



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

**PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES**

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE DIFERENTES FUENTES DE CARBONO
EN EL COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS
FILAMENTOSOS EN UN REACTOR BIOLÓGICO SECUENCIAL**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

Q.F.B. CLAUDIA MARGARITA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. MARÍA GUADALUPE BARAJAS LÓPEZ
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ (UASLP)**

CODIRECTOR DE TESIS:

**DR. HUMBERT SALVADÓ CABRÉ
UNIVERSIDAD DE BARCELONA (UB)**

COMITÉ TUTELAR:

**DR. ANTONI ESCALAS CAÑELLAS
DR. ROBERTO BRIONES GALLARDO**

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE DIFERENTES FUENTES DE
CARBONO EN EL COMPORTAMIENTO DE LOS
MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS EN UN REACTOR
BIOLÓGICO SECUENCIAL**

CLAUDIA MARGARITA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

PROYECTO REALIZADO EN:

**EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES (LITAR) DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

CON FINANCIAMIENTO DE:

**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)
BECA-TESIS
(CONVENIO No. 206474)**

**PROYECTO FONDOS DE AYUDA A LA INVESTIGACIÓN (UASLP): CO7-FAI-11-34-70,
CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA Y CINÉTICA DE UN PROCESO DE LODOS
ACTIVADOS EN CONDICIONES DE ESPONJAMIENTO Y NO ESPONJAMIENTO.
RESPONSABLE: DRA MARÍA GUADALUPE BARAJAS LÓPEZ.**

**PROGRAMA INTEGRAL DE FORTALECIMIENTO INSTITUCIONAL DE LA UASLP: PIFI
3.2 Y 3.3, PLAN DE DESARROLLO DEL CUERPO ACADÉMICO DE TECNOLOGÍA
AMBIENTAL, PROYECTO P/CA-116-2006-24-36 Y P/CA-116-2007-24-42.**

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES ESTA INCLUIDA EN EL PADRÓN NACIONAL
DE POSGRADOS DEL CONACYT.**

A Dios
A mis padres, Rodolfo Martínez C. y
Ma. Estela Rodríguez A.

Agradecimientos

Primeramente quiero agradecer a Dios por permitirme concluir este trabajo y quien me acompaña día a día para enfrentar todo reto en mi camino.

A mis asesores por el interés y la disponibilidad que tuvieron hacia mi proyecto.

Dra. María Guadalupe Barajas López quien me abrió las puertas del Laboratorio, confió en mí y me brindó todo su apoyo para que pudiera concluir con mi trabajo. Gracias por todos los consejos y enseñanzas que a largo de este tiempo recibí de usted.

Dr. Antoni Escalas Cañellas por la disponibilidad que siempre tuvo para resolver mis dudas y quien también colaboró intensamente para que yo concluyera este trabajo.

Dr Roberto Briones Gallardo por el interés mostrado en este trabajo y los oportunos consejos durante mi formación.

Dr Humber Salvadó Cabré quien sin conocerme me abrió las puertas del Laboratorio de Protozoología de la Universidad de Barcelona y tuvo la disposición de enseñarme las técnicas de identificación de los microorganismos del lodo activado. Gracias Dr. Humbert por su colaboración y apoyo.

Al Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales por darme la oportunidad de lograr un objetivo más en mi formación académica.

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Sal Luis Potosí, pues sin las instalaciones del Laboratorio hubiese sido imposible concluir con mi trabajo experimental.

Al CONACYT por la beca otorgada durante este tiempo y por la beca otorgada para realizar mi estancia en la Universidad de Barcelona.

Al Dr. Juan Pedro Escobar Latapí director general de la empresa Grupo Proaqua SA de CV por las facilidades otorgadas para obtener muestras y permitir la utilización de los equipos del Laboratorio de la Planta de Tratamiento Tangamanga. Al Ing. Juan Manuel Olvera por apoyarme en todo momento para facilitar mi trabajo experimental. A la Q.F.B Miriam Hernández y a la I.Q. Guadalupe Díaz por facilitarme el uso del equipo del Laboratorio, y a todo el personal y operadores de la Planta por el interés mostrado y la recolección de las muestras del licor mezclado.

A mi familia por el amor y la paciencia brindadas y a quienes amo y respeto.

Mis padres, Rodolfo Martínez Cabrera y Ma. Estela Rodríguez Arredondo por su infinito apoyo en todo momento. Muchas gracias papa y mama por haber estado siempre presentes motivándome y dándome fuerzas para concluir con mi objetivo. Mil Gracias por todo, pues este logro también es de ustedes.

Mis hermanas, Ma. Del Pilar Martínez y Ma. Estela quienes siempre tuvieron una palabra de aliento en los momentos difíciles. Mis queridos sobrinos, Alejandro, Alejandra e Hiram quienes me llenaron de alegría cuando me sentía triste y estresada.

A mi compañero y amigo Oriol Canals por su paciencia al enseñarme la caracterización de los microorganismos del lodo activado y quien junto a una apreciada amiga, Vinciane Dethier hicieron grata mi estancia en Barcelona.

A la L.Q. María Natividad Martínez quien me apoyo en la experimentación de este trabajo, y a mis demás compañeros y amigos, Ángeles, Paty, Mariana, Lupita, Edith, Vero, Elsa, Natalia, Jose Luís, Boris e Israel.

Además, quiero agradecer a una persona que ha llegado a ser parte importante en mi vida y quien estuvo pendiente en los momentos difíciles y apoyando mi trabajo, Gracias Hermann.

A todos, muchas gracias.

Claudia

Símbolos, Abreviaturas y Siglas

Abun	Abundancia
AR	Agua residual
ARD	Agua residual doméstica
ARM	Agua residual municipal
ARS	Agua residual sintética
Área	área del cubreobjetos (m ²)
ASB	Albúmina de suero bovino
ABC	Área bajo la curva
ABC _{alm}	ABC correspondiente al segmento de eliminación de todo el sustrato fácilmente biodegradable
ABC _{obs}	ABC correspondiente al crecimiento
a/v	Relación superficie volumen
CIEP-FI	Centro de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería.
CNA	Comisión Nacional del Agua
CCP	Coeficiente de correlación Pearson
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)
DQO	Demanda química de oxígeno (mg/L)
DQOs	Demanda química de oxígeno soluble (mg/L)
DQOs _{t0}	DQOs al inicio de la respirometría (mg/L)
DQOs _{t1}	DQOs al término de la DQO _{FB} (mg/L)
DQOs _{t2}	DQOs al final de la respirometría
DQO _{ARS}	Demanda química de oxígeno del ARS (mg/L)
DQOs _{mez}	Demanda química de oxígeno soluble de la mezcla (mg/L)
DOQ _{AF}	Demanda química de oxígeno del afluente (mg/L)

DOQ _{EF}	Demanda química de oxígeno del efluente (mg/L)
DQO _{FB}	Demanda química de oxígeno fácilmente biodegradable (mg/L)
DN	Desnitrificación
EBN	Eliminación biológica de nutrientes
FA	Frecuencia de aparición (%)
FF	Formadores de flóculo
F/M	Carga másica (kg DQO/(kg SSVLM.d))
g _{BM}	Gramos de biomasa (g)
g _{SLB}	Gramos de sustrato lentamente biodegradable (g)
IVL	Índice volumétrico de lodos (mL/g)
K _s	Constante de afinidad del sustrato
K _A	Constante de inhibición por el sustrato (mg/L)
K _{NH₃}	Constante de inhibición por el amoníaco (mg/L)
K _{O₂}	Constante de saturación de O ₂ (mg/L)
LITAR	Laboratorio de Investigación en el Tratamiento de Aguas Residuales
LLE-ANOX	Fase de llenado agitado anóxico (h)
LLE-OX	Fase de llenado agitado con aireación (h)
LM	Licor mezclado
Lo	Longitud de los MF (m/mL)
MF	Microorganismos filamentosos
NH ₄ Cl	Cloruro de amonio
N	Nitrógeno
N ₂	Nitrógeno molecular
N-NH ₃	Amoníaco libre
NH ₄ ⁺	Amonio
N-NH ₄ ⁺	Nitrógeno amoniacal

NO_3^-	Nitrato
NO_2^-	Nitrito
N-NOx	Nitrógeno oxidado ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$)
NT	Nitrificación
NO	Monóxido de nitrógeno
No.int	Total de intersecciones de los MF en cada una de las preparaciones evaluadas
No. camp	Total de campos contados
NOA	Nitrógeno orgánico amonificable
O_2	Oxígeno
OD	Oxígeno disuelto (mg/L)
OD_c	Concentración crítica de oxígeno disuelto (mg/L)
ORP	Potencial óxido reducción
PHB	Gránulos de poli- β -hidroxibutirato
Poli-P	Gránulos de polifosfato
P- PO_4	Fósforo
PRS	Fósforo reactivo soluble
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
PTAR-I	Planta Tratadora de Aguas Residuales del Parque Tangamanga I
P	Fósforo
pH	Potencial de hidrógeno
Q_{llenado}	Caudal de llenado (L/h)
Q_{purga}	Caudal de purga (L/d)
r	radio del campo ocular (m)
RBS	Reactor Biológico Secuencial

REAC-OX	Fase de reacción agitada con aireación (h)
sen θ	Seno del ángulo
SED	Fase de sedimentación (h)
SS	Sólidos suspendidos (mg/L)
SST	Sólidos suspendidos totales (mg/L)
SST _{AF}	Sólidos suspendidos totales del afluente (mg/L)
SST _{EF}	Sólidos suspendidos totales del efluente (mg/L)
SSTLM	Sólidos suspendidos totales del licor mezclado (mg/L)
SSV	Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)
SSV _{AF}	Sólidos suspendidos volátiles del afluente (mg/L)
SSV _{EF}	Sólidos suspendidos volátiles del efluente (mg/L)
SSVLM	Sólidos suspendidos volátiles del licor mezclado (mg/L)
SFB	Sustrato fácilmente biodegradable
SLB	Sustrato lentamente biodegradable
TELF	Longitud total de filamentos extendidos (m/mL)
$t_{llenado}$	Tiempo de llenado (h)
TRC	Tiempo de retención celular (d)
TRH	Tiempo de retención hidráulica del tanque de aireación (d)
uma	Unidades de masa atómica
UASLP	Universidad Autónoma de San Luis Potosí
μ	Velocidad de crecimiento (1/d)
μ_{max}	Velocidad máxima de crecimiento
VAC	Fase de vaciado (h)
VCO	Velocidad de consumo de oxígeno (mg OD/L.h)
VECO	Velocidad específica de consumo de oxígeno (mg OD/g SSVLM.h)

$\int_{t_0}^{t_1} VCO(t)dt$ ABC correspondiente al almacenamiento (mg/L)

$\int_{t_0}^{t_2} VCO(t)dt$ ABC desde el inicio hasta el final de la respirometría (mg/L)

VEDN Velocidad de desnitrificación (mg N/g SSVLM.h)

VEN Velocidad de nitrificación (mg N/g SSVLM.h)

V_{30} Volumen que ocupa el lodo después de 30 min. de sedimentación (mL/L)

V_{ARS} Volumen del ARS (L)

$V_{intercambio}$ Volumen de intercambio (L)

V_{LM} Volumen de LM (L)

$V_{maxPTARI}$ Volumen máximo de la PTAR-I (L)

$V_{minPTARI}$ Volumen mínimo de la PTAR-I (L)

V_{maxRBS} Volumen máximo del RBS (L)

V_{minRBS} Volumen mínimo del RBS (L)

V_m Volumen de muestra (mL)

V_{RU} Volumen del reactor útil (L)

Y_{alm} Rendimiento de almacenamiento (kg DQO/kg DQO)

Y_{obs} Rendimiento de crecimiento (kg DQO/kg DQO)

Study of the influence of different carbon sources on the behavior of filamentous bacteria in a sequencing batch reactor

Abstract

The effect of two different readily biodegradable substrates (RBSs) and two slowly biodegradable substrates (SBSs) on activated sludge microorganisms was evaluated through the response of sludge volume index (SVI), removal efficiency of organic matter and nutrients, storage yield coefficient (Y_{sto}), biomass yield coefficient (Y_{obs}), and identification and quantification dominant filaments in each system evaluated. Acetate and sucrose were used as model RBSs, and starch and egg albumin as model SBSs. A laboratory-scale sequencing batch reactor (SBR) was fed with synthetic wastewater (SW), successively containing each substrate as sole carbon source. The experimental period was one month for each RBS and two months for each SBS.

The systems fed with acetate, sucrose and egg albumin presented filamentous bulking with mean IVL values of, respectively, 335, 471 and 113 mL/g. Microscopic observations indicated that bulking in RBS systems was caused by the growth of filaments Type 1701, *Nostocoida limicola* y *Sphaerotilus natans*, while in the system fed with egg albumin bulking was caused by Type 0041, *Haliscomenobacter hydrossis* and Type 0803.

Chemical oxygen demand (COD) removal efficiencies around 90% in both systems indicated that filamentous bacteria (FB) were able to compete with floc forming bacteria (FFB) for RBS and SBS. Furthermore, values of the specific oxygen uptake rate (SOUR) —lower in the bulking systems than in the starch-fed system—, indicated that FB had lower oxygen requirements than FFB.

Y_{sto} values in the bulking systems —similar to those in the full-scale system— indicated that storage was the mechanism used by FB to predominate over FFB and to resist the low substrate concentrations prevailing in all systems, as a low influent COD was used in this research (150 mg/L).

Estudio de la influencia de diferentes fuentes de carbono en el comportamiento de los microorganismos filamentosos en un reactor biológico secuencial

Resumen

Se evaluó el efecto de dos sustratos fácilmente biodegradables (SFB) y dos sustratos lentamente biodegradables (SLB) sobre los microorganismos del lodo activado, estudiando la respuesta del índice volumétrico de lodos (IVL), rendimientos de eliminación de materia orgánica y nutrientes, rendimientos de almacenamiento (Y_{alm}) y crecimiento (Y_{obs}), e identificando y cuantificando los microorganismos predominantes en cada sistema evaluado. El acetato y la sacarosa fueron usados como modelos de SFB, y el almidón y la albúmina de huevo como modelos de SLB. Se empleó un reactor biológico secuencial (RBS) a escala laboratorio, alimentado con agua residual sintética (ARS) conteniendo sucesivamente cada uno de los sustratos a evaluar como única fuente de carbono. El periodo de prueba para cada uno de los sustratos fue de un mes para cada SFB y de dos meses para cada SLB.

Los sistemas alimentados con acetato, sacarosa y albúmina de huevo desarrollaron esponjamiento filamentoso, presentando valores medios de IVL de 335, 471 y 113 mL/g, respectivamente. Las observaciones al microscopio mostraron que el esponjamiento en los sistemas alimentados con los SFB fue debido al crecimiento de los microorganismos filamentosos (MF) Tipo 1701, *Nostocoida limicola* y *Sphaerotilus natans*, mientras que en el sistema alimentado con albúmina de huevo los MF causantes del esponjamiento fueron el Tipo 0041, *Haliscomenobacter hydrossis* y Tipo 0803.

Los rendimientos de eliminación de la demanda química de oxígeno (DQO) alrededor del 90% en todos los sistemas, indicaron que los MF no únicamente fueron capaces de competir con los FF por el SFB, sino también por los SLB. Además, valores inferiores de la velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO) en los sistemas que presentaron esponjamiento filamentoso, e inferior a la VECO obtenida en el sistema con almidón, mostraron que los MF tuvieron menores requerimientos de OD que los FF.

Los valores de Y_{alm} obtenidos en los sistemas con esponjamiento filamentoso, comparables al valor de Y_{alm} obtenido en el sistema a escala real, indicaron que el almacenamiento de productos de reserva fue el mecanismo empleado por los MF para predominar sobre los FF y resistir las bajas concentraciones de sustrato que se favorecieron en todos los sistemas al utilizar en esta investigación una baja DQO afluente (150 mg/L).



Índice de contenidos

Capítulo 1. Introducción	1
Planteamiento	2
Justificación	3
Objetivo general	5
Objetivos particulares	5
Capítulo 2. Marco Teórico	7
2.1 El proceso de lodos activados	7
2.2 Microbiología del lodo activado	7
2.2.1 Microorganismos del grupo 1 de lodos activados	8
2.2.2 Microorganismos del grupo 2 de lodos activados	10
2.3 Estructura del flóculo del lodo activado	11
2.4 Disfunciones de la estructura del flóculo del lodo activado	11
2.5 Esponjamiento filamentoso	13
2.5.1 Causas del esponjamiento filamentoso del lodo activado	14
2.6 Hipótesis que explican el esponjamiento filamentoso del lodo activado	16
2.6.1 Selección basada en la difusión	16
2.6.2 Mecanismo de selección cinética	17
2.6.3 Fenómeno de almacenamiento	19
2.6.4 Monóxido de nitrógeno como causante del esponjamiento filamentoso	22
2.7 Sustrato lentamente biodegradable y esponjamiento filamentoso	23
Capítulo 3. Materiales y Métodos	27
3.1 Lugar de estudio	27
3.2 Metodología general	28



3.3 Descripción de las instalaciones utilizadas	31
3.3.1 RBS a escala laboratorio	31
3.3.1.1 Accesorios del prototipo experimental	32
3.3.1.2 Cálculo del volumen de trabajo del reactor	34
3.3.1.3 Cálculo del caudal de llenado y del volumen de purga de los lodos biológicos	36
3.3.1.4 Sistema automatizado de medición y control de los sensores del reactor	37
3.3.2 Configuración del ciclo de tratamiento	39
3.3.3 Fuentes de carbono e inóculo	40
3.3.3.1 Determinación de la relación DQO/peso de sacarosa, almidón y albúmina de huevo	42
3.4 Variables medidas y métodos de análisis del ARS	43
3.4.1 Medidas físicas	43
3.4.1.1 Temperatura	43
3.4.1.2 Sólidos suspendidos totales	43
3.4.1.3 Sólidos suspendidos volátiles	43
3.4.1.4 Índice volumétrico de lodos	44
3.4.1.5 Carga másica	44
3.4.2 Medidas químicas (componentes orgánicos e inorgánicos)	45
3.4.2.1 Potencial de hidrógeno	45
3.4.2.2 Oxígeno disuelto	45
3.4.2.3 Potencial óxido-reducción	45
3.4.2.4 Demanda química de oxígeno	45
3.4.2.5 Demanda química de oxígeno soluble	46
3.4.2.6 Nitrógeno amoniacal	46
3.4.2.7 Nitratos y nitritos (N-NOx)	46
3.4.2.8 Ortofosfato	46
3.4.3 Medidas biológicas	47
3.4.3.1 Microbiología del lodo activado	47
3.4.3.2 Rendimiento de almacenamiento	53
3.4.3.3 Rendimiento de crecimiento	54
3.5 Cálculo de las velocidades de nitrificación y desnitrificación	58



3.6 Toma de muestras	59
Capítulo 4. Caracterización Físicoquímica y Evaluación de los Parámetros Operacionales de cada Sistema Evaluado	61
4.1 Determinación de la relación DQO/peso de sacarosa, almidón y albúmina de huevo	61
4.1.1 Pruebas de desecación	61
4.1.2 Relación DQO/peso de sacarosa, almidón y albúmina de huevo	62
4.2 Condiciones ambientales de cada sistema estudiado	65
4.2.1 Temperatura	65
4.2.2 Oxígeno disuelto	68
4.3 Caracterización y seguimiento de los parámetros físicoquímicos del afluente y efluente del RBS en cada sistema evaluado	72
4.3.1 Eliminación de sólidos suspendidos y materia orgánica	72
4.3.2 Eliminación de nutrientes (P y N)	75
4.3.3 Evolución temporal de la SST, SSV, DQO, DQOs, N y P	81
4.3.4 Comportamiento de la carga másica del sistema	87
4.3.5 Evolución temporal de la carga másica	89
4.4 Evolución de la materia orgánica y los nutrientes en el LM de cada sistema de tratamiento evaluado	90
4.4.1 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con acetato	91
4.4.1.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con acetato	94
4.4.2 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con sacarosa	95
4.4.2.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con sacarosa	100
4.4.3 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con almidón	101
4.4.3.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrifica-	



ción del sistema alimentado con almidón	108
4.4.4 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con albúmina de huevo	109
4.4.4.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con albúmina de huevo	117
Capítulo 5. Caracterización Microbiológica del Lodo Activado en cada Sistema Evaluado	119
5.1 Análisis de la microflora y microfauna en cada sistema evaluado	119
5.1.1 Microflora del reactor biológico	119
5.1.1.1 Evolución temporal de los MF	121
5.1.1.2 Frecuencia de los diferentes tipos de MF del lodo activado	131
5.1.1.3 Fotografías de los diferentes tipos de MF del lodo activado	135
5.1.1.4 Correlación entre las variables del proceso y la microbiología del lodo activado	139
5.1.2 Microfauna del reactor biológico	142
5.1.2.1 Frecuencia de la microfauna del lodo activado	142
5.1.2.2 Fotografías de la microfauna del lodo activado	144
5.1.3 Análisis de la estructura flocular del lodo activado	147
5.1.3.1 Fotografías del flóculo del lodo activado	149
5.2 Análisis de la VCO y VECO en cada uno de los sistemas evaluados	151
5.3 Análisis de la Y_{alm} y la Y_{obs} en cada uno de los sistemas evaluados	155
Conclusiones y recomendaciones	163
Referencias	167
Anexo 3.1 Protocolo para la determinación de nitrógeno amoniacal (Método del fenato)	177
Anexo 3.2 Protocolo para la determinación de nitratos y nitritos (método de reducción de cadmio)	183
Anexo 3.3 Protocolo para la determinación de fósforo (método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico)	191



Anexo 3.4 Clave de identificación de los MF propuesta por Eikelboom (2000)	197
Anexo 3.5 Clave de identificación de los MF propuesta por Jenkins <i>et al.</i> (1993)	199
Anexo 3.6 Técnicas de tinción para los MF	201
Anexo 3.7 Protocolo para la determinación del área bajo la curva (ABC)	207
Anexo 3.8 Protocolo para la determinación de la velocidad de consumo de oxígeno (VCO)	211
Anexo 3.9 Protocolo para la determinación de las VEN y VEDN	216
Anexo 4.1 Protocolo para la determinación del rendimiento de eliminación de N-NOx	219

Índice de tablas

Tabla 1.1. Condiciones asociadas con el crecimiento de MF en el lodo activado (Jenkins *et al.* 1993).

Tabla 2.1. Grupos de identificación de MF (Eikelboom, 1975).

Tabla 2.2. Ejemplos de MF que han sido identificados a partir de la utilización de técnicas moleculares, adaptado de Seviour, (1999).

Tabla 2.3. Predominio de MF en PTAR con esponjamiento filamentoso, adaptado de Martins *et al.* (2004).

Tabla 2.4 Efecto de la F/M sobre el desarrollo de los MF del lodo activado, adaptado de Eikelboom (2000).

Tabla 2.5. Efecto del TRC sobre el desarrollo de los MF del lodo activado (Jenkins *et al.* 1993).

Tabla 3.1. Nombre y código APHA de las técnicas analíticas realizadas para el análisis fisicoquímico del ARS.

Tabla 3.2. Características técnicas de los diferentes mecanismos del prototipo del RBS.

Tabla 3.3. Condiciones operacionales del RBS.

Tabla 3.4. Condiciones operacionales del tratamiento aplicado para la eliminación biológica de nutrientes en el RBS.

Tabla 3.5. Composición del agua sintética, adaptado de Yang (1997).



- Tabla 3.6. Concentración de SSVLM de alimentación del RBS y periodo experimental de cada uno de los sustratos evaluados.
- Tabla 3.7. Ejemplo de la estimación de la frecuencia de aparición para el tamaño del floculo.
- Tabla 3.8. Ensayos realizados a las diferentes fases del ciclo durante la experimentación.
- Tabla 4.1. Resultados de la pérdida de humedad de sacarosa, almidón y albúmina de huevo a 105°C.
- Tabla 4.2. Promedios de temperatura registrados en el LM y durante todo el periodo experimental de cada sistema evaluado.
- Tabla 4.3. Duración absoluta y porcentual de la aireación durante el ciclo RBS utilizado en los cuatro sistemas evaluados.
- Tabla 4.4. Promedios de OD registrados en el LM de cada sistema evaluado.
- Tabla 4.5. Promedios de concentración de DQO_{AF} en cada sistema evaluado.
- Tabla 4.6. Resumen de los parámetro de SS y la materia orgánica para los cuatro sistemas evaluados.
- Tabla 4.7. Rendimientos de eliminación de SST y DQO reportados en la bibliografía.
- Tabla 4.8. Rendimientos de eliminación de P-PO₄³⁻, N-NH₄⁺, y N-NO_x para los cuatro sistemas evaluados.
- Tabla 4.9. Resultados del pH y los mgN-NH₄⁺ contenidos en el ciclo del sistema con albúmina de huevo correspondiente al día 16 de octubre del 2008.
- Tabla 4.10. Concentraciones de N-NO_x obtenidas a lo largo de los periodos de experimentación con cada uno de los sustratos evaluados.
- Tabla 4.11. Rendimientos de eliminación de N-NO_x a lo largo de los periodos de experimentación con cada uno de los sustratos evaluados.
- Tabla 4.12. Rendimientos de eliminación de N-NH₄⁺, N-NO_x y P-PO₄³⁻ reportados en la bibliografía.
- Tabla 4.13. Valores medios de la F/M en cada uno de los sistemas evaluados.
- Tabla 4.14. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con acetato.
- Tabla 4.15. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con sacarosa.



- Tabla 4.16. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en las fases aireadas de los días muestreados en el sistema con almidón.
- Tabla 4.17. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en la fase de LLE-ANOX de los días muestreados en el sistema con almidón.
- Tabla 4.18. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con almidón.
- Tabla 4.19. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en las fases aireadas de los días muestreados en el sistema con albúmina de huevo.
- Tabla 4.20. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en la fase de LLE-ANOX de los días muestreados en el sistema con albúmina de huevo.
- Tabla 4.21. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con albúmina de huevo.
- Tabla 5.1. Medias y desviaciones típicas de la abundancia de los MF del lodo activado en los cuatro sistemas evaluados.
- Tabla 5.2. Valores medios de IVL en cada uno de los sistemas evaluados.
- Tabla 5.3. MF predominantes en función del tipo de sustrato empleado y reportados en la bibliografía.
- Tabla 5.4 Factores que favorecieron el desarrollo de los diferentes MF encontrados en los cuatro sistemas evaluados en esta investigación.
- Tabla 5.5. Coeficientes de correlación de Pearson entre diferentes variables del proceso y la abundancia de los MF.
- Tabla 5.6. Promedios de la VCO y VECO en cada uno de los sistemas evaluados.
- Tabla 5.7. Valores de Y_{obs} y Y_{alm} en cada uno de los sistema evaluados.
- Tabla 5.8 Valores de Y_{alm} y Y_{obs} reportados en la bibliografía.

Índice de figuras

- Figura 1.1. Impactos ambientales y económicos del esponjamiento filamentoso en el tratamiento de aguas residuales.



- Figura 2.1. Fotografía en microscopio óptico 100X. Flóculo compacto con pocos MF y presencia de *V. convallaria* (Barajas, 2002).
- Figura 2.2. Forma de agregación de los microorganismos que forman el floculo del lodo activado (Jenkins *et al.* 1993).
- Figura 2.3. Composición biótica del lodo activado, adaptado de EMASESA, (1997).
- Figura 2.4. Macro y microestructura del flóculo ideal y algunas disfunciones en su estructura, adaptado de Sezgin *et al.* (1978).
- Figura 2.5. Efecto de la concentración de OD sobre el crecimiento de los microorganismos del lodo activado, adaptado de Sezgin *et al.* (1978).
- Figura 2.6. Crecimiento de MF y FF en presencia de sustrato, adaptado de Chudoba *et al.* (1973a).
- Figura 2.7. Ventajas y desventajas de los microorganismos con capacidad de almacenar sustrato.
- Figura 2.8. Respuesta de los microorganismos a un SFB.
- Figura 2.9. Ejemplo de un respirograma. Etapas de la remoción de un sustrato (Dircks *et al.* 1999).
- Figura 2.10. Modelo de degradación macromolecular en a) células dispersas, b) agregados, c) *biofilm* (Confer y Logan, 1997).
- Figura 3.1. Fotografía panorámica del LITAR.
- Figura 3.2. Metodología general del trabajo de investigación.
- Figura 3.3. Diagrama completo del control del proceso del RBS utilizado en el presente trabajo de investigación.
- Figura 3.4. Fotografía panorámica del control del proceso del RBS a escala del LITAR.
- Figura 3.5. Corte en alzado del RBS a escala laboratorio.
- Figura 3.6. Figura 3.6. Agitador con paleta de acrílico; serpentín de acero inoxidable en el depósito de almacenamiento.
- Figura 3.7. Sistema de refrigerante acoplado al depósito de almacenamiento.
- Figura 3.8. Presentación esquemática del volumen mínimo de la planta piloto.
- Figura 3.9. Pantalla principal del programa.



- Figura 3.10. Pantalla de configuración de las entradas análogicas para el control de OD y temperatura.
- Figura 3.11. Pantalla de modo de operación.
- Figura 3.12. Etapas del ciclo de tratamiento en el RBS experimental.
- Figura 3.13. Metodología seguida para la evaluación de la respuesta a los diferentes sustratos evaluados.
- Figura 3.14. Muestra el campo ocular y las intersecciones de los MF (Salvadó, 1990).
- Figura 3.15. Propuesta para determinar la cantidad de oxígeno necesaria para almacenar la DQOFB, adaptado de Karahan-Gül *et al.* (2002).
- Figura 3.16. Propuesta para determinar la cantidad de oxígeno necesaria para el crecimiento de los microorganismos.
- Figura 3.17. Fotografía de la respirometría montada para determinar la capacidad de almacenamiento y crecimiento de los microorganismos del lodo activado.
- Figura 3.18. Propuesta para determinar la cantidad de oxígeno necesaria para el crecimiento de los microorganismos.
- Figura 3.19. Configuración de la secuencia de tratamiento empleado.
- Figura 4.1. Gráficas individuales para la determinación de la relación DQO/peso sacarosa realizadas en días diferentes.
- Figura 4.2. Gráficas individuales para la determinación de la relación DQO/peso almidón realizadas en días diferentes.
- Figura 4.3. Gráficas individuales para la determinación de la relación DQO/peso albúmina de huevo realizadas en días diferentes.
- Figura 4.4. Evolución temporal de la temperatura en el LM a lo largo de los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.5. Perfiles promedio de OD a lo largo de las fases del ciclo de a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.
- Figura 4.6. Evolución de los SST_{EF} y SSV_{EF} del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.7. Evolución de la DQO_{AF} y DQO_{EF} del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.



- Figura 4.8. Evolución de los rendimientos de eliminación de la DQO durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.9. Evolución de la DQOs afluente y efluente del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.10. Evolución del P- PO_4^{3-} afluente y efluente del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.11. Evolución de los rendimientos de eliminación del P- PO_4^{3-} del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.12. Evolución del N- NH_4^+ afluente y efluente del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.13. Evolución de los rendimientos de eliminación del N- NH_4^+ del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.14. Evolución de los SSVLM del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.15. Evolución de la F/M del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.
- Figura 4.16. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con acetato, correspondiente al ciclo muestreado el día 09 de mayo del 2008.
- Figura 4.17. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con sacarosa, correspondiente al ciclo muestreado el día 06 de junio del 2008.
- Figura 4.18. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con sacarosa, correspondiente al ciclo muestreado el día 17 de junio del 2008.
- Figura 4.19. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 03 de julio del 2008.
- Figura 4.20. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 17 de julio del 2008.
- Figura 4.21. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 31 de julio del 2008.



Figura 4.22. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 14 de agosto del 2008.

Figura 4.23. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 18 de septiembre del 2008.

Figura 4.24. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 07 de octubre del 2008.

Figura 4.25. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 16 de octubre del 2008.

Figura 4.26. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 29 de octubre del 2008.

Figura 4.27. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 14 de noviembre del 2008.

Figura 5.1. Abundancia de los MF en cada uno de los sistemas evaluados.

Figura 5.2. Evolución temporal de la abundancia de los MF a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

Figura 5.3. Fotografías en microscopio óptico del crecimiento de los MF fuera de la estructura flocular en cada uno de los sistemas evaluados a 400x a) acetato, b) sacarosa, c) almidón (100X), d) albúmina de huevo (200X).

Figura 5.4. Evolución temporal de la abundancia de los MF y los SSVLM a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados, a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

Figura 5.5. Evolución temporal de la abundancia de los MF y la F/M a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

Figura 5.6. Efecto de la longitud de filamentos sobre el IVL para cada uno de los sustratos evaluados, a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

Figura 5.7. Compactación del lodo en el sistema a) acetato (lodo esponjado), b) almidón.



- Figura 5.8. Evolución temporal de la abundancia del IVL y los SSVLM a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.
- Figura 5.9. Frecuencia de aparición de los MF encontrados en cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.
- Figura 5.10. Comparación del crecimiento adherido de *S. natans* en las paredes del RBS a) sistema con almidón, b) sistema con albúmina de huevo.
- Figura 5.11. Fotografía en microscopio óptico del MF *Sphaerotilus natans* con apariencia de ramas de “árbol”. MF predominante en los sistemas con sacarosa y almidón (200X).
- Figura 5.12. Fotografía en contraste de fases del MF *Sphaerotilus natans* con ramificación falsa. MF predominante en los sistemas con sacarosa y almidón (1000X).
- Figura 5.13. Fotografía en contraste de fases del MF *Nostocoida limicola*. MF predominante en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).
- Figura 5.14. Fotografía en campo claro de a) Tipo 1701 y b) *Nostocoida limicola*, ambos MF con gránulos de PHB positivos y predominantes en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).
- Figura 5.15. Fotografía en contraste de fases del MF Tipo 0041 con crecimiento epifítico. MF predominante en el sistema con albúmina (1000X).
- Figura 5.16. Fotografía en contraste de fases del MF *Haliscomenobacter hydroxsis*. MF predominante en el sistema con albúmina de huevo (1000X).
- Figura 5.17. Fotografía en campo claro del MF Tipo 0803 Gram negativo. MF predominante en el sistema con albúmina de huevo (1000X).
- Figura 5.18. Diagramas de dispersión entre la abundancia de los MF y los N-NOx contenidos en las fases anóxicas de los sistemas alimentados con los SLB a) sistema con almidón, no hay correlación, b) sistema con albúmina de huevo, correlación baja negativa.
- Figura 5.19. Frecuencia de aparición de los distintos tipos de microorganismos que conformaron la microfauna en cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.
- Figura 5.20. Fotografía en campo claro del ciliado *Epicarchesium* (200X).
- Figura 5.21. Fotografía en campo claro del ciliado *Aspidisca sp* (400X).
- Figura 5.22. Fotografía en campo claro del ciliado *Litonotus lamella* (400X).



- Figura 5.23. Fotografía en campo claro del ciliado *Spirostomus teres* (200X).
- Figura 5.24. Fotografía en campo claro del flagelado *Peranema* (400X).
- Figura 5.25. Fotografía en campo claro del metazoario Rotífero (100X).
- Figura 5.26. Frecuencia del a) tamaño b) forma, c) estructura, d) textura de los flóculos en cada uno de los sistemas evaluados.
- Figura 5.27. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura abierta y poco firme característico del sistema alimentado con acetato (200X).
- Figura 5.28. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura abierta y poco firme característico del sistema alimentado con sacarosa (200X).
- Figura 5.29. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura abierta y firme característico del sistema alimentado con almidón (200X).
- Figura 5.30. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura compacta y firme característico del sistema alimentado con albúmina de huevo (200X).
- Figura 5.31. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con acetato, correspondiente al día 19 de mayo del 2008.
- Figura 5.32. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con sacarosa, correspondiente al día 17 de junio del 2008.
- Figura 5.33. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con almidón, correspondiente al día 14 de agosto del 2008.
- Figura 5.34. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al día 14 de noviembre del 2008.
- Figura 5.35. Fotografía en campo claro del MF *Sphaerotilus natans* gránulos PHB, característico en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).
- Figura 5.36. Fotografía en campo claro del MF *Thiothrix* gránulos de poli-P, característico en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).



Figura 5.37. Fotografía en campo claro del MF *Nostocoida limicola* gránulos de PHB, característico en los sistemas con acetato, sacarosa, almidón y albúmina de huevo (1000X).

Figura 5.38. Fotografía en campo claro del MF Tipo 1701 gránulos de PHB, característico en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).

Figura 5.39. Fotografía en campo claro del MF Tipo 0041 gránulos de poli-P, característico en el sistema con albúmina de huevo (1000X).



CAPÍTULO 1

Introducción

El proceso de lodos activados se emplea frecuentemente en México para el tratamiento de medianos y grandes caudales de aguas residuales en zonas con terreno escaso y/o caro, especialmente en aplicaciones de reutilización del agua en uso público urbano, ya que proporciona una calidad adecuada del efluente (Escalas, 2006).

Según la CNA (2005), en diciembre del 2004, 22% de las 1300 plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) municipales en operación en México eran procesos de lodos activados que, sin embargo, sumaban 43% del caudal instalado en las plantas en operación (caudal instalado promedio de 136 L/s). El proceso de lodos activados se ha perfilado como un proceso apto en México para cumplir con los límites más estrictos de la NOM-001-SEMARNAT-1996 y la NOM-003-SEMARNAT-1997 (Escalas, 2006).

Muchos de los problemas que se presentan en este proceso tienen que ver con la correcta sedimentación de los lodos. Un efluente que se obtiene de una PTAR con problemas de sedimentación, contiene frecuentemente valores de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y de sólidos en suspensión (SS) por encima de los límites de vertido que marca la normativa.

Los problemas de sedimentación de los lodos activados derivan principalmente de una desestabilización en la estructura del componente biótico principal del lodo activado: el flóculo. El flóculo está constituido por microorganismos que en su mayor parte son formadores de flóculo (FF) y microorganismos filamentosos (MF). Éstos constituyen entre el 90-95% de la biomasa del sistema de tratamiento.

El adecuado balance entre MF y FF es de gran importancia en el control del proceso de los lodos activados. De este balance depende la adecuada compactación y sedimentación de los sólidos del agua residual a tratar. La mayoría de los problemas de sedimentación del lodo son causados por los MF. En el esponjamiento filamentosos se presentan elevados niveles de MF (>25 mg/mL), lo cual es un problema para la compactación de la estructura flocular generando efluentes no clarificados con alta concentración de SS (>30 mg/L).

Aunque se han identificado diversos factores que favorecen el crecimiento excesivo de los MF, por ejemplo, la concentración de oxígeno disuelto (OD), bajas concentraciones de sustrato y deficiencia de nutrientes (Jenkins *et al.* 1993), se tiene poco entendimiento en cuáles son los mecanismos que benefician que los MF proliferen sobre los FF.



El propósito de este trabajo de maestría es evaluar el grado de esponjamiento filamentoso por efecto de diferentes sustratos fácilmente (SFB) y lentamente biodegradables (SLB), así como la capacidad de los MF para almacenar productos de reserva, con el fin de determinar si el tipo de sustrato y la capacidad de almacenamiento tienen alguna influencia en el desarrollo excesivo de los MF.

Planteamiento

La eliminación de materia orgánica disuelta y nutrientes de las aguas residuales tiene lugar durante el tratamiento biológico del agua. Normalmente se caracteriza por la interacción de distintos tipos de bacterias y otros microorganismos que requieren oxígeno y materia orgánica para vivir, crecer y multiplicarse. El lodo resultante se llama lodo activo. Generalmente este lodo está en forma de flóculos que contienen biomasa viva y muerta además de partes minerales y orgánicas adsorbidas y almacenadas.

La eficiencia de la sedimentación de un lodo activado depende directamente de la consistencia y estructura del flóculo. Asimismo, el equilibrio entre el número de FF y de MF que forman la estructura flocular es fundamental. La sedimentación de un lodo activado es medida, en tratamiento de aguas residuales a partir del índice volumétrico de lodos (IVL). Este parámetro se define como el volumen en mililitros que ocupa un gramo de sólidos en suspensión del licor mezclado (LM) después de 30 min. de sedimentación en una probeta de 1000 mL.

Se ha reportado en la literatura (Jenkins *et al.* 1993) que un IVL entre 75 y 125 mL/g es característico de un lodo constituido por flóculos compactos y resistentes con una proporción equilibrada entre el número de FF y MF propio de un sistema de tratamiento con buena sedimentabilidad de sus lodos biológicos. Valores de IVL superiores a 150 mL/g son característicos de sistemas que presentarán flóculos disgregados de superficies irregulares y estructura abierta. En este tipo de lodo el número de MF se incrementa considerablemente llegándose a encontrar valores por encima de 10^7 filamentos/(mg SSV) (Sezgin *et al.* 1978).

El incremento en el desarrollo de MF en una PTAR tiene consecuencias tanto económicas como ambientales. En una PTAR genera dos tipos de fenómenos indeseables: esponjamiento de lodos y flotación de lodos (Figura 1.1).

El término de esponjamiento de lodos es referido a lodos con muy bajas propiedades de sedimentación y espesamiento, por lo que presentan valores de IVL altos o muy altos. En la mayoría de los casos, los lodos esponjados se acumulan en el sedimentador secundario donde se forma una capa espesa y densa que debe ser separada para evitar el rebose del sistema.

Un sistema de tratamiento con un lodo activado que presenta esponjamiento generará baja calidad del agua tratada (valores de DBO y SS elevados, patógenos) y altos costos de operación en la solución del problema. Por ejemplo, se requiere utilizar más cantidad de productos químicos como cloro empleado para controlar los MF y la desinfección del agua que contiene gran cantidad de patógenos. Por otro lado, el alargar la fase de sedimentación provoca una menor producción de agua tratada y, además, disminuir el

desbordamiento del decantador (en procesos continuos) requiere mayor gasto de energía por el aumento de la recirculación del lodo.

El término de flotación de lodos es generalmente provocado por exceso de actinomicetos y otros MF caracterizados por una superficie celular hidrofóbica. Esta superficie celular hidrofóbica adsorbe burbujas de aire y nitrógeno que llevará al lodo a la superficie, provocando de esta forma un desbordamiento en el reactor que implicará de igual forma una mala calidad del agua tratada y como consecuencia, las mismas medidas correctivas que generarán altos costos de operación.

A nivel ambiental, un deficiente proceso de tratamiento favorece la contaminación de algunos cuerpos receptores como suelo y agua debido a la descarga del agua residual tratada con alto contenido de SS, DBO, nutrientes y patógenos.

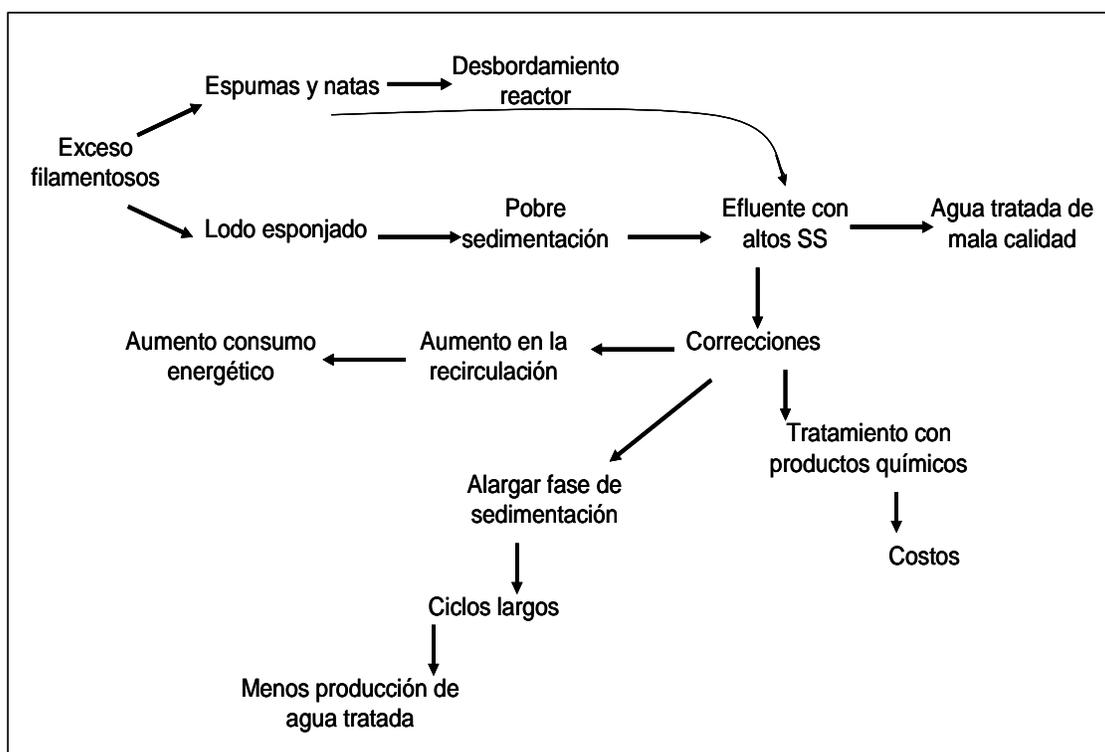


Figura 1.1. Impactos ambientales y económicos del esponjamiento filamentoso en el tratamiento de aguas residuales.

Justificación

El proceso de lodos activados es el tratamiento biológico del agua residual mayormente empleado y el problema más común en este tipo de procesos a nivel mundial (Martins *et al.* 2004) es el esponjamiento filamentoso, donde un excesivo crecimiento de MF altera las características de sedimentación y compactación del flóculo del lodo activado.



Con la necesidad de encontrar una solución al esponjamiento filamentoso, se crearon técnicas de identificación que permitieron caracterizar a los microorganismos causantes del esponjamiento. Aunque con varias limitaciones, estos métodos de identificación proporcionaron una herramienta que permitió identificar a los MF. El siguiente paso, fue encontrar la relación entre la aparición de cada MF con problemas de operación en las PTAR. Jenkins *et al.* (1993) ha sido uno de los autores que ha reportado algunas de estas causas con la aparición de determinado tipo de MF (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Condiciones asociadas con el crecimiento de MF en el lodo activado (Jenkins *et al.* 1993).

Causa	MF
Concentraciones bajas de OD	<i>S. natans</i> Tipo 1701 <i>H. hydrosis</i>
Baja carga orgánica	Tipo 0041 Tipo 0675 Tipo 1851 Tipo 0803
Elevada concentración de ácidos orgánicos de bajo peso molecular	Tipo 021N <i>Thiothrix</i> I y II <i>N. limicola</i> I, II, III Tipo 0914 Tipo 0411 Tipo 0961 Tipo 0581 Tipo 0092
Sulfuro de hidrógeno	<i>Thiothrix</i> I y II Tipo 021N Tipo 0914 <i>Beggiatoa ssp.</i>
Deficiencia de nutrientes Nitrógeno Fósforo	Tipo 021N <i>Thiothrix</i> I y II <i>N. limicola</i> III <i>H. hydrosis</i> <i>S. natans</i>
Bajo pH	Hongos



Sin embargo, se sigue teniendo poco entendimiento de cuáles son las condiciones que favorecen que los MF predominen sobre los FF, de esto, se han planteado diversos mecanismos para encontrar una explicación al problema del esponjamiento filamentoso. Por ejemplo, su selección basada en la difusión del sustrato y el OD, la efectividad para almacenar productos de reserva y el efecto del monóxido de nitrógeno (NO).

Aunque el estudio en dichos mecanismos ha ampliado el conocimiento en el comportamiento de MF y FF, hay ciertas respuestas de los MF en las cuales aún se tiene poco conocimiento y falta profundizar. Por ejemplo, saber si el tipo de sustrato contribuye al desarrollo de un tipo de microorganismos en particular, el papel que juega el SLB en el desarrollo de los MF y conocer si hay o no diferencia en la capacidad para almacenar productos de reservar entre MF y FF, ya que la mayoría de los estudios han sido enfocados en la cuantificación de los polímeros de almacenamiento.

Por lo tanto, en la presente tesis de maestría se profundiza en el papel que juegan los SFB y SLB (este último dada su importancia por representar aproximadamente el 60 % del contenido del agua residual doméstica), enfatizando en el efecto que tienen para favorecer el esponjamiento filamentoso. Para ello, se evaluarán las eficiencias de eliminación de nutrientes y la predominancia en el desarrollo de un tipo de microorganismo en particular, así como determinar los rendimientos de almacenamiento (Y_{alm}) y crecimiento (Y_{obs}) que desarrollan dichos microorganismos al asimilar cada uno de los sustratos evaluados.

Objetivo general

Caracterizar la respuesta de los microorganismos del lodo activado, profundizando en el papel que juegan los SFB y SLB en el desarrollo del esponjamiento filamentoso.

Objetivos particulares

1. Definir las condiciones de trabajo y operación del reactor biológico secuencial (RBS)
2. Evaluar el efecto de SFB y SLB en el desarrollo del esponjamiento filamentoso.
3. Caracterizar microbiológicamente cada sistema evaluado bajo los diferentes tipos de sustrato.
4. Evaluar las eficiencias de eliminación de materia orgánica y nutrientes en cada sistema de tratamiento
5. Determinar la Y_{alm} y Y_{obs} del lodo activado predominante con cada uno de los sustratos evaluados.

CAPÍTULO 2

Marco teórico

2.1 El proceso de lodos activados

El proceso de lodos activados es el tratamiento aerobio del agua residual mayormente empleado en todo el mundo, donde un cultivo en suspensión de microorganismos (lodo activado) tras un aporte de oxígeno, lleva a cabo procesos de biodegradación y biosíntesis para producir un clarificado bajo en DBO, SS y turbidez, adaptado de EMASESA, (1997).

2.2 Microbiología del lodo activado

Un lodo activado se puede considerar como un cultivo en suspensión enriquecido de microorganismos, cuya unidad ecológica y estructural se denomina **flóculo** (Figura 2.1), constituyendo éste el núcleo alrededor del cual se desarrolla el proceso de depuración biológica (EMASESA, 1997).

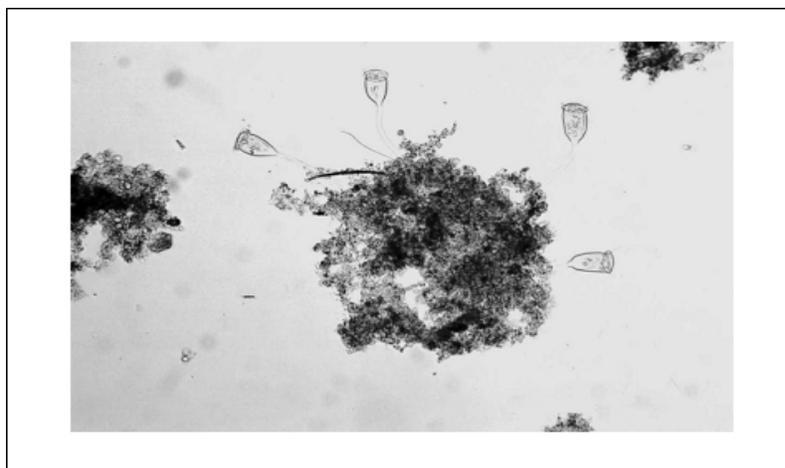


Figura 2.1. Fotografía en microscopio óptico 100X. Flóculo compacto con pocos MF y presencia de *V. convallaria* (Barajas, 2002).



Para lograr una mejor descripción del componente biótico de los lodos activados, Wagner (1994) los divide en grupo 1 y grupo 2:

2.2.1 Microorganismos del grupo 1 de lodos activados

El grupo 1 esta constituido principalmente por bacterias FF y MF que en conjunto representan el 95% de los microorganismos que integran el lodo activado.

Formadores del flóculo (FF)

Las bacterias FF son consideradas las más importantes en un lodo activado para la depuración del agua residual. Son predominantemente heterótrofas y no tienden a crecer separadamente, sino que lo hacen en agregados llamados flóculos. Dichos agregados son formados gracias a los biopolímeros extracelulares de las bacterias (polisacáridos y proteínas principalmente) que forman puentes entre los microorganismos (Figura 2.2). Este mecanismo de agregación puede ser considerado como un mecanismo de selección, ya que los microorganismos en flóculos pueden ser retenidos dentro del sistema de tratamiento, mientras que las células individuales no adheridas se pierden con el flujo de agua depurada (Jenkins *et al.* 1993).

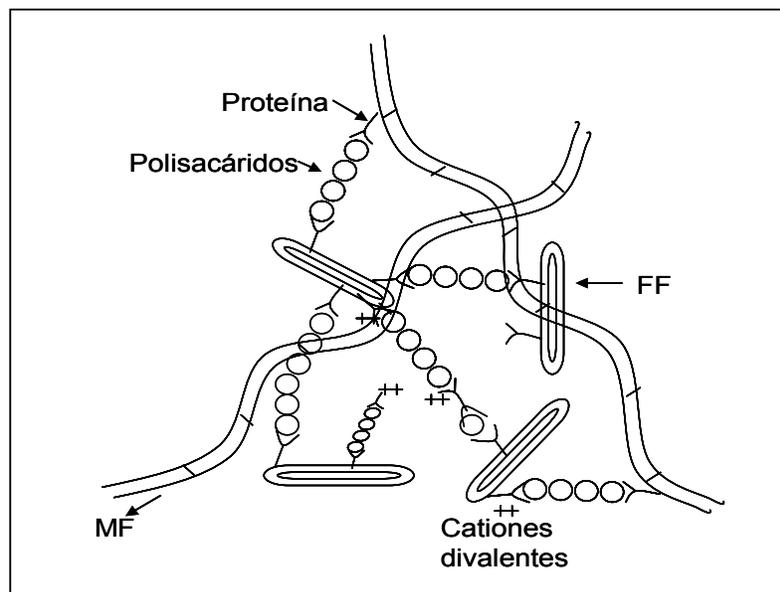


Figura 2.2. Forma de agregación de los microorganismos que forman el flóculo del lodo activado (Jenkins *et al.* 1993).

Algunos géneros de FF son: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthromobacter*, *Citromonas* y *Zoogloea*.



Microorganismos filamentosos (MF)

Una bacteria es un organismo unicelular procariota de 1 a 5 μm de tamaño que se multiplica por división celular. En determinadas especies bacterianas o bien, en diferentes condiciones específicas del medio de cultivo, no se observa separación de las células después de su división, de forma que las células individuales quedan asociadas entre ellas formando filamentos largos, en consecuencia, cada filamento se encuentra formado por una cadena de células bacterianas que se conocen con el nombre de MF (Oliveras, 1998).

Los MF son componentes normales de los lodos activados y proporcionan una buena estructura y resistencia al flóculo. En determinadas condiciones pueden entrar en competencia con los FF, sin embargo, su presencia es necesaria ya que contribuye a una mayor calidad del lodo formando flóculos resistentes a las turbulencias del sistema. (Jenkins *et al.* 1993).

La clasificación de los MF esta basada principalmente es su morfología. Algunos MF se encuentran caracterizados a nivel taxonómico, recibiendo su denominación de género y especie. Otros tan sólo se registran como integrantes de un género. No obstante, la mayoría de ellos recibe una identificación alfanumérica atendiendo a características morfológicas. Ello principalmente se debe a que muchos de estos microorganismos muestran en cultivos puros de laboratorio una morfología celular diferente a la que presentan en los lodos activados (EMASESA, 1997). Entre 30 y 40 tipos de MF han sido identificados en PTAR municipales e industriales (Wagner y Loy, 2002).

Algunos géneros de este tipo de MF son: *Beggiatoa*, *Flexibacter*, *Leucothrix*, *Microthrix*, *Thiothrix* entre otros.

Eikelboom (1975) propone claves para caracterizar morfológicamente e identificar los MF presentes en el lodo activado. Estas claves se basan es observar microscópicamente las siguientes características.

1. Movilidad
2. Presencia ausencia de vaina
3. Ramificación, falsa verdadera
4. Forma y longitud del filamento
5. Positivo negativo a diferentes tinciones aplicadas (Gram, Neisser, entre otras)
6. Diámetro, longitud y forma de la célula
7. Presencia ausencia de inclusiones celulares (PHB, polifosfato, azúfre)

Siguiendo dichas características, Eikelboom distinguió 26 especies de MF los que clasifica en los siguientes grupos (Tabla 2.1).



Tabla 2.1. Grupos de identificación de MF (Eikelboom, 1975).

Grupo	Característica	Tipo de MF
Grupo 1	Presencia de vaina, Gram negativo	<i>S. natans</i> , <i>S. discophorus</i> , <i>H. hydrossis</i> , Tipo 1701, 1702 y 0321
Grupo 2	Presencia de vaina, Gram positivo	Tipo 0041, 1851 y 0675
Grupo 3	Curveadas, multicelulares,	<i>N. limicola</i> , Tipo 021N y <i>Cyanophyceae</i>
Grupo 4	Apariencia de alga azul verdosa delgado y enrollado	<i>M. parvicella</i> , Tipo 0581 y 0192
Grupo 5	Recto, multicelular, Gram negativo	Tipo 0803, 0092, 0961 y 1091
Grupo 6	Móvil y brillante	<i>Beggiatoa</i> , Tipo 0914 y 1501
Grupo 7	Tipos adicionales	<i>Nocardia spp</i> , hongos, Tipo 1863 y 0411

Con base al interés de caracterizar correctamente a los MF más allá de una numeración alfa numérica, autores como Seviour, (1999) aplicaron técnicas de biología molecular para agrupar a los MF en base a su taxonomía. La Tabla 2.2 resume algunos MF que han sido identificados empleando dichas técnicas y a partir de las cuáles ha sido posible su clasificación.

Tabla 2.2. Ejemplos de MF que han sido identificados a partir de la utilización de técnicas moleculares, adaptado de Seviour (1999).

Tipo de MF	Implicación taxonómica
Tipo 021N	Miembro del grupo γ -Proteobacteria
Tipo 0092	Miembro del grupo <i>Cytophaga Flavobacterium</i>
Tipo 0041	Miembro del grupo <i>Cytophaga Flavobacterium</i>
Tipo 0803	Miembro del grupo β -Proteobacteria
Tipo 1863	Miembro del grupo γ -Proteobacteria

2.2.2 Microorganismos del grupo 2 de lodos activados

El grupo 2 esta constituido por protozoarios y metazoarios que representan el 5 - 10% restante de los microorganismos que integran el lodo activado.

El grupo de los protozoarios esta formado en su mayoría por flagelados y ciliados, los cuales son indicadores de edades de lodo menor a 4 días en el caso de los flagelados, y edades de lodo entre 4 y 11 días en el caso de los ciliados. La abundancia de los ciliados en este periodo de tiempo es indicador de un lodo estable.

Los metazoarios, son indicadores de un lodo estable. Sin embargo, cuando se observa una gran cantidad de estos microorganismos en el lodo, son indicadores de un lodo superior a 11 días y que necesita ser remplazado.

En la Figura 2.3 se presenta de forma esquemática la composición biótica de un lodo activado.

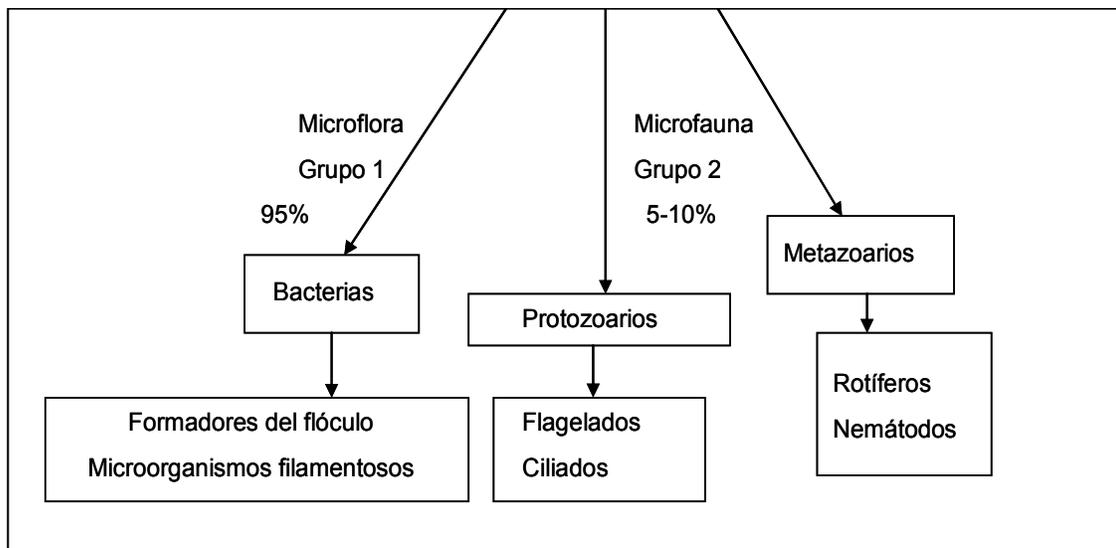


Figura 2.3. Composición biótica del lodo activado, adaptado de EMASESA, (1997).

2.3 Estructura del floculo del lodo activado

Según Jenkins *et al.* (1993) la estructura del floculo se clasifica en dos niveles: *microestructura* y *macroestructura*.

Microestructura

La *microestructura* es determinada por los procesos de agregación microbiana y biofloculación de los FF, resultado de la interacción entre polímeros extracelulares microbianos que actúan a modo de polielectrolitos.

Macroestructura

La *macroestructura* la proporcionan los MF que forman una red o microesqueleto en el interior del floculo que permite la adhesión de los FF. Sezgin *et al.* (1978) mencionan que las óptimas características de un lodo en cuanto a decantación, consistencia y estructura del floculos, se deben a una presencia equilibrada de FF y MF.

2.4 Disfunciones en la estructura del floculo del lodo activado

Las principales disfunciones del floculo del lodo activado dependen directamente del balance entre MF y FF. Ambos tipos de microorganismos son esenciales para la integridad del floculo del lodo activado. Los MF forman el pilar del floculo al cual se unen los FF. Si no hay suficientes MF el floculo tenderá a romperse por las turbulencias del



reactor en pequeños agregados. Este tipo de problema es conocido como *pin flocc* o flóculos en punta de alfiler (Sezgin *et al.* 1978).

Un lodo activado con *pin flocc* presentará un IVL menor de 75 mL/g, ya que los flóculos grandes sedimentarán y compactarán rápidamente produciendo un sobrenadante turbio con alto contenido de SS en el efluente (Jenkins *et al.* 1993).

Cuando la cantidad de MF es superior a la de FF tanto que existe un excesivo crecimiento de MF dentro y fuera del flóculos que favorecen la formación de puentes interfloculares, predominará un lodo poco compacto que sedimenta lentamente y con un sobrenadante claro debido a que los puentes interfloculares atraparán cualquier partícula suelta presente en el reactor. Este tipo de problemas se conoce como esponjamiento filamentosos y es característico por presentar un IVL superior a 150mL/g (EMASESA, 1997). Por otra parte, Sezgin *et al.* (1978) al proponer un método para medir la longitud total de filamentos extendidos en el lodo activado (TELF), correlacionaron el TELF con el IVL y la velocidad de sedimentación, encontrando que el IVL se incrementaba rápidamente por encima de 100 mL/g cuando los valores del TELF aumentaban por encima de 10 m/mL.

Cuando FF y MF crecen en equilibrio predominará un lodo con las características de sedimentación y compactación requeridas para producir un efluente de calidad cuyo valor de IVL oscilará entre 75 y 125 mL/g (Jenkins *et al.* 1993).

El crecimiento disperso, esponjamiento viscoso y la formación de espumas, son otros tipos de problemas de separación de lodos que al igual que el *pin flocc* y el esponjamiento filamentosos impactarán con la sedimentación y compactación del lodo activado.

La Figura 2.4 esquematiza la *micro y macroestructura* del flóculo ideal y algunas disfunciones en su estructura.

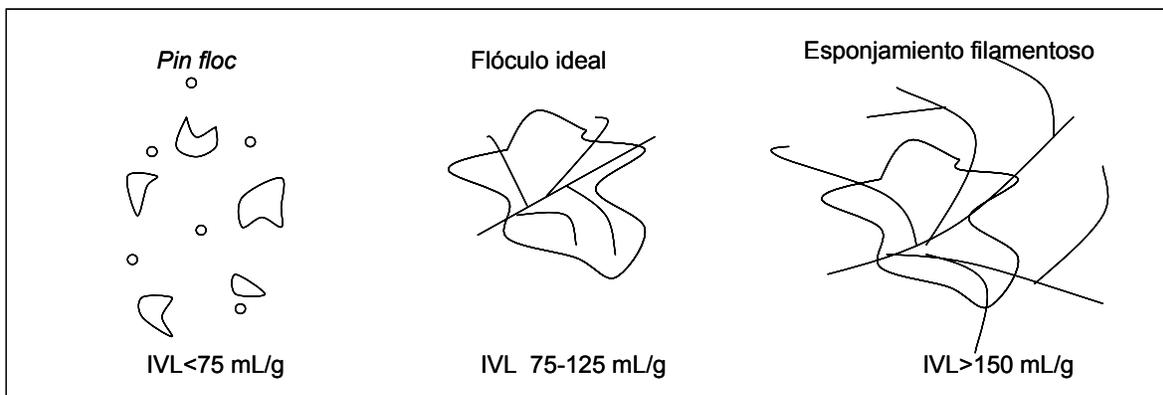


Figura 2.4. Macro y microestructura del flóculo ideal y algunas disfunciones en su estructura, adaptado de Sezgin *et al.* (1978).



2.5 Esponjamiento filamentoso

Diversas investigaciones referentes a los problemas de sedimentación de sólidos han encontrado que el esponjamiento filamentoso es el problema más comúnmente encontrado en las PTAR de lodos activados. Tomlinson y Chambers (1979) reportaron que este tipo de problema se presentaba en la mitad de las PTAR del mundo. En estudios realizados por Tomlinson (1976), 27 de 65 PTAR de lodos activados en el Reino Unido tuvieron un promedio anual de IVL mayor de 200 mL/g. Wagner (1984) y Blackbeard *et al.* (1986) reportaron que alrededor de la mitad de las PTAR de Alemania y 32% de 111 PTAR de Sudáfrica habían experimentado esponjamiento filamentoso. Similares estudios realizados por Switzenbaum *et al.* (1992) en Massachusetts, Rossetti *et al.* (1994) en Italia y Seviour *et al.* (1994) en Australia revelaron que alrededor del 50% de las PTAR analizadas en cada estudio habían presentado esponjamiento filamentoso. Por otro lado, también se han identificado los microorganismos predominantes en las PTAR que han experimentado esponjamiento filamentoso (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Predominio de MF en PTAR con esponjamiento filamentoso, adaptado de Martins *et al.* (2004).

País	MF predominante	Referencia
África	<i>M. parvicella</i> , Tipo 1851, 0041/0675, 0914	Blackbeard <i>et al.</i> (1986, 1988)
Asia		
Japón	Tipo 021N, 0041/0675, <i>S. natans</i> , <i>Thiothrix</i>	Mino (1999)
Tailandia	Tipo 021N, 1701, 0092, 0041/0675	Mino (1995)
Europa		
R. Checa	<i>M. parvicella</i> , Tipo 0092	Krhutková <i>et al.</i> (2002)
Dinamarca	<i>M. parvicella</i> , Tipo 0041/0675, 021N, 0092, 0914, 1851	Kristensen <i>et al.</i> (1994)
Francia	<i>M. parvicella</i> , Tipo 0041/0675, 0092 <i>N. limicola</i>	Pujol y Canler (1994)
Alemania	<i>M. parvicella</i> , Tipo 1701, 0041/0675, 0092	Kunst y Reins (1994)
Italia	<i>M. parvicella</i> , Tipo 0092, 0041/0675	Rossetti <i>et al.</i> (1994), Madoni <i>et al.</i> (2000)
Holanda	<i>M. parvicella</i> , <i>H. hydrosis</i> , Tipo 021N, 0092	Eikelboom (1977, 1994), Kruit <i>et al.</i> (1994)
Reino Unido	<i>M. parvicella</i> , Tipo 021N, <i>N. limicola</i> ,	Foot (1992), Lavender <i>et al.</i> (2003)
Norte América		
EUA	<i>M. parvicella</i> , Tipo 1701, 021N, 0092, 0041/0675	Strom y Jenkins (1984), Switzenbaum <i>et al.</i> (1992)



2.5.1 Causas del esponjamiento filamentoso del lodo activado

Se han relacionado diversas condiciones existentes en los sistemas de tratamiento que favorecen el desarrollo de MF sobre los FF. Por ejemplo, concentración OD, carga másica (F/M), SFB, deficiencia de nutrientes, pH, temperatura, y edad del lodo (TRC).

OD y F/M

Wilen y Balmer (1999) quienes probaron el efecto del OD sobre los flóculos, encontraron que a concentraciones de OD de 2 mg/L flóculos grandes y regulares predominaron, mientras que cuando las concentraciones de OD fueron de 0.5 mg/L, flóculos porosos e irregulares con crecimiento de *S. natans* y *Thiothrix* predominaron. Además, Eikelboom (2000) indica que a concentraciones de 2 mg/L de OD, no predomina el crecimiento de MF fuera de los flóculos de 400 µm de diámetro. Por tanto, es recomendable mantener concentraciones de 2 mg/L de OD en las fases aireadas para favorecer niveles de OD que impidan el crecimiento de MF.

Eikelboom (2000), también relaciona la aparición de algunos MF con determinada carga másica (F/M) (Tabla 2.4).

Tabla 2.4. Efecto de la F/M sobre el desarrollo de los MF del lodo activado, adaptado de Eikelboom (2000).

MF	Niveles de F/M (kg DBO/kg SSV.d)		
	<0.1	0.1-0.2	>0.2
<i>M. parvicella</i>	+++	+++	+
Tipo 0041	++	+	
Tipo 0092	++	+	
Tipo 0803	+	+	
Tipo 0914		+	
Tipo 0581	+		
Tipo 1851	+	+	
Actinomicetos	+		
<i>N. limicola</i>	+	++	+
Tipo 021N	++	++	++
<i>H. hydrosis</i>	+	++	+++
Tipo 1701			+++
<i>S. natans</i>			+++
<i>Thiothrix spp</i>		+	++
Tipo 1863			++
Tipo 0411			++



Deficiencia de nutrientes

La deficiencia de nutrientes es otro factor que favorece el crecimiento de algunos MF. Para que un sistema biológico funcione correctamente, es necesario que se hallen presentes cantidades adecuadas de nutrientes. Los principales nutrientes son el nitrógeno (N) y el fósforo (P). Basándose en una composición media del tejido celular representable como $C_5H_7NO_2$, se necesita del orden de un 12.4% de N (en peso), y normalmente se suele suponer que las necesidades de P son de una quinta parte de este valor (Metcalf y Eddy, 1996). Jenkins *et al.* (1993) asocia el crecimiento de Tipo 021N y *Thiothrix spp* con deficiencia de N y a *S. natans*, *H. hydrossis* y *N. limicola* con deficiencia de P.

Temperatura y pH

Las condiciones de temperatura y pH también tienen un papel importante en la supervivencia y crecimiento de las bacterias. A pesar de que las bacterias pueden sobrevivir en un intervalo amplio de valores de temperatura y pH, el crecimiento óptimo se suele producir en un intervalo muy restringido de valores de estos dos parámetros. Jenkins *et al.* (1993) menciona que *M. parvicella* y Tipo 0092 son dominantes a temperaturas inferiores de 15°C, y que temperaturas superiores de 35°C favorecen el crecimiento de los MF. Lo anterior correlaciona con los resultados obtenidos por Krishna y van Loosdrecht (1999) quienes encontraron que a temperaturas entre 15 - 20°C, flóculos grandes con una cantidad apreciable de protozoos y pocos MF predominaron, mientras que a temperaturas superiores de 30°C, flóculos pequeños con pocos protozoos y presencia de MF fueron los predominantes.

Por otro lado, rangos de pH entre 6.5 y 8 favorecen la actividad de diversas bacterias del lodo activado. Por ejemplo, bacterias nitrificantes y desnitrificantes (Eikelboom, 2000). La presencia de una cantidad considerable de Hongos en el lodo activado es indicativa de valores de pH inferiores a 6.

TRC

Jenkins *et al.* (1993) relacionan la aparición de los MF con determinado TRC, indicando que la mayoría de los MF aparecen en un amplio rango de edad del lodo (Tabla 2.5).



Tabla 2.5. Efecto del TRC sobre el desarrollo de los MF del lodo activado (Jenkins *et al.* 1993).

TRC (d)	1.9	2.2	2.5	3	4	5	8	20	50
Tipo 1701		-----							
<i>S. natans</i>		-----							
<i>H. hydrosis</i>		-----							
<i>Thiothrix spp</i>		-----							
Tipo 021N					-----				
Actinomicetos		-----							
Tipo 0411		-----							
<i>N. limicola</i>			-----						
Tipo 1863	-----								
Tipo 0041							-----		
Tipo 0675							-----		
<i>M. parvicella</i>							-----		
Tipo 0092								-----	
Tipo 1851								-----	
Tipo 0914							-----		

2.6 Mecanismos que explican el predominio de los MF sobre los FF

Varios mecanismos sobre el esponjamiento filamentoso han sido propuestos en espera de encontrar una solución a este problema. Desafortunadamente, ninguno de ellos ha dado una respuesta definitiva por la falta de verificación experimental (Martins *et al.* 2003b).

2.6.1 Selección basada en la difusión de OD y sustrato

Investigaciones realizadas por Sezgin *et al.* (1978) y Martins *et al.* (2003b) han demostrado que la difusión limitada de oxígeno y sustrato al interior del flóculo del lodo activado pueden favorecer el esponjamiento filamentoso. Según Sezgin *et al.* (1978) la concentración de OD en el interior del fóculo puede ser significativamente más baja que la concentración de OD en la solución. Postula que a concentraciones de OD menores a la concentración crítica de oxígeno disuelto (OD_c), los MF crecerán más rápido que los no filamentosos, mientras que concentraciones de OD mayores que la crítica, predominarán los no filamentosos (Figura 2.5).

