



**ESTUDIO DEL TRATAMIENTO DE AIREACION  
PROLONGADA PARA AGUAS RESIDUALES  
UTILIZANDO COMO MATRIZ AGUA DE MAR**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER  
EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN LA ESPECIALIDAD DE  
INGENIERIA AMBIENTAL**

PRESENTA

**ING. AMB. MARIA SELENE LUNA MARTÍNEZ**

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO. DICIEMBRE 2014

---

# CONTENIDO

	<b>Página</b>
Índice General .....	i
Índice de Figuras.....	iv
Índice de Tablas .....	vii
Nomenclatura y Unidades .....	ix
Resumen.....	xii
Summary.....	xiii
Prólogo.....	xiv

## CAPITULO 1. FUNDAMENTOS TEORICOS Y OBJETIVOS

1.	Fundamentos Teóricos.....	1
1.1.	Problemática de los sistema de tratamiento de aguas residuales salinas .....	1
1.2.	Composición Salina del Agua de Mar .....	1
1.3.	Características de los Microorganismos Halófilos .....	2
1.3.1.	Característica de microorganismos halófilos en el dominio <i>Archaea</i> .....	4
1.3.2.	Característica de microorganismos halófilos en el dominio <i>Bacteria</i> .....	6
1.3.3.	Característica de microorganismos halotolerantes en el dominio <i>Eucarya</i> .....	7
1.3.4.	La Pigmentación en los Microorganismos Halófilos Aerobios en los dominios <i>Archaea</i> y <i>Bacteria</i> .....	9
1.3.5.	Regulación Intracelular de Sales y Metabolismo Iónico en Microorganismos Halófilos .....	10
1.3.6.	La Homeostasis del pH en Microorganismos Halófilos .....	11
1.4.	Crecimiento bacteriano .....	14
1.4.1.	El crecimiento en términos del número de bacterias .....	14
1.4.2.	El crecimiento en términos de la masa bacteriana .....	15
1.4.3.	Crecimiento en cultivos mixtos .....	15
1.5.	Tratamiento de aguas residuales .....	16
1.5.1.	Tratamientos Biológicos .....	17
1.5.2.	Tratamientos Biológicos para Efluentes Salinos .....	20
1.5.3.	Efectos de la Salinidad y la Temperatura en la Degradación .....	21
1.5.4.	Aireación Prolongada (Proceso de Oxidación Total) .....	24
1.6.	Métodos Estadísticos para Análisis de Datos .....	26

1.6.1	Estadística No Paramétrica.....	27
1.6.2.	Elección del método de análisis estadístico.....	28
1.6.3.	Gráficas de caja .....	29
1.7.	Objetivos .....	31

## **CAPITULO 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL**

2.1.	Materiales, Reactivos y Equipo .....	32
2.1.1.	Materiales .....	32
2.1.2	Reactivos .....	33
2.1.3.	Equipos .....	33
2.2.	Agua Residual Salina .....	34
2.3.	Descripción del Montaje Experimental .....	34
2.3.1.	Aclimatación y desarrollo de biomasa (primera etapa) .....	34
2.3.2	Aclimatación y desarrollo de biomasa (segunda fase) .....	36
2.3.3.	Mezcla de Lodos Biológicos .....	37
2.4.	Condiciones de Operación de los Reactores en Paralelo.....	37
2.4.1.	Variación del tiempo de retención hidráulico .....	38
2.4.2.	Aireación Prolongada Variación en el pH .....	39
2.4.3.	Aireación Prolongada Variación en la Carga Orgánica .....	39
2.5.	Métodos Analíticos .....	40
2.6.	Análisis estadístico de datos .....	41
2.6.1.	Prueba de Normalidad .....	41
2.6.2.	Pruebas de comparación de grupos y correlación entre variables .....	41

## **CAPITULO 3. RESULTADOS**

3.1	Diagnóstico del proceso de aclimatación .....	43
3.1.1.	Primera Fase de Aclimatación .....	43
3.1.2.	Segunda Fase de Aclimatación .....	46
3.2.	Diagnóstico de reactores en continuo con variación de caudales .....	49
3.2.1.	Comparativa en el crecimiento de SSV para reactores en la variación de caudal.....	49
3.2.2.	Comparativa DBO para reactores durante la variación de caudal.....	51
3.2.3.	Comparativa Temperatura para reactores durante la variación de caudal .....	53

3.2.4.	Comparativa de Oxígeno Disuelto para reactores durante la variación de caudales .....	54
3.2.5.	Comparativa de Salinidad para reactores durante la variación de caudales .....	57
3.2.6.	Comparativa de pH para reactores durante la variación de caudales .....	58
3.2.7.	Correlación entre variables de operación durante la variación de caudal.....	60
3.3.	Diagnóstico de reactores en continuo con variación en el pH .....	63
3.3.1.	Comparativa en el crecimiento de SSV para reactores durante la variación de pH .....	63
3.3.2.	Comparativa de la DBO para reactores durante la variación de pH .....	64
3.3.3.	Comparativa de la Temperatura para reactores durante la variación de pH .....	66
3.3.4.	Comparativa del Oxígeno Disuelto para reactores durante la variación de pH .....	68
3.3.5.	Comparativa de la Salinidad para reactores durante la variación de pH .....	70
3.3.6.	Comparativa del gradiente de pH para reactores durante la variación de pH .....	72
3.4	Diagnóstico de reactores en continuo con variación de carga orgánica .....	74

## **CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

Conclusiones .....	78
Perspectivas .....	80

<b>BIBLOGRAFÍA .....</b>	<b>80</b>
--------------------------	-----------

## **ANEXOS**

I	Técnicas de Análisis SSV y DBO .....	81
II	Tablas de Resultados .....	101

## INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1.1. El árbol filogenético universal basado en la subunidad rRNA. Se indican los géneros representativos de los microorganismos halófilos pertenecientes a cada una de esas ramas (Oren, 2002).....	3
1.2. Imágenes fotográficas que muestran las formas de los microorganismos del dominio <i>Archae</i> . a) Forma de Baston, <i>Halobacterium salinarum</i> (Collage, 2006), b) Forma de coco, <i>Halococcus salifodinae</i> (Hooke, 2011), c) Pleomorfismo, <i>Haloferax mediterranei</i> (Khamisi, 2006) y d) Forma triangular <i>Haloarcula japoica</i> (Nakamura, 2011).....	5
1.3. Flagelos polares de <i>Halobacterium salinarium</i> . Bar, 1 $\mu\text{m}$ (Oren, 2002).....	5
1.4. <i>Dunaliella salina</i> junto a un cristal de sal (University, 2008).....	8
1.5. Funcionamientos de los pigmentos en las halobacterias (Parghi, 2002).....	10
1.6. Sistemas de transporte catión y anión que pueden facilitar los cambios de pHi. A) Antipuerto catión-protón B) Protón y ciclos de $\text{Na}^+$ en la membrana, donde a es la bomba primaria de protones, b es la ruta de entrada del protón, c es el antipuerto $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ (Booth, 1985).....	13
1.7. Curva de crecimiento bacteriano en términos de su número. Adaptado de (Metcalf y Eddy, 1991).....	14
1.8. Reacciones de transformación globales de los constituyentes orgánicos e inorgánicos del agua residual (adaptado de Henze et al., 2008).....	18
1.9. Proceso convencional de aireación prolongada (Adaptado de Ramalho, 1993).....	26
1.10. Representación de un Gráfico de Caja (Evans y Rosenthal, 2004).....	30
2.1. Primera etapa de aclimatación en el Reactor 1.....	34
2.2. Arreglo para los reactores 2, 3,4 y 5 durante la segunda etapa de aclimatación.....	36
2.3. Arreglo general de los reactores en paralelo para las pruebas de variación de caudal, pH y carga orgánica.....	38
3.1. Relación entre el crecimiento de SSV y aumento de la salinidad en la primera etapa de aclimatación.....	44
3.2. Relación entre el Oxígeno disuelto y la concentración de SSV en el reactor 1 durante la primera etapa de aclimatación.....	45
3.3. Relación de la temperatura con la concentración SSV en el reactor 1, primera etapa de aclimatación.....	45
3.4. Relación entre el crecimiento de SSV y aumento de la salinidad en la segunda etapa de aclimatación.....	47
3.5. Relación entre el Oxígeno disuelto y la concentración de SSV durante la segunda etapa de aclimatación.....	48

<b>3.6.</b>	Relación entre la temperatura y la concentración de SSV durante la segunda etapa de aclimatación.....	48
<b>3.7 a</b>	Comparativa del desempeño en la línea de tiempo de la concentración de SSV en los reactores con variación de caudales de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h.....	50
<b>3.7 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para la concentración de los SSV en los reactores con caudales de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de SSV, para $\alpha=0.05$ y $N=16$ .....	51
<b>3.8 a</b>	Comparativa del desempeño en la línea de tiempo del Porcentaje de Remoción de DBO en los reactores con variación de caudales de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h.....	52
<b>3.8 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para el Porcentaje de Remoción de DBO en los reactores con variación de caudales 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de Porcentaje de Remoción de DBO, para $\alpha=0.05$ y $N=11$ .....	53
<b>3.9 a</b>	Comparativa del desempeño en la línea de tiempo de la Temperatura en los reactores durante la variación de caudales de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h.....	54
<b>3.9 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para la Temperatura en los reactores durante la variación de caudales de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de Temperatura, para $\alpha=0.05$ y $N=29$ .....	54
<b>3.10 a</b>	Comparativa del desempeño en la línea de tiempo del Oxígeno Disuelto en los reactores durante la variación de caudales en 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h.....	56
<b>3.10 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para el Oxígeno Disuelto en los reactores durante la variación de caudales de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de Oxígeno Disuelto, para $\alpha=0.05$ y $N=29$ .....	56
<b>3.11 a</b>	Comparativa del desempeño en la línea de tiempo de la Salinidad en los reactores durante la variación de caudales en 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h.....	58
<b>3.11 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para la Salinidad en los reactores con variación de caudales en 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de Salinidad, para $\alpha=0.05$ y $N=29$ .....	58
<b>3.12 a</b>	Comparativa del desempeño en la línea de tiempo del pH en los reactores durante la variación de caudales en 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h.....	59
<b>3.12 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para el pH en los reactores con variación de caudales en 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de pH para $\alpha=0.05$ y $N=24$ .....	60
<b>3.13 a</b>	Comparativa del desempeño de los SSV en la línea de tiempo para los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5.....	64
<b>3.13 b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para los SSV en los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de SSV para $\alpha=0.05$ y $N=22$ .....	64

<b>3.14 a</b>	Comparativa del desempeño para el Porcentaje de Remoción de la DBO en la línea de tiempo para los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5.....	66
<b>3.14b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para el Porcentaje de Remoción de la DBO en los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman del % de Remoción de DBO para $\alpha=0.05$ y $N=11$ .....	66
<b>3.15.a</b>	Comparativa de la Temperatura en la línea de tiempo para reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5.....	67
<b>3.1.5.b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para la Temperatura en los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de la Temperatura para $\alpha=0.05$ y $N=27$ .....	68
<b>3.16.a</b>	Comparativa del Oxígeno Disuelto en la línea de tiempo para los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5.....	70
<b>3.16.b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para el Oxígeno Disuelto en los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman del Oxígeno Disuelto para $\alpha=0.05$ y $N=27$ .....	70
<b>3.17.a</b>	Comparativa de la Salinidad en la línea de tiempo para reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5.....	71
<b>3.17.b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigote para la Salinidad en los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman de la Salinidad para $\alpha=0.05$ y $N=27$ .....	72
<b>3.18.a</b>	Comparativa del Gradiente de pH en la línea de tiempo para reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5.....	74
<b>3.18.b</b>	A la izquierda, la gráfica de caja y bigotes para el Gradiente de pH en los reactores con variación de pH de 10, 8, 6 y 5. A la derecha, cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Friedman del Gradiente de pH para $\alpha=0.05$ y $N=28$ .....	74
<b>3.19</b>	Comparativa en el crecimiento de SSV en la línea de tiempo para reactores con variación de carga promedio de 250 mg/L y 330 mg/L.....	75
<b>3.20</b>	Comparativa del % de Remoción de la DBO en la línea de tiempo de los reactores con variación de carga promedio de 250 mg/L y 330 mg/L .....	75

