobic sludge blanket reactor, *Wat Res.*, vol 30, pp 1353-1360.

Kumara and Paruchurf; Kinetics of phenol biotransformation, *Wat. Res.*, vol 31, pp 11-22, 1997.

Hung-Yuang et al; Nitrification of ammonia-nitrogen in refinery wastewater, *Wat Res.*, vol 27 , pp 1761-1765, 1993.

J. Morgan-Sagastume et al; anaerobic-anoxic-aerobic process with recycling and separated biomass for organic carbon and nitrogen removal from wastewater, *Environmental Technology* , vol 15, pp 233-245, 1993.

David G. Wareham, et al, Sludge digestion using ORP-regulated aerobic-anoxic cycles., *Wat Res*, vol 28, pp 373-384, 1994.