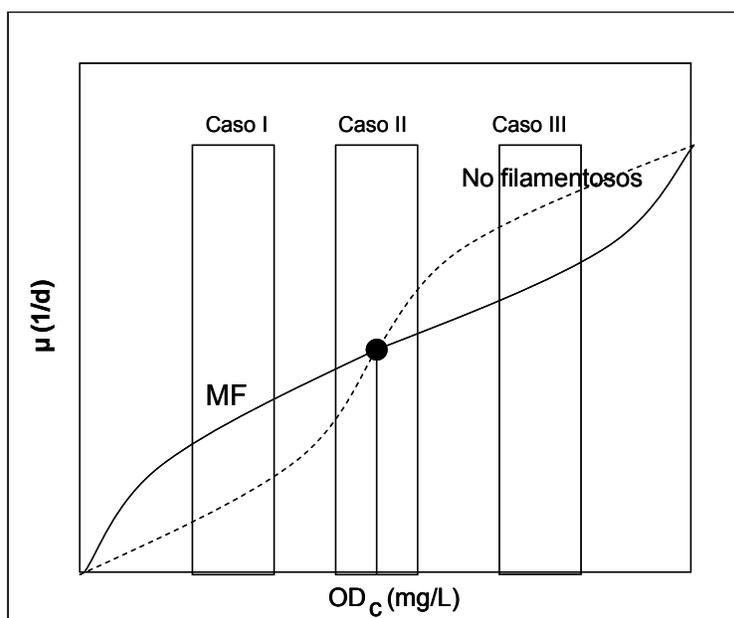


Figura 2.5. Efecto de la concentración de OD sobre el crecimiento de los microorganismos del lodo activado, adaptado de Sezgin *et al.* (1978).

En las condiciones del caso I de la Figura 2.5 todo el floculo del lodo activado desde el borde hasta el centro tendrá concentraciones de OD menores a la crítica. El caso III representa lo contrario, todo el floculo tiene una concentración de OD mayor que la crítica. En el caso II, el crecimiento de los MF será mayor en el interior del floculo y el de los no filamentosos predominará en la periferia. En estas condiciones, el floculo tenderá a tener un crecimiento equilibrado de MF y FF.

Pipes (1967) encontró que la relación superficie - volumen (a/v) era mayor en los MF que en los FF. A bajas concentraciones de sustrato esta da a los MF una ventaja competitiva, debido a que habrá difusión de nutrientes a través de la célula y, por lo tanto, un mayor crecimiento y predominancia de los MF sobre los FF.

2.6.2 Mecanismos de selección cinética

La selección cinética como un mecanismo de competencia entre MF y FF fue formulada por Chudoba *et al.* (1973a, 1973b, 1973c) y se basa en las diferentes velocidades de crecimiento máxima (μ_{max}) que muestran los MF y FF para un sustrato soluble.

La velocidad de crecimiento (μ) de los microorganismos depende de la concentración de sustrato. Por este motivo, la selección cinética utiliza la concentración de sustrato con la que se alimentan los microorganismos como elemento de presión selectiva para que el número de FF sea superior a los MF.



La expresión matemática de la función de saturación mostrada en la Ecuación 2.1, se conoce como ecuación de Monod. En la que μ_{\max} representa el valor máximo de la tasa de crecimiento a concentración de sustrato infinita. La constante K_s se calcula a partir del valor medio de la μ_{\max} y representa la constante de saturación o la afinidad de los microorganismos por el sustrato o cualquier elemento relacionado con su crecimiento.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Por tanto, en función de la concentración de sustrato, la selección cinética debe considerarse desde dos perspectivas de crecimiento:

- Crecimiento en presencia de sustrato
- Crecimiento en ausencia de sustrato

a) Crecimiento en presencia de sustrato

En presencia de sustrato la competencia entre MF y FF por el sustrato se basa en la velocidad de utilización del mismo (Figura 2.6). Según Chudoba *et al.* (1973a), los FF tienen μ_{\max} y K_s elevadas, mientras que los MF tienen μ_{\max} y K_s bajas. Esto implica que los FF presentan mayores μ que los MF a concentraciones elevadas de sustrato, mientras que los MF presentan mayores μ a bajas concentraciones de sustrato. En consecuencia, los MF predominarían a bajas concentraciones de sustrato y los FF a altas concentraciones de sustrato.

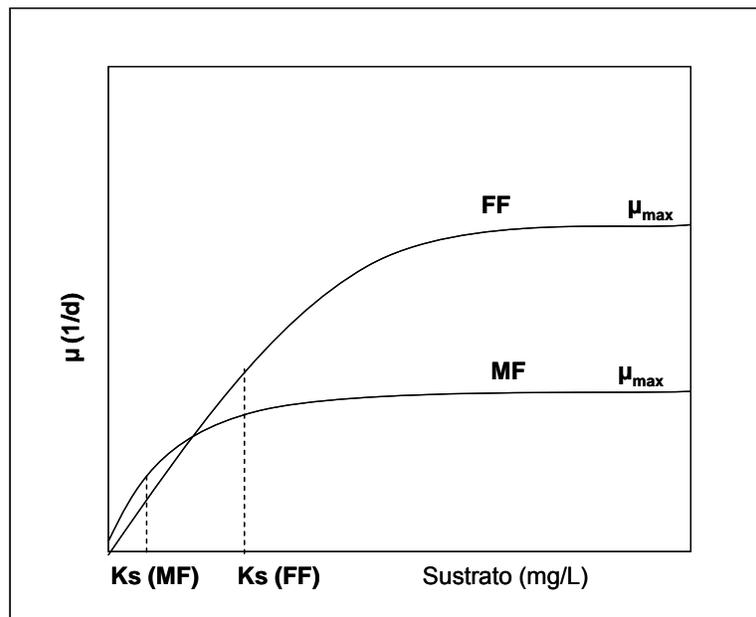


Figura 2.6. Crecimiento de MF y FF en presencia de sustrato, adaptado de Chudoba *et al.* (1973a).



b) Crecimiento en ausencia de sustrato

En periodos de inanición, la fase de captura de sustrato y de síntesis de material celular están separadas en el tiempo, por lo que puede darse un fenómeno de competencia (por selección cinética) a nivel de la capacidad que muestran los microorganismos de resistir periodos prolongados en metabolismo endógeno utilizando sus reservas.

Chiesa e Irving (1985) en su hipótesis integrada utilizan esta clase de selección cinética. Para ellos el periodo de metabolismo endógeno es un periodo de inanición y que conseguir resistir la inanición precisa que los microorganismos:

- Tengan bajas necesidades energéticas para mantenerse vivos durante la inanición.
- Sus células estén bien cargadas de productos de reserva.

En base a lo anterior, dividen a los microorganismos del lodo activado en tres grupos:

- a) FF de crecimiento rápido
- b) MF sensibles a la inanición y de crecimiento rápido.
- c) MF resistentes a la inanición y de crecimiento lento

2.6.3 Fenómeno de almacenamiento

Recientes estudios han sugerido que el fenómeno de almacenamiento es un mecanismo importante en la selección de los microorganismos. (Khono *et al.*, 1991; Majone *et al.*, 1996; van Loosdrecht *et al.*, 1997; Goel *et al.*, 1998).

Los microorganismos del lodo activado son capaces de almacenar la materia orgánica en forma de polímeros de almacenamiento (Cech y Chudoba, 1983; Matsuzawa y Mino, 1991). Según dichos autores, estos compuestos intracelulares juegan un importante papel en el metabolismo de los microorganismos que participan en los procesos de remoción de nutrientes. Algunas de estas bacterias son: bacterias Bio-P y bacterias "G" acumuladoras de glucógeno y PHB (Wentzel *et al.*, 1986; Satoh *et al.*, 1992).

Varios tipos de polímeros de almacenamiento han sido reportados en la bibliografía, como son: poli- β -hidroxibutirato (PHB), glucógeno y polifosfato (Poli-P) (Zevenhuizen y Ebbink, 1974). Al parecer, el PHB es el polímero dominante en la mayoría de los microorganismos debido a que se toma a partir de un metabolito central, Acetil-CoA (van Loosdrecht *et al.* 1997). El glucógeno se forma probablemente sólo cuando hay azúcares presentes en el afluente o cuando el glucógeno juega un papel esencial en el metabolismo de las bacterias.

En un proceso de lodos activados, aquellos microorganismos capaces de almacenar rápidamente el sustrato y utilizarlo, tendrán una ventaja competitiva sobre aquellos microorganismos que no tengan dicha capacidad (Figura 2.7) (van Loosdrecht *et al.* 1997).

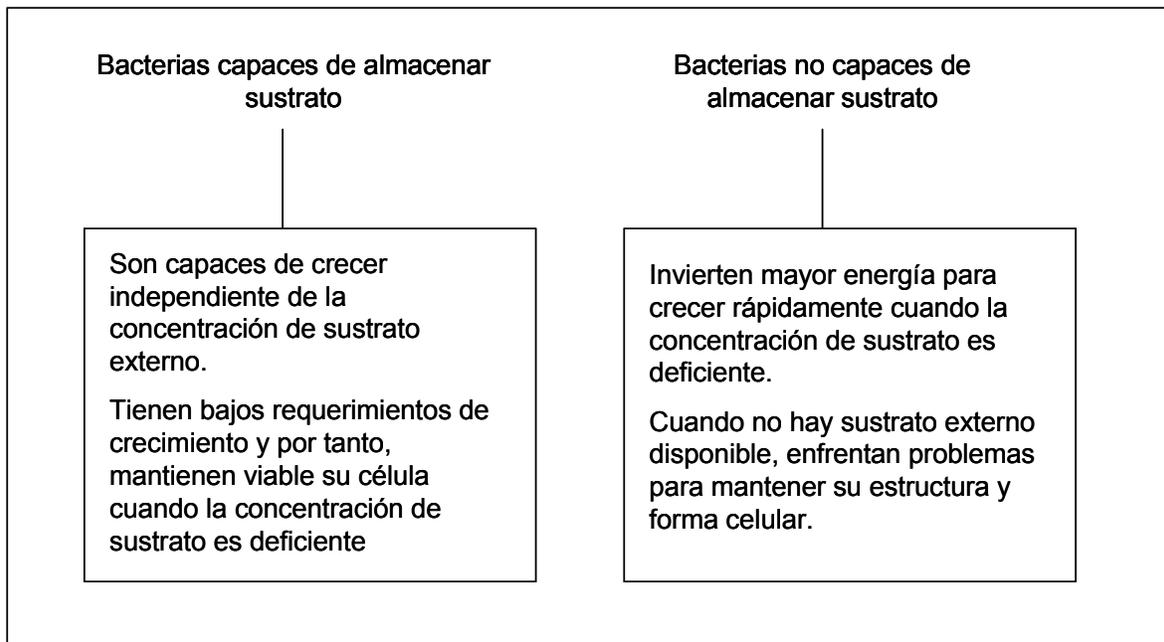


Figura 2.7. Ventajas y desventajas de los microorganismos con capacidad de almacenar sustrato.

Los microorganismos no filamentosos presentan una gran habilidad para almacenar productos de reserva a altas concentraciones de sustrato, lo cual les da una ventaja competitiva sobre los MF (Van de Eynde *et al.*, 1983; Van de Eynde *et al.*, 1984; Chiesa *et al.*, 1985; Krishna y van Loosdrecht, 1999). Van de Eynde *et al.* (1984) mostraron que la bacteria FF *Arthrobacter sp* tiene una mayor capacidad de almacenamiento que el filamentosos *S. natans*. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que un lodo con esponjamiento puede tener la misma capacidad de almacenamiento que un lodo con buenas características de sedimentación y compactación (Beccari *et al.*, 1998; Martins *et al.*, 2003a) especialmente a bajas concentraciones de sustrato.

Cultivos de microorganismos puros y mezclados mostraron que el MF *M. parvicella*, puede tener una alta capacidad de almacenamiento bajo diversas condiciones ambientales (aerobio, anóxico, anaerobio) (Andreasen y Nielsen, 2000; Nielsen *et al.*, 2002; Rossetti *et al.*, 2002). Por tanto, aunque FF y MF tienen alta capacidad para almacenar productos de reserva, se ha demostrado (Beccari *et al.* 1998) que los MF tienen la misma capacidad que los FF para competir eficientemente con los FF cuando la concentración de sustrato externo es baja, mecanismo que utilizan bajo dichas condiciones para proliferar sobre los FF.

Daigger y Gradi (1982) proponen que cuando los microorganismos están en contacto con SFB, el fenómeno que predomina ya sea crecimiento o almacenamiento, depende de la naturaleza de la biomasa, del sustrato y de las condiciones de operación (Figura 2.8).

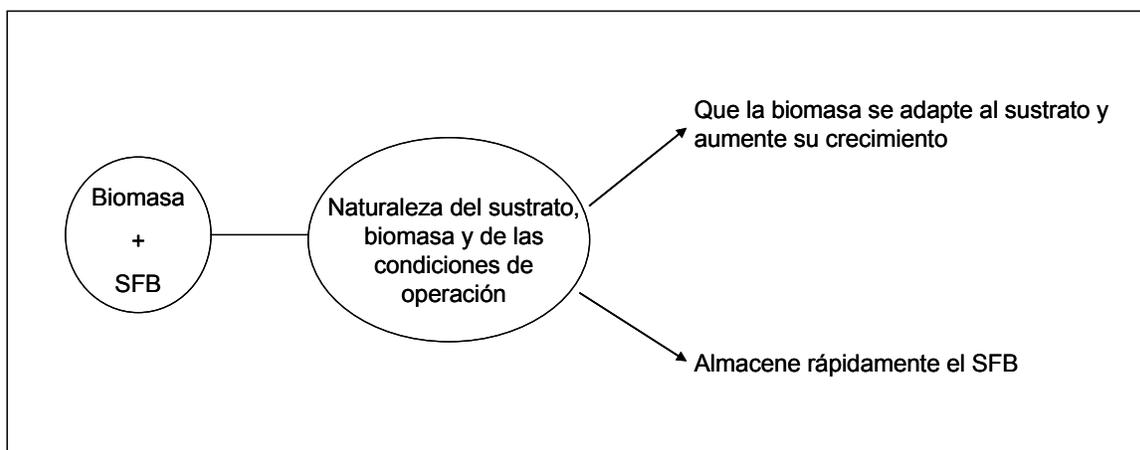


Figura 2.8. Respuesta de los microorganismos a un SFB.

Dircks (1999) propone que al recibir una cantidad de SFB, su remoción por parte de los microorganismos se lleva a cabo en dos etapas (Figura 2.9).

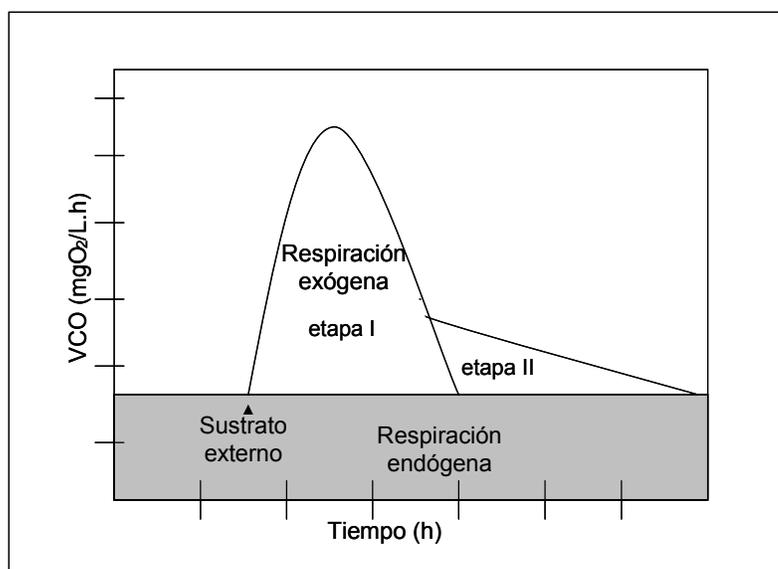


Figura 2.9. Ejemplo de un respirograma. Etapas de la remoción de un sustrato (Dircks *et al.* 1999).

En la etapa I de la Figura 2.9, los microorganismos disponen de concentraciones elevadas de sustrato que rápidamente consumen y mayoritariamente almacenan en su interior, aunque una parte puede emplearse para el crecimiento. La caída de la curva de la velocidad de consumo de oxígeno (VCO) en esta etapa, se debe a la eliminación del sustrato disponible en el medio. Cuando éste prácticamente se ha terminado, empieza la etapa II, en la que los microorganismos consumen lentamente el sustrato almacenado en su interior. Al ser este consumido más lento, también lo es la VCO.



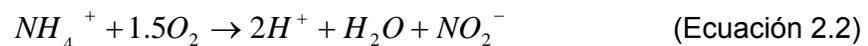
Evidencia experimental ha probado que el almacenamiento y el crecimiento de los microorganismos se dan al mismo tiempo y compiten por el sustrato externo (Karahan-Gül *et al.* 2002). Cuando la concentración de sustrato disponible es baja (bajas F/M), el mecanismo predominante es el crecimiento, mientras que un incremento en la concentración de sustrato externo (alta F/M) después de un periodo de inanición, el almacenamiento predomina.

Diversas investigaciones experimentales (Beccari *et al.*, 1998; Goel *et al.*, 1998; Dircks *et al.*, 1999; Dircks *et al.*, 2001; Karagan-Gül *et al.*, 2002) han sido realizadas a partir de medidas respirométricas para comprender la forma en la cual los microorganismos del lodo activado asimilan los sustratos. Dichas investigaciones, han sido principalmente enfocadas a comparar la Y_{obs} y Y_{alm} que muestran los microorganismos con diferentes tipos de sustratos, principalmente SFB. Beccari *et al.* (1998) quienes midieron la respuesta del almacenamiento de un lodo con esponjamiento, concluyeron que los MF fueron capaces de remover el acetato y almacenarlo tan rápido como los FF concluyendo que los MF son capaces de competir con los FF bajo condiciones de alimentación intermitente por el sustrato disponible.

2.6.4 Monóxido de nitrógeno como causante del esponjamiento filamentoso

Casey *et al.* (1999) han estudiado en condiciones de nitrificación (NT) y desnitrificación (DN) la competencia entre FF y MF.

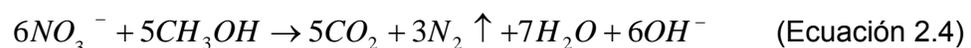
El proceso de NT es la conversión u oxidación de amonio (NH_4^+) a iones nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) o N-NOx. Este proceso se lleva a cabo en dos etapas nitrificación y nitratación. En la nitrificación las bacterias *Nitrosomonas* convierten el NH_4^+ a NO_2^- .



En la nitratación, las bacterias *Nitrobacter* convierten el NO_2^- a NO_3^-



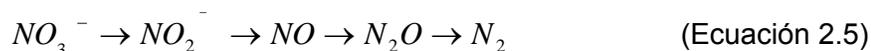
El proceso de DN es la conversión del NO_3^- formado en las etapas aerobias, a nitrógeno molecular (N_2). Este proceso es llevado a cabo por diferentes microorganismos heterótrofos facultativos que en ausencia de oxígeno, utilizan el NO_3^- como aceptor de electrones para su respiración celular.



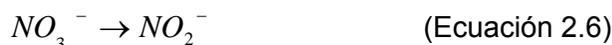
Casey *et al.* (1999) mencionan que las vías de DN de FF y MF son muy diferente, ya que para que los FF reduzcan el NO_3^- a N_2 en condiciones anóxicas, lo hacen a través de varios intermediarios del nitrógeno, diferentes de los MF que únicamente reducen el NO_3^- a NO_2^- .



Vía de DN de FF



Vía de DN de MF



Esta diferencia les da a los FF una desventaja sobre los MF, ya que en ausencia de o en presencia de poco sustrato, el intermediario NO se acumula dentro de los FF (zona o fase anóxica) y posteriormente, en la zona aerobia el NO intracelular impide la utilización del OD por parte de los FF al inhibir la enzima citocromo oxidasa y, por tanto, los MF no pueden oxidar la materia orgánica y van reduciendo su crecimiento. Por otra parte, al no acumular los MF el NO en las fases anóxicas, no son inhibidos en la respiración celular en la fase aerobia (Casey *et al.* 1999).

Por lo tanto, en sistemas en los cuales el lodo activado es expuesto al cambio de zonas o fases anóxicas-óxicas y, además, el NO_3^- está presente a alta concentración, los FF tienen una desventaja sobre los MF para competir por el sustrato bajo condiciones aerobias. Para que se pueda mantener la inhibición de los FF bajo las condiciones aerobias, se requiere una concentración extracelular de $\text{NO}_2^- > 1.0$ mg/L para mantener concentraciones intracelulares de NO a niveles a los cuales se inhiba la enzima citocromo oxidasa.

2.7 Sustrato lentamente biodegradable y esponjamiento filamentoso

De acuerdo a Ekama y Marais (1984), el sustrato orgánico expresado como demanda química de oxígeno (DQO), puede dividirse como sigue:

- DQO biodegradable: fácilmente biodegradable soluble y lentamente biodegradable particulada.
- DQO no biodegradable: no biodegradable soluble y no biodegradable particulada.

Según Orhon *et al.* (2002), el SLB representa la mayor fracción del complejo orgánico del agua residual doméstica e industrial. Manka y Rebhun (1982) demostraron que el 61% de la materia orgánica de un efluente doméstico contenía compuestos de peso molecular mayor de 20,000 unidades de masa atómica (uma) y que carbohidratos y proteínas eran los compuestos predominantes. Otras investigaciones realizadas (Logan y Jiang, 1990) concluyeron que el 50-60% de la DQO de un agua residual doméstica (ARD) contenía compuestos mayores de 1000 uma. Metcalf y Eddy (1996) proponen que la composición del ARD es, 40-60% proteína, 25-50% carbohidratos y 10% lípidos.

La predominancia del SLB en el ARD despertó el interés en conocer sus mecanismos de degradación (McLoughlin y Crombie-Quilty, 1983; Haldane y Logan, 1994; Confer y Logan, 1997; Jimenez *et al.*, 2005; Jimenez *et al.*, 2007). Según Dold y Marais (1986) el



SLB debe ser hidrolizado por una o más enzimas hidrolíticas para ser transportados a través de la membrana celular y que los microorganismos del lodo activado puedan utilizarlos. Kamio y Nikaido (1977) consideran macromoléculas los compuestos de peso molecular mayor de 1000 uma o polímeros de aminoácidos y azúcares con más de 5 o 6 monómeros en su estructura.

Confer y Logan (1997) al estudiar la biodegradación de la proteína albúmina de suero bovino (ASB) proponen un mecanismo de degradación macromolecular (Figura 2.10).

1. Las moléculas de alto peso molecular difunden a la superficie de la célula, ya sea células en suspensión, agregados o *biofilms*.
2. La hidrólisis en la superficie celular resulta en la liberación de fragmentos hidrolizados.
3. Los fragmentos hidrolizados que son producidos de la degradación incompleta de macromoléculas difunden fuera de la célula.
4. Se repiten los pasos 1 al 3 hasta que resulten fragmentos lo suficientemente pequeños para poder atravesar la célula (polímeros de aminoácidos y azúcares menores de 5 o 6 monómeros en su estructura).

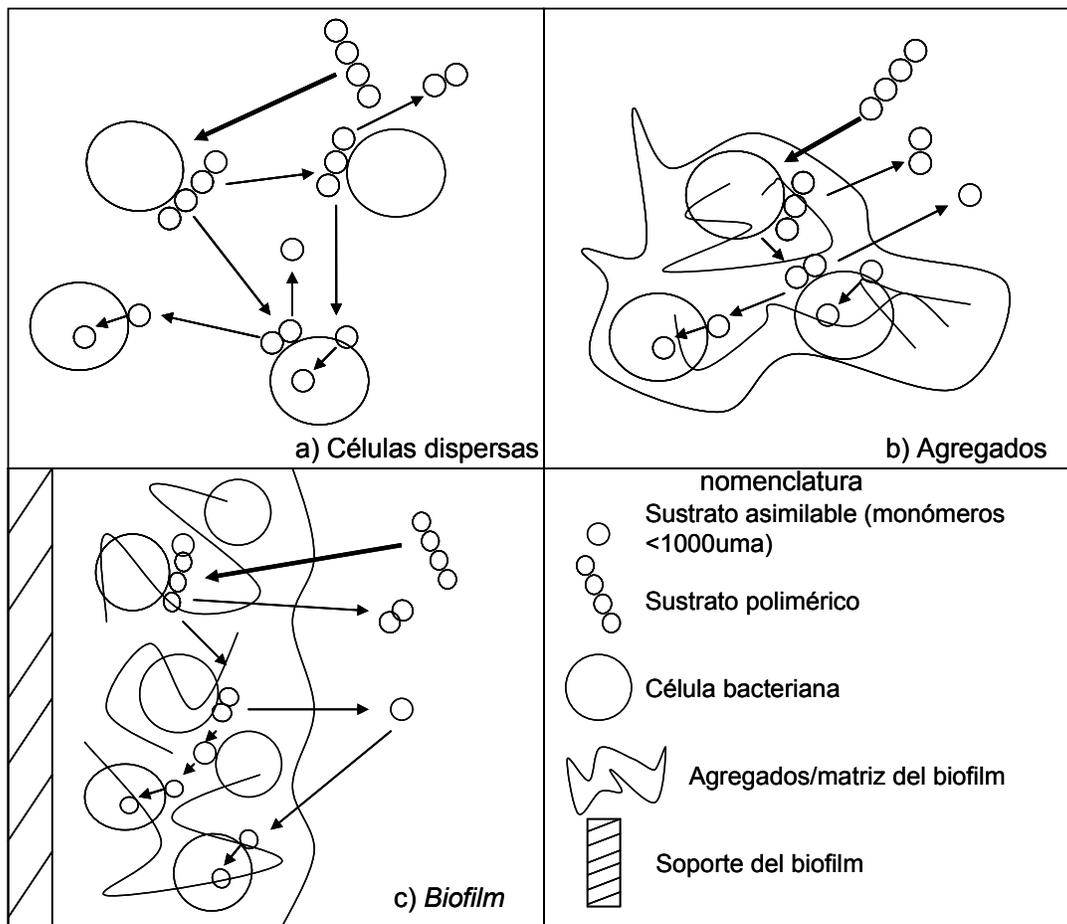


Figura 2.10. Modelo de degradación macromolecular en a) células dispersas, b) agregados, c) *biofilm* (Confer y Logan, 1997).



Estudios realizados por Karahan-Gül *et al.* (2006) demostraron que la hidrólisis del almidón ocurría principalmente dentro de los flóculos del lodo activado y, por tanto, concluyeron que la adsorción es el principal mecanismo de remoción del sustrato particulado y que la actividad de las enzimas hidrolíticas ocurre dentro de los flóculos. Jiménez *et al.* (2007) llama *biofloculación* a este proceso de adsorción. Define la biofloculación como un proceso natural de agregación de SS y partículas coloidales como consecuencia de la actividad microbiana. Dicho proceso ocurre por la liberación de polímeros exocelulares producidos por los microorganismos del LM.

Aunque diversas investigaciones han sido enfocadas a entender los mecanismos de biodegradación de compuestos de alto peso molecular, pocos estudios (Wanner y Novák 1990; Karahan-Gul *et al.*, 2006; Puigagut *et al.*, 2007) se han realizado para conocer su efecto sobre el desarrollo de los MF. Puigagut *et al.* (2007) quienes compararon el efecto del almidón y la glucosa sobre la eficiencia del tratamiento y la microfauna del lodo activado, reportaron que la remoción de N-NH_4^+ y N-NO_3^- fueron superiores en el sistema enriquecido con almidón. Las características de sedimentación también se vieron influenciadas por el tipo de sustrato. El sistema con almidón presentó flóculos más compactos por el bajo contenido de MF a diferencia del sistema de glucosa, que sí desarrollo esponjamiento filamentoso causado predominantemente por *S. natans*.

Por otro lado, Goel *et al.* (1998) reportaron la Y_{obs} de los microorganismos alimentados con almidón como única fuente de carbono. Al compara el valor con los reportados para SFB, se observa que es similar a los reportados con acetato aunque en algunos casos, inferior a los reportados para glucosa. Dicha diferencia puede ser debida a su previa hidrólisis para que los microorganismos del lodo activado lo asimilen (Dold y Marais 1986).

De lo anterior, Banerji *et al.* (1966) quienes estudiaron la cinética de degradación del almidón, afirman que el tamaño de la molécula es una limitante para su difusión en la célula bacteriana y, por lo tanto, las macromoléculas tendrán un bajo coeficiente de difusión (D) que limitará su transporte.



CAPÍTULO 3

Materiales y métodos

En este capítulo se describe de manera general la metodología empleada para el desarrollo del presente trabajo de investigación. Asimismo, se describen los materiales y métodos experimentales para determinar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos necesarios para caracterizar la PTAR y caracterizar el grado de esponjamiento del lodo activado por efecto de distintos tipos de sustrato.

3.1 Lugar de estudio

Esta tesis de maestría se realizó en el Laboratorio de Investigación en el Tratamiento de Aguas Residuales (LITAR) (Figura 3.1) del Centro de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería (CIEP-FI) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). Para el trabajo de investigación se contó con el apoyo y colaboración del personal de la Planta Tratadora de Aguas Residuales del Parque Tangamanga I (PTAR-I).



Figura 3.1. Fotografía panorámica del LITAR.



3.2 Metodología general

La Figura 3.2 muestra el esquema metodológico que se siguió a lo largo del presente trabajo de investigación.

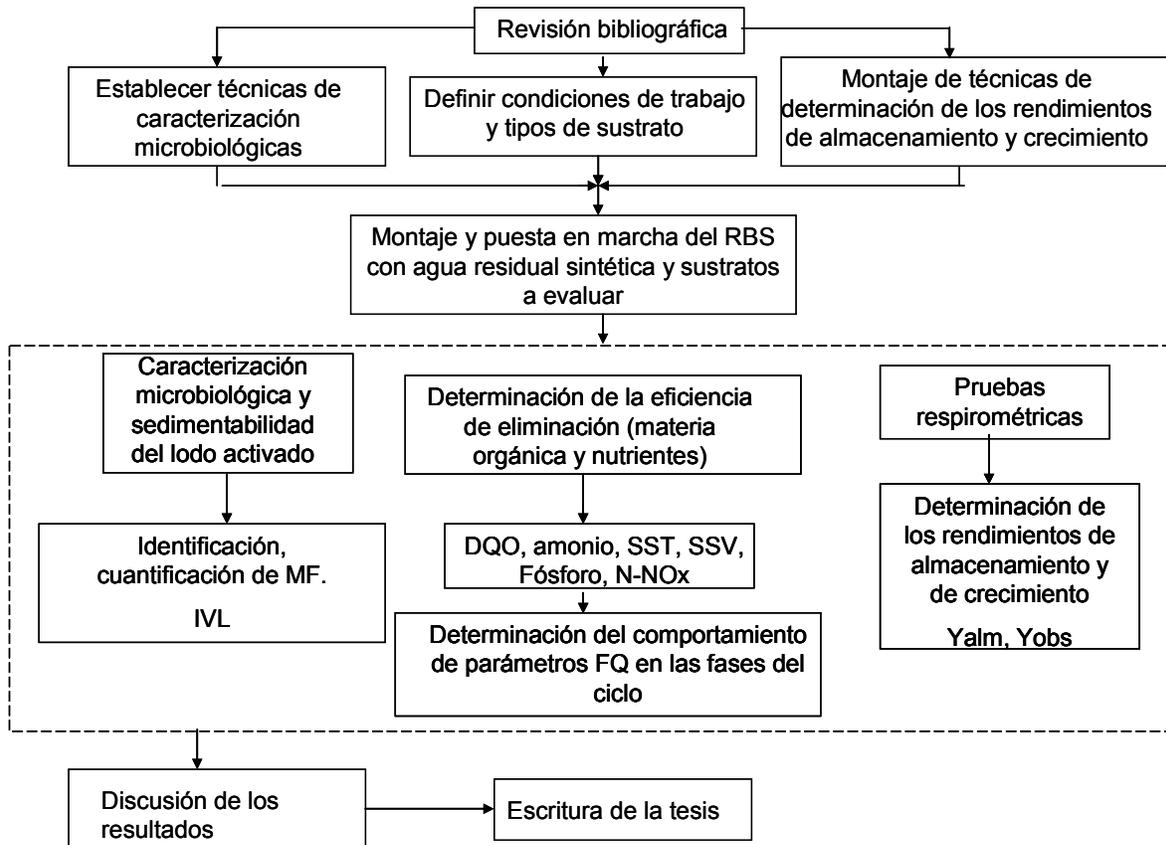


Figura 3.2. Metodología general del trabajo de investigación.

En primer lugar fue necesario realizar la revisión bibliográfica para definir las técnicas de caracterización microbiológica del lodo activado. Para el aprendizaje de dichas técnicas de caracterización, se realizó una estancia de tres meses en la Universidad de Barcelona (UB). Se definió también la metodología para la determinación de la Y_{alm} y Y_{obs} , y establecer las condiciones de trabajo y los tipos de sustrato a evaluar para caracterizar la respuesta de los microorganismos del lodo activado. Esta revisión se fue actualizando a lo largo de la investigación y durante la redacción de este documento.

En segundo lugar se realizó el montaje del sistema experimental que quedó integrado por las siguientes partes: 1. Depósito de almacenamiento del agua residual sintética (ARS) dotado de un sistema de agitación, 2. Sistema de tubos de látex para entrada y salida del afluente, 3. Bomba peristáltica para impulsar el ARS hacia el reactor, 4. Bomba de aire, 5. sistema de electroválvulas, 6. RBS integrado con sistema de agitación y sensores de pH, potencial redox, OD y temperatura, 7. Autómata programable para automatizar la



ejecución del tratamiento del ARS en el reactor, recibir las señales de los sensores y transferirlas al sistema de adquisición de datos y 8. Sistema de adquisición de datos.

Una vez montado el sistema experimental, el RBS se alimentó con biomasa proveniente de la PTA-I y con un ARS en la que las únicas fuentes de carbono fueron los diferentes sustratos evaluados: acetato, sacarosa, almidón y albúmina de huevo.

La evaluación de la respuesta de los microorganismos del lodo activado a cada uno de los sustratos fue evaluada realizando una caracterización microbiológica de los flóculos del lodo activado, identificación y cuantificación de los microorganismos predominantes, determinación del IVL, eficiencia de eliminación de materia orgánica y nutrientes, realizando diferentes pruebas fisicoquímicas del ARS (Tabla 3.1), y calculando la Y_{alm} y Y_{obs} del lodo mediante pruebas respirométricas.

Tabla 3.1. Nombre y código APHA de las técnicas analíticas realizadas para el análisis fisicoquímico del ARS.

Nombre de la técnica analítica	APHA (1998)
Sólidos suspendidos totales a 103-105°C	2540 D
Sólidos suspendidos volátiles a 550°C	2540 E
Demanda química de oxígeno (método de reflujo cerrado)	5220 D
Nitrógeno amoniacal (método del fenato)	4500 F
Nitrato + nitrito (N-NOx) (método de reducción con cadmio)	4500 E
Ortofosfato (método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico)	4500-P
Índice volumétrico de lodos (IVL)	2710 D
Velocidad de consumo de oxígeno (VCO)	2710B

Finalmente, se realizó la discusión de los resultados obtenidos para posteriormente concluir con la escritura de la tesis.

La Figura 3.3 muestra un dibujo del RBS con cada una de las partes integradas, y la Figura 3.4 muestra una fotografía panorámica del RBS a escala laboratorio empleado en este trabajo de investigación.

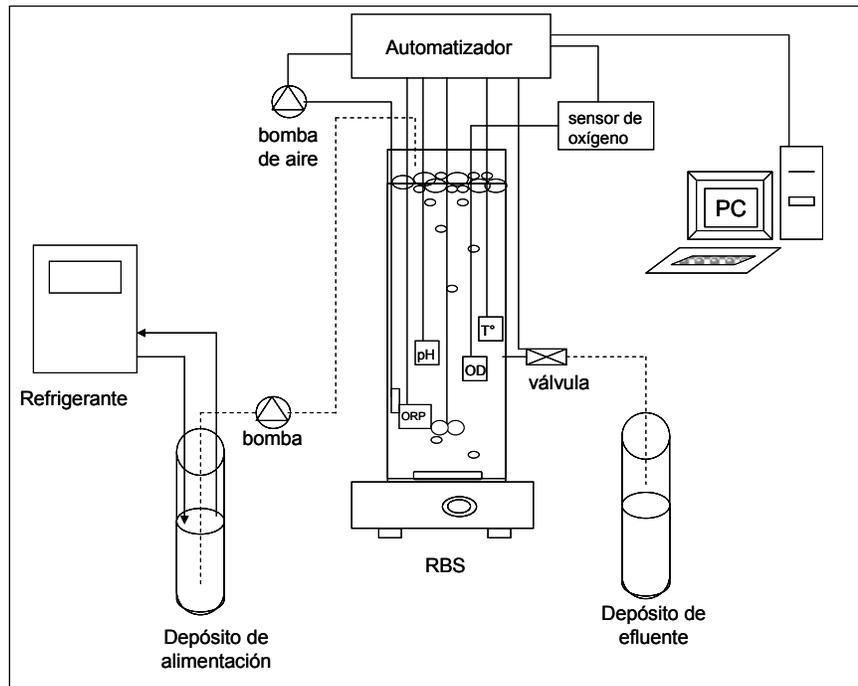


Figura 3.3. Diagrama completo del control del proceso del RBS utilizado en el presente trabajo de investigación.



Figura 3.4. Fotografía panorámica del control del proceso del RBS a escala del LITAR.

3.3 Descripción de las instalaciones utilizadas

3.3.1 RBS a escala laboratorio

El LITAR dispone de un prototipo de RBS a escala laboratorio basado en un prototipo experimental utilizado en Barajas (2002). En la Figura 3.5 se presenta un esquema del RBS y sus dimensiones.

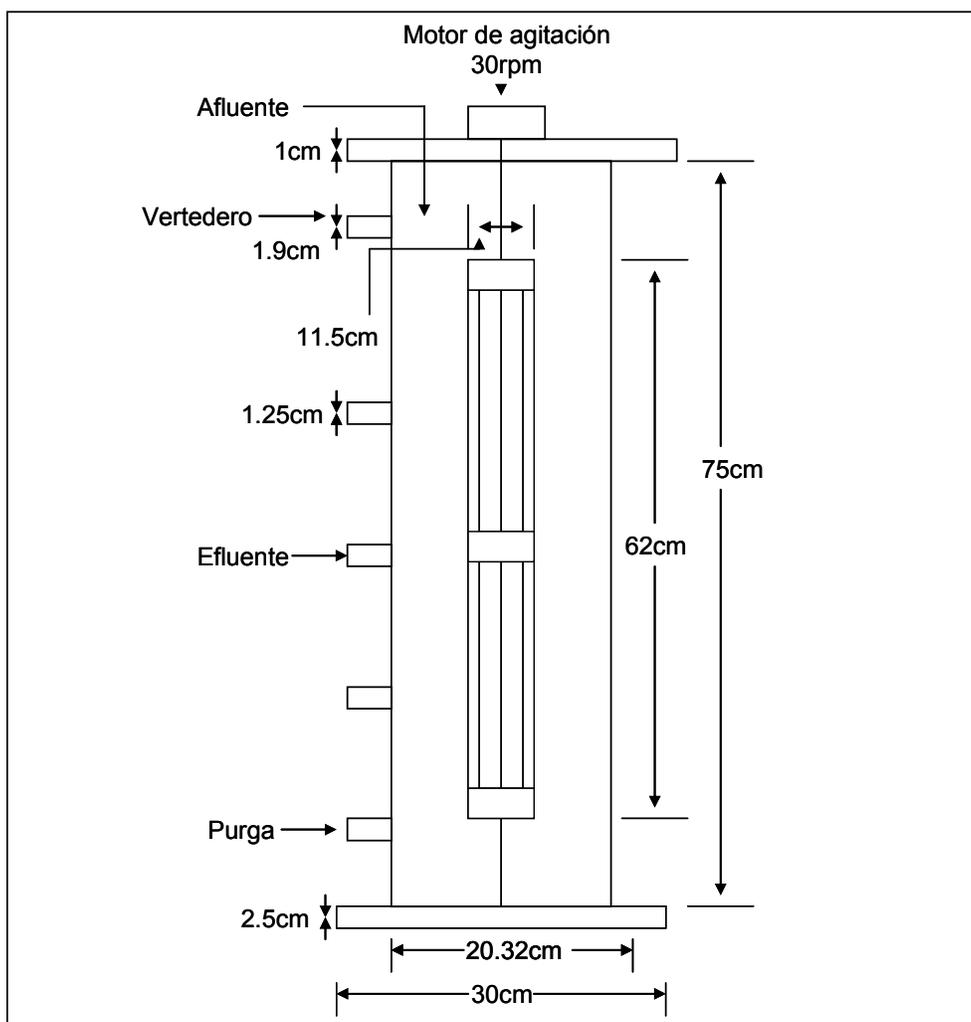


Figura 3.5. Corte en alzado del RBS a escala laboratorio.

El RBS a escala laboratorio tiene las siguientes características de diseño:

Se parte de una tubería de PVC de 75.0 cm de altura y 20.3 cm de diámetro.



1. **Volumen del reactor.** volumen de trabajo de 20 L.
2. **Placa base del reactor.** Las dimensiones de la placa base del reactor son 30 cm x 30 cm y 2.5 cm de espesor. Tiene 5 cm adicionales de placa a cada lado del tubo de PVC para darle estabilidad al reactor. El material de construcción de la placa base es de PVC.
3. **Orificios de vaciado.** El RBS cuenta con 4 orificios de vaciado de 1.25 cm de diámetro. Estos orificios se utilizan para la purga de lodo biológico y la toma de muestras. Así mismo, a 28 cm de la base del reactor se encuentra el orificio de salida del efluente.
4. **Orificio de demasía (vertedero).** El RBS cuenta con un vertedero de 1.9 cm de diámetro, este orificio da salida al exceso de agua residual en el reactor en caso de haberlo.
5. **Placa superior.** Cuenta con una placa superior de 30 x 30 cm y 1.0 cm de espesor, con la finalidad de dar mayor estabilidad al motorreductor.
6. **Agitador.** Las dimensiones del agitador son: altura de 62.0 cm y ancho de 11.5 cm.
7. **Adaptador entre el agitador y el motorreductor.** El adaptador entre el agitador y el motorreductor, es una pieza de acero inoxidable. Consta de dos orificios, uno de 0.6 cm en el que se introduce el agitador, y otro de 0.4 cm, en el que se introduce el eje del motorreductor.

3.3.1.1 Accesorios del prototipo experimental

Como se explicó en el apartado anterior, para introducir y extraer el ARS del reactor, se contaba con una serie de dispositivos (Figura 3.5).

1. **Entrada del afluente.** Esta se realizaba por la parte superior del tanque a través de un tubo de silicona de la marca *Masterflex* de 0.5 cm de diámetro. Este tubo iba acoplado a una bomba peristáltica. Esta bomba se encargaba de bombear un caudal de 1.29 L/h de ARS desde un depósito de alimentación hasta el reactor.

El depósito de alimentación del reactor era un recipiente de plástico de 60 L de capacidad cubierto de una esponja aislante y una tapa hermética que mantenían una temperatura de 5°C en el depósito para evitar cualquier contaminación del ARS y una disminución de la demanda química de oxígeno del afluente (DOQ_{AF}). Esta temperatura fue mantenida con un sistema refrigerante modelo 3016 (Fisher Scientific) acoplado al depósito de almacenamiento a través de un tubo de silicona de 0.5 cm de diámetro (cubierto con la misma esponja aislante) y que recirculaba agua del refrigerante al depósito y viceversa.

El tubo de silicona a su vez, estaba acoplado a un tubo de acero inoxidable de 0.5 cm de diámetro que formaba un serpentín (Figura 3.6) dentro del depósito de almacenamiento para asegurar que toda el ARS se mantuviera a 5°C. La Figura 3.7 muestra una fotografía del sistema de refrigeración.



Figura 3.6. Agitador con paleta de acrílico; serpentín de acero inoxidable en el depósito de almacenamiento.



Figura 3.7. Sistema refrigerante acoplado al depósito de almacenamiento.



2. **Rebosadero (vertedero).** Se encontraba situado a 2 cm por debajo de la parte superior del tanque, a este orificio se le acopló un tubo de plástico transparente de 2.5 cm de diámetro. Por este orificio se evacuaba el ARS en caso de que el sensor de nivel no funcionara correctamente.
3. **Salida del efluente y purga de lodo.** Éstas estaban situados a 28 y 3 cm respectivamente de la base del reactor. El orificio de efluente se acopló a un tubo de plástico transparente de 1.9 cm de diámetro y el de purga a una llave de PVC. El tubo de plástico de la salida de efluente era interrumpido por una electroválvula que se accionaban a través de un autómata programable.
4. **Agitación del LM.** Se realizaba mediante dos aspas rectangulares de PVC de 11.5 x 62.0 cm. Estas aspas se soldaron a un eje que se encontraba acoplado a un motorreductor eléctrico modelo AB (Hurst) que giraba a 30 rpm.
5. **Aireación del LM.** Se realizaba mediante una bomba de aire modelo 802 (Elite) con dos salidas de aire conectadas a dos tubos de silicona de la marca *Masterflex* de 0.5 cm de diámetro que llegaban hasta el interior del reactor. Los tubos estaban adheridos al cilindro mediante abrazaderas y, al final, estaban conectados a un par de difusores tipo pecera por donde salían pequeñas burbujas que ascendían y se distribuían por el LM hasta la superficie del reactor.

Un par de difusores estaba colocado en el fondo del tanque y otro a unos 20 cm de altura aproximadamente con objeto de facilitar la distribución y dilución del OD en el LM. Las burbujas de aire que salían de los difusores seguían un movimiento helicoidal ascendente debido a la combinación del movimiento de rotación provocado por la agitación y el movimiento ascendente de las mismas burbujas. Para impedir que estas burbujas llegaran hasta el sensor de oxígeno y provocaran interferencias, éste se colocó adherido a la pared del tanque mediante abrazaderas a unos 20 cm del fondo.

La Tabla 3.2 muestra un resumen de los equipos de proceso utilizados.

Tabla 3.2. Características técnicas de los diferentes mecanismos del prototipo del RBS.

Aparato	Marca	Modelo	Características
Motor de agitación	Hurts	AB	30 rpm, 115 V, 60 Hz, 5 W
Bomba de aire	Elite	802 1	20 V, 60 Hz, 3.5 W
Bomba peristáltica	Masterflex	701621	0.1 Hp
Electroválvulas	Parker	7C111P3	-

3.3.1.2 Cálculo del volumen de trabajo del reactor

Para escalar los volúmenes de la PTAR-I a la planta piloto, se estableció que los volúmenes del RBS fueran proporcionales a los de la PTAR-I, es decir:

$$V_{\max PTARI} = (25.92m^3)(25.88m^3)(6.4m^3) = 4,293m^3 = 4,293,000L \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

$$V_{\min PTARI} = (25.92)(25.88)(4.66) = 3,126m^3 = 3,126,000L \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

$$\frac{V_{\max RBS}}{V_{\min RBS}} = \frac{V_{\max PTARI}}{V_{\min PTARI}} \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

$$V_{\max RBS} = \left(\frac{V_{\max PTARI}}{V_{\min PTARI}} \right) V_{\min RBS} \quad (\text{Ecuación 3.4})$$

Para calcular los volúmenes máximo ($V_{\max RBS}$) y mínimo ($V_{\min RBS}$) del RBS proporcionales a los volúmenes de la PTAR-I, se partió de la ecuación 3.4; sin embargo, es necesario calcular primeramente el $V_{\min RBS}$. Éste se estableció midiendo manualmente el volumen del reactor hasta el volumen máximo de decantación (Figura 3.8).

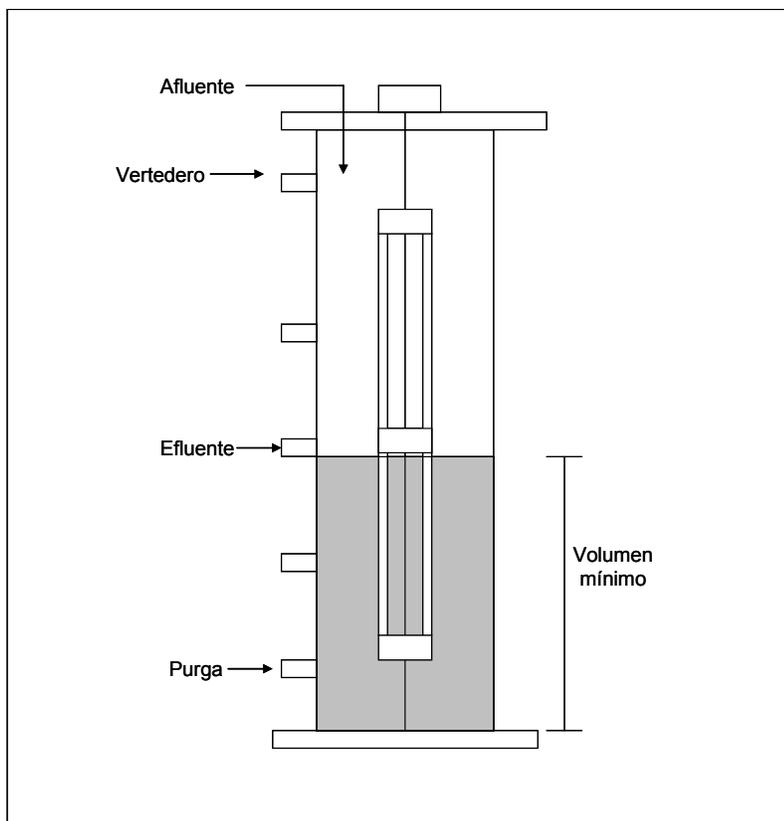


Figura 3.8. Presentación esquemática del volumen mínimo de la planta piloto.



$$V_{\min RBS} = 9.0L$$

$$V_{\max RBS} = \left(\frac{4,293,000L}{3,126,000L} \right) 9.0L = 12.36L$$

El volumen de intercambio o volumen de agua tratada en cada ciclo se calcula como la diferencia del $V_{\max RBS}$ y el $V_{\min RBS}$.

$$V_{\text{intercambio}} = V_{\max RBS} - V_{\min RBS} \quad (\text{Ecuación 3.5})$$

$$V_{\text{intercambio}} = 12.36L - 9.0L = 3.36L$$

3.3.1.3 Cálculo del caudal de llenado y del volumen de purga de los lodos biológicos

El caudal de llenado (Q_{llenado}) es el volumen conocido de agua residual (AR) introducida durante un determinado rango de tiempo. Este se calcula:

$$Q_{\text{llenado}} = \frac{V_{\text{intercambio}}}{t_{\text{llenado}}} \quad (\text{Ecuación 3.6})$$

El tiempo de llenado (t_{llenado}) es el tiempo durante las fases de llenado del reactor, entonces:

$$Q_{\text{llenado}} = \frac{3.44L}{2.66h} = 1.29L/h$$

El caudal de purga (Q_{purga}) es el volumen de LM extraído del reactor para mantener un cierto tiempo de retención celular (TRC). El TRC de los sólidos indica la edad del lodo presente en el reactor. En esta investigación, se estableció que la edad de lodo sería de 11 d (para mantener el mismo TRC de la PTAR-I) por tanto, el caudal de purga es:

$$Q_{\text{purga}} = \frac{V_{\max RBS}}{TRC} \quad (\text{Ecuación 3.7})$$

$$Q_{\text{purga}} = \frac{12.36L}{11d} = 1.12L/d$$

Esta purga se realizaba una vez al día (1.12 L/d).

La Tabla 3.3 resume las condiciones operacionales establecidas para el funcionamiento del reactor.



Tabla 3.3. Condiciones operacionales del RBS.

Característica	Valor establecido
$V_{\max RBS}$	12.36 L
$V_{\min RBS}$	9 L
Capacidad de tratamiento	3.36 L/ciclo, 15.12 L/d
Número de ciclos por día	4.5
Q_{llenado}	1.29 L/h
Q_{purga}	1 L/d
TRC	11 d
OD (punto de consigna fases aireadas)	2 mg OD /L
Duración del ciclo	5.16 h

3.3.1.4 Sistema automatizado de medición y control de los sensores del reactor

Con el fin de asegurar el funcionamiento automático del RBS durante las 24 h. del día, se dispuso de un autómata programable que medía las siguientes variables del proceso:

- OD
- Temperatura
- ORP
- pH

Asimismo, este autómata controlaba el funcionamiento de los siguientes dispositivos:

- Bomba peristáltica de alimentación
- Bomba de aire
- Motor de agitación
- Electroválvula de vaciado
- Resistencia de temperatura

Cada uno de los dispositivos estaban conectados al autómata el cual, a su vez, estaba conectado a una computadora que permitía visualizar los datos concernientes al estado de cada dispositivo, alarmas, estado del ciclo y barra de tiempos controlados por el autómata, además de registrar los datos en un archivo Excel. La Figura 3.9 muestra la pantalla principal del programa.

Los valores correspondientes a las entradas análogas correspondientes al control PID para la medición de OD y los valores de control para la temperatura, eran configurados manualmente (Figura 3.10). Todos los dispositivos a excepción de la electroválvula de purga, eran manejados por el autómata de forma automática, es decir, los dispositivos encendían o apagaban según estuviera programado en el ciclo. La Figura 3.11 muestra la pantalla de modo de operación para el control de los dispositivos.

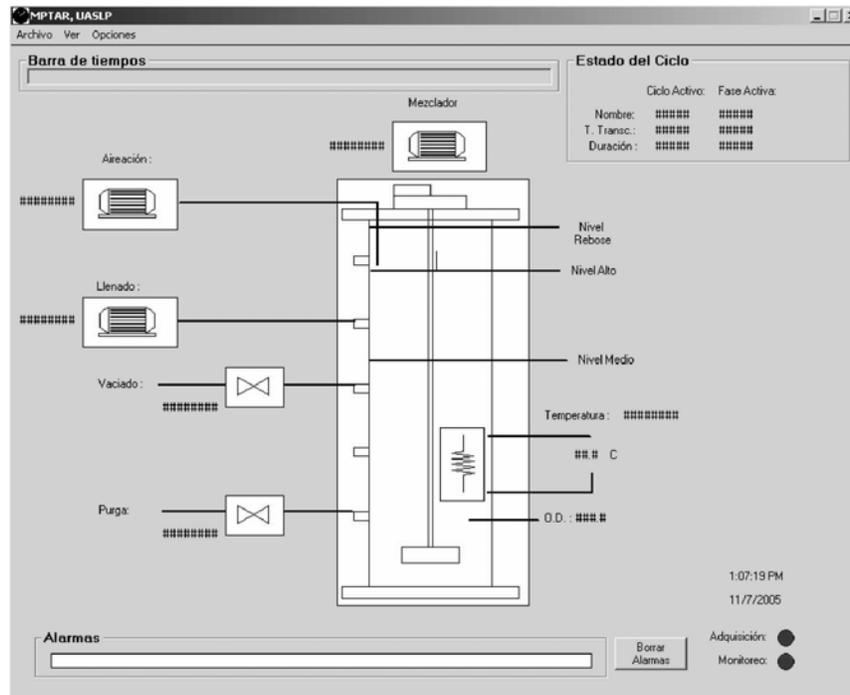


Figura 3.9. Pantalla principal del programa.

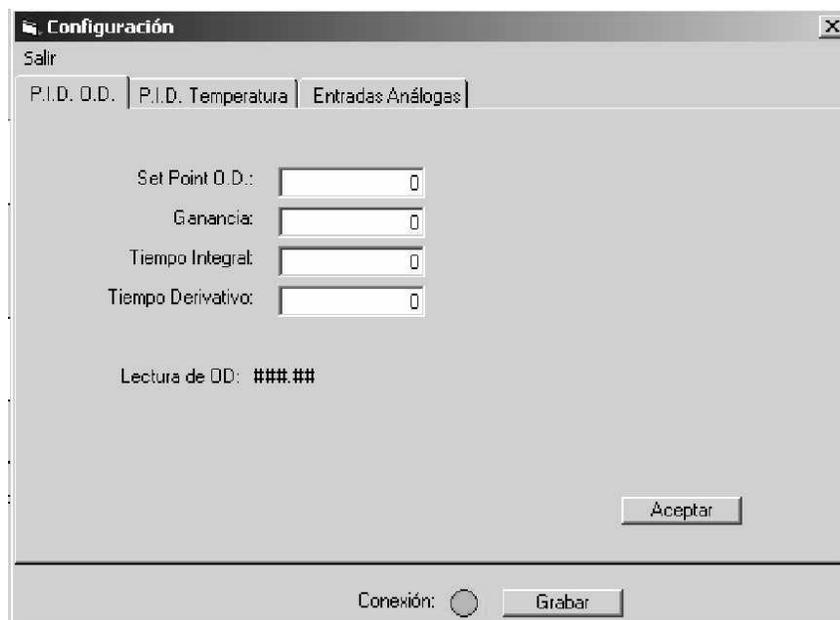


Figura 3.10. Pantalla de configuración de las entradas analógicas para el control de OD y temperatura.

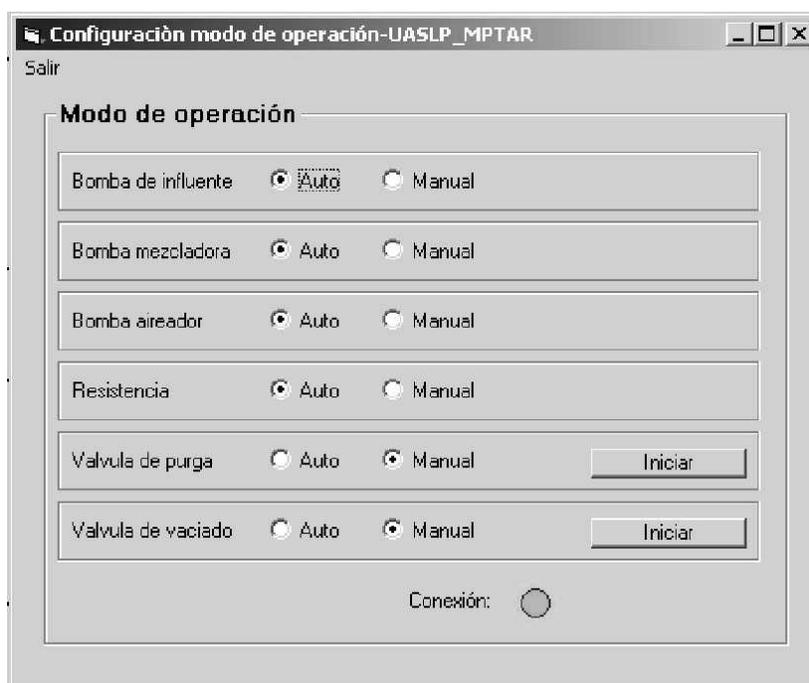


Figura 3.11. Pantalla de modo de operación.

3.3.2 Configuración del ciclo de tratamiento

La Figura 3.12 muestra la secuencia del ciclo de tratamiento configurado en el RBS.

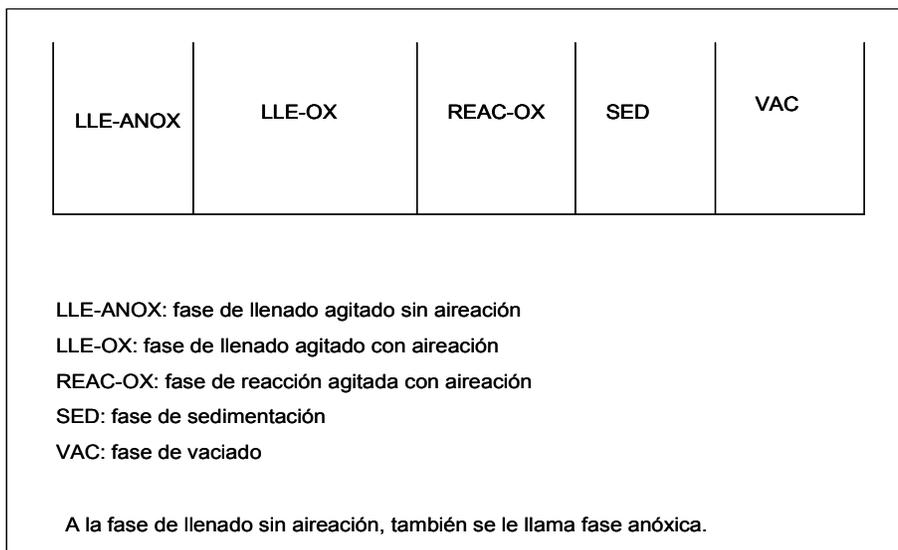


Figura 3.12. Etapas del ciclo de tratamiento en el RBS experimental.



La duración del ciclo de tratamiento fue de 5.16 h. El tiempo total de llenado fue de 2.66 h, incluyendo 0.66 h de LLE-ANOX y 2 h de LLE-OX, 0.66 h de REAC-OX, 1 h de SED y 0.83 h de VAC.

La Tabla 3.4 resume las características operacionales más importantes del tratamiento estudiado.

Tabla 3.4. Condiciones operacionales del tratamiento aplicado para la eliminación biológica de nutrientes en el RBS.

Característica	Valor establecido
$V_{\max RBS}$	12.36 L
$V_{\min RBS}$	9.0 L
Capacidad de tratamiento	3.36 L/ciclo, 15.12 L/d
Número de ciclos por día	4.5
Q_{llenado}	1.29 L/h
Q_{purga}	1 L/d
TRC	11 d
OD	2 mg OD /L
Duración del ciclo	5.16 h
Tiempo total de llenado	2.66 h
Tiempo de LLE-ANOX	0.66 h
Tiempo de LLE-OX	2 h
Tiempo de REAC-OX	0.66 h
Tiempo de SED	1 h
Tiempo de VAC	0.83 h

3.3.3 Fuentes de carbono e inóculo

Las fuentes de carbono utilizadas fueron dos SFB, acetato y sacarosa, y dos SLB, almidón y albúmina de huevo. El acetato y la sacarosa han sido elegidos en esta experimentación pues son sustratos que se han utilizado en investigaciones previas como prototipos de SFB, en especial el acetato (Gulez, 2005). Por otro lado, se consideran SLB a los compuestos de peso molecular mayor de 1000 uma o polímeros de aminoácidos y azúcares con más de 5 o 6 monómeros en su estructura (Kamio y Nikaido, 1977). Como prototipo de este tipo de sustratos, el almidón (Puigagut *et al.* 2007) y la ASB (Confer y Logan, 1997) han sido evaluados. Siendo así, la albúmina de huevo se decidió emplear como prototipo de SLB al presentar ser una glicoproteína de 42.7 KDa.

El RBS se inoculó con 4 L de biomasa (en todos los casos) de la fase de REAC-OX de la PTAR-I. Esta se alimentó con ARS en donde la única fuente de carbono fueron los cuatro tipos de sustratos a evaluar. La Tabla 3.5 muestra la composición del ARS utilizada.



Tabla 3.5. Composición del agua sintética, adaptado de Yang (1997).

Contenido	Concentración (mg/L)
Fuente de carbono	DQO = 150
acetato	210
sacarosa	160
almidón	155
albúmina de huevo	122
(NH ₄) ₂ SO ₄	75
MgSO ₄ · 7H ₂ O	12
FeCl ₃ · 6H ₂ O	0.07
KH ₂ PO ₄	8.28
K ₂ HPO ₄	16.82
MnSO ₄ · H ₂ O	1.5
CaCl ₂	1.12
pH	6.5-7.2

Las condiciones de evaluación de todos los sustratos fueron siempre las mismas DQO afluente (DQO_{AF}) de 150 mg/L, OD 2 mg/L y TRC 11 d (Tabla 3.4). Cada vez que se evaluaba la respuesta a un nuevo sustrato, se desechaba la biomasa anterior y el RBS era inoculado nuevamente con 4 L de biomasa de la fase de REAC-OX de la PTAR-I y se hacía toda la caracterización correspondiente del sistema.

La Figura 3.13 muestra un esquema de la metodología seguida para caracterizar la respuesta de los microorganismos para cada sustrato.

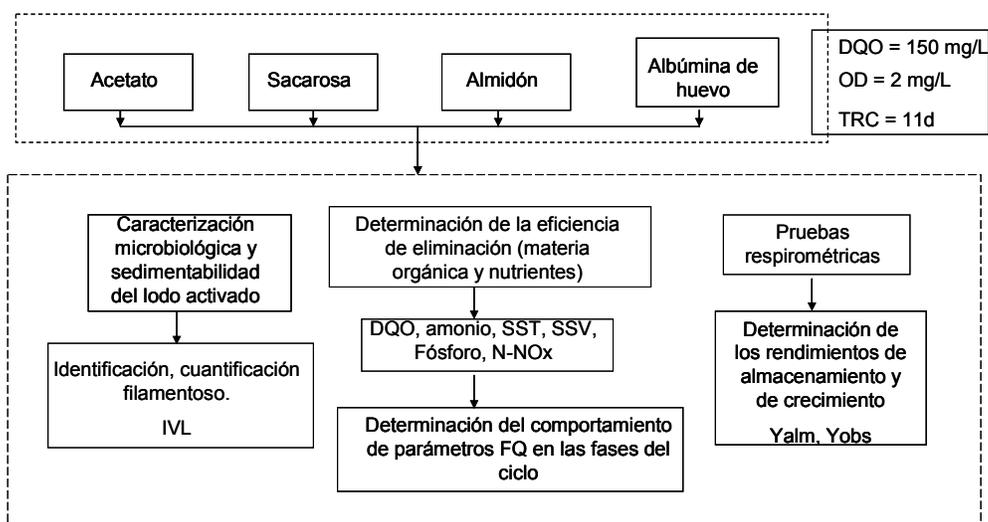


Figura 3.13. Metodología seguida para la evaluación de la respuesta a los diferentes sustratos evaluados.



La Tabla 3.6 muestra la concentración de SSVLM de alimentación del RBS en cada caso y, además, el periodo de experimentación de cada uno de los sustratos evaluados.

Tabla 3.6. Concentración de SSVLM de alimentación del RBS y periodo experimental de cada uno de los sustratos evaluados.

Sustrato	SSVLM (mg/L)	Periodo de experimentación (2008)
acetato	1,592	21 abril – 19 mayo
sacarosa	1,605	27 mayo – 24 junio
almidón	1,720	27 junio – 24 agosto
albúmina de huevo	1,550	05 septiembre - 14 noviembre

Para mantener una DQO_{AF} de 150 mg/L con cada uno de los sustratos evaluados, fue necesario determinar experimentalmente los gramos de DQO que consume 1 gramo de sacarosa, almidón y albúmina de huevo y calcular de esta manera, los g de dichos sustratos para mantener una DQO_{AF} de 150 mg/L (Tabla 3.5). La relación de DQO/mg acetato y la metodología para determinar dichas relaciones se tomó de Ortiz (2008).

3.3.3.1 Determinación de la relación DQO/peso de sacarosa, almidón y albúmina de huevo

Para obtener la relación de DQO/peso de la sacarosa, almidón y albúmina de huevo, fue necesario primeramente realizar pruebas de desecación a los reactivos para descartar la presencia significativa de agua que pudiera afectar la determinación de los equivalentes de DQO. El procedimiento seguido para esta prueba está descrito en Ortiz (2008).

Una vez hechas las pruebas de desecación, se procedió a determinar dicha relación como sigue. Se pesaron cantidades conocidas de los sustratos para preparar soluciones en un intervalo de concentración entre 100 - 800 mg/L. A cada una de las soluciones preparadas se les determinó la DQO por el método del reflujo cerrado (APHA, 1998).

La determinación de la relación DQO/peso para cada uno de los sustratos, se realizó dos veces en días diferentes por el procedimiento indicado, y para calcular la relación DQO/peso, se analizaron las curvas de DQO (mg/L) frente a la concentración de las soluciones utilizadas (mg/L) y para cada curva se realizó un análisis de regresión.

Según Ortiz (2008), la relación DQO/peso debe ser constante. Para ello, la curva de regresión de la DQO frente al peso de un determinado sustrato debe dar una buena linealidad y una ordenada al origen nula, cuando se cumplen estas dos condiciones, la pendiente del gráfico indica fielmente el valor constante de la relación DQO/peso. Se verifica la linealidad con el valor de R^2 y mediante el intervalo de confianza al 95% para la ordenada al origen. Cuando este intervalo abarca el cero, se toma la ordenada al origen



igual a cero para un nivel de confianza al 95% y el valor de la pendiente, se toma como la relación de DQO/peso.

3.4 Variables medidas y métodos de análisis del ARS

La mayoría de los métodos de análisis realizados en este trabajo de investigación se describen en APHA (1998). Se indican expresamente aquellos parámetros que fueron tomados de otras fuentes bibliográficas. A excepción los SST y SSV, todos los demás análisis realizados requieren filtración de la muestra por filtros de 0.45 μm de diámetro de poro.

3.4.1 Medidas físicas

3.4.1.1 Temperatura

La temperatura dentro del LM del RBS era medida mediante un sensor de temperatura (DIEMSA).

3.4.1.2 Sólidos suspendidos totales

Los sólidos suspendidos totales (SST) del LM, afluente y efluente, se determinaron haciendo pasar un volumen conocido de muestra por un filtro de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro y 0.8 μm de poro catálogo No. 934-AH (Whatman). Estos filtros se lavaban previamente con agua tridestilada y se secaban en la estufa modelo 637 (Fisher Scientific) a 110°C por 24 h. y se pesaban. Una vez que se tenía registrado el peso del filtro, éste se colocaba en el dispositivo de filtración con bomba de vacío modelo 5KC49NN0194AX (GE Motors Industrial Systems), se filtraba un volumen conocido de muestra previamente homogeneizada y se colocaba dentro de la estufa a 105°C por 24 h. Después de transcurrido ese tiempo, se sacaba y se colocaba en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y se pesaba nuevamente. De acuerdo con APHA (1998) el filtro debe contener un mínimo de 2.5 mg/L de sólidos para que sea válido el cálculo de los SST en la muestra de AR.

3.4.1.3 Sólidos suspendidos volátiles

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se definen como el contenido de materia orgánica en los sólidos totales de un volumen de AR, y son una medida que se utiliza para estimar la cantidad de microorganismos presentes en el LM de un lodo activado. Se calculan a partir de la determinación de los SST. Una vez que se han calculado los SST, el filtro se introdujo en una mufla tipo 47900 serie 1284 (**Barnstead**International) a 550°C por un tiempo de 20 a 30 min. de esta manera, los sólidos orgánicos se volatilizan quedando únicamente en el filtro los sólidos fijos. Se saca el filtro de la mufla y se coloca en el desecador hasta que alcancen la temperatura ambiente y posteriormente se pesa. De esta manera la cantidad de SSV se calcula a partir de la diferencia de peso entre los sólidos fijos y SST (APHA, 1998).



3.4.1.4 Índice volumétrico de lodos

El índice volumétrico de lodos (IVL) se utiliza para medir el grado de sedimentación de los lodos. Representa el volumen en mL que ocupa 1 g de sólidos en suspensión del LM después de 30 min. de sedimentación. Los valores de IVL que están entre 75 - 125 mL/g indican que los lodos están formados por flóculos que tienen una proporción equilibrada de MF y FF, por lo cual, el lodo sedimenta bien. Valores mayores de 150 mL/g indican generalmente un exceso de MF que a su vez producen una mala sedimentación de los lodos. A este fenómeno se le llama esponjamiento filamentoso (Jenkins *et al.* 1993).

Para determinar el IVL hay que calcular previamente la concentración de sólidos suspendidos totales de licor mezclado (SSTLM). Asimismo, se debe determinar el volumen que ocupa el lodo después de 30 min. de sedimentación por medio del método V_{30} . Este método consiste en colocar 1 L de LM previamente agitado en una probeta graduada de 1 L y dejar la muestra en reposo durante 30 min. Al término de este tiempo se registra el volumen ocupado por el lodo que ha sedimentado y el resultado se da en mL/L. Finalmente el valor del IVL se obtiene introduciendo los resultados obtenidos en la siguiente ecuación.

$$IVL = \frac{(V_{30})(1000)}{SSTLM} \quad (\text{Ecuación 3.8})$$

Donde:

V_{30} = volumen que ocupa el lodo en 1 L después de 30 min. de sedimentación (mL/L)

SSTLM = sólidos suspendidos totales de licor mezclado (mg/L)

3.4.1.5 Carga másica

La carga másica (F/M) es un parámetro ampliamente utilizado en el control del proceso de lodos activados. Representa los kg diarios de sustrato introducidos en el proceso por kg de biomasa presente en el reactor por día. Puede aplicarse a la DBO o a la DQO. En este último caso se calcula aplicando la siguiente ecuación (Metcalf y Eddy, 1996).

$$F / M = \frac{DQO_{AF}}{(TRH)(SSVLM)} \quad (\text{Ecuación 3.9})$$

Donde:

DQO_{AF} = DQO del afluente (kg/L)

TRH = tiempo de retención hidráulico del tanque de aireación (d)

SSVLM = sólidos suspendidos de licor mezclado (kg/L)



El TRH se calcula como sigue

$$TRH = \frac{V_{\max RBS}}{\bar{Q}_{diario}} \quad (\text{Ecuación 3.10})$$

Donde:

$V_{\max RBS}$ = volumen máximo del RBS (L)

\bar{Q}_{diario} = caudal medio diario (L/d)

3.4.2 Medidas químicas (componentes orgánicos e inorgánicos)

3.4.2.1 Potencial de hidrógeno

El potencial de hidrógeno (pH) fue medido en todas las fases del ciclo de tratamiento dentro del reactor. Se utilizó un electrodo de pH de junta de teflón con punta con solución de tierra modelo WD-35807-20 (OAKTON) con elemento interno ATC (100 Ω Pt 100) el cual toma lecturas con compensación automática de temperatura. El aparato se calibraba según el procedimiento del manual de instrucciones.

3.4.2.2 Oxígeno disuelto

La concentración de oxígeno disuelto (OD) en el LM es un parámetro muy importante en los procesos de eliminación de nutrientes. Para la medida del OD en el RBS se utilizó un oxímetro YSI modelo 58 (YSI) equipado con un electrodo YSI modelo 5239 (YSI). Este aparato es capaz de compensar automáticamente los cambios de solubilidad del OD y de la permeabilidad de la membrana del electrodo debido a las variaciones de temperatura. La calibración del aparato se hizo como lo indica el manual de usuario.