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
1.1.	Clasificación de microorganismos basada en su respuesta de crecimiento en medios conteniendo sal(Flannery, 1956; Kerker, 2004).....	4
1.2.	Visión general de los factores importantes que determinan la estructura de la población microbiana en tratamiento de agua residual (Nielsen, Daims, & Lemmer, 2009).....	16
1.3.	Tipos de tratamiento de aguas residuales (Ramalho, 1993).....	17
1.4.	Principales procesos de tratamiento biológico utilizados para el tratamiento de agua residual (Metcalf & Eddy, 1991).....	19
1.5.	Remoción de materia orgánica de tratamientos aerobios aplicados con concentraciones variables de salinidad.....	22
1.6.	Remoción de nutrientes en tratamientos aerobios aplicados con concentraciones variables de salinidad.....	23
1.7.	Ventajas y Desventajas de los métodos no paramétricos (Triola, 2004).....	28
1.8.	Selección de la Prueba Estadística adaptado de Motulsky (1995).....	28
1.9.	Comparación de pruebas paramétricas y no paramétricas (Triola, 2004).....	29
2.1.	Características del reactor utilizado en la primera etapa de aclimatación.....	35
2.2.	Parámetros de monitoreo para el Reactor 1.....	36
2.3.	Condiciones de operación de los reactores 2, 3, 4 y 5 en la fase de variación de tiempo de retención hidráulico.....	39
2.4.	Condiciones de operación de los reactores 2, 3, 4 y 5 en la fase de variación del pH del afluente.....	39
2.5.	Condiciones de operación de los reactores 2, 3, 4 y 5 en la fase de variación de carga orgánica del influente.....	40
2.6.	Parámetros de monitoreo para los Reactores 2, 3, 4 y 5.....	40
3.1.	Prueba de correlación de Spearman para variables de aclimatación primera etapa, N=24 y $\alpha=0.05$ .....	46
3.2.	Valores de coeficiente de correlación de Spearman para el diagnóstico de variables de los reactores de 0.43 L/h 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.75 L/h durante el procedimiento de operación de variación de caudales.....	61
3.3.	Cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Wilcoxon de variación de carga para $\alpha=0.05$ .....	76
3.4.	Cuadro de análisis estadístico no paramétrico de Spearman Variación de carga para los reactores con carga orgánica promedio de 250 mg/L y 330 mg/L, para $\alpha=0.05$ .....	77

<b>A.1.</b>	Datos de Sólidos Suspendidos Volátiles, Oxígeno Disuelto, Temperatura y Salinidad con respecto al tiempo para la Primera Etapa de Aclimatación.....	101
<b>A.2.</b>	Datos de Sólidos Suspendidos Volátiles, Oxígeno Disuelto, Temperatura y Salinidad con respecto al tiempo para la Segunda Etapa de Aclimatación.....	101
<b>A.3.</b>	Datos de SSV para los reactores de 0.43L/h, 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.70 L/h en la etapa de variación de caudales.....	102
<b>A.4.</b>	Datos de porcentaje de remoción de DBO para los reactores de 0.43 L/h, 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.70 L/h en la etapa de variación de caudales.....	102
<b>A.5.</b>	Datos de Temperatura para los reactores de 0.43 L/h, 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.70 L/h en la etapa de variación de caudales.....	103
<b>A.6.</b>	Datos de pH para los reactores de 0.43 L/h, 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.70 L/h en la etapa de variación de caudales.....	104
<b>A.7.</b>	Datos de Oxígeno Disuelto para los reactores de 0.43 L/h, 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.70 L/h en la etapa de variación de caudales.....	105
<b>A.8.</b>	Datos de Salinidad para los reactores de 0.43 L/h, 0.50 L/h, 0.60 L/h y 0.70 L/h en la etapa de variación de caudales.....	106
<b>A.9.</b>	Datos de SSV para los reactores con pH de influente de 10, 8, 6 y 5 .....	107
<b>A.10.</b>	Datos de porcentaje de remoción de DBO para los reactores con pH de influente de 10, 8, 6 y 5. ....	108
<b>A.11.</b>	Datos de temperatura para los reactores con pH de influente de 10, 8, 6 y 5.....	109
<b>A.12.</b>	Datos de gradiente de pH para los reactores con pH de influente de 10, 8, 6 y 5.....	110
<b>A.13.</b>	Datos de oxígeno disuelto para los reactores con pH de influente de 10, 8, 6 y 5.....	111
<b>A.14.</b>	Datos de salinidad para los reactores con pH de influente de 10, 8, 6 y 5.....	112
<b>A.15.</b>	Datos de Sólidos Suspendidos Volátiles para los reactores con carga promedio de 250 mg/L y 330 mg/L en la etapa de variación de carga orgánica.....	113
<b>A.16.</b>	Datos de Demanda Bioquímica de Oxígeno para los reactores con carga promedio de 250 mg/L y 330 mg/L en la etapa de variación de carga orgánica.....	114
<b>A.17</b>	Datos de SSV para reactores con carga promedio de 250 mg/L y 330 mg/L en la etapa de variación de carga orgánica.....	115

---

# NOMENCLATURA Y UNIDADES

## Alfabeto Árábigo

A/M	Relación alimento microorganismo
AEi	Frecuencias acumuladas esperadas
AOi	Frecuencias acumuladas observadas
ATP	Adenosin trifosfato
C	Carbono
°C	Grados Centígrados
Cl <sup>-</sup>	Ión de Cloro
cm	Centímetros
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COT	Carbono orgánico Total
Cs <sup>+</sup>	Ión de Cesio
D	Diferencias Máximas
d	Días
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
g	gramos
h	Hora
H <sup>+</sup>	Ión de hidrógeno
H <sub>1</sub>	Hipótesis alternativa
H <sub>2</sub> O	Agua
HCl	Ácido clorhídrico
H <sub>0</sub>	Hipótesis nula
ISR	Rodopsinas sensoriales
K <sup>+</sup>	Ión de potasio
KCl	Cloruro de potasio
L	Litro
LA	Lodos Activados
Li <sup>+</sup>	Ión de litio
M	Molaridad
m <sup>3</sup>	Metro cúbico

---

mg/L	Miligramos por Litro
min	minuto
mL	Mililitros
MLVSS	Sólidos suspendidos en el licor mezclado
mV	milivolts
N	Nitrógeno
<i>n</i>	Número de datos
Na <sup>+</sup>	Ión de sodio
NaCl	Cloruro de Sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
ND	No determinado
NH <sub>3</sub> -N	Nitrógeno amoniacal
NKT	Nitrógeno total Kjeldahl
nm	nanómetros
OD	Oxígeno disuelto
OH <sup>-</sup>	Ión hidróxido
P	Valor de probabilidad
pH	Potencial de hidrógeno
pHi	Potencial de hidrógeno interno
ppm	Partes por millón
ppt	Partes por mil (gr de sal / kg de agua),por sus siglas en inglés (part per thousand)
PSU	Unidades prácticas de salinidad
PVC	Policloruro de vinilo
Q	Caudal total
R	Coefficiente de correlación de Pearson
rem	Remoción
ROC	Reactor de Oxidación por Contacto
rpm	Revoluciones por minuto
Rs	Coefficiente de Spearman
RSB	Reactor de sólidos biológicos
s	Desviación Estándar
Se	Concentración del efluente

---

---

So	Concentración del influente
SS	Sólidos suspendidos
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
THR	Tiempo de retención hidráulico
TRH	Tiempo de retención hidráulico
TRLB	Tiempo de retención de lodos biológicos
UABS	Reactor anaerobio de flujo ascendente
UV	Ultravioleta
V	Velocidad
Vis	Visible

### **Alfabeto Griego**

$\alpha$	Nivel de significancia
$\mu$	Media
$\sigma$	Desviación estándar

## Resumen

Debido a la baja disponibilidad de agua dulce en regiones costeras, se plantea el uso alternativo del agua de mar en inodoros, lo cual disminuiría en gran medida el consumo del recurso hídrico. Como consecuencia de esta aplicación se obtendrían aguas residuales salinas con carga orgánica variable, por lo que se hace importante su tratamiento antes de descargar en cuerpos receptores tales como ríos, lagos, estuarios o mar.

Los tratamientos biológicos de agua residual disponibles han demostrado tener una eficiencia alta en la remoción de contaminantes cuando se conocen y controlan las variables de entrada tales como caudal, concentración de la materia orgánica y biomasa en el reactor, aunque estas se aplican principalmente a agua con baja concentración de sales.

El objetivo principal de la presente tesis ha sido estudiar la posibilidad de utilizar un tratamiento biológico aerobio que permita la remoción de la materia orgánica mediante una adecuada aclimatación de microorganismos a condiciones de salinidad superiores a las 30 partes por mil, y además conocer si la capacidad homeostática de los microorganismos halófilos promovida por la variación de pH perjudica o beneficia la eficiencia del tratamiento.

En el presente trabajo se aplica un tratamiento biológico de aireación extendida, alimentada con agua residual proveniente de agua servicios del CIDETEQ y acondicionada con sales marinas hasta obtener la concentración de operación de 32 partes por mil. En la primera etapa se aplica una variación en el caudal para conocer la eficiencia de remoción de la carga orgánica, mientras que en la segunda etapa se realiza una variación en el pH del agua de alimentación para descubrir las capacidades homeostáticas de los microorganismos halófilos.

Previo al arranque del estudio se establece una aclimatación de biomasa a través de dos vías, la primera mediante la adaptación de biomasa proveniente de un reactor biológico aerobio en operación, aumentando gradualmente la concentración de sales hasta llegar a la concentración de agua de mar, y la segunda es mediante la promoción del crecimiento de microorganismos de una muestra de agua de mar proveniente de las costas de Colima, en reactor batch.

Durante el estudio, el tratamiento biológico de aireación extendida, ha demostrado obtener eficiencias de remoción de hasta 80%, promoviendo una mejora cuando se alimenta con agua a un pH de 10 o 6.

## Summary

Due to the low availability of freshwater in coastal regions, there is the alternative to use sea water in toilets, which would greatly decrease the consumption of water resources. As a result of this application variable saline wastewater organic load is obtained, so treatment is important before discharging into receiving water bodies such as rivers, lakes, estuaries or sea.

Biological treatment of wastewater available have shown a high efficiency in the removal of pollutants and control when knowledge and control input variables such as, flow, concentration of organic matter and biomass in the reactor, although these are mainly applied to water with low salt concentration.

The main goal of this thesis was to study the possibility of using an aerobic biological treatment which allows the removal of organic matter by microorganisms proper acclimatization to salinity higher than 30 parts per thousand, and also to know whether the ability homeostatic halophiles microorganisms promoted by the pH change damage or benefits the treatment efficiency.

In this paper a biological treatment with extended aeration wastewater fed from water services CIDETEQ and conditioned with sea salts to obtain the concentration of 32 parts per thousand. In the first stage applies a variation in the flow rate for the removal efficiency of the organic load, whereas in the second stage, a variation in the pH of the feed water was applied to discover homeostatic capabilities halophiles microorganisms.

Prior to study start establishing a biomass acclimatization via two routes, by adapting biomass from an aerobic biological reactor in operation, gradually increasing the concentration of salt to reach the sea water concentration, and the second is by promoting the growth of microorganisms in a sample of seawater from the coast of Colima, and fed with saline wastewater in batch reactor. During the study the extended aeration biological treatment has been shown to produce removal efficiencies of up to 80%, promoting better when fed with water at a pH of 10 or 6.

## Prólogo

En el Capítulo 1, denominado Fundamentos Teóricos, se encuentran descritas la composición salina del agua del mar, una descripción de los microorganismos halófilos haciendo énfasis en su metabolismo, estructura celular y capacidad de regulación osmótica cuyas características les permiten adaptarse a un ambiente hostil de alta concentración de sales (mayor a 30 g sal /L de agua), además de la identificación de las etapas de crecimiento microbiológico y los procesos metabólicos. Posteriormente se hace una revisión de los sistemas de tratamiento biológicos utilizados para aguas residuales salinas y las eficiencias encontradas para cada una de sus aplicaciones. Al final se incluye una tabla comparativa entre los procesos aerobios convencionales y de aireación prolongada para resaltar la justificación del presente trabajo.