3.4.2.3 Potencial de óxido-reducción

Potencial de óxido-reducción (ORP) es un indicador del carácter oxidante o reductor del medio. Está relacionado directamente con las concentraciones de OD y de NO_3^- . El ORP comúnmente se emplea en el control y optimización de las plantas de eliminación de nutrientes. Para medir el ORP en el LM del reactor, se utilizó un electrodo de ORP modelo WD-35801-21 (OAKTON). La calibración del aparato se hizo como se indica el manual de usuario.

3.4.2.4 Demanda química de oxígeno

Para calcular la concentración de la demanda química de oxígeno (DQO) en las muestras, se utilizó el método espectrofotométrico de reflujos cerrado (APHA, 1998) utilizando un espectrofotómetro modelo 48000 (Hach), y la digestión se llevó a cabo en tubos viales Hach en reactores de DQO automático para 15 viales modelo DRB200 (Hach) y para 30



modelo 949201 (Bioscience, Inc.). El cálculo de la concentración de DQO se trabajó en bajo rango (5 a 90 mg/L) y alto rango (100 a 800 mg/L).

3.4.2.5 Demanda química de oxígeno soluble

La demanda química de oxígeno soluble (DQOs) se determinó con la misma metodología de la DQO, pero usando muestras filtradas con un filtro de membrana con diámetro de poro de 0.45 μm catálogo No. 7184-004 (Whatman GF/C).

3.4.2.6 Nitrógeno amoniacal

Para analizar el contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) en las muestras se utilizó el método espectrofotométrico del fenato (APHA, 1998) utilizando un espectrofotómetro modelo 48000 (Hach). El método se basa en la formación de un compuesto intensamente azul, el indofenol, a partir de la oxidación del N-NH_4^+ . El indofenol tiene un color azul intenso y su intensidad es proporcional a la concentración de N-NH_4^+ presente en la muestra. El intervalo de validez del método es 0.1 - 1.0 mg N-NH_4^+ /L. El anexo 3.1 muestra el protocolo del N-NH_4^+ .

3.4.2.7 Nitrito y nitrato (N-NOx)

El nitrato es el compuesto inorgánico del ciclo del nitrógeno donde éste alcanza su mayor grado de oxidación. Representa el producto final de la nitrificación. En las aguas residuales municipales (ARM) suele encontrarse en bajas concentraciones debido al carácter anaeróbico de esta agua. El NO_3^- no se puede determinar mediante colorimetría directa, de modo que en este caso se reporta como mg oxidados de N-NOx/L (la suma de NO_3^- más NO_2^-).

Para analizar el contenido de N-NOx en las muestras, se empleó el método de reducción de cadmio (APHA, 1998) utilizando un espectrofotómetro modelo 48000 (Hach). El método consiste básicamente en la reducción de N-NO_3^- a N-NO_2^- . El N-NO_3^- se convierte casi cuantitativamente en N-NO_2^- en presencia de cadmio. El método utiliza una columna de vidrio rellena con gránulos de cadmio tratados con sulfato de cobre. El N-NO_2^- formado (junto con el N-NO_2^- inicialmente presente en la muestra) reaccionan por diazonización con la sulfanilamida para formar un diazocompuesto, que a su vez reacciona con 1-naftil-etilendiamina-dihidrocloruro. El compuesto así producido tiene un color rosado y su intensidad es proporcional a la concentración de N-NOx presente en la muestra. El rango aplicable de este método es de 0.01 a 1 mg N-NOx/L. El anexo 3.2 muestra el protocolo de N-NOx.

3.4.2.8 Ortofosfato

Cuando se analiza el fósforo inorgánico disuelto (ortofosfato) de una muestra, es inevitable que una pequeña fracción de los fosfatos condensados sean hidrolizados y



reaccionen a causa de la acidez que requiere la prueba. La suma del ortofosfato realmente presente y de esta fracción hidrolizada es lo que se denomina fósforo reactivo soluble (PRS). No obstante, el PRS se puede considerar como una medida de los ortofosfatos (Barajas, 2002).

Para analizar el contenido de fosfato en las muestras, se utilizó el método espectrofotométrico del ácido vanadomolibdofosfórico (APHA, 1998) utilizando un espectrofotómetro modelo 48000 (Hach). El método se basa en la reacción en medio ácido del molibdato de amonio con los ortofosfatos disueltos en la muestra para formar ácido molibdofosfórico. La presencia de vanadio hace que se forme ácido vanadomolibdofosfórico que obedece a la ley de Beer-Lambert y, por lo tanto, la intensidad de su color amarillo es proporcional a la concentración de fósforo ($P-PO_4^{3-}$) presente en la muestra. El rango aplicable de este método es de 1 - 20 mg $P-PO_4^{3-}$ /L. El anexo 3.3 muestra el protocolo del $P-PO_4^{3-}$.

3.4.3 Medidas biológicas

3.4.3.1 Microbiología del lodo activado

La caracterización microbiológica del lodo activado consistió en la observación microscópica del tamaño y morfología del flóculo, identificación de los MF predominantes y conteo de los mismos. Las observaciones microscópicas se realizaron en el LITAR con un microscopio modelo Eclipse E100 (Nikon) equipado con contraste de fases. Se utilizó también el microscopio de la PTAR-I modelo Eclipse E50i (Nikon) para la toma de fotografías. Los criterios utilizados para la caracterización microbiológica del lodo activado se muestran a continuación.

Caracterización morfológica del flóculo del lodo activado

La caracterización del flóculo del lodo activado, se refiere al examen del estado morfológico y estructural del flóculo del LM cuya importancia está en que dependiendo de las características morfológicas que se observen, podremos definir el comportamiento y las fallas del proceso de tratamiento. Esta caracterización se realizó sobre muestras *in vivo* del LM.

Las características necesarias que se tomaron en cuenta al realizar el examen microscópico de los flóculos fueron:

1. Forma: Característica que define la morfología externa del flóculo como regular si aparece de forma redondeada e irregular si difiere de esta configuración.
2. Estructura: Compacto, no existen prácticamente huecos en la estructura interna del flóculo. Abierta, existen bastantes huecos dentro del flóculo que rompen la unidad interna.



3. Textura: Característica que alude al grado de cohesión entre las partículas que forman el floculo, estableciéndose las categorías “fuerte” y “débil” en función a la ausencia o presencia de disgregación de los floculos.

4. Tamaño: El tamaño del floculo siempre se refiere a su diámetro mayor que se determina midiendo la distancia entre los extremos más alejados del floculo sin considerar los MF que puedan sobresalir del mismo.

Pequeño: tamaño menor de 150 μm

Medio: tamaño entre 150 y 500 μm .

Grande: tamaño mayor de 500 μm .

Estimación de la frecuencia de aparición de las características morfológicas del lodo activado en cada periodo evaluado

La frecuencia es una medida empleada para indicar el número de observaciones que caen en una determinada categoría (Mendenhall, 1985). La frecuencia de aparición y, por tanto, la predominancia de cada una de las características correspondientes a los 4 criterios empleados para la caracterización morfológica del floculo en cada periodo experimental, se estableció de la siguiente manera: para cada día muestreado se señalo con el valor de 1 la característica predominante (de cada uno de los criterios) y con el valor de 0 la no predominante para así, al final de cada periodo experimental identificar la característica predominante y la no predominante con el total de días de la experimentación y, así, obtener su frecuencia de aparición en cada uno de los periodos evaluados (Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Ejemplo de la estimación de la frecuencia de aparición para el tamaño del floculo.

Días muestreados	Junio					Total	FA (%)
	5	7	9	11	13		
Tamaño μm							
pequeño <150	1	1	0	0	0	2	40
medio 150-500	1	0	1	1	1	3	60
largo >500	0	0	1	0	0	1	20

FA = frecuencia de aparición (total/No. de días muestreados)*100

Identificación de la microflora del lodo activado

La identificación de los MF se llevó a cabo tomando en cuenta tanto las características morfológicas y estructurales de los MF mediante examen microscópico de muestras *in vivo* así como de preparaciones fijas del LM utilizando iluminación de campo claro y contraste de fases siguiendo las claves de identificación propuestas por Jenkins *et al.* (1993) y Eikelboom (2000) y las cuales se muestran en el anexo 3.4 y 3.5 respectivamente.

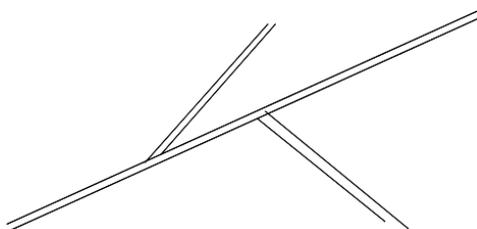


La observación *in vivo* facilita la observación morfológica y estructural de los MF, y la microscopía de contraste de fases facilita la observación de características propias de cada MF, por ejemplo los gránulos de azufre.

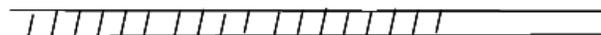
A continuación se resumen las principales características morfológicas y estructurales tomadas en cuenta, así como las diferentes tinciones realizadas para la correcta identificación de los MF predominantes en cada fase experimental (EMASESA, 1997).

Características morfológicas y estructurales

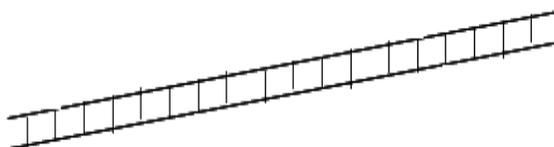
- a) Ramificación: Se entiende como ramificación verdadera a la continuidad citoplasmática presente en los tricomas que se disponen formando una ramificación.



- b) Vaina o cubierta: Es una estructura tubular que actúa como revestimiento del filamento y del conjunto de células individuales que lo constituyen. La presencia o ausencia de esta estructura puede observarse mediante la tinción de vainas. Sin embargo, en algunas ocasiones, la pérdida de algunas células en el filamento pone de manifiesto la presencia de vaina. El crecimiento epifítico abundante también es indicativo de la presencia de vaina.



- c) Septos celulares: Son los tabiques o separaciones que en algunas ocasiones son observables entre células contiguas del filamento. En otras ocasiones existen pero no son observables con microscopía óptica.



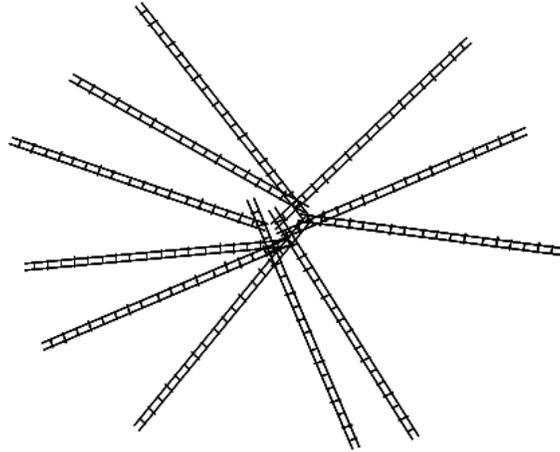
- d) Constricciones celulares: Implican la posibilidad de observar los septos celulares en el filamento. Consiste en una discontinuidad en los bordes del filamento, coincidiendo con los septos celulares.



- e) Rosetas: Algunas bacterias filamentosas (*Thiothrix* spp. y Tipo 021N) presentan la capacidad de asociarse en estructuras llamadas rosetas, en las que se encuentran



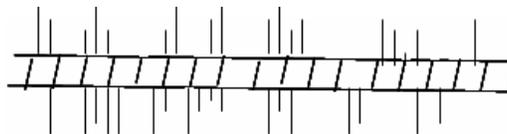
agrupadas y unidas por sus células basales, radiando hacia el exterior desde un punto común.



- f) Gonidios: Son células ovales o bacilares localizadas en el extremo del filamento. La morfología de estas células se diferencia de las restantes. Se piensa que podrían estar relacionadas con la reproducción del filamento.



- g) Crecimiento epifítico: Es el crecimiento de las células bacterianas sobre la superficie del filamento estudiado, utilizándolo como sustrato o soporte. Este tipo de crecimiento suele darse sobre bacterias filamentosas que poseen vaina o cubierta y normalmente ocurre de forma perpendicular al filamento utilizado como soporte.



- h) Forma del filamento: Recto/irregular, curvo/espiral, torcido/micelar.
- i) Diámetro del filamento: $>1 \mu\text{m}$ (grueso) y $<1 \mu\text{m}$ (delgado).
- j) Localización del filamento: Extendiéndose o proyectándose desde la superficie del flóculo hacia el exterior, intrafloculares, o fuera del flóculo.

Tinciones diferenciales

La aplicación de técnicas diferenciales a los MF permitió resaltar características propias de cada uno de ellos, lo cual ayudó a la correcta identificación de los mismos. El anexo



3.6 muestra el procedimiento de las diferentes técnicas de tinción para los MF (EMASESA, 1997).

a) Tinción Gram

Es una tinción diferencial que permite clasificar a las bacterias en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas, basándose en el grado de permeabilidad que las bacterias presentan al disolvente utilizado durante el procedimiento de tinción.

b) Tinción Neisser

Las bacterias suelen almacenar en su interior ciertos compuestos formando los denominados gránulos de reserva. En ellos se encuentran los polifosfatos que se distinguen con facilidad cuando se practica la tinción de Neisser al adquirir éstos un color negro-azulado.

c) Tinción de poli- β -hidroxibutirato (PHB)

La existencia de una gran cantidad de gránulos intracelulares (PHB) en el lodo activado puede indicar una falta de nutrientes (N y P). Estos se distinguen al adquirir un color negro-azulado.

d) Tinción de vainas

Cuando una célula tiene vaina o cubierta, ésta, actúa como barrera para el colorante impidiendo que las células integrantes del filamento lleguen a teñirse, por el contrario, las células sin vaina se tiñen intensamente de color violeta mientras que las vainas aparecen de claras a rosas.

e) Prueba de oxidación de sulfuros (S-test)

Es una prueba que tiene como finalidad poner de manifiesto la capacidad de oxidación de sulfuro o azufre elemental.

Cuantificación de la microflora del lodo activado

La técnica de cuantificación de los MF empleada es la propuesta por Salvadó (1990). Esta técnica se basa en hallar una relación entre un segmento circular (en este caso el campo ocular) y el número de intersecciones que se obtienen al cruzar los MF dicho segmento (Figura 3.14), y al observar distintas zonas de muestra, el resultado multiplicado por el área de la muestra es la longitud de los MF en esa área.

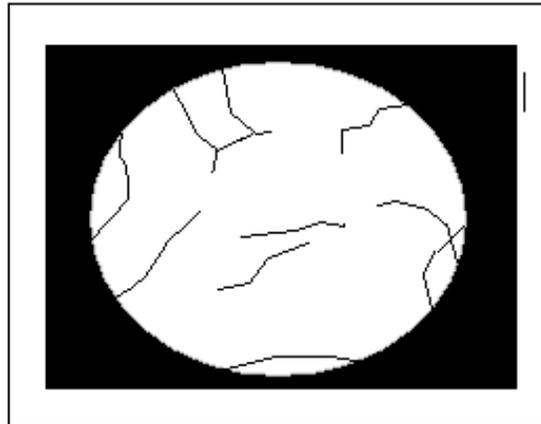


Figura 3.14. Muestra el campo ocular y las intersecciones de los MF (Salvadó, 1990).

Esta técnica de cuantificación requiere el conteo de por lo menos dos preparaciones *in vivo*, contando 15 campos en forma aleatoria en cada una de ellas y a 400X, sin embargo, en esta experimentación el número de preparaciones contadas fue de 4, lo que equivalió al conteo de 60 campos.

Finalmente, para obtener la longitud (L_o) de los MF una vez hecho el conteo es necesario aplicar la siguiente ecuación.

$$L_o = \frac{(Ni)(\text{área})}{(H)(V_m)} \quad (\text{Ecuación 3.11})$$

Donde:

área = área del cubreobjetos (m^2)
 V_m = volumen de muestra (mL)

Y N_i y H se calculan como sigue

$$N_i = \frac{No.int}{No.camp} \quad (\text{Ecuación 3.12})$$

Donde:

No.int = total de intersecciones de los MF en cada una de las preparaciones evaluadas
No. camp = total de campos contados

$$H = \frac{(2\pi)(r)}{\text{sen } \theta} \quad (\text{Ecuación 3.13})$$

Donde:

r = radio del campo ocular (m)
 $\text{sen } \theta = 2/\pi = 0.63661977$



El valor de la longitud del campo ocular fue tomado del manual de especificaciones del microscopio.

Identificación de la microfauna del lodo activado

La identificación de la microfauna (protozoos y metazoos) del lodo activado se basa en la observación microscópica de las muestras *in vivo* utilizando campo claro y contraste de fases.

La observación microscópica en campo claro facilita ver la morfología celular de los microorganismos, y la microscopía de contraste de fases posibilita además, la observación de determinados orgánulos como el núcleo o los micronúcleos. Otra de las características que es importante considerar para facilitar la identificación de los protozoarios, es el tipo de movimiento y la presencia o ausencia de estructuras móviles (flagelos o cilios) características fácilmente observables en este tipo de muestras (*in vivo*). Las claves de identificación propuestas por Jenkins *et al.* (1993) y Eikelboom (2000) fueron las empleadas como guía para hacer dicha identificación.

Estimación de la frecuencia de aparición de la microflora y microfauna en cada periodo evaluado.

Los cálculos realizados para estimar la frecuencia de aparición de los MF (microflora) y ciliados, flagelados y rotíferos (microfauna) en cada periodo evaluado, fueron análogos a los realizados para realizar la frecuencia de aparición de las características morfológicas del lodo activado.

3.4.3.2 Rendimiento de almacenamiento

La Y_{alm} es un importante parámetro que permite conocer la capacidad de los microorganismos para almacenar productos de reserva. Aquellos microorganismos capaces de almacenar el SFB tendrán una ventaja competitiva sobre aquellos microorganismos que no tengan dicha capacidad. Esta, se determinó por el método propuesto por Karahan-Gül *et al.* (2002) que se basa en conocer la cantidad de oxígeno (O_2) necesaria para almacenar una cantidad conocida de SFB a través de medidas respirométricas.

Para conocer la cantidad de O_2 correspondiente al almacenamiento, el procedimiento involucra, en un perfil de la VCO como lo muestra la Figura 3.15, dibujar una línea que una el primer valor de la VCO correspondiente al metabolismo endógeno, con el punto de inflexión observable en la curva. El área bajo la curva (ABC) correspondiente hasta este punto refleja el término de toda la demanda química de oxígeno fácilmente biodegradable (DQO_{FB}) y, por tanto, del almacenamiento. Posterior a este fenómeno, la utilización del sustrato almacenado y el crecimiento son los mecanismos que predominan.

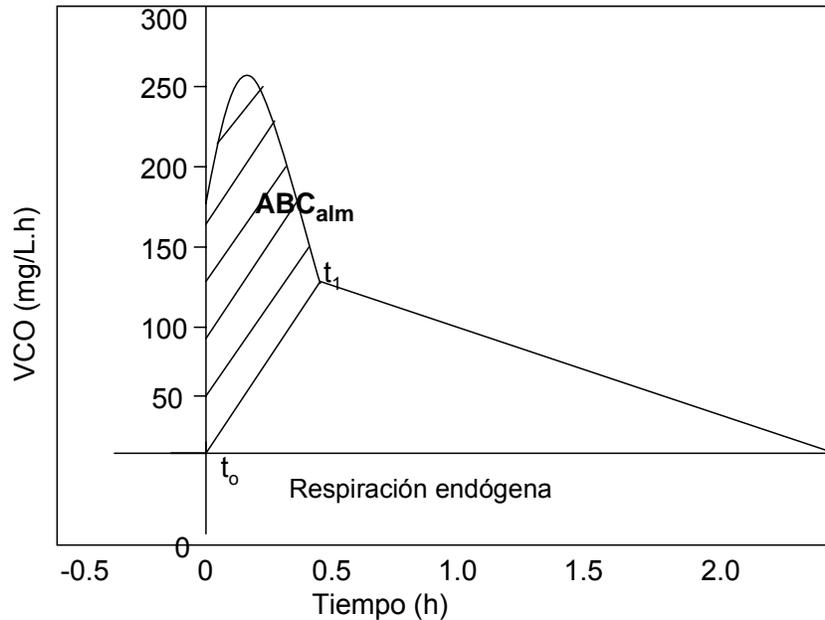


Figura 3.15. Propuesta para determinar la cantidad de oxígeno necesaria para almacenar la DQOFB, adaptado de Karahan-Gül *et al.* (2002).

La prueba requiere conocer el valor de la DQOs al inicio y al término de la DQO_{FB} y además, el ABC correspondiente al almacenamiento (ABC_{alm}). A partir de los datos anteriormente mencionados, la Y_{alm} se obtiene aplicando la siguiente ecuación.

$$Y_{alm} = 1 - \frac{\int_{t_0}^{t_1} VCO(t) dt}{DQOs_{t_0} - DQOs_{t_1}} \quad (\text{Ecuación 3.14})$$

Donde:

$$\int_{t_0}^{t_1} VCO(t) dt = \text{ABC correspondiente al almacenamiento (mg/L)}$$

DQOs_{t0} = DQOs al inicio de la respirometría (mg/L)

DQOs_{t1} = DQOs al término de la DQO_{FB} (mg/L)

3.4.3.3 Rendimiento de crecimiento

La Y_{obs} es uno de los parámetros cinéticos importantes en el metabolismo de los microorganismos ya que indica los kg de biomasa que han crecido por kg de sustrato asimilado. Es decir, es un parámetro que indica si los microorganismos están creciendo con el sustrato disponible. Siendo así, Beccari *et al.* (1995) propone un método rápido y

sencillo para su determinación, y el cual se basa en calcular el ABC correspondiente al crecimiento (ABC_{obs}), que corresponde al área después del almacenamiento y hasta que los microorganismos entran nuevamente a respiración endógena (Figura 3.16).

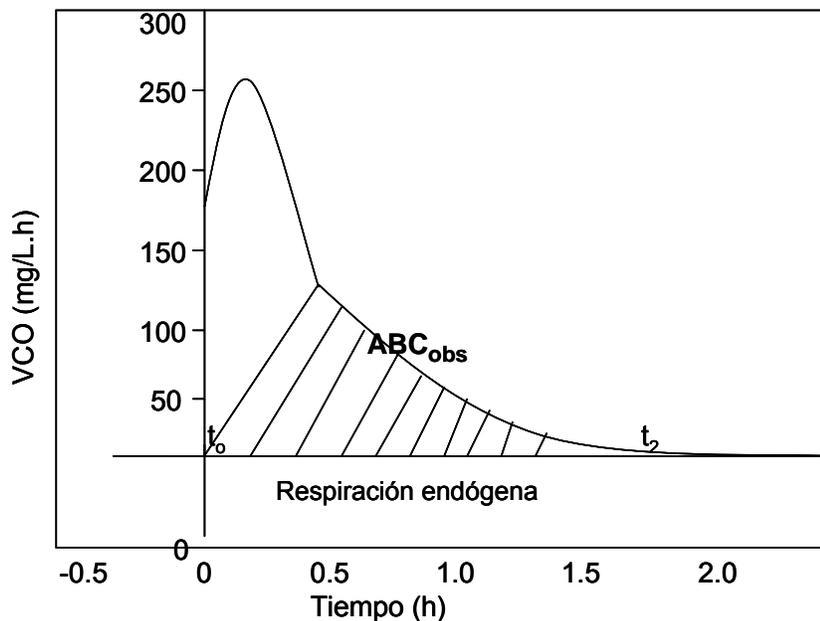


Figura 3.16. Propuesta para determinar la cantidad de oxígeno necesaria para el crecimiento de los microorganismos.

La prueba requiere conocer el valor de la DQOs al inicio y al final de la prueba respirométrica y además, el ABC_{obs} . A partir de los datos anteriormente mencionados, la Y_{obs} se obtiene aplicando la siguiente ecuación.

$$Y_{obs} = 1 - \frac{\int_{t_0}^{t_2} VCO(t) dt}{DQOs_{t_0} - DQOs_{t_2}} \quad (\text{Ecuación 3.15})$$

Donde:

$$\int_{t_0}^{t_2} VCO(t) dt = \text{ABC desde el inicio hasta el final de la respirometría (mg/L)}$$

$DQOs_{t_0}$ = DQOs al inicio de la respirometría (mg/L)

$DQOs_{t_2}$ = DQOs al final de la respirometría (mg/L)

El anexo 3.7 muestra el protocolo para la determinación del ABC_{alm} y ABC_{obs}



Prueba respirométrica

Para esta prueba, el agua residual y la biomasa se mantuvieron aireadas en un reactor discontinuo de 2 L. La concentración de OD en el reactor discontinuo fue alrededor de 4 y 5 mg/L la cual se midió con un sensor de oxígeno modelo 52 (YSI) equipado con un electrodo Clark modelo 5905 (YSI). El reactor se aireaba con una bomba de aire de baja potencia modelo 800 (Elite) conectada a un tubo de silicona de 0.5 cm de diámetro y esta a su vez, a un difusor. Cuando la concentración de OD superaba los 5 mg/L o disminuía de 4 mg/L la manguera era retirada o introducida al reactor manualmente.

La Figura 3.17 muestra una fotografía de la respirometría montada para obtener la Y_{alm} y Y_{obs} en esta investigación.



Figura 3.17. Fotografía de la respirometría montada para determinar la capacidad de almacenamiento y crecimiento de los microorganismos del lodo activado.

Al comienzo de la prueba respirométrica la biomasa se mantuvo en aireación aproximadamente una hora para favorecer la respiración endógena. Después de este tiempo, se añadió el sustrato (ARS). Una vez añadido el sustrato, se tomó un cierto volumen de muestra del reactor discontinuo y se paso un matraz erlen meyer de 125 mL. La muestra en el matraz tenía que estar a rebosar e inmediatamente después se colocó el



electrodo de OD asegurando que no hubiera entrada de aire y medir la caída del OD en el matraz. La caída de OD se midió cada 10 seg. y se anotó manualmente hasta que su concentración llegó a 1 mg/L o después de 15 min. Posterior a este tiempo, la muestra del matraz se regresó al reactor discontinuo y se espero un cierto tiempo para empezar nuevamente la siguiente respirometría. Se realizó el mismo procedimiento durante aproximadamente 6 h para los SFB, ó 24 h o más para los SLB y asegurar que los microorganismos consumieran todo el sustrato y entraran nuevamente en respiración endógena. El Anexo 3.8 muestra el protocolo para la determinación de la VCO.

Una vez finalizada la prueba se graficaron todas las VCO contra el tiempo para obtener un gráfico como muestra la Figura 3.15, y aplicando el método propuesto por Karahan-Gül *et al.* (2002) y Beccari *et al.* (1998) se calcularon las Y_{alm} (Ecuación 3.14) y la Y_{obs} (Ecuación 3.15).

Para inhibir la nitrificación, N-allyltiourea fue añadida al comienzo de la prueba a una concentración de 12 mg/L (Dircks *et al.* 1999).

Cálculo de los volúmenes de ARS y LM para realizar la mezcla

Sustratos fácilmente biodegradables

Los volúmenes de ARS y LM se estimaron a partir de la F/M del sistema la cual se calculó como se indico en el apartado 3.4.1.5 de este mismo capítulo.

Una vez establecida la F/M, los volúmenes buscados se calcularon aplicando la siguiente ecuación (Barajas, 2002).

$$V_{LM} = \frac{(V_{RU})(DQO_{ARS})}{(F/M)(SSV) + DQO_{ARS}} \quad (\text{Ecuación 3.15})$$

Donde:

V_{LM} = volumen de LM utilizado para la mezcla (L)

V_{RU} = volumen del reactor útil (2 L)

DQO_{ARS} = demanda química de oxígeno del ARS (150 mg/L)

SSV = correspondientes a la concentración de la biomasa empleada para realizar la respirometría (mg/L)

Los volúmenes buscados se pueden determinar teniendo en cuenta la ecuación 3.16

$$V_{ARS} (L) = V_{RU} - V_{LM} \quad (\text{Ecuación 3.16})$$

V_{ARS} = volumen del ARS (L)



Sustratos lentamente biodegradables

Para obtener el V_{LM} para realizar la mezcla fue necesario recuperar el volumen total de LM sedimentado después de 30 min. de dos probetas de 1 L con 750 mL de LM cada una.

Para conocer el V_{ARS} empleado para la mezcla, se determinaron los SSV para obtener los g biomasa (g_{BM}) presentes en los 1500 mL de LM, los cuales serían útiles para calcular el V_{ARS} de la mezcla.

$$g_{BM} = \frac{SSVLM}{V} \quad (\text{Ecuación 3.17})$$

Donde:

SSVLM = SSVLM presente en los 1500 mL (g/L)

V = volumen total de LM de ambas probetas, o sea 1500 mL (L)

El V_{ARS} se estimó a partir de la relación de g DQO/g SST que Goel *et al.* (1998) mantuvieron para determinar la Y_{obs} del almidón. Lo anterior se realizó con el fin de mantener dicha relación pero con la cantidad de DQO y biomasa que se tenían en esta experimentación. A partir de dicha relación y teniendo en cuenta los g_{BM} anteriormente calculados (Ecuación 3.17), se obtuvieron los gramos de SLB (g_{SLB}) necesarios para la cantidad de biomasa presentes, es decir:

$$g_{SLB} = (g_{BM})(0.29) \quad (\text{Ecuación 3.18})$$

0.29 = 550 (g DQO)/1850 (g SST), (Goel *et al.* 1998)

Una vez calculados los g_{SLB} , se determinó el V_{ARS} necesaria para la mezcla en función de la DQO_{AF} que se quiso mantener, en este caso 300 mg/L.

$$V_{ARS} = \frac{g_{SLB}}{DQO_{AF}} \quad (\text{Ecuación 3.19})$$

Donde:

$DQO_{AF} = 0.3$ g/L

V_{ARS} = volumen de ARS utilizada para la mezcla (L)

3.5. Cálculo de las velocidades nitrificación y desnitrificación

Se calcularon dos velocidades de nitrificación (VEN) y dos velocidades de desnitrificación (VEDN) para cada ciclo. El cálculo de estas, se muestra en el anexo 3.9.



3.6 Toma de muestras

El seguimiento de la respuesta de los microorganismos a los SFB y SLB, se realizó mediante el análisis fisicoquímico de las muestras tomadas en el afluente, efluente y LM del reactor.

Las muestras de afluente se tomaron del tubo de silicona que transportaba el afluente desde el depósito de alimentación hasta la entrada situada en el reactor en un recipiente de plástico de 1L.

Las muestras de efluente se tomaron del tubo de plástico conectado al orificio de salida del efluente en un recipiente de plástico de 1 L. Estas se colectaron al inicio de la fase de decantación; los primeros 100 mL se rechazaron con el fin de evitar las posibles partículas de lodo depositadas en algunas partes del tubo de plástico. Cabe señalar que los lodos se adhieren normalmente a las paredes del reactor y son arrastrados por el efluente durante el proceso de vaciado. Este efecto también se produce en los reactores a escala real, pero en un grado mucho menor debido a que la superficie de sus paredes es menor en relación con el volumen total del reactor (Escaler, 1997).

Las muestras del LM se extrajeron manualmente del reactor por el orificio de purga en un recipiente de plástico de 1 L. Los primeros 30 mL se rechazaron ya que éstos correspondían a los retenidos en el interior de la llave de PVC unida al orificio de purga.

La Figura 3.19 ilustra los momentos en que se realizó la toma de muestra del afluente, efluente y LM a lo largo del ciclo de tratamiento. La Tabla 3.8 muestra los ensayos realizados.

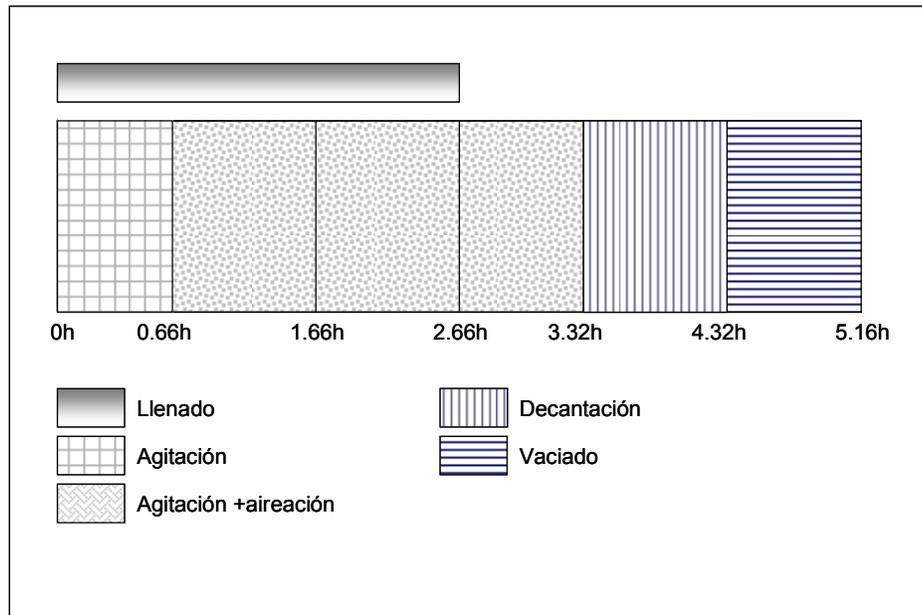


Figura 3.19. Configuración de la secuencia de tratamiento empleado.

Tabla 3.8. Ensayos realizados a las diferentes fases del ciclo durante la experimentación.

Parámetro	Afluente	LM	Efluente
SST y SSV	X	X	X
DOQ	X		X
DQOs	X	X	X
N-NH ₄ ⁺	X	X	X
N-NOx	X	X	X
Ortofosfato	X		X
IVL		X	
VCO		X	
Y _{alm}		X	
Y _{obs}		X	
Estructura flóculos		X	
Microflora			
Identificación		X	
Cuantificación		X	
Microfauna			
Identificación		X	
ORP	X	X	X
pH	X	X	X
Temperatura	X	X	X
OD	X	X	X



Capítulo 4

Caracterización físicoquímica y evolución de los parámetros operacionales de cada sistema evaluado

En este capítulo se presentan los resultados de las pruebas de desecación y de la determinación de la relación de DQO/peso de sacarosa, almidón y albúmina. Lo referente al acetato no se discute debido a que fue tomado de Ortiz (2008). Así mismo, se discute tanto la caracterización físicoquímica como del comportamiento de los parámetros operacionales de los cuatro sistemas de tratamiento evaluados en esta tesis (acetato, sacarosa, almidón y albúmina de huevo).

Se describen las condiciones ambientales dentro del LM (temperatura y OD), así como los rendimientos obtenidos en la eliminación de la DQO, SST y los nutrientes fósforo ($P-PO_4^{3-}$), amonio ($N-NH_4^+$) y $N-NO_3^-$ y $N-NO_2^-$ ($N-NO_x$). Se presenta la evolución temporal de la calidad del efluente y se comparan los niveles de depuración conseguidos con los límites indicados en la NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997.

Finalmente, se analiza la influencia de las relaciones entre el comportamiento de la materia orgánica y los nutrientes a lo largo del ciclo de tratamiento para los cuatro sustratos.

4.1 Determinación de la relación DQO/peso de la sacarosa, almidón y albúmina de huevo

4.1.1 Pruebas de desecación

Según Ortiz (2008), previa a la determinación de la relación DQO/peso sacarosa, almidón y albúmina de huevo, es necesario realizar pruebas de desecación para descartar la presencia significativa de agua en los reactivos que pudiera afectar la determinación de los equivalentes de la DQO. La Tabla 4.1 muestra los resultados de las pruebas de desecación a $105^\circ C$ para cada uno de los sustratos.



Tabla 4.1. Resultados de la pérdida de humedad de sacarosa, almidón y albúmina de huevo a 105°C.

	Tiempo (h)	% de humedad perdida	
		28/02/08	01/03/08
Sacarosa	2	0.2	0.0
	3		0.0
	4		0.0
		13/06/08	17/06/08
Almidón	2	14.6	14.0
	3	14.1	13.8
	4	14.6	15.7
	24	14.1	12.3
		28/08/08	30/08/08
Albumina de huevo	2	8.4	8.4
	3	8.3	
	4	8.3	8.2
	24	8.4	8.2

Como se observa en la Tabla 4.1, la sacarosa tras 4 horas de desecación a 105°C no perdió una cantidad significativa de agua. Por el contrario, el almidón y la albúmina de huevo perdieron alrededor del 15 y 8% de agua respectivamente tras 4 y 24 horas de desecación. Por lo tanto, para la determinación de la relación DQO/peso almidón y albúmina de huevo, se decidió desecar mínimo 4 h cada reactivo antes de ser usados y de igual forma, para los experimentos posteriores.

4.1.2 Relación DQO/peso de sacarosa, almidón y albúmina de huevo

Como se comentó en el apartado 3.3.3.1 del capítulo anterior, la relación DQO/peso debe ser constante y la curva de regresión de la DQO frente al peso de cada uno de los sustratos, deben dar una buena linealidad y una ordenada al origen nula para tomar la pendiente como la relación DQO/peso. Siguiendo esta explicación, se prepararon diferentes soluciones con concentraciones entre 100 - 800 mg/L para cada uno de los sustratos y se graficó contra su equivalente de DQO. A continuación se presentan los resultados para cada uno de los sustratos.

Sacarosa

La Figura 4.1 muestra las dos curvas realizadas en días diferentes para obtener la relación DQO/peso sacarosa. Como se puede notar, ambas curvas presentaron una buena linealidad con un valor de R^2 de 0.999. Al realizar un análisis de regresión para cada una de las curvas con un nivel de confianza del 95%, mostró que ambas ordenadas en el origen fueron estadísticamente igual a cero. Al hacer el análisis de regresión con el



conjunto de datos de los dos gráficos, mostró que la ordenada al origen fue estadísticamente igual a cero y por tanto, no existe diferencia entre la relación DQO/peso de sacarosa calculada en ambos experimentos y la pendiente indica dicho valor. Siendo así, se estableció que la relación DQO/peso sacarosa fue de 1.04 mg/L sacarosa con un intervalo de confianza de 1.01-1.08 al 95%.

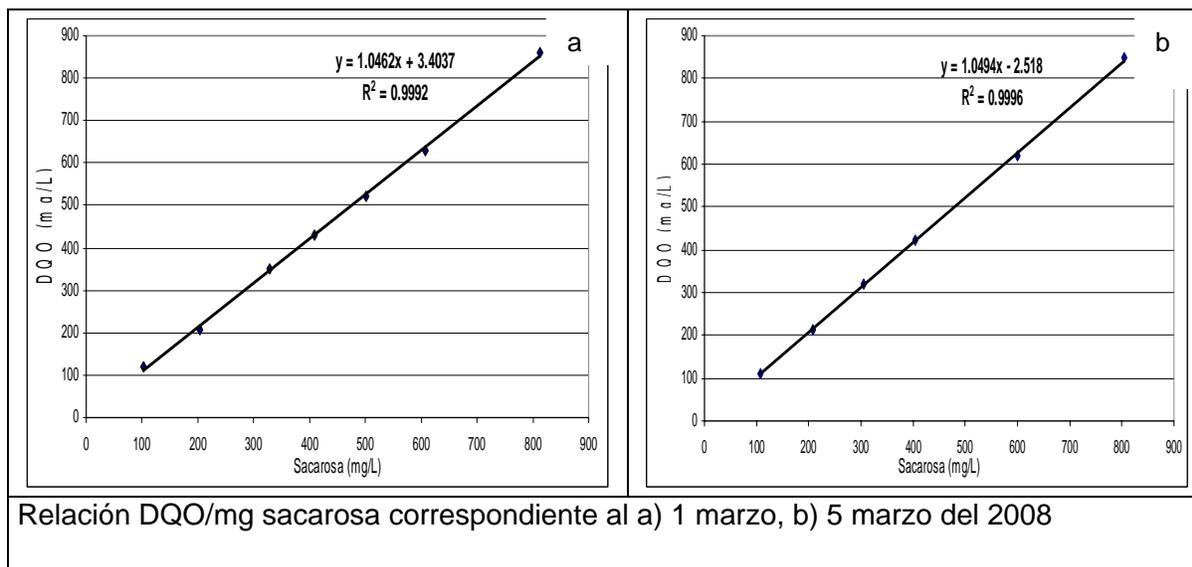


Figura 4.1. Gráficas individuales para la determinación de la relación DQO/peso sacarosa realizadas en días diferentes.

Almidón

La Figura 4.2 muestra las dos curvas realizadas en días diferentes para obtener la relación DQO/peso almidón. Como se puede notar, ambas curvas presentaron una buena linealidad con un valor de R^2 de 0.996 y 0.997 respectivamente. Al realizar un análisis de regresión para cada una de las curvas con un nivel de confianza del 95%, mostró que ambas ordenadas en el origen fueron estadísticamente igual a cero. Al hacer el análisis de regresión con el conjunto de datos de los dos gráficos, mostró que la ordenada al origen fue estadísticamente igual a cero y por tanto, no existe diferencia entre la relación DQO/peso de almidón calculada en ambos experimentos y la pendiente indica dicho valor. Siendo así, se estableció que la relación DQO/peso almidón fue de 0.96 mg/L con un intervalo de confianza de 0.89-1.0 al 95%.

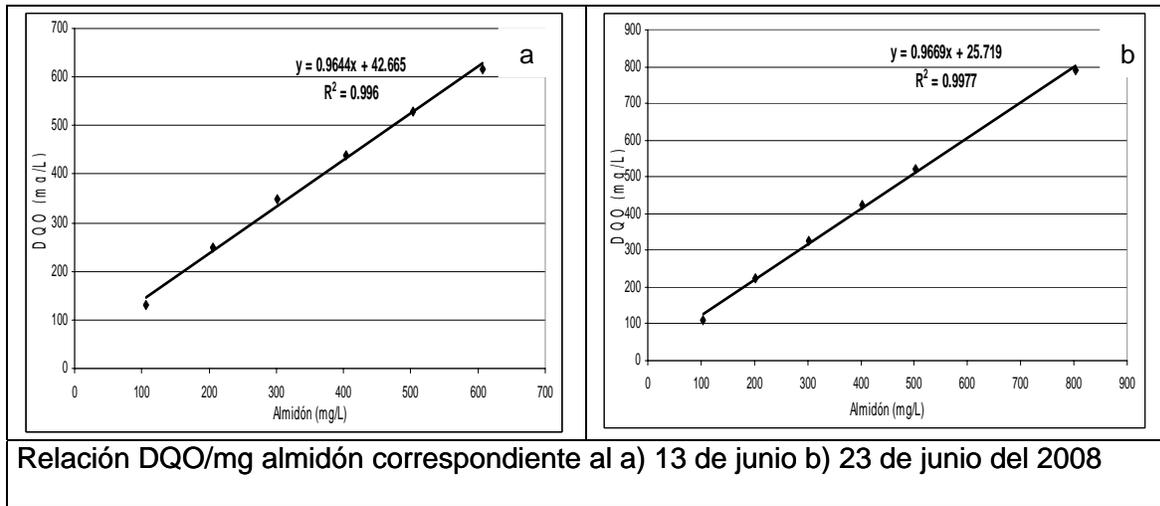


Figura 4.2. Gráficas individuales para la determinación de la relación DQO/peso almidón realizadas en días diferentes.

Albúmina de huevo

La Figura 4.3 muestra las dos curvas realizadas en días diferentes para obtener la relación DQO/peso albúmina de huevo. Como se puede notar, ambas curvas presentaron una buena linealidad con un valor de R^2 de 0.998 y 0.999 respectivamente. Al realizar un análisis de regresión para cada una de las curvas con un nivel de confianza del 95%, mostró que ambas ordenadas en el origen fueron estadísticamente igual a cero. Al hacer el análisis de regresión con el conjunto de datos de los dos gráficos, mostró que la ordenada al origen fue estadísticamente igual a cero y por tanto, no existe diferencia entre la relación DQO/peso de albúmina calculada en ambos experimentos y la pendiente indica dicho valor. Siendo así, se estableció que la relación DQO/peso albúmina fue de 1.22 mg/L con un intervalo de confianza de 1.16-1.27 al 95%.

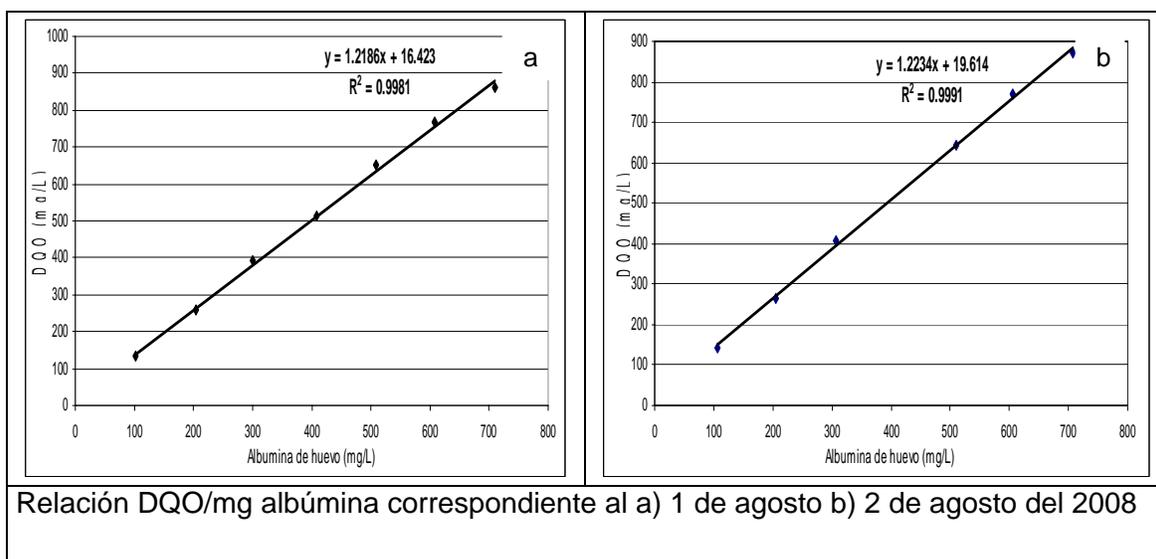


Figura 4.3. Gráficas individuales para la determinación de la relación DQO/peso albúmina de huevo realizadas en días diferentes.

4.2 Condiciones ambientales de cada sistema estudiado

4.2.1 Temperatura

Comportamiento de la temperatura en las fases del ciclo de tratamiento

La Tabla 4.2 resume los valores promedio, las desviaciones estándar y los intervalos de variación de la temperatura registrados durante cada fase del ciclo estudiado y de todo el periodo experimental para cada sistema evaluado.

Como se puede notar en la Tabla 4.2 las temperaturas registradas en las fases del ciclo de tratamiento para los SFB no mostraron gran variabilidad, oscilando entre 19.2 - 19.4°C para el acetato y 19.3 - 19.4°C para la sacarosa. Por otro lado, la temperatura media registrada durante estos dos periodos tampoco presento una diferencia, siendo de 19.4°C para el acetato y 19.3°C para la sacarosa. Al realizar el análisis estadístico (prueba F y t) de los valores medios de temperatura mantenidos durante ambos periodos, indicó que aunque las varianzas resultaron diferentes, las medias fueron iguales con el 0.05 de significación. Por lo tanto, no existió diferencia significativa entre las temperaturas registradas durante los periodos de experimentación con los SFB.

Los valores de temperatura mantenidos en las fases del ciclo de tratamiento para los SLB oscilaron entre 19.1 - 19.2°C para el almidón y 18.6°C para todas las fases del ciclo con albúmina de huevo. La temperatura media registrada durante la experimentación con almidón fue de 19.2°C y 18.5°C para la albúmina de huevo. Al realizar el análisis estadístico (prueba F y t) de los valores medios de temperatura mantenidos durante ambos periodos, indicó que tanto las varianzas como las medias fueron diferentes con el



0.05 de significación. Por lo tanto, sí hubo diferencia significativa entre las temperaturas mantenida durante los periodos de experimentación con los SLB. Sin embargo, al comparar estadísticamente si la temperatura mantenida en los cuatro sistemas experimentales fueron iguales o diferentes (prueba F y t), resultó que las varianzas para todos los sistemas fueron diferentes aunque las medias para los sistemas con los SFB y almidón fueron iguales para un grado de significación con el 0.05 indicando que no hubo diferencia significativa entre las temperaturas mantenidas en estos tres sistemas. Siendo así, fue posible estimar para estos tres sistemas una media común de 19.3°C y una desviación típica de 0.08°C. El intervalo de confianza al 95% para la media común fue de $19.3 \pm 0.02^\circ\text{C}$.

Tabla 4.2. Promedios de temperatura registrados en el LM y durante todo el periodo experimental de cada sistema evaluado.

	Fases del ciclo con cada sustrato	n	Media (°C)	Desviación estándar (°C)	Intervalo (°C)	
Acetato	LLE-ANOX	9	19.4	0.2	19.1	- 19.6
	LLE-OX	9	19.3	0.1	19.1	- 19.5
	REAC-OX	9	19.2	0.1	19.1	- 19.4
	SED	9	19.3	0.1	19.1	- 19.5
	periodo experimental*	9	19.4	0.2	19.1	- 19.8
Sacarosa	LLE-ANOX	8	19.4	0.2	19.0	- 19.6
	LLE-OX	8	19.3	0.2	18.9	- 19.5
	REAC-OX	8	19.3	0.2	18.9	- 19.5
	SED	8	19.3	0.2	19.0	- 19.6
	periodo experimental	8	19.3	0.2	19.6	- 20.0
Almidón	LLE-ANOX	16	19.2	0.2	18.9	- 19.5
	LLE-OX	16	19.1	0.2	18.8	- 19.4
	REAC-OX	16	19.1	0.2	18.8	- 19.4
	SED	16	19.2	0.2	18.8	- 19.4
	periodo experimental	16	19.2	0.1	19.0	- 19.4
Albumina de huevo	LLE-ANOX	19	18.6	0.2	18.3	- 19.0
	LLE-OX	19	18.6	0.2	18.3	- 18.9
	REAC-OX	19	18.6	0.2	18.3	- 18.9
	SED	19	18.6	0.2	18.3	- 18.9
	periodo experimental	19	18.6	0.2	18.3	- 18.8

*Se refiere a la temperatura media mantenida durante todo el periodo experimental (incluyendo todas las fases del ciclo de tratamiento).



activado presentaron en cada uno de los sistemas evaluados, puesto que la biomasa se aclimató a los sustratos y el proceso de nitrificación fue eficiente. Además, se descarta que la temperatura tenga una influencia en el desarrollo de MF que los sistemas evaluados puedan presentar.

4.2.2. Oxígeno disuelto

Comportamiento de la concentración de OD en las fases del ciclo de tratamiento

La Tabla 4.3 presenta la duración absoluta y porcentual de la aireación durante el ciclo RBS utilizado en los cuatro sistemas de tratamiento evaluados. La concentración de OD fijada como punto de consigna también aparece en esta tabla. Además, se observa que de las 5.16 h de duración del ciclo de tratamiento, 2.66 h son aireadas, esto corresponde al 51.5% de la duración total del ciclo prácticamente la mitad.

Se realizó un control del OD con punto de consigna de 2.0 mg/L en sus fases aireadas, y un registro de sus valores en el LM a lo largo del ciclo de tratamiento de cada sistema evaluado.

Tabla 4.3. Duración absoluta y porcentual de la aireación durante el ciclo RBS utilizado en los cuatro sistemas evaluados.

Parámetros	Ciclo de tratamiento
Tiempo de aireación (h)	2.66
Porcentaje de tiempo de aireación (%)	51.5
Punto de consigna (mg OD/L)	2.0

En un proceso biológico y que además incluya remoción de nutrientes como el N, es importante mantener concentraciones adecuadas de OD en cada una de las etapas del ciclo para favorecer la actividad de los microorganismos aerobios. Según Eikelboom, (2000) concentraciones de OD alrededor de 2 mg OD/L en las fases aireadas, es primordial por dos razones importantes: 1. Los microorganismos lo emplean para oxidar la materia orgánica, mantenerse y crecer. 2. Para realizar el proceso de NT (conversión de N-NH_4^+ a N-NO_3^-) además, asegura difundir adecuadamente entre los flóculos con un diámetro menor de 400 μm , lo que favorece a que todos los microorganismos accedan por igual al OD disponible y como consecuencia, se inhibirá el desarrollo excesivo de los MF hacia el exterior del flóculo.

La Tabla 4.4 resume los valores promedio, las desviaciones estándar y los intervalos de variación de OD registrados durante cada fase del ciclo estudiado y de todo el periodo experimental para cada sistema evaluado.



Tabla 4.4. Promedios de OD registrados en el LM de cada sistema evaluado.

	Fases del ciclo con cada sustrato	n	Media mgOD/L	Desviación estándar mgOD/L	Intervalo mgOD/L		
Acetato	LLE-ANOX	9	0.5	0.1	0.4	-	0.6
	LLE-OX	9	1.9	0.4	0.8	-	2.2
	REAC-OX	9	2.2	0.1	2.1	-	2.4
	SED	9	0.9	0.4	0.5	-	1.6
Sacarosa	LLE-ANOX	8	0.5	0.1	0.4	-	0.5
	LLE-OX	8	1.7	0.7	0.4	-	2.2
	REAC-OX	8	1.8	0.7	0.4	-	2.6
	SED	8	0.6	0.1	0.4	-	0.9
Almidón	LLE-ANOX	16	0.6	0.2	0.4	-	1.2
	LLE-OX	16	1.7	0.5	0.7	-	2.2
	REAC-OX	16	1.9	0.6	0.6	-	2.7
	SED	16	0.8	0.5	0.5	-	2.6
Albúmina de huevo	LLE-ANOX	19	0.7	0.3	0.4	-	1.5
	LLE-OX	19	2.1	0.1	1.9	-	2.3
	REAC-OX	19	2.3	0.1	2.1	-	2.4
	SED	19	0.7	0.1	0.5	-	0.9

Según los datos mostrados en la Tabla 4.4, las concentraciones de OD mantenidas en las etapas aireadas de LLE-OX y REAC-OX en los cuatro periodos experimentales oscilaron alrededor de los 2 mg/L y presentado el sistema con albúmina de huevo la mayor concentración de OD en ambas fases (2.1 y 2.3 respectivamente) y la menor concentración el sistema con almidón (1.7 y 1.9 respectivamente). Así mismo, el valor promedio de OD mantenido en la fase de LLE-OX durante toda la experimentación fue de 1.77 mg/L y el valor promedio de OD en la fase de REAC-OX fue de 2.06 mg/L.

Con base a lo anterior, se puede concluir que durante los cuatro periodos de experimentación, las concentraciones de OD mantenidas en estas dos fases del ciclo, fueron concentración adecuada para mantener estables estos dos procesos (utilización de la materia orgánica y la NT).

Según en el Modelo ASM2 (Henze *et al.* 1995) concentraciones 0.2 mg OD/L inhiben parcialmente el proceso de DN. Este proceso es de suma importancia debido a que de éste depende la eliminación total del $N-NH_4^+$ de un AR, al transformar los $N-NO_3^-$ formados en la NT en N.



En la Tabla 4.4 se observa que las concentraciones de OD mantenidas en las etapas de LLE-ANOX de todos los sistemas evaluados fueron superiores a 0.2 mg/L, presentando la mayor concentración de OD el sistema alimentado con albúmina de huevo (0.7 mg/L).

Cuando las concentraciones de OD en dicha fase son superiores a 0.2 mg/L (Henze *et al.* 1995), los microorganismos heterótrofos facultativos encargados de realizar la DN son capaces de utilizar el OD en vez de los N-NOx como aceptor de electrones para su respiración celular, favoreciendo la acumulación de N-NOx en el sistema. Investigaciones realizadas por Cassey *et al.* (1999) y Musvoto *et al.* (1999) han sido enfocadas en estudiar el efecto que provoca una concentración alta de N-NOx sobre el crecimiento de los microorganismos del lodo activado. De lo anterior, han relacionado que un alto contenido de N-NOx en la fase anóxica disminuye la concentración de SST, SSV y las velocidades de DN, e incrementa el IVL. De ahí la importancia de mantener condiciones anóxicas en el sistema.

Concentraciones superiores a 0.5 mg OD/L obtenidas en la fase de LLE-ANOX de los cuatro sistemas evaluados pudieron ser debidas a diferentes razones: 1. La baja concentración de los sustratos en el sistema contribuyera a que los microorganismos no agotaran el OD disponible en el sistema y por tanto, este OD residual permaneciera en altas concentraciones siendo accesible a los microorganismos nitrificantes e inhibiendo la DN 2. En el caso del almidón y la albúmina de huevo estos son SLB que los microorganismos tienen que hidrolizar previamente antes de asimilarlos.

Por tanto, debido a las altas concentraciones de OD mantenidas en la fase de LLE-ANOX de los sistemas, se esperaría tener cierta inhibición del proceso de DN en todos los sistemas evaluados.

Perfiles promedio de OD en las fases de cada sistema de tratamiento

La Figura 4.5 presenta el registro del OD obtenido a lo largo de las fases del ciclo de cada uno de los sistemas evaluados. Los gráficos presentan el promedio de OD de cada sistema de tratamiento.

En la Figura 4.5 se puede notar que en todos los sistemas evaluados la concentración de OD alcanzada en las fases de aireación a lo largo de cada periodo experimental se mantuvo alrededor de los 2 mg/L. Siendo así, se esperaría obtener una alta remoción de la DQO con cada uno de los sustratos evaluados y además un buen proceso de NT (transformación total del N-NH_4^+ a N-NOx). Sin embargo, la concentración de OD mantenida en las fases sin aireación (LLE-ANOX y SED) se mantuvo por encima del valor mínimo recomendado (0.2 mg/L) para la DN. La alta concentración de OD mantenida en dichas fases posiblemente afectaron la DN (en todos los sistemas) como consecuencia de la poca cantidad de DQOs disponible para este proceso (en especial cuando se trata de los SLB).

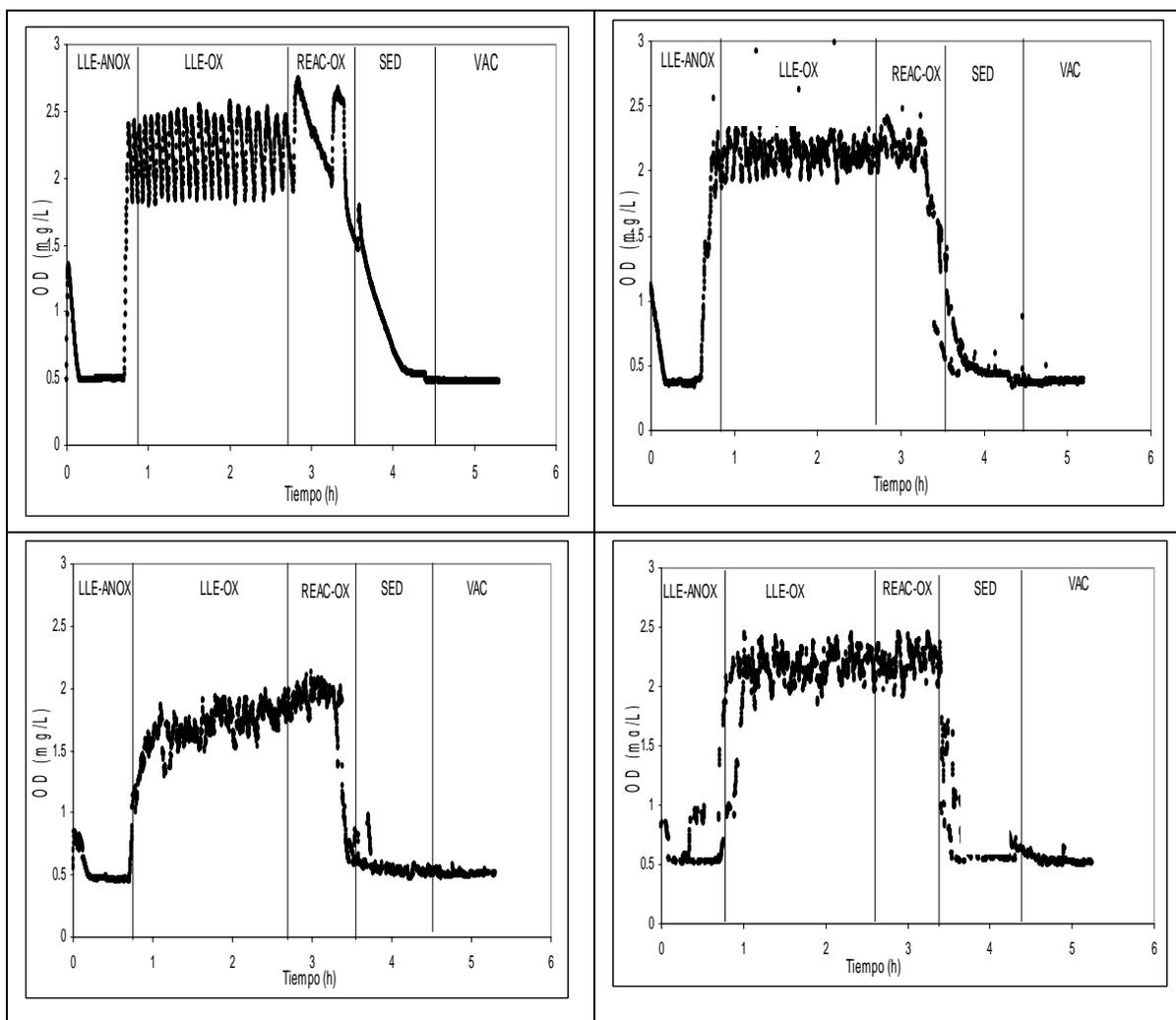


Figura 4.5. Perfiles promedio de OD a lo largo de las fases del ciclo de a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

Por otro lado, en la Tabla 4.5 que muestra los promedios de la DQO_{AF} para los cuatro sistemas evaluados, se puede observar que para todos los casos la concentración media de DQO_{AF} osciló alrededor de 150 mg/L, sin embargo, sí hay una amplia variación en la concentración afluente durante el periodo de prueba de cada uno de los sustratos evaluados presentando el sistema con almidón la mayor desviación (54.7 mg/L) como consecuencia del extenso intervalo de concentraciones mantenidas en este sistema (60.2 – 275 mg/L). Por lo tanto, la DQO_{AF} probada en esta tesis de maestría pareció ser insuficiente para que los microorganismos agotaran todo el OD disponible y a su vez, tuvo una influencia negativa en el proceso de DN, ya que al haber OD residual en las fases anóxicas, este se utilizará como aceptor de electrones en lugar de los N-NOx y entonces, esto ocasionará un aumento en la concentración de N-NOx en los cuatro sistemas.



Tabla 4.5. Promedios de concentración de DQO_{AF} en cada sistema evaluado.

	mgDQO/L				
	n	Media	Desviación estándar	Intervalo	
Acetato	9	156	24	128	- 210
Sacarosa	8	145	5.4	138	- 153
Almidón	16	137	54.7	60.2	- 275
Albúmina de huevo	20	145	21	82.5	- 199

4.3 Caracterización y seguimiento de los parámetros fisicoquímicos del afluente y efluente del RBS en cada sistema evaluado

4.3.1 Eliminación de sólidos suspendidos y materia orgánica

La Tabla 4.6 presenta el número de muestras, el intervalo, la media, las desviaciones estándar y los rendimientos de eliminación de los sólidos y la materia orgánica tomando en consideración el afluente y el efluente de cada sistema evaluado.

Tabla 4.6. Resumen de los parámetros de SS y la materia orgánica para los cuatro sistemas evaluados.

	Afluente				Efluente				Rendimientos %			
	n	intervalo	media	s	n	intervalo	media	s	n	intervalo	media	s
Sistema con acetato												
SST (mg/L)	-	np	np	np	9	7.4 - 14.0	10.5	2.6	np	np	np	np
SSV (mg/L)	-	np	np	np	9	5.2 - 12.7	8.7	2.6	np	np	np	np
DQO (mg/L)	9	128 - 210	156	24	9	2.7 - 19.4	11.7	6.0	9	86.7 - 98	92.7	3.7
DQOs (mg/L)	9	74 - 200	141	34	9	0 - 15.1	7.2	5.8	9	88 - 100	95.2	4.0
Sistema con sacarosa												
SST (mg/L)	-	np	np	np	8	4.9 - 37.3	15.1	11.5	8	np	np	np
SSV (mg/L)	-	np	np	np	8	4.4 - 37.3	14.1	11.8	8	np	np	np
DQO (mg/L)	8	138 - 153	145	5.5	8	2 - 36.8	12.0	13.7	8	75.4 - 98.7	91.9	9.0
DQOs (mg/L)	8	125 - 153	139.7	9.0	8	0 - 6.71	1.8	2.7	8	95.1 - 100	98.7	1.9
Sistema con almidón												
SST (mg/L)	4	120 - 158	143	16.9	16	1.9 - 16.8	9.4	4.9	16	np	93.4	np
SSV (mg/L)	4	np	np	np	16	1.9 - 14.9	7.2	3.8	16	np	np	np
DQO (mg/L)	16	60.3 - 275	137	54.7	16	2.7 - 40.1	12.3	10.1	16	64 - 98.2	90	9
DQOs (mg/L)	4	0	0	0	16	0 - 16.3	2.8	5.4	16	np	np	np
Sistema con albúmina de huevo												
SST (mg/L)	4	9 - 13	10.7	1.7	20	2.2 - 41.5	10.2	9.7	20	np	4.7	np
SSV (mg/L)	4	np	np	np	20	2.2 - 37.7	9.1	8.5	20	np	np	np
DQO (mg/L)	20	82.7 - 199.3	145	21.2	20	0.1 - 43.6	12.5	9.4	20	47.2 - 99.9	90.5	10.9
DQOs (mg/L)	4	78.2 - 80	79	0.8	20	0 - 12.9	4.6	3.8	20	np	94.1	np

s = desviación estándar

np = no procede



Eliminación de SST y SSV

En este trabajo de investigación no se determinaron los SST y SSV del afluente (SST_{AF} y SSV_{AF}) para los sistemas alimentados con los SFB ya que todos los componentes del ARS eran solubles, lo cual se corroboró al realizar algunas determinaciones de SST a lo largo del periodo experimental. Por lo tanto, no fue posible obtener los rendimientos de eliminación. Para evitar la formación de *biofilm* en las paredes del depósito de alimentación, éste, al igual que los tubos que alimentaban el reactor se lavaban frecuentemente y, además, el ARS se mantenía a una temperatura de 5°C para evitar la proliferación de microorganismos que pudiera ocasionar una disminución en el valor de la DQO.

Para los sistemas alimentados con los SLB únicamente se obtuvieron cuatro muestras representativas del contenido de SST_{AF} . No se obtuvieron los SSV_{AF} pues su valor siempre fue prácticamente nulo. La diferencia de haber encontrado SST_{AF} en estos dos últimos periodos de experimentación, esta en que el almidón y la albúmina de huevo son dos SLB poco solubles en agua y que a pesar de haber estado en constante agitación, la formación de partículas en el depósito de alimentación algunas veces fue inevitable, y como se puede notar en la Tabla 4.6, la concentración de SST_{AF} para el sistema con almidón fue mayor en comparación con la concentración obtenida para el sistema con albúmina de huevo.

El rendimiento de eliminación de SST para el sistema alimentado con almidón fue de 93.4% y para la albúmina de huevo fue de 4.7%. Esta variación de rendimientos está directamente relacionada con el contenido de SST determinados en el afluente en estos dos sistemas, 143 mg/L para el almidón y 10.7 mg/L para la albúmina de huevo y, por tanto, no se puede afirmar que los rendimientos de eliminación para el sistema con almidón fueron mejores, ya que las concentraciones de SST del efluente (SST_{EF}) en ambos sistemas fueron similares (9.4 y 10.2 mg/L)

Sin embargo, lo que sí se puede notar es que las concentraciones medias tanto de SST_{EF} como de SSV_{EF} para los cuatro sistemas fueron bastante similares. Al realizar el análisis estadístico (F y t) para determinar si la concentración de SST_{EF} entre acetato-sacarosa, almidón-albúmina de huevo y a su vez entre los SFB y SLB, indicó que en aunque en todos los casos las varianzas resultante fueron diferentes, no existió una diferencia significativa entre las concentraciones de SST_{EF} encontradas en los cuatro sistemas evaluados. Por tanto, fue posible estimar una media común para los sistemas de 11.19 mg/L y una desviación típica común de 2.68 mg/L. El intervalo de confianza al 95% para la media común fue de 11.19 ± 4.27 mg/L.

Las concentraciones medias de SSV_{EF} para los cuatro sistemas también fueron muy similares. Los SSV_{EF} para el acetato fueron de 8.7 mg/L, 14.1 mg/L para la sacarosa, 7.2 mg/L para el almidón y 9.1 mg/L para la albúmina de huevo. Al realizar el mismo análisis estadístico (F y t) que el aplicado para los SST, éste también mostró que en todos los casos las varianzas resultante fueron diferentes aunque no existió diferencia significativa entre las concentraciones de SSV_{EF} encontradas con cada uno de los sistemas evaluados. Por tanto, fue posible estimar una media común de SSV_{EF} para los cuatro sistemas de 9.90 mg/L y una desviación típica común de 2.87 mg/L. El intervalo de confianza al 95% para la media común fue de 9.90 ± 4.57 mg/L.



En conclusión, independientemente del sustrato evaluado, el contenido de SST_{EF} y SSV_{EF} en los cuatro sistemas evaluados fueron estadísticamente iguales, y además se cumplió con los valores establecidos en la normativa, ya que según la NOM-003-SEMARNAT-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para aguas residuales tratadas que se reusen en servicio al público, indica que los valores límites para la reutilización de SST_{EF} no debe de exceder los 30 mg/L.

Eliminación de DQO y DQOs

En la Tabla 4.6 se puede observar que los rendimientos medios de eliminación de la DQO fueron alrededor del 90% en todos los casos. Para el sistema con acetato fueron de 92.7%, 91.9% para sacarosa y 90% para los sistemas alimentados con los SLB. El análisis estadístico (F y t) indicó que tanto las varianzas como las medias de todos los sistemas evaluados fueron estadísticamente las mismas con el 0.05 de significación. Así, fue posible estimar una media común para la DQO de los cuatro sistemas de 91.2 % y una desviación típica común de 1.22%. El intervalo de confianza al 95% para la media común fue de $91.26 \pm 1.95\%$.

Por otro lado, los rendimientos medios de eliminación de la DQOs para los sistemas alimentados con los dos SFB y el sistema alimentado con albúmina de huevo también fueron similares. Para el sistema alimentado con acetato fueron de 95.2%, 98.69% con sacarosa y 94.1% con albúmina de huevo. Los rendimientos de eliminación de la DQOs para el sistema alimentado con almidón no se determinaron debido a que la concentración de DQOs afluente para este sustrato fue de cero. Por el contrario, la albúmina de huevo que a pesar de ser ésta un SLB la DQOs representó aproximadamente el 50% de la DQO. Esto solubilidad según Mathews *et al.* (2002) está dada por la principal proteína que forma a la albúmina de huevo, la ovoalbúmina, la cual representa el 60% del total de la proteína y es soluble en agua. Sin embargo, aunque estadísticamente no fue posible comparar los rendimientos de eliminación de la DQOs para los cuatro sistemas evaluados, en la Tabla 4.7 se puede observar que no hubo una gran variabilidad entre las concentraciones de DQOs obtenidas en el efluente.

Por lo tanto, rendimientos de eliminación de DQO iguales al 90% y la poca variabilidad de las concentraciones de DQOs en el efluente en todos los sistemas evaluados, indican que los microorganismos fueron capaces de remover por igual los SFB y los SLB y además, llegaron a aclimatarse a cada uno de los sustratos probados. Estos resultados también cumplieron con los límites máximos permisibles de la DQO establecidos en la NOM-003-SEMARNAT-1997, ya que según ésta no se deben de exceder los 30 mg/L.

En la Tabla 4.7 se muestran algunos rendimientos de eliminación de DQO y SST reportados en la bibliografía. Los rendimientos de eliminación de DQO reportados para la sacarosa y el almidón han sido superiores a los obtenidos en esta tesis. Además, se puede observar que los rendimientos de eliminación de DQO más bajos son los obtenidos usando AR. Por otro lado, también es evidente notar que a excepción de los autores que han utilizado AR o agua residual sedimentada, no se reportan rendimientos de eliminación de SST al emplear ARS con sustratos solubles (ni siquiera con almidón).



Tabla 4.7. Rendimientos de eliminación de SST y DQO reportados en la bibliografía.

Tipo de agua residual	DQO _{AF} (mg/L)	DQO _{EF} (mg/L)	rendimiento eliminación DQO (%)	SST _{AF} (mg/L)	SST _{EF} (mg/L)	rendimiento eliminación SST (%)	Referencia
Agua residual doméstica	410 - 445	24 - 27	92 - 96	-	-	-	Pankaj <i>et al.</i> (2008)
Agua residual sedimentada con almidón	180 ± 32 290 ± 49.8	54.6 ± 13.6	80 ± 5	290 ± 111	37 ± 36	87	Puigagut <i>et al.</i> (2007)
Agua residual sedimentada con glucosa	180 ± 32 302.5 ± 33.2	64.9 ± 13.3	80 ± 5	68 ± 29	31 ± 18	54	Puigagut <i>et al.</i> (2007)
Agua residual industrial (textil)	1340	355	73.5	115	-	-	Dulekgurgen <i>et al.</i> (2006)
Agua residual sintética con sacarosa	250	11.89 ± 3.71	95.24	-	24.73 ± 5.29	-	Yang <i>et al.</i> (1997)
Agua residual sintética	377	13	96.5	-	-	-	Yu <i>et al.</i> (1994)
Agua residual sintética con almidón	180	4.3	97.61	-	3.7	-	Andreadakis <i>et al.</i> (1993)
Agua residual sintética con almidón	420	3.2	99.9	-	32	-	Andreadakis <i>et al.</i> (1994)
Agua residual sintética con almidón y peptona	600	107.8	82.03	-	53	-	Chudoba <i>et al.</i> (1972)

4.3.2 Eliminación de nutrientes (P y N)

La Tabla 4.8 presenta el número de muestras, el intervalo, la media, las desviaciones estándar y los rendimientos de P-PO₄³⁻, N-NH₄⁺ y N-NO_x tomando en consideración el afluente y efluente de cada sistema evaluado.



Tabla 4.8. Rendimientos de eliminación de $P-PO_4^{3-}$, $N-NH_4^+$, y $N-NOx$ para los cuatro sistemas evaluados.

Sistema con	Afluente				Efluente				Rendimientos %			
	n	intervalo	media	s	n	intervalo	media	s	n	intervalo	media	s
acetato												
$P-PO_4^{3-}$ (mg/L)	9	3.4 - 7.4	4.7	1.6	9	3 - 7.3	4.8	1.4	9	(-79.4) - 59	-8.4	35.2
$N-NH_4^+$ (mg/L)	9	13 - 20.5	15.3	2.3	9	0 - 13	1.4	4.3	9	0 - 100	88.9	33.3
Sistema con												
sacarosa												
$P-PO_4^{3-}$ (mg/L)	8	3.6 - 4.5	4.2	0.3	8	3.9 - 6.4	4.6	0.8	8	(-75.7) - 11.4	-9.7	29.2
$N-NH_4^+$ (mg/L)	8	11.6 - 40.8	16.6	9.8	8	0 - 0.19	0.02	0.1	8	99.5 - 100	99.9	0.2
Sistema con												
almidón												
$P-PO_4^{3-}$ (mg/L)	16	3.4 - 4.8	4.4	0.3	16	1.5 - 7.8	4.0	1.48	16	(-61.1) - 65.7	9.5	33.2
$N-NH_4^+$ (mg/L)	16	7.8 - 18.8	13.4	2.8	16	0 - 0.2	0.02	0.06	16	98.3-100	99.9	0.4
Sistema con												
albúmina de												
huevo												
$P-PO_4^{3-}$ (mg/L)	20	4 - 10.1	8.4	1.9	20	4 - 4.7	4.3	0.2	19	(-12) - 58.1	44	20
		Afluente ($N-NH_4$)				Efluente ($N-NH_4$)				Rendimientos ($N-NH_4^+$)		
$N-NH_4^+$ (mg/L)	16	8.5 - 21.1	14.8	2.7	16	0 - 17.2	4.7	5.0	16	(-101.8) -100	63.9	50.1
NOA (mg/L)*	4	np	np	np	4	0.02-0.14	0.06	0.05	np	np	np	np

NOA = nitrógeno orgánico amonificables, y es el correspondiente a la albúmina de huevo

s = desviación estándar

np = no procede

Eliminación de $P-PO_4^{3-}$

En la Tabla 4.8 se puede observar que los rendimientos de eliminación de $P-PO_4^{3-}$ tuvieron una amplia variabilidad en los cuatro periodos de estudio, caracterizándose los sistemas alimentados con los SFB por presentar menor remoción de $P-PO_4^{3-}$. Los rendimientos de eliminación de $P-PO_4^{3-}$ para el sistema alimentado con acetato fluctuaron entre (-79.44) – 59.03% con una media de -8.4%. Para la sacarosa los rendimientos oscilaron entre (-75.70) – 11.37 % con una media de -9.69% y para los sistemas con almidón y albúmina de huevo dichos rendimientos fluctuaron entre (-61.13) – 65.72% con una media de 9.54% y (-12) - 58.14% con una media de 44.45% respectivamente. Aunque es evidente notar que el sistema con albúmina de huevo presentó mayor eliminación de $P-PO_4^{3-}$, los rendimientos negativos obtenidos en todos los sistemas reflejan que no hubo eliminación de este nutriente.

Para que en un sistema de tratamiento haya eliminación de $P-PO_4^{3-}$, es necesario mantener condiciones anaeróbicas para favorecer la actividad de los microorganismos acumuladores de fósforo, sin embargo, en esta experimentación estas condiciones no fueron evaluadas. Lo anterior, podría explicar la falta de eliminación $P-PO_4^{3-}$ en esta experimentación y, por tanto, los rendimientos negativos a lo largo de cada periodo de evaluado.

Según la NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, indica que los valores límites de $P-PO_4^{3-}$ no debe de exceder los 5 mg/L. Aunque en esta



experimentación no hubo eliminación de fósforo en el sistema, como se observa en la Tabla 4.8, las concentraciones de $P-PO_4^{3-}$ en el efluente no superaron dicho valor, sino que oscilaron alrededor de 4 mg/L en todos los casos, por tanto, se puede afirmar que se cumplió con la normativa.

Eliminación de $N-NH_4^+$

Los rendimientos de eliminación del $N-NH_4^+$ para los cuatro sistemas evaluados fueron muy similares obteniéndose rendimientos alrededor del 100 %. Sin embargo, es evidente notar que el sistema con albúmina de huevo presentó rendimientos negativos de eliminación, lo cual indicó que para días específicos con este sustrato no hubo remoción del $N-NH_4^+$. Para el sistema con acetato dichos rendimientos variaron entre 0 - 100% con una media de 88.88%, Para la sacarosa los rendimientos oscilaron entre 99.5 - 100% con una media de 99.93 % y para los sistemas con almidón y albúmina de huevo dichos rendimientos fluctuaron entre 98.3 – 100% con una media de 99.9% y (-101.8) - 100% con una media de 63.9% respectivamente. La diferencia de rendimiento negativos en este último sistema, fue debida a que al principio del periodo experimental el agua sintética con que se alimentó el reactor (capítulo 3) se añadió cloruro de amonio (NH_4Cl) sin tener en cuenta que la albúmina de huevo al hidrolizarse libera moléculas de NH_4^+ que necesitan ser removidas. El NH_4^+ liberado en el RBS durante la primera fase experimental con albúmina de huevo equivalió a que aumentará una concentración de NH_4^+ desde los 14.8 mg/L introducidos en el ARS hasta 34 mg/L. Ello a la hidrólisis de la albúmina de huevo que contiene un 15.4% en peso de nitrógeno orgánico amonificable (NOA) (Chibnall *et al.* 1943). La elevada carga de $N-NH_4^+$ dio lugar a concentraciones elevadas de $N-NH_4^+$ en el RBS que, combinadas con el pH del LM, llevaron a concentraciones de amoníaco libre ($N-NH_3$) que resultaron parcialmente inhibitorias para el proceso de NT. Estos aspectos se detallan a continuación.

El amoníaco libre como inhibidor de la nitrificación

Es bien conocido (Dong-Jin *et al.*, 2006; Vadivelu *et al.*, 2007) que mientras el ión NH_4^+ es empleado para la NT, el amoníaco (NH_3) llamado a veces amoníaco libre ($N-NH_3$), inhibe el proceso de NT. Particularmente inhiben la nitratación (conversión de NO_2^- a NO_3^-). Así, concentraciones de $N-NH_3$ libres inferiores a 1 mg/L inhiben la NT (Vadivelu *et al.* 2007). Según Dong-Jin *et al.* (2006) 0.7 mg $N-NH_3$ /L inhiben la NT en un 50%. Para pH inferiores al pKa del $N-NH_4^+$ (9.25) la especie predominante es el ión amonio NH_4^+ . Sin embargo, y en dependencia del pH, una parte del NH_4^+ se encuentra en forma de NH_3 . Basándose en la constante de ionización del NH_4^+ (Ecuación 4.1) y en un balance de masas (Ecuación 4.3) se puede deducir la concentración de $N-NH_3$ libre en función del $N-NH_4^+$ total y el pH.

$$pH = pKa + \log \left[\frac{N - NH_3}{N - NH_4^+} \right] \quad (\text{Ecuación 4.1})$$

Donde:

$$[N - NH_4^+] + [N - NH_3] = C_{N-NH_4} \quad (\text{Ecuación 4.2})$$



Combinando la Ecuación 4.1 y 4.2 se obtiene:

$$[N - NH_3] = \frac{C_{N-NH_4}}{1 + 10^{pKa-pH}} \quad (\text{Ecuación 4.3})$$

A continuación se calculó la concentración de N-NH₃ libre a partir de los datos del día 16 de octubre del 2008 (Tabla 4.9). Por ejemplo, al final del LLE-OX había una concentración de N-NH₄⁺ de 13.5 mg N-NH₄⁺/L para un pH de 7.85 entonces:

$$[N - NH_3] = \frac{13.5 \text{ mg N} - NH_4^+}{1 + 10^{9.25-7.85}} = 0.52 \text{ mg N} - NH_3$$

Además, el factor de inhibición del N-NH₃ según el modelo ASM2 (Henze *et al.* 1995) se expresa mediante $K_{NH_3}/(K_{NH_3} + (N-NH_3))$ y $K_{NH_3} = 0.7 \text{ mg N-NH}_3/\text{L}$ (Dong-Jin *et al.* 2006) entonces, este factor vale $0.7/(0.7 + 0.52) = 0.57$. Es decir, la VEN en el sistema con albúmina de huevo era sólo el 57% de la velocidad máxima, con una inhibición del 43%. De lo anterior, se deduce que el 16 de octubre del 2008 la NT estuvo considerablemente inhibida por la excesiva carga de N-NH₄⁺ en el reactor. Las concentraciones de N-NH₄⁺ en el LM y los pH fueron similares a los presentados el día 16 de octubre en la primera fase de experimentación con albúmina de huevo, es por tal motivo que la inhibición se extendió a todo el periodo inicial, Sin embargo, al eliminar la adición del NH₄Cl al ARS, éste fenómeno se eliminó dando lugar a elevados rendimientos de NT.

Tabla 4.9. Resultados del pH y los mgN-NH₄⁺ contenidos en el ciclo del sistema con albúmina de huevo correspondiente al día 16 de octubre del 2008.

	pH	mgN-NH ₄ ⁺ /L contenidos en el ciclo
AFLUENTE	8.15	17
LLE-ANOX	7.89	11.6
LLE-OX 1	7.85	13.5
LLE-OX 2	7.87	12.2
REAC-OX	7.85	12.5
ELUENTE	7.93	11.3

El análisis estadístico (F y t) realizado para determinar si los rendimientos de eliminación del N-NH₄⁺ entre acetato-sacarosa, almidón-albúmina y a su vez entre los SFB y SLB, indicó que las varianzas resultante fueron diferentes entre SFB y SLB, pero que las medias entre los SFB y el sistema con almidón fueron estadísticamente las mismas con el 0.05 de significación. Siendo así, fue posible estimar una media común para los rendimientos de eliminación de N-NH₄⁺ en estos tres sistemas de 96.23% y una



desviación típica común de 19.07%. El intervalo de confianza al 95% para la media común fue de $96.23 \pm 25.39\%$.

En conclusión, el proceso de NT en todos los sistemas evaluados fue adecuado para alcanzar rendimientos de eliminación que en su mayoría fueron alrededor del 100 %. Se incluye también el sistema con albúmina ya que como se mostró en la Tabla 4.8, una vez eliminado el NH_4Cl del ARS, concentraciones de N-NH_4^+ en el efluente fueron no detectadas. Además, se confirmó que las temperaturas mantenidas en esta experimentación ($18.3 - 19.8^\circ\text{C}$) y diferentes a las temperaturas óptimas ($28 - 32^\circ\text{C}$) no tuvieron una influencia negativa en la actividad que los nitrificantes desarrollaron en cada sistema. Además, también se corrobora que las concentraciones de OD alcanzadas en las etapas aireadas de cada uno de los sistemas evaluados también favorecieron la NT.

Las concentraciones de N-NH_4^+ efluente obtenidas en los cuatro sistemas evaluados ($0.02 - 1.4 \text{ mg/L}$) correlacionaron bien con los límites establecidos por la NOM-001-SEMARNAT-1996 que indica que los valores límites de N-NH_4^+ no debe de exceder los 10 mg/L .

Eliminación de N-NOx

En un ciclo RBS con selector anóxico y configurado para la eliminación de nitrógeno, la concentración de nitratos dentro del selector (fase de LLE-ANOX) puede ser elevada debido a la nitrificación de la fase aireada del ciclo anterior. En la Tabla 4.10 se presenta un resumen simplificado que muestra algunos valores obtenidos de N-NOx acumulados en el efluente del ciclo anterior y los N-NOx acumulados en el selector anóxico en $t=0$ a lo largo de cada uno de los cuatro periodos de experimentación.

En dicha Tabla, se observa que la concentración de N-NOx en la fase de LLE-ANOX (en todos los sistemas evaluados) fue muy similar a la concentración de N-NOx del efluente. Lo anterior reflejó un deficiente proceso de DN en todos los sistemas, lo cual, como anteriormente se mencionó, fue debido a la falta de condiciones anóxicas en la fase de LLE-ANOX y la poca cantidad de DQOs disponible para este proceso. El deficiente proceso de DN se reflejó en los bajos rendimientos de eliminación de N-NOx obtenidos en todos los casos (Tabla 4.11). En esta tabla, se observa que en la mayoría de los casos los rendimientos fueron superiores al 50% y los más bajos fueron los obtenidos en el sistema alimentado con albúmina oscilando alrededor del 5%. El anexo 4.1 muestra el cálculo para obtener los rendimientos de eliminación de N-NOx.

Por tanto, el N-NH_3 libre pareció no solo haber tenido un efecto negativo en el proceso de NT en el sistema con albúmina de huevo, sino también en el proceso de DN.



Tabla 4.10. Concentraciones de N-NOx obtenidas a lo largo de los periodos de experimentación con cada uno de los sustratos evaluados.

	Fecha	N-NOx (mg/L) acumulados en el efluente del ciclo anterior	N-NOx (mg/L) acumulados en el selectos anóxico
Acetato	19/05/08	7.59	7.99
	06/06/08	6.74	7.99
Sacarosa	17/06/08	10.62	11.18
	03/07/08	10.62	10.97
Almidón	17/07/08	5.66	6.24
	31/07/08	5.85	5.05
	14/08/08	5.47	5.16
	18/09/08	13.39	13.08
Albumina	07/10/08	25.51	28.14
	16/10/08	12.6	12.11
	29/10/08	14.28	13.89

Tabla 4.11. Rendimientos de eliminación de N-NOx a lo largo de los periodos de experimentación con cada uno de los sustratos evaluados.

	Fecha	Rendimientos de eliminación
Acetato	19/05/08	50
	06/06/08	69
Sacarosa	17/06/08	39
	03/07/08	27
Almidón	17/07/08	66
	31/07/08	58
	14/08/08	61
	18/09/08	7.20
Albumina	07/10/08	-7.27
	16/10/08	2.32
	29/10/08	3.62

Finalmente, se compararon los rendimientos de $P-PO_4^{3-}$, $N-NH_4^+$ y N-NOx obtenidos en los cuatro sistemas evaluados con los reportados en la bibliografía (Tabla 4.12). En general, los rendimientos de eliminación de $N-NH_4^+$ obtenidos coinciden con los reportados en otros estudios experimentales, en especial los obtenidos con agua residual alimentada con sacarosa y almidón. Para el caso del $P-PO_4^{3-}$, los rendimientos de eliminación encontrados fueron inferiores a los reportados. Aunque en los datos de la Tabla 4.12 no



se presentan rendimientos de eliminación de N-NO_x, las concentraciones de N-NO_x efluente reportadas en la bibliografía fueron superiores a las encontradas en esta experimentación.

Tabla 4.12. Rendimientos de eliminación de N-NH₄⁺, N-NO_x y P-PO₄³⁻ reportados en la bibliografía.

Tipo de agua residual	N-NH ₄ ⁺ afluente (mg/L)	N-NH ₄ ⁺ efluente (mg/L)	rendimiento eliminación N-NH ₄ ⁺ (%)	N-NO ₃ ⁻ afluente (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ efluente (mg/L)	rendimiento eliminación N-NO ₃ ⁻ (%)	P-PO ₄ ³⁻ afluente (mg/L)	P-PO ₄ ³⁻ efluente (mg/L)	rendimiento eliminación P-PO ₄ ³⁻ (%)	Referencia
Agua residual doméstica	34 - 95	7 - 9	80 - 82	-	-	-	16 - 19	2 - 3	82 - 85	Pankaj <i>et al.</i> (2008)
Agua residual sedimentada con almidón	42.7 ± 9.5	4.7 ± 5.7	87 ± 12	-	20.1 ± 10.8	-	-	-	-	Puigagut <i>et al.</i> (2007)
Agua residual sedimentada con glucosa	45.3 ± 9.3	16.2 ± 9.7	63 ± 20	-	30.8 ± 12.2	-	-	-	-	Puigagut <i>et al.</i> (2007)
Agua residual sintética con sacarosa	125	2.80 ± 0.51	97.7	-	14.1 ± 0.9	-	-	-	-	Yang <i>et al.</i> (1997)
Agua residual sintética	21.6	0.07	99.5	-	15.9	-	7.3	5.5	24.1	Yu <i>et al.</i> (1994)
Agua residual sintética con almidón y peptona	3.2	2.9	9,37	-	16.3	-	10.5	3.1	70.5	Chudoba <i>et al.</i> (1972)

4.3.3 Evolución temporal de la SST, SSV, DQO, DQOs, N y P

SST y SSV

La Figura 4.6 presenta la evolución de los SST_{EF} y SSV_{EF} durante los cuatro periodos de experimentación. Hay que recordar que cada vez que se evaluaba un nuevo sustrato el reactor era inoculado con nueva biomasa (Capítulo 3). En el gráfico se puede observar que tanto los SST_{EF} como los SSV_{EF} siguieron una misma tendencia a lo largo de cada periodo experimental. Por otro lado, se presentó una notable variabilidad de ambos parámetros, aunque ésta fue más notoria en los periodos con sacarosa y albúmina de huevo. Nótese que las desviaciones típicas para los SST_{EF} y SSV_{EF} en el sistema de sacarosa fueron de 11.49 y 11.81 mg/L respectivamente, y para el sistema con albúmina de huevo fueron de 9.74 y 8.52 mg/L respectivamente. Sin embargo, el análisis estadístico (F y t) anteriormente discutido, mostró que no hubo diferencia significativa entre las concentraciones de SST_{EF} y SSV_{EF} con cada uno de los sustratos evaluados y por tanto, independientemente del tipo de sustrato y el esponjamiento filamentoso que presentaron algunos sistemas (discutido en el capítulo 5) no impactó en el grado de sedimentación que presentó el lodo en cada uno de los casos y, por tanto, en el contenido de SST_{EF} y SSV_{EF}.

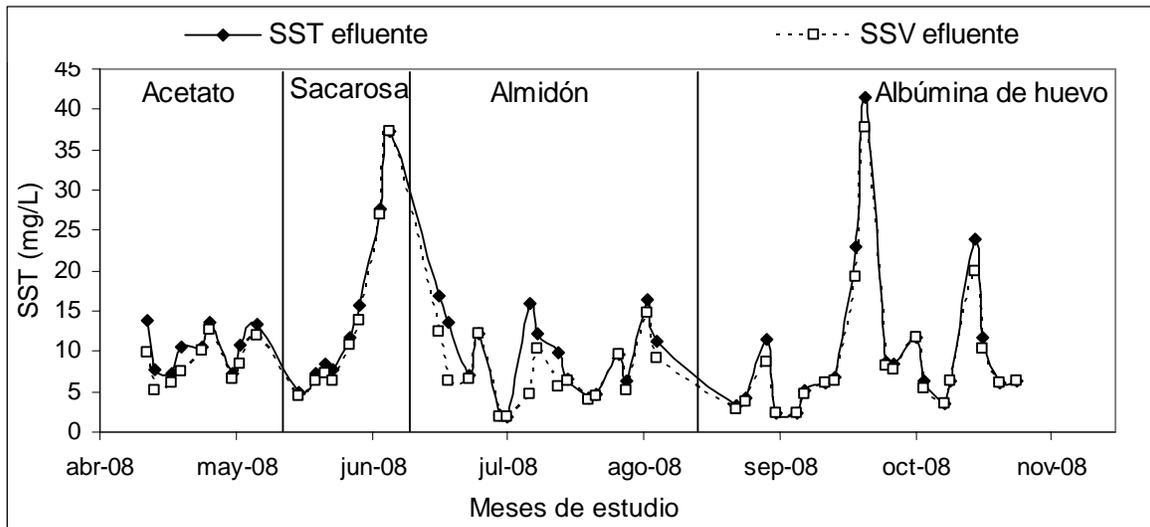


Figura 4.6. Evolución de los SST_{EF} y SSV_{EF} del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

DQO

La Figura 4.7 presenta la evolución de la DQO_{AF} y DQO_{EF} durante los cuatro periodos de experimentación. En el gráfico se puede observar que la mayor variabilidad de DQO_{AF} se presentó en el periodo de experimentación con almidón con una desviación típica de 54.68 mg/L. Por otro lado, la DQO_{EF} presentó una considerable estabilidad a lo largo de todo el periodo experimental, 11.69 mg/L con acetato, 12.04 mg/L con sacarosa, 12.32 mg/L para almidón y 12.53 mg/L con albúmina.

La Figura 4.8 muestra los rendimientos de eliminación de la DQO a lo largo del experimento, como se puede notar, estos no presentaron una amplia variabilidad, y como lo reflejó el análisis estadístico (F y t) anteriormente discutido, mostró que los rendimientos de eliminación de la DQO obtenidos en los cuatro periodos experimentales fueron estadísticamente los mismos con el 0.05 de significación lo que confirmó que, los microorganismos se aclimataron a cada uno de los sustratos evaluados y removieron por igual los SFB y los SLB.

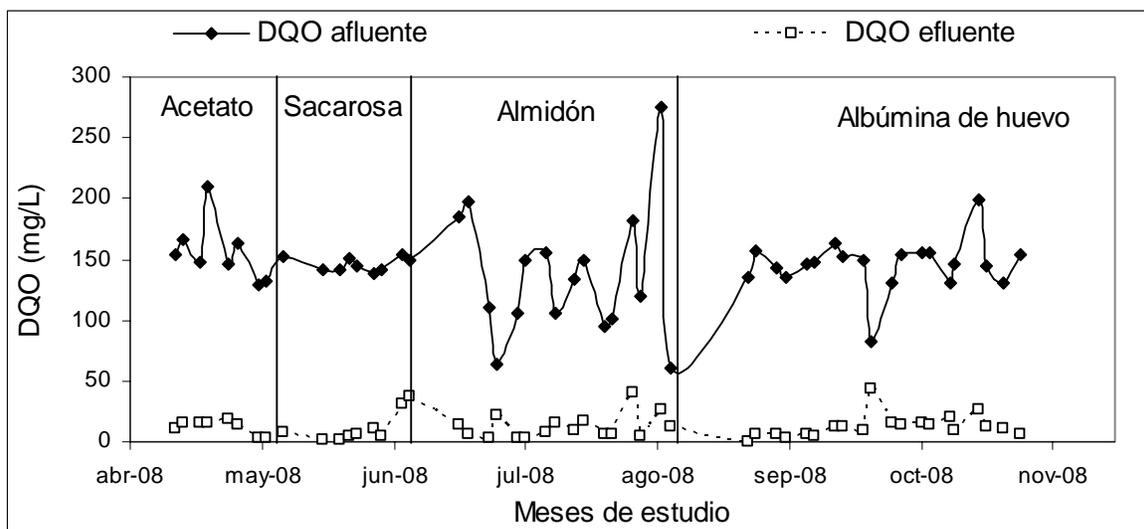


Figura 4.7. Evolución de la DQO_{AF} y DQO_{EF} del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

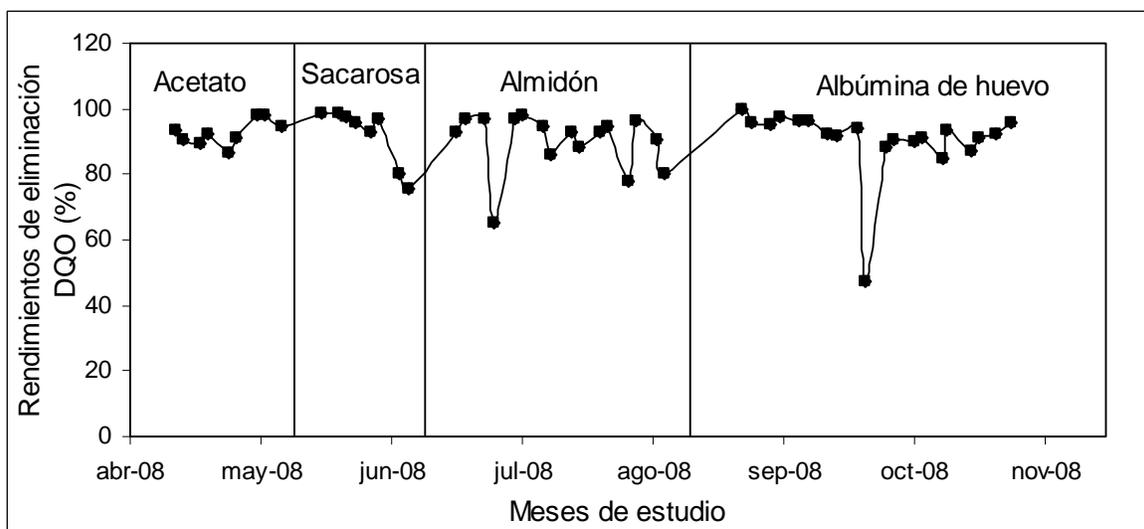


Figura 4.8. Evolución de los rendimientos de eliminación de la DQO durante los cuatro periodos experimentales.

DQOs

La Figura 4.9 presenta la evolución de la DQOs afluente y efluente durante los cuatro periodos de experimentación. En el gráfico se puede observar que para los SFB, la DQOs representó alrededor del 90% del total de la DQO y para la albúmina el 50% del total. (Recordar que para el almidón la concentración de DQOs fue prácticamente cero). Aunque no fue posible comparar estadísticamente los rendimientos de eliminación de DQOs entre los cuatro periodos, se observa que la DQOs del efluente presentó una gran estabilidad a lo largo de todo el periodo experimental sin importar el tipo de sustrato. Las



concentraciones de DQOs efluente en cada uno de los sistemas fueron, 7.2 mg/L para el acetato, 1.81 mg/L con sacarosa, 2.8 mg/L con almidón y 4.6 mg/L con albúmina.

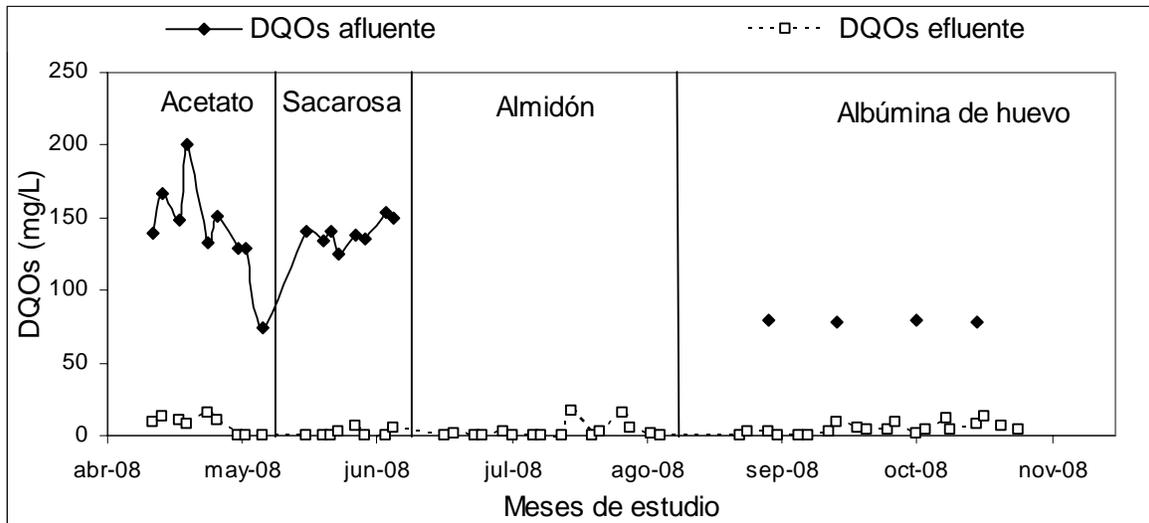


Figura 4.9. Evolución de la DQOs afluente y efluente del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

P-PO₄³⁻

La Figura 4.10 presenta la evolución del P-PO₄³⁻ afluente y efluente durante los cuatro periodos de experimentación. En el gráfico se puede observar que el grado de variabilidad del P-PO₄³⁻ de afluente en los tres primeros periodos de experimentación fue constante. Por el contrario, en el periodo de experimentación con albúmina, hubo un aumento considerable en la concentración de P-PO₄³⁻ que a pesar de que se mantuvo la misma concentración de P-PO₄³⁻ afluente que para los otros sustratos, presentó un aumento evidente de P-PO₄³⁻. Esta diferencia en la concentración está directamente relacionada con la estructura química de la ovoalbúmina (la principal proteína de la albúmina de huevo), que es una fosfoglicoproteína que como su nombre lo dice, contiene grupos fosfato en su molécula y esta diferencia, es lo que ocasionó ese aumento en el contenido de P-PO₄³⁻ en el afluente.

Las concentraciones de P-PO₄³⁻ en el efluente en los primeros tres periodos de experimentación presentaron una mayor variabilidad en comparación con el último periodo correspondiente a la albúmina donde no hubo una variación representativa de P-PO₄³⁻. Sin embargo, las concentraciones medias de P-PO₄³⁻ en el efluente fueron similares en los cuatro sistemas, 4.8 mg/L con acetato, 4.6 mg/L con sacarosa, 4 mg/L con almidón y 4.3 mg/L con albúmina.

Por otro lado, en la Figura 4.11 se observa que los rendimientos de eliminación del P-PO₄³⁻ mostraron una amplia variabilidad, predominando valores tanto positivos como negativos a lo largo de todo el periodo experimental y siendo más notorio en los tres primeros periodos. Como ya se presentó en el apartado de eliminación de P-PO₄³⁻ de este mismo capítulo, los bajos rendimientos en la eliminación de P-PO₄³⁻ son debidos a que en



este trabajo de investigación las condiciones anaeróbicas no fueron favorecidas. Además, la variabilidad de rendimientos obtenida también indican que los sistemas no llegaron a una estabilización y lo cual fue evidente por la pérdida progresiva de los SSV que se dio en todos los sistemas (discutido posteriormente).

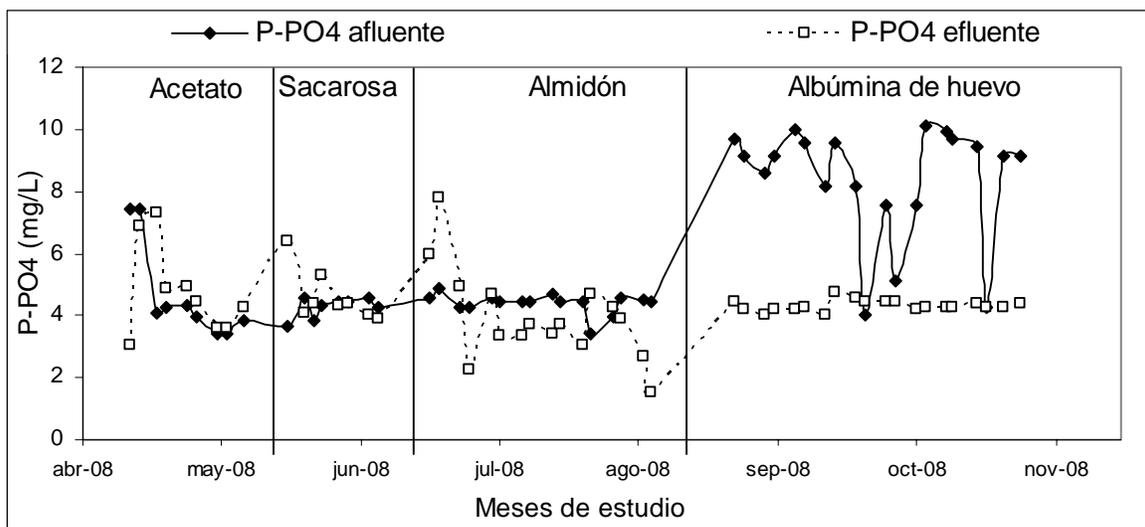


Figura 4.10. Evolución del $P-PO_4^{3-}$ afluente y efluente del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

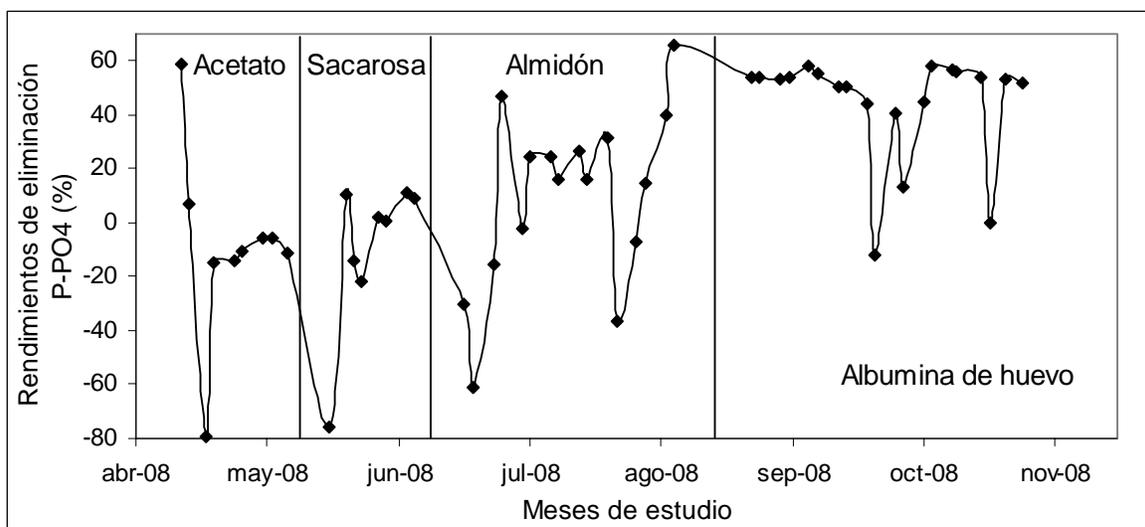


Figura 4.11. Evolución de los rendimientos de eliminación del $P-PO_4^{3-}$ del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.



N-NH₄⁺

La Figura 4.12 presenta la evolución de N-NH₄⁺ del afluente y del efluente durante los cuatro periodos de experimentación. En el gráfico se puede observar que el grado de variabilidad del N-NH₄⁺ de afluente y efluente a lo largo de los meses de estudio con cada uno de los sustratos evaluados no fue elevada, a excepción del periodo de experimentación con albúmina de huevo donde la concentración de N-NH₄⁺ del efluente aumentó significativamente (como motivo de la inhibición de la NT por el alto contenido de N-NH₄⁺ y NOA) y observándose de igual forma un menor rendimiento de eliminación del N-NH₄⁺ en este periodo (Figura 4.13). Las concentraciones de N-NH₄⁺ del efluente en cada uno de los sistemas fueron 1.4 mg/L con acetato, 0.02 mg/L con sacarosa y almidón y 4.7 mg/L para la albúmina.

La Figura 4.13 muestra los rendimientos de eliminación de N-NH₄⁺ a lo largo del experimento, como se puede observar, estos fueron muy estables a excepción de la albúmina de huevo y de un día puntual para el acetato, el 13 de mayo del 2008, cuando por equivocación, se añadió inhibidor de la nitrificación al reactor, sin embargo, esta inhibición no perjudicó el proceso de NT para los días posteriores. En análisis estadístico mostró que los rendimientos de eliminación de N-NH₄⁺ de los sistemas alimentados con los SFB y el sistema con almidón fueron estadísticamente iguales. La diferencia de los rendimientos para el sistema alimentado con albúmina de huevo, se debió precisamente a la inhibición de la NT en ese periodo de estudio y no estuvo relacionada como una consecuencia del tipo de sustrato, ya que posteriormente de haber dejado de incluir el NH₄Cl al ARS, la concentración de N-NH₄⁺ en el efluente osciló entre 0.02 - 0.14 mg/L con una media de 0.06 mg/L y una desviación típica de 0.05 mg/L.

Por tanto, la eliminación biológica del N-NH₄⁺ a lo largo de todo el periodo experimental fue la misma y no presentó una dependencia por el tipo de sustrato utilizado, lo cual indica que los microorganismos tuvieron la misma capacidad de remoción en los cuatro sistemas, incluyendo a la albúmina de huevo si se excluye el efecto de la inhibición de la NT en la primera fase del tratamiento con este sustrato.

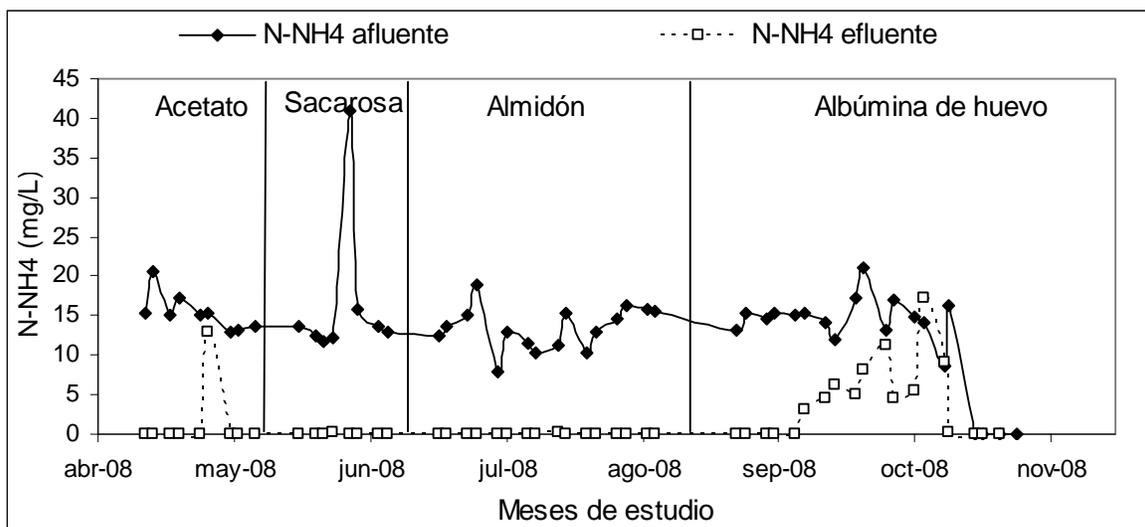


Figura 4.12. Evolución del N-NH_4^+ afluente y efluente del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

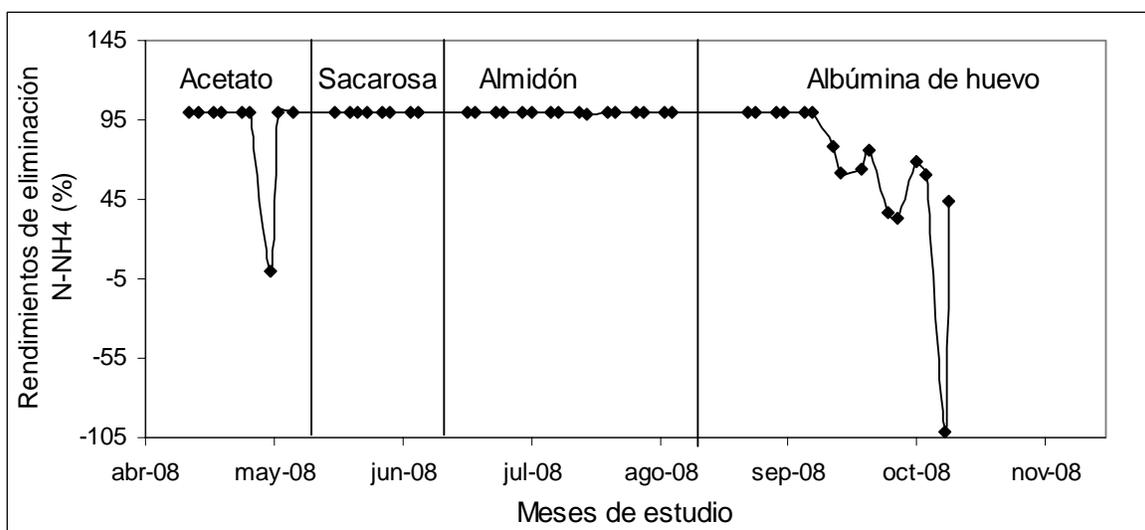


Figura 4.13. Evolución de los rendimientos de eliminación del N-NH_4^+ del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

4.3.4 Comportamiento de la carga másica del sistema

Como se comentó en el Capítulo 3, la F/M representa los kg diarios de sustrato introducidos en el proceso por kg de biomasa presente en el reactor por día (Metcalf y Eddy, 1996).

La Tabla 4.13 presenta los valores medios y los intervalos de variación de la carga másica de cada periodo de estudio, basados en la DQO suministrada al reactor en cada sistema experimental.



Tabla 4.13. Valores medios de la F/M en cada uno de los sistemas evaluados.

	kg DQO / (kg SSVLM.d)			
	n	Media	Desviación estándar	Intervalo
Acetato	24	0.4	0.19	0.16 - 0.74
Sacarosa	24	0.23	0.06	0.13 - 0.35
Almidón	47	0.29	0.11	0.12 - 0.57
Albúmina de huevo	59	0.24	0.07	0.11 - 0.41

Los valores de la F/M durante el periodo experimental con acetato oscilaron entre 0.16 - 0.74 kg DQO/(kg SSVLM.d) con una media de 0.4 kg DQO/(kg SSVLM.d). Como se observa en la Tabla 4.13, estos valores fueron superiores a los obtenidos en los otros tres periodos experimentales. La F/M de la sacarosa varió entre 0.13 - 0.35 kg DQO/(kg SSVLM.d) con una media de 0.23 kg DQO/(kg SSVLM.d), para el almidón varió entre 0.12 - 0.57 kg DQO/(kg SSVLM.d) con una media de 0.29 kg DQO/(kg SSVLM.d) y para la albúmina de huevo varió entre 0.11 - 0.41 kg DQO/(kg SSVLM.d) con una media de 0.24 kg DQO/(kg SSVLM.d).

Al realizar el análisis estadístico (F y t) para determinar si la F/M entre acetato-sacarosa, almidón-albúmina y a su vez entre los SFB y SLB fueron estadísticamente iguales, indicó que en aunque en todos los casos las varianzas resultante fueron diferentes, no existió una diferencia significativa únicamente entre las F/M que predominaron en los sistema alimentados con sacarosa y albúmina. Es así, posible estimar una media común para estos dos sistemas de 0.23 kg DQO/(kg SSVLM.d) y una desviación típica común de 0.01 kg DQO/(kg SSVLM.d). El intervalo de confianza al 95% para la media común fue de 0.23 \pm 0.07 kg DQO/(kg SSVLM.d).

Según Knobelsdorf (2005), valores de F/M inferiores de 0.2 kg DQO/(kg SSVLM.d) indican un sistema microbiológico limitado de sustrato, mientras que valores de F/M mayores de 0.6 kg DQO/(kg SSVLM.d) indican un sistema con exceso de alimento en relación con la biomasa existente. El mantener una adecuada relación de F/M en un proceso microbiológico es de gran importancia debido a que los microorganismos del lodo activado para mantener sus mecanismos de selección, dependen directamente de la cantidad de sustrato disponible para obtener energía y mantenerse. EMASESA (1997) menciona que a valores bajos de F/M se observa un incremento de la concentración de biomasa debido a la formación de productos de reserva, siendo el mecanismo de división celular el menos importante. A valores altos de F/M los microorganismos tendrán suficiente energía para cubrir sus necesidades por lo que se reproducirán activamente.

Las F/M medias mantenidas en este estudio para los cuatro sistemas experimentales como lo muestra la Tabla 4.13 variaron entre 0.2 y 0.4 kg DQO/(kg SSVLM.d), aunque están por encima del valor que indica limitación de sustrato, en ninguno de los casos hubo un exceso de alimento que según la bibliografía (Knobelsdorf, 2005), permitiría un aumento en el número de SSVLM, sino que predominaría mayor formación de polímeros



de almacenamiento y una progresiva disminución de los SSVLM como consecuencia de la falta de alimento. Lo anteriormente descrito, fue el comportamiento que predominó en estos sistemas. Como se observa en la Figura 4.14, la concentración de SSVLM tendió a disminuir progresivamente conforme al tiempo de experimentación en los cuatro sistemas como consecuencia del poco sustrato disponible para la biomasa presente en el reactor, ya que como se observa en la Figura, en todos los casos, la concentración de biomasa presente en el LM con que fue inoculado el reactor fue alrededor de 1600 mg/L, concentración de biomasa que según el comportamiento presentado no fue proporcional a la cantidad de sustrato disponible para esta cantidad de biomasa. Además, es evidente notar que la concentración de SSVLM en el sistema con acetato presentó una concentración inferior al mes de experimentación que la concentración de SSVLM obtenida a los dos meses de experimentación con los SLB. Dichas concentraciones fueron 222.5 mg/L para el acetato, 545 mg/L con sacarosa, 375 para almidón y 595 con la albúmina de huevo.

La mayor pérdida de SSVLM en el sistema alimentado con acetato fue lo que favoreció que predominaran valores superiores de F/M respecto a los otros sistemas. Lo anterior fue debido a su mayor asimilación por parte de los microorganismos al ser un sustrato más fácilmente asimilable (incluso que la sacarosa y analizado posteriormente), la biomasa del lodo activado lo agotaron más rápidamente favoreciendo así, menores concentraciones de sustrato para la biomasa presente y por tanto, mayor pérdida de SSVLM.

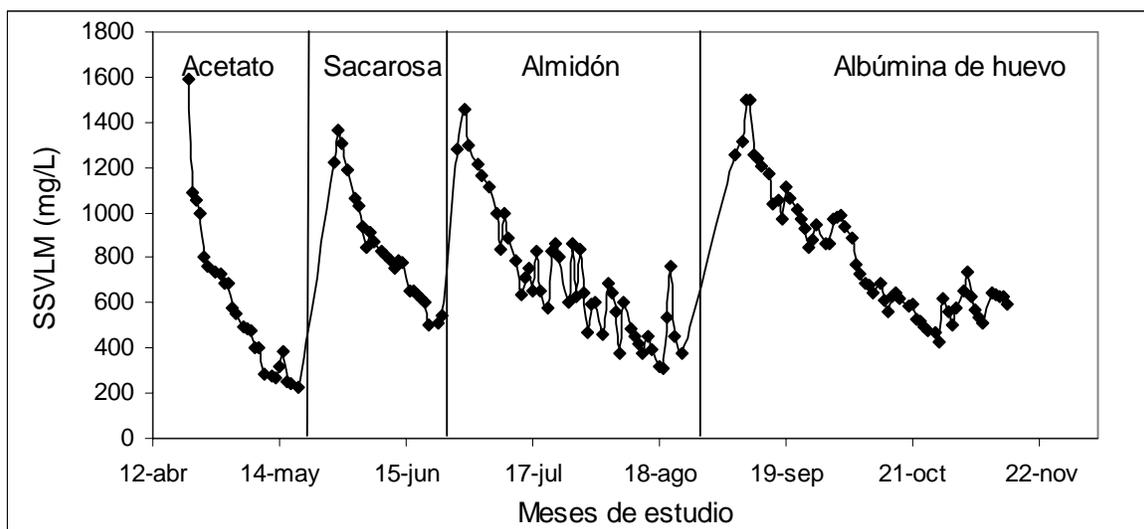


Figura 4.14. Evolución de los SSVLM del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

4.3.5 Evolución temporal de la carga másica

La Figura 4.15 muestra la evolución temporal de la F/M en función del tipo de sustrato. En esta Figura se puede apreciar una amplia variabilidad de la F/M para los cuatro sistemas. Además, se puede notar que en todos los casos, la F/M tendió a aumentar conforme paso el tiempo de experimentación para cada uno de los casos como consecuencia de la pérdida de los SSVLM, ello debido a que los SSVLM iban disminuyendo mientras la carga



de sustrato seguía constante. Para el sistema con acetato la F/M osciló entre 0.16 - 0.74 kg DQO/(kg SSVLM.d), para la sacarosa varió entre 0.13-0.35 kg DQO/(kg SSVLM.d), para el almidón varió entre 0.12-0.57 kg DQO/(kg SSVLM.d) y para la albúmina de huevo osciló entre 0.11-0.41 kg DQO/(kg SSVLM.d), presentándose el mayor aumento del valor de la F/M para el sistema alimentado con acetato.

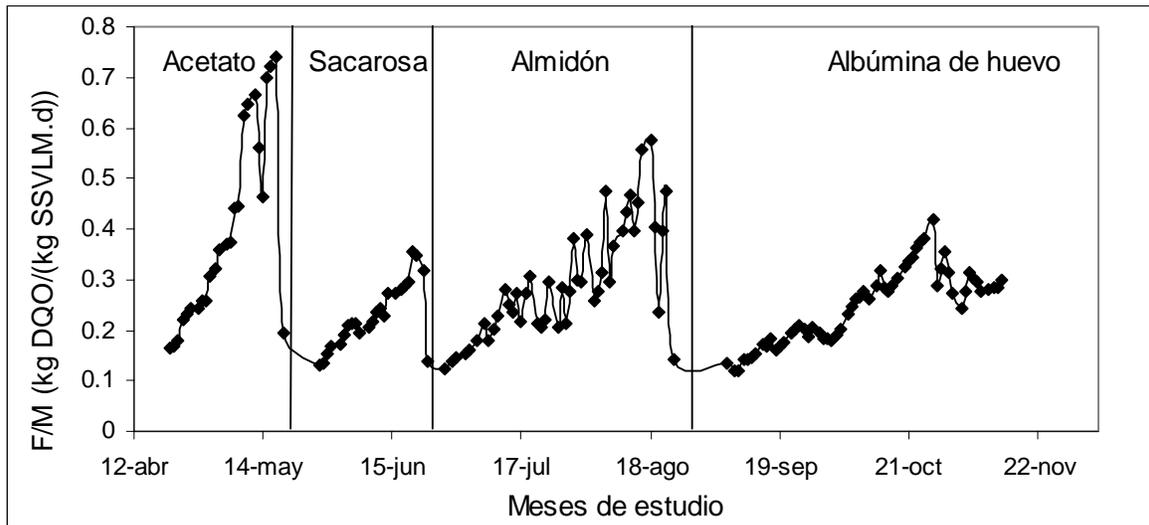


Figura 4.15. Evolución de la F/M del ciclo durante los cuatro periodos experimentales.

En conclusión, la F/M sí se vio influenciada por el tipo de sustrato, ya que la DQO_{AF} para los cuatro sustratos se mantuvo alrededor de 150 mg/L y el sistema con acetato fue el que presentó valores mayores de la F/M por la mayor pérdida de SSVLM. Sin embargo, la pérdida progresiva de los SSVLM en todos los sistemas, indicó que en ninguno de los casos, los sistemas llegaron a estabilizarse, lo cual significa que el sustrato que entraba con el afluente aún era insuficiente para la biomasa presente en el RBS.

4.4 Evolución de la materia orgánica y los nutrientes en el LM de cada sistema de tratamiento evaluado.

A continuación se presentan y analizan los gráficos de evolución de materia orgánica y nutrientes en el LM para cada uno de los sistemas evaluados y en días específicos de muestreo. Además del análisis de estos parámetros, se considera también el comportamiento del OD, ORP, temperatura y pH de cada ciclo estudiado. Lo anterior se hizo con la finalidad de evaluar como los microorganismos se iban aclimatando a los sustratos. Según Ekama (1986), un sistema de lodos activados alcanzara su estabilización una vez que hayan pasado 2 veces el tiempo de la edad del lodo, entonces, si en los sistemas estudiados el TRC fue de 11 d, a los 22 d los microorganismos del lodo activado deberían estar aclimatados a cada uno de los sustratos, lo cual traería como consecuencia un sistema estable.

La siguiente discusión se divide en cuatro partes distintas las cuales corresponden a los resultados de los cuatro periodos experimentales con cada uno de los sustratos evaluados. Es importante enfatizar que el periodo de experimentación con los SFB fue



alrededor de 1 mes y para los SLB fue alrededor de 2 meses. Esta diferencia es debida a que se tiene un mayor conocimiento del comportamiento de los microorganismos del lodo activado a los SFB, en específico al acetato, sin embargo, para los SLB aun en la actualidad se sigue teniendo un escaso conocimiento de la respuesta de los microorganismos del lodo activado a este tipos de sustratos.

4.4.1 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con acetato

En la Figura 4.16 se presentan seis gráficos que muestran el comportamiento de las especies de N y la variación de la DQOs en el LM, así como el de OD, ORP, temperatura y pH correspondientes al primer periodo experimental, el acetato. Todos los gráficos corresponden al ciclo muestreado el día 19 de mayo del 2008.

Los gráficos a) y b) muestran la variación de las especies de N y de la DQOs en el LM durante un ciclo de 5.16 h. Los resultados se expresan en peso total de cada una de las especies introducidas o contenidas en el reactor en un instante dado. Así, el N-NH_4^+ “introducido” en el reactor en un instante dado se refiere a los mg de N-NH_4^+ presentes en el RBS al inicio del ciclo más los mg de N-NH_4^+ introducidos con el afluente desde el inicio del ciclo durante el instante indicado. Los valores denotados en el LM indican los mg de N-NH_4^+ realmente contenidos en el LM, obtenidos a partir de las concentraciones medidas y del volumen del LM contenido en el RBS en cada instante t (coincidente con el final de cada fase del ciclo). Los cálculos realizados para la obtención de las curvas de DQOs (gráfico b) son análogos.

En el gráfico a) de la Figura 4.16 se presenta el comportamiento del N en cada una de las etapas del ciclo con acetato. Se puede observar que los microorganismos nitrificantes del lodo activado en las etapas aireadas (0.66 - 3.32 h) removieron progresivamente el N-NH_4^+ que entró con el afluente hasta una cantidad contenida de 0.37 mg o 0.041 mg/L. Esta disminución progresiva del N-NH_4^+ contenido coincidió con el aumento gradual del contenido del N-NO_x , hasta alcanzar una cantidad contenida de 98.74 mg o 7.73 mg/L.

Según Gerardi (2003), para que el proceso de NT se lleve a cabo en su totalidad se debe mantener concentraciones de OD en las etapas aireadas entre 2 y 3 mg/L. Temperaturas entre 25 – 30°C y un pH entre 7.2 y 8.0 favorecen también este proceso. Si se comparan estos valores con los mantenidos en el sistema el día de muestreo, se observa que los valores medios de dichos parámetros fueron de 2.27 mg OD/L en las etapas aireadas, 250.59 de ORP, 19.18°C de temperatura y 7.15 de pH. Aunque los valores de temperatura y pH mantenidos en este sistema fueron inferiores a los recomendados, esto no influyó para que el proceso de NT no se llevara a cabo en su totalidad.

En las etapas de anoxia del ciclo (LLE-ANOX y SED) se puede observar una disminución de los N-NO_x formados en las etapas aireadas por acción de los microorganismos desnitrificantes. Sin embargo, aunque hay una disminución en la concentración de N-NO_x en la etapa de LLE-ANOX, se aprecia que no hay una DN total del N-NO_x . Para esta etapa, la cantidad de N-NO_x eliminada fue de 36.97 mg que correspondió a una caída en la cantidad de N-NO_x acumulado de 71.92 a 34.95 mg o en la concentración de 7.99 a 3.52 mg/L.



Esta baja capacidad de DN como se mencionó en el apartado 4.2.2 de este mismo Capítulo, puede ser consecuencia por las altas concentraciones de OD mantenidas en las fases de LLE-ANOX y la poca cantidad de DQOs disponible para este proceso (F/M 0.16-0.74 kg DQO/(kg SSV.d)). El gráfico c) muestra que la concentración media de OD para este día de muestreo en dicha fase fue alrededor de 0.58 mg/L, y el gráfico d) también muestra que el potencial redox fue alto con un valor de ORP medio de 224, lo cual refleja un medio con alto contenido de OD que tiende a inhibir la utilización del N-NO_x, y, por tanto, un proceso deficiente de DN.

El gráfico b) de la Figura 4.16 que presenta la remoción del acetato en cada una de las etapas del ciclo, se puede notar que a medida que entró DQOs en el afluente, los microorganismos la fueron asimilando rápidamente, tanto así que para la mitad de la fase de LLE-OX (1.66 horas), la cantidad contenida de DQOs era de 9.75 mg o 0.86 mg/L. Lo anterior, indica que en la mayor parte del ciclo los microorganismos se mantuvieron en un ambiente carente de sustrato o en metabolismo endógeno, y en estas condiciones, los microorganismos que predominan son aquellos capaces de resistir a estas condiciones. También se puede notar que gran parte de la DQOs introducida con el afluente se consumió en la DN, ya que al final de la fase de LLE-ANOX los microorganismos desnitrificantes ya habían utilizado 95.51 mg DQOs. Lo anterior confirma que la biomasa presente en el sistema, se aclimató al acetato pero no llegó a un periodo de estabilidad.

Según EPA (1993) el pH adecuado para la DN oscila entre 6.5 – 8. Los valores de temperatura y pH mantenidos en la etapa de LLE-ANOX, no parecieron tener una influencia negativa para el proceso de DN, ya que sus promedios fueron 19.23°C y 7.08 respectivamente.

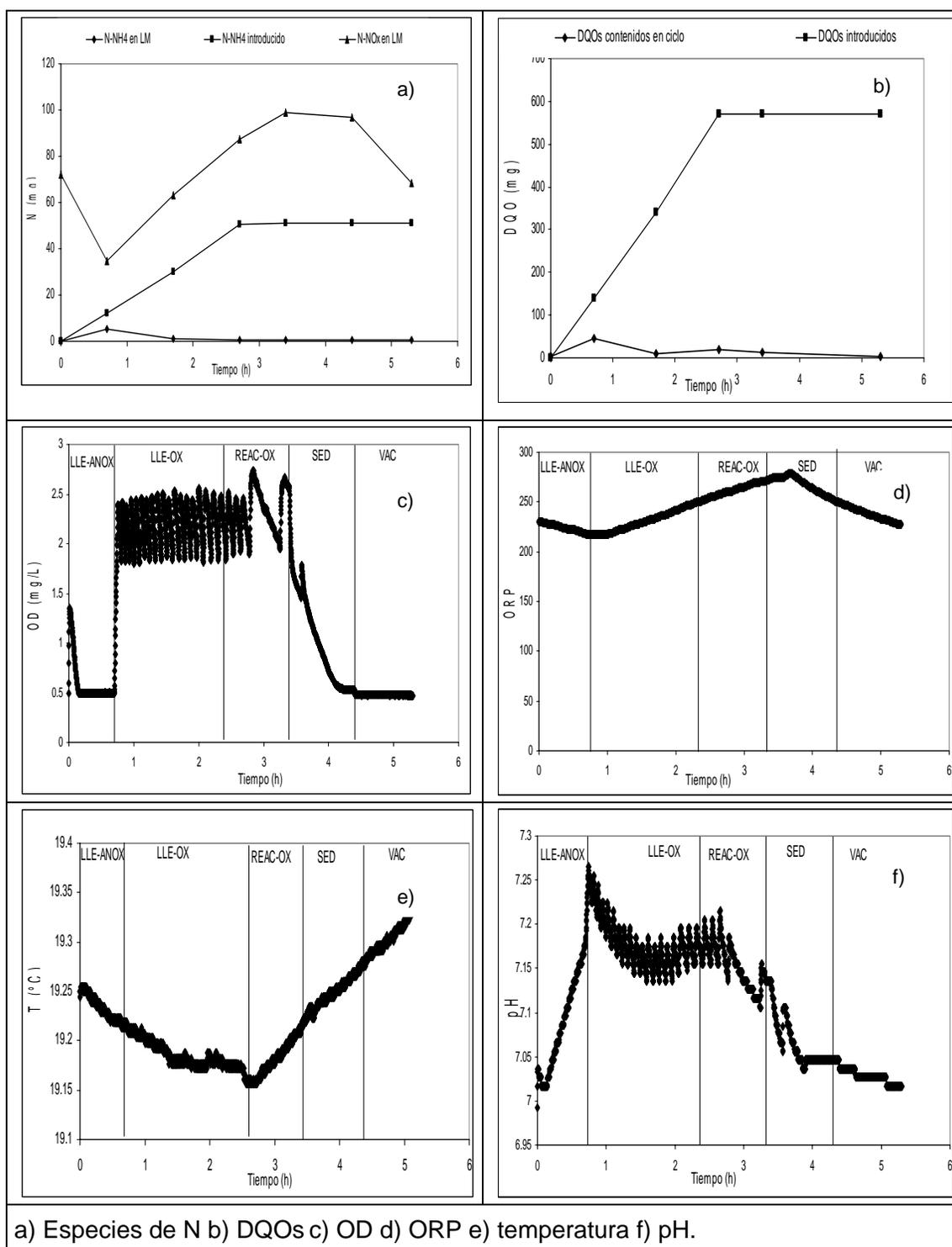


Figura 4.16. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con acetato, correspondiente al ciclo muestreado el día 09 de mayo del 2008.



4.4.1.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con acetato

La Tabla 4.14 muestra las VEN y las VEDN en función de la concentración de SSVLM del sistema alimentado con acetato para el día de muestreo.

Tabla 4.14. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con acetato.

Fecha	mg N/g SSVLM.h			
	VEN (LLE-OX)	VEN (REAC-OX)	VEDN (LLE-ANOX)	VEDN (SED)
19/05/2008	7.6	6.1	19.9	0.6

VEN = velocidad específica de nitrificación

VEDN = velocidad específica de desnitrificación

En cuanto al proceso de NT como se observa en la Tabla 4.14, para el día 19 de mayo (cuarta semana de experimentación), la VEN en la etapa de LLE-OX fue de 7.65 mg N/g SSVLM.h. y en la REAC-OX fue de 6.1 mg N/g SSVLM.h. Según Randall *et al.* (1992), las VEN para un sistema de tratamiento continuo con eliminación biológica de nutrientes (EBN) oscilan entre 1.8 - 7.2 mg N/g SSVLM.h. Por tanto, los valores obtenidos en esta tesis correlacionaron bien con el rango reportado por dicho autor. Además, las concentraciones medias de OD mantenidas en la fase de REAC-OX (1.9 mg/L) y las de la REAC-OX (2.2 mg/L) fueron favorables para favorecer dicho proceso.

En el apartado anterior se mostró que a pesar de que en las fases de LLE-ANOX y SED hubo una disminución de los N-NOx formados, la DN no fue suficiente para completar la disminución total de los N-NOx, probablemente por la falta de condiciones anóxicas y de DQOs. Sin embargo, lo que si es evidente observar, es que la VEDN en la fase de LLE-ANOX fue mayor que en la fase de SED. La VEDN para el LLE-ANOX fue de 19.9 mg N/g SSVLM.h y 0.6 mg N/g SSVLM.h para la fase de SED.

Las diferencias encontradas en las VEDN entre estas dos fases, pudieron ser consecuencia de que más del 50% (95.51 mg/L) de la DQOs afluente fue utilizada por los DN en la fase de LLE-ANOX, y al final de la fase de REAC-OX la cantidad de DQOs contenida era de 14.18 mg o 1.11 mg/L, cantidad insuficiente para alcanzar la misma VEDN en la fase de SED. Por tanto, aunque en la fase de LLE-ANOX las VEDN fueron mayores que las obtenidas en la fase de SED, en ninguno de los casos hubo una DN total del N-NOx acumulado, posiblemente por la falta de anoxia y la baja DQOs en el sistema. Entonces, se decidió calcular el efecto de la posible inhibición de la DN por el OD y el efecto de la concentración de sustrato en la fase de LLE-ANOX.

La concentración de OD afecta la VEDN, según un modelo simple de inhibición incluido en el modelo ASM2 (Henze *et al.* 1995). Esta inhibición se expresa en el modelo ASM2 mediante el factor $K_{O_2}/(K_{O_2} + S_{O_2})$. La constante de inhibición por OD (K_{O_2}) vale aproximadamente 0.2 mg/L (Henze *et al.* 1995). Por lo tanto, si la concentración media de OD en la etapa de LLE-ANOX en este día de muestreo fue de 0.5 mg/L, hace que el factor



de inhibición del OD en la ecuación cinética sea $0.2/(0.2+0.5) = 0.25$. Entonces, sólo por el efecto del OD presente en la fase de LLE-ANOX, la VEDN se vio reducida en un 75% respecto a la velocidad máxima.

El efecto del sustrato se expresa en el modelo ASM2 mediante el factor de Monod $S_A/(K_A + S_A)$, donde S_A es la concentración de acetato (mgDQO/L). La constante por la falta de sustrato (K_A) vale aproximadamente 4 mg/L (Henze *et al.* 1995). Por lo tanto, si la concentración de DQOs al final de la etapa de LLE-ANOX el mismo día de muestreo fue de 4.5 mg/L, entonces el factor Monod del sustrato en la ecuación cinética era de $4.5/(4 + 4.5) = 0.53$. Entonces, solo por la escasez del sustrato presente en la fase de LLE-ANOX, la VEDN se vio reducida en un 47% respecto a la máxima.

Por tanto, la acción conjunta del OD y el escaso sustrato disponible estarían reduciendo la VEDN respecto a la VEDN máxima ($0.25 * 0.53 = 0.13$) en un 87% a la cuarta semana de experimentación. Por tanto, las altas concentraciones de OD mantenidas en las fases de LLE-ANOX y la escasez del sustrato fueron factores que influyeron negativamente en el proceso de DN.

Metcalf y Eddy (1996) reportaron que la VEDN para un sistema de tratamiento continuo con EBN varía entre 1.3 - 4.6 mg N/g SSVLM.h. y Münch *et al.* (1996) reportaron para un RBS un valor de 2.5 mg N/g SSVLM.h. Comparado estos valores con los obtenidos para este sustrato, observamos que el valor en la fase de LLE-ANOX fue muy superior a los reportados por estos autores. Lo anterior posiblemente este directamente relacionado a que el acetato es un SFB que puede ser utilizado a velocidades mayores para la DN.

4.4.2 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con sacarosa

En las Figura 4.17 y 4.18 se presentan los gráficos que muestran el comportamiento de las especies de N y la variación de la DQOs en el LM, así como el de OD, ORP, temperatura y pH correspondientes al segundo periodo experimental, la sacarosa. A diferencia del sistema alimentado con acetato, para el sistema con sacarosa fue posible muestrear dos ciclos, uno al principio de la experimentación y otro al final. Lo anterior, con el fin de observar la diferencia entre el grado de asimilación y remoción de los nutrientes conforme los microorganismos se fueron adaptando a la sacarosa. Todos los gráficos de la Figura 4.17 corresponden al ciclo muestreado el día 6 de junio del 2008 y los gráficos de la Figura 4.18 corresponden al ciclo muestreado el día 17 de junio del 2008. Los gráficos a) y b) en ambas figuras muestran la variación de las especies de N y de la DQOs en el LM durante un ciclo de 5.16 h. La interrelación es análoga a la Figura 4.16.

En el gráfico a) de la Figura 4.17 y 4.18 se presenta el comportamiento del N en cada una de las etapas del ciclo. Se puede observar que en las etapas aireadas del ciclo (0.66 - 3.32 h) los microorganismos removieron progresivamente el $N-NH_4^+$ que entró con el afluente hasta una concentración no detectable de $N-NH_4^+$ en ambos casos. Esto coincidió con el aumento gradual del contenido de N-NOx hasta alcanzar una cantidad contenida máxima de 101.08 mg o 7.95 mg/L para el 06 de junio y 131.09 mg o 10.31 mg/L para el 17 de junio. Lo anterior refleja que en la mayor parte del periodo experimental con sacarosa, el proceso de NT fue adecuado permitiendo nitrificar todo el $N-NH_4^+$ del



afluente, además de que la NT se vio favorecida conforme los microorganismos se aclimataron al sustrato.

Al comparar los valores de OD, ORP, Temperatura y pH registrados en los dos días muestreados con los óptimos para llevar a cabo un buen proceso de NT, se observa que en ambos días los valores registrados para estos parámetros fueron adecuados. El día 06 de junio la concentración media de OD en las etapas aireadas fue de 2.14 mg/L, el valor medio de ORP fue de 339.50, la temperatura fue de 19.33°C y el pH fue de 6.41. Para el día 17 de junio la concentración media de OD en las etapas aireadas fue de 2.17 mg/L, el valor medio de ORP fue de 263.97, la temperatura fue de 19.29°C y el pH fue de 6.44. Aunque en ambos casos la temperatura y el pH fueron inferiores a los recomendados, esto no influyó en el proceso de NT.

En las etapas de anoxia del ciclo (LLE-ANOX, SED) para ambos días de muestreo se pudo observar una disminución de los N-NOx formados en las etapas aireadas. Sin embargo, se aprecia que no hay una DN de todo el N-NOx formado, en especial en las etapas de LLE-ANOX (0 - 0.66 h). El día 06 de junio la cantidad de N-NOx eliminada fue de 13.43 mg (22 %) que correspondió a una caída de N-NOx acumulado de 71.97 a 58.54 mg o de 7.99 a 5.93 mg/L y el día 17 de junio la cantidad de N-NOx eliminada fue de 5.31 mg (16.7 %) que correspondió a una caída de N-NOx acumulado de 100.64 a 94.69 mg o de 11.18 a 9.59 mg/L. Por tanto, la DN media porcentual en el LLE-ANOX fue de 19.3%.

Estas bajas capacidades de DN obtenidas pueden ser consecuencia de las altas concentraciones de OD mantenidas en la fase de LLE-ANOX y la poca cantidad de DQOs disponible para este proceso (F/M 0.13-0.35 kg DQO/(kg SSVLM.d)). El gráfico c) de la Figura 4.17 correspondiente al día 6 de junio muestra que la concentración media de OD en la etapa de LLE-ANOX fue alrededor de 0.54 mg/L. Así mismo, el gráfico d) muestra que el potencial redox fue alto con un valor de ORP medio de 313. El gráfico c) de la Figura 4.18 correspondiente al día 17 de junio también muestra que la concentración media de OD en la misma etapa fue alrededor de 0.40 mg/L, y el gráfico d) muestra que el potencial redox en este día también fue alto con un valor de ORP medio de 214. Lo anterior refleja que en la mayor parte del periodo experimental con sacarosa, el proceso de DN fue deficiente.

El gráfico b) de la Figura 4.17 que presenta la remoción de la sacarosa en cada una de las etapas del ciclo del día 6 de junio, podemos notar que a medida que entró DQOs en el RBS, los microorganismos no la asimilaron tan rápidamente, tanto así que al final del ciclo la cantidad de DQOs fue de 25.35 mg o 2.81 mg/L. En contraste, en el gráfico b) de la Figura 4.18 que presenta la remoción de la sacarosa a la cuarta semana de experimentación (17 de junio) se observa una mayor asimilación de la sacarosa por parte de los microorganismos, obteniéndose concentraciones no detectables de DQOs al final del ciclo. Esta mayor capacidad de remoción de la sacarosa a la cuarta semana, confirmó que los microorganismos del lodo activado se aclimataron a este sustrato.

Según Barajas (2002), teóricamente la desnitrificación de 1mg de N-NO₃⁻ requiere 2.86 mg DQO. Si para el 6 de junio la cantidad de DQOs requerida para DN 13.43 mg N-NOx fue de 41.19 mg que correspondió a una proporción de 3.08 mg DQO/mg N-NOx y para el 17 de junio la cantidad de DQO requerida para DN 5.31 mg N-NOx fue de 90.15 mg que



equivalió a 17 mg DQO/mg N-NO_x, podemos notar que la proporción obtenida el 17 de junio fue muy superior a la teórica y a la obtenida el 6 de junio. Lo anterior pudo ser debido a que al principio de la experimentación la lisis de los SSVLM fue importante (recordar que había un exceso de biomasa para el sustrato disponible) y por tanto, los microorganismos DN tuvieron una aportación extra de carbono que no se midió. Por eso, la proporción es aparentemente más baja el 6 de junio y sería normal o alta el 17 de junio a medida que la aportación de carbono por la lisis disminuyó.

Los valores de temperatura y pH mantenidos en la etapa de LLE-ANOX en ambos días muestreados, no presentaron tener una influencia negativa para el proceso de DN, ya que los promedios de estos parámetros fueron 19.35°C y 6.44 respectivamente para el 06 de junio y 19.49°C y 6.44 respectivamente para el 17 de junio.

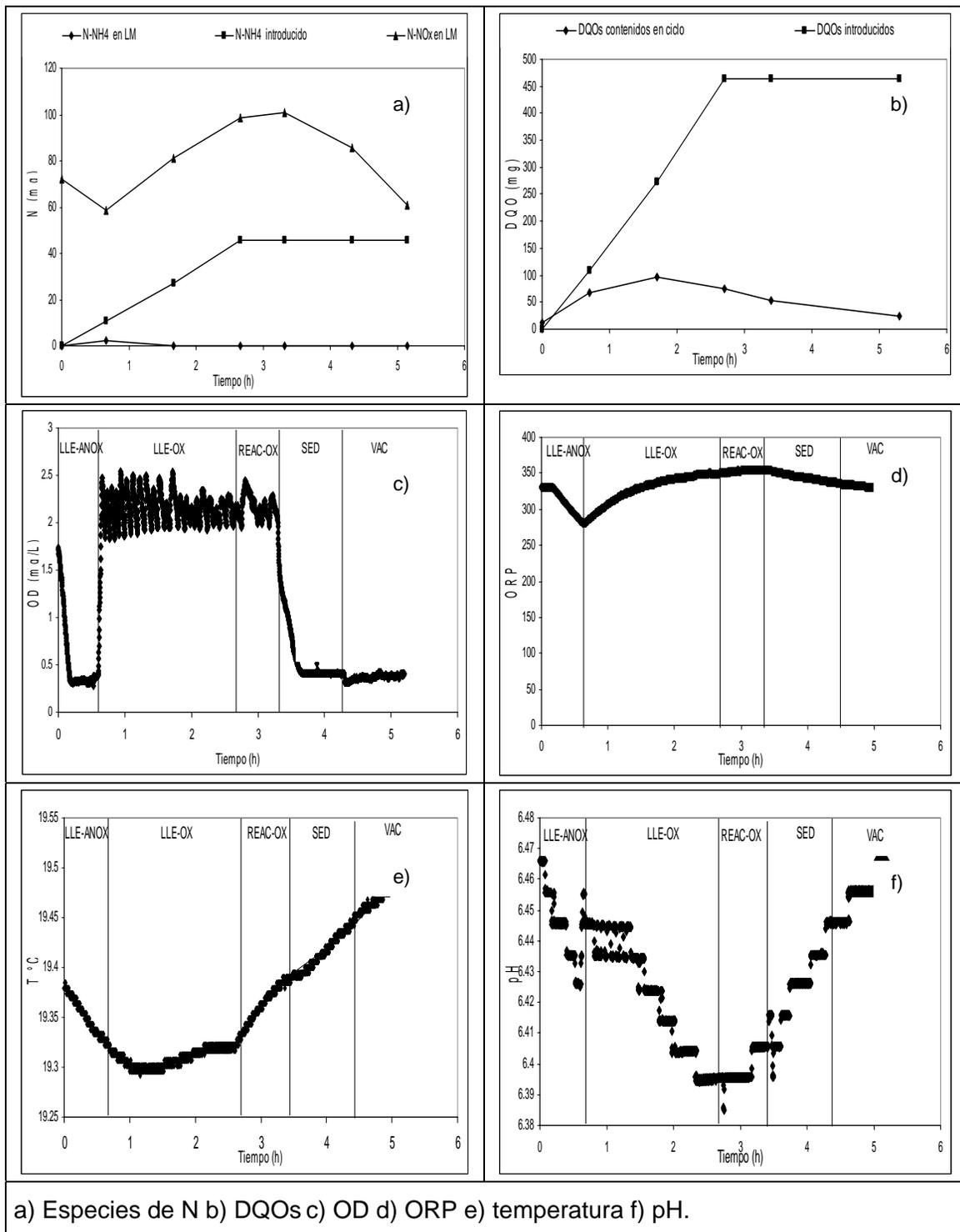


Figura 4.17. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con sacarosa, correspondiente al ciclo muestreado el día 06 de junio del 2008.