En el Capítulo 2, denominado Desarrollo Experimental, se explican las etapas en las que se basaron los estudios para alcanzar el objetivo del proyecto. En la primera etapa se desarrolló la aclimatación de las bacterias a partir de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales y por otro lado la adaptación de microorganismos a partir de agua de mar. Posterior a la adaptación microbiológica se efectúa un experimento en paralelo de cuatro reactores para determinar eficiencia de degradación, con la variación de caudal y misma concentración de sal de aproximadamente 32 ppt, para finalmente aplicar una variación en el pH del agua de entrada en rangos de 5, 6, 8 y 10, manteniendo un caudal de entrada de 0.5 L/h esto con la finalidad de conocer la capacidad de adaptación homeostática (buffer) de los microorganismos presentes y determinar el porcentaje de remoción de la materia orgánica al exponerse a un estrés de pH.

En el Capítulo 3, Discusión de Resultados, se presentan los resultados de cada de las etapas de la parte experimental, en el orden en que se mencionan en el capítulo 2, presentando el análisis estadístico para definir relación entre variables para cada reactor y la comparación de la eficiencia de remoción de la materia orgánica entre reactores, así como el análisis de la capacidad buffer para la parte de variación del pH, de igual manera, la revisión del comportamiento de la operación de los reactores en la variación de la carga orgánica.

# **CAPITULO 1**

## **Fundamentos Teóricos y Objetivos**

## 1. Fundamentos Teóricos

### 1.1 Problemática de los sistema de tratamiento de aguas residuales salinas

Los sistemas de lodos activados son el tipo de tratamiento biológico aerobio de agua residual más común, por presentar una buena eficiencia de remoción de la materia orgánica disuelta. Cuando estos sistemas se aplican a las aguas residuales con altas concentraciones de sales inorgánicas principalmente cloruro de sodio (>20 g/L) y sulfato de sodio, presentan una afectación en la biodegradación aerobia causada por la plasmólisis en las bacterias de los lodos activos (Tuin et al., 2006; Kargi, 2002). Las principales desventajas que se observan son: una disminución en la remoción de Demanda Química de Oxígeno (DQO), disminución en la nitrificación y la desnitrificación (University, K.S.,2008), así como mayor sensibilidad a la variación en la concentración de sales (Tuin et al., 2006).

### 1.2 Composición Salina del Agua de Mar

La principal fuente de sales en el océano son los minerales que son arrastrados por las corrientes de ríos que se descargan en estos, tras un proceso de millones de años y como resultado de la distribución en el océano a través de la mezcla por las mareas y corrientes. El agua de mar es una solución complicada que contiene la mayoría de los elementos conocidos, algunos de los componentes más importantes, como porcentaje de masa total de material disuelto, son: los iones de cloruro (55%), sulfato (7.7%), sodio (30.7), magnesio (3.6%), calcio (1.2%) y potasio (1.1%). Mientras que la concentración del material disuelto varía de un lugar a otro, las proporciones de los componentes más abundantes permanecen casi constantes (Tallery et al., 2011).

El parámetro conocido como salinidad fue originalmente definido como la masa en gramos de un material sólido en un kilogramo de agua de mar después de la evaporación del agua; esto es conocido como salinidad absoluta. El promedio en agua de mar es cerca de los 35 gramos de sal por kilogramo de agua de mar (g/kg) escrito como “S = 35 ‰” o como “S= 35 ppmil y se lee como 35 partes por mil. Debido a que las mediciones por evaporación son laboriosas, esta definición fue rápidamente sustituida en la práctica. Una definición químicamente más estricta se refiere a la salinidad como “La cantidad total de material sólido en gramos contenido en un kilogramo de agua salada cuando todo el carbonato ha sido convertido a óxido, el bromuro y el yoduro reemplazado por cloro, y la materia orgánica totalmente oxidada” (Figuerelo y Marino, 2004).

Actualmente la salinidad puede ser determinada a través de su relación con la conductividad eléctrica del agua de mar, la cual depende de la salinidad y la temperatura. Esta cantidad basada en la conductividad es llamada salinidad práctica, algunas veces utiliza las siglas PSU (*practical salinity units*). El algoritmo que es ampliamente utilizado para calcular la salinidad desde la conductividad y la temperatura es llamado escala de salinidad práctica (Tallery et al., 2011).

### **1.3 Características de los Microorganismos Halófilos**

La degradación de los residuos en las aguas residuales se realiza por microorganismos sobre la base de la estructura y función celular (Metcalf y Eddy, 1991). En el caso de los halófilos son organismos que prosperan en concentraciones de sal relativamente altas, como su nombre lo indica la palabra halófilo es derivado de dos palabras griegas “*halos*” y “*philus*”, que significan respectivamente, “sal” y “amante”, por lo tanto los halófilos son definidos como organismos amantes de la sal (Flannery, 1956; Oren, 2002)..

Los halófilos se encuentran en los tres dominios de la vida: Arqueas (*Archaea*), Bacterias (*Bacteria*) y Eucariontes (*Eucarya*). (Oren, 2002). Siendo los grupos procariontes (*Archae* y *Bacteria*) los de mayor importancia para el tratamiento biológico de aguas residuales, por su parte, los organismos eucariontes para este fin incluyen hongos, protozoarios, rotíferos y algas (Metcalf y Eddy, 1991). En la Figura 1.1 se muestra el árbol universal de la vida, remarcando aquellas ramas que contienen microorganismos halófilos.



**Tabla 1.1** Clasificación de microorganismos basada en su respuesta de crecimiento en medios conteniendo sal (Flannery, 1956; Kerkar, 2004).

Grupos	Respuesta de crecimiento en el medio + sal
<b>I.No halófilos</b>	
A. Sensibles a la sal	Crece solo en medios conteniendo menos del 2 por ciento de sal
B. Tolerante a sal	Crece mejor en medios conteniendo menos del 2 por ciento de sal, pero pueden crecer en medios conteniendo más del 2 por ciento
<b>II.Halófilos</b>	
A. Facultativos	Crece en medio conteniendo menos del 2-5 por ciento de sal, pero crece mejor en medios contenidos más del 2 por ciento
B. Moderados	Crece en medios que contiene más del 5-20 por ciento de sal.
C. Extremos	Crece solo en medios que contiene entre 20 -30 por ciento de sal o más.

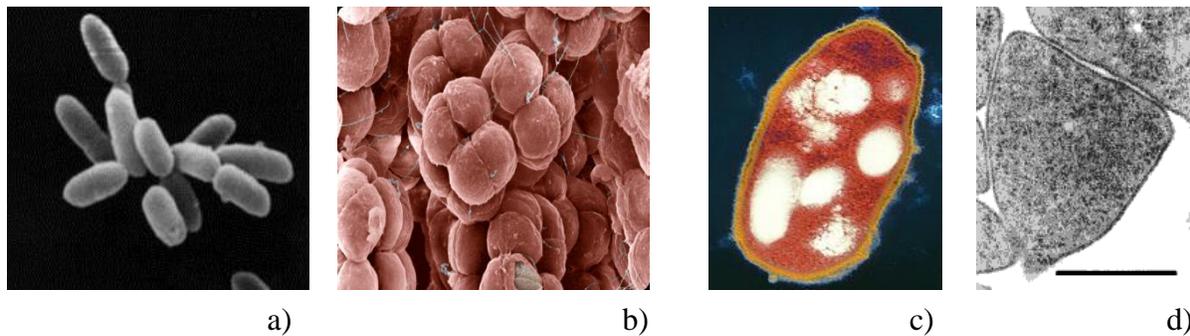
Los microorganismos halófilos están dispersos entre los microorganismos no halófilos de las familias dentro del árbol filogenético. Por lo que es importante una revisión de las características generales de estos microorganismos en los tres dominios antes mencionados.

### 1.3.1 Característica de microorganismos halófilos en el dominio *Archaea*.

Debido a su organización celular similar a las Bacterias, las Arqueas fueron mal clasificadas hasta que comparaciones en sus rasgos revelaron que éstas forman un dominio fundamentalmente distinto de vida (Cavicchioli, 2007).

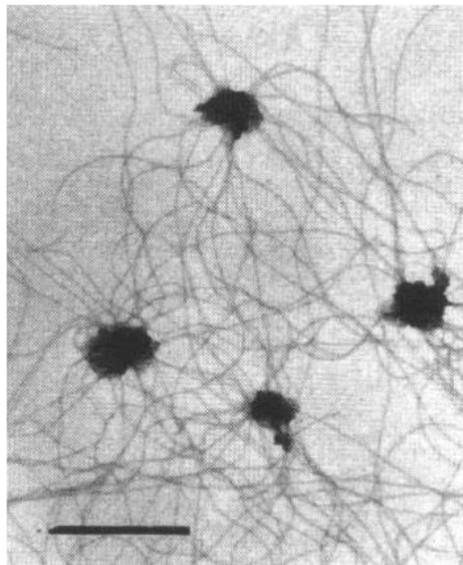
Dentro del dominio de los microorganismos halófilos de *Archaea* se encuentran tres familias: la *Halobacteriaceae*, la *Methanospirillaceae*, y la *Methanosarcinaceae*. Las dos últimas contienen organismos no halófilos y organismos halófilos tolerantes que están adaptados a la salinidad de agua de mar y a condiciones hipersalinas. Algunos de estos pueden crecer a concentraciones de 300 g/L. El orden de los Halobacteriales con una sola familia la *Halobacteriaceae*, son microorganismos halófilos extremos o tolerantes, en su mayoría de color rojo y aerobios. (Oren, 2002).

El número de tipos morfológicos de las Arqueas es menor que en las Bacterias (Collage, 2006), la forma de las células de halófilos *Archaea* está determinada, como en otros microorganismos, por las propiedades de la pared celular. Las especies de la familia *Halobacteriaceae* aparecen en una variedad de formas desde bastones, cocos, triangulares o romboides hasta células planas extremadamente pleomorfas (Oren, 2002), como se observa en la Figura 1.2.



**Figura 1.2** Imágenes fotográficas que muestran las formas de los microorganismos del dominio *Archae*. a) Forma de Baston, *Halobacterium salinarum* (Collage, 2006), b) Forma de coco, *Halococcus salifodinae* (Hooke, 2011), c) Pleomorfismo, *Haloferax mediterranei* (Khamsi, 2006) y d) Forma triangular *Haloarcula japoica* (Nakamura, 2011).

Muchos de los halobacteriales son móviles por medio de flagelos, estos tienen un giro hacia la derecha, en contraste de los flagelos de las bacterias que tienen un giro hacia la izquierda, algunos microorganismos tales como *Halobacterium salinarium*, producen paquetes de flagelos en forma de filamentos, durante el crecimiento exponencial son predominantemente monopolar, mientras que en la fase estacionaria solo tienen flagelos bipolares, como se observa en la Figura 1.3 (Oren, 2002).



**Figura 1.3** Flagelos polares de *Halobacterium salinarium*. Bar, 1  $\mu\text{m}$  (Oren, 2002)

En los organismos *Archaea* la membrana citoplásmica está compuesta de proteínas y lípidos ligados al glicerol por enlaces de éter. Esta contiene todas funciones necesarias para el transporte de electrones durante la respiración, el transporte interno y externo de iones, nutrientes, y otros compuestos, sensores que proveen información sobre el ambiente extracelular y sus transductores, y otros muchos componentes. Adicionalmente, las bombas de iones retinales bacteriorhodospina –la membrana purpura- y halorhodospina están presentes en las membranas de muchos halófilos *Archaea* (Cavicchioli, 2007; Oren, 2002).

Todos los miembros de *Halobacteriaceae* son quimioheterótrofos, mientras que algunos tienen la habilidad adicional del crecimiento fotoheterótrofo. El crecimiento autótrofo no ha sido demostrado. La mayoría de los halófilos *Archaea* preferentemente utilizan aminoácidos como fuentes de carbono y energía. Diferentes sistemas de transportes de aminoácidos en la membrana citoplásmica han sido caracterizados, utilizando las vesículas de membrana como sistema modelo, en membranas que contienen bacteriorodopsina el proceso puede ser energizado por luz. Muchos de los sistemas de transportes de aminoácidos son específicamente dependientes de los iones de  $\text{Na}^+$  (Oren, 2002).

El proceso del transporte del fosfato en las células dentro de *Halobacterium salinarum* depende en conjunto del nivel del ATP con los gradientes de  $\text{Na}^+$  o  $\text{H}^+$ , se sugiere que el ATP actúa como un regulador del transporte del fosfato el cual es supuestamente impulsado por el  $\text{Na}^+$  (Zoratti y Lanyi, 1987).