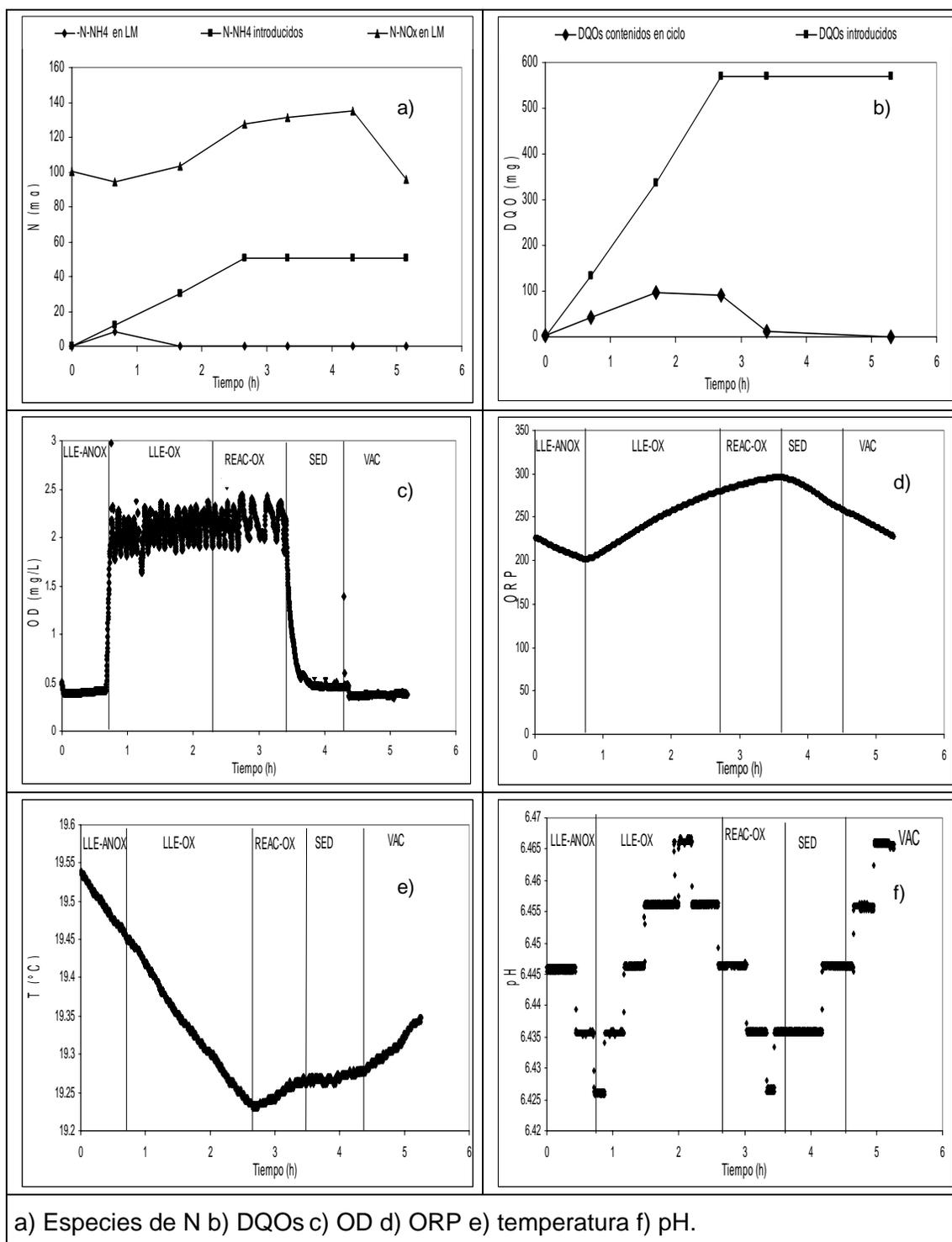


Figura 4.18. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con sacarosa, correspondiente al ciclo muestreado el día 17 de junio del 2008.



4.4.2.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con sacarosa

La Tabla 4.15 muestra las VEN y VEDN en función de la concentración de SSVLM del sistema alimentado con sacarosa en los dos días de muestreo.

Tabla 4.15. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con sacarosa.

Fecha	mg N/g SSVLM.h			
	VEN (LLE-OX)	VEN (REAC-OX)	VEDN (LLE-ANOX)	VEDN (SED)
06/06/2008	1.6	0.4	1.7	1.3
17/06/2008	2.8	0.7	1.1	-0.4

VEN = velocidad específica de nitrificación

VEDN = velocidad específica de desnitrificación

En cuanto al proceso de NT, en la Tabla 4.15 se observa que se vio favorecido conforme la aclimatación del sustrato y al parecer, esta aclimatación sí contribuyó algo a aumentar la VEN hasta alcanzar VEN comparables sólo en la zona inferior del intervalo de Randall *et al.* (1992). Además, las VEN fueron superiores en las fases de LLE-OX que en las fases de REAC-OX. Lo anterior posiblemente este relacionado por la mayor cantidad de carbono inorgánico (CO₂) disponible para los NT proveniente de la oxidación aerobia de la materia orgánica. Ya que como se observa en los perfiles de la DQOs de las figuras 4.17 y 4.18, la cantidad de DQOs en la fase de LLE-OX es superior a la de la fase de REAC-OX puesto que para esta última etapa, los microorganismos ya han agotado todo el sustrato.

En cuanto al proceso de DN, en el apartado anterior se mostró que en la mayor parte del periodo experimental este proceso fue deficiente. La Tabla 4.17 muestra que las VEDN fueron superiores en la fase de LLE-ANOX que en la SED. Para el 6 de junio la VEDN fue de 1.7 mg N/g SSVLM.h y 1.3 mg N/g SSVLM.h para la fase de LLE-ANOX y SED respectivamente y para el 17 de junio la VEDN fue de 1.1 mg N/g SSVLM.h y -0.4 mg N/g SSVLM.h respectivamente. Las diferencias encontradas en las VEDN entre estas dos fases, estuvieron asociadas a las diferentes cantidades de sustrato disponible que fueron accesibles para los desnitrificantes en dichas fases. Como se nota en los perfiles de remoción de DQO de las figuras 4.17 y 4.18, la cantidad de DQO contenida en la fase de SED fue inferior a la de la fase de LLE-ANOX e fue insuficiente para alcanzar la misma VEDN que en la fase de LLE-ANOX. Por otro lado, al comparar las VEDN obtenidas con los valores reportados, notamos que en ninguno de los casos se alcanzaron VEDN comparables a las encontradas por Münch *et al.* (1996).

Por tanto, aunque en la fase de LLE-ANOX las VEDN fueron mayores que las obtenidas en la fase de SED, en ninguno de los casos hubo una DN total del N-NO_x acumulado. Entonces, se decidió calcular el efecto de la posible inhibición de la DN por el OD y el efecto de la concentración de sustrato en la fase de LLE-ANOX (los cálculos para la obtención del valor de inhibición por efecto del OD y por el sustrato fueron análogos a los



realizados para el sistema alimentado con acetato). Dichos cálculos mostraron que sólo por el efecto del OD presente en la fase de LLE-ANOX, la VEDN se vio reducida para el 6 de junio en un 73% y para el 17 de junio en un 67%. Por la escasez del sustrato para los mismos días muestreados se vio reducida en un 37% y 48% respectivamente. Por tanto, el promedio de la acción conjunta del OD y el escaso sustrato disponible estarían reduciendo la VEDN respecto a la VEDN máxima en un 83 % en los dos ciclos muestreados de este periodo. Entonces, las altas concentraciones de OD mantenidas en las fases de LLE-ANOX y la escasez del sustrato fueron factores que influyeron negativamente en el proceso de DN.

4.4.3 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con almidón

En las figuras 4.19, 4.20, 4.21 y 4.22 se presentan los gráficos que muestran el comportamiento de las especies de N y la variación de la DQOs en el LM, así como el de OD, ORP, temperatura y pH correspondientes al tercer periodo experimental, el del almidón. A diferencia de los sistemas alimentados con los SFB para el sistema con almidón, fue posible muestrear cuatro ciclos a lo largo de los dos meses de experimentación. Lo anterior, con el fin de observar la diferencia entre el grado de asimilación y remoción de los nutrientes conforme los microorganismos se fueron aclimatando al almidón. Todos los gráficos de la Figura 4.19 corresponden al ciclo muestreado el día 3 de julio del 2008; los de la Figura 4.20 corresponden al ciclo muestreado el día 17 de julio del 2008; los de la Figura 4.21 corresponden al ciclo muestreado el día 31 de julio del 2008 y los de la Figura 4.22 corresponden al ciclo muestreado el día 14 de agosto del 2008

Los gráficos a) y b) en todas las figuras muestran la variación de las especies de N y de la DQOs en el LM durante un ciclo de 5.16 h. La interrelación es análoga a la Figura 5.16.

En el gráfico a) de cada una de las figuras (4.19 - 4.22) se presenta la remoción del N en cada una de las etapas del ciclo. Se puede observar que los microorganismos nitrificantes del lodo en las etapas aireadas del ciclo (0.66 - 3.32 h) removieron progresivamente el N-NH_4^+ que entró con el afluente hasta una concentración no detectable de N-NH_4^+ en todos los casos. Esta disminución del N-NH_4^+ contenido coincidió con el aumento gradual del N-NO_x hasta alcanzar una cantidad contenida de 120.07 mg o 9.44 mg/L para el 03 de julio, 74.44 mg o 5.85 mg/L para el 17 de julio, 68.93 mg o 5.42 mg/L para el 31 de julio y 66.17 mg o 5.20 mg/L para el 14 de agosto. Lo anterior refleja que en la mayor parte del periodo experimental con almidón, el proceso de NT fue adecuado permitiendo nitrificar todo el N-NH_4^+ del afluente, y al igual que en el sistema con sacarosa, el proceso de NT también aumentó conforme los microorganismos se aclimataron al almidón.

Al comparar los valores de OD, ORP, temperatura y pH registrados en los días muestreados con los óptimos para llevar a cabo un buen proceso de NT (Tabla 4.16), se observa que fueron adecuados, y aunque los valores de temperatura y pH mantenidos en este sistema fueron inferiores a los recomendados, esto no influyó para que el proceso de NT no se llevara a cabo en su totalidad.



Tabla 4.16. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en las fases aireadas de los días muestreados en el sistema con almidón.

Fecha	LLE-OX / REAC-OX			
	OD (mg/L)	ORP	temperatura (°C)	pH
03/07/08	2.2	117	19.2	6.5
17/07/08	2.1	521	19.1	6.6
31/07/08	0.9	337	19.4	6.9
14/08/08	1.9	540	19.4	6.5

En las etapas de anoxia del ciclo (LLE-ANOX, SED) para los días de muestreo se observa una disminución de los N-NOx formados en las etapas aireadas. Sin embargo, se aprecia que en todos los casos, no hay una DN de todo el N-NOx formado, en especial en las etapas de LLE-ANOX (0 - 0.66 h). El día 3 de julio la cantidad de N-NOx eliminada fue de 3.13 mg (3.59 %) que correspondió a una caída de N-NOx acumulado de 98.77 a 95.64 mg o de 5.16 a 4.34 mg/L, el 17 de julio la cantidad de N-NOx eliminada fue de 9.05 mg (20 %) que correspondió a una caída de N-NOx acumulado de 58.16 a 47.13 mg o de 6.24 a 4.77 mg/L, el 31 de julio la cantidad de N-NOx eliminado fue de 3.1 mg (9.6 %) que correspondió a una caída de N-NOx acumulado de 45.47 a 42.37 mg o de 5.05 a 4.29 mg/L y finalmente, para el 14 de agosto la cantidad de N-NOx eliminado fue de 3.6 mg (11.14 %) que correspondió a una caída de N-NOx acumulado de 46.45 a 42.85 mg o de 5.16 a 4.34 mg/L. Por tanto, la DN media porcentual en el LLE-ANOX fue de 11 %.

Estas bajas capacidades de DN obtenidas, fueron también consecuencia de las altas concentraciones de OD mantenidas en las fases de LLE-ANOX y la poca cantidad de DQOs disponible para este proceso debido a que el almidón es un SLB (F/M 0.12-0.57 kg DQO/(kg SSVLM.d). En la Tabla 4.17 se resumen los valores de OD, ORP, temperatura y pH registrados en los días muestreados durante las fases de LLE-ANOX. Como se observa en la tabla, los valores altos de OD y por tanto, de ORP fueron consecuencia del alto contenido de OD residual en el medio que no fue consumido por la baja concentración de DQOs y también, por la alta concentración de N-NOx acumulados en el sistema que no fueron DN. Los valores de temperatura mantenidos no presentaron tener una influencia negativa para el proceso de DN. Por otro lado, los valores de pH mantenidos fueron inferiores a los recomendados para dicho proceso. Por lo tanto, en este sistema, el pH pudo haber sido otro parámetro que posiblemente influyó en los bajos rendimientos de eliminación de los N-NOx.



Tabla 4.17. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en la fase de LLE-ANOX de los días muestreados en el sistema con almidón.

Fecha	LLE-ANOX			
	OD (mg/L)	ORP	temperatura (°C)	pH
03/07/08	0.6	132	19.4	6.3
17/07/08	0.7	466	19.3	6.3
31/07/08	0.4	134	19.6	6.4
14/08/08	0.4	368	19.4	6.3

Los gráficos b) de cada uno de los días muestreados presentan la remoción del almidón en cada una de las etapas del ciclo. Se observa que a medida que entró DQOs en el afluente, los microorganismos no lo asimilaban tan rápidamente, tanto así que para el final del ciclo en la mayoría de los casos, había DQOs contenida en el reactor. El día 03 de julio la cantidad contenida de DQOs fue de 18.77 mg o 1.47 mg/L, y el 17 de julio no fue detectable, posiblemente por la aclimatación de los microorganismos al almidón. Sin embargo, para los siguientes días de muestreo donde se esperaba el mismo comportamiento, la DQOs del efluente aumentó. Para el 31 de julio la DQOs fue de 146.56 mg o 16.28 mg/L y el 14 de agosto fue de 40.41 mg o 4.52 mg/L.

Aunque a partir de la cuarta semana los microorganismos están totalmente aclimatados al sustrato (lo cual se confirmó con el acetato y la sacarosa), las variaciones y el aumento en la concentración de DQOs en el reactor posiblemente estén directamente relacionadas con la disminución progresiva del contenido de SSVLM en el reactor. Karahan-Gul *et al.* (2006) reportaron que la hidrólisis del almidón ocurre mayormente dentro del flóculos del lodo activado al encontrar una disminución en la actividad hidrolítica 18 veces menor cuando la concentración de biomasa presente fue baja. Si durante el periodo experimental con almidón, la concentración de SSVLM desde el primer hasta el último día experimental disminuyó de 1720 - 375 mg/L, entonces se esperaba obtener una disminución en la remoción del almidón por la baja concentración de SSVLM y, lo cual, se vio reflejado con el aumento de la DQOs aun después del periodo de aclimatación. Por otro lado, es importante recordar que el almidón al ser un SLB, los microorganismos lo hidrolizaron a lo largo del ciclo de tratamiento quedando la proporción mayormente asimilable en las últimas etapas del ciclo, esto también contribuyó a que en las etapas de REAC-OX y SED la concentración de DQOs fuera mayor.

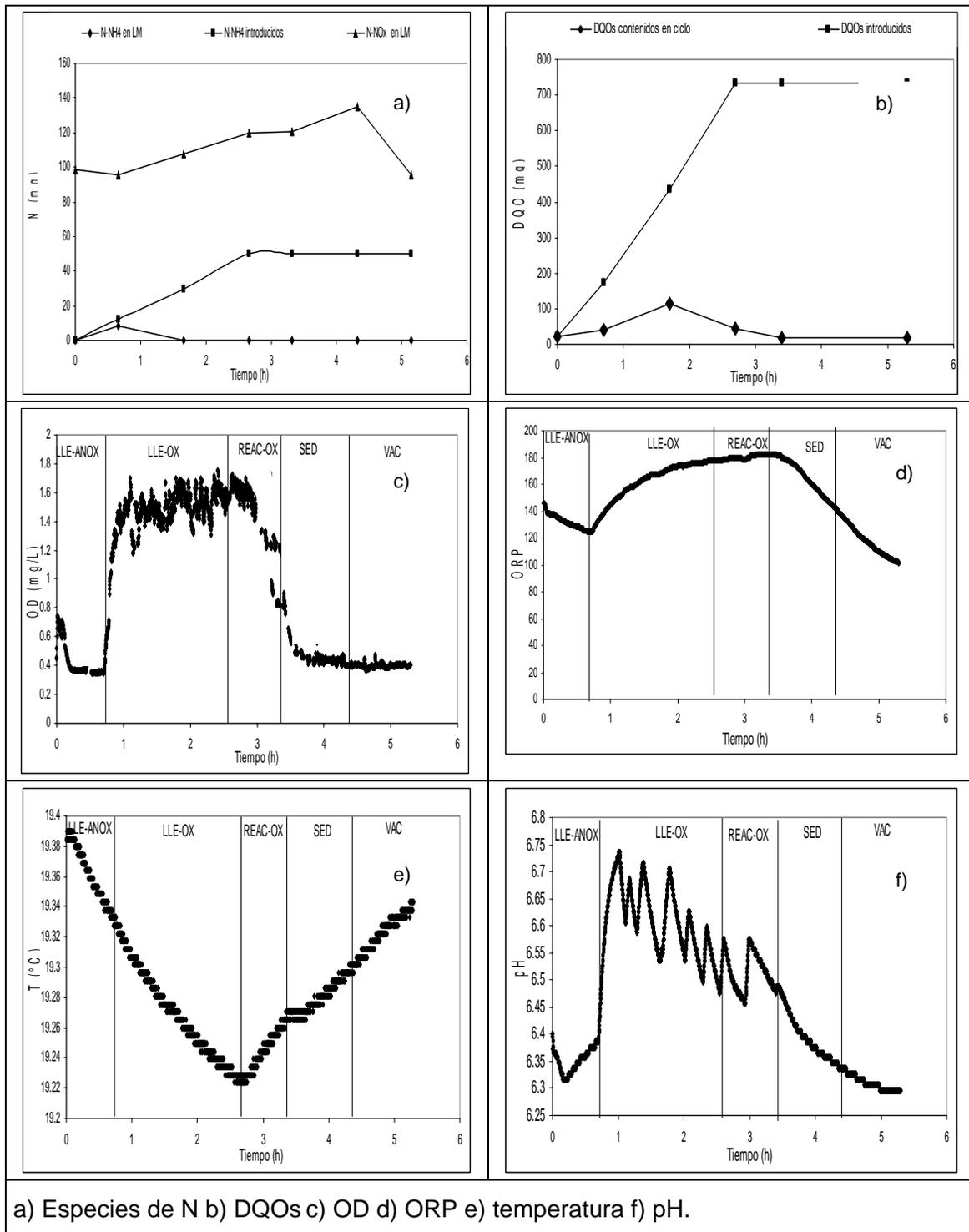


Figura 4.19. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 03 de julio del 2008.

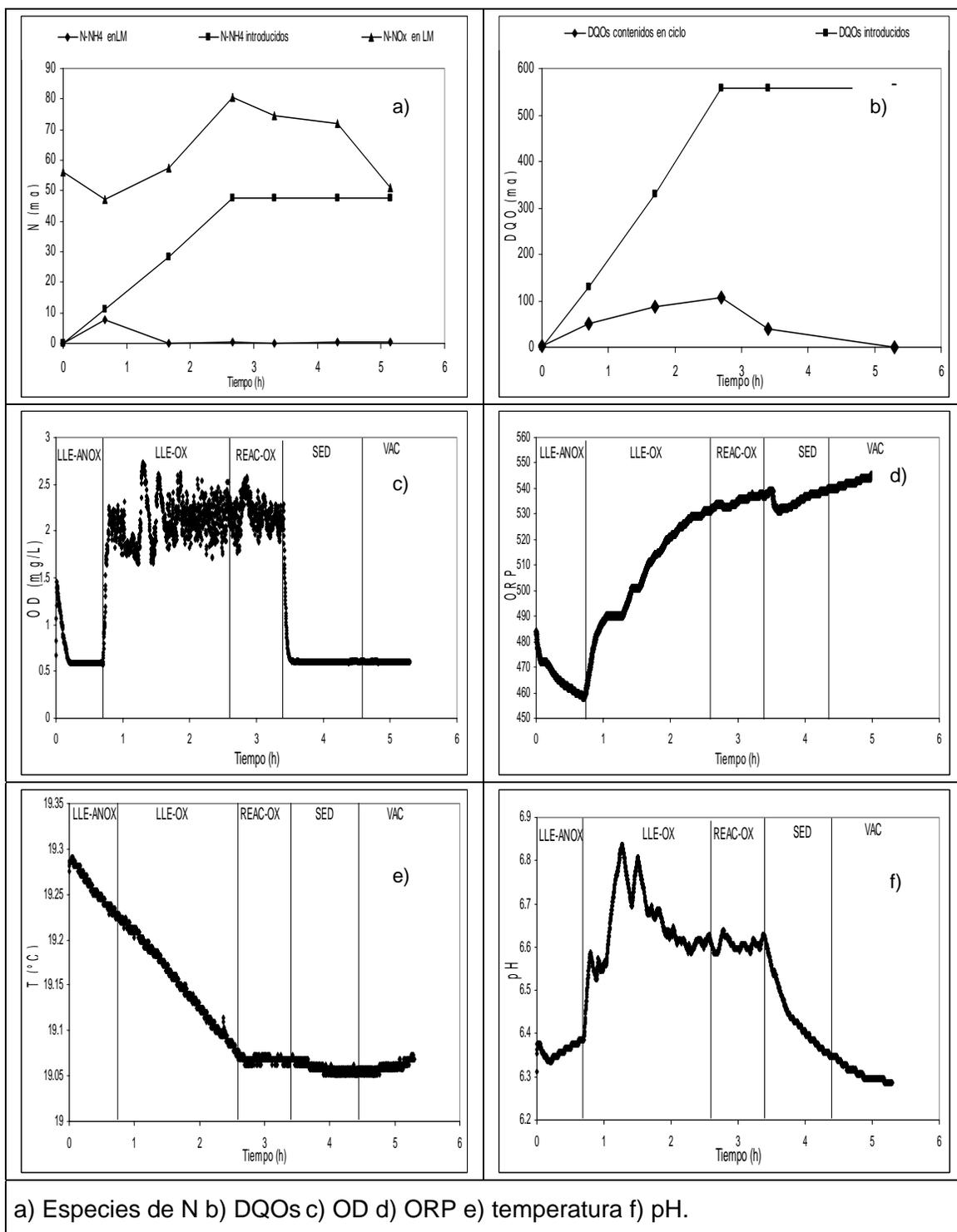


Figura 4.20. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 17 de julio del 2008.

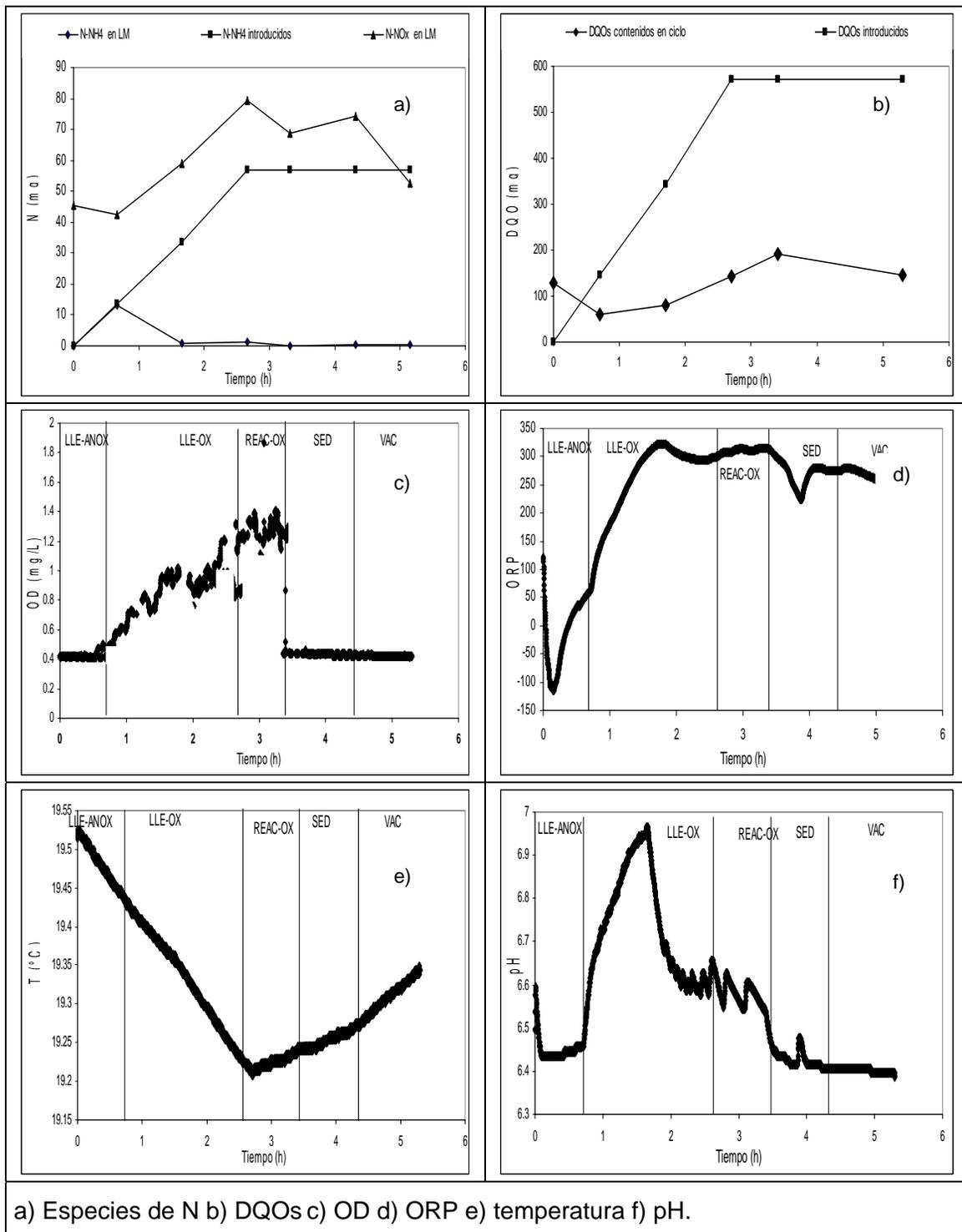


Figura 4.21. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 31 de julio del 2008.

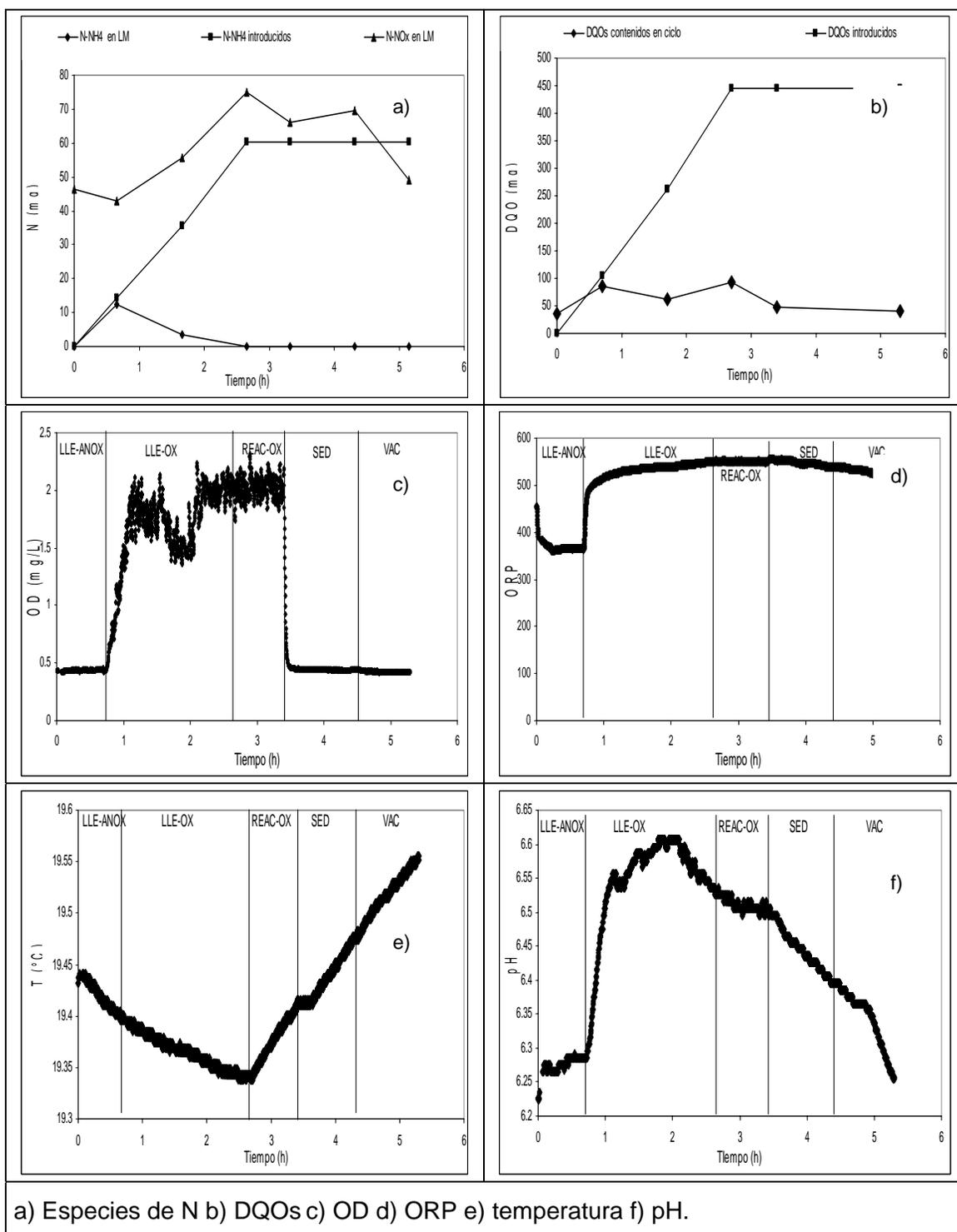


Figura 4.22. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con almidón, correspondiente al ciclo muestreado el día 14 de agosto del 2008.



4.4.3.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con almidón

La Tabla 4.18 muestra las VEN y VEDN en función de la concentración de SSVLM del sistema alimentado con almidón en los cuatro días de muestreo.

Tabla 4.18. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con almidón.

Fecha	mg N/g SSVLM.h			
	VEN (LLE-OX)	VEN (REAC-OX)	VEDN (LLE-ANOX)	VEDN (SED)
03/07/2008	1.5	0.1	0.3	-0.9
17/07/2008	2.6	-1.1	1.6	0.3
31/07/2008	4.7	-2.6	0.8	-0.9
14/08/2008	6	-2.7	1.1	-0.6

VEN = velocidad específica de nitrificación

VEDN = velocidad específica de desnitrificación

En cuanto al proceso de NT en este sistema, es evidente observar que al igual que con los otros sustratos, la NT es mayor en la fase de LLE-OX que en la de REAC-OX y para dicha fase, las VEN obtenidas fueron comparables con la reportadas por Randall *et al.* (1992)

En cuanto al proceso de DN, en el apartado anterior se mostró que en la mayor parte del periodo experimental, este proceso también fue deficiente. Sin embargo, se observa que, según los resultados mostrados en la Tabla 4.18, las VEDN fueron menores que las obtenidas con los SFB y que al igual que el sistema alimentado con sacarosa, las VEDN en las fases anóxicas fueron superiores que en las de la fase de SED. Para el 03 de julio las VEDN fueron de 0.3 mg N/g SSVLM.h y -0.9 mg N/g SSVLM.h para la fase de LLE-ANOX y SED respectivamente, el 17 de julio las VEDN fueron de 1.6 mg N/g SSVLM.h y 0.3 mg N/g SSVLM.h respectivamente, el 31 de julio las VEDN fueron de 0.8 mg N/g SSVLM.h y -0.9 mg N/g SSVLM.h respectivamente y el 14 de agosto las VEDN fueron de 1.1 mg N/g SSVLM.h y -0.6 mg N/g SSVLM.h respectivamente. Al comparar estos valores con los reportados en la bibliografía, notamos que en ninguno de los casos, las VEDN alcanzadas fueron comparables a las indicadas en la bibliografía. Por lo tanto, además del OD y la escasez del sustrato disponible, el tipo de sustrato fue otra condicionante que limitó dicho proceso.

Aunque los perfiles de DQOs mostrados anteriormente indican que al final de la fase de REAC-OX hay sustrato disponible como consecuencia de la previa hidrólisis del almidón y el cual pudiera ser empleado por los desnitrificantes, las VEDN obtenidas en la fase de SED indicaron que esto no favoreció la actividad de los desnitrificantes en dicha etapa. Lo anterior, posiblemente este asociado además de la falta de condiciones anóxicas en esta



etapa, al pH, que se ha indicado que para este sistema, fue otra limitante para el proceso de DN y, que además, haya sido el causante de las menores VEDN con respecto a los sistemas con los SFB.

Los cálculos realizados para conocer el grado de inhibición por efecto del OD y por el sustrato, mostraron que sólo por efecto del OD presente en la fase de LLE-ANOX, la VEDN se vio reducida para el 03 de julio en un 74%, para el 17 de julio en un 78%, el 31 de julio en un 68% y el 14 de agosto en un 69%. Por la escasez del sustrato para los mismos días muestreados se vio reducida en un 50%, 45%, 40% y 32% respectivamente. Por tanto, el promedio de la acción conjunta del OD y el escaso sustrato disponible estarían reduciendo la VEDN en un 84% de su valor óptimo a lo largo de todo el periodo experimental.

4.4.4 Análisis del comportamiento interno del sistema alimentado con albúmina de huevo

En las Figuras 4.23, 4.24, 4.25, 4.26 y 4.27 se presentan los gráficos que muestran el comportamiento de las especies de N y la variación de la DQO en el LM, así como el de OD, ORP, temperatura y pH correspondientes al cuarto periodo experimental, la albúmina de huevo. A diferencia del sistema alimentado con almidón (cuatro ciclos muestreados), en este caso se muestrearon 5 ciclos. El último ciclo correspondió a la última fase en la cual ya no se incluyó el NH_4Cl en el ARS. Todos los gráficos de la Figura 4.23 corresponden al ciclo muestreado el día 18 de septiembre del 2008; los de la Figura 4.24 corresponden al ciclo muestreado el día 7 de octubre del 2008; los de la Figura 4.25 corresponden al ciclo muestreado el día 16 de octubre del 2008; los de la Figura 4.26 corresponden al ciclo muestreado el día 29 de octubre del 2008 y finalmente los de la Figura 4.27 corresponden al ciclo muestreado el día 14 de noviembre del 2008.

Los gráficos a) y b) en todas las figuras muestran la variación de las especies de N y de la DQOs en el LM durante un ciclo de 5.16 h. La interrelación es análoga a la Figura 5.16.

En el gráfico a) de cada una de las figuras (4.23 - 4.27) se presenta la remoción del N en cada una de las etapas del ciclo. Se puede observar que los nitrificantes del lodo activado en las etapas aireadas del ciclo (0.66 - 3.32 h) removieron progresivamente el N-NH_4^+ que entró con el afluente hasta una cantidad no detectable de N-NH_4^+ para el 18 de septiembre. Esta disminución progresiva del N-NH_4^+ entrante coincidió con el aumento gradual del contenido de N-NOx hasta alcanzar una cantidad contenida de 176 mg o 13.8 mg/L. Posterior a este día, el sistema presentó una deficiente NT ya que el contenido de N-NH_4^+ en el efluente comenzó a aumentar progresivamente conforme al tiempo. El 07 de octubre la cantidad contenida de N-NH_4^+ al final del ciclo fue de 77.9 mg o 6.1 mg/L, el 16 de octubre fue de 143 mg o 11.3 mg/L y el 29 de octubre su concentración fue de 116 mg o 9.1 mg/L. Aunque durante este periodo el contenido de N-NH_4^+ en el efluente fue alto, sí hubo NT, pues para los mismos días de muestreo, las siguientes cantidades contenidas de N-NOx fueron encontradas, 354 mg o 27.8 mg/L para el 7 de octubre, 155 mg o 12.2 mg/L para el 16 de octubre y 178 mg o 14 mg/L para el 29 de octubre. Lo anterior refleja que el proceso de NT sí se llevó a cabo. Sin embargo, fue insuficiente para nitrificar todo el N-NH_4^+ que entró con el afluente (NH_4Cl + NOA), debido a la acumulación de N-NH_3 libre formado por el exceso de N-NH_4^+ y que inhibió el 43% de la NT (véase apartado



4.3.2). Una vez eliminado el NH_4Cl del ARS, el proceso de NT mejoró. Para el 14 de noviembre la concentración efluente de N-NH_4^+ fue prácticamente nula, coincidiendo con una cantidad contenida de 125 mg N-NOx o 9.9 mg N-NOx/L. Lo anterior corroboró que el alto contenido de nitrógeno en el afluente era lo que estaba afectando este proceso y no fue consecuencia del tipo de sustrato.

Al comparar los valores de OD, ORP, temperatura y pH registrados en los días muestreados (Tabla 4.19) con los óptimos para llevar a cabo un buen proceso de NT, se observa que los valores de pH mantenidos fueron inferiores a los recomendados, oscilando entre 5.5 – 7.0. Por tanto, el pH posiblemente tuvo cierta influencia en la inhibición de dicho proceso. Los valores de estos parámetros del día 16 de octubre no fue posible obtenerlos.

Tabla 4.19. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en las fases aireadas de los días muestreados en el sistema con albúmina de huevo.

Fecha	LLE-OX / REAC-OX			
	OD (mg/L)	ORP	temperatura (°C)	pH
18/09/08	2	382	18.7	5.9
07/10/08	2.1	592	18.8	5.8
29/10/08	2.3	225	18.3	6.6
14/11/08	2.16	460	18.6	7

En las etapas de anoxia del ciclo (LLE-ANOX, SED, y VAC) para los días de muestreo, se observó una deficiente disminución de los N-NOx formados en las etapas aireadas y siendo más evidente en las fases de SED. El día 18 de septiembre la cantidad contenida de N-NOx en esta etapa no disminuyó, sino aumentó 9.27 mg que correspondió a un aumento de N-NOx acumulado de 117 a 127 mg, el 07 de octubre la cantidad de N-NOx contenida fue de 13.08 mg que correspondió a una caída de 253 a 240 mg, el 16 de octubre la cantidad de N-NOx contenida fue de 10.4 mg que correspondió a un aumento de 109 a 119 mg N-NOx, el 29 de octubre la cantidad de N-NOx contenida fue de 3 mg que correspondió a un aumento de 125 a 128 mg N-NOx y finalmente para el 14 de noviembre la cantidad de N-NOx contenida fue de 7.1 mg que correspondió a una caída de 98.9 a 91.8 mg N-NOx.

Las bajas capacidades de DN menores a las obtenidas con los SFB y con el almidón, fueron consecuencia de las altas concentraciones de OD mantenidas en las fases de LLE-ANOX, la poca cantidad de DQOs disponible para este proceso debido a que la albúmina es un SLB (F/M 0.11-0.41 kg DQO/(kg SSVLM.d), y al descontrol que hubo en el sistema por el alto contenido de nitrógeno en el afluente. En la Tabla 4.20 se resumen los valores de OD, ORP, temperatura y pH registrados en los días muestreados durante las fases de LLE-ANOX. Como se observa en la tabla, los valores altos de OD y, por tanto, de ORP fueron consecuencia del alto contenido de OD residual en el medio que no fue consumido por la baja concentración de DQOs y también por la alta concentración de N-NOx acumulados en el sistema que no fueron DN. Los valores de temperatura mantenidos no



presentaron tener una influencia negativa en este proceso. Por otro lado, los valores de pH mantenidos (18 de septiembre y 07 de octubre) fueron inferiores a los recomendados para dicho proceso. Por lo tanto, en este sistema (al igual que el sistema con almidón), el pH pudo haber sido otro parámetro que posiblemente influyó en los bajos rendimientos de eliminación de los N-NOx.

Tabla 4.20. Valores medios de OD, ORP, temperatura y pH mantenidos en la fase de LLE-ANOX de los días muestreados en el sistema con albúmina.

Fecha	LLE-ANOX			
	OD (mg/L)	ORP	temperatura (°C)	pH
18/09/08	0.6	221	18.8	6
07/10/08	0.4	505	18.8	6
29/10/08	0.6	412	18.3	6.6
14/11/08	0.5	469	18.6	6.8

Los gráficos b) de cada uno de los días muestreados presentan la remoción de la albúmina en cada una de las etapas del ciclo. Se observa que este sustrato tuvo un comportamiento de remoción similar al almidón. En los gráficos se aprecia que a medida que entró DQOs en el afluente, los microorganismos no la asimilaron tan rápidamente, tanto así que para el final del ciclo en la mayoría de los casos, había DQOs contenida en el reactor. El día 18 de septiembre la cantidad contenida de DQOs no fue detectable, el 7 de octubre fue de 48.39 mg o 5.37 mg/L, el 16 de octubre fue de 78 mg o 8.66 mg/L y para el 14 de noviembre fue de 33 mg o 3.67 mg/L.

Las variaciones y el aumento en la concentración de DQOs en el reactor, también pudieron ser consecuencia de la disminución de SSVLM que predominó en este sistema. La concentración de SSVLM desde el primer hasta el último día experimental disminuyó de 1550 - 595 mg/L. Asumiendo que al ser la albúmina un SLB que necesita ser hidrolizado antes de asimilarse, tendría que tener el mismo mecanismo de remoción que el almidón y, por lo tanto, una baja en la concentración de SSVLM también impactaría en el grado de remoción de la misma a lo largo del tiempo, y esto, a su vez, favorecerá el aumento de la DQOs aunque los microorganismos estén aclimatados a este sustrato

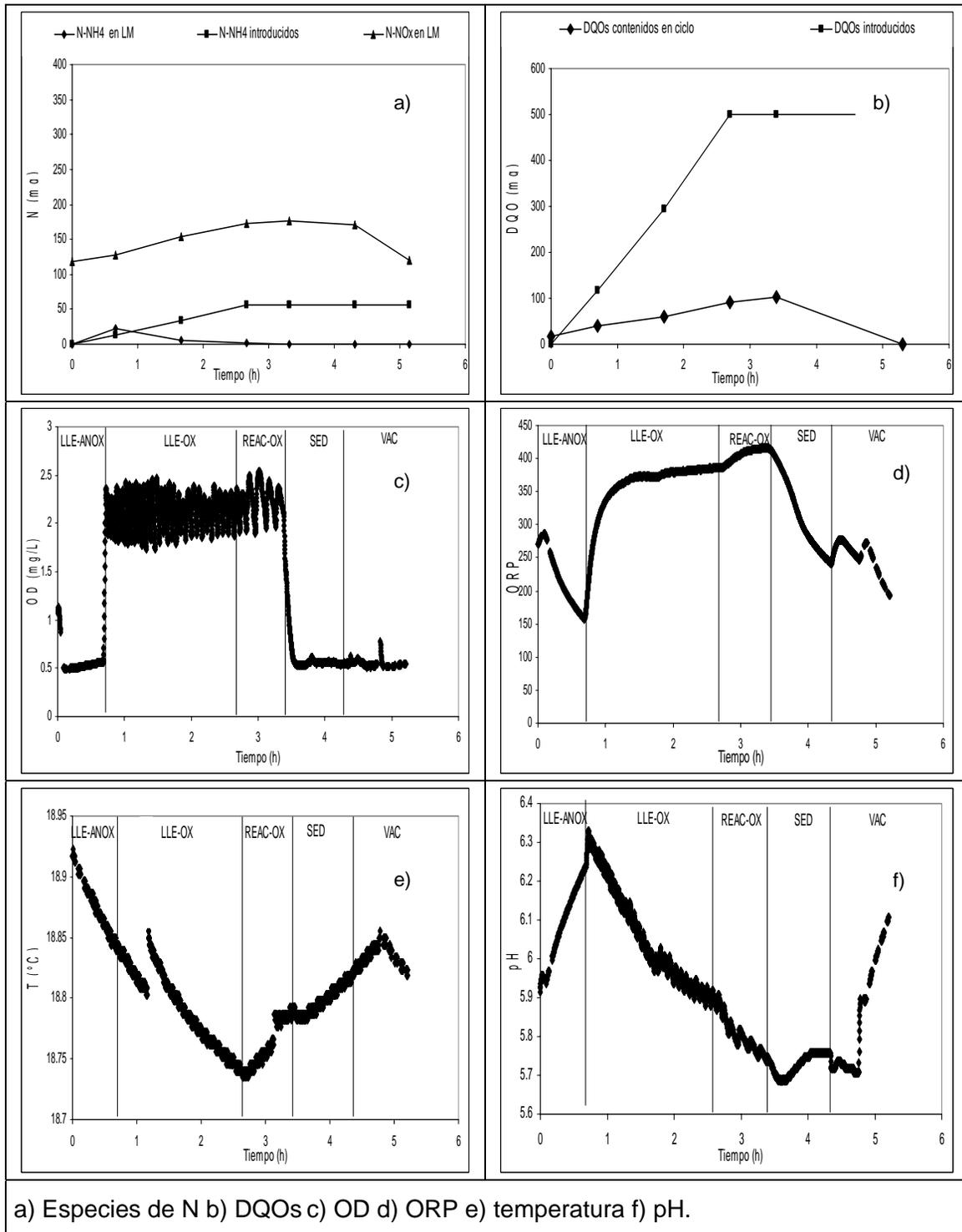


Figura 4.23. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 18 de septiembre del 2008.

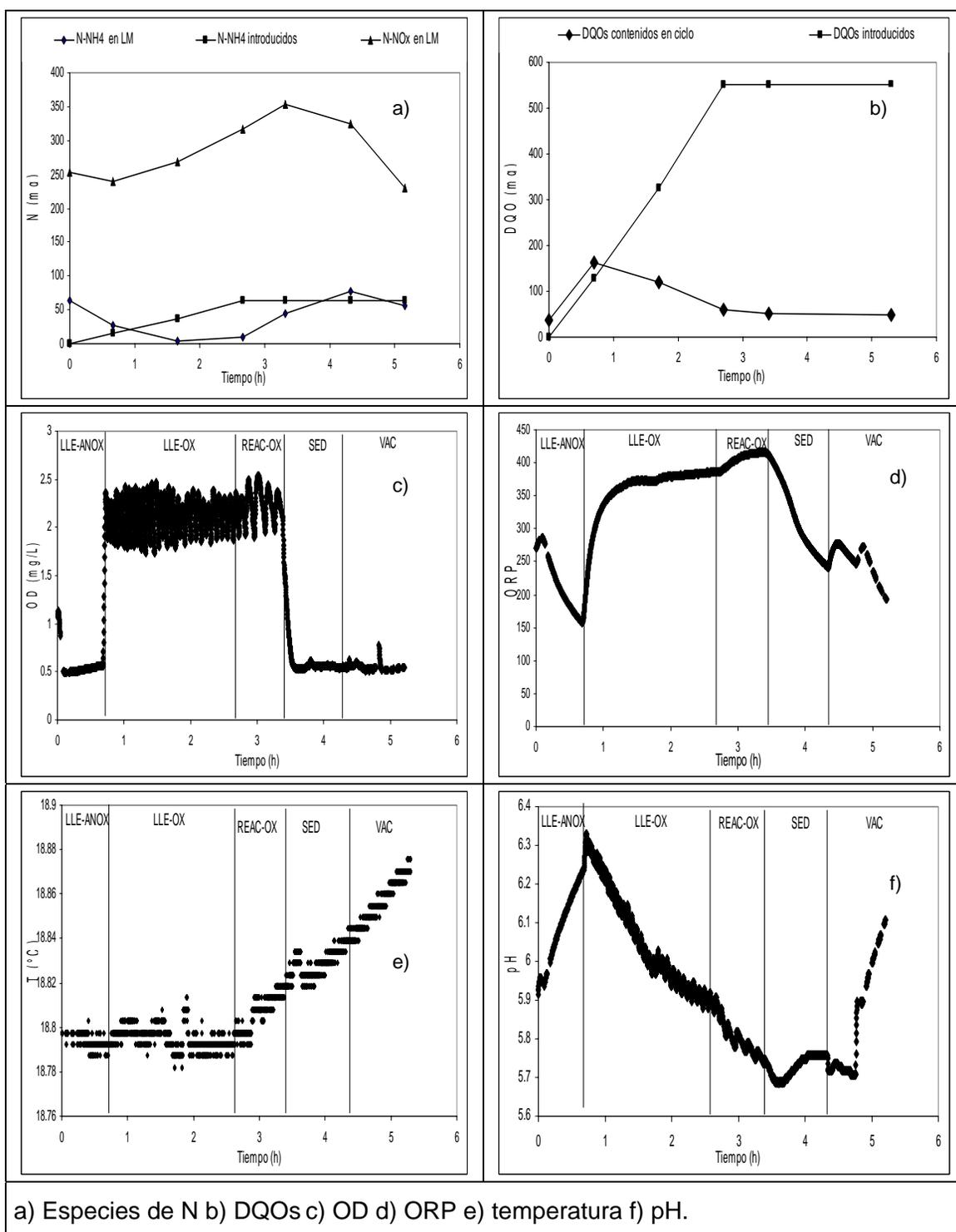


Figura 4.24. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 07 de octubre del 2008.

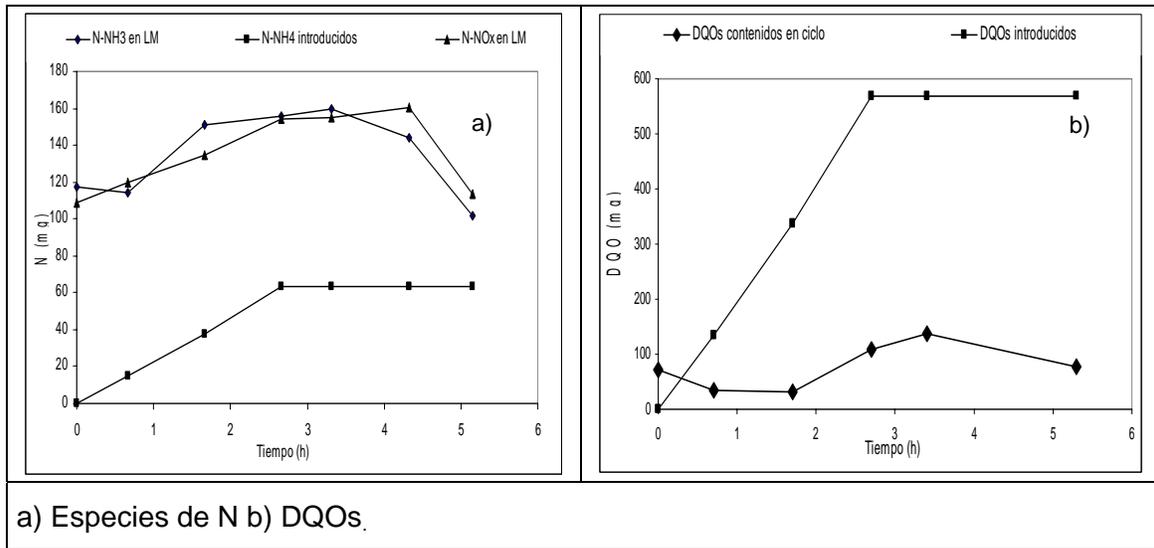


Figura 4.25. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 16 de octubre del 2008.

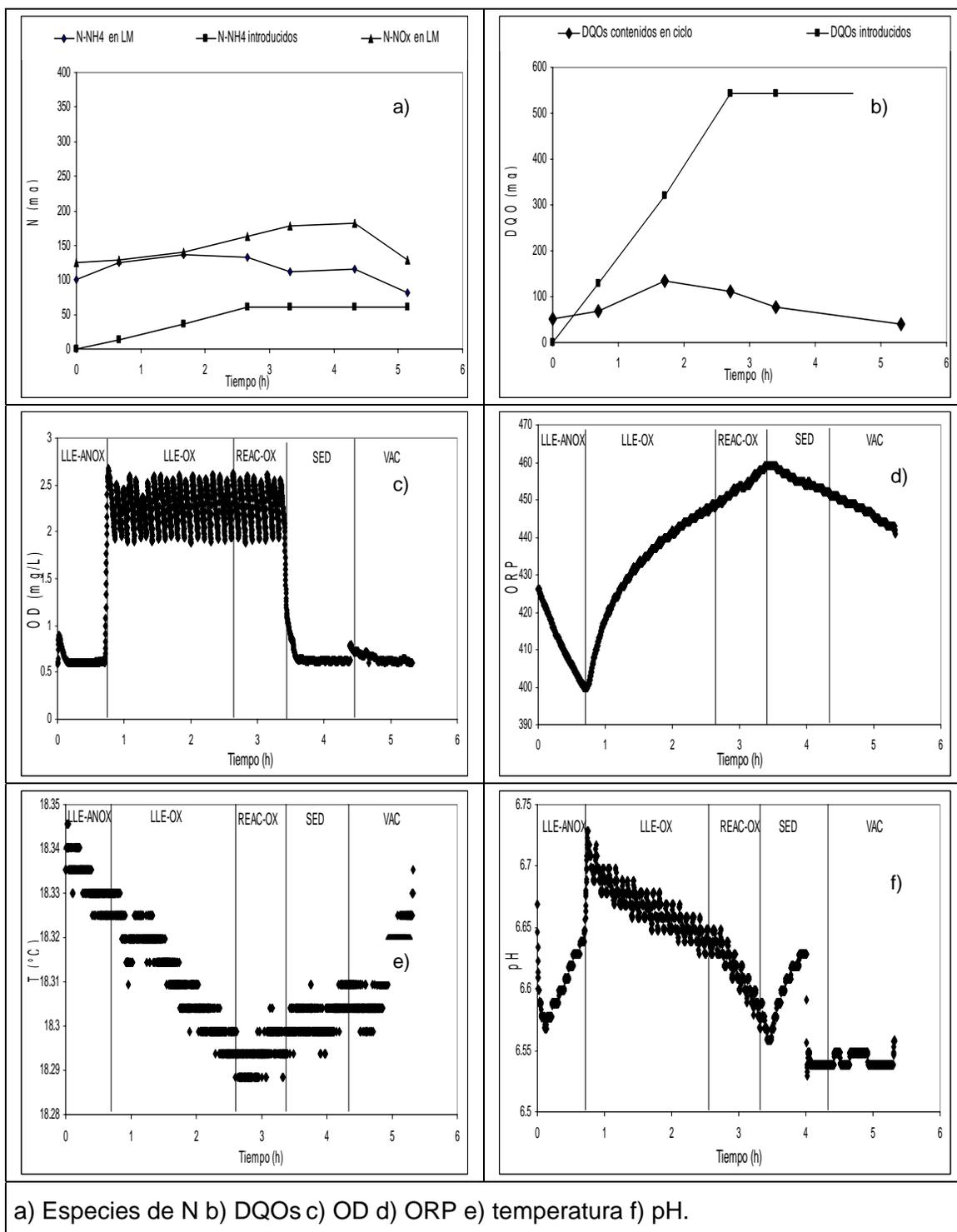


Figura 4.26. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 29 de octubre del 2008.

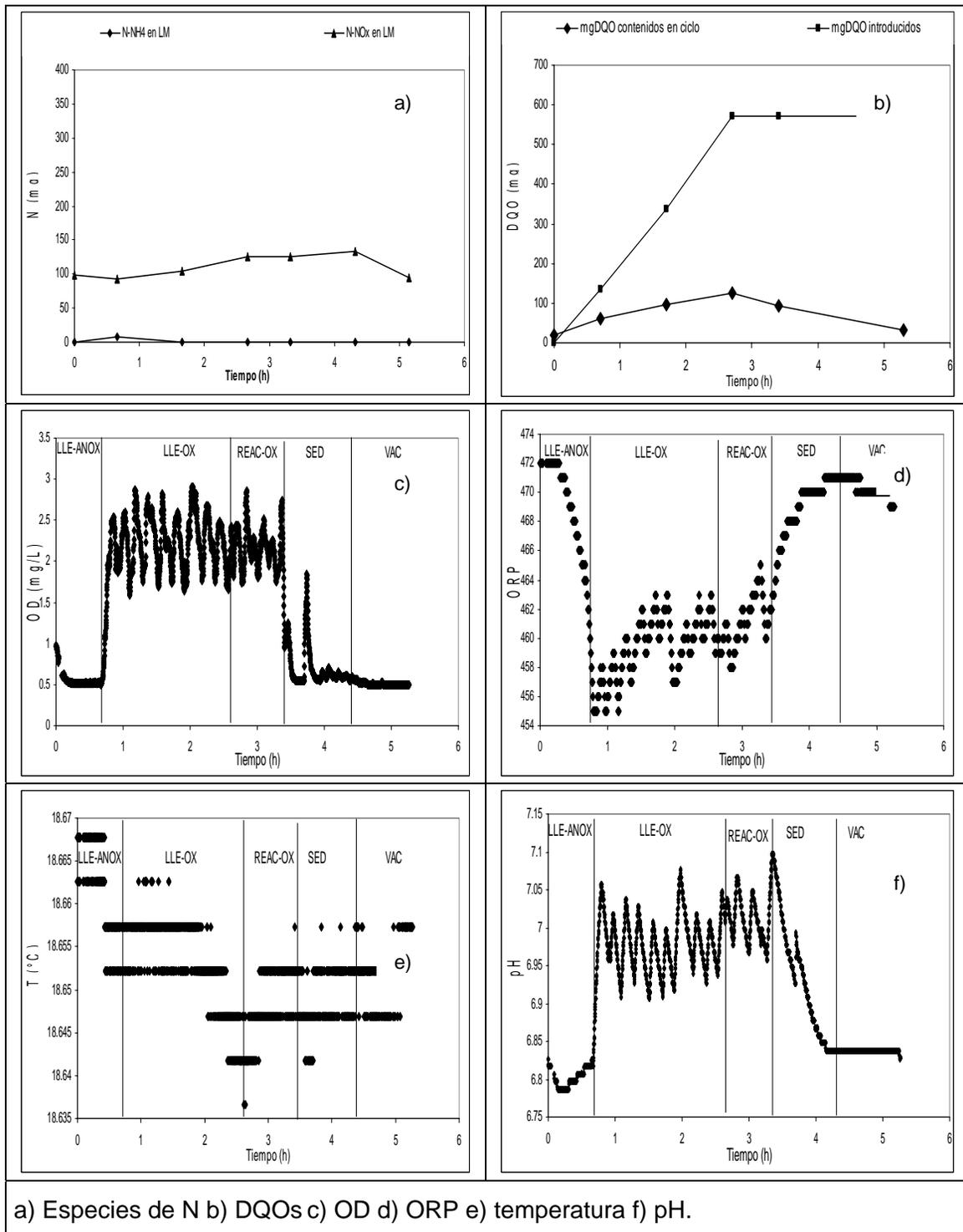


Figura 4.27. Evolución temporal del comportamiento del N, DQOs, OD, ORP, temperatura y pH del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al ciclo muestreado el día 14 de noviembre del 2008.



4.4.4.1 Análisis de las velocidades de nitrificación y desnitrificación del sistema alimentado con albúmina

La Tabla 4.21 muestra las VEN y VEDN en función de la concentración de SSVLM del sistema alimentado con albúmina en los cinco días de muestreo.

Tabla 4.21. Velocidades específicas de nitrificación y desnitrificación obtenidas en el sistema alimentado con albúmina de huevo.

Fecha	mg N/g SSVLM.h			
	VEN (LLE-OX)	VEN (REAC-OX)	VEDN (LLE-ANOX)	VEDN (SED)
18/09/2008	2.5	0.4	-1.1	0.5
07/10/2008	3.4	5.7	2	3
16/10/2008	0.4	0.2	-1.9	-0.6
29/10/2008	2.5	3	-0.5	-0.4
14/11/2008	0.5	-0.1	1.4	-0.9

VEN = velocidad específica de nitrificación

VEDN = velocidad específica de desnitrificación

En la Tabla 4.21 se puede observar que las VEN a diferencia de las obtenidas con los otros sistemas tuvieron una mayor variabilidad, y que igual que con los otros sustratos, la NT fué mayor en la fase de LLE-OX que en la de REAC-OX y para dicha fase, las VEN obtenidas los días 18 de septiembre, 7 y 29 de octubre fueron las comparables con la reportadas por Randall *et al.* (1992).

En cuanto al proceso de DN, en el apartado anterior se mostró que en la mayor parte del periodo experimental este proceso también fue deficiente. Sin embargo, es evidente observar que las VEN y VEDN fueron menores que las obtenidas con los SFB y el almidón en ambas fases del ciclo (LLE-ANOX y SED) y además, predominando valores negativos. Por lo tanto además del OD, la escasez del sustrato disponible, y tipo de sustrato, el N-NH₃ libre que predominó en este sistema, no pareció únicamente haber tenido un efecto negativo sobre el proceso de NT sino también sobre la DN. Además, la previa hidrólisis de la albúmina que favoreció DQOs al final de la fase de REAC-OX tampoco mejoró la actividad de los desnitrificantes en la fase de SED.

Los cálculos realizados para conocer el grado de inhibición por efecto del OD y por el sustrato, mostraron que sólo por efecto del OD presente en la fase de LLE-ANOX la VEDN se vio reducida para el 18 de septiembre en un 59%, 69% para el 7 de octubre, 76% el 29 de octubre y 73% el 14 de noviembre. Por la escasez del sustrato para los mismos días muestreados se vio reducida en un 50%, 20%, 37% y 40% respectivamente. Por tanto, el promedio de la acción conjunta del OD y el escaso sustrato disponible estarían reduciendo la VEDN en un 80% de su valor óptimo a lo largo de todo el periodo experimental.



Capítulo 5

Caracterización microbiológica del lodo activado en cada sistema evaluado

En este capítulo se presentan los resultados de la caracterización microbiológica del lodo activado de los cuatro sistemas de tratamiento evaluados en esta tesis. Dicha caracterización, incluye el análisis de los diferentes tipos de MF encontrados en el LM de cada sistema experimental. Se analiza la abundancia total y la frecuencia de aparición de cada tipo identificado. Además, se realiza un estudio de la evolución temporal de la microflora en cada sistema evaluado. Se establece la correlación entre el crecimiento de los MF y algunas variables fisicoquímicas como son OD, F/M, TRC, deficiencia de nutrientes, pH y contenido de nutrientes. De manera general, se realiza también un estudio de la microfauna del lodo activado y la estructura flocular

Finalmente se discute la actividad biológica del lodo activado a partir de la medida de la VCO, VECO, Y_{alm} y Y_{obs} para cada uno de los sustratos evaluados.

5.1 Análisis de la microflora y microfauna en cada sistema evaluado

5.1.1 Microflora del reactor biológico

La Tabla 5.1 muestra las abundancias medias y las variaciones para el total de MF encontrados durante todo el periodo experimental en cada uno de los sistemas evaluados. Recordar que el periodo de experimentación con los SFB fue alrededor de 1 mes y el periodo de experimentación con los SLB fue alrededor de 2 meses.



Tabla 5.1. Medias y desviaciones típicas de la abundancia de los MF del lodo activado en los cuatro sistemas evaluados.

	Longitud de filamentos	n	Media	Desviación estándar	Intervalo	
Acetato	m/ml	3	266	-	234	- 301
	m/g	3	9.7E+05	-	7.E+05	- 1.E+06
Sacarosa	m/m	2	773.3	-	760	- 787
	m/g	2	1.2E+06	-	1.E+06	- 1.E+06
Almidón	m/ml	10	138.8	88.4	42.7	- 293
	m/g	10	3.0E+05	2.9E+05	5.1E+04	- 9.E+05
Albúmina de huevo	m/ml	14	37.6	29.0	15.3	- 108
	m/g	14	6.1E+04	4.9E+04	1.82E+05	- 1.58E+04

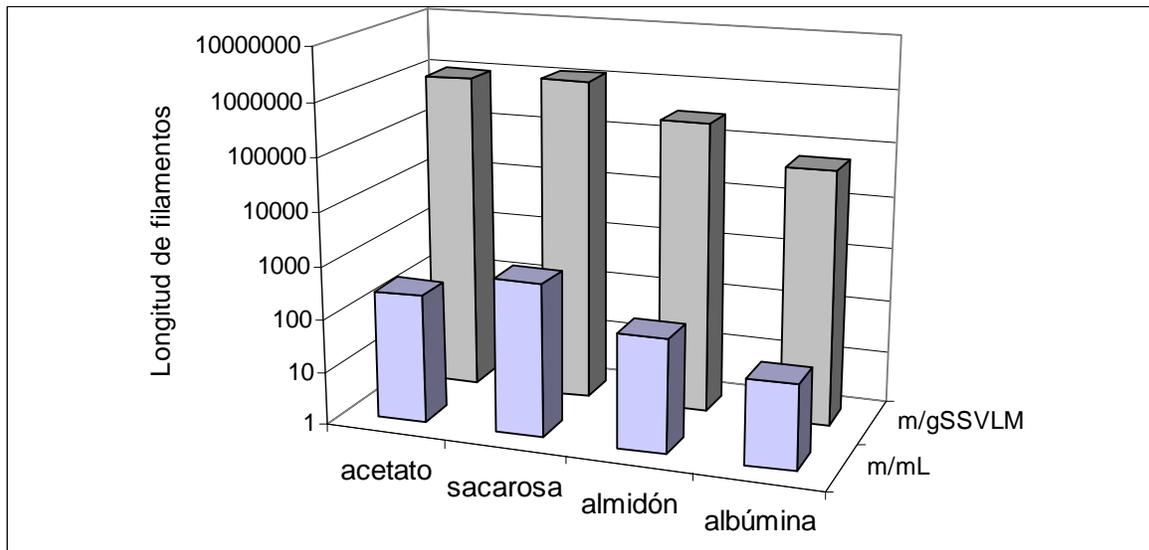


Figura 5.1. Abundancia de los MF en cada uno de los sistemas evaluados.

Como se puede apreciar en la Tabla 5.1 y en la Figura 5.1, el sistema alimentado con sacarosa fue el que presentó mayor abundancia de MF con 266 m/mL o 1.2E+06 m/g SSVLM en contraste con el sistema alimentado con albúmina que presentó una abundancia de 37.6 m/mL o 6.1E+04 m/g SSVLM. En la tabla también se observa que todos los sistemas evaluados presentaron valores de abundancia de MF superior a 25 m/mL. Según Salvado (1990), a partir de 25 m/mL se puede encontrar una cantidad considerable de filamentosos (IVL > 100 mL/g). Como se analizara más adelante, todos los sistemas presentaron valores de IVL por encima de los 100 mL/g y sin embargo, no todos los sistemas presentaron esponjamiento filamentoso (recordar que un lodo con IVL > 150 mL/g es característico por presentar esponjamiento filamentoso).



5.1.1.1 Evolución temporal de los MF

La Figura 5.2 presenta la evolución temporal de la abundancia de los MF a lo largo de cada periodo experimental con cada uno de los sustratos evaluados. En los gráficos a) y b) de la Figura 5.2 correspondientes a los sistemas alimentados con los SFB, se observa que los MF tendieron a aumentar su abundancia en el tiempo. De los sistemas alimentados con los SLB (c y d), el sistema con almidón presentó un aumento progresivo en la abundancia de los MF al mes de experimentación con este sustrato. Por el contrario, en el sistema alimentado con albúmina de huevo la abundancia de los MF permaneció constante durante gran parte del periodo experimental. Lo anterior posiblemente estuvo relacionado con la acumulación del N-NH_3 libre que se favoreció en este sistema, puesto que la menor abundancia de MF presentada, coincidió con el periodo en el cual la acumulación de N-NH_3 libre inhibió alrededor del 43% del proceso de NT (ver apartado 4.3.2). Además, en la Figura 5.2 (d) se observó un aumento en la abundancia de los MF una vez eliminado este efecto del sistema (últimas dos semanas de experimentación) indicando que posiblemente este fue un factor que sí limitó el crecimiento de los MF en el sistema. Por lo tanto, la acumulación de N-NH_3 no únicamente inhibió parte del proceso de NT y DN, sino también el desarrollo de los microorganismos predominantes en este sistema, los MF.

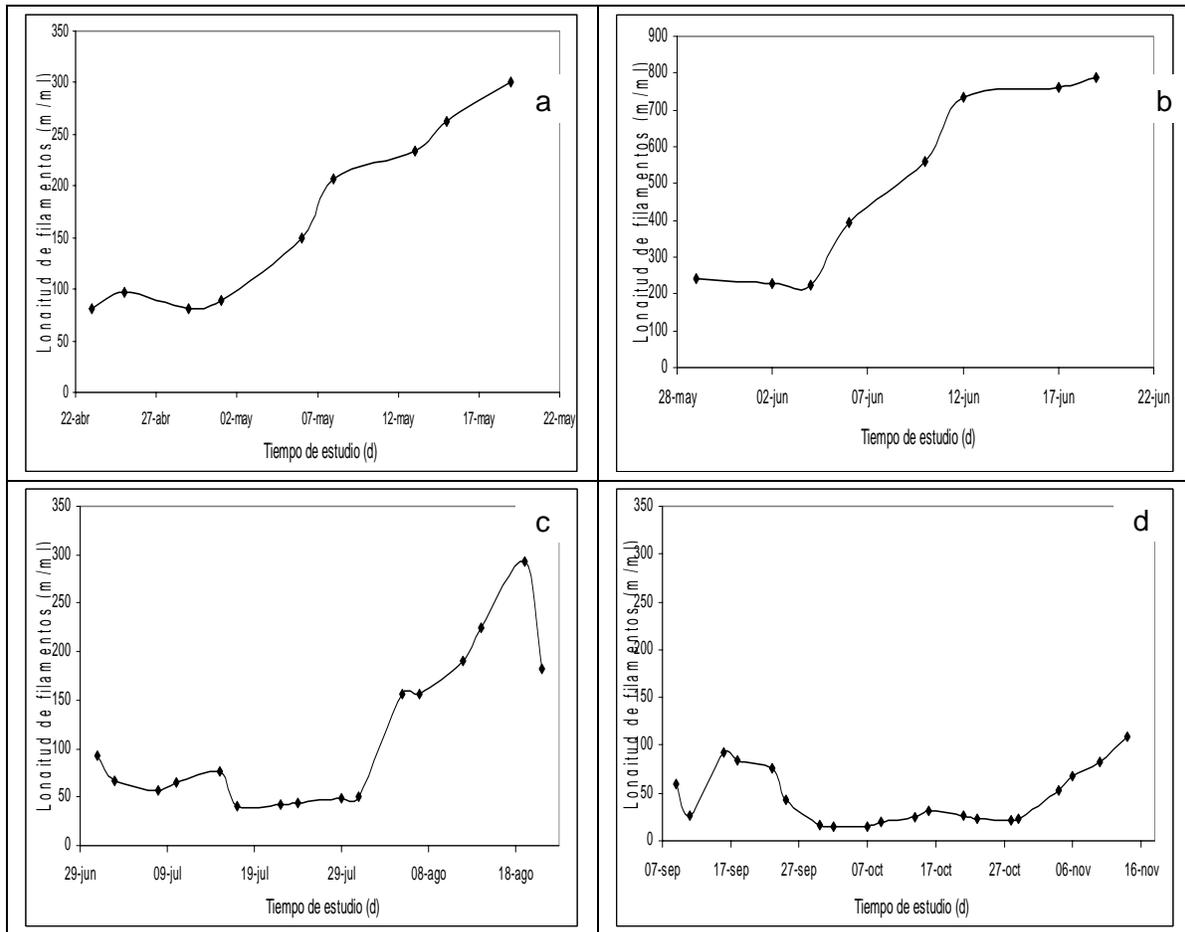


Figura 5.2. Evolución temporal de la abundancia de los MF a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

En el Capítulo anterior, se indicó que la concentración de DQO_{AF} mantenida en esta investigación (150 mg/L) favoreció ambientes con escaso sustrato disponible, lo que ocasionó la deficiente DN, el aumento de la F/M y la pérdida de SSVLM en todos los sistemas. Autores como Jenkins *et al.* (1993) y Eikelboom (2000) asocian como causas que favorecen el crecimiento de los MF, las bajas concentraciones de sustrato y además, que el sustrato sea fácilmente biodegradable. Cuando el sustrato en el sistema es escaso, los MF son capaces de extenderse fuera de los flóculos para acceder al sustrato, siendo este, su mecanismo de competencia sobre los FF ante tal condición. La capacidad que muestran los MF para predominar en estas condiciones, es debida según la teoría de la selección cinética (Chudoba *et al.* (1973a, 1973b, 1973c)), por presentar μ mayor a concentraciones bajas de sustrato por ser más afines a él (revisar apartado 2.6.2).