### **1.3.2 Característica de microorganismos halófilos en el dominio *Bacteria***

Las bacterias halófilas forman un grupo versátil, adaptadas para vivir en bajos rangos de salinidades y con la posibilidad de ajustarse rápidamente a cambios en la concentración de sal externa. En contraste, con las halófilas *Archaea* (familia *Halobacteriaceae*) que generalmente son encontradas en salinidades mayores y las hace estrictamente dependientes de la presencia de alta concentración de sal (3 a 4 M para la mayoría de las especies) (Ventosa et al., 1998).

Los halófilos están dispersos sobre todo el *phyla* y los órdenes dentro del dominio *Bacteria*. Las Bacterias halófilas y halotolerantes varían ampliamente en sus propiedades fisiológicas: se encuentran aerobios y anaerobios, quimioheterótrofos, fotoautótrofos, fotoheterótrofos, y quimiolitotrofos (Kushwha et al., 1974; Kerkar, 2004).

De acuerdo a estudios desarrollados por Rodríguez et.al. (1981) bacterias heterótrofas halófilas de cepas no pigmentadas presentan un mejor crecimiento a una concentración del 10% al 15% de

sal, resultando en un carácter halófilo moderado, mientras que las bacterias pigmentadas crecen en una concentración del 25% al 30% de sal. En estos estudios se observa además que para especies de bacterias halófilas pigmentadas la morfología con más prevalencia son los bastones, seguida de la forma de coco, y presentando un mayor pleomorfismo en concentraciones menores del 10-20%. Para el caso de bacterias no pigmentadas la forma variaba de acuerdo a la concentración de sales, colonias provenientes de una concentración de 10-20% sales los microorganismos con mayor presencia tienen forma espiral, seguidos de bastones con movilidad, con baja proporción cocos y bastones sin movilidad. Para concentraciones del 20-30% de sal, las formas espirales disminuían drásticamente, mientras que la concentración de cocos y bastones móviles y no móviles aumenta hasta un 43%.

La diversidad metabólica de las bacterias halófilas es mucho mayor que las *Archaea* halófilas. Entre las bacterias halófilas se encuentran heterótrofas aerobias y anaerobias, también como fototróficas oxigenicas y anoxigenicas con crecimiento autótrofo, fotoheterótrofo y quimiolitotrófico (Oren, 2002).

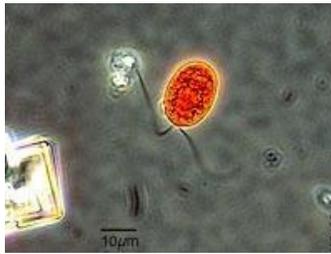
En las bacterias halófilas el transporte de nutrientes a través de la membrana celular tanto de halófilos aerobios Gram-positivos y Gram-negativos dependen del  $\text{Na}^+$  (Oren, 2002). Para bacterias halotolerantes las concentraciones de sodio entre 0.2 a 1 M incrementan la aparente afinidad del sistema de transporte, mientras que para concentraciones sobre 1 M la afinidad se ve disminuida. En algunos casos el  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  o  $\text{Cs}^+$  pueden ser reemplazados por el  $\text{Na}^+$  (Ventosa et al., 1998).

Además de sustratos tales como azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos, ciertos compuestos difíciles de degradar pueden ser utilizados por algunas bacterias halófilas, tales como los hidrocarburos, los organismos se unen al hidrocarburo produciendo un agente emulsificante extracelular (Oren, 2002).

### **1.3.3 Característica de microorganismos halotolerantes en el dominio *Eucarya***

La diversidad de microorganismos eucarióticos capaces de crecer en altas salinidades es relativamente limitada. Sin embargo, *Eucarya* contribuye significativamente a la biota de los ambientes hipersalinos (Oren, 2002), siendo el alga verde *Dunaliella* (Figura 1.4) el único halotolerante unicelular (Läuchli y Lüttge, 2002), se caracteriza por un volumen celular ovoide usualmente en forma de pera, más ancho en la parte basal y angosto en la parte anterior flagelar,

Presenta un gran cloroplasto con un solo centro de almidón rodeado de pireoide, algunas vacuolas, un núcleo y un nucléolo (Richmond, 2004).



**Figura 1.4** *Dunaliella salina* junto a un cristal de sal (University, 2008)

Las especies encontradas en un rango de salinidad alta son *Dunaliella salina*, *Dunaliella bardawil* (ambos a veces contienen grandes cantidades de  $\beta$ -caroteno), y las pequeñas algas *Dunaliella viridis* y *Dunaliella parva*. Las diatomeas halófilas tienen su salinidad óptima por debajo de 75 g/L, mientras que una minoría crece a 125 – 150 g/L, y ninguna crece a 175 g/L de sal (Oren, 2002).

Las eucariontes halotolerantes utilizan diferentes estrategias de adaptación salina en comparación con las arqueas y bacterias halófilas. Mientras los procariontes acumulan sales de potasio como un osmótico interno, los eucariontes halotolerantes sintetizan una variedad de solutos orgánicos, los cuales son compatibles con la función proteínica a altas concentraciones para balancear su presión interna. Los solutos osmocompatibles incluyen: derivados de aminoácidos (betaina, prolina), polioles (glicerol y manitol) y carbohidratos (sucrosa) (Läuchli y Lüttge, 2002). La concentración intracelular de estos solutos es directamente proporcional a la concentración extracelular de sal (Richmond, 2004).

Especies del género de las algas halófilas y halotolerantes *Dunaliella* no posee pared celular rígida. Las células por lo tanto pueden hincharse y encogerse como una reacción inmediata a los cambios en la salinidad de su entorno, (Läuchli y Lüttge, 2002; Oren, 2002; Richmond, 2004).

. Bajo concentraciones extremas de sal sobre la saturación. *Dunaliella* pierde sus flagelos y se rodea de un mucosidad formando una pared delgada para producir un quiste resistente a la deshidratación (Richmond, 2004).

La membrana citoplásmica que rodea la célula permite realizar rápidamente la endocitosis de grandes moléculas tales como dextrano, las moléculas se ubican en las vesículas de la membrana intracelular. El rápido flujo de salida de los compuestos contenidos en estas vesículas también es posible. Se ha sugerido que estas vesículas pueden ser una fuente de material de la membrana,

que es utilizado cuando la células se expande durante la disminución de la concentración de sal (Oren, 2002).

Finalmente existe fungi que ha encontrado un nicho en los ambientes hipersalinos. La presencia de vida fungi en concentraciones altas de sal ha sido por mucho tiempo ignorado. Sin embargo, es cada vez más claro que los grupos de fungi pueden significativamente contribuir a la biota de aguas salinas. Uno de estos es *Trimmatostroma salinum*, así como la cepa negra tal como *Hortaea werneckii* (Oren, 2002).

#### **1.3.4. La Pigmentación en los Microorganismos Halófilos Aerobios en los dominios *Archaea* y *Bacteria***

Los pigmentos retinales presente en los halófilos *Archaea* de la familia *Halobacteriaceae*, son proteínas tales como: bacteriorodopsina (máxima absorción 568 nm), halorodopsina (máxima absorción 578 nm) y dos rodopsinas sensoriales implicadas en la sensibilidad de la luz para la fototaxis, cuyas principales funciones son: el transporte activo y la señal sensorial (Bibikov y Skulachev, 1989; Oren, 2002).

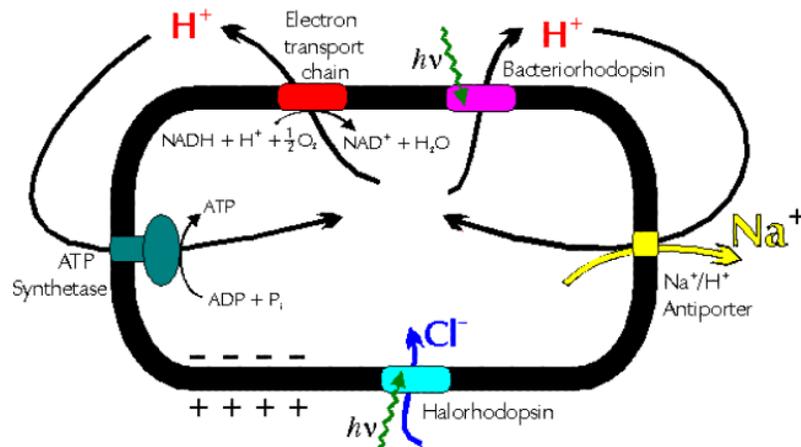
La bacteriorodopsina (bR), es una membrana purpura que constituye arriba del 50% de la superficie de la célula, contiene bombas de protones que funcionan con la luz que promueven su desplazamiento desde el interior y el exterior de las células. De esta manera se puede suministrar energía para una variedad de funciones celulares, incluyendo el transporte de iones y la síntesis de ATP (Metzler y Metzler, 2003).

Cada molécula de bR se forma de siete segmentos helicoidales muy juntos, que se extienden más o menos perpendiculares a la membrana (Metzler y Metzler, 2003; Oren, 2002).

La estructura de la Halorodopsina (hR) es bastante similar a la bR, sin embargo este pigmento actúa como una bomba del ion cloruro activada con luz (absorción máxima de 578 nm), para el transporte del Cl<sup>-</sup> de afuera hacia dentro de la célula. Seguidas del ión potasio, la bomba proporciona un medio para que estas bacterias acumulen KCl que equilibran la alta presión osmótica externa del medio en el cual viven (Metzler y Metzler, 2003; Oren, 2002).

La hR puede actuar tanto como una bomba de cloruro o como una bomba de protones dependiendo de las condiciones de luz. La luz verde conduce al transporte de cloruros, mientras que con las adiciones de luz azul induce a un bombeo de protones, comparado con el transporte iónico de la bR, este representa un flujo inverso de protones (Oren, 2002).

Las Rodopsinas Sensoriales (SR) son proteínas sensibles de las halobacterias, son utilizadas por la bacteria para el control de la fototaxis (Metzler y Metzler, 2003). La rodopsina sensorial I (SRI) es un receptor de la luz verde que responde a un color en el cual la célula es atraída. Mientras, la rodopsina sensorial II (SRII) también conocida como foborodopsina, es sensible a la luz azul que actúa como un repelente. La cantidad de SR en la membrana celular es pequeña, y la presencia de estos pigmentos no contribuye significativamente a la pigmentación de las células. Las funciones sensoriales de la luz permiten a las células posicionarse activamente en un ambiente de luz óptimo (Oren, 2002), lo anterior se esquematiza en la Figura 1.5.



**Figura 1.5** Funcionamientos de los pigmentos en las halobacterias (Parghi, 2002)

### 1.3.5. Regulación Intracelular de Sales y Metabolismo Iónico en Microorganismos Halófilos

Los iones en el medio presentan una influencia en la presión osmótica, esto debido a una relación directa con las partículas disueltas presentes en un volumen particular, que influye en la tasa de crecimiento, la división celular y la estructura física de los microorganismos (Flannery, 1956).

Las membranas biológicas son permeables al agua y por esto existe un intercambio con el medio externo. Como es claro que los microorganismos no sobreviven en altas concentraciones de sal, estos mantienen un ambiente intracelular hipoosmótico con respecto a la presión osmótica del medio en que vive. El ajuste osmótico u osmoadaptación puede ser alcanzado de diferentes maneras. Una opción es acumular iones inorgánicos intracelularmente para proveer un balance osmótico con la alta concentración de la sal del medio. Solo algunos grupos de halófilos utilizan iones inorgánicos como únicos o principal estabilizador osmótico, siendo el potasio más que el sodio el principal catión intracelular en la mayoría de los casos, y el cloruro es utilizado como anión intracelular dominante (Oren, 2002).

La estrategia “sal adentro” es utilizada por los halófilos aerobios de *Archaea* del orden de los *Halobacteriales*, y bacterias halófilas anaerobias del orden de los *Halanaerobiales*, lo cual les permite una ligera flexibilidad y adaptabilidad a las condiciones de cambio, que evita los efectos tóxicos de altas concentraciones de  $\text{Na}^+$  de muchas reacciones enzimáticas (Avron, 1986).

Otra opción más aplicada en la naturaleza, es el uso de solutos orgánicos “compatibles” para aumentar la presión osmótica del citoplasma celular para proveer un balance osmótico y para permitir el establecimiento de una presión de turgencia apropiada. Este modo es realizado por la mayoría de los halófilos y halotolerantes de las Bacterias, en los halófilos metanogénicos del *Archaea*, y en microorganismos eucarióticos, involucra el mantener el citoplasma en una concentración de sal menor que el medio exterior. Los compuestos orgánicos utilizados son de bajo peso molecular y su compatibilidad incluye la protección contra la inactivación, inhibición, desnaturalización de enzimas y estructuras macromoleculares bajo condiciones de baja actividad de agua (Oren, 2002).

Los solutos compatibles son polares, moléculas altamente solubles, la mayoría de ellos no tienen carga y pertenecen a las siguientes categorías:

- Polioles (glicerol, arabitol, manitol, eritritol), azúcares (sucrosa, trehalosa) y heterosidos (glucosilglicerol)
- Betainas (compuestos trimetilamonio) y tetinas (compuestos dimetilsulfonio)
- Aminoácidos (prolina, glutamato, glutamina, y derivados)
- Ectoinas (ectoina,  $\beta$ -hidroxiectoina)
- Derivados de glutamina amida (Oren, 2002).

### **1.3.6 La Homeostasis del pH en Microorganismos Halófilos**

El pH del medio puede influir sobre la expresión de genes y regular el transporte de protones, la degradación de los aminoácidos, la adaptación a condiciones ácidas o básicas y aún la virulencia. Las células perciben los cambios del pH ambiente a través de diferentes mecanismos. La protonación y desprotonación de los aminoácidos inducida por el pH, puede alterar la estructura proteínica secundaria y por lo tanto la función que señala el cambio. El gradiente de protones a través de la membrana puede servir, por sí mismo, como un sensor para ajustar los procesos dependientes de la energía. El pH intracelular puede ser mantenido sobre un valor crítico en el cual las proteínas internas se desnaturalizan irreversiblemente utilizando tres mecanismos para

mantener el pH interno compatible con la vida: la respuesta homeostática, la respuesta de tolerancia al ácido y la síntesis de proteínas de 'shock' ácido (Carillo, 2003).

Aunque la mayoría de las arqueas y bacterias crecen en ambientes cercanos a la neutralidad, un número relativamente pequeño crecen en áreas donde el nivel de pH (entornos ácidos y básicos), resulta hostil para organismos eucarióticos (Barton, 2005).

Para regular el pH intracelular ( $pH_i$ ) las membranas biológicas muestran una baja permeabilidad de protones, debido al control específico de flujo iónico de la bicapa de lípidos a través de los complejos de proteína intercalados en la misma. De hecho la habilidad de una célula para hacer frente a los cambios en el pH en presencia o ausencia de varios iones determina la capacidad homeostática de cada especie (Booth, 1985).

Los posibles mecanismos para la regulación del  $pH_i$  incluyen buffers preexistentes, la producción bioquímica de  $H^+$  y  $OH^-$ , y el transporte activo de  $H^+$  y  $OH^-$ :

Los buffers del citoplasma pueden compensar una cantidad limitada de acidificación y alcalinización. Existe una remarcada similitud en la capacidad tampón a pesar de los distintos tipos de metabolismo y diferentes rangos de pH de crecimiento (Booth, 1985).

La producción de  $H^+$  y  $OH^-$  del metabolismo es un área poco estudiada. Hay poca evidencia de la producción de ácidos y bases como un componente específico de un mecanismo homeostático del pH. Se ha identificado la producción de ácido en las células consecuente con la asimilación de amoníaco como un sistema para mantener un  $pH_i$  constante. En condiciones alcalinas y durante la fermentación de la glucosa las células producen ácidos, mientras que en condiciones ácidas se obtienen productos neutrales (Booth, 1985).

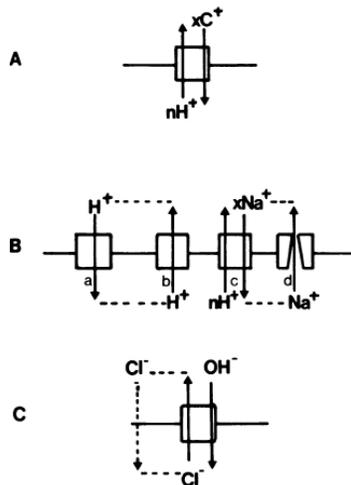
El transporte controlado de  $H^+$  (o su equivalente  $OH^-$ ) ha sido durante mucho tiempo considerado como el mecanismo dominante del control del  $pH_i$ . La mayoría de las bacterias poseen una membrana con bombas de protones las cuales expelen cationes del citoplasma para generar un gradiente electroquímico (la fuerza motriz). Los valores registrados de la fuerza motriz es cerca de 200 mV en organismos aerobios y un poco menor en fermentadores (Booth, 1985).

La mayoría de las bacterias y arqueas presentan una membrana plasmática cargada positivamente cuando el ambiente externo es ácido, en contraparte, el interior de la célula es alcalina y con carga negativa. Cuando a los iones hidroxilo se les impide pasar a través de la membrana para hacer el citoplasma alcalino, ácidos débiles o bases débiles fácilmente pueden difundirse a través de la membrana para efectuar un cambio del pH en el citoplasma (Barton, 2005).

Se ha sugerido que los antiporteros catión-protón juegan un papel preponderante en la homeostasis del pH. Los principios básicos de esta hipótesis están ilustrados en la Figura 1.6. El antiportero intercambia cationes internos (tanto  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ ) por protones externos, con la acidificación o alcanización resultante del citoplasma (Booth, 1985).

Con un cambio en la acidez del ambiente, el antiportador  $\text{K}^+/\text{H}^+$  funciona como una bomba de  $\text{K}^+$ , el cual hace al citoplasma alcalino y neutraliza los compuestos ácidos. Si el ambiente se hace alcalino, el citoplasma se vuelve ácido por la acción del antiportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . Estos antiportadores de protones serán efectivos en cambios trascendentales de pH pero se requieren cambios metabólicos para exposiciones prolongadas a estos cambios de ambiente (Barton, 2005).

En una célula puede llegar un momento en que la concentración interna de cationes es tan baja que se limita la actividad del antiportero y debe ser reestablecida para permitir que la neutralización continúe. Aunque los estudios han considerado principalmente el transporte de cationes, no hay razón por la cual los aniones no deben jugar un papel en la homeostasis del pH, posiblemente mediante un intercambio anion-hidroxilo (Figura 1.6 C) (Booth, 1985).



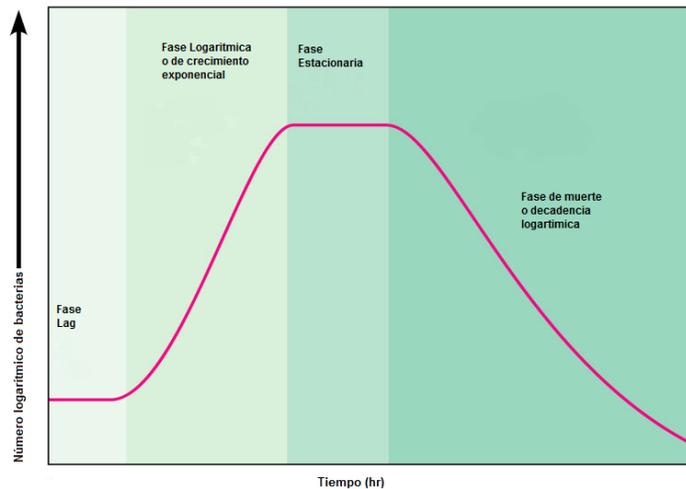
**Figura 1.6** Sistemas de transporte catión y anión que pueden facilitar los cambios de  $\text{pH}_i$ .

A) Antiportero catión-protón B) Protón y ciclos de  $\text{Na}^+$  en la membrana, donde a es la bomba primaria de protones, b es la ruta de entrada del protón, c es el antiportero  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  (Booth, 1985).

## 1.4 Crecimiento bacteriano

### 1.4.1. El crecimiento en términos del número de bacterias

Respecto al modelo general de crecimiento bacteriano en un cultivo en batch (Figura 1.7); inicialmente un pequeño número de organismos son inoculados dentro de un volumen fijo de medio de cultivo y el número de organismos viables es registrado en función del tiempo. El modelo de crecimiento basado sobre el número de células tiene cuatro o menos etapas distintas.



**Figura 1.7** Curva de crecimiento bacteriano en términos de su número. Adaptado de (Metcalf y Eddy, 1991).

1. *La fase lag.* Sobre la adición de un inóculo a un medio de cultivo, la fase lag representa el tiempo requerido por los organismos para aclimatarse al nuevo ambiente y comenzar la división celular.
2. *Fase de crecimiento logarítmico.* Durante este periodo las células se dividen a una tasa determinada por su generación en el tiempo y su habilidad para procesar alimentos (porcentaje constante de tasa de crecimiento).
3. *Fase estacionaria.* Aquí la población permanece estacionaria. Las razones aducidas para este fenómeno son (a) las células han agotado el sustrato o nutrientes para el crecimiento, y (b) el crecimiento de las nuevas células es compensada con la muerte de células viejas
4. *Fase de muerte logarítmica.* Durante esta fase, la tasa de muerte bacteriana excede la producción de nuevas células. El índice de mortalidad esta usualmente en función de la población viable y las características ambientales (Metcalf y Eddy, 1991).

### 1.4.2. El crecimiento en términos de la masa bacteriana

El modelo de crecimiento puede también ser discutido en términos de la variación de la masa de microorganismos con el tiempo. Este modelo de crecimiento consiste de las cuatro fases siguientes:

1. *Fase lag*. La bacteria requiere tiempo para aclimatarse a su ambiente nutricional. Esta fase, en términos de la masa bacteriana, no es tan larga como la correspondiente en términos del número de bacterias porque la masa empieza a aumentar antes de que la división tome lugar.
2. *Fase de crecimiento logarítmico*. Siempre hay una cantidad en exceso de comida alrededor de los microorganismos y la tasa de metabolismo y crecimiento es solo una función de la capacidad del microorganismo para procesar el sustrato.
3. *Fase estacionaria*. La tasa de crecimiento de la masa bacteriana disminuye por la limitación en el suministro de comida.
4. *Fase endógena*. Los microorganismos son forzados a metabolizar su propio protoplasma sin reposición porque la concentración de alimento disponible es mínima. Durante esta fase, un fenómeno conocido como *lisis* puede ocurrir, en donde, los nutrientes que quedan en la célula muerta se esparcen fuera para suministrar a las células remanentes con alimento (Metcalf y Eddy, 1991).

### 1.4.3. Crecimiento en cultivos mixtos

La mayoría de los procesos de tratamiento biológico están compuestos de poblaciones complejas, interrelacionadas y mixtas, en los cuales cada microorganismo tiene su propia curva de crecimiento. La posición y forma de una curva de crecimiento particular en el sistema, sobre una escala de tiempo, depende del alimento y nutrientes disponibles y sobre los factores ambientales tales como temperatura, pH, y si el sistema es aerobio o anaerobio. Mientras las bacterias tienen mayor importancia, también otros microorganismos toman parte en la estabilización del residuo orgánico (Metcalf y Eddy, 1991).

La composición de las especies en las plantas de tratamiento depende de la composición del agua, tipo de proceso y operación de la planta. Es obvio que ciertos grupos microbiológicos son más dominantes cuando se presentan procesos específicos de tratamiento. Una visión general de tales factores está dada en la Tabla 1.2. (Nielsen et al., 2009).

**Tabla 1.2** Visión general de los factores importantes que determinan la estructura de la población microbiana en tratamiento de agua residual (Nielsen et al., 2009).

<b>Diseño de proceso</b>	Remoción Carbono, remoción de Carbono y nitrificación Remoción de Carbono y Nitrógeno (nitrificación y desnitrificación) Precipitación química del fósforo Edad del lodo (total y aerobio) Carga de lodos Temperatura y variaciones estacionales
<b>Operación de la Planta</b>	Concentración de oxígeno Tiempo de residencia celular en diferentes tanques Adición de químicos Adición de carbono externo Contenido de biomas (sólidos suspendidos por litro)
<b>Tipo de planta de tratamiento</b>	Lodos activados (flujo continuo, batch, aireación prolongada) Biofiltro (tipo, soporte del medio, operación) Bioreactor por membranas
<b>Composición del agua residual</b>	Industrial/doméstico Fracción soluble /particulada (C,N,P) Compuestos orgánicos específicos Micronutrientes Substancias tóxicas Salinidad Alcalinidad pH

### 1.5 Tratamiento de aguas residuales

El grado de tratamiento requerido para un agua residual depende fundamentalmente de los límites de vertido para el efluente (Ramalho, 1993), de esta forma, se utiliza una combinación de operaciones unitarias (aplicación de fuerzas físicas) y procesos unitarios (adición de químicos o uso de masas biológica) para el tratamiento de un agua residual en particular, que en conjunto es conocido como sistema de tratamiento (R.A. Y G.L., 2006), en la Tabla 1.3 se presenta una clasificación convencional de los procesos de tratamiento de aguas residuales.