La Figura 5.3 presenta la estructura flocular predominante en cada sistema evaluado. Se puede apreciar que todos los sistemas presentaron crecimiento de MF fuera de los flóculos, mostrando los sistemas alimentados con los SFB la mayor abundancia. Situación

que como más adelante se analizará, ocasionó la producción de flóculos irregulares, débiles y poco compactos específicamente en los sistemas alimentados con los SFB.

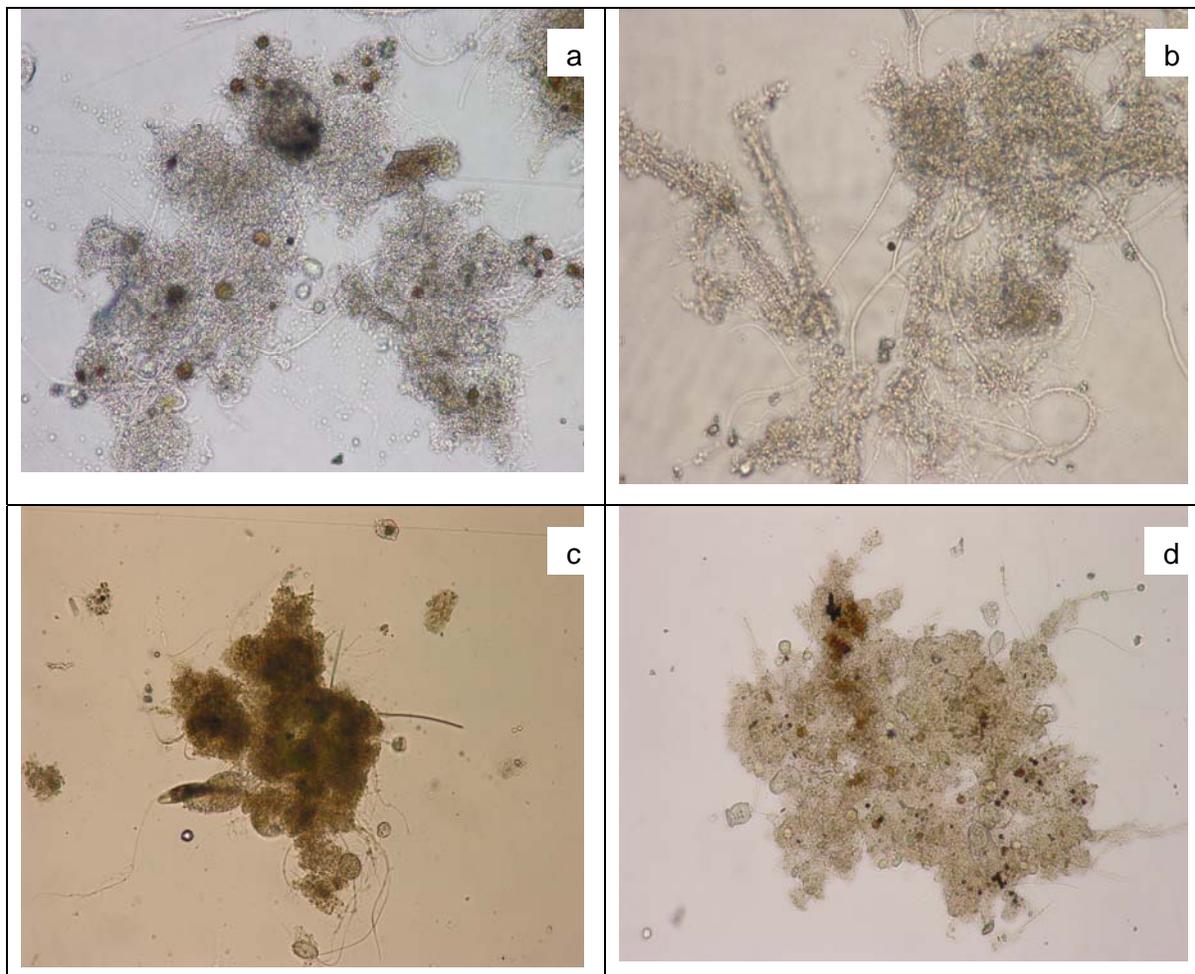


Figura 5.3. Fotografías en microscopio óptico del crecimiento de los MF fuera de la estructura flocular en cada uno de los sistemas evaluados a 400x a) acetato, b) sacarosa, c) almidón (100X), d) albúmina de huevo (200X).

En conclusión, la baja concentración de DQO_{AF} mantenida en esta tesis de maestría (150 mg/L) favoreció que predominaran en todos los sistemas, condiciones con escaso sustrato disponible que benefició el crecimiento de los MF, principalmente en los sistemas alimentados con los SFB. Esta diferencia de crecimiento de los MF pudo ser consecuencia de dos razones, 1) la hidrólisis del almidón y albúmina ocurren mayormente dentro de los flóculos del lodo activado (Karahan *et al.* 2006) y esto, favorece que los MF no tengan que crecer fuera del flóculo para acceder al sustrato y 2) al ser el almidón y la albúmina SLB que requirieron ser previamente hidrolizados, favoreció (como se observó en los perfiles de remoción de ambos sustratos en el capítulo anterior) concentraciones de sustrato residual soluble que pudieron ser aprovechadas por MF y FF.



Evolución temporal de la abundancia de filamentos y los SSVLM

La Figura 5.4 presenta la evolución temporal de la abundancia de los MF y los SSVLM a lo largo de cada periodo experimental con cada uno de los sustratos evaluados.

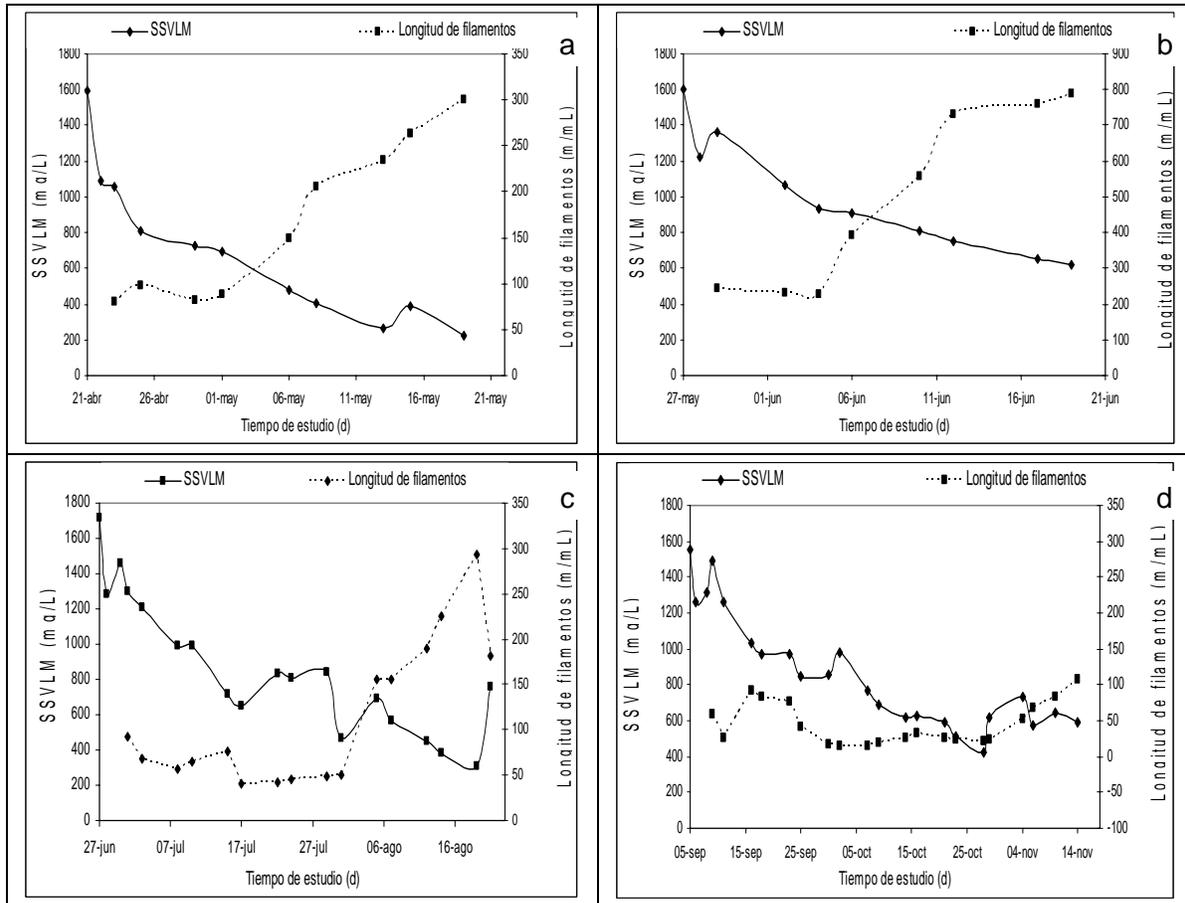


Figura 5.4. Evolución temporal de la abundancia de los MF y los SSVLM a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados, a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

En cada uno de los gráficos de la Figura 5.4 se observa que la concentración de SSVLM en los cuatro sistemas evaluados tendió a disminuir conforme aumentó la abundancia de los MF. La disminución de los SSVLM observable en todos los sistemas evaluados indicó que los sistemas no llegaron a una estabilidad (diferente a lo reportado por Ekama, 1986). Esta disminución de los SSVLM fue consecuencia del poco sustrato disponible para la biomasa presente en el reactor (ver apartado 4.3.4).

La pérdida de los SSVLM en los cuatro sistemas evaluados fue diferente. En la Figura 5.3 se puede notar que todos los sistemas arrancaron con una concentración inicial de SSVLM alrededor de 1600 mg/L y que el sistema con acetato, presentó la mayor pérdida de SSVLM puesto que al final de la experimentación, la concentración de biomasa en el reactor fue de 222 mg/L. Mientras que para el sistema con sacarosa y los sistemas con



los SLB, la concentración de biomasa en el reactor osciló alrededor de 600 mg/L (recordar que el periodo experimental con los SLB fue de dos meses).

En el Capítulo anterior se demostró que el sustrato más rápidamente asimilado por los microorganismos fue el acetato, tanto así, que para la fase de LLE-OX la concentración contenida de DQOs fue de 0.9 mg/L y por tanto, la mayor parte del ciclo los microorganismos se mantuvieron en un ambiente carente de sustrato o en metabolismo endógeno. Lo anterior, ocasionó una mayor disminución de SSVLM como consecuencia de la pérdida de los microorganismos que no resistieron estas condiciones. Además, cuando en un sistema predominan este tipo de condiciones (poco sustrato disponible), los microorganismos que predominan son aquellos capaces de competir por el sustrato disponible y en esta experimentación, fueron los MF. Quienes por presentar abundancias superiores a 20 m/mL en los cuatro sistemas evaluados, indicaron haber sido los microorganismos que resistieron las bajas concentraciones de sustrato y predominar en los sistemas. Así mismo, lo anterior refleja que los MF no únicamente son capaces de competir por los SFB, sino también por los SLB.

Según EMASESA (1997), la disminución de los SSVLM en un sistema con baja concentración de sustrato disponible, es debida a que el mecanismo que predomina es la acumulación de productos de reserva y no la síntesis de nueva biomasa. Lo anterior correlacionó con los valores de Y_{alm} y Y_{obs} obtenidos en esta experimentación. Como se analizará más adelante, los valores de Y_{alm} fueron superiores a los de Y_{obs} , indicando que este fue el mecanismo que posiblemente utilizaron los MF para predominar en los sistemas que presentaron esponjamiento filamentoso.

Evolución temporal de la abundancia de filamentos y la F/M

La Figura 5.5 presenta la evolución temporal de la abundancia de los MF y la F/M a lo largo de cada periodo experimental con cada uno de los sustratos evaluados.

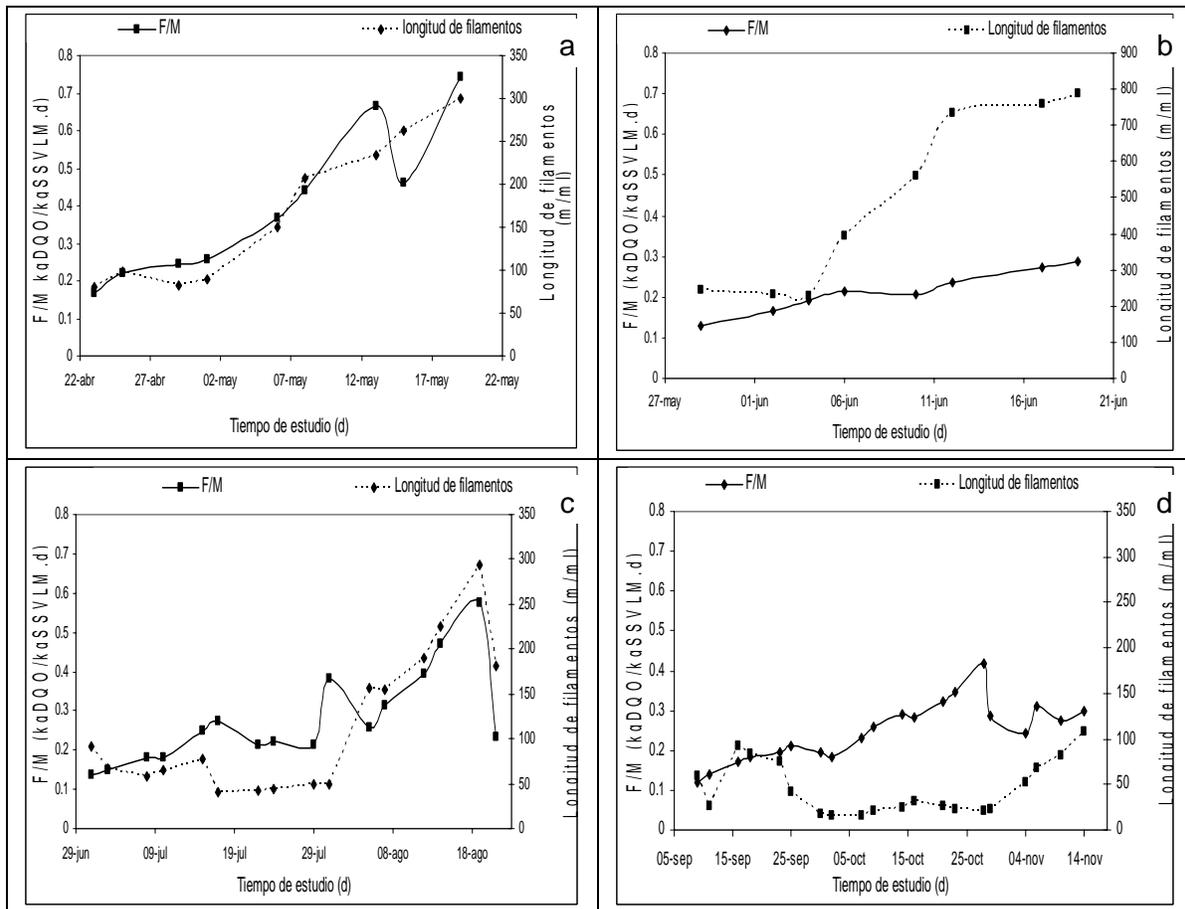


Figura 5.5. Evolución temporal de la abundancia de los MF y la F/M a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

En cada uno de los gráficos de la Figura 5.5 se observa que la F/M en los cuatro sistemas evaluados tendió a aumentar conforme aumentó la abundancia de los MF. El sistema alimentado con albúmina de huevo no siguió estrictamente este comportamiento. Aquí es necesario recordar que la disminución de la abundancia de los MF en este sistema se vio disminuida por el posible efecto negativo que causó el N-NH_3 libre. Por tanto, si esta inhibición no hubiera predominado en el sistema, probablemente se observaría el mismo comportamiento que tuvieron ambos parámetros con los otros sistemas.

Los valores medios de F/M (Tabla 4.14) mostraron que el sistema con acetato fue el que presentó el mayor aumento de la F/M ($0.7 \text{ kg DQO} / (\text{kg SSVLM} \cdot \text{d})$). Lo anterior, como se indicó en el apartado 4.3.4, fue consecuencia de la mayor pérdida de SSVLM que presentó este sistema. Ello debido a que los SSVLM fueron disminuyendo mientras la carga de sustrato siguió constante (150 mg/L).

Una vez alcanzado un valor de F/M constante en los sistemas evaluados, se podría afirmar que la concentración de sustrato es suficiente para mantener a la biomasa presente en el reactor y por tanto, no habrá pérdida de SSVLM y el sistema habrá llegado



a una estabilidad. Lo anterior, posiblemente sí se haya logrado únicamente en el sistema alimentado con albúmina, puesto que al final del periodo experimental la concentración de SSVLM se mantuvo alrededor de 600 mg/L (Figura 5.4 d) y la F/M varió entre 0.29 – 0.31 kg DQO/ (kg SSVLM.d) (Figura 5.5 d).

Efecto de la abundancia de los MF sobre el IVL

La Figura 5.6 presenta el efecto de la abundancia de los MF sobre el IVL a lo largo de cada periodo experimental con cada uno de los sustratos evaluados.

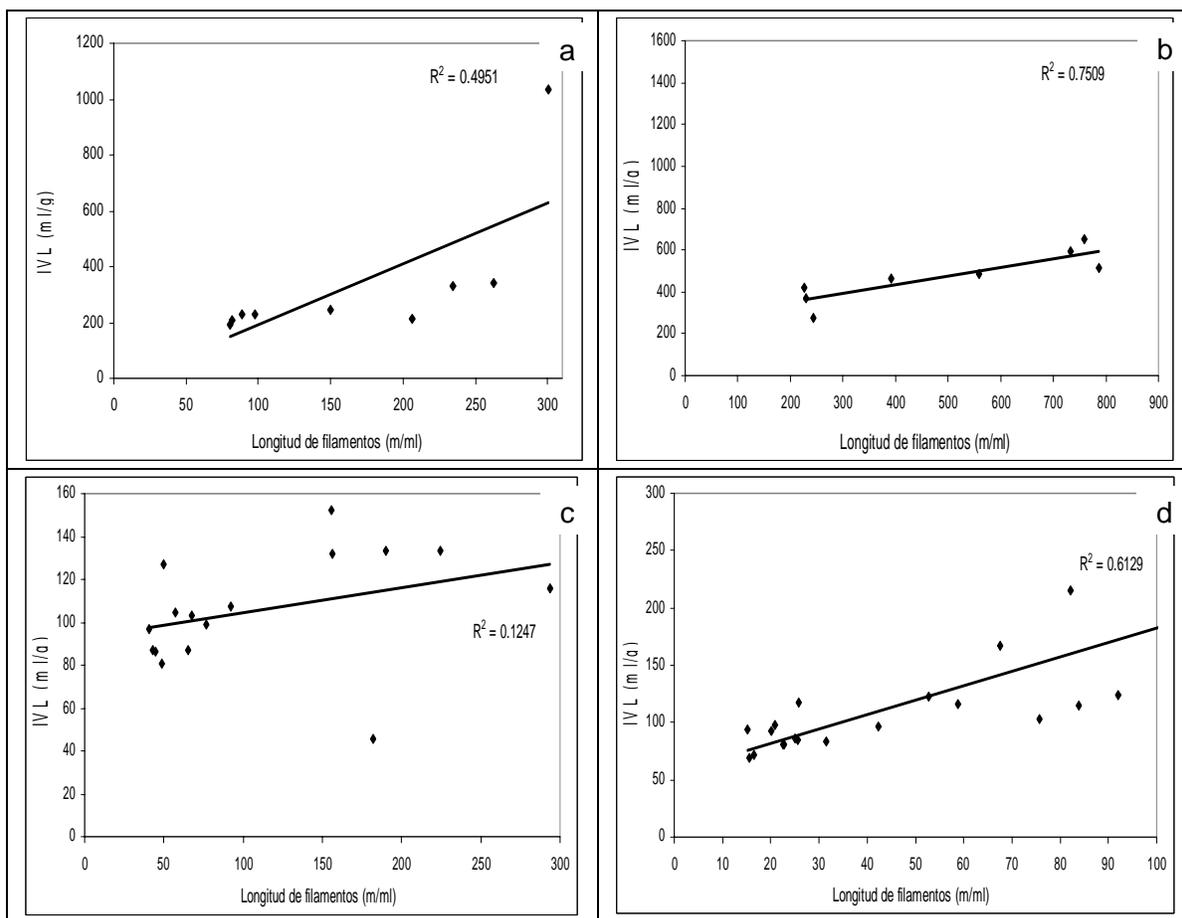


Figura 5.6. Efecto de la longitud de filamentos sobre el IVL para cada uno de los sustratos evaluados, a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

Como se observa en la Figura 5.6, hubo una correlación positiva entre la abundancia de los MF y el IVL en los cuatro sistemas evaluados. Sin embargo, la mayor correlación entre ambos parámetros fue para los sistemas alimentados con sacarosa ($R^2 = 0.75$) y para el sistema con albúmina ($R^2 = 0.61$) indicando que a medida que incrementó la abundancia de los MF, aumentó el IVL (el grado de esponjamiento del lodo). La correlación positiva que se da entre ambos parámetros es debida a que el IVL representa el grado de



compactación de los flóculos del lodo activado. Un crecimiento excesivo de los MF fuera del floculo, condicionará su grado de compactación llegándose a obtener valores elevados de IVL a medida que los MF aumentan. Un IVL entre 75 – 125 mL/g es característico de un lodo constituido por flóculos compactos y resistentes. Mientras que un lodo que presente IVL mayor 150 mL/g es característico por mostrar flóculos de estructura abierta poco compactos y, mostrando un grado de sedimentación escaso (Jenkins *et al.* 1993).

La Tabla 5.2 presenta los valores medios, las desviaciones estándar y los intervalos de IVL en cada uno de los sistemas evaluados. En esta, se puede observar que los sistemas alimentados con los SFB presentaron valores medios de IVL superiores a 150 mL/g. Estos valores fueron 335 y 471 mL/g para el acetato y la sacarosa respectivamente. Aunque lo anterior indica que el sistema con sacarosa fue el que presentó el mayor esponjamiento, en la Figura 5.6 se observa que el sistema con acetato presentó un IVL por encima de 1000 mL/g, mientras que el IVL para la sacarosa no llegó a ser superior de 651 mL/g. Por lo tanto, el sistema con acetato fue el que presentó el mayor esponjamiento. Lo anterior fue debido a que en la mayor parte del ciclo, los microorganismos se mantuvieron en un ambiente carente de sustrato o en metabolismo endógeno (ver apartado 4.4.1) donde los MF compitieron eficientemente por el sustrato disponible aumentando su abundancia.

En relación a los sistemas con los SLB, se observa que el sistema con almidón, fue el único que no mostró esponjamiento al presentar valores de IVL que oscilaron entre 45 – 152 mL/g. Por el contrario, los IVL para el sistema con albúmina fluctuaron entre 68 – 257 mL/g. Sin embargo, no se descarta que estos sistemas durante algunos días de experimentación, (ver gráficos c) y d) Figura 5.6) presentaron el problema de *pinc floc* por presentar IVL menor de 75 mL/g, y como se observa en los gráficos, no fue el problema dominante.

Tabla 5.2. Valores medios de IVL en cada uno de los sistemas evaluados.

	mL/g			
	n	Media	Desviación estándar	Intervalo
Acetato	9	335	266	193 - 1033
Sacarosa	8	471	119	274 - 651
Almidón	16	105	26	45 - 152
Albúmina de huevo	20	113	48	68 - 257

La Figura 5.7 muestra la escasa compactación del lodo en el sistema con acetato en comparación con el sistema que no presentó esponjamiento, el almidón.

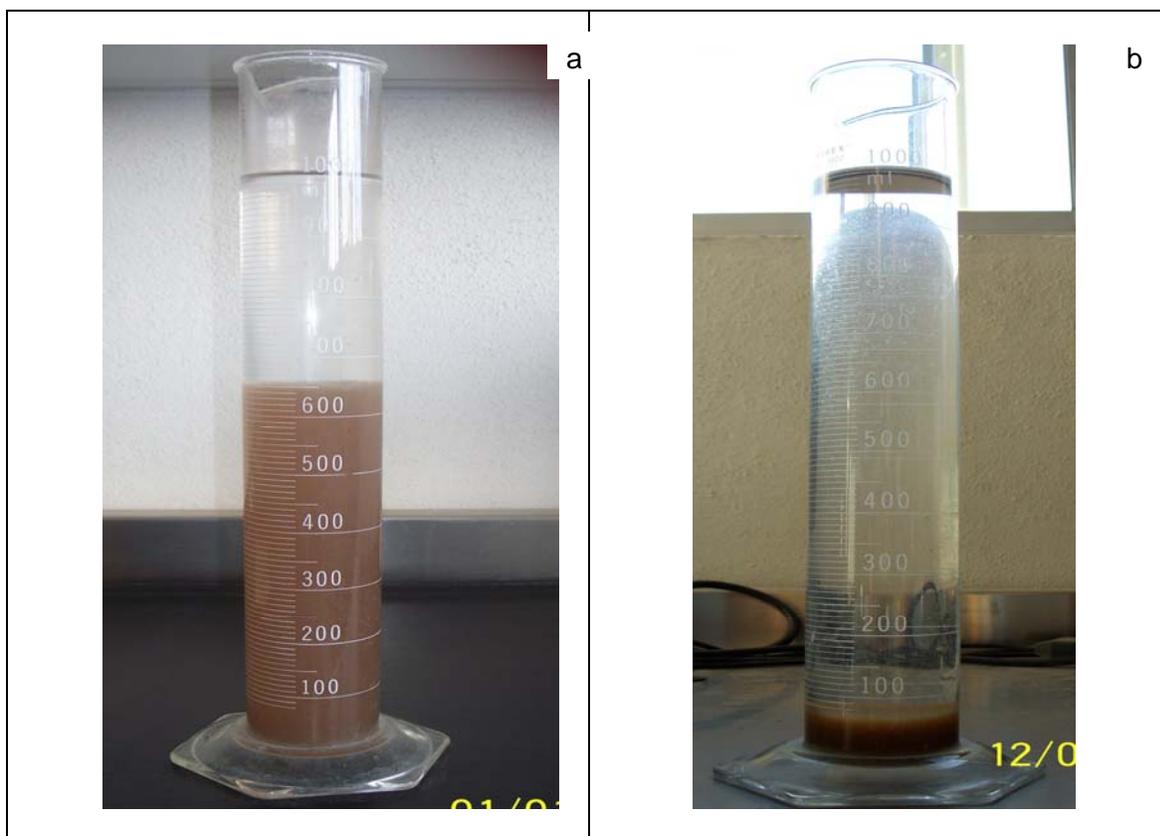


Figura 5.7. Compactación del lodo en el sistema a) acetato (lodo esponjado), b) almidón.

En conclusión, los sistemas alimentados con acetato, sacarosa y albúmina presentaron esponjamiento filamentosos y como se analizará más adelante, también afectó en las características que presentaron los flóculos en estos sistemas, en especial con los SFB donde el esponjamiento fue mayor. Además, el tipo de sustrato sí influyó en el grado de esponjamiento que presentó cada sistema puesto que todos fueron evaluados bajo las mismas condiciones ($DQO_{AF} = 150 \text{ mg/L}$, $OD = 2 \text{ mg/L}$, $TRC = 11 \text{ d}$).

Evolución temporal del IVL y los SSVLM

En la Figura 5.8 se presenta la evolución temporal del IVL y los SSVLM a lo largo de cada periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados. Como ya se presentó anteriormente, la concentración de SSVLM disminuyó en el tiempo en todos los casos estudiados, mientras que el IVL se mantuvo más o menos constante con una tendencia a aumentar hacia el final de cada periodo de estudio.

Los resultados obtenidos en esta tesis se compararon con los reportados por Gulez (2005) en cuanto al efecto del acetato y la sacarosa sobre los MF. Gulez (2005) encontró un aumento del IVL alrededor de los 1000 mL/g para el acetato y desde 200 a 2500 mL/g para la sacarosa, mientras que en esta experimentación, valores de IVL hasta 1033 mL/g para el acetato y 651 mL/g para la sacarosa fueron alcanzados. Con el aumento del IVL, Gulez (2005) reportó una disminución de los SSVLM hasta concentraciones de 200 mg/L



en ambos sustratos y los encontrados en esta experimentación fueron de 222 mg/L y 600 mg/L para el acetato y sacarosa respectivamente.

Por otro lado, Puigagut *et al.* (2007) quienes evaluaron el efecto del almidón sobre la microfauna del lodo activado utilizando agua residual municipal prefloculada, encontraron que el IVL para el sistema alimentado con almidón vario alrededor de los 45 mL/g, mientras que en esta experimentación el IVL varió entre 45 – 152 mL/g. Aunque en ninguno de los casos el almidón favoreció esponjamiento, la diferencia del valor en esta investigación con la reportada por Puigagut *et al.* (2007), posiblemente sea debido a que en esta tesis el almidón fue la única fuente de carbono, limitando de esta forma, que los microorganismos obtuvieran energía de otros sustratos.

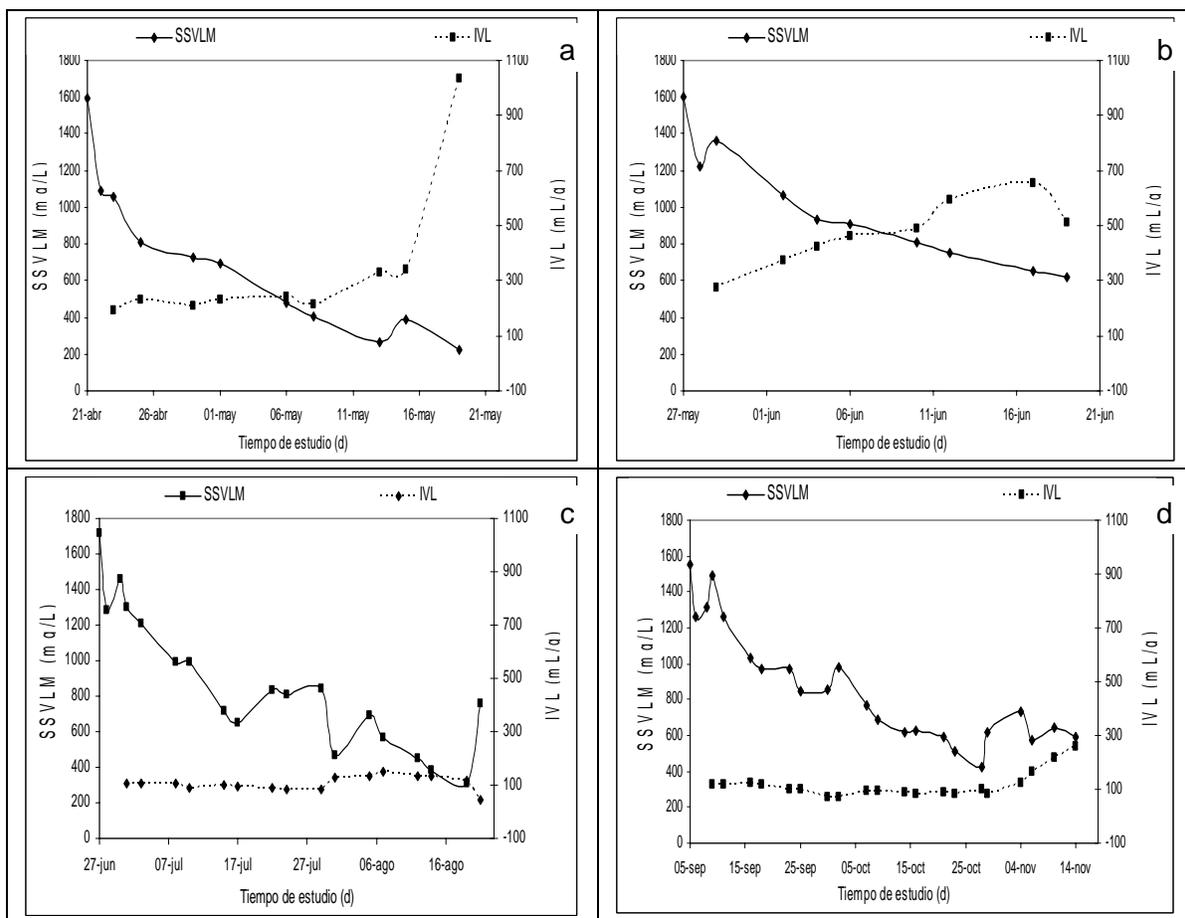


Figura 5.8. Evolución temporal de la abundancia del IVL y los SSVLM a lo largo del periodo experimental con cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.



5.1.1.2 Frecuencia de los diferentes tipos de MF del lodo activado

En las Figura 5.9 se presentan los principales tipos de MF encontrados para los sistemas alimentados con acetato, sacarosa, almidón y albúmina de huevo. Así mismo, se presenta la frecuencia de aparición de cada tipo de MF en cada uno de los sistemas evaluados.

En el sistema alimentado con acetato, los principales grupos de MF fueron el Tipo 1701 (88%), *Thiothrix* (33%), *Nostocoida limicola* (55%) y *Sphaerotilus natans* (11%). El sistema con sacarosa presentó a *S. natans* (100%), Tipo 1701 (87%), *Thiothrix* (37%) y *N. limicola* (62%). El sistema con almidón presentó a *S. natans* (75%), Tipo 1701 (87%), *Thiothrix* (37%) y *N. limicola* (43%). El sistema con albúmina de huevo presentó a Tipo 0041 (90%), *Haliscomenobacter hydrossis* (85%), Tipo 0803 (70%) y *N. limicola* (30%).

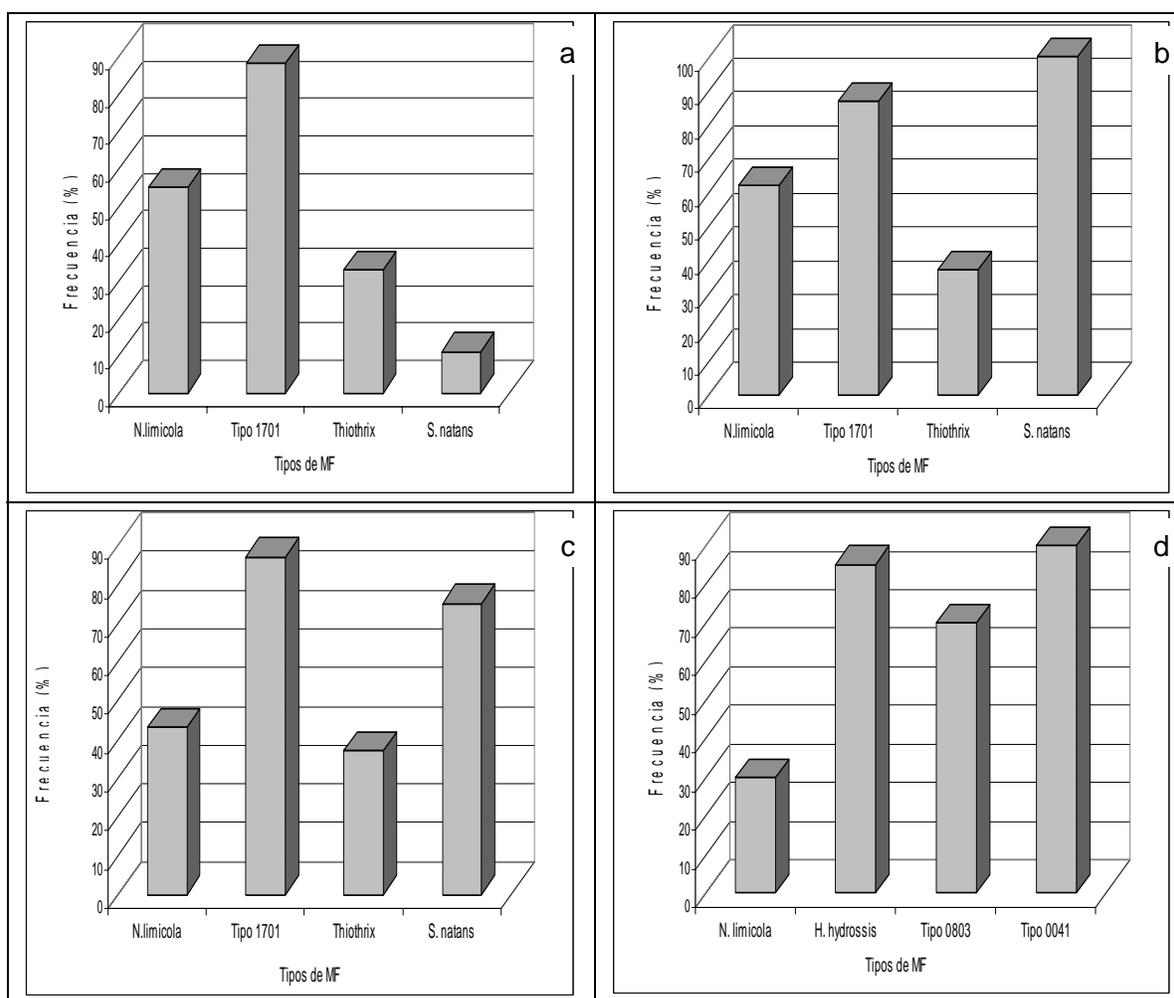


Figura 5.9. Frecuencia de aparición de los MF encontrados en cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

En resumen, se observa que en los sistemas alimentados con los SFB y el sistema con almidón, se encontraron los mismos tipos de MF representativos: Tipo 1701 y *N. limicola*.



S. natans únicamente fue representativo en los sistemas alimentados con sacarosa y almidón. En el sistema alimentado con albúmina los MF representativos fueron: Tipo 0041, *H. hydrossis* y Tipo 0803.

La Tabla 5.3 presenta una recopilación bibliográfica de diferentes tipos de MF reportados en función del tipo de sustrato utilizado. Como se puede observar, en sustratos como el acetato, sacarosa y almidón fueron reportados algunos o varios de los siguientes MF como predominantes: *S. natans*, *N. limicola* y *Thiothrix*. Al comparar estos resultados con los obtenidos en esta experimentación notamos que son similares, ya que *S. natans* fue el MF predominante con los sistemas alimentados con sacarosa y almidón, y para el sistema con acetato fueron 1701 y *Thiothrix*. Siendo *S. natans* uno de los MF más reportados en la mayoría de estos estudios. Estos resultados son comparables en la presente tesis.

Tabla 5.3. MF predominantes en función del tipo de sustrato empleado y reportados en la bibliografía.

Tipo de agua residual	Tipo de MF predominante	Referencia
Agua residual prefloculada con almidón	<i>S. natans</i>	Puigagut <i>et al.</i> (2007)
Agua residual sintética con sacarosa	<i>S. natans</i>	Gulez (2005)
Agua residual sintética con acetato	<i>S. natans</i>	Gulez (2005)
Agua residual sintética con acetato	Tipo 021N	Beccari <i>et al.</i> (1998)
Azúcares y almidón soluble	<i>S. natans</i> , Tipo 1701, <i>N. limicola</i> y Tipo 1851	Jenkins <i>et al.</i> (1993)
Acetato	Tipo 021N, <i>Thiothrix</i> , Tipo 0914 y <i>N. limicola</i>	Jenkins <i>et al.</i> (1993)
Agua residual sintética con acetato	Tipo 021N y <i>S. natans</i>	Wanner and Novak, 1990

Para el sistema con albúmina de huevo no se realizó una comparativa ya que hasta el momento, no ha habido un estudio que permita relacionar los MF predominantes cuando esta ha sido la única fuente de carbono.



En el Capítulo 2 se discutieron algunos mecanismos que se han planteado para explicar los motivos que favorecen que los MF predominen sobre los FF. Sin embargo, diversos autores (Eikelboom, 2000; Lee, 1996; Jenkins *et al.*, 1993) han relacionado la aparición de estos, con algunas causas asociadas a problemas de operación en las PTAR, como son: bajas concentraciones de OD, deficiencia de nutrientes (N y P), pH, temperatura, baja F/M, el TRC y la naturaleza del tipo de sustrato orgánico, soluble o particulado.

A continuación, se tratará de relacionar la aparición de los MF predominantes en los sistemas evaluados con las condiciones experimentales favorecidas en el RBS.

Anteriormente se comentó que el crecimiento de MF como *S. natans*, *N. limicola*, *Thiothrix*, Tipo 1701 y *H. hydrossis* se ven favorecidos por SFB y además *S. natans*, *N. limicola*, Tipo 1701 y Tipo 0041 se ven favorecidos por SLB. Eikelboom (2000) mencionó que estos mismos MF pueden encontrarse también con relaciones F/M superiores a 0.2 kg DBO/(kg SSVLM.d) (ver Tabla 2.3). En los cuatro sistemas evaluados los valores de F/M tendieron a aumentar por encima de este valor por la pérdida de los SSVLM, por tanto, esto podría explicar la predominancia de estos MF en estas condiciones.

S. natans y *Thiothrix* se han relacionado con bajas concentraciones de OD. Wilen y Balmer (1999) quienes probaron el efecto del OD sobre los flóculos, reportaron que cuando el reactor fue operado con concentraciones de OD de 2 mg/L, predominaron flóculos grandes y regulares, mientras que cuando las concentraciones de OD fueron de 0.5 mg/L, predominaron flóculos porosos e irregulares con crecimiento de *S. natans* y *Thiothrix*. En el capítulo anterior se demostró que en ninguno de los sistemas evaluados hubo una deficiencia de OD, e incluso por tal motivo, el proceso de DN fue deficiente, por lo tanto, no se puede atribuir que el OD haya tenido una relación directa con la aparición de estos microorganismos y por tanto, es necesario considerar otras posibles causas de su aparición.

La deficiencia de nutrientes (N y P) parece también estar relacionada con la aparición de determinados tipos de MF como lo son *Thiothrix* y Tipo 0041. Sin embargo, esta deficiencia no predominó en los sistemas evaluados, ya que el Tipo 0041 tuvo la mayor frecuencia de aparición en el sistema con albúmina de huevo (97%) y en el cual la concentración de N-NH₄⁺ afluente llegó a elevarse hasta 34 mg N-NH₄⁺/L (considerando el NOA de la albúmina). Además, las características del afluente en cuanto al contenido de N y P en los cuatro sistemas, fueron propias de un agua residual urbana (Metcalf y Eddy, 1996).

Como se menciona anteriormente, el TRC también es otro de los factores que influyen en la aparición de algunos MF. De lo anterior, *Thiothrix*, *H. hydrossis*, Tipo 1701, Tipo 0041 y Tipo 0803, se sabe que predominan cuando el TRC es superior a 10 días. Por lo tanto, si en esta experimentación el TRC se mantuvo en 11 días, se puede indicar que el TRC posiblemente sí pudo causar la aparición de estos MF.

La temperatura y el pH son otros factores que también influyen en la aparición de algunos MF, sin embargo, en el Capítulo anterior se mostró que la temperatura mantenida en esta experimentación no favoreció el desarrollo de los MF. Los MF suelen crecer a temperaturas superiores a 25°C y en esta experimentación, la temperatura a lo largo de todo el periodo experimental osciló entre 18 – 19°C. En relación al pH, Jenkins *et al.*



(1993) relaciona que pH inferiores a 6 pueden favorecer el crecimiento de hongos en el LM. El pH mantenido en los sistemas evaluados fue alrededor de 6.5 y en el caso del sistema con albúmina, pH inferiores a 6 fueron medidos. Por lo tanto, aunque bajos valores de pH fueron mantenidos en los sistemas, esto no pareció haber tenido una influencia negativa en el desarrollo de los MF puesto que fueron los predominantes.

En conclusión, el tipo de sustrato, valores de F/M superiores a 0.2 kg DBO/(kg SSVLM.d) y el TRC parecen ser factores que sí influyeron en la frecuencia de aparición de los MF encontrados en los sustratos evaluados. La Tabla 5.4 resume los posibles factores que favorecieron el desarrollo de los MF encontrados en los cuatro sistemas evaluados.

Tabla 5.4 Factores que favorecieron el desarrollo de los diferentes MF encontrados en los cuatro sistemas evaluados en esta investigación.

Factor	Tipo de MF
SFB	<i>S. natans</i> , <i>H. hydrossis</i> , <i>N. limicola</i> y Tipo 1701
SLB	<i>S. natans</i> , <i>N. limicola</i> , Tipo 1701 y Tipo 0041
F/M > 0.2	<i>S. natans</i> , <i>H. hydrossis</i> , <i>Thiothrix</i> y Tipo 1701
TRC > 10 d	<i>H. hydrossis</i> , <i>Thiothrix</i> , Tipo 1701 y Tipo 0041

Gabb *et al.* (1999) reportaron que *S. natans* tiene la capacidad de crecer y adherirse a las paredes del reactor. Lo anterior coincidió con la formación de una capa de biomasa adherida a las paredes del RBS y la cual estuvo relacionada con el crecimiento de *S. natans*. Lo anterior se confirmó con las observaciones microscópicas, las cuales mostraron el crecimiento en forma de "árbol" característico de *S. natans*, lo que le proporciona habilidad de adherirse a una superficie. El crecimiento adherido de *S. natans* se hizo más evidente en los sistemas con sacarosa y almidón donde su frecuencia de aparición fue de 100 y 75% respectiva.

La Figura 5.10 presenta el crecimiento de *S. natans* en las paredes del RBS cuando el sistema fue alimentado con almidón. Se muestra también una fotografía del reactor cuando no hubo crecimiento de *S. natans* (sistema con albúmina de huevo). Lo anterior para observar la diferencia del crecimiento de *S. natans* en las paredes del RBS.

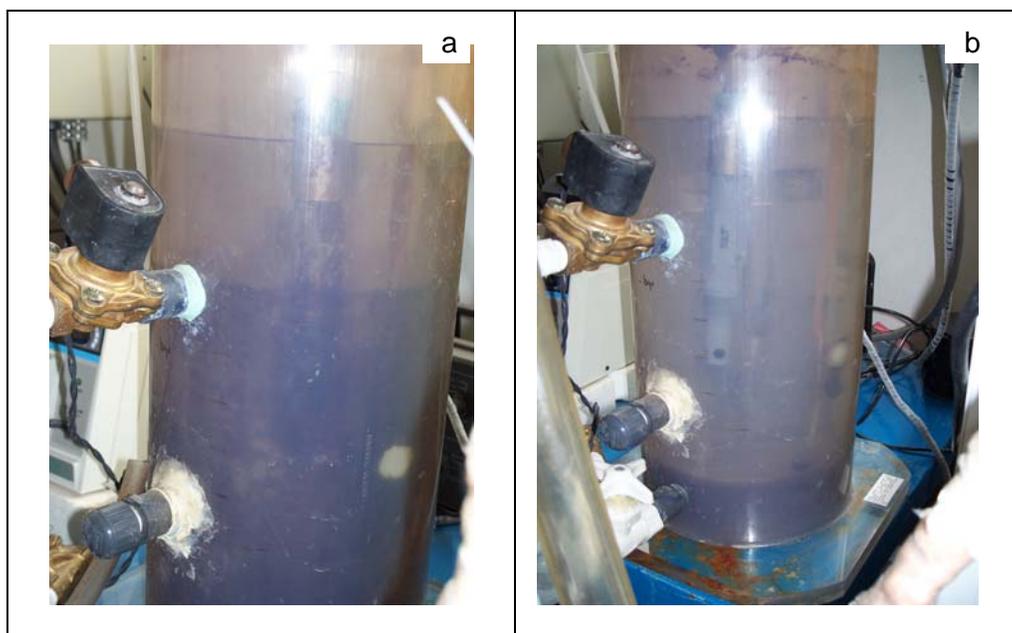


Figura 5.10. Comparación del crecimiento adherido de *S. natans* en las paredes del RBS a) sistema con almidón, b) sistema con albúmina de huevo.

5.1.1.3 Fotografías de los diferentes tipos de MF del lodo activado

Con el fin de ilustrar gráficamente algunos de los aspectos estructurales de los tipos de MF representativos del lodo estudiado, se presentan algunas fotografías tomadas en el Laboratorio de la PTAR-I. Estas fotografías corresponden a los MF encontrados en el lodo activado de los cuatro sistemas evaluados.

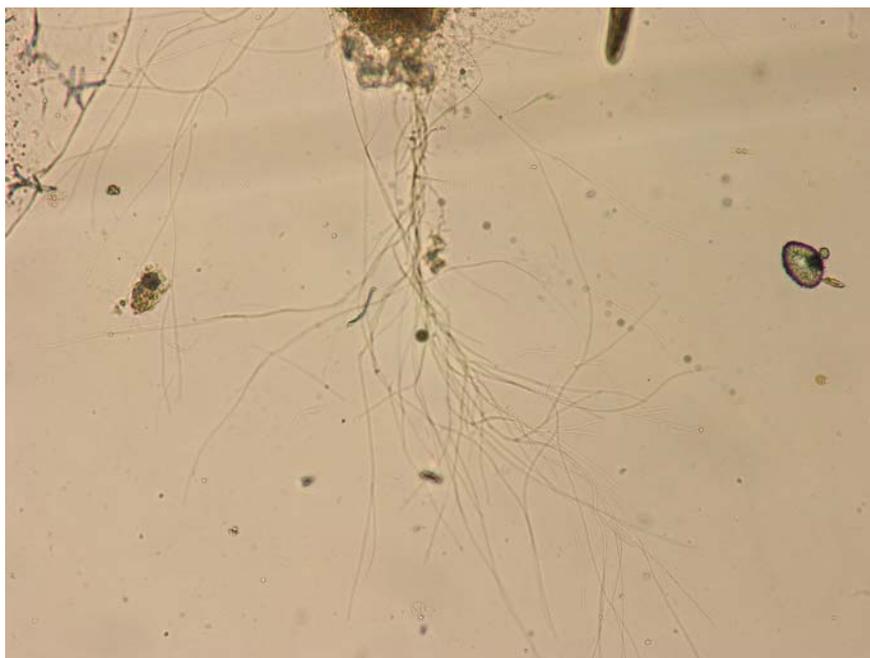


Figura 5.11. Fotografía en microscopio óptico del MF *Sphaerotilus natans* con apariencia de ramas de "árbol". MF predominante en los sistemas con sacarosa y almidón (200X).

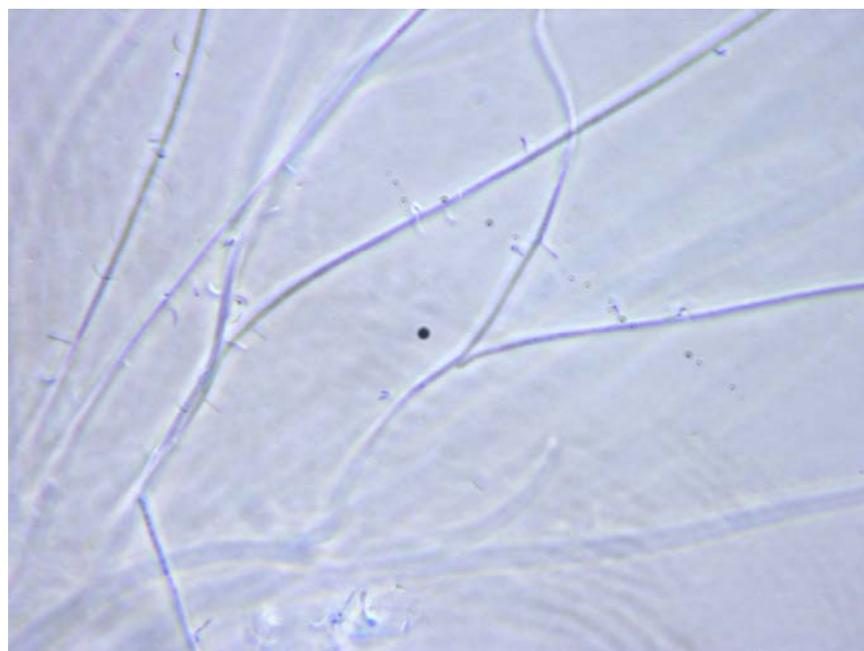


Figura 5.12. Fotografía en contraste de fases del MF *Sphaerotilus natans* con ramificación falsa. MF predominante en los sistemas con sacarosa y almidón (1000X).

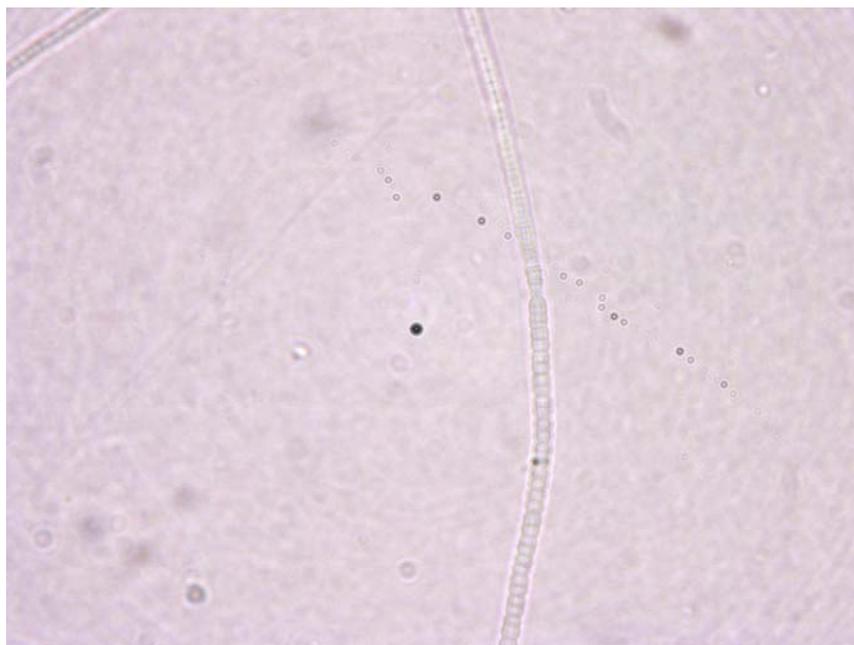


Figura 5.13. Fotografía en contraste de fases del MF *Nostocoida limicola*. MF predominante en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).

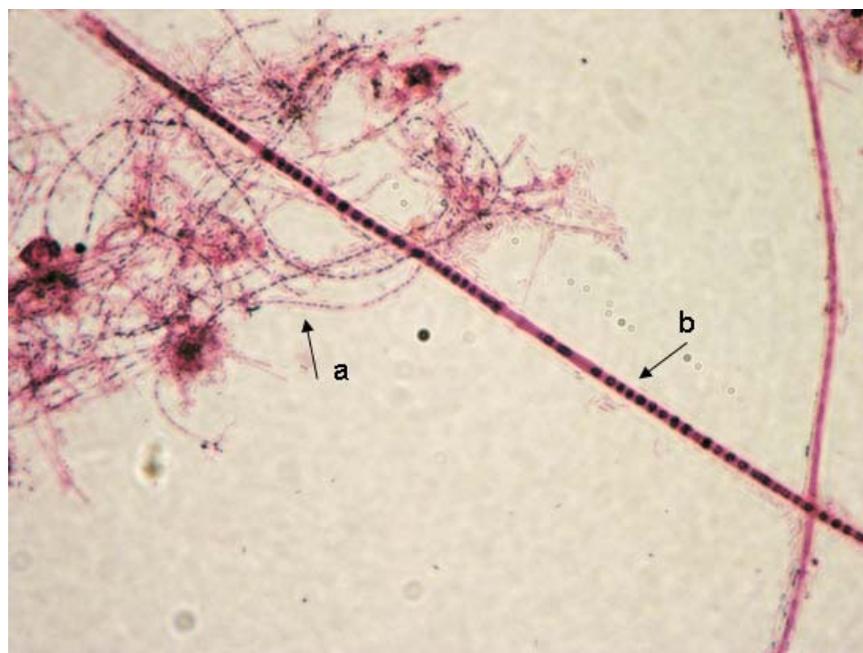


Figura 5.14. Fotografía en campo claro de a) Tipo 1701 y b) *Nostocoida limicola*, ambos MF con gránulos de PHB positivos y predominantes en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).

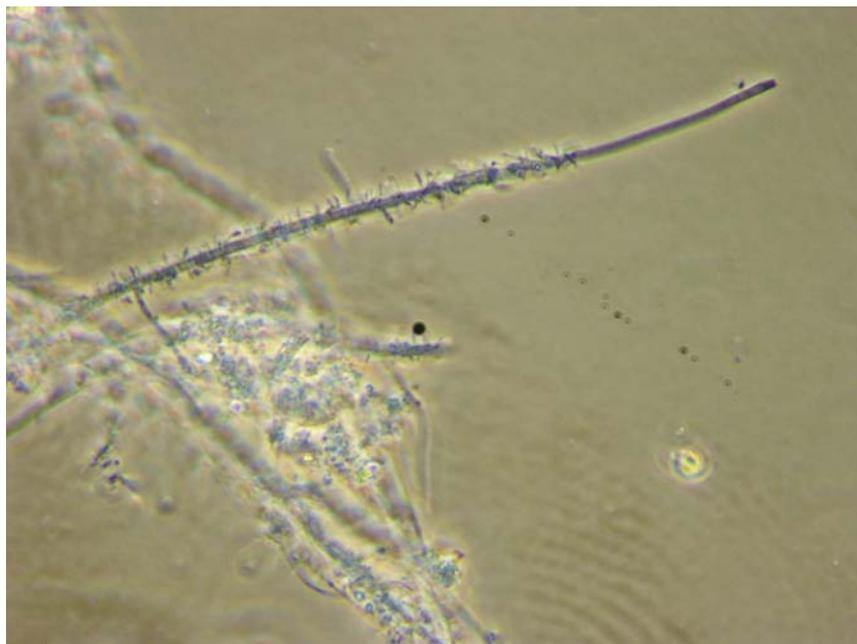


Figura 5.15. Fotografía en contraste de fases del MF Tipo 0041 con crecimiento epifítico. MF predominante en el sistema con albúmina de huevo (1000X).



Figura 5.16. Fotografía en contraste de fases del MF *Haliscomenobacter hydrossis*. MF predominante en el sistema con albúmina de huevo (1000X).

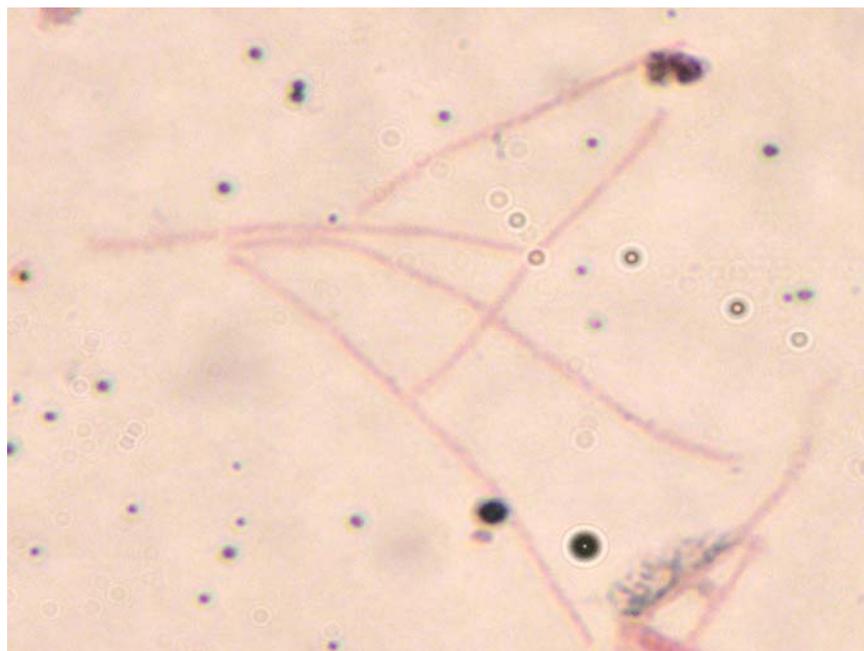


Figura 5.17. Fotografía en campo claro del MF Tipo 0803 Gram negativo. MF predominante en el sistema con albúmina de huevo (1000X).

5.1.1.4 Correlación entre las variables del proceso y la microbiología del lodo activado

Para un mejor entendimiento del grado de dependencia entre la abundancia de MF y algunas variables del proceso, la Tablas 5.5 presentan la matriz de Pearson para cada uno de los sistemas evaluados. El coeficiente de correlación del momento producto Pearson (CCP) es un índice estadístico comúnmente empleado para conocer el grado de relación lineal entre dos variables x y y (Mendenhall, 1982).

Para el sistema alimentado con albúmina de huevo se muestran dos diferentes CCP. Albúmina c/ $N.NH_3$ muestra los CCP entre las variables durante el periodo en el cual el contenido de $N.NH_3$ libre fue alto, y albúmina s/ $N.NH_3$ se refiere a los CCP entre las variables tomando en cuenta el último periodo de experimentación con este sustrato, cuando el efecto del $N.NH_3$ ya no fue representativo.

Tabla 5.5. Coeficientes de correlación de Pearson entre diferentes variables del proceso y la abundancia de los MF.



	Acetato		Sacarosa		Almidón		Albúmina c/ N-NH ₃		Albúmina s/N-NH ₃	
	Abun.	IVL	Abun.	IVL	Abun.	IVL	Abun.	IVL	Abun.	IVL
Abundancia	1		1		1		1		1	
IVL	0.704	1	0.867	1	0.353	1	0.731	1	0.987	1
SSVLM	-0.898	-0.576	-0.853	0.913	-0.604	-0.434	0.471	0.569	-0.282	-0.35
F/M	0.93	0.749	0.898	0.884	0.758	0.496	-0.458	-0.428	0.285	0.342
ORP-ANOX	0.702	0.244	0.312	0.505	-0.179	0.258	-0.538	-0.661	0.023	0
OD-ANOX	0.768	0.499	-0.794	-0.605	-0.316	-0.205	0.296	0.0073	0.526	0.306
pH	-0.651	-0.205	-0.27	-0.105	0.085	-0.096	-0.079	0.194	-0.758	-0.997

Abun. = abundancia

albúmina c/ N-NH₃= se refiere al primer periodo con albúmina en el cual el contenido de N-NH₃ era alto.

albúmina s/ N-NH₃= se refiere al último periodo con albúmina en el cual el contenido de N-NH₃ fue nulo.

Correlación en los sistemas alimentados con los SFB

Para los sistemas alimentados con los SFB, los mayores CCP correspondieron a las relaciones entre la abundancia y la F/M, abundancia y los SSVLM y entre la abundancia y el IVL. El IVL en ambos sistemas también pareció correlacionar con los SSVLM y la F/M. La alta correlación entre abundancia de los MF y la F/M indicó que el aumento de la F/M favoreció el aumento de los MF. Por otro lado, el incremento de los MF y la F/M estuvo directamente relacionado con la pérdida de los SSVLM como consecuencia del poco sustrato disponible que hubo para toda la biomasa presente del LM y en dichas condiciones, fueron los MF los que resistieron y predominaron. Así mismo, la mayor correlación entre la abundancia de los MF y la F/M en el sistema alimentado con acetato, coincidió con el mayor grado de esponjamiento filamentoso presentado en este sistema, como consecuencia de que este sustrato fue más rápidamente asimilado y agotado por los microorganismos.

El OD y el ORP en las fases de LLE-ANOX parecieron también haber influido en el desarrollo de los MF en ambos sistemas. Como se mencionó en el Capítulo 4, concentraciones de OD superiores a 2 mg/L en esta fase, no permitieron un eficiente proceso de DN y favorecieron la acumulación de N-NO_x en el reactor sin DN. Casey *et al.* (1999) propusieron una hipótesis en la cual explican que el crecimiento de los MF se ve favorecido por las altas concentraciones de N-NO_x en las fases anóxicas al inhibir estos (N-NO_x) a los FF (ver apartado 2.6.4). Por tanto, se puede suponer que los altos valores de OD y la acumulación de N-NO_x en esta fase favorecieron ambos el incremento de los MF.

El pH mantenido en estos sistemas, el cuál se mantuvo alrededor de 6.5 no presentó tener una correlación positiva sobre el crecimiento de los MF, puesto que para ambos sistemas los CCP fueron -0.651 para el acetato y -0.27 para la sacarosa.

Correlación en los sistemas alimentados con los SLB



Para los sistemas alimentados con los SLB, los CCP entre las variables medidas no parecieron mostrar una alta relación en comparación con las obtenidas con los SFB. En el caso del sistema alimentado con almidón, el único CCP que pareció influir sobre la abundancia de los MF fue la F/M (CCP = 0.758). La baja correlación entre la abundancia de los MF y el IVL (CCP = 0.353) confirman que este sistema no presentó esponjamiento filamentos. Por el contrario, los mayores CCP en el sistema alimentado con albúmina se obtuvieron entre la abundancia de los MF y el IVL en ambos periodos, CCP = 0.731 durante el periodo de albúmina c/ N.NH₃ y un CCP = 0.987 durante el periodo de albúmina s/ N.NH₃. La menor correlación entre la abundancia de los MF y la F/M en estos sistemas, indican que la previa hidrólisis de estos sustratos y que favoreció una mayor concentración de DQOs a lo largo del ciclo de tratamiento en comparación con el comportamiento obtenido con los SFB, sí limitó el crecimiento de los MF.

Por otro lado, el pH pareció haber tenido cierta influencia en el desarrollo de los MF en el último periodo experimental (albúmina s/ N.NH₃), puesto que el CCP fue de -0.758 y -0.997 para el IVL. Por lo tanto, el incremento de la abundancia de los MF una vez eliminado el N.NH₃ del sistema, sí pareció haber estado influenciado por el pH mantenido en este sistema (pH alrededor de 6.5).

Musvoto *et al.* (1999) probaron el efecto del contenido de N-NO_x en las etapas anóxicas sobre el crecimiento de los MF utilizando un reactor de mezcla completa. Musvoto *et al.* (1999) encontraron que el alto contenido de N-NO_x en dichas etapas favoreció el crecimiento de los MF. Sin embargo, al calcular los CCP entre la abundancia de los MF y el contenido de N-NO_x acumulado en las fases anóxicas en ambos sistemas, no mostró correlación puesto que el CCP en el sistema alimentado con almidón fue de -0.253 y -0.639 para el sistema con albúmina de huevo. Esta misma correlación no fue posible determinarla en los sistemas alimentados con los SFB debido a los pocos datos disponibles con estos sustratos. Por lo tanto, no se puede afirmar que en los sistemas alimentados con los SFB el grado de relación entre la abundancia de los MF y el contenido de N-NO_x no haya tenido cierta influencia. La Figura 5.18 muestra los diagramas de dispersión obtenidos para los sistemas alimentados con los SLB.

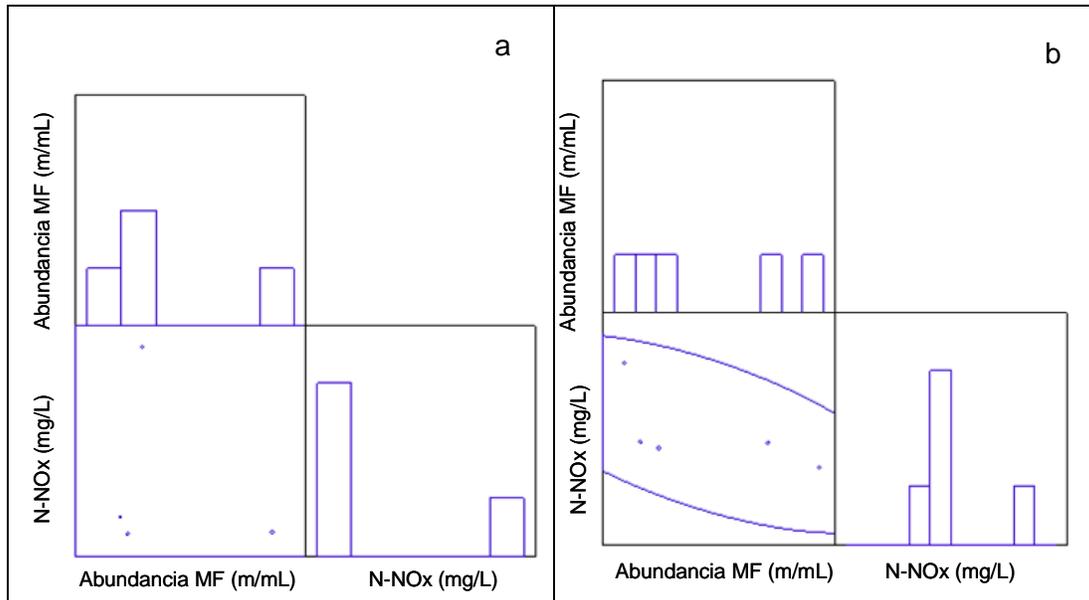


Figura 5.18. Diagramas de dispersión entre la abundancia de los MF y los N-NOx contenidos en las fases anóxicas de los sistemas alimentados con los SLB a) sistema con almidón, no hay correlación, b) sistema con albúmina de huevo, correlación baja negativa.

5.1.2 Microfauna del reactor biológico

En este trabajo de investigación la microfauna del lodo activado se identificó y clasificó en los grupos de microorganismos que integran este ecosistema, ciliados, flagelados, rotíferos y nemátodos, para así obtener su frecuencia de aparición en cada sistema evaluado.

5.1.2.1 Frecuencia de la microfauna del lodo activado

En la Figuras 5.19 se presentan las frecuencias de los diferentes microorganismos que integraron la microfauna en cada uno de los sistemas evaluados. En esta Figura, se observa que los grupos de ciliados y rotíferos fueron los predominantes en los cuatro sistemas evaluados. En el sistema alimentado con acetato los ciliados y rotíferos presentaron una frecuencia del 100% y 50% respectivamente. En el sistema con sacarosa los mismos grupos de microorganismos presentaron 87.5% ciliados y 50% rotíferos. En los sistemas alimentados con los SLB ciliados y rotíferos presentaron la misma frecuencia de aparición 100% ciliados y 90% rotíferos. Por otro lado, los flagelados presentaron una frecuencia menor del 35% en todos los casos, a excepción del sistema con albúmina de huevo donde presentaron el 65%. Los nemátodos estuvieron prácticamente ausentes, pues únicamente presentaron el 12% en el sistema con sacarosa.

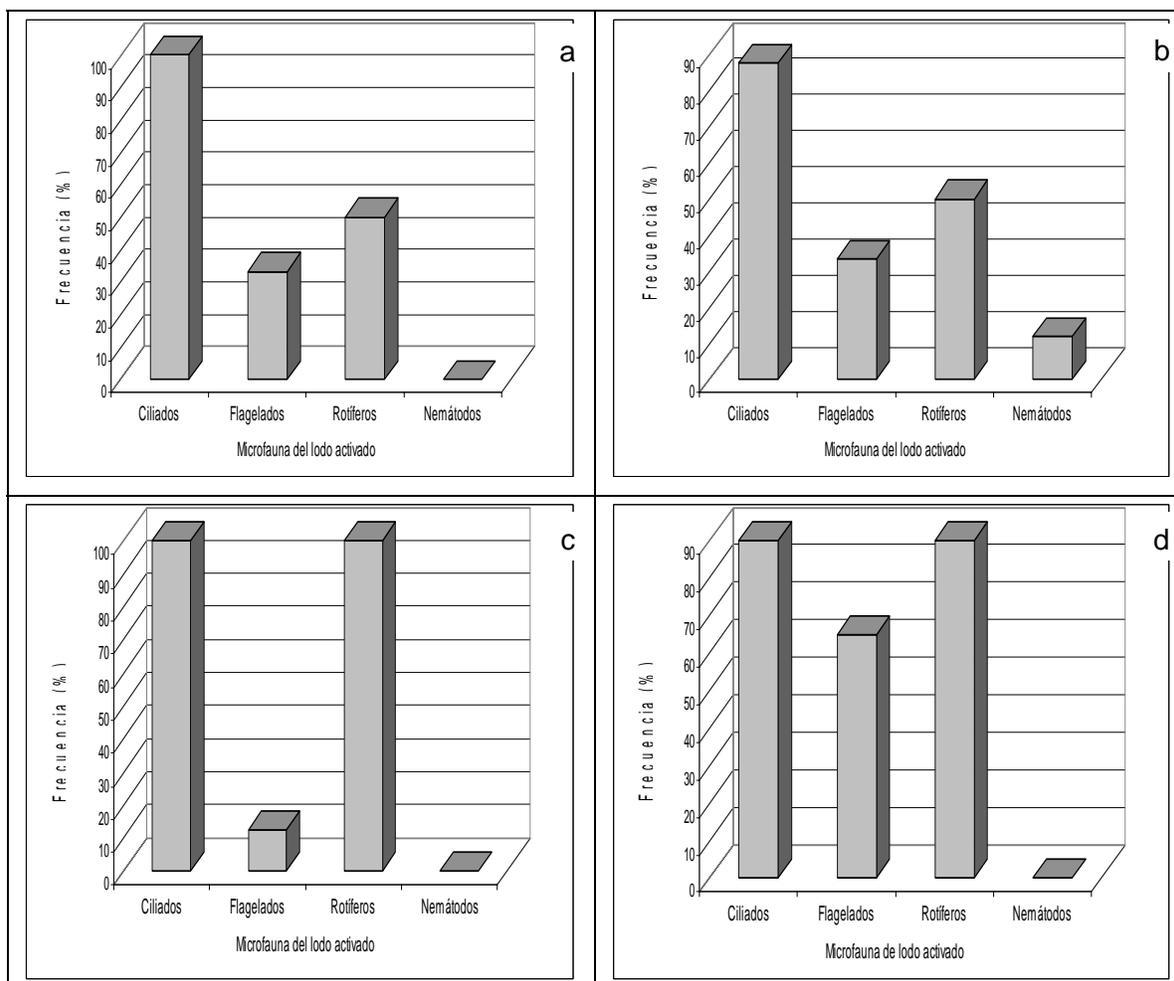


Figura 5.19. Frecuencia de aparición de los distintos tipos de microorganismos que conformaron la microfauna en cada uno de los sistemas evaluados a) acetato, b) sacarosa, c) almidón, d) albúmina de huevo.