Normalmente el tratamiento de aguas residuales está constituido por los siguientes sistemas de tratamiento:

*Tratamiento Primario:* es principalmente seleccionado para la remoción de material flotante y particular inorgánicas grandes contenidas en el agua residual.

*Tratamiento secundario:* comprende la remoción de material coloide y orgánico soluble mediante la aplicación de procesos biológicos.

*Tratamiento terciario*: se utilizan para la remoción o reducción de concentración de impurezas residuales, las cuales no fueron eliminadas en las operaciones y procesos anteriores (R.A. y G.L., 2006).

**Tabla 1.3.** Tipos de tratamiento de aguas residuales (Ramalho, 1993).

<b><i>Tratamiento Primario</i></b>
Cribado o desbrozo
Sedimentación
Flotación
Separación de aceites
Homogeneización
Neutralización
<b><i>Tratamiento Secundario</i></b>
Lodos Activados
Aireación prolongada (procesos de oxidación total)
Estabilización por contacto
Lagunas con aireación
Estabilización por lagunas
Filtros biológicos (percoladores)
Discos biológicos
Tratamientos anaerobios: procesos de contacto, filtros (sumergidos)
<b><i>Tratamiento terciario o “avanzado”</i></b>
Microtamizado
Filtración (lecho de arena, antracita, diatomeas...)
Precipitación y coagulación
Adsorción (carbón activado)
Intercambio iónico
Ósmosis inversa
Electrodiálisis
Cloración y ozonización
Procesos de reducción de nutrientes
Otros

### 1.5.1 Tratamientos Biológicos

Los procesos biológicos utilizados para el tratamiento de agua residual, son derivados de procesos que ocurren en la naturaleza, en los cuales el control del ambiente promueve la descomposición de los residuos de forma más rápida debido al crecimiento mejorado de los microorganismos involucrados (Metcalf y Eddy, 1991).

El tratamiento biológico del agua residual, tiene como objetivo degradar o absorber material disuelto, coloidal, particulado o sedimentable dentro de los flóculos o biopelículas, los compuestos solubles incluyen materia orgánica biodegradable o no biodegradable, algunos de los

cuales pueden ser tóxicos, y los nutrientes incluyen macronutrientes tales como nitrógeno o fósforo.

El tratamiento biológico está basado en el rol natural de las bacterias cercano a los ciclos elementales (por ejemplo C, N, P). La consideración del papel dominante de las bacterias en el tratamiento de agua residual y su relación con otros organismos vivos esta principalmente seguida por su estructura celular, componentes, funciones, requerimientos nutricionales, fuentes de carbono y energía, y la sensibilidad a las condiciones ambientales.

Las transformaciones físicas, químicas y biológicas de los constituyentes orgánicos e inorgánicos del agua residual en los sistemas de lodos activados se indica en la Figura 1.8. Algunas de estas transformaciones son importantes para alcanzar la calidad del efluente requerido mientras que otras solo son importantes para el diseño del sistema y operación (Henze et al., 2008)

Constituyentes del Agua Residual			Reacción	Constituyentes del lodo			
Orgánico	Soluble	Disuelto	No biodegradable	Escapa con efluente			
			Biodegradable	Se transforma en organismos activos	Sólidos Sedimentables Totales	Sólidos Suspendedos Volátiles	Biomasa en el reactor totalmente sedimentable
	Particulado	Suspendido	No biodegradable	Combinado con la masa del lodo			
			Biodegradable	Se transforma en organismos activos			
		Sedimentable	No biodegradable	Combinado con la masa del lodo			
			Biodegradable	Se transforma en organismos activos			
Inorgánico	Particulado	Precipitado	Combinado con la masa de lodo	Sólidos Sedimentables Inorgánicos		Masa Inorgánica totalmente sedimentable	
		Suspendido					
	Soluble	Precipitado	Transformado en sólidos sedimentables				
		Biológicamente utilizable	Transformado a	Sólido	Escapa como gas		
				Gas			
No precipitado	Escapa con el efluente						

**Figura 1.8.** Reacciones de transformación globales de los constituyentes orgánicos e inorgánicos del agua residual (Henze et al., 2008).

Los principales procesos utilizados en el tratamiento de aguas residuales están agrupados en cinco categorías: procesos aerobios, anóxicos, anaerobios, anóxicos-aerobios combinados y procesos de lagunas.

Los procesos individuales tienen más subdivisiones, dependiendo si el tratamiento es realizado en sistemas de crecimiento suspendido, sistemas de crecimiento fijo o combinaciones como se observa en la Tabla 1.4.

La aplicación de cada uno de los procesos en forma controlada es para: 1) remover la materia orgánica carbonacea en el agua residual, usualmente medida como demanda bioquímica de oxígeno (DBO), carbono orgánico total (COT) o demanda química de oxígeno (DQO); 2) nitrificación; 3) desnitrificación; 4) remoción de fósforo y 5) estabilización del residuo (Metcalf y Eddy, 1991).

**Tabla 1.4.** Principales procesos de tratamiento biológico utilizados para el tratamiento de agua residual (Metcalf y Eddy, 1991).

Tipo	Nombre Común	Uso
<b>Proceso Aerobios</b>		
Crecimiento Suspendido	Procesos de Lodos Activados Convencional Mezcla completa Aireación pasos Oxígeno Puro Secuencia de reactor batch Estabilización por Contacto Aireación extendida Laguna de Oxidación Tanque Profunda (90 pies) Pozo profundo	Remoción de DBO carbonacea
	Crecimiento suspendido nitrificación	Nitrificación
	Lagunas Aireadas	Remoción DBO carbonacea (nitrificación)
	Digestión Aerobia Aire convencional Oxígeno Puro	Estabilización, remoción de DBO carbonacea
Crecimiento Fijo	Filtros por goteo Baja tasa Alta tasa	Remoción de DBO carbonacea, nitrificación
	Filtros rugosos	Remoción de DBO carbonacea
	Contacto rotatorio	Remoción DBO carbonacea (nitrificación)
	Reactores de cama empacada	Remoción de DBO carbonacea (nitrificación)

Procesos combinados de crecimiento suspendido y fijo	Procesos de biofiltros activados, procesos de filtros por goteo contacto sólidos, procesos de biofiltros de lodos activos, series de filtros por goteo y procesos y de lodos activados	Remoción de DBO carbonacea (nitrificación)
<b>Procesos Anóxicos</b>		
Crecimiento Suspendido	Desnitrificación Crecimiento suspendido	Desnitrificación
Crecimiento Fijo	Desnitrificación de Película Fija	Desnitrificación
<b>Procesos Anaerobios</b>		
Crecimiento Suspendido	Digestión Anaerobia Tasa estandar, tasa simple, tasa alta, tasa simple con dos etapas	Remoción de DBO carbonacea, Estabilización
	Proceso de contacto anaerobio Anaerobio de flujo ascendente	Remoción de la DBO carbonacea Remoción de la DBO carbonacea
Crecimiento Fijo	Proceso de filtro anaerobio	Remoción de DBO carbonacea, estabilización del residuo (desnitrificación)
	Cama expandida	Remoción de la DBO carbonacea, estabilización del residuo
<b>Procesos combinados aerobio, anóxico y anaerobio</b>		
Crecimiento suspendido	Simple o multietapa,	Remoción de la DBO carbonacea, nitrificación, desnitrificación, remoción fosforó
Crecimiento suspendido y fijo	Simple o multietapa	Remoción de la DBO carbonacea, nitrificación, desnitrificación, remoción fósforo
Procesos de laguna	Laguna aerobia	Remoción de DBO carbonacea
	Laguna de maduración (tercearia)	Remoción de de DBO carbonacea (nitrificación)
	Laguna facultativa	Remoción de la DBO carbonacea
	Laguna anaerobia	Remoción de la DBO carbonacea (estabilización del residuo)

### 1.5.2 Tratamientos Biológicos para Efluentes Salinos

Los tratamientos biológicos para efluentes salinos se han aplicado para aquellos que provienen de empacadoras, curtidurías e industria petrolera. Con base en lo anterior se han hecho estudios aplicando diferentes configuraciones de reactores biológicos aerobios y anaerobios para observar su eficiencia

Para el caso de los aerobios se han aplicado reactores de biopelícula, secuenciales en batch, discos rotatorios y lodos activados, las condiciones de operación y las eficiencias de remoción de materiales orgánicos y nutrientes se indican en las Tablas 1.5 y 1.6 respectivamente.

En los tratamientos anaerobios se han utilizado reactores de mezcla completa, de cama de lodo de flujo ascendente tipo UASB, donde la eficiencia de remoción excede el 90% para tiempos de retención de 96 h y 68% para 12 h (Lefebvre y Molleta, 2006).

El proceso de lodos activados convencional para el tratamiento biológico de agua residual salina usualmente tiene una baja remoción de la DQO especialmente en altas concentraciones de sales (>2 % w/v) el cual causa plasmólisis de la bacteria en el lodo activado, al mismo tiempo se ven afectados la nitrificación y desnitrificación del tratamiento (Kargi, 2002; Lefebvre y Molleta, 2006).

A pesar del efecto perjudicial de sal sobre la actividad microbiana, una aclimatación moderada del lodo activado es posible mediante cambios graduales en el contenido de sal hasta la saturación (Hamoda y Al-Attar, 1995; Kargi, 2002; Lefebvre y Molleta, 2006).

El éxito de la adaptación depende de varios factores, tales como el tipo y fase de crecimiento de los microorganismos, también como el aumento rápido o gradual de la concentración de sal durante la aclimatación (Lefebvre y Molleta, 2006). Se ha encontrado que las células exhiben el mayor grado de adaptabilidad en la fase estacionaria de crecimiento en comparación con las otras fases (Kargi y Dincer, 1996).

Problemas de decantación en ambientes salinos han sido frecuentemente reportados por múltiples razones, tales como, la densidad del agua de sal es mayor que el agua dulce, esto crea una mayor resistencia a la sedimentación por fuerzas boyantes mayores. Además, la elevada concentración de sal causa plasmólisis celular y muerte de los microorganismos usualmente presentes en el agua residual debido al incremento de la presión osmótica, lo que resulta en una reducción en el tamaño de la partícula y la densidad (Lefebvre y Molleta, 2006).

### **1.5.3 Efectos de la Salinidad y la Temperatura en la Degradación**

El agua del mar es una solución de sales, por lo que sus propiedades físicas son muy diferentes de las del agua dulce y varían de acuerdo con la cantidad de sales que contenga. La salinidad está dada, principalmente, por los cloruros, sulfatos y carbonatos, siendo el cloruro de sodio (NaCl) la sal más abundante con un 77.8 % comparado con el resto de las sales, es por esta razón que el impacto de la salinidad se mide con base en este compuesto.

El impacto de alta salinidad sobre el tratamiento biológico de agua residual es significativo, tanto el  $\text{Na}^+$  como el  $\text{Cl}^-$  son considerados inhibidores. Sin embargo se ha encontrado que la eficiencia de remoción de carbono mejora como resultado de la aclimatación de la biomasa mediante el aumento gradual del contenido de sal del agua de alimentación hasta la concentración deseada o la adición de organismos halofílicos (Hamoda y Al-Attar, 1995; Intrasungkha et al., 1999).

De acuerdo con Li y Guowei (1993), se muestra un pequeño daño al sistema con cada incremento de sal; después de cada cambio en la cantidad de sal de entrada, el sistema puede adaptarse a las nuevas condiciones dentro de 1 a 5 días y alcanza el estado estable nuevamente. La influencia del NaCl depende de la carga orgánica del sistema, las eficiencias del tratamiento decrecen al incrementarse la concentración de NaCl del afluente y también indica que los límites de NaCl que soporta un tratamiento de lodos activados son de 8000-9000 ppm.