En el Capítulo 2 de esta Tesis, se discutió que la microfauna del lodo activado juega un papel fundamental en el proceso de depuración biológica del ARM. Los ciliados son microorganismos encargados de eliminar por filtración las bacterias dispersas del agua, las que entran con el afluente incluyendo las patógenas y las que se multiplican en el medio (Salvadó, 1990). Por lo tanto, la predominancia de estos microorganismos en los cuatro sistemas evaluados favoreció la obtención de un sobrenadante con bajo contenido de bacterias dispersas. Esto se hizo evidente en todos los casos por la poca turbidez del efluente.

Los rotíferos han sido considerados organismos indicadores de elevados TRC, sobre todo a elevadas abundancias y de niveles de operación óptimos. Los nemátodos son también consumidores de bacterias dispersas, materia orgánica y al igual que los rotíferos, suelen aparecer en amplias edades del lodo, particularmente mayores de 5 días.



Como se mencionó en el capítulo 3, la biomasa con la que se arrancó el RBS en todos los casos provenía de la PTAR-I. Registros proporcionados por personal de la PTAR-I indicaron que de la microfauna que integra la biomasa de la PTAR-I, ciliados y rotíferos son los microorganismos predominantes. Por lo tanto, las nuevas condiciones a las que fue sometida la biomasa proveniente de la PTAR-I, no perjudicó para que la microfauna se viera afectada e incluso, los problemas de esponjamiento presentados en los sistemas con acetato, sacarosa y albúmina no tuvieron influencia negativa para el desarrollo y la actividad que la microfauna presentó en cada uno de los sistemas evaluados. Así mismo, la predominancia de estos microorganismos, indicó que se trabajó en condiciones óptimas para el desarrollo de estos microorganismos.

5.1.2.2 Fotografías de la microfauna del lodo activado

Con el fin de ilustrar gráficamente algunos de los aspectos estructurales de los tipos de microorganismos representativos del lodo estudiado, se presentan fotografías tomadas en el Laboratorio de la PTAR-I. Estas fotografías corresponden a protozoarios y metazoarios encontrados en el lodo activado de los cuatro sistemas evaluados.



Figura 5.20. Fotografía en campo claro del ciliado *Epicarchesium* (200X).

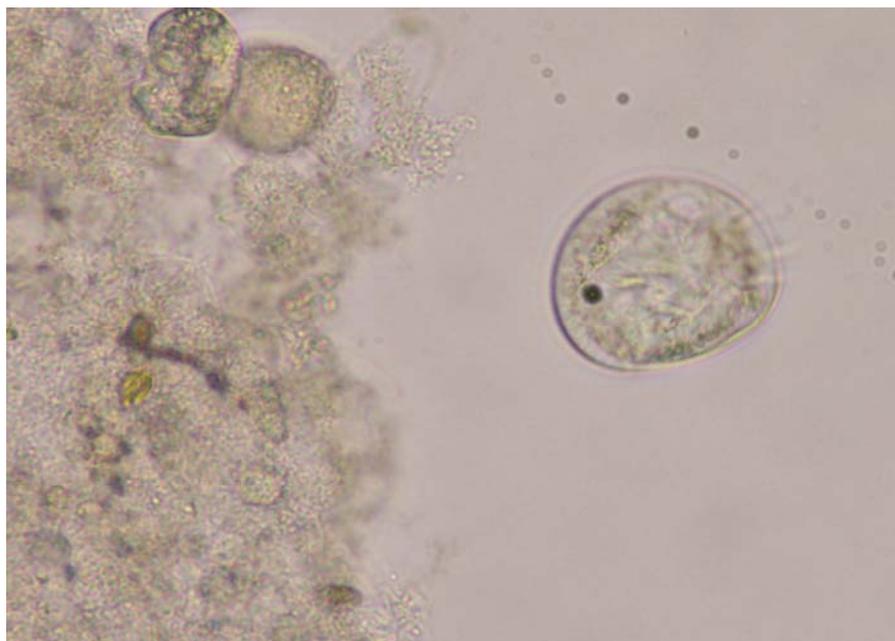


Figura 5.21. Fotografía en campo claro del ciliado *Aspidisca sp* (400X).



Figura 5.22. Fotografía en campo claro del ciliado *Litonotus lamella* (400X).



Figura 5.23. Fotografía en campo claro del ciliado *Spirostomus teres* (200X).

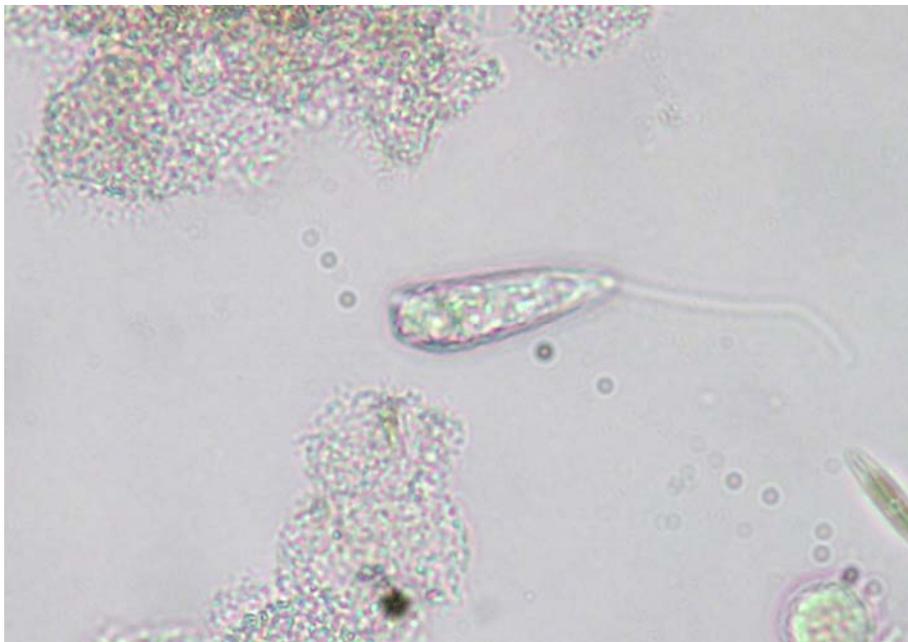


Figura 5.24. Fotografía en campo claro del flagelado *Peranema* (400X).



Figura 5.25. Fotografía en campo claro del metazoario Rotífero (100X).

5.1.3 Análisis de la estructura flocular del lodo activado

El análisis de la estructura flocular en un sistema de lodos activados es de real importancia, ya que éste proporcionará información de las características de sedimentación y compactación del lodo activado. Sin embargo, el que estén presente dichas características, depende del crecimiento equilibrado de MF y FF (Sezgin *et al.*, 1978). En el Capítulo 2 se indicaron algunos problemas que impactan directamente sobre su estructura, como por ejemplo el esponjamiento filamentoso. En el esponjamiento filamentoso predominan flóculos disgregados adheridos a los MF. En este caso, los flóculos llegan a ocupar gran superficie, siendo difícil distinguir sus contornos, son de forma irregular y con grandes huecos internos y presentando estructura abierta.

En la Figura 5.26 se muestra la frecuencias de las características de la estructura flocular que fueron evaluadas para los cuatro sistemas probados, tamaño, forma, estructura y textura. En la Figura 5.26 a) se puede observar que en todos los sistemas evaluados predominaron flóculos con un tamaño menor de 150 μm . Siendo sus frecuencias 66.6% para el sistema alimentado con acetato, 75% para el sistema con sacarosa y 100% para los dos sistemas alimentados con los SLB. Flóculos entre 150 y 500 μm únicamente predominaron en los sistemas con acetato y sacarosa, presentando 33.3% y 25% respectivamente.

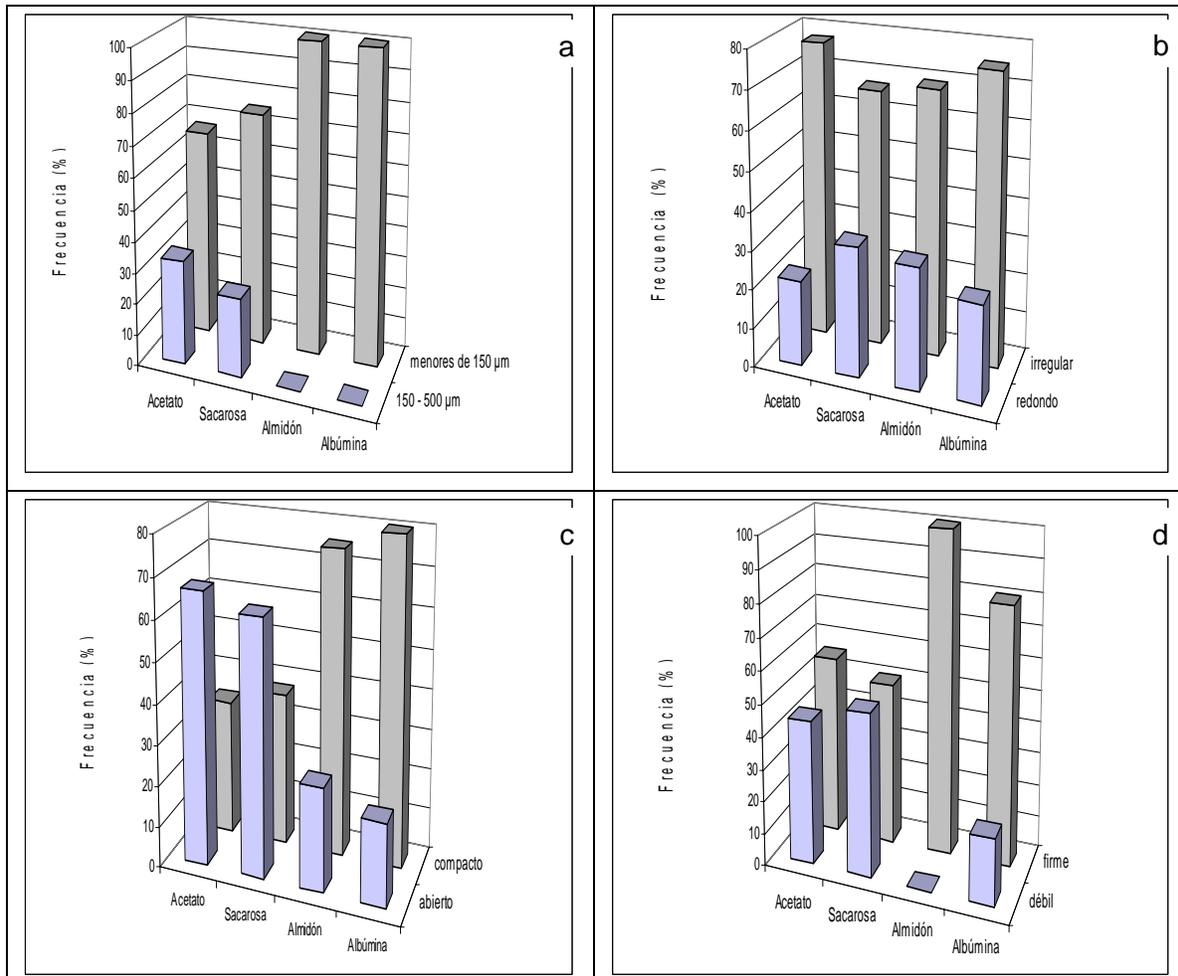


Figura 5.26. Frecuencia del a) tamaño b) forma, c) estructura, d) textura de los flóculos en cada uno de los sistemas evaluados.

En cuanto a la forma, la Figura 5.26 b) muestra que en todos los casos predominaron flóculos irregulares. Para el sistema alimentado con acetato se obtuvieron frecuencias del 77%, para la sacarosa del 66.6%, para el almidón 68.7% y para la albúmina de huevo 75%. El que haya predominado la forma irregular en todos los casos, está directamente relacionado con la estructura y textura que los flóculos presentaron en cada caso. En la Figura 5.26 c) se observa que en los sistemas alimentados con los SFB predominaron flóculos de estructura abierta, 66.6% para el acetato y 62.5% para la sacarosa. Por el contrario, la estructura compacta predominó para los SLB, 75% para el almidón y 80% para la albúmina. Lo anterior correlaciona bien con el grado de firmeza que los flóculos presentaron. Los sistemas alimentados con los SLB en los cuales predominaron flóculos de estructura compacta, también predominaron flóculos firmes, 100% para el almidón y 80% para la albúmina. Para los sistemas con los SFB, la mitad del tiempo de experimentación predominaron flóculos firmes, 55.5% para acetato y 50% para la sacarosa, y la otra mitad, flóculos débiles.



Que en los sistemas con los SFB hayan predominado flóculos irregulares, de estructura abierta, débiles y en algunos casos mayores de 150 μm , es debido a que en estos sistemas, el grado de esponjamiento fue mayor como consecuencia del crecimiento de los MF fuera de los flóculos para acceder al sustrato. Este mismo comportamiento es menos probable en los sistemas con los SLB, debido a que la hidrólisis de este tipo de sustratos ocurre mayormente dentro del flóculo del lodo activado, limitando así el crecimiento de los MF fuera de los flóculos para acceder al sustrato.

5.1.3.1 Fotografías del flóculo del lodo activado

Con el fin de ilustrar gráficamente los aspectos estructurales de los flóculos predominantes del lodo estudiado, se presentan fotografías tomadas en el Laboratorio de la PTAR-I. Estas fotografías corresponden a los flóculos encontrados en el lodo activado de los cuatro sistemas evaluados.

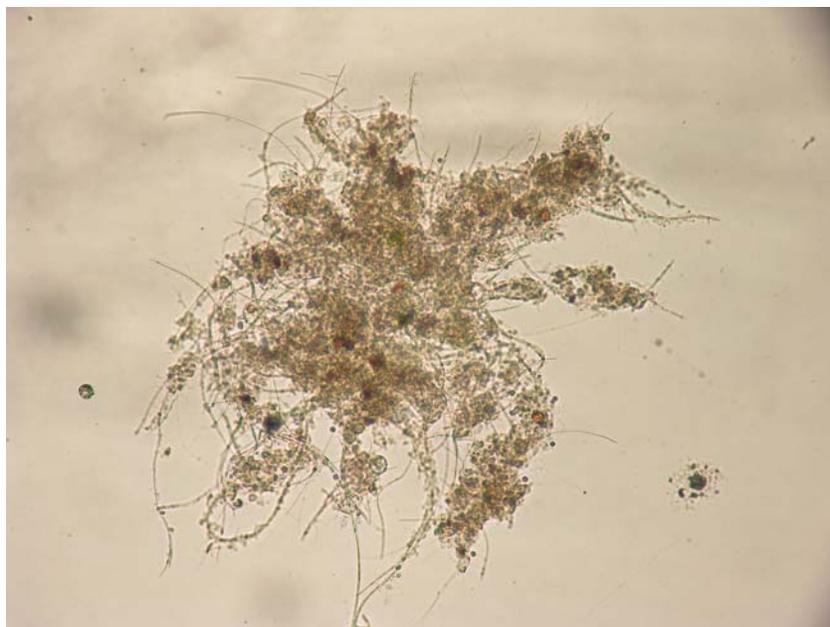


Figura 5.27. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura abierta y poco firme característico del sistema alimentado con acetato (200X).

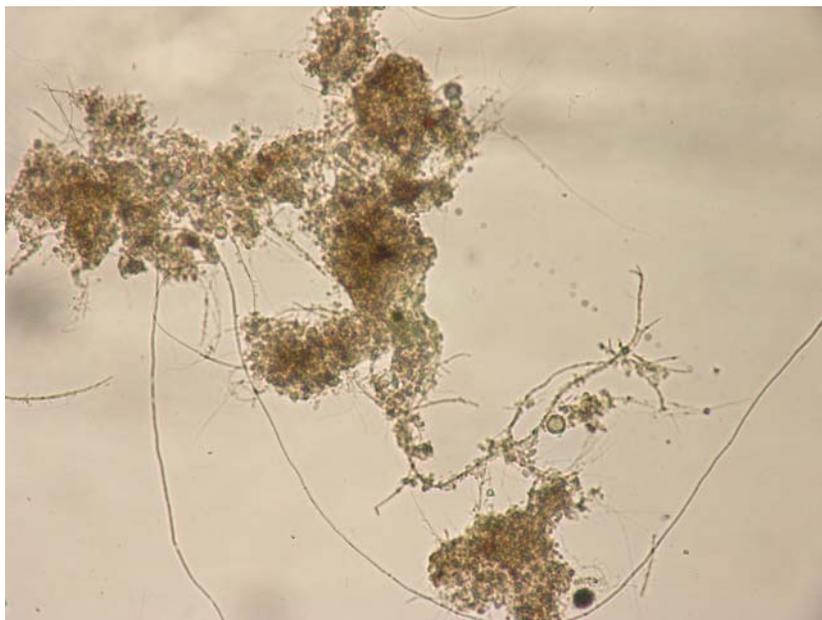


Figura 5.28. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura abierta y poco firme característico del sistema alimentado con sacarosa (200X).



Figura 5.29. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura abierta y firme característico del sistema alimentado con almidón (200X).

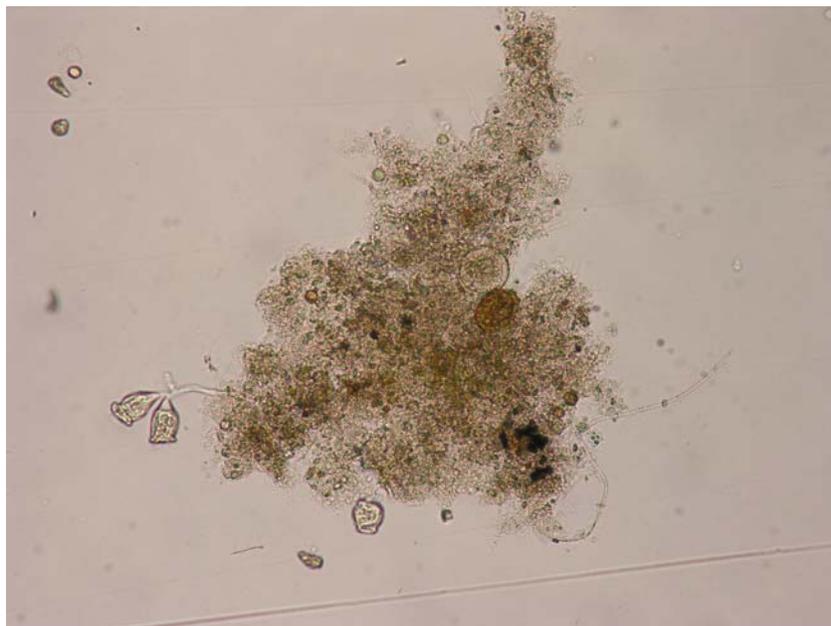


Figura 5.30. Fotografía en campo claro. Flóculo irregular de estructura compacta y firme característico del sistema alimentado con albúmina de huevo (200X).

5.2 Análisis de la VCO y VECO en cada uno de los sistemas evaluados

La VCO es un parámetro adicional para la determinación de la calidad del lodo activado. Ésta, representa la cantidad de oxígeno por unidad de volumen y de tiempo que utilizan los microorganismos para la respiración celular. Si este valor se divide por la concentración de SSVLM, se obtendrá la velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO), que representa la cantidad de oxígeno por unidad de tiempo consumida por 1 g de SSVLM.

La Tabla 5.6 resume los valores de estos dos parámetros a partir de registros de la actividad biológica del lodo activado para los cuatro sistemas evaluados.



Tabla 5.6. Promedios de la VCO y VECO en cada uno de los sistemas evaluados.

	Fecha	VCO mg OD//L.h	SSVLM (g/L)	VECO (mg OD/(g SSVLM.h))
Acetato	19/05/2008	8.7	0.222	39.2
	06/06/2008	7.8	0.91	8.6
Sacarosa	17/06/2008	8.9	0.65	13.7
	03/07/2008	9	1.21	7.4
Almidón	17/07/2008	42.3	0.65	65
	31/07/2008	2.7	0.465	5.8
	14/08/2008	20.7	0.38	54.4
Albumina de huevo	18/09/2008	13.9	0.97	14.3
	07/10/2008	11.36	0.77	14.8
	29/10/2008	9.0	0.62	14.5
	14/11/2008	14.4	0.60	24.2

VECO = velocidad específica de consumo de oxígeno

En la Tabla 5.6 se observa que las menores VCO y VECO fueron las obtenidas en los sistemas que presentaron el mayor esponjamiento filamentoso, el acetato y la sacarosa. Por el contrario, las mayores VCO y VECO se obtuvieron en el sistema que no presentó dicho problema, el almidón. Lo anterior indica que los MF tienen menores requerimientos de OD para crecer y mantenerse en comparación con los FF.

Según Henze *et al.* (2002) el valor de la VECO típico para un sistema convencional de lodos activados oscila entre 20 - 40 mg OD/(g SSVLM.h), lo cual significa que es un lodo activo, y valores de VECO entre 5 - 10 mg OD/(g SSVLM.h) son típicos de un lodo con baja respiración debido a la deficiencia de sustrato presente. Por lo tanto, los sistemas que llegaron a presentar valores de VECO representativos de un lodo activo fueron el sistema con acetato, almidón y albúmina. Sin embargo, como se observa en la Tabla 5.6, los sistemas alimentados con los SLB no siempre alcanzaron valores de VECO superiores a 20 mg OD/(g SSVLM.h) (ver Tabla 5.6). Lo anterior indica que la actividad de la biomasa no fue constante durante todo el periodo experimental, no se vió favorecida por la aclimatación de los microorganismos a los sustratos evaluados y fue independiente de la concentración de SSVLM presentes en el reactor. Esto último, debido a que la pérdida de SSVLM no limitó la actividad que presentaron los microorganismos que fueron quedando en el reactor.

Por otro lado, los valores de VECO inferiores a 20 mg OD/(g SSVLM.h) presentados en específicos días de muestreo en los sistemas con sacarosa, almidón y albúmina, indicaron una baja actividad biológica en cada uno de estos sistemas por el poco sustrato disponible que predominó. Así mismo, aunque únicamente se cuenta con un dato de VECO para el sistema con acetato, no se descarta que la actividad de la biomasa en este sistema haya sido baja, puesto que en la mayor parte del ciclo de tratamiento con este sustrato, los microorganismos estuvieron en respiración endógena.



Las Figuras 5.31, 5.32, 5.33 y 5.34 presentan el comportamiento de la VECO (en las etapas aireadas), OD y DQOs a lo largo del ciclo de tratamiento para un día de muestreo con cada uno de los sustratos evaluados. La Figura 5.29 corresponde al ciclo muestreado el día 19 de mayo del 2008 correspondiente al acetato, la Figura 5.30 corresponde al ciclo muestreado el día 17 de junio del 2008 correspondiente a la sacarosa, la Figura 5.31 corresponde al ciclo muestreado el día 14 de agosto del 2008 correspondiente al almidón, y la Figura 5.32 corresponde al ciclo muestreado el día 14 de noviembre del 2008 correspondiente a la albúmina de huevo.

En cada uno de los gráficos, se puede observar que la VECO fue disminuyendo conforme los microorganismos fueron agotando la DQOs que entró con el afluente y es por tal motivo, que en las fases de LLE-OX hubo un mayor requerimiento de oxígeno para oxidar esa DQOs, diferente a lo que sucede en la fase de REAC-OX, donde únicamente se consumirá el oxígeno para agotar la DQOs restante.

Por otro lado, en cada uno de los gráficos es evidente notar que en las etapas de REAC-OX hubo una diferencia en el valor de VECO entre los sistemas alimentados con los SFB y los sistemas alimentados con los SLB. Esta diferencia consistió en que para el acetato y la sacarosa se obtuvieron valores de VECO alrededor de 15 mg OD/(g SSVLM.h), mientras que para el almidón y la albúmina las VECO fueron alrededor de 30 mg OD/(g SSVLM.h) para la albúmina y 50 mg OD/(g SSVLM.h) para el almidón. Lo anterior es consecuencia de que hacia el final de la fase de REAC-OX en los sistemas alimentados con los SLB, la previa hidrólisis del almidón y la albúmina favorecieron la presencia de SFB la mayor parte del ciclo, lo cual aumentó los requerimientos de OD para remover esa DQOs. Comportamiento que no predominó con los SFB, donde al final de la misma fase, los microorganismos ya habían agotado toda la DQOs.

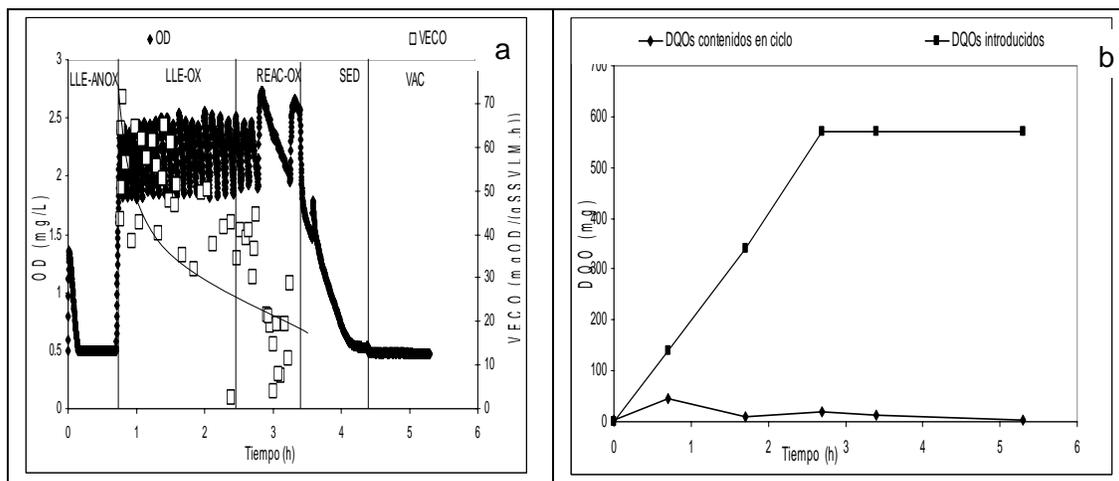


Figura 5.31. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con acetato, correspondiente al día 19 de mayo del 2008.

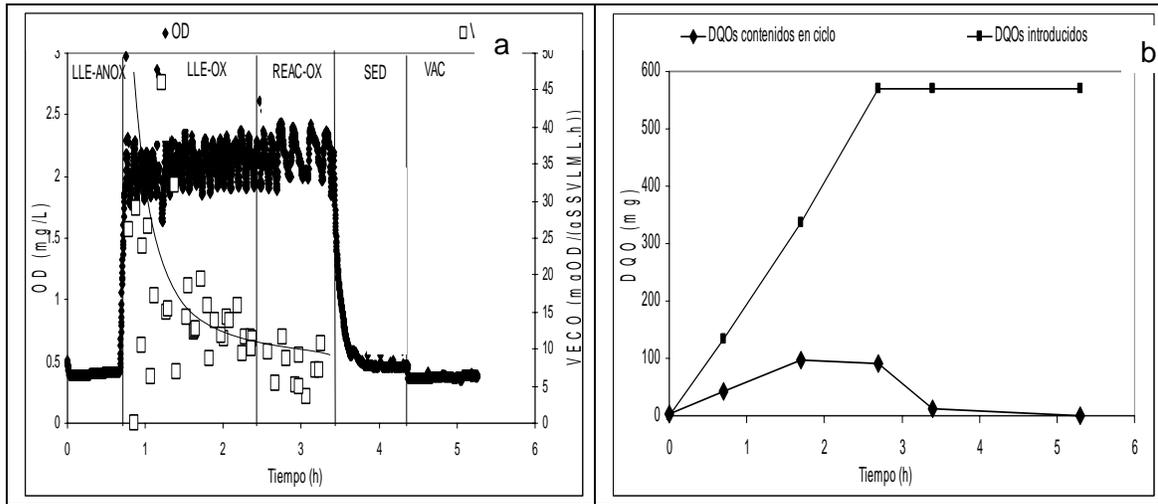


Figura 5.32. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con sacarosa, correspondiente al día 17 de junio del 2008.

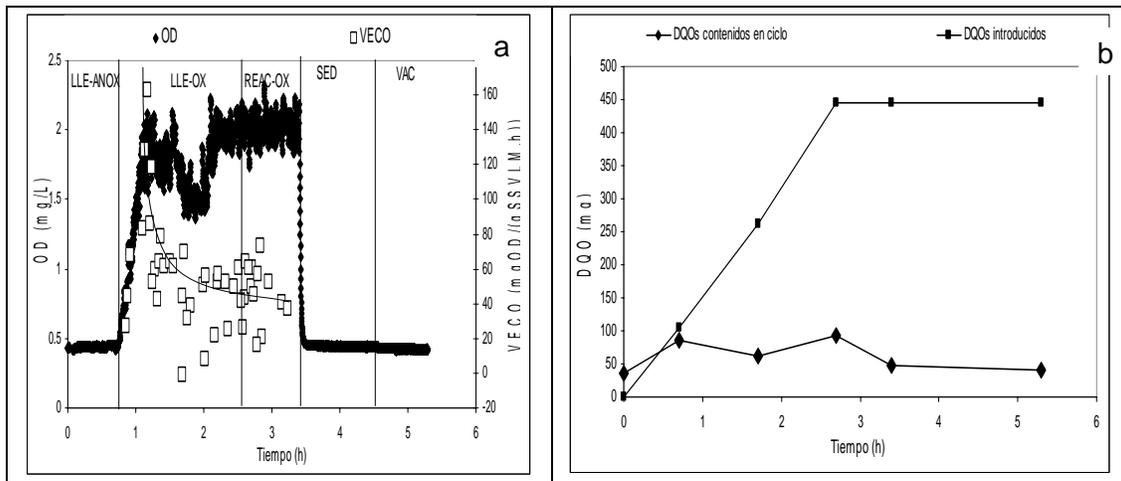


Figura 5.33. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con almidón, correspondiente al día 14 de agosto del 2008.

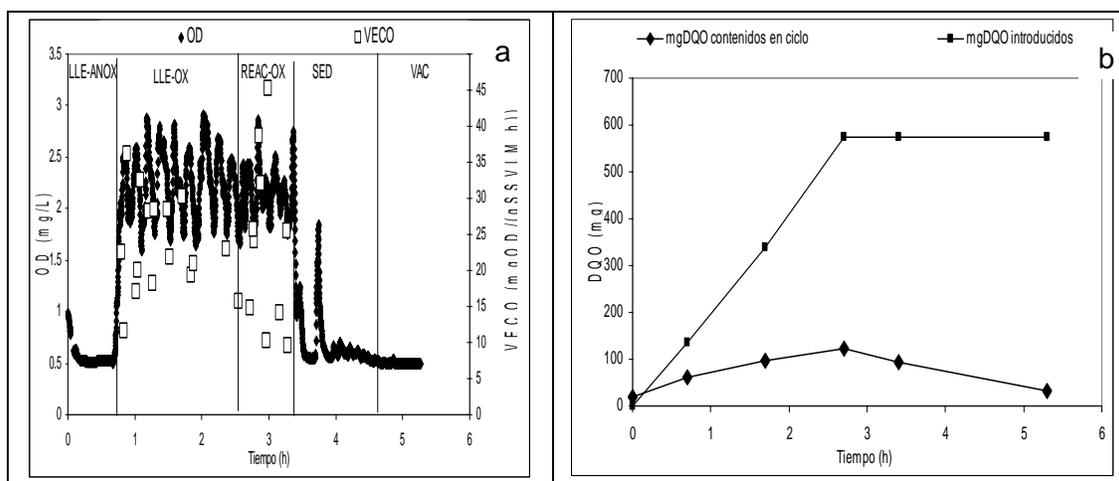


Figura 5.34. Evolución del comportamiento de la a) VECO y OD, b) DQOs en las diferentes fases de ciclo de tratamiento del periodo experimental con albúmina de huevo, correspondiente al día 14 de noviembre del 2008.

5.3 Análisis de la Y_{alm} y la Y_{obs} en cada uno de los sistemas evaluados

La Y_{alm} y la Y_{obs} son dos parámetros estequiométricos de relevante importancia en un proceso de lodos activados, pues indican el grado de afinidad que los microorganismos tienen por el sustrato. En particular, la Y_{alm} es un parámetro del cual diversos autores han propuesto como un mecanismo de selección que utilizan los microorganismos para competir por el sustrato.

Tabla 5.7. Valores de Y_{obs} y Y_{alm} en cada uno de los sistema evaluados.

	Fecha	g DQO/g DQO			
		Y_{alm}	Media	Y_{obs}	media
Acetato	11/05/2008	0.85		0.82	
	03/06/2008	0.96		0.92	
	09/06/2008	0.98	0.97	0.93	0.93
Sacarosa	18/06/2008	0.96		0.94	
Albúmina de huevo	02/10/2008	np		0.62	
	21/10/2008	np		0.79	0.7
Almidón	27/11/2008	np		0.6	
PTAR-I	08/05/2008	0.99		-	

np = no procede

La Tabla 5.7 muestra las Y_{alm} y Y_{obs} obtenidas en días específicos de muestreo para cada uno de los sustratos evaluados. En los sistemas alimentados con los SLB no fue



posible determinar las Y_{alm} debido a que son sustratos que a medida que se van hidrolizando son asimilados rápidamente por los microorganismos y, por tanto, no se pueden diferenciar las etapas de almacenamiento y crecimiento en el perfil de la VCO.

De los valores de Y_{alm} de los sistemas alimentados con SFB, es posible observar que los microorganismos que conformaron el sistema con sacarosa, tuvieron una mayor capacidad para almacenar este sustrato a diferencia del acetato, ya que la Y_{alm} es mayor. Para la sacarosa, la Y_{alm} media fue de 0.97 g DQO/g DQO y para el acetato fue de 0.85 g DQO/g DQO.

En el apartado anterior se mostró que los MF predominantes en estos dos sistemas fueron prácticamente iguales por tanto, es posible indicar que *N. limicola*, *S. natans* y Tipo 1701 tuvieron un mayor rendimiento de almacenamiento con la sacarosa que con el acetato. Lo anterior probablemente esté directamente relacionado con el tipo de sustrato. Cuando la fuente principal de carbono es un azúcar, éste se almacena como glucógeno y cuando la fuente de carbono es el acetato, se almacena como PHB (Karaşa-Gül *et al.* 2002). Según Karaşa-Gül *et al.* (2002), los microorganismos para almacenar glucógeno gastan 0.17 ATP/C, y para almacenar acetato gastan 0.25 ATP/C, por tanto, son energéticamente más eficientes para formar glucógeno.

Aunque en esta tesis de investigación no se hizo la observación de los polímeros de glucógeno sino únicamente los de PHB, los valores superiores de Y_{alm} en el sistema con sacarosa, son debidos a que con este sustrato *N. limicola*, *S. natans* y Tipo 1701 fueron más eficientes para formar glucógeno que PHB.

Al presentar los microorganismos una mayor Y_{alm} , presentan también un valor superior de Y_{obs} puesto que tendrán más productos de reserva que podrán utilizar para su crecimiento. Es por lo anterior, que las Y_{obs} obtenidas en el sistema alimentado con sacarosa fueron superiores a las obtenidas en el sistema de acetato. Para este sistema dicho valor fue de 0.82 g DQO/g DQO y para la sacarosa fue de 0.93 g DQO/g DQO.

Para los sistemas alimentados con los SLB, el sistema con albúmina presentó valores de Y_{obs} superiores respecto a la Y_{obs} obtenida con el almidón. La Y_{obs} para este sistema fue de 0.7 g DQO/g DQO y para el almidón fue de 0.60 g DQO/g DQO. Esto confirma que la albúmina de huevo fue más fácilmente asimilable que el almidón. Así mismo, lo anterior podría sugerir que la Y_{alm} fue inferior en el sistema con almidón y, además, que las Y_{alm} de los SLB fueron inferiores que las obtenidas en los sistemas alimentados con los SFB.

Se determinó la Y_{alm} de los microorganismos de la PTAR-I con el fin de realizar una comparación con los rendimientos obtenidos por los microorganismos desarrollados en cada uno de los sistemas evaluados. La Y_{alm} para los microorganismos de la PTAR-I fue de 0.99 g DQO/g DQO, superior a la Y_{alm} obtenida para el sistema alimentado con acetato y muy similar a la obtenida con la sacarosa. Si relacionamos que en estos dos sistemas fue donde el problema del esponjamiento filamentoso fue más evidente y, además, la Y_{alm} de la PTAR-I representa un valor característico de un sistema real sin esponjamiento, se



puede afirmar que los MF tuvieron la capacidad de almacenar el acetato y la sacarosa tan eficientemente como lo hacen los FF.

En la Tabla también es evidente notar que la Y_{obs} sí se ve influenciada por el tipo de sustrato, puesto que presenta valores inferiores con los SLB. Lo anterior está directamente relacionado con el grado de asimilación que presentan los microorganismos con dichos sustratos. Al ser el acetato y la sacarosa SFB, la biomasa requerirá menor cantidad de energía para almacenarlos y por lo tanto, crecer.

Por lo tanto, el mecanismo que favoreció que los MF predominaran sobre los FF a las bajas concentraciones de sustrato que predominaron en todos los sistemas, pudo ser su mayor capacidad de almacenamiento. Esto se demostró al comparar las Y_{alm} obtenidas entre los SFB y la Y_{alm} del sistema real, puesto que en ambos casos los valores de Y_{alm} fueron comparables. Así mismo, se tiene que tener en cuenta que en los sistemas alimentados con los SFB predominaron los MF mientras que en el sistema real los FF estaban presentes de forma significativa.

Aunque para los SLB no se obtuvieron las Y_{alm} , es importante destacar que al haber predominado también los MF en el sistema con albúmina, es posible que para este sistema, el fenómeno del almacenamiento también haya sido el mecanismo utilizado por los MF para remover el sustrato y predominar sobre los FF.

Karahan Gül *et al.* (2002) quienes midieron la Y_{alm} de los microorganismos a diferentes F/M empleando acetato, glucosa y ARM como únicas fuentes de carbono, mostraron que la Y_{alm} no se vio influenciada por este parámetro, lo cual también fue posible notar en esta experimentación, ya que a medida que la F/M disminuyó a lo largo de la experimentación, esto no tuvo una influencia para que la capacidad de almacenamiento de los microorganismos cambiara. Este mismo comportamiento se observó también con la Y_{obs} obtenida en el sistema con sacarosa, la cual no se vio influenciada por el aumento de la F/M, pues su valor osciló entre 0.92 - 0.94 g DQO /gDQO. Por lo tanto, la F/M no influyó para que los MF predominantes en el sistema alimentado con sacarosa, presentaran una variable capacidad de almacenamiento y crecimiento.



La Tabla 5.8 presenta algunos valores de Y_{alm} y Y_{obs} para diferentes sustratos que han sido reportados en la bibliografía.

Tabla 5.8 Valores de Y_{alm} y Y_{obs} reportados en la bibliografía.

g DQO/g DQO	Acetato		Glucosa		Almidón	ARM	Referencia
	Y_{alm}	Y_{obs}	Y_{alm}	Y_{obs}	Y_{alm}	Y_{obs}	
	0.78		0.87			0.96	Karahan-Gül <i>et al.</i> (2002)
	0.69						Beaun <i>et al.</i> (2000)
		0.48		0.71			Dircks <i>et al.</i> (1999)
			0.9				Goel <i>et al.</i> (1999)
	0.69	0.68					Beccari <i>et al.</i> (1998)
					0.64		Goel <i>et al.</i> (1998)
	0.73						van Aalst van <i>et al.</i> (1997)
		0.5		0.5			Heijnen (1994)
		0.6		0.76			Chudoba <i>et al.</i> (1985)

En la Tabla anterior, se observa que para la sacarosa y la albúmina de huevo no ha habido reportes de Y_{alm} y Y_{obs} . Por otro lado, los parámetros de Y_{alm} y Y_{obs} reportados para el acetato son inferiores a los obtenidos en esta experimentación, y los reportados para el almidón y el ARM fueron similares. Se incluyeron los valores de Y_{alm} y Y_{obs} de la glucosa, para mostrar que estos son superiores a los del acetato como consecuencia de la mayor eficiencia de los microorganismos para almacenar glucógeno, y por lo cual, estos valores también fueron superiores para la sacarosa.

A excepción de los valores de Y_{alm} y Y_{obs} reportados por Beccari *et al.* (1998), todos los valores son característicos de sistemas sin ningún problema de esponjamiento filamentoso por tanto, si en esta experimentación los valores de Y_{alm} y Y_{obs} para el sistema con acetato fueron superiores a los reportados en la bibliografía, y los obtenidos en los sistemas con sacarosa y almidón fueron similares a los de la bibliografía (los de sacarosa similares a los de glucosa), se puede afirmar que efectivamente los MF utilizaron el almacenamiento del sustrato disponible como el mecanismo de selección para poder resistir las bajas concentraciones de DQO y predominar sobre los FF.

Así mismo, todos los MF que predominaron en esta experimentación, presentaron al microscopio gránulos de reserva en su interior correspondientes a PHB y poli-P. Incluso cuando el sustrato fue sacarosa y almidón, los MF presentaron acumulación en su interior de PHB. Esto es debido a que la formación del PHB es a través de un metabolito que participa en la vía del metabolismo del glucógeno, la Acetil-CoA (van Loosdrecht *et al.* 1997).

A continuación se muestran fotografías que manifiestan la acumulación de los PHB en los MF predominantes en los cuatro sistemas evaluados.

Además de los gránulos de PHB, se muestra el almacenamiento en algunos MF de los gránulos poli-P, los cuales también son productos de reserva. El Tipo 0803 que fue característico en el sistema con albúmina de huevo, también almacena gránulos poli-P, sin embargo, no se incluyeron fotografías de este MF.

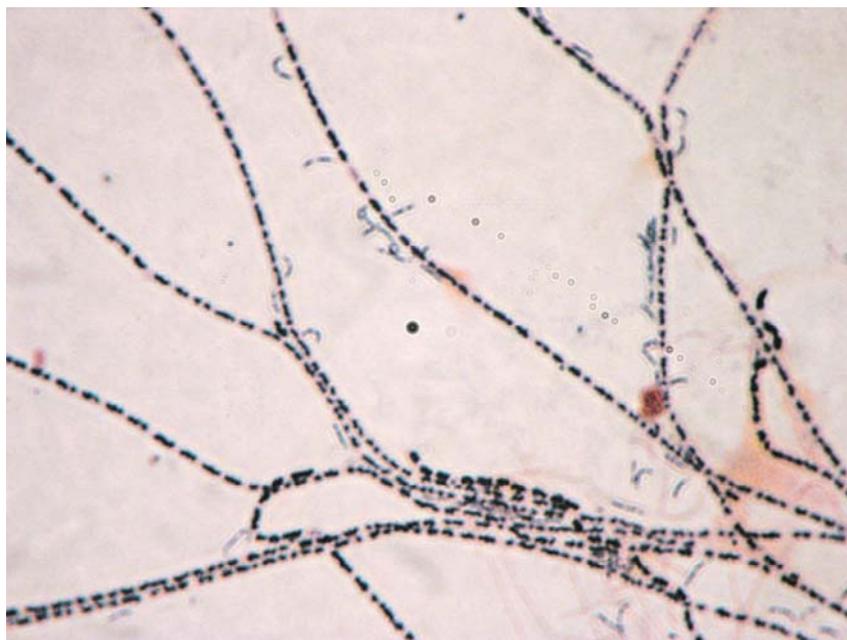


Figura 5.35. Fotografía en campo claro del MF *Sphaerotilus natans* gránulos PHB, característico en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).

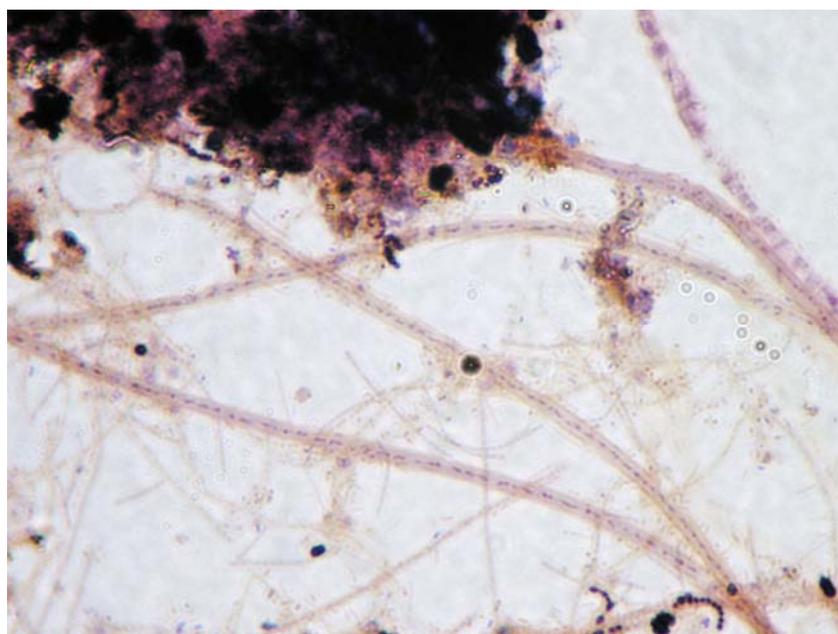


Figura 5.36. Fotografía en campo claro del MF *Thiothrix* gránulos de poli-P, característico en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).



Figura 5.37. Fotografía en campo claro del MF *Nostocoida limicola* gránulos de PHB, característico en los sistemas con acetato, sacarosa, almidón y albúmina de huevo (1000X).

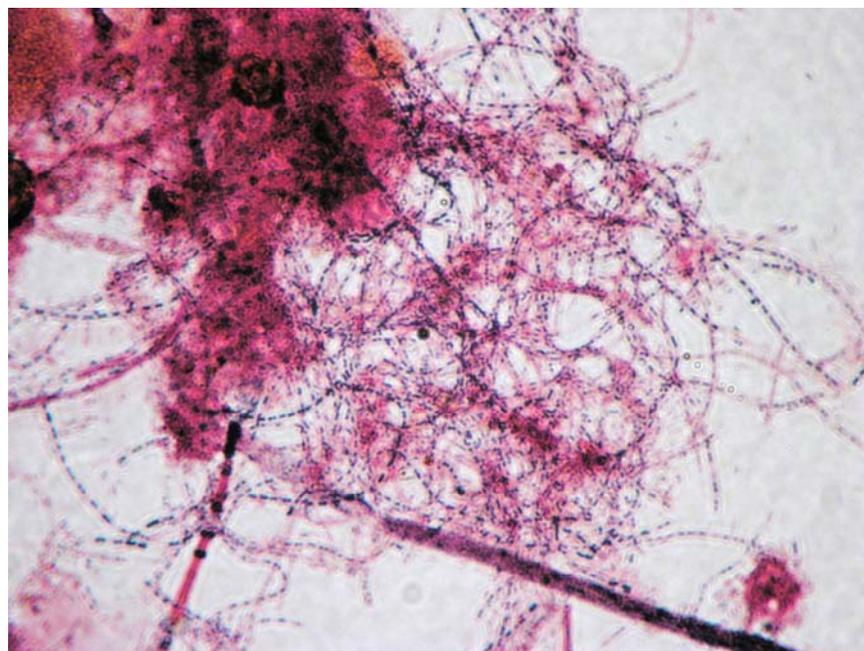


Figura 5.38. Fotografía en campo claro del MF *Tipo 1701* gránulos de PHB, característico en los sistemas con acetato, sacarosa y almidón (1000X).

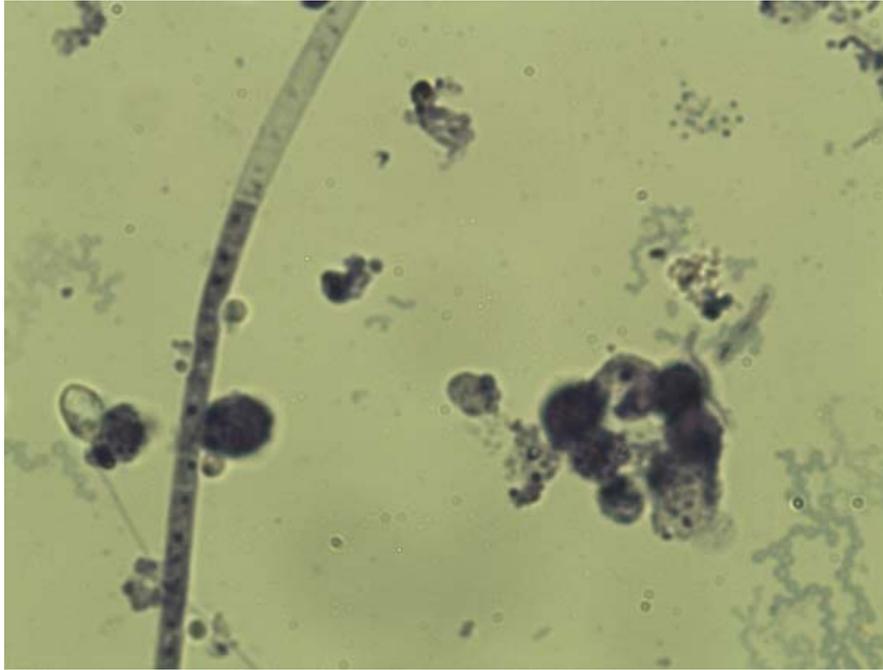


Figura 5.39. Fotografía en campo claro del MF *Tipo 0041* gránulos de poli-P, característico en el sistema con albúmina de huevo (1000X).



Conclusiones y recomendaciones

El estudio de la influencia de diferentes fuentes de carbono en el comportamiento de los microorganismos filamentosos en un reactor biológico secuencial, logró obtener las siguientes conclusiones y recomendaciones:

1. La concentración de DQO_{AF} evaluada en esta investigación (150 mg/L) favoreció en todos los sistemas evaluados, un deficiente proceso de DN, aumentó de la F/M, pérdida de los SSVLM y crecimiento de los MF.
2. El grado de solubilidad de los sustratos evaluados mostró tener una relación directa con la abundancia de los MF, indicando que el tipo de sustrato influyó tanto en el grado de esponjamiento como en la disminución de la concentración de SSVLM que presentó cada sistema evaluado.
3. El mayor grado de esponjamiento que presentaron los SFB se hizo evidente en las características estructurales que presentó el flóculo en estos sistemas, y en los cuales, predominaron flóculos irregulares, abiertos, débiles y firmes como consecuencia del crecimiento excesivo de los MF fuera del flóculo.
4. Abundancias de MF superiores a 20 m/ml en todos los sistemas evaluados, y rendimientos de eliminación de DQO alrededor del 90%, indicaron que los MF además de remover por igual los SFB y los SLB, fueron capaces de competir por los SLB bajo condiciones de escaso sustrato disponible.
5. El tipo de sustrato, además de la F/M y el TRC, influyó en la frecuencia de aparición de los MF predominantes en cada uno de los sistemas evaluados. Lo anterior se observó con las diferentes frecuencias de aparición que mostraron los MF y los diferentes valores de Y_{alm} y Y_{obs} que mostraron los MF con cada uno de los sustratos evaluados.
6. Con base a lo anterior, se confirma que los MF muestran diferentes capacidades para predominar con un determinado tipo de sustrato.
7. Las Y_{alm} obtenidas en los sistemas que presentaron esponjamiento filamentosos, y comparables a las Y_{alm} obtenidas en el sistema real, sugieren que el mecanismo posiblemente utilizado por los MF para predominar sobre los FF y resistir las bajas concentraciones de sustrato, fue el almacenamiento de productos de reserva.
8. Aunque los CCP no mostraron una correlación entre la abundancia de los MF y el contenido de N-NOx en la fase de LLE-ANOX de los sistemas alimentados con los SLB, no se descarta que esta condición no haya favorecido también, la predominancia de los MF en los sistemas alimentados con los SFB, puesto que los CCP entre la abundancia de



MF con el OD y el ORP fueron de 0.702 y 0.768 respectivamente para el sistema con acetato.

9. Independientemente del grado de esponjamiento desarrollado en los sistemas con acetato, sacarosa y albúmina, esto no impactó en el grado de compactación que presentó el lodo activado en cada caso, puesto que el contenido de SST_{EF} y SSV_{EF} cumplieron con los valores establecidos en la normativa y no superaron los 30 mg/L.

10. La predominancia de ciliados y rotíferos en todos los sistemas evaluados, indicó que se trabajó en condiciones óptimas para la actividad y desarrollo de estos microorganismos, además, los problemas de esponjamiento presentes en los sistemas con acetato, sacarosa y albúmina no mostraron tener una influencia negativa en el comportamiento de estos microorganismos.

11. Las diferentes VECO obtenidas entre los sistemas que presentaron esponjamiento y los sistemas que no presentaron dicho problema, sugieren que los MF tienen menores requerimientos de OD que los FF.

12. Se encontró que las VECO no se vieron favorecidas por la aclimatación de los MF a los diferentes sustratos, y el valor obtenido fue independiente de la concentración de SSVLM presente en el reactor.

13. La aclimatación de los microorganismos a los sustratos evaluados pareció favorecer las VEN. Lo anterior se observó con el aumento de las VEN en los sistemas con sacarosa y almidón a medida que pasó el tiempo de experimentación y los microorganismos se aclimataron a estos sustratos. Además, esto sugiere que los problemas de esponjamiento filamentoso no limitan el proceso de NT.

14. Los rendimientos de remoción del $N-NH_4^+$ alrededor del 90% en todos los sistemas evaluados, indicaron que los microorganismos nitrificantes tuvieron la misma capacidad de eliminación del $N-NH_4^+$ y su actividad no se vio influenciada por el tipo de sustrato y el predominio de los MF.

15. La evidente disminución de los MF en el sistema con albúmina y que coincidió con el periodo en el cual el contenido de $N-NH_3$ libre inhibió el 43% de la NT, condición que no se presentó en los otros sistemas, sugieren que el $N-NH_3$ además de inhibir el proceso de NT, tuvo un efecto negativo sobre el desarrollo de los MF.

16. Rendimientos inferiores de eliminación de $N-NO_x$ en el sistema con albúmina respecto a los obtenidos en los otros sistemas, indican que posiblemente el $N-NH_3$ también causó cierta inhibición del proceso de DN.

17. La predominancia de pH entre 6 - 6.5 en la mayoría de los sistemas, e inferior a 6 en el sistema con albúmina, sugieren que los MF son microorganismos capaces de resistir y tener actividad a pH inferiores de 7.



17. Se demostró que la escasa concentración de sustrato favorecida en todos sistemas (150 mg/L) y que provocó ambientes con alto contenido de OD, redujo la VEDN alrededor de un 85% únicamente por efecto de estas dos condiciones en todos los sistemas evaluados.

Recomendaciones

1. Se sugiere que se caracterice la respuesta de los MF a concentraciones superiores de 150 mg/L y comparar si predomina o no el mismo comportamiento.
2. Ampliar los periodos de experimentación con cada uno de los sustratos hasta lograr una estabilización del sistema y caracterizar si hay o no diferencia en el comportamiento de los microorganismos una vez estabilizado el sistema.
3. Profundizar en el efecto que tiene el N-NH₃ libre en la inhibición de los MF y en el proceso de DN. Así mismo, determinar si hay o no relación en el desarrollo de los MF por efecto de la acumulación de los N-NO_x en las fases anóxicas.



Referencias

- Andreasen, K., Nielsen, P. (2000). Growth of *Microthrix parvicella* in nutrient removal activated sludge plants: studies of in situ physiology. *Water Res.* **34**, 1559-1569.
- Andreadakis, A. (1993). Physical and Chemical properties of activated sludge floc. *Water Res.* **27**, 12, 1707-1714.
- APHA. (1998). Standard Methods for the examination of water of wastewater. 20 ed. American Public Health Association – American Water Works Association - Water Pollution Control Federation (APHA-AWWA-WPCF). Washington D.C.
- Barajas, M. (2002). *Eliminación Biológica de Nutrientes en un Reactor Biológico Secuencial. Caracterización y Estimulación de las Fuentes de Carbono*. Tesis Doctoral. ETSECCP, UPC, Barcelona, España.
- Banerji, S., Ewing B., Engelbrecht R., Speece R. (1966). Mechanism of starch removal in activated sludge process. *Waste Conf.* **121**, 84-102.
- Beaun, J., Paletta, F., van Loosdrecht M., Heijnen, JJ. (2000). Stoichiometry and Kinetic of poly- β -hydroxybutyrate metabolism in aerobic, slow growing, activated sludge cultures. *Biotechnol. Bioeng.* **67**, 4, 379-389.
- Beccari, M., Majone, M., Massanisso, P., Ramadori, R. (1998). A bulking sludge with high storage response selected under intermittent feeding. *Water Res.* **32**, 11, 3403-3413.
- Blackbeard, J., Ekama, GA., Marais, G. (1986). A survey of bulking and foaming activated sludge plants in South Africa. *J. Water Pollut Control Fed.* **85**, 1, 90-100.
- Blackbeard, J., Gabb, D., Ekama, G., Marais, G. (1988). Identification of filamentous organisms in nutrient removal activated sludge plants in South Africa. *Water SA.* **14**, 1, 1-18.
- Casey, T., Wentzel, M., Ekama, G. (1999). Filamentous organism bulking in nutrient removal activated sludge systems: Paper 11, A biochemical/microbiological model for proliferation of anoxic-aerobic (AA) filamentous organism. *Water SA.* **25**, 4, 443-451.
- Cech, J., Chudoba, J. (1983). Influence of accumulation capacity of activated sludge microorganisms on kinetics of glucose removal. *Water Res.* **7**, 361-374.



- Chibnall, A., Ress, W., Williams, E. (1943). Nitrogen content of proteins. *Biochem J.* **37**, 3, 354-359.
- Chiesa, S., Irvine, R. (1985). Growth and Control of Filamentous Microbes in Activated Sludge: An Integral Hypothesis. *Water Res.* **19**, 4, 471-479.
- Chiesa, S., Irvine, R., Manning, J. (1985). Feast /famine growth environments and activated sludge population selection. *Biotechnol Bioeng.* **27**, 562-568.
- Chudoba, J., Cech, J., Farkac, J. (1985). Control of activated sludge filamentous bulking. Experimental verification of a kinetic selection theory. *Water Res.* **19**, 2, 191-196.
- Chudoba, J., Ottova, V., Madera, V. (1973a). Control of Activated Sludge Filamentous Bulking I. Effect of the hydraulic regime or degree of mixing in an aeration tank. *Water Res.* **7**, 1163-1182.
- Chudoba, J., Grau, P., Ottova, V. (1973b). Control of Activated Sludge Filamentous Bulking II. Selection of microorganisms by means of a selector. *Water Res.* **7**, 1389-1406.
- Chudoba, J., Blaha, J., Madera, V. (1973c). Control of Activated Sludge Filamentous Bulking III. Effect of Sludge Loading. *Water Res.* **8**, 231-237.
- CNA (2005). Saneamiento, calidad del agua y aspectos de salud. En estadística del agua en México 2005- Síntesis. (en línea). Comisión Nacional del Agua (México).
http://www.cna.gob.mx/eCNA/Espanio/Estadistica/Central/Cap_6_EAM2005.pdf
- Confer, D., Logan, B. (1997). Molecular weight distribution of hydrolysis products during biodegradation of model macromolecules in suspended and biofilm cultures I. Bovine serum albumin. *Water Res.* **31**, 9, 2127-2136.
- Daigger, G., Grady, C. (1982). Review paper. The dynamics of microbial growth on soluble substrates. A unifying theory. *Water Res.* **16**, 365-382.
- Dircks, K., Henze, M., van Loosdrecht, M., Mosbaek, H., Aspegren, H. (2001). Storage and degradation of poly- β -hydroxybutyrate in activated sludge under aerobic conditions. *Water Res.* **35**, 9, 2277-2285.
- Dircks, K., Pind, P., Mosbaek, H., Henze, M. (1999). Yield Determination by Respirometry- The Possible Influence of Storage Under Aerobic Conditions in Activated Sludge. *Water SA* **25**, 1, 69-74.
- Di Marzio, W. (2002). First results from screening of filamentous bacteria in Buenos Aires's activated sludge plants. *Water Sci. Technol.* **46**,1-2, 119-122.
- Dong-Jin, K., Dong-Ig, L., Jürg, K. (2006). Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresour Technol.* **97**, 3, 459-468.



- Dold, P., Marais, G. (1986). Evaluation of the general activated sludge model proposed by the IAWPRC Task Group. *Water Sci. Technol.* **18**, 63-89.
- Dulekagurgen, E., Dogruel, S., Karahan-Gul, Ö., Orhon, D. (2006). Size distribution of wastewater fractions as an index for biodegradability. *Water Res.* **40**, 273-282.
- Eikelboom, D. (1975) Filamentous organisms observed in activated sludge. *Water Res.* **9**, 365-388.
- Eikelboom, D. (1977). Identification of filamentous organisms in bulking activated sludge. *Prog. Water Technol.* **8**, 153-162.
- Eikelboom, D. (1994). The *Microthrix parvicella* puzzle. *Water Sci. Technol.* **29**, 7, 271-279.
- Eikelboom, D. (2000). Process control of activated sludge plants by Microscopic investigation. 1a. Ed. IWA Publishing, Alliance House, London (UK).
- Ekama, G., Marais, G. (1984). *Nature of municipal wastewaters. In theory, design and operation of nutrient removal activated sludge processes.* Capítulo 2, Pretoria, South Africa. Water Research Commission.
- Ekama, G., Dold, P., Marais, G. (1986). Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems. *Water Sci. Technol.* **18**, 91-114.
- EMASESA, (1997). Microorganismos Filamentosos en el Fango Activado. Ayuntamiento de Sevilla, España.
- EPA (1993). Nitrogen Control. Manual. Document EPA/625/R-93/010. Washington D.C., EEUU: US Environmental Protection Agency.
- Escalas, C. (2006). Estimación propia de la generación y recolección de aguas residuales en 1992, a partir de datos de años posteriores.
- Escaler, I. (1997). Eliminació biològica de nutrients (nitrogeno i fósforo) mitjanÇant el procés discontinu de fangs activats. Tesis de Especialidad. Sahuquillo. ETSECCP, UPC, Barcelona, España.
- Foot, R. (1992). The effects of process control parameters on the composition and stability of activated sludge. *J. Instn. Wat. & Envir. Mangt.* **6**, 215-228.
- Gabb, D., Ekama, G., Jenkins, D., Marais, G. (1989). Incidence of *S. natans* in laboratory scale activated sludge systems. *Water Sci. Technol.* **21**, 29-41.
- Gerardi, M. (2003). Nitrification and desnitrification in the activated sludge process. (en línea). Wastewater Microbiologi Series (consulta por web).
www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/summary/104085011/SUMMARY?CRETRY=1&SRETRY=0



- Goel, R., Mino, T., Satoh, H., Matsuo, T. (1998). Intracellular storage compounds, oxygen uptake rates and biomass yield with readily and slow degradable substrates. *Water Sci. Technol.* **38**, 8-9, 85-93.
- Goel, R., Mino, T., Satoh, H., Matsuo, T. (1999). Modeling hydrolysis processes considering intracellular storage. *Water Sci. Technol.* **39**, 1, 97-105.
- Gulez, G. (2005). *Short term effects of carbon and inoculum sources on filamentous growth: a comparison between molecular and microscopic methods*. Tesis de Maestría. Department of civil, construction and environmental engineering. North Carolina State University (EEUU).
- Haldane, G., Logan, B. (1994). Molecular size distribution of a macromolecular polysaccharide (dextran) during its biodegradation in batch and continuous cultures. *Water Res.* **28**, 9, 1873-1878.
- Heijnen, J. (1994). Thermodynamics of microbial growth and its implications for process design. *Tibtech.* **12**, 483-492.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Matsuo, T., Wentze, I. M., Marais, G. (1995). Activated Sludge Model No. 2 IAWQ Scientific and Technical Reports No. 3, IAWQ, Inglaterra, Londres.
- Henze, M., Harremoës, O., Jansen, J., Arvin, E. (2002). Wastewater treatment, Biological and Chemical Processes. 3ra. Ed. Springer, (Germany).
- Heukelekian, H., Weisberg, E. (1956). Bound water activated sludge bulking. *Sewage Industry Wastes.* **28**, 558.
- Jenkins, D., Richard, M., Daigger, G. (1993). Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming, 2nd ed. Lewis Publisher, Michigan (EEUU).
- Jimenez, J., La Motta, E., Parker, D. (2005). Kinetics of removal of particulate chemical oxygen demand in the activated sludge process. *Water Environ Res.* **77**, 5, 437-446.
- Jimenez, J., La Motta, E., Parker, D. (2007). Effect of operational parameters on the removal of particulate chemical oxygen demand in the activated sludge process. *Water Environ. Res.* **79**, 9, 984-990.
- Kamio, Y., Nikaido, H. (1977). Outer membrane of Salmonella typhimurium identification of proteins exposed on cell surface. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* **464**, 589-601.
- Karahan-Gül, Ö., Artan, N., Orhon, D., Henz, M., van Loosdrecht, M. (2002). Respirometric assessment of storage yield for different substrates. *Water Sci. Technol.* **46**, 1-2, 345-352.



- Karahan-Gül, Ö., Martins, A., Orhon, D., van Loosdrecht, M. (2006). Experimental evaluation of starch utilization mechanism by activated sludge. *Biotechnol. Bioeng.* **93**, 5, 964-970.
- Khono, T., Yoshina, K., Satoh, S. (1991). The roles of intracellular organic storage materials in the selection of microorganisms in activated sludge. *Water Sci. Technol.* **23**, 889-898.
- Knobelsdorf, M. (2005). *Eliminación Biológica de Nutrientes en ARU de baja carga orgánica mediante el proceso VIP*. Tesis Doctoral. ETSECCP, UPC, Barcelona, España.
- Krhutková, O., Ruzickova, J., Wanner, J. (2002). Microbial evaluation of activated sludge and filamentous population at eight Czech nutrient removal activated sludge plants during year 2000. *Water Sci. Technol.* **46**, 1, 471-478.
- Krishna, C., van Loosdrecht, M. (1999). Effect of temperature on sludge volumen index. *Water Res.* **33**, 10, 2374-2382.
- Kristensen, G., Jorgesen, P., Nielsen, P. (1994). Settling characteristics of activated sludge in Danish treatment plants with biological nutrient removal. *Water Sci. Technol.* **29**, 7, 157-165.
- Kruit, J., Boley, F., Jacobs, L., Wouda, T. (1994). Prediction of the oxygen conditions in the selector. *Water Sci. Technol.* **29**, 7, 229-237.
- Kunst, S., Reins, M. (1994). Practical investigation on bulking and foaming in activated sludge plants with biological phosphorus removal. *Water Sci. Technol.* **29**, 7, 289-294.
- Lavender, P., Cowley, E., Horan, N. (2003). Experiences with activated sludge bulking in UK. In: Ruzicková I, Wanner J editors. Conference proceedings poster papers of the Ninth IWA Specialised Conference on design, operation and economics of large wastewater treatment plants. Praba, Czech Republic. 171-174.
- Lee, N. (1996). *Parameters Affecting Microorganism and the Process Performance in Biological Wastewater Treatment*. Tesis Doctoral. Department of Biotechnology, Lun University, Suecia.
- Logan, B., Jian, Q. (1990). A model for determining molecular size distributions of DOM. *J. Environ. Eng.* **116**, 1046-1062.
- Madoni, P., Davoli, D., Gibin, G. (2000). Survey of filamentous microorganisms from bulking and foaming activated sludge plants in Italy. *Water Res.* **34**, 6, 1767-1772.
- Majone, M., Massaniso, P., Carucci, A., Lindrea, K., Tandoi, V. (1996). Influence of storage on kinetic selection to control aerobic filamentous bulking. *Water Sci. Technol.* **34**, 5-6, 223-232.



- Manka, J., Rebhun, M. (1982). Organic groups and molecular weight distribution in tertiary effluents and renovated waters. *Water Res.* **16**, 399-403.
- Martins, A., van Loosdrecht M., Heijnen, J. (2003a). Effect of feeding pattern and storage on the sludge settleability under aerobic conditions. *Water Res.* **37**, 11, 2555-2570.
- Martins, A., van Loosdrecht, M., Heijnen, J. (2003b). Effect of dissolved oxygen concentration on the sludge settleability. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **62**, 5-6, 586-593.
- Martins, A., Pagilla, K., Heijnen, J., van Loosdrecht, M. (2004). Filamentous bulking sludge, a critical review. *Water Res.* **38**, 793-817.
- Mathews, C., van Holde, K., Ahern, K. (2002). Bioquímica. 1ra ed. Addison Wesley. Madrid, España.
- Matzuzawa, Y., Mino, T. (1991). Role of glycogen as an intracellular carbon reserve of activated sludge in the competitive growth of filamentous and no-filamentous bacteria. *Water Sci. Technol.* **23**,4-6, 899-905.
- McLouglin, A., Crombie-Quilty, M. (1983). Kinetics of protein removal by activated sludge. *Water Res.* **17**, 2, 161-166.
- Mendenhall W. (1982). Introducción a la probabilidad y la Estadística. 5a. ed. Wadsworth, Inc, California, EE.UU.
- Metcalf y Eddy (1996). Ingeniería de Aguas Residuales Tratamiento, Vertido y Reutilización. 3ra. ed. McGraw-Hill, Madrid, España.
- Mino T. (1999). Bulking foaming problems in Japan. Internal document, Department of Environmental and Urban Engineering. Universidad de Tokio.
- Münch, E., Lant, P., Keller, J. (1996). Simultaneous nitrification and denitrification in Bench-Scale Sequencing Batch Reactors. *Water Res.* **30**, 2, 277-284.
- Musvoto, E., Lakay, M., Casey, MC., Wentzel, M., Ekama, G. (1999). Filamentous organism bulking in nutrient removal activated sludge systems. *Water SA* **25**, 4, 397-407.
- Nielsen, P., Roslev, P., Dueholm, T., Nielsen, J. (2002). *Microthrix parvicella* a specialized lipid consumer in anaerobic-aerobic activated sludge plants. *Water Sci. Technol.* **46**, 1-2, 73-80.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales. (en línea). DOF (México). Consulta por web http://www.semarnat.gob.mx/ssfna/acercaSSFNA/PW/CD_NOMS/noms_proy_nmx_semarnat/NOM_AGUA_ECOL/NOM-003-ECOL.pdf. Consulta el 14 de Diciembre del 2008.



- NOM-003-SEMARNAT-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. (en línea). DOF (México). Consulta por web http://www.semarnat.gob.mx/ssfna/acercaSSFNA/PW/CD_NOMS/noms_proy_nmx_semarnat/NOM_AGUA_ECOL/NOM-001-ECOL.pdf. Consulta el 14 de Diciembre del 2008.
- Oliveras, M. (1998). *Els Microorganismens Filamentosos I Els Protozous en la Depuracio D' Algues del Sector Industrial Carni*. Tesis Doctoral. ETSECCP, UPC, Barcelona, España.
- Orhon, D., Okutman, D., Insel, G. (2002). Characterization and biodegradation of settleable organic matter for domestic wastewater. *Water SA*. **28**, 3, 299-305.
- Ortiz, M. (2008). *Evaluación y aplicación de un método fisicoquímico de determinación de la fracción fácilmente biodegradable de la demanda química de oxígeno de las aguas residuales*. Tesis de Maestría, UASLP, San Luis Potosí, México.
- Pankaj, T., Tapas, N., Pallavi, U., Pravin, M. (2008). Correlating on-line monitoring parameters, pH, DO and ORP with nutrient removal in an intermitent cyclic process birreactor system. *Bioresour. Technol.* **99**, 7630-7635.
- Pipes, W. (1967). Bulking of activated sludge. *Adv. App. Microbiol.* **9**, 185-234.
- Pipes, W. (1979). Bulking, Deflocculation and Pin-Point Flor. *J. Water Pollut. Control Fed.* **51**,62.
- Puigagut, J., Salvadó, H., Tarrats, X., García, J. (2007). Effect of particulate and soluble substrates on microfauna populations and treatment efficiency in activated sludge systems. *Water Res.* **41**,3168-3176.
- Pujol, R., Canle,r J. (1994). Contact zone: French practice with low F/M bulking control. *Water Sci. Technol.* **29**, 7, 221-228.
- Randall, C., Barnard, J., Stensel, H. (1992). Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. Technomic Publishing Co., Lancaster.
- Rossetti, S., Carucci, A., Rolle, E. (1994). Survey on the occurrence of filamentous organisms in municipal wastewater treatment plants related to their operating conditions. *Water Sci. Technol.* **29**, 7, 305-308.
- Rossetti, S., Tomeri, MC., Levantesi, C., Ramadori, R., Tandoi, V. (2002). "Microthrix parvicella": a new approach for kinetic and physiological characterization. *Water Sci. Technol.* **46**, 1-2, 65-72.
- Salvadó, C. (1990). Método rápido para el control del Bulking. Técnica simple y rápida de conteo de microorganismos filamentosos. *Tecnología del Agua* **67**, 60-63.