Estudios de Peng et al., (2005) miden el efecto de la salinidad del agua de mar en los microorganismos, realizando experimentos de cuenta de placa bajo diferentes salinidades con el lodo de entrada proveniente de un reactor a escala piloto, fue evidente que la salinidad de 5 g/L (medido como  $\text{Cl}^-$ ) tiene un efecto estimulante sobre el crecimiento de los microorganismos. Más allá de los 10 g/L, el número de microorganismos vivos se redujeron con respecto al aumento en la salinidad.

La salinidad del agua de mar tiene un efecto altamente negativo sobre el crecimiento de las nitrosomonas y nitrobacter, microorganismos responsables del proceso de nitrificación (proceso biológico en el cual el amoníaco es convertido primero a nitrito y posteriormente a nitrato), mostrando un efecto mayor sobre las nitrobacter. La eficiencia de remoción del amonio está relacionada no solo con la carga de amonio en el afluente, sino también con la salinidad y la temperatura (Intrasungkha et al., 1999). Lo anterior se ejemplifica en la Tabla 1.6.

#### **1.5.4. Aireación Prolongada (Proceso de Oxidación Total)**

Este proceso, al que se conoce también como oxidación total, es una modificación del proceso de lodos activados. La idea fundamental de la aireación prolongada, al compararla con el proceso convencional de lodos activos, es disminuir la cantidad de lodo residual. Esto se consigue aumentando el tiempo de residencia; de esta forma el volumen de reactor es comparativamente mayor que el requerido en el proceso convencional de lodos activos. Como consecuencia de todo ello, esencialmente todo el lodo degradable formado se consume mediante respiración endógena.

La ventaja principal del proceso de aireación prolongada es que las instalaciones para la manipulación de lodos son pequeñas al compararlas con las que se necesitan en el proceso de lodos activos (Ramalho, 1993).

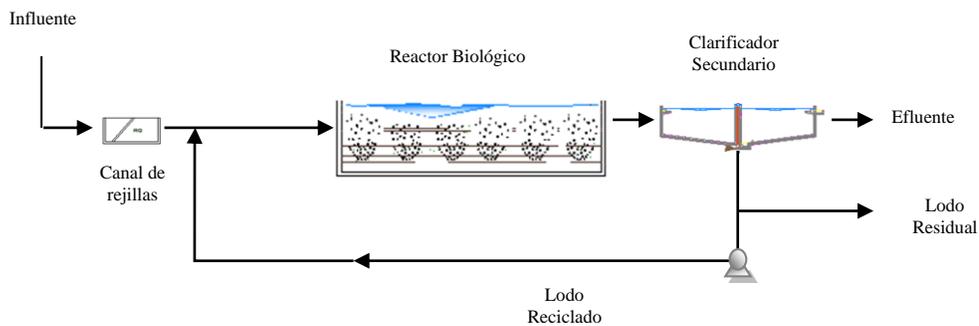
De acuerdo con Ramalho (1993) Existen cuatro características básicas que distinguen la aireación prolongada del proceso convencional de lodos activados:

1. *Mayor tiempo de retención en el reactor.*
2. *Cargas orgánicas menores.* En el proceso de aireación prolongada, la carga orgánica, expresada como relación de sustrato a microorganismos (A/M) se encuentra comprendida normalmente entre 0,10 a 0,25 d<sup>-1</sup>, frente a los valores de 0,3 a 0,7 d<sup>-1</sup> del proceso convencional de lodos activos.
3. *Mayores concentraciones de sólidos biológicos en el reactor.* Estos valores expresados como Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) varían entre 3500 y 5000 mg/L en la aireación prolongada frente a 2000-3000 mg/L del proceso convencional de lodos activos (menor sustrato para una mayor población de microorganismos) producen condiciones de inanición de los microorganismos.
4. *Mayor consumo de oxígeno en el proceso de aireación prolongada.* Para el tratamiento de aguas residuales urbanas. Se indica para el proceso de aireación prolongada un consumo de oxígeno aproximadamente doble al requerido para el proceso de lodos activados convencional.

El proceso de aireación prolongada ha sido aplicado principalmente en el tratamiento de las aguas residuales cuando el volumen diario es menor de 8 m<sup>3</sup>/d. Estos caudales corresponden al tratamiento de aguas residuales de pequeñas comunidades, urbanizaciones, áreas de recreo y algunos residuos industriales.

En la Figura 1.9 se representa una unidad de aireación prolongada convencional, el afluente pasa primero a través de una reja para separar los sólidos en suspensión gruesos con objeto de proteger el reactor de los daños que resultarían de su obstrucción.

En algunas unidades se suministra un triturador en lugar de una reja. El diagrama es idéntico esencialmente al del proceso de lodos activados. El efluente del clarificador puede clorarse antes de su descarga en las aguas receptoras (Ramalho, 1993).



**Figura 1.9.** Proceso convencional de aireación prolongada (Adaptado de Ramalho, 1993).

Aunque teóricamente la producción de lodo en el proceso de aireación prolongada es nula, en la práctica esto no sucede así ya que parte del lodo no es biodegradable y en consecuencia se acumula. La producción neta de lodo debe eliminarse. Para los procesos de aireación prolongada, los microorganismos se ven obligados a la respiración endógena y a metabolizar el material del citoplasma de los otros microorganismos. Lo que queda de esta degradación son membranas celulares no degradables relativamente ligeras al compararlas con el material de citoplasma, que decanta con dificultad. En consecuencia, los tanques de decantación en los sistemas de aireación prolongada deben proporcionar tiempos de retención superiores a los requeridos en el proceso convencional de lodos activados. El tiempo de retención es de 4 h aproximadamente frente a las 2 h típicas del proceso convencional de lodos activados.

En la aireación prolongada se puede presentar la nitrificación hasta un grado relativamente apreciable con la consiguiente conversión del nitrógeno amoniacal de nitritos y nitratos ya que se cuenta en este proceso con la doble circunstancia de carga orgánica (relación A/M) débil y un suministro de aire en exceso. Un problema asociado a la nitrificación es la caída del pH en el sistema debido a la formación del ácido nítrico. El pH puede descender hasta valores alrededor de 4,5 en cuyo caso el proceso biológico puede verse seriamente afectado (Ramalho, 1993).

## 1.6. Métodos Estadísticos para Análisis de Datos

De acuerdo con Serrano (2003), el análisis de datos mediante la estadística moderna es una disciplina que consiste en la búsqueda sistemática de información y de relaciones a través de conjuntos de datos. La Estadística aplicada a las diferentes ramas de las ciencias experimentales se ocupa de desarrollar métodos que permitan a los científicos el tratamiento de estos datos,

permitiendo la extracción de la máxima cantidad de información relevante contenida en un conjunto de datos obtenidos a lo largo de un experimento.

La aplicación de la Estadística al estudio de problemas en el ámbito de las Ciencias Experimentales (Biología, Geología, Química...) da lugar a disciplinas como la Biometría o la Quimiometría, las cuales han experimentado desde hace unos años un gran auge debido a su utilidad y a la implantación generalizada de la informática, que permite su fácil aplicación (Serrano, 2003).

Para conocer la aplicación de la estadística en el análisis de variables en este caso ambientales, se inicia con su definición. La estadística es la parte de las matemáticas que estudia el comportamiento de las variables aleatorias. Estas se definen como aquellas variables cuyos valores no están fijados de antemano, sino que cada uno de ellos tiene una probabilidad de que se produzca. (Serrano, 2003).

### **1.6.1. Estadística No Paramétrica**

A los métodos de estadística diferencial tales como Prueba de Hipótesis, Inferencias a partir de dos muestras, Correlación y Regresión y Análisis de Varianza se les llaman métodos paramétricos, porque se basan en el muestreo de una población con parámetros específicos, como la media  $\mu$ , la desviación estándar  $\sigma$  o la proporción  $p$ . Estos métodos paramétricos por lo regular deben cumplir con condiciones bastante estrictas, como el requisito de que los datos muestrales provengan de una población que se distribuya normalmente. (Triola, 2004) (Motulsky, 1995).

Aunque el término no paramétrica sugiere que la prueba no se basa en un parámetro, hay algunas pruebas no paramétricas que sí dependen de un parámetro como la mediana. Sin embargo, las pruebas no paramétricas no requieren una distribución en particular, por lo que algunas veces se les conoce como pruebas de distribución libre. En la Tabla 1.7 se presentan las ventajas y desventajas principales de los métodos no paramétricos (Triola, 2004).

**Tabla 1.7** Ventajas y Desventajas de los métodos no paramétricos (Triola, 2004).

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Los métodos no paramétricos se aplican a una amplia variedad de situaciones, puesto que no tienen los requisitos más estrictos de los métodos paramétricos como una distribución normal	Los métodos no paramétricos tienden a desperdiciar información, pues los datos numéricos exactos suelen reducirse a una forma cualitativa.
A diferencia de los métodos paramétricos, los métodos no paramétricos con frecuencia se aplican a datos categóricos	Las pruebas no paramétricas no son tan eficientes como las pruebas paramétricas, por lo que para una prueba no paramétrica generalmente necesitaremos evidencia más fuerte para rechazar una hipótesis nula
Por lo regular implican cálculos más sencillos que los métodos paramétricos correspondientes; por lo tanto, son más fáciles de entender y aplicar	

### 1.6.2. Elección del método de análisis estadístico

La elección de la prueba correcta para la comparación de mediciones resulta ser un poco engorroso, todo comienza con la elección de dos familias de pruebas: paramétricas o no paramétricas.

Todas estas pruebas comúnmente aplican un rango a la variable de salida que va desde un valor bajo hasta el más alto, antes de analizar los datos. En la Tabla 1.8 se resumen las pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas, así como su aplicación (Motulsky, 1995).

**Tabla 1.8.** Selección de la Prueba Estadística adaptado de Motulsky (1995).

<b>Objetivo</b>	<b>Medición (Población Gaussiana)</b>	<b>Rango, puntuación o medición (Población no Gaussiana)</b>
Descripción de un grupo	Media, Desviación Estándar	Mediana, rango intercuartil
Comparación de un grupo a un valor hipotético	Una muestra, prueba t	Prueba Wilcoxon
Comparación dos grupos no emparejados	Prueba t, no emparejada	Prueba Mann-Whitney
Comparación de dos grupos emparejados	Prueba t, emparejada	Prueba Wilcoxon
Comparación de tres o más grupos no emparejados	ANOVA de un camino	Prueba Kruskal-Wallis
Comparación de tres o más	ANOVA de mediciones	Prueba de Friedman

grupos emparejados	repetidas	
Asociación entre dos variables	Correlación de Pearson	Correlación de Spearman
Predicción del valor de otra variable medida	Regresión lineal simple	Regresión no paramétrica
Predicción del valor de varias medidas o variables binomiales	Regresión múltiples o regresión no lineal múltiple	

En la Tabla 1.9 lista los métodos no paramétricos, junto con el método paramétrico correspondiente y la tasa de eficiencia, aunque algunas pruebas no paramétricas tienen tasas de eficiencia.

**Tabla 1.9** Comparación de pruebas paramétricas y no paramétricas (Triola, 2004).

Aplicación	Prueba paramétrica	Prueba no paramétrica	Tasa de eficiencia de prueba no paramétrica con población normal
Datos apareados de los datos muestrales	Prueba t o prueba z	Prueba del signo Prueba de rangos con signo de Wilcoxon	0.63 0.95
Dos muestras independientes	Prueba t o prueba z	Prueba de la suma de rangos de Wilcoxon	0.95
Varias muestras independientes	Análisis de varianza (prueba F)	Prueba de Kruskal-Wallis	0.95
Correlación	Correlación lineal	Prueba de correlación de rangos ordenados	0.91
Aleatoriedad	Prueba no paramétrica	Prueba de rachas	Sin bases para comparación

### 1.6.3. Gráficas de caja

Siempre es una buena idea representar gráficamente los datos. Para variables cuantitativas discretas podemos representar las proporciones de las muestras o frecuencias relativas. Estas gráficas nos dan una idea del perfil de la distribución que estamos muestreando (Evans y Rosenthal, 2004).