- Satoh, H., Mino, T., Matsuo, T. (1992). Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphorus removal process. *Water Sci. Technol.* **26**, 933-942.
- Seviour, R., Blackkall, L. (1999). The microbiology of activated sludge. 1ra ed. Kluwer, The Netherlands.
- Seviour, E., Williams, C., DeGrey, B., Soddell, JA., Seviour RJ., Lindrea KC. (1994). Studies on filamentous bacteria from Australian activated sludge plants. *Water Res.* **28**,11, 2335-2342.
- Sezgin, M., Jenkins, D., Parker, D. (1978). A Unified Theory of Filamentous Activated Sludge Bulking. *J. Water Pollut. Control Fed.* **50**, 362-381.
- Strom, P., Jenkins, D. (1984). Identification and significance of filamentous microorganisms in activated sludge. *J. Water Pollut. Control Fed.* **56**,5, 449-459.
- Switzenbaum, M., Plante, T., Woodworth, B., (1992). Filamentous bulking in Massachusetts: Extent of the problem and case studies. *Water Sci. Technol.* **25**, 4-5, 265-271.
- Tomlinson, E. (1976). Bulking – A survey of activated sludge plants. Technical Report TR35. Water Research Centre. Wessex, UK.
- Tomlinson, E., Chambers, B. (1979). Methods for prevention of bulking in activated sludge. *J. Water Pollut. Control Fed.* **78**, 524-538.
- Vadivelu, V., Keller, J., Yang, Z. (2007). Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched Nitrobacter culture. *Water Res.* **41**, 4, 826-834.
- van Aalst-van, L., Pot, M., van Loosdrecht, M., Heijnen, J. (1997). Kinetic modeling of Poly- β -hydroxybutyrate production and consumption by P.P under dynamic substrate supply. *Biotechnol. Bioeng.* **55**, 5, 773-782.
- Van den Eynde, E., Geerts, J., Maes, B., Verachtert, H. (1983). Influence of feeding pattern on the glucose metabolism of *Arthrobacter* sp. and *Sphaerotilus natans*, growing in chemostat culture, simulating activated sludge bulking. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 35-43.
- Van den Eynde, E., Vriens, L., De Cuyper, M., Verachtert, H. (1984). Plug flow simulating and completely mixed reactors with a premixing tank, in the control of filamentous bulking. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**, 288-295.
- van Loosdrecht, M., Pot, M., Heijnen, J. (1997). Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Water Sci. Technol.* **35**1, 41-47.
- Wagner, F. (1984). Studies on the causes and prevention of bulking sludge in Germany. *Water Sci. Technol.* **16**, 1-14.



- Wagner, J. (1994). Activated Sludge Bulking and Foaming Control. Thechnomic Publishing Co. Inc. Lancaster.
- Wanner, J., Novák, L. (1990). The influence of a particulate substrate on filamentous bulking and phosphorus removal in activated sludge systems. *Water Res.* **24**, 5, 573-581.
- Wagner, M., Loy, A. (2002). Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Current opinion in Biotechnology* **13**, 3, 218-227.
- Wentzel, M., Loetter, L., Loewenthal, R., Marais, G. (1986). Metabolic behaviour of *Acinetobacter* spp. in enhanced biological phosphorus removal – a biochemical model. *Water SA.* **12**, 4, 209-224.
- Wilen, B., Balmer., P. (1999). The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size, and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.* **33**, 2, 391-400.
- Wuhrmann, K. (1964). Aspect of water pollution control. *Adv. Appl. Microbiol.* **6**, 119.
- Yang, P., Zhang, Z., Jeong, B. (1997). Simultaneous removal of carbon and nitrogen using an entrapped-mixed-microbial-cell process. *Water Res.* **31**,10, 2617-2625.
- Yu, C., Lo, C., Traynor, S., Tam, N. (1994). Enhanced nutrient removal by oxidation-reduction potencial (ORP) control in laboratory-scale extended aeration reactors. *Resour. Conserv. and Recycl.* **11**, 321-335.
- Zevenhuizen, L., Ebbink, A. (1974). Interrelations between glycogen, poli- β -hidroxybutyric acid and lipids during accumulation and subsecuent utilization in a *Pseudomonas*. *Antonie van Leeuwenhoek.* **40**, 1, 103-120.



Anexo 3.1 Protocolo para la determinación de nitrógeno amoniacal (método del fenato)

- Introducción
- Parte 1. Fundamento
- Parte 2. Material y reactivos
- Parte 3. Procedimiento
- Parte 4. Cálculos
- Parte 5. Bibliografía

Introducción

Las formas de nitrógeno de mayor interés en las aguas naturales y residuales son por orden decreciente de su estado de oxidación, nitrato, nitrito, amoniacal y nitrógeno orgánico. Todas esas formas del nitrógeno, lo mismo que el nitrógeno gaseoso (N_2), son interconvertibles bioquímicamente y forman parte del ciclo del nitrógeno.

El nitrógeno orgánico se define funcionalmente como nitrógeno ligado orgánicamente en el estado de oxidación trinegativo. No incluye a todos los compuestos orgánicos del nitrógeno. Analíticamente, el nitrógeno orgánico y el amoniacal se pueden determinar juntos y se han denominado nitrógeno Kjeldahl, un término que refleja la técnica utilizada en su determinación. El nitrógeno orgánico incluye productos naturales, como las proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, urea y numerosos materiales orgánicos sintéticos. La concentración típica del nitrógeno orgánico varía desde unos cientos de microorganismos por litro en algunos lagos hasta 20 mg/L en las aguas residuales brutas.

El amoniacal se encuentra de forma natural en las aguas superficiales y residuales. Su concentración suele ser baja en las aguas subterráneas debido a que es adsorbido en las partículas y arcillas del suelo y no se extrae fácilmente por lixiviación. Se produce en gran parte por desaminación de los compuestos orgánicos nitrogenados y por hidrólisis de la urea (APHA, 1998).

Parte 1. Fundamento

El método del fenato es un método útil como análisis de rutina por su rapidez y sencillez a la hora de hacer las determinaciones de nitrógeno. Se basa en la reacción del amoniacal presente en la muestra con el hipoclorito y el fenol, catalizada por el nitroprusiato de sodio para formar un compuesto azul intenso, el indofenol (APHA, 1998).



Parte 2. Material y reactivos

El material básico utilizado en la prueba se enlista a continuación:

- a) Espectrofotómetro
- b) Placa de agitación
- c) Balanza analítica
- d) Bomba de vacío
- e) Equipo de filtración
- f) Material de vidrio
- g) Pipetas serológicas

Los reactivos y su preparación se describen a continuación:

- 1) **Solución de fenol:** mezclar 11.1 mL de fenol con 95% (v/v) de alcohol etílico y aforar a 100 mL. Esta solución es estable por una semana.
- 2) **Solución de nitroprusiato de sodio:** Disolver 0.5 g de nitroprusiato de sodio en 100 mL de agua destilada y almacenar en una botella de color ámbar. Esta solución es estable por un mes.
- 3) **Solución oxidante:** Mezclar 100 mL de solución de citrato alcalino con 25 mL de hipoclorito de sodio (solución comercial al 5%). La solución de citrato alcalino se prepara disolviendo 200 g de citrato de sodio (trisódico) con 10 g de dióxido de sodio. La solución oxidante se prepara cada vez que se realicen las determinaciones.
- 4) **Solución patrón de amonio:** Antes de preparar la solución, el cloruro de amonio anhidro (NH_4Cl) debe someterse a secado en estufa por espacio de 2 h a 100°C . Una vez secado, se pasa al desecador para evitar que absorba humedad por aproximadamente 10 min. y se pesan 3.819 g de NH_4Cl que se disolverán en 1000 mL de agua destilada. $1 \text{ mL} = 1.0 \text{ mg N} = 1.22 \text{ mg NH}_3$

Parte 3. Procedimiento

A continuación se detalla el procedimiento a seguir para la determinación de N-NH_4^+ en el laboratorio.

Curva de calibración

Primeramente es necesario realizar una curva de calibración que se debe preparar cada vez que se preparen nuevas soluciones o se cambie algún reactivo.

Se deben preparar por lo menos cinco estándares entre concentraciones de 0.1 -1.0 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$ a partir de la solución patrón de amonio la cual tiene una concentración de 1 mg/mL. Sin embargo, en este caso, a partir de la solución patrón, se preparó otra solución de 0.1 mg/mL la cual fue utilizada para hacer los estándares. El volumen final de los estándares fue de 1000 mL. Los volúmenes empleados para los estándares se calcularon a partir de la siguiente ecuación:



$$Vol.sol.patronNH_4Cl = \left(\frac{conc.estandar * 1L}{0.1mg / mL} \right) \quad \text{(Ecuación 3.1)}$$

Una vez obtenidos los volúmenes a emplear para los distintos estándares, estos se aforan a 1 L con agua destilada. La tabla 3.1 muestra los volúmenes empleados y las concentraciones finales de los estándares utilizados para la curva de calibración.

Tabla 3.1. Volúmenes empelados para la preparación de los estándares de la curva de calibración.

Concentración de la solución de NH ₄ Cl (mg/mL)	Volumen de la solución de NH ₄ Cl (mL)	Volumen final de muestra (mL)	Concentración en volumen final (mg NH ₄ Cl/L)
0.1	1	1000	0.1
0.1	3	1000	0.3
0.1	4	1000	0.4
0.1	6	1000	0.6
0.1	8	1000	0.8
0.1	10	1000	1.0

Tratamiento de la muestra

Para la determinación del N-NH₄⁺ es necesario que la muestra sea filtrada previamente a través de un filtro de membrana de 0.45µm de diámetro de poro para su determinación.

Medición y desarrollo del color de los estándares y la muestra

A 25 mL de los estándares y la muestra, se añadió 1 mL de solución de fenol, 1 mL de la solución de nitroprusiato de sodio y 2.5 mL de la solución oxidante. Cada vez que se añade un reactivo, es necesario agitar ligeramente antes de añadir el siguiente. Para el desarrollo del color, se cubrió la muestra con parafilm y se dejó reposar a temperatura ambiente por 1 h para después, leer la absorbancia a 640 nm. El color es estable por 24 h, sin embargo, lo más recomendable es leer inmediatamente de cumplido el tiempo de reacción. Los estándares y muestras se prepararon por duplicado, además, es necesario preparar un blanco que se preparó igualmente que los estándares y las muestras pero con agua destilada. Esto se realiza con el fin de hacer una corrección por la posible concentración de nitrógeno amoniacal que pueda tener el agua destilada o los reactivos utilizados en la preparación de las soluciones.

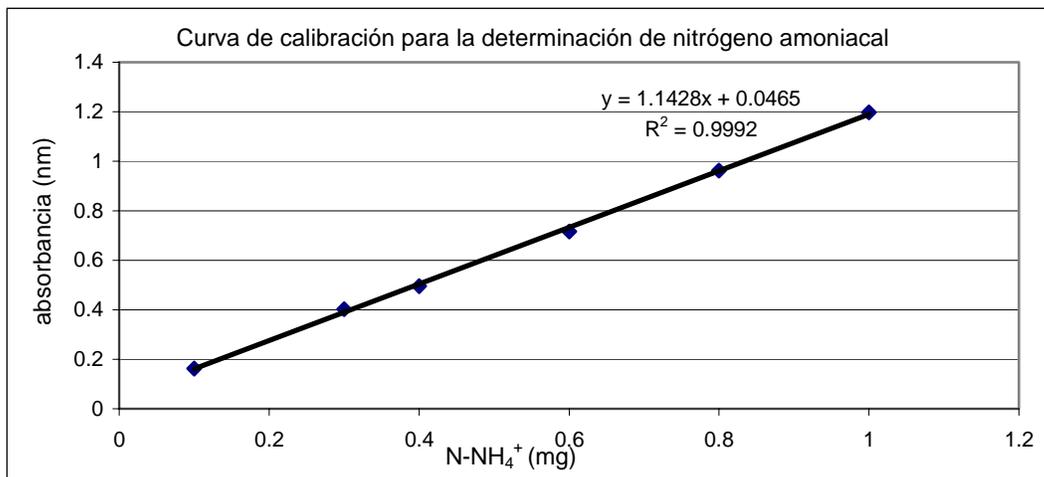
Parte 4. Cálculos

Para obtener la concentración de N-NH₄⁺ en la muestra, es necesario obtener primeramente la curva calibración graficando en el eje de las ordenadas, el promedio de las absorbancias (previamente restadas de la absorbancia del blanco) contra la concentración teórica de cada uno de los estándares en el eje de las abscisas. A



continuación se muestra la curva de calibración obtenida y utilizada para obtener las concentraciones de $N-NH_4^+$ en las muestras analizadas.

mg $N-NH_4^+$ /L	absorbancia	abs-blanco	promedio
Blanco	0.018		
0.1	0.192	0.174	0.1625
	0.169	0.151	
0.3	0.421	0.403	0.403
	0.421	0.403	
0.4	0.502	0.484	0.4955
	0.525	0.507	
0.6	0.732	0.714	0.716
	0.736	0.718	
0.8	0.98	0.962	0.962
	0.98	0.962	
1	1.243	1.225	1.197
	1.187	1.169	



Finalmente, una vez obtenida la ecuación de la curva de calibración, se sustituye en el valor (Y) de la ecuación, la absorbancia obtenida de cada una de las muestras y se despeja (X), que es el valor proporcional de la concentración de $N-NH_4^+$ en la muestra, ejemplo:

$$Y = 1.1428X + 0.0465 \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

$$X(\text{conc } N - NH_4^+ \text{ en muestra}) = \left(\frac{\text{abs.muestra} - 0.0465}{1.1428} \right) \quad (\text{Ecuación 3.3})$$



Parte 5. Bibliografía

APHA. (1998). Standard Methods for the examination of water of wastewater. 20 ed. American Public Health Association – American Water Works Association - Water Pollution Control Federation (APHA-AWWA-WPCF). Washington D.C.



Anexo 3.2 Protocolo para la determinación de nitratos y nitritos (método de reducción de cadmio)

- Introducción
- Parte 1. Fundamento
- Parte 2. Material y reactivos
- Parte 3. Procedimiento
- Parte 4. Cálculos
- Parte 5. Bibliografía

Introducción

El nitrato (NO₃⁻) se presenta generalmente como trazas en el agua de superficie pero puede alcanzar niveles elevados en las subterráneas. En cantidades excesivas, contribuye a una enfermedad infantil denominada metahemoglobinemia. Para evitarlo, se ha establecido un límite de 10 mg N-NO₃⁻/L para el agua de bebida. El NO₃⁻ se encuentra solo en pequeñas cantidades en las aguas residuales domésticas recientes, pero en el diluyente de las plantas de tratamiento biológico nitrificante, el NO₃⁻ puede encontrarse en concentraciones de hasta 30 mg N-NO₃⁻/L. Es un nutriente esencial para muchos autótrofos fotosintéticos, y en algunos casos ha sido identificado como determinante del crecimiento.

El NO₃⁻ es un estado intermedio de la oxidación del nitrógeno, tanto en la oxidación del NH₄⁺ a NO₃⁻ como en la reducción del NO₃⁻. Esa oxidación y reducción puede ocurrir en las plantas de tratamiento de aguas residuales, sistemas de distribución del agua y aguas naturales. El NO₂⁻ puede pasar al sistema de suministro de agua debido a su uso como inhibidor de la corrosión en el agua para procesos industriales. El ácido nitroso (HNO), formado a partir del NO₂⁻ en soluciones ácidas, puede reaccionar con aminas secundarias (RR'NH) dando lugar a nitrosaminas (RR'N-NO), muchas de las cuales son agentes carcinógenos reconocidos (APHA, 1998).

Parte 1. Fundamento

El método de reducción de cadmio consiste básicamente en la reducción de NO₃⁻ a NO₂⁻. El NO₃⁻ se convierte casi cuantitativamente en NO₂⁻ en presencia de cadmio. Este método utiliza una columna de vidrio rellena con gránulos de cadmio tratados con sulfato de cobre. Los NO₃⁻ producidos de esta manera, son determinados por diazonización con sulfanilamida para formar un diazocompuesto que a su vez reacciona con la N-1-naftil



etilendiamina dihidrocloruro. El compuesto así producido tiene un color rosado y su intensidad es proporcional a la concentración de N-NO_3^- (APHA, 1998). El rango aplicable de este método es de 0.01 a 1 mg N-NO_3^- /L. El método es especialmente recomendado para niveles de NO_3^- por debajo de 0.1 mg N/L, donde a otros métodos les falta una sensibilidad adecuada. La concentración determinada se reporta como mg oxidados de N-NOX/L (la suma de N-NO_3^- más N-NO_2^-) a menos que la concentración de N-NO_2^- sea determinada por separado y restada (APHA, 1998).

Parte 2. Material y reactivos

El material básico utilizado en la prueba se enlista a continuación:

- a) Columna de reducción
- b) Espectrofotómetro
- c) Balanza analítica
- d) Bomba de vacío
- e) Equipo de filtración
- f) pH metro
- g) Placa de agitación
- h) Placa de calentamiento
- i) Termómetro
- j) Pipetas serológicas
- k) Pipeta micrométrica de 1ml
- l) Material de vidrio

Los reactivos y su preparación se describen a continuación:

- 1) **Gránulos de cadmio cuperizado:** lavar 25 g de gránulos de cadmio con ácido clorhídrico 6N y enjuagar con agua destilada, agitar o remover el cadmio con 100 mL de una solución de sulfato de cobre al 2% por 5 min. o hasta que el color azul se debilite parcialmente. Decantar y repetir con sulfato de cobre fresco hasta que un precipitado coloidal marrón comienza a desarrollarse. limpiar suavemente con agua para remover todo el cobre precipitado.
- 2) **Reactivo de color:** a 800 mL de agua destilada, añadir 100 mL de ácido fosforico al 85% y 10 g de sulfanilamida. Después de disolver completamente la sulfanilamida, añadir 1 g de 1-naftil etilendiamina dihidrocloruro, mezclar para disolver y diluir a 1 L con agua. Esta solución es estable aproximadamente por un mes cuando es guardada en una botella oscura en el refrigerador.
- 3) **Solución cloruro de amonio-EDTA:** disolver 13 g de cloruro de amonio y 1.7 g de EDTA en 900 mL de agua, ajustar el pH a 8.5 con hidróxido de amonio concentrado y diluir a 1 L.
- 4) **Solución diluida de cloruro de amonio-EDTA:** mezclar 300 mL de la solución de cloruro de amonio-EDTA con 500 mL de agua destilada.
- 5) **Ácido clorhídrico (HCl), 6N.**
- 6) **Solución de sulfato de cobre 2%:** disolver 20 g de sulfato de cobre en 500 mL de agua y diluir a 1 L.
- 7) **Solución patrón de nitrato:** secar el nitrato de potasio en la estufa a 105 °C por 24 h, disolver 0.7218 g de nitrato de potasio en agua y diluir a 1000 mL; 1 mL =



100 µg N-NO₃⁻. Preservar con 2 mL de cloroformo. Esta solución es estable hasta por lo menos 6 meses.

- 8) **Solución intermedia de nitrato:** mezclar 100 mL de solución patrón de nitrato a 1000 mL con agua; 1 mL = 10 µg N-NO₃⁻. Preservar con 2 mL de cloroformo. Esta solución es estable hasta por lo menos 6 meses.
- 9) **Titulante estándar de permanganato de potasio 0.01M (0.05N):** disolver 1.6 g de permanganato de potasio en 1 L de agua, guardarla en una botella de vidrio color ámbar y estandarizar cada vez que se use. Decantar o pipetear cuidadosamente el sobrenadante sin agitar y sin ningún sedimento. Estandarizar esta solución frecuentemente con el siguiente procedimiento: pesar por lo menos 3 muestras de oxalato de sodio anhidro. Cada muestra debe pesar entre 0.1 y 0.2 g, los pesos deben de variar hasta diezmilésimas de 1 g (0.1 mg), colocar estas muestras en vasos de precipitado de 250 mL. Para cada vaso alternadamente, añadir 100 mL de agua y agitar para disolver. Añadir 10 mL 1:1 ácido sulfúrico y calentar rápidamente de 90 a 95°C. No dejar bajar la temperatura por debajo de 85°C si es necesario, calentar el contenido del vaso de precipitado durante la titulación.
- 10) **Solución patrón de nitrito:** disolver 1.232 g de nitrito de sodio en agua y diluir a 1000 mL; 1 mL = 250 µg N. Conservar con 1 mL de cloroformo.
- 11) **Estandarización de la solución patrón de nitrito:** pipetear en orden 50 mL de solución estándar 0.01M (0.05N) de permanganato de potasio, 5 mL de H₂SO₄ concentrado, y 50 mL de solución patrón de nitrito dentro de un frasco o botella de vidrio. Sumergir la punta de la pipeta debajo de la superficie de la solución ácida de permanganato mientras se añade la solución patrón de nitrito. Agitar suavemente y calentar de 70 a 80°C en una placa de calentamiento. Desaparecer el color del permanganato añadiendo suficientes porciones de 10 mL de dicromato de sodio 0.025 M. Titular el exceso de dicromato de sodio con permanganato de potasio 0.01M (0.05N) hasta observar un color rosa débil.
- 12) **Oxalato de sodio 0.025M (0.05N):** disolver 3.350 g de oxalato de sodio en agua y diluir a 1000 mL.
- 13) **Solución intermedia de nitrito:** tomar 50 mL de la solución patrón de nitrito y mezclarlos con 250 mL de agua destilada. Preparar diariamente.
- 14) **Trabajando con solución de nitrito:** diluir 50 mL de solución intermedia de nitrito con 500 mL de agua; 1 mL = 5 µg N-NO₂⁻.

Parte 3. Procedimiento

A continuación se detalla el procedimiento a seguir para la determinación de N-NO_x en el laboratorio.

Curva de calibración

Primeramente es necesario realizar una curva de calibración que se debe preparar cada vez que se preparen nuevas soluciones o se cambie de algún reactivo.

Se deben preparar por lo menos cinco estándares entre el rango de 0.01-1.0 mg N-NO_x/L a partir de la solución intermedia de nitrato la cual tiene una concentración de 0.01 µg N-NO₃⁻/L. Los volúmenes empleados para los estándares se calcularon a partir de la siguiente ecuación:



$$Vol.sol.int\ ermedia\ nitrato = \left(\frac{conc.estándar * 100mL}{10mg / mL} \right) \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

Los volúmenes de los estándares a emplear, se aforan con la solución diluida de cloruro de amonio-EDTA en un matraz volumétrico de 100ml y se procede a la reducción de los mismos. La tabla 3.1 muestra los volúmenes empleados y las concentraciones finales de los estándares utilizados para la curva de calibración utilizada en las determinaciones.

Es necesario comparar por lo menos un estándar de $N-NO_2^-$ con un estándar de $N-NO_3^-$ de la misma concentración para verificar la eficiencia de reducción de la columna. Cuando la eficiencia de la columna sea menor del 75%, es necesario reactivar los gránulos como anteriormente se describió.

Tabla 3.1 Volúmenes empelados para la preparación de los estándares de la curva de calibración.

Concentración de la solución intermedia de nitrato (mg $N-NO_3^-$ /L)	Volumen de la solución intermedia de nitrato (mL)	Volumen final de muestra (mL)	Concentración en volumen final (mg $N-NO_3^-$ /L)
10	0.5	100	0.05
10	1	100	0.1
10	2	100	0.2
10	4	100	0.4
10	6	100	0.6
10	10	100	1.0

Preparación de la columna de reducción

Se armó la columna y enseguida se llenó de agua. Se añadieron poco a poco los gránulos de cadmio cuperizados hasta obtener una columna de 18.5 cm de longitud. Se mantuvo el nivel de agua sobre los gránulos de cadmio para prevenir atrapamiento de aire. Se lavó la columna con 200 mL de solución diluida de cloruro de amonio-EDTA y se fijo un flujo entre 7-10 mL/min.

Tratamiento de la muestra

Para la determinación de los $N-NO_x$ en la muestra, es necesario filtrar la muestra a través de un filtro de membrana de 0.45 μm de diámetro del poro y ajustar el pH entre 7 y 9 con NaOH y HCl, en este caso se ajustó con NaOH 0.1M y HCl 0.1M, esto asegura un pH de 8.5 después de la adición de la solución de cloruro de amonio-EDTA.



Reducción de los estándares y la muestra

A 25 mL de los estándares y la muestra, se añadió 75 mL de solución de cloruro de amonio-EDTA. Posteriormente, esta preparación se vertió en la columna para su reducción. Se desecharon los primeros 25 mL y se recuperó un volumen no menor de 50 mL. Los estándares y muestras se prepararon por duplicado, además, es necesario hacer un blanco que se prepara igual que los estándares y las muestras pero con agua destilada. Esto se realiza con el fin de hacer una corrección por la posible concentración de N-NOx que pueda tener el agua destilada o los reactivos utilizados en la preparación de las soluciones.

NOTA: No hay necesidad de lavar la columna entre las muestras, pero si la columna no va a ser usada por varias horas o más tiempo, verter 50 mL de la solución diluida de cloruro de amonio-EDTA a la columna, taparla y nunca dejarla secar.

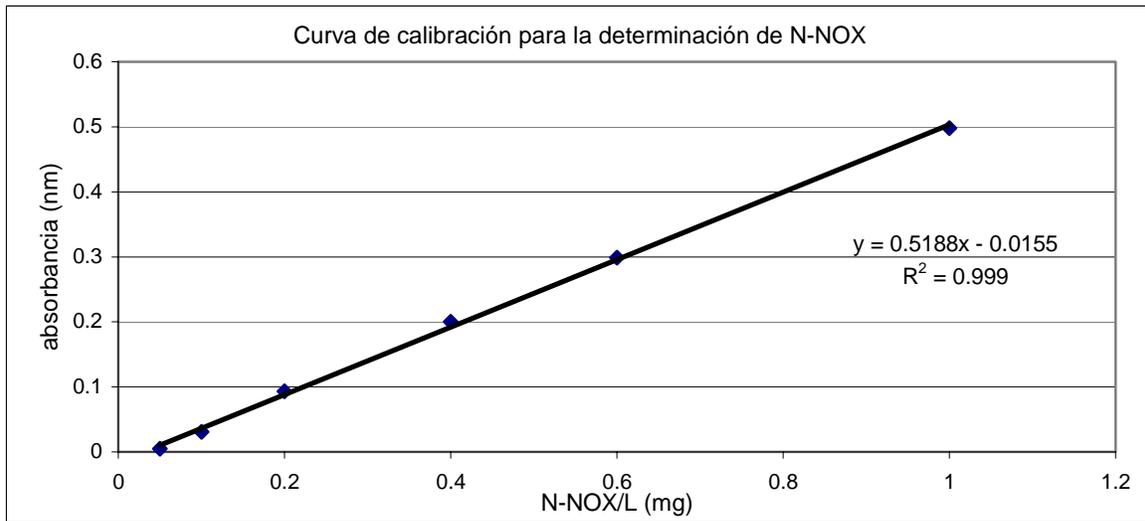
Medición y desarrollo del color

No más de 15 min. después de la reducción, añadir 2 mL de reactivo de color a 50 mL del volumen recuperado y mezclar. Después de un tiempo no mayor de 2 h, leer la absorbancia de los estándares y muestras a 543 nm.

Parte 4. Cálculos

Para obtener la concentración de N-NOx en la muestra, es necesario obtener primeramente la curva de calibración graficando en el eje de las ordenadas, el promedio de las absorbancias (previamente restadas de la absorbancia del blanco) contra la concentración teórica de cada uno de los estándares en el eje de las abscisas. A continuación, se muestra la curva de calibración obtenida y utilizada para obtener las concentraciones de N-NOx de las muestras analizadas.

	mg N-NOX/L	absorbancia	abs-blanco	
blanco	Blanco	0.049		promedio
Estándar 1	0.05	0.054	0.005	0.005
		0.054	0.005	
Estandar 2	0.1	0.08	0.031	0.031
		0.08	0.031	
Estandar 3	0.2	0.142	0.093	0.093
		0.142	0.093	
Estandar 4	0.4	0.249	0.2	0.2
		0.249	0.2	
Estandar 5	0.6	0.348	0.299	0.299
		0.348	0.299	
Estándar 6	1	0.547	0.498	0.498
		0.547	0.498	



Finalmente, una vez obtenida la ecuación de la curva de calibración, se sustituye en el valor (Y) de la ecuación, la absorbancia obtenida de cada una de las muestras y se despeja (X), que es el valor proporcional de la concentración de N-NOx contenida en la muestra.

$$Y = 0.5188X - 0.0155 \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

$$X(\text{conc } N - NOx \text{ en muestra}) = \left(\frac{\text{abs.muestra} + 0.0155}{0.5188} \right) \quad (\text{Ecuación 3.3})$$



Parte 5. Bibliografía

APHA. (1998). Standard Methods for the examination of water of wastewater. 20 ed. American Public Health Association – American Water Works Association - Water Pollution Control Federation (APHA-AWWA-WPCF). Washington D.C.



Anexo 3.3 Protocolo para la determinación de fósforo (método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico)

- Introducción
- Parte 1. Fundamento
- Parte 2. Material y reactivos
- Parte 3. Procedimiento
- Parte 4. Cálculos
- Parte 5. Bibliografía

Introducción

El fósforo se encuentra en las aguas naturales y residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos, clasificándose en ortofosfato, fosfatos condensados, polifosfatos, y los ligados orgánicamente. Estas formas del fosfato surgen de una diversidad de fuentes. Cantidades pequeñas de algunos fosfatos condensados se añaden a los suministros de agua durante el tratamiento, añadiéndose cantidades mayores de los mismos compuestos cuando el agua se utiliza para lavar ropa u otras limpiezas, ya que son los componentes principales de muchos preparados comerciales para la limpieza. Los fosfatos se utilizan ampliamente en el tratamiento de aguas de calderas. Los ortofosfatos aplicados como fertilizantes a la tierra cultivada agrícola o residencial, son arrastrados a las aguas superficiales con las lluvias y, en menor proporción, con la nieve derretida. Los fosfatos orgánicos se forman principalmente en procesos biológicos. Son aportados al alcantarillado por los residuos corporales y de alimentos, y además, se pueden formar a partir de los ortofosfatos durante los procesos de tratamiento biológico o por recibir la carga biológica del agua (APHA, 1998).

Parte 1. Fundamento

El método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico, es un método útil como análisis de rutina por su rapidez y sencillez a la hora de hacer las determinaciones de fósforo. Su principio está basado en que en una solución diluida de ortofosfato, el molibdato de amonio reacciona en condiciones ácidas para formar un ácido molibdofosfórico. En presencia de vanadio, se forma el ácido vanadomolibdofosfórico característico por su color amarillo. La intensidad del color amarillo, será proporcional a la concentración de fosfato contenida en la muestra. Este método es aplicable para el rango de 1 a 20 mgP/L (APHA, 1998).



Parte 2. Material y reactivos

El material básico utilizado en la prueba se enlista a continuación:

- a) Espectrofotómetro
- b) Placa de agitación
- c) Balanza analítica
- d) Material de vidrio
- e) Bomba de vacío
- f) Equipo de filtración
- g) Pipetas serológicas

Los reactivos y su preparación se describen a continuación:

- 1) **Solución de molibdato-vanadato:** Solución A: Disolver 25 g de molibdato de amonio en 300 mL de agua destilada. Solución B: Disolver 1.25 g de metavanadato de amonio en 300 mL de agua hirviendo, dejar enfriar y añadir 330 mL de HCl concentrado. Una vez preparadas ambas soluciones, verter la solución A en la solución B, mezclar y diluir a 1 L con agua destilada. Almacenar en un frasco color ámbar a temperatura ambiente.
- 2) **Solución patrón de fosfato:** Disolver 219.5 mg de fosfato de potasio monobásico anhidro (KH_2PO_4) en agua destilada y diluir a 1 L con agua destilada. $1\text{ mL} = 50.0\ \mu\text{g PO}_4^{3-} = 50\ \text{mg/L}$

Parte 3. Procedimiento

A continuación se detalla el procedimiento a seguir para la determinación de $P-PO_4^{3-}$ en el laboratorio.

Curva de calibración

Primeramente es necesario realizar una curva de calibración que se debe preparar cada vez que se preparen nuevas soluciones o se cambie algún reactivo.

Se deben preparar por lo menos cinco estándares entre el rango de 0.05 y 1.0 mg $P-PO_4^{3-}$ /L a partir de la solución patrón de fosfato la cual tiene una concentración de 50 mg/L. El volumen final de aforo de los estándares es de 50 mL. Los volúmenes empleados para los estándares calculados a partir de la solución patrón de fosfato, se calcularon a partir de la siguiente ecuación:

$$Vol.sol.patrón\ KH_2PO_4 = \left(\frac{conc.estándar * 50mL}{50mg / L} \right) \quad (\text{Ecuación 3.1})$$



La tabla 3.1 muestra los volúmenes empleados y las concentraciones finales de los estándares utilizados para la curva de calibración empleada.

Tabla 3.1 Volúmenes empleados para la preparación de los estándares de la curva de calibración.

Concentración de la solución de KH_2PO_4 (mg/L)	Volumen de la solución de KH_2PO_4 (mL)	Volumen final de muestra (mL)	Concentración en volumen final (mg KH_2PO_4 /L)
50	4	50	0.2
50	6	50	0.3
50	8	50	0.4
50	10	50	0.5
50	14	50	0.7
50	16	50	0.8
50	18	50	0.9

2. Tratamiento de la muestra

Para la determinación de P-PO_4^{3-} es necesario que la muestra sea filtrada previamente a través de un filtro de membrana de 0.45 μm de diámetro de poro para su determinación.

3) Medición y desarrollo del color de los estándares y la muestra

A 25 mL de afluente, 30 mL de efluente, y a cada uno de los volúmenes calculados de los estándares, añadir 10 mL de la solución de molibdato-vanadato y aforar a 50 mL con agua destilada, agitar ligeramente y dejar reposar a temperatura ambiente por 10 min. para que se desarrolle el color. Una vez cumplido el tiempo de reacción, leer la absorbancia a 470 nm. El color es estable por varios días, sin embargo, lo más recomendable es leer inmediatamente de cumplido el tiempo de reacción.

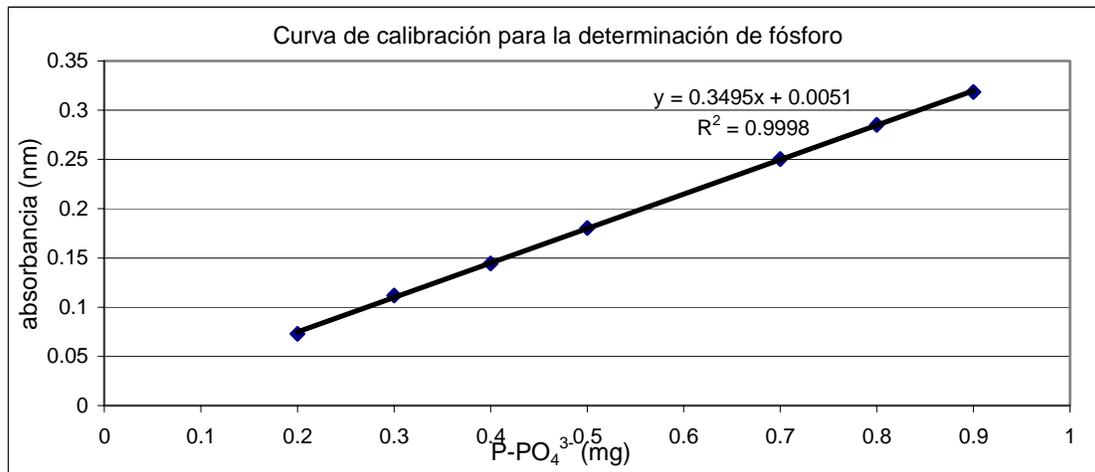
Los estándares y muestras se deben preparar por duplicado, además, es necesario hacer un blanco que se prepara igualmente que los estándares y las muestras pero con agua destilada. Esto se realiza con el fin de hacer una corrección por la posible concentración de P-PO_4^{3-} que pueda tener el agua destilada o los reactivos utilizados en la preparación de las soluciones.

Parte 4. Cálculos

Para obtener la concentración de P-PO_4^{3-} en la muestra, es necesario obtener primeramente la curva de calibración graficando en el eje de las ordenadas, el promedio de las absorbancias (previamente restadas de la absorbancia del blanco) contra la concentración teórica de cada uno de los estándares en el eje de las abscisas. A continuación, se muestra la curva de calibración obtenida y utilizada para obtener las concentraciones de P-PO_4^{3-} en las muestras analizadas.



mg P-PO ₄ ³⁻	absorbancia	abs-blanco	promedio
	0.003		
0.2	0.075	0.072	0.073
	0.077	0.074	
0.3	0.117	0.114	0.112
	0.113	0.11	
0.4	0.148	0.145	0.1445
	0.147	0.144	
0.5	0.184	0.181	0.1805
	0.183	0.18	
0.7	0.254	0.251	0.2505
	0.253	0.25	
0.8	0.287	0.284	0.285
	0.289	0.286	
0.9	0.323	0.32	0.3185
	0.32	0.317	



Finalmente, una vez obtenida la ecuación de la curva de calibración, se sustituye en el valor (Y) de la ecuación, la absorbancia obtenida de cada una de las muestras y se despeja (X), que es el valor proporcional de la concentración de P-PO₄³⁻ contenida en la muestra.

$$Y = 0.3495X + 0.0051 \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

$$X(\text{conc } P - PO_4^{3-} \text{ en muestra}) = \left(\frac{\text{abs.muestra} - 0.051}{0.3495} \right) \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

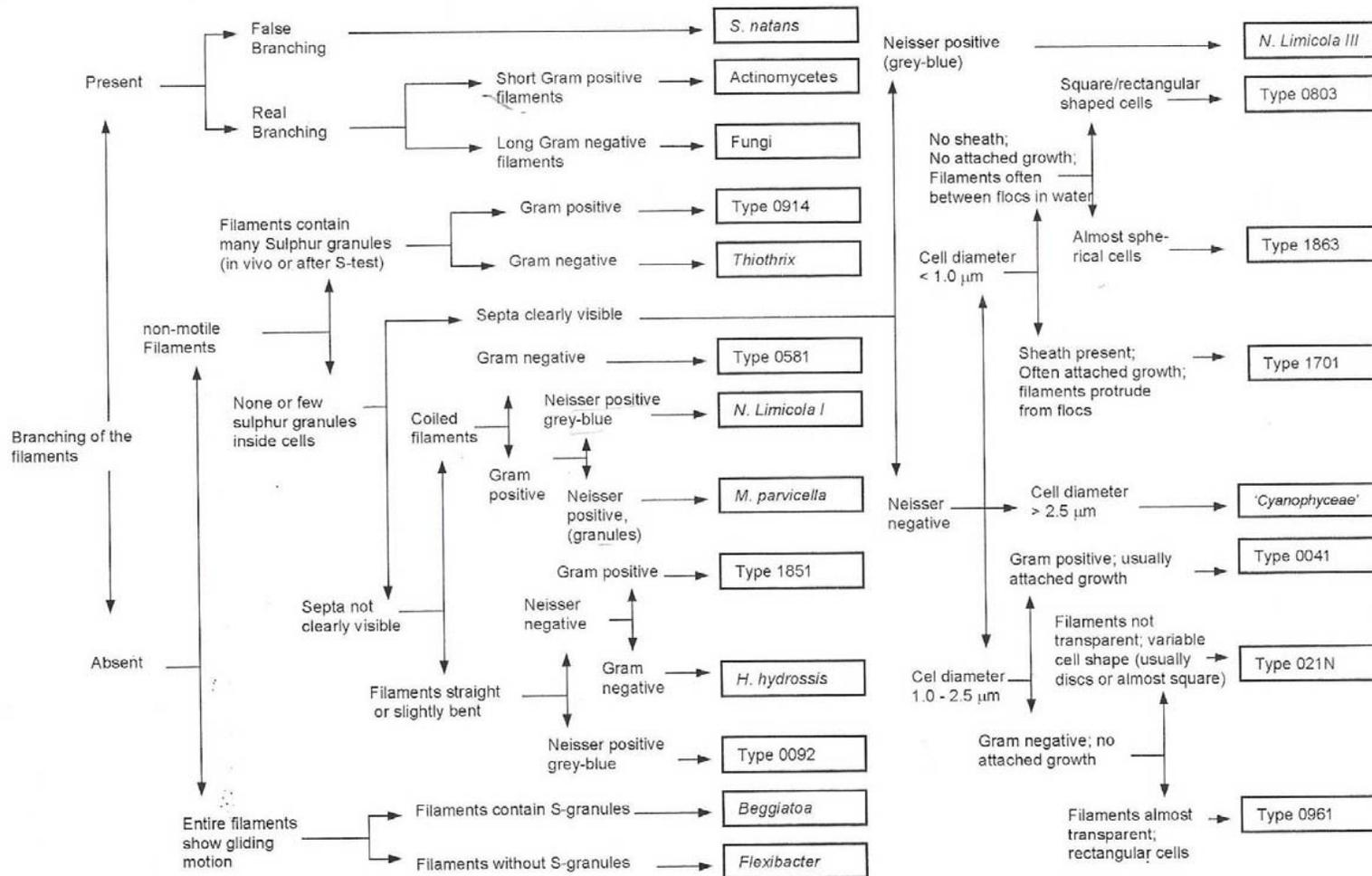


Parte 5. Bibliografía

APHA. (1998). Standard Methods for the examination of water of wastewater. 20 ed. American Public Health Association – American Water Works Association - Water Pollution Control Federation (APHA-AWWA-WPCF). Washington D.C.

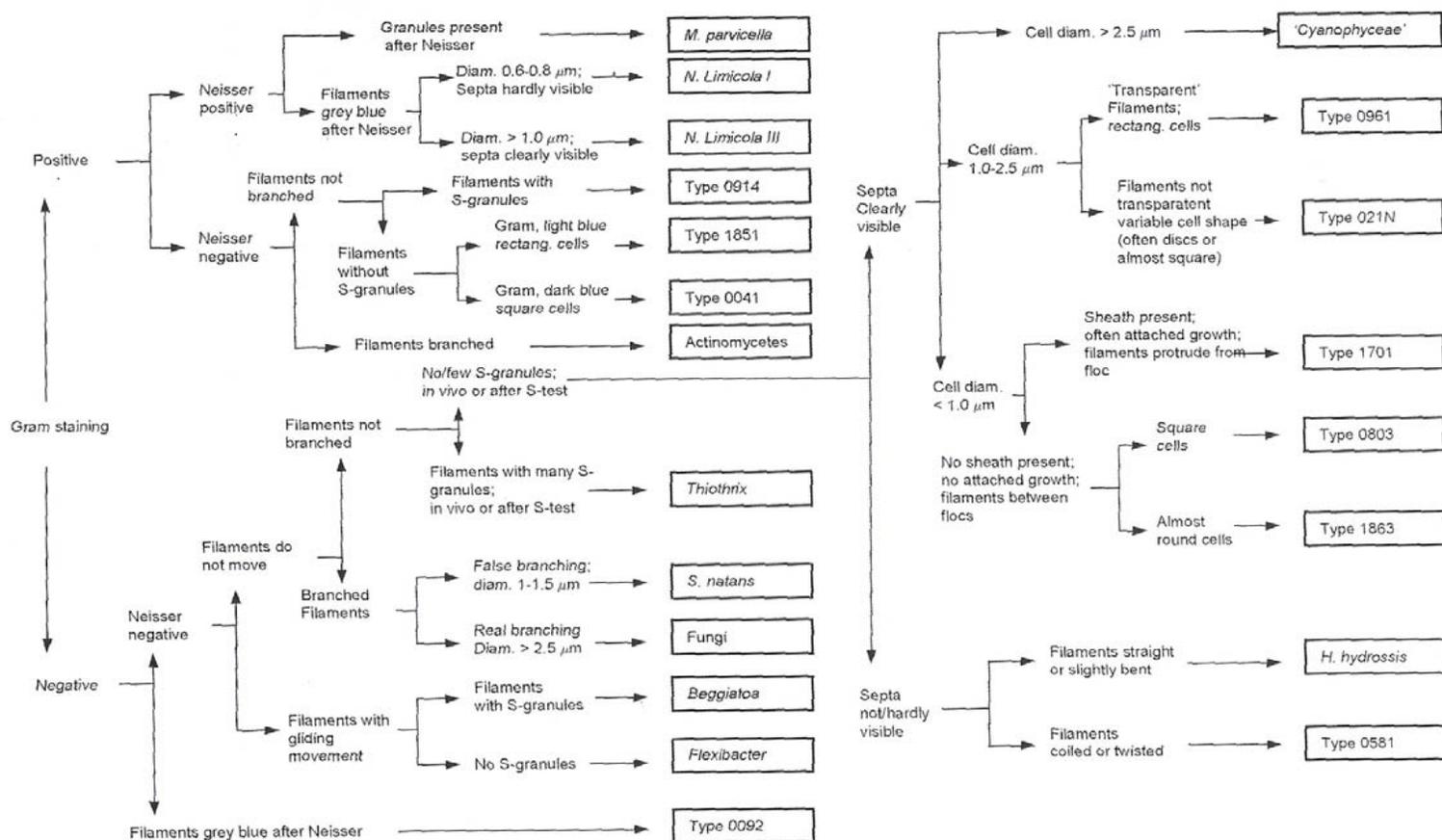


Anexo 3.4 Clave de identificación de los MF propuesta por Eikelboom (2000), parte I.





Anexo 3.4 Clave de identificación de los MF propuesta por Eikelboom (2000), parte II.





Anexo 3.5 Clave de identificación de los MF propuesta por Jenkins *et al.* (1993), parte I.

Filament Type	Gram Stain	Neisser Stain		Sulfur Granules		Other Cell Inclusions	Filament Diameter, μm	Filament Length, μm	Filament Shape	Filament Location	Cell Septa Clearly Observed	Indentations at Cell Septa	S Sheath	Attached Growth	Cell Shape and Size, μm	Notes
		Filament	Granules	<i>In situ</i>	S test											
<i>N. limicola</i> III	-,+	+	-	-	-	PHA	2.0	100-300	C	I,E	+	+	-	-	Discs, ovals 2.0 x 1.5	-
Type 0411	-	-	-	-	-	-	0.8-1.2	50-150	B,I	E	+	+	-	-	Elongated rods 0.8-1.2 x 2.0-5.0	Chain of cells
Type 0961	-	-	-	-	-	-	1.0-1.4	40-150	St	E	+	-	-	-	Rectangles 1.0-1.4 x 2.0-4.0	Transparent
Type 0092	-	+	-	-	-	+	0.8-1.0	10-80	St, E	I	-,+	-	-	-	Rectangles 0.8-1.0 x 1.0	Wider when Neisser stained
Type 0581	-	-	-	-	-	-	0.5-0.8	100-200	C	I	-	-	-	-	-	Coiled in floc
Type 0041	+,V	-	-,+	-	-	-	1.8-2.0	100-500	St, SC	I,E	+	-	+	+,,-	Squares 1.8-2.0 x 2.0-3.0	Neisser-positive reaction occurs
Type 0675	+,V	-	-,+	-	-	-	1.0	50-150	St, SC	I	+	-	+	+,,-	Squares 1.0 x 1.0	Neisser-positive reaction occurs
Type 1851	+ weak	-	-	-	-	-	0.8	50-200	St, SC	E	+,-	-	+	-,+	Rectangles 0.8 x 1.5-2.0	Filament bundles
Type 0803	-	-	-	-	-	-	0.8-1.0	50-150	St	E,F	+	-	-	-	Squares 0.8 x 1.0	-
<i>M. parvicella</i>	+	-	+	-	-	PHA	0.8	50-200	C	I	-	-	-	-	-	Large patches
Nocardioforms	+	-	+	-	-	PHA	1.0	5-30	I	I	+	-	-	-	Variable 1.0 x 1.0-2.0	True branching
Type 1863	-	-	-,+	-	-	PHA	0.8-1.0	10-50	B,I	E,F	+	+	-	-	Oval rods 0.8-1.0 x 1.0-1.5	Chain of cells Usually free in bulk

LEGEND:	+	Positive				<i>Filament Shape</i>				<i>Filament Location</i>						
	-	Negative				St	Straight	C	Coiled	E	Extends from floc surface					
	V	Variable				B	Bent	I	Irregularly shaped	I	Mostly within the floc					
	+, - or -, +	Variable; first is most observed				SC	Smoothly curved			F	Free in liquid between the flocs					
	Single symbol	Invariant														


Anexo 3.5 Clave de identificación de los MF propuesta por Jenkins *et al.* (1993), parte II.

Filament Type	Gram Stain	Neisser Stain		Sulfur Granules		Other Cell Inclusions	Filament Diameter, μm	Filament Length, μm	Filament Shape	Filament Location	Cell Septa Clearly Observed	Indentations at Cell Septa	Sheath	Attached Growth	Cell Shape and Size, μm	Notes
		Filament	Granules	<i>In situ</i>	S test											
<i>S. natans</i>	-	-	-	-	-	PHA	1.4-1.6	100->500	St	E	+	+	+	-	Sausage-shaped 1.6 x 2.5	False branching
Type 1701	-	-	-	-	-	PHA	0.8-1.0	20-80	St, B	I,E	+	+	+	++	Sausage-shaped 1.0 x 1.5	Cell septa sometimes hard to see
<i>H. hydroxsis</i>	-	-	-	-	-	-	0.5	10-100	St, B	E,F	-	-	+	-,+	-	Rigidly straight
Type 021N	-	-	-,+	-,+	+	PHA	1.6-2.5	50-1000	St, SC	E	+	+	-	-	Barrels, rectangles, discoid 1.6-2.5 x 2.0	Rosettes, gonidia
<i>Thiothrix</i> I	-,+	-	-,+	+,-	+	PHA	1.6-2.5	100->500	St, SC	E	+	-	+	-	Rectangles 0.8-1.4 x 1.5-3.0	Rosettes, gonidia
<i>Thiothrix</i> II	-,+	-	-,+	+,-	+	PHA	0.8-1.4	50-200	St, SC	E	+	-	+	-	Rectangles 0.8-1.2 x 1.0	Rosettes, gonidia
Type 0914	-,+	-	-,+	-,+	-	PHA	1.0-1.2	50-200	St	E,F	+	-	+	-,+	Squares 1.0 x 1.0	Sulfur granules, square
<i>Beggiatoa</i> spp.	-,+	-	-,+	+,-	+	PHA	3.0-4.0	100->500	St	F	-,+	-	-	-	Rectangles 2.0-4.0 x 6.0-8.0	Motile: flexing and gliding
<i>N. limicola</i> I	+	+	-	-	-	PHA	0.8-1.0	40-100	C	I,E	+	+	-	-	Ovals 0.8-1.0 x 0.8	-
<i>N. limicola</i> II	-,+	+,-	-	-	-	PHA	1.4	50-200	C	I,E	+	+	-	-	Discs, ovals 1.4 x 1.0-1.5	Incidental branching; Gram- and Neisser- variable



Anexo 3.6 Técnicas de tinción para los MF

La aplicación de técnicas diferenciales a los MF permiten resaltar características propias de cada uno de ellos, lo cual ayudara a la correcta identificación de los mismos.

Estas se realizan sobre muestras fijas de LM que se preparan de la siguiente manera:

1. Agitar con suavidad la muestra de LM para homogenizar.
2. Tomar una o dos gotas y depositarlas en un portaobjetos (previamente lavado y desengrasado).
3. Extender las gotas homogéneamente sobre el portaobjetos y dejar secar a temperatura ambiente.
4. Teñir las muestras siguiendo el protocolo para cada tinción.
5. Proceder al análisis microscópico de la preparación en campo claro y contraste de fases utilizando objetivo de 100X.
6. Hacer la observación de por lo menos 2 preparaciones.

TINCIÓN GRAM

Es una tinción diferencial que permite clasificar a las bacterias en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas, basándose en al grado de permeabilidad que las bacterias presentan al disolvente utilizado durante el procedimiento de tinción.

Color azul-violeta.....gram positivo
Color rojo-rosa.....gram negativo

Reactivos

Solución 1

A
Cristal violeta.....2 g
Etanol al 95%.....20mL

B
Oxalatodeamonio.....0.8 g
Agua destilada.....80 mL



Solución 2

Yodo.....1 g
Yoduro de potasio.....2 g
Agua destilada.....300 mL

Solución 3

Safranina O (safranina al 25% en etanol al 9%).....10 mL
Agua destilada.....100 mL

Procedimiento

- Teñir 1 min. con la solución 1 (cristal violeta) y enjuagar con agua destilada.
- Teñir 1min. con la solución 2 (yodo) y enjuagar con agua destilada.
- Decolorar unos pocos segundos con etanol al 95%.
- Teñir 1 min. con la solución 3 (safranina) y enjuagar con agua destilada.
- Dejar secar a temperatura ambiente y examinar a 100X en campo claro.

TINCIÓN NEISSER

Las bacterias suelen almacenar en su interior ciertos compuestos, formando los denominados gránulos de reserva. En ellos se encuentran los polifosfatos, que si bien no son observables con tinción previa, se pueden distinguir con facilidad cuando se practica la tinción de Neisser, al adquirir éstos un color negro-azulado.

Color azul-violeta.....Neisser positivo (filamentos o gránulos)
Color marrón claro amarillento.....Neisser negativo

Reactivos

Solución 1

A	B
Azul de metilo.....0.1 g	Cristal violeta (10g en 100ml etanol al 95%)...3.3 mL
Etanol al 95%.....5 mL	Etanol al 95%.....6.7 mL
Ácido glacial acético.....5 mL	Agua destilada.....100 mL
Agua destilada.....100 mL	

Mezclar dos partes de la solución A y una parte de la solución B (preparar mensualmente)

Solución 2

Café de bismarck (1 g por cada 100 mL agua destilada).....33.3 mL



Agua destilada.....66.7 mL

Procedimiento

- Teñir 30 seg. con la solución 1 y enjuagar con agua destilada.
- Teñir 1 min. con la solución 2 y enjuagar con agua destilada.
- Dejar secar a temperatura ambiente y examinar a 100X en campo claro.

TINCIÓN DE POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB)

Es una tinción indicativa de carencia de nutrientes (N y P) en un lodo activado.

Gránulos de PHB.....Gránulos intracelulares negro-azulados
Citoplasma.....Rosa, claro o sin teñir

Reactivos

Solución 1

Negro de Sudán B (IV).....0.3 g
Etanol al 60%.....100 mL

Solución 2

Safranina O.....0.5 g
Agua destilada.....100 mL

Procedimiento

- Teñir 10 min. con la solución 1 y enjuagar con agua destilada.
- Teñir 10 seg. con la solución 2 y enjuagar con agua destilada.
- Dejar secar a temperatura ambiente y examinar a 100X en campo claro.

TINCIÓN DE VAINAS

Cuando una célula tiene vaina o cubierta, ésta, actúa de forma de barrera para el colorante impidiendo que las células integrantes del filamento lleguen a teñirse, por el contrario, las células sin vaina se tiñen intensamente de color violeta, mientras que las vainas aparecen de claras a rosas.



Reactivos

Cristal violeta.....0.1 g
Agua destilada.....100 mL

Procedimiento

- Mezclar 1 gota de muestra a analizar (15 μ L) con una gota de la solución de cristal violeta (10 μ L) en un portaobjetos.
- Colocar un cubreobjetos y examinar a 100X en contraste de fases.

PRUEBA DE OXIDACIÓN DE SULFUROS (S-test)

Es una prueba que tiene como finalidad poner de manifiesto la capacidad de oxidación de sulfuro o azufre elemental.

Reactivos

Tiosulfato de sodio.....1 g
Agua destilada.....100 mL

Procedimiento

- Dejar sedimentar una muestra de lodos activados.
- Tomar 20 mL de sobrenadante en un erlenmeyer de 100 mL.
- Añadir 1 o 2 mL de lodos activados.
- Añadir 1 mL de solución de tiosulfato de sodio.
- Agitar el erlen meyer toda la noche a temperatura ambiente.
- Observar a 100X en contraste de fases.

Recomendaciones:

Cuando la muestra teñida requiera observarse después de uno o dos días de su preparación, es recomendable hidratarla con una gota de agua y posteriormente cubrirla con el cubreobjetos y así, observarla bajo aceite de inmersión.



Bibliografía

EMASESA, (1997). Microorganismos Filamentosos en el Fango Activado. Ayuntamiento de Sevilla, España.



ANEXO 3.7 Protocolo para la determinación del área bajo la curva (ABC)

Para el cálculo del ABC correspondiente al almacenamiento y crecimiento se siguió el siguiente procedimiento.

1. Identificar la línea correspondiente a la respiración endógena en el perfil de la VCO.

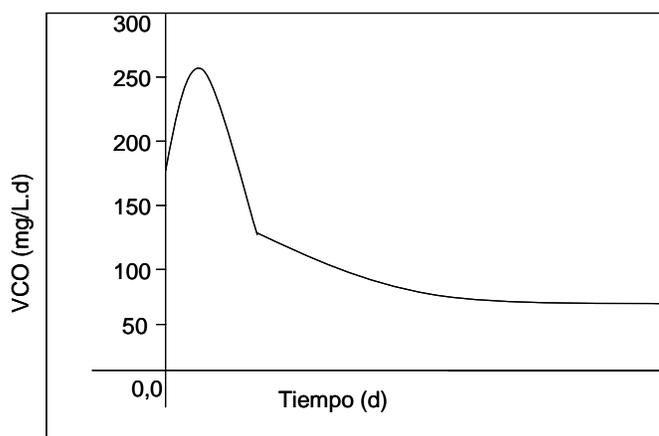


Figura 3.1. Perfil de la VCO

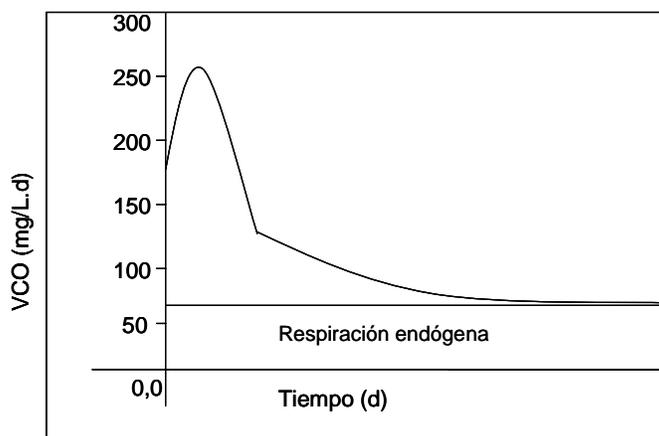


Figura 3.2. Perfil de la VCO indicando la respiración endógena.



2. Delimitar las áreas correspondientes al almacenamiento y el crecimiento trazando una línea que una el primer valor de la VCO correspondiente al metabolismo endógeno con el punto de inflexión observable en la curva (Figura 3.3).

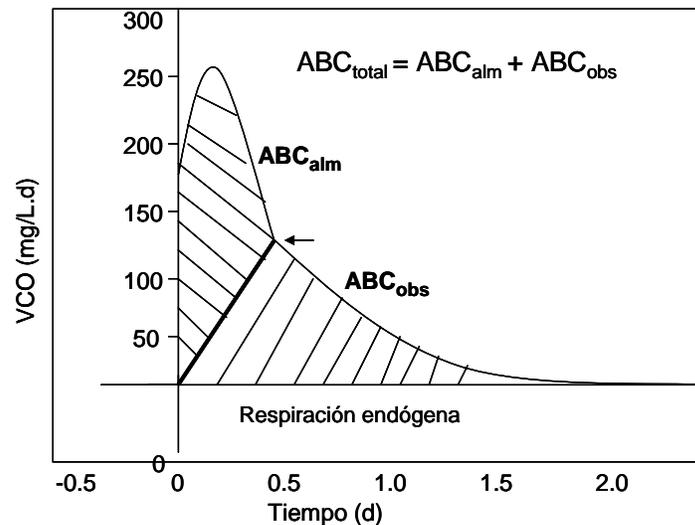


Figura 3.3. Delimitación de ABC_{alm} y ABC_{obs}

3. Calcular el ABC_{total} del perfil de la VCO con respecto a la horizontal correspondiente a la respiración endógena mediante el método de integración trapecial. Este consiste en sumar las áreas de cada uno de los trapecios en que fue subdividida el ABC_{total} (Figura 3.4).

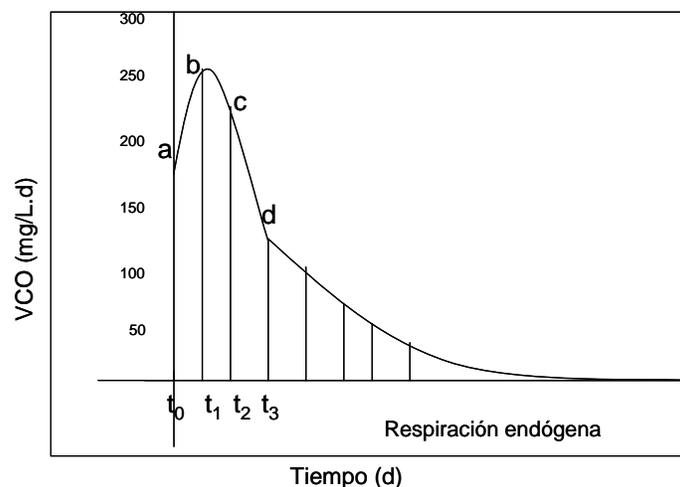


Figura 3.4. Integración trapecial del ABC_{total} .



Por ejemplo:

$$ABC_{total} = \frac{a+b}{2}(t_1 - t_o) + \frac{b+c}{2}(t_2 - t_1) + \frac{c+d}{2}(t_3 - t_2) + \dots \quad ()$$

4. Calcular por separado mediante el mismo método (integración trapecial) el ABC_{obs} (Figura 3.5).

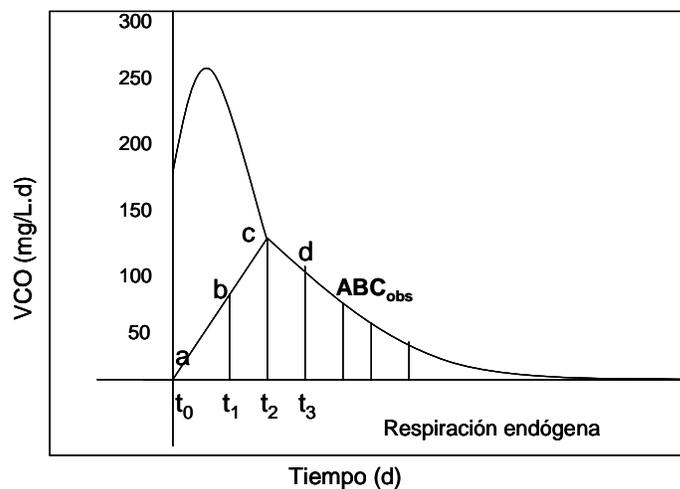


Figura 3.5. Integración trapecial del ABC_{obs} .

5. Obtener el ABC_{alm} mediante la siguiente fórmula.

$$ABC_{total} = ABC_{alm} + ABC_{obs} \quad (\text{Ecuación 3.1})$$



Anexo 3.8 Protocolo para la determinación de la velocidad de consumo de oxígeno (VCO)

- Introducción
- Parte 1. Material y reactivos
- Parte 2. Procedimiento
- Parte 3. Cálculos
- Parte 4. Bibliografía

Introducción

La velocidad de consumo de oxígeno (VCO) es una prueba que permite determinar la cantidad de O_2 consumido por los microorganismos al eliminar la DBO_5 de una muestra biológica, por ejemplo, de un lodo activado.

Parte 1. Material y equipo

Oxímetro
Material de vidrio
Agitador magnético
Placa de agitación
Soporte universal
Franela

Parte 2. Procedimiento

A continuación se detalla el procedimiento a seguir para la determinación de la VCO en el laboratorio.

Calibración del oxímetro

Previamente a la determinación de la VCO, es necesario calibrar el oxímetro para asegurar que los resultados registrados en la determinación sean confiables. Esta calibración se realizó de acuerdo al manual de procedimientos.

Preparación de la mezcla de AR y LM

La preparación de la mezcla, se realizó a partir del cálculo de la F/M, aplicando las fórmulas que en el apartado de 3.4.3.2 del Capítulo 3 se describen.



Determinación de la VCO

Posterior a la calibración del oxímetro, se realizará la determinación de la VCO como a continuación se describe:

1. Airear la mezcla de AR y LM en un vaso de precipitado de 2000 mL, hasta una concentración mínima de OD de 2 mg/L o preferentemente entre 4 a 5 mg/L de OD y mantener en agitación.
2. Colocar un trapo húmedo sobre la placa de agitación y colocar el matraz erlen meyer de 125 mL sobre la placa de agitación.
3. Introducir el agitador magnético dentro del matraz erlen meyer y comprobar una agitación a una velocidad de 5.
4. Asegurar que la concentración de OD en la mezcla es igual o mayor de 4 mg/L.
5. Llenar el matraz erlen meyer con la mezcla aireada hasta el rebose.
6. Introducir el electrodo de oxígeno.
7. Registrar el OD cada 10 segundos durante 15 min. o hasta que la concentración de OD llegue a 1 mg/L.

Seguimiento del proceso

8. Repetir los pasos 5 al 9 para obtener varias lecturas y obtener un perfil de la VCO.

Parte 4. Cálculos

1. Graficar la concentración de OD en el eje de las ordenadas y el tiempo en el eje de las abscisas.
2. Calcular la pendiente del gráfico.
3. Multiplicar por 3600 para convertir los seg. a h.
4. Graficar cada una de las VCO obtenidas contra el tiempo, para obtener un perfil como el que se muestra en la Figura 3.1.

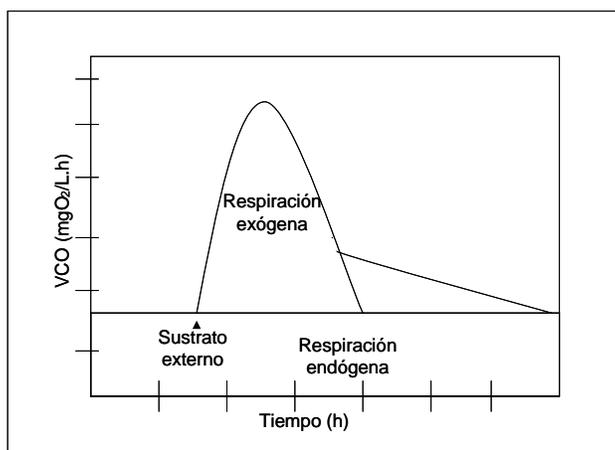


Figura 3.1. Perfil de la VCO.



Parte 4. Bibliografía

APHA. (1998). Standard Methods for the examination of water of wastewater. 20 ed. American Public Health Association – American Water Works Association - Water Pollution Control Federation (APHA-AWWA-WPCF). Washington D.C.



ANEXO 3.9 Protocolo para la determinación de las VEN y VEDN

Para el cálculo de las VEN y VEDN es indispensable contar con los valores internos del ciclo de las diferentes especies del N. La Figura 3.1 muestra un ejemplo de la evolución temporal del comportamiento del N durante un ciclo de tratamiento y además, se indican con letras mayúsculas los valores que deben considerarse para los cálculos.

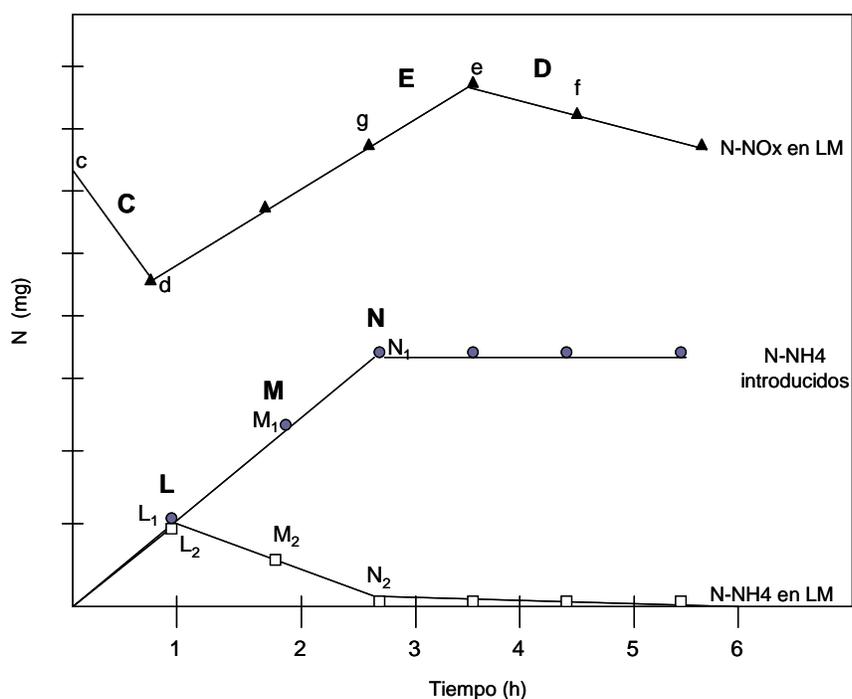


Figura 3.1. Ejemplo de la evolución temporal de N durante un ciclo de tratamiento.

Cálculo de las VEN en las fases de LLE-OX y REAC-OX

Las VEN en la fase de LLE-OX se calcularon con los datos de N-NH_4^+ (caída de amoníaco) y las VEN en la fase de REAC-OX se calcularon con los datos de N-NOx (aumento de N-NOx)



VEN (LLE-OX)

Para calcular la VEN en esta fase, se toman en cuenta la diferencia de los mg N-NH₄⁺ introducidos – mg N-NH₄⁺ en el LM en la fase de LLE-ANOX (L), LLE-OX 1 (M) y LLE-OX 2 (N). Con los resultados de las diferencias obtenidas y los tiempos de duración de cada una de estas fases, obtener la pendiente, ejemplo:

$$\begin{aligned} \text{LLE-ANOX (L)} &= L_1 - L_2 \\ \text{LLE-OX 1 (M)} &= M_1 - M_2 \\ \text{LLE-OX 2 (N)} &= N_1 - N_2 \end{aligned}$$

Una vez calculadas las diferencias, se grafican estos valores en el eje de las ordenadas (Y) y el tiempo de duración de cada fase en el eje de las abscisas (X).

Tiempo (h)	N (mg)
0.66	L
1.7	M
2.7	N

Se aplica la siguiente fórmula para el cálculo de la VEN (LLE-OX)

$$VEN_{LLE-OX} = \frac{\text{pendiente}}{SSVLM} \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

Donde:

Pendiente = mg/h

SSVLM = g

VEN (REAC-OX)

Para obtener la VEN en esta fase, se calcula la diferencia de los valores de N-NO_x en el LM del final de la fase de REAC-OX (e) - N-NO_x en el LM al inicio de la fase de REAC-OX (g), diferencia denotada por el valor de (E). Una vez calculadas esta diferencia, se aplica la siguiente fórmula para el cálculo de la VEN (REAC-OX)

$$VEN_{REAC-OX} = \frac{E}{SSVLM * t} \quad (\text{Ecuación 3. 2})$$

Donde:

E = e – g (mg)

SSVLM = g

t = tiempo de duración de la fase de REAC-OX (h)



VEDN (LLE-ANOX y SED)

Las VEDN en ambas fases se calculan de igual forma, la diferencia esta en que para el cálculo de la VEDN en el LLE-NOX se utiliza el valor del N desnitrificado en esta fase (C) y para la VEDN en la SED, se utiliza el valor del N desnitrificado en esta fase (D).

$$VEDN_{LLE-ANOX} = \frac{C}{SSVLM * t} \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

Donde:

C = c - d (mg)

SSVLM = g

t = tiempo de duración de la fase de LLE-ANOX (h)

Para calcular la VEDN en la SED se utiliza la misma ecuación, pero tomando en cuenta el N desnitrificado (D) y el tiempo de duración de esta fase.



ANEXO 4.1 Protocolo para la determinación del rendimiento de eliminación de N-NOx

El rendimiento de eliminación de N-NOx (R_{DN}) se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$R_{DN} = \frac{N_{DN}}{N_{NT}} \quad (\text{Ecuación 4.1})$$

Donde:

N_{DN} = nitrógeno desnitrificado (mg)

N_{NT} = nitrógeno nitrificado (mg)

Para el cálculo de N_{DN} y N_{NT} es indispensable contar con los valores internos del ciclo de las diferentes especies del N. La Figura 4.1 muestra un ejemplo de la evolución temporal del comportamiento del N durante un ciclo de tratamiento y además, se indican con letras mayúsculas los valores que deben considerarse para el cálculo del R_{DN} .

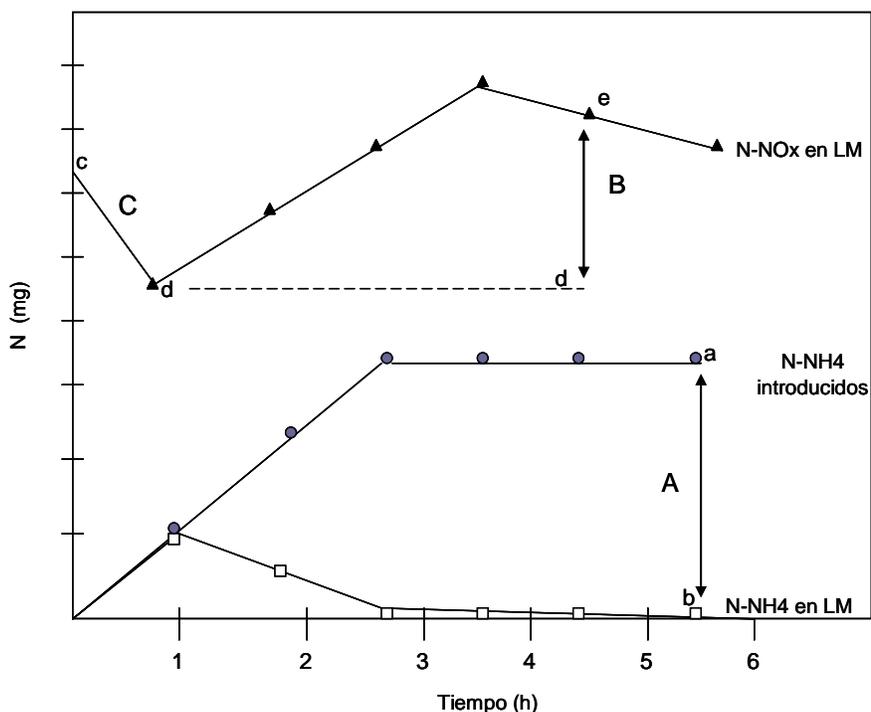


Figura 4.1. Ejemplo de la evolución temporal de N durante un ciclo de tratamiento.



De la Figura anterior:

A = N nitrificado en el ciclo (a - b)

B = el N nitrificado en el ciclo pero no desnitrificado (e - d)

C = el N del ciclo anterior desnitrificado en el ciclo (c - d)

Una vez obtenidos los valores A, B y C, se calcula el N_{DN} y N_{NT} como sigue:

$$N_{DN} = (A - B) + C \quad (\text{Ecuación 4.2})$$

$$N_{NT} = A \quad (\text{Ecuación 4.3})$$

Finalmente, se sustituye la ecuación 4.2 y 4.3 en la 4.1 para obtener el R_{DN} de N-NOx.