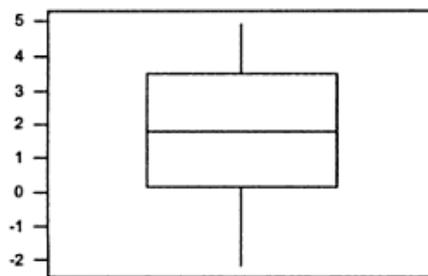
Las gráficas de tallo y hojas e histogramas transmiten impresiones un tanto generales sobre un conjunto de datos, mientras que un resumen único tal como la media o la desviación estándar se enfoca en sólo un aspecto de datos. En años recientes, se ha utilizado con éxito un resumen gráfico llamado gráfica de caja para describir varias de las características más prominentes de un conjunto de datos. Estas características incluyen 1) el centro, 2) la dispersión, 3) el grado y

naturaleza de cualquier alejamiento de la simetría y 4) la identificación de las observaciones “extremas o apartadas” inusualmente alejadas del cuerpo principal de los datos. Como incluso un solo valor extremo puede afectar drásticamente los valores de  $\bar{x}$  y  $s$ , una gráfica de caja está basada en medidas “resistentes” a la presencia de unos cuantos valores apartados, la mediana y una medida de variabilidad llamada dispersión de los cuartos (Devore, 2008).

En general, la dispersión de los cuartos no se ve afectada por las posiciones de las observaciones comprendidas en el 25% más pequeño o el 25% más grande de los datos. Por consiguiente es resistente a valores apartados. La gráfica de caja más simple se basa en el siguiente resumen de cinco números (Devore, 2008).

$x_i$  más pequeñas    cuarto inferior    mediana    cuarto superior     $x_i$  más grandes

En la Figura 1.10, se presenta un gráfico de caja, la línea del centro de la caja es la mediana y la línea por debajo de la mediana corresponde al primer cuartil y la línea por encima de la mediana, al tercer cuartil, las líneas verticales que parten de los cuartiles se denominan “bigotes” y van desde el cuartil correspondiente hasta los valores adyacentes, estos valores corresponden la mayor dato que es menor o igual al límite superior y al menor dato mayor o igual al límite inferior. Los datos situados fuera de los valores adyacentes, cuando existen, se indican con un asterisco (\*), se denominan generalmente como punto anómalos o puntos aberrantes, y son valores extremos respecto al resto de valores observados. Algunas veces los puntos anómalos se deben a errores cometidos en la obtención o el registro de los datos (Evans y Rosenthal, 2004).



**Figura 1.10** Representación de un Gráfico de Caja (Evans y Rosenthal, 2004).

## 1.7. Objetivos

El objetivo principal de la presente tesis es estudiar la viabilidad de la aplicación de tratamiento biológico de aireación extendida como método de remoción de materia orgánica en aguas residuales con alta concentración de sales.

Este objetivo general se divide en los siguientes objetivos específicos.

- Desarrollar técnicas de aclimatación de biomasa a condiciones extremas de salinidad, a partir de la variación paulatina de la concentración de sal del influente, así como la utilización de microorganismos de muestras de mar.
- Estudiar la capacidad de remoción de la materia orgánica del tratamiento aerobio, a través de la variación del caudal y carga orgánica, cuantificando la eficiencia para cada reactor en paralelo, así como observar la activación mecanismos homeostáticos de los orgánicos halófilos, en la variación del pH en el agua residual salina, evaluando cada etapa mediante el monitoreo de variables de control tales como; porcentaje de remoción de DBO, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y concentración de sólidos suspendidos volátiles.

# **CAPITULO 2**

Desarrollo  
Experimental

## 2. Desarrollo Experimental

El método experimental se realizó en dos etapas. En la primera se efectuó una aclimatación de microorganismos para la degradación de la materia orgánica disuelta en el agua residual a partir de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales, durante el proceso se incrementó paulatinamente la salinidad hasta obtener una concentración de sales de 32 ppmil, en un segundo reactor se adicionó agua de mar y se alimentó con agua residual para desarrollar el crecimiento de microorganismos heterótrofos, y finalmente se mezclaron las dos biomásas y se iniciaron los estudios. En la segunda etapa se pusieron en marcha cuatro reactores en paralelo conteniendo la biomasa adaptada, se les aplicó una variación en el caudal de alimentación y posteriormente variaciones de pH para analizar en ambos casos la eficiencia de remoción de la Demanda bioquímica en el reactor (DBO), en conjunto se monitoreó la biomasa expresada en Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) para observar los efectos en la capacidad de degradación biológica. Con la información recolectada se calcularon las variables biocinéticas relacionadas a la degradación microbiana.

### 2.1. Materiales, Reactivos y Equipo

#### 2.1.1. Materiales

- Botellas de vidrio color ámbar de 1 litro para pruebas de DBO
- Botellas de vidrio color ámbar para reactivo de 1 litro con tapa de polivinilo
- Cápsulas de porcelana de 30 mL de capacidad
- Barras de agitación magnéticas
- Desecador de vidrio
- Sílica gel
- Perillas de tres pasos
- Piceta de boca ancha de 500 mL
- Piceta de boca ancha de 1000 mL
- Piceta de boca angosta de 250 mL
- Pipetas serológicas graduadas de 5 y 10 mL de capacidad
- Pipetas serológicas de boca ancha de 5,10 y 25 mL de capacidad
- Vasos de precipitados de 100, 600 y 1000 mL

- Matraces volumétricos de 100 mL
- Cinta de teflón
- Gradilla
- Paquete de Manguera Mca. Tygon Lab L/S 14,
- Calefactores de 20 cm de largo con controlador de temperatura
- Flujómetros
- Motores de agitación
- Difusores
- Adaptadores
- Tubería, codos, llaves de paso y coples de PVC de ¼”
- Celdas de 10 mL de cuarzo para espectrofotómetro

### **2.1.2. Reactivos**

- Set de pruebas Biological Oxygen Demand, marca HACH para prueba de DBO<sub>5</sub> 0 a 700 mg/L
- Soluciones buffer pH 4,7 y 10
- Solución para electrodo YSI85
- Agua destilada
- NaOH
- HCl
- Sales de mar

### **2.1.3. Equipos**

- Medidor YSI 85 (Oxígeno disuelto mg/L y %, temperatura °C, Conductividad mS, Salinidad ppt)
- Potenciómetro
- Parrilla de calentamiento con agitador
- Estufa
- Mufla
- Motores de agitación
- Bombas de aire con regulador de flujo

- Digestor para tubos de COT
- Espectrofotómetro UV/Vis
- Aparato Respirométrico DBO Trak II

## 2.2. Agua Residual Salina

El agua residual para la primera etapa, se formuló con agua proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de CIDETEQ, del cárcamo posterior al pretratamiento (rejillas y desarenador) para asegurar la eliminación de sólidos que pudieran interferir en el proceso de tratamiento biológico, esta agua contenía una DBO promedio de 80 mg/L. La salinidad de 32 ppt (gr/kg de agua salina) se logra agregando paulatinamente una mezcla de sales utilizada para acuarios (Red Sea), que permiten simular la salinidad de un ambiente marino. La salinidad se mide directamente a través de un sensor *in situ*.

Para la segunda etapa, la formulación del agua residual se obtiene con un agua proveniente de la planta de aguas residuales de la ciudad de San Juan del Río, del cárcamo posterior al pretratamiento, conteniendo una DBO promedio de 500 mg/L, el control de la salinidad se aplica de la misma manera que en la etapa uno.

## 2.3. Descripción del Montaje Experimental

### 2.3.1. Aclimatación y desarrollo de biomasa (primera etapa)

Para el estudio del proceso se realizó el montaje de un reactor llamado R1 con la configuración como se muestra en la Figura 2.1.

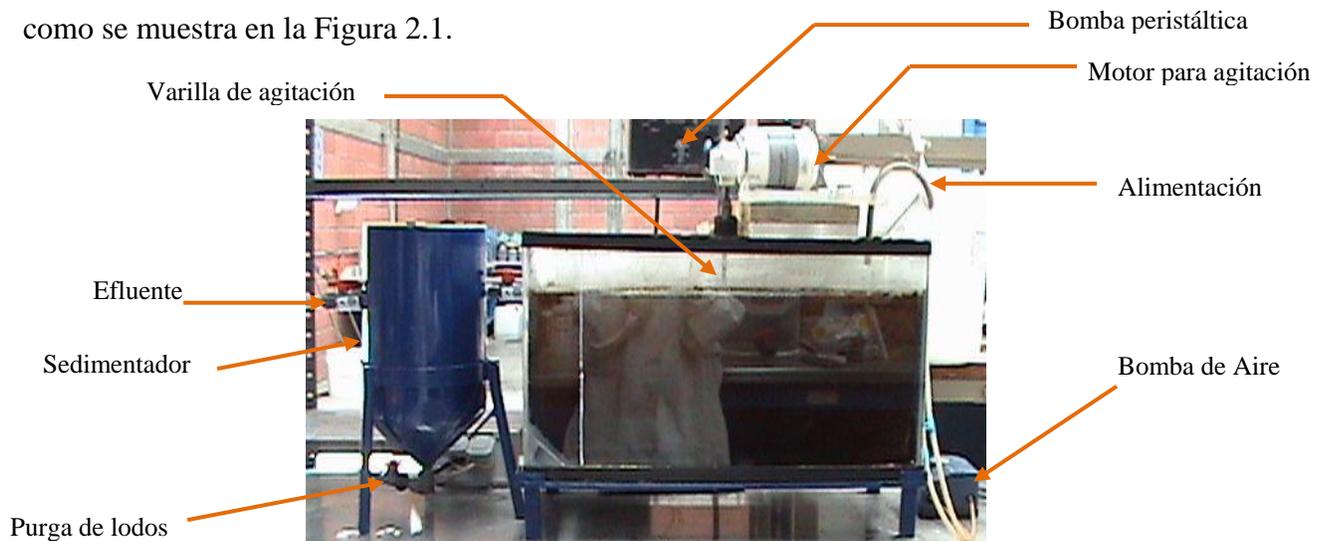


Figura 2.1. Primera etapa de aclimatación en el Reactor 1.

El reactor está equipado con un agitador mecánico de pala ancha y con dos difusores cerámicos de 25 cm de largo colocados en el fondo del reactor los cuales están conectados a una bomba de aire para aplicar una aireación de (3.0 L/min). La agitación se aplica a una velocidad de 130 rpm asegurando una mezcla completa, se utiliza una bomba peristáltica para ingresar un influente de 12.5 mL/min de agua residual salada. Acoplado se encuentra un sedimentador para la separación de lodos biológicos en el efluente, el proceso se trabaja en continuo, las características del reactor se resumen en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1.** Características del reactor utilizado en la primera etapa de aclimatación.

Forma	Rectangular
Dimensiones	26 cm x 43 cm x 30 cm
Volumen efectivo	28 litros
Volumen de aire	3 L/min
Agitación (mezcla completa)	130 rpm
Caudal influente (continuo)	12.5 mL/min

La primera etapa de aclimatación se inició en un cultivo batch durante ocho días de operación, con una inoculación de lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas de Querétaro, se mantuvo aireado y con agitación continua, se hizo una alimentación intermitente del reactor hasta alcanzar su máxima capacidad de 28 litros, después del noveno día el reactor se puso a operar en continuo.

El reactor se alimentó inicialmente con agua residual sin sal marina durante una semana después de su operación en continuo, posteriormente se disolvió de forma gradual sal marina en el agua residual en incrementos de 5 ppmil (g/kg de agua de mar) cada semana, hasta finalmente alcanzar las 32 ppmil (g/kg de agua de mar), lo anterior para permitir que los microorganismos halotolerantes se aclimataran y crecieran en las condiciones de operación.

Para conocer la eficiencia del proceso y la cantidad de microorganismos generados se monitorearon los parámetros indicados en la Tabla 2.2.

**Tabla 2.2.** Parámetros de monitoreo para el Reactor 1.

Metodología	Análisis	Frecuencia	Agua residual inicial	Licor mezclado	Efluente
Medición Directa YSI	Oxígeno Disuelto	Diariamente	-	X	-
Medición Directa YSI	Temperatura	Diariamente	-	X	-
Medición Directa	pH	Diariamente	X	X	X
Medición Directa YSI	Conductividad	Diariamente	-	X	-
Medición Directa YSI	Salinidad	Diariamente	-	X	-
Método 2540 E AWMA	SS, MLVSS (mg/l)	Diariamente	-	X	X

### 2.3.2. Aclimatación y desarrollo de biomasa (segunda fase)

Para el estudio de esta segunda fase se realizó el montaje del reactor R2, construido de PVC con un arreglo como se muestra en la Figura 2.2.

El reactor está equipado con un agitador mecánico de pala y con un difusor cerámico de 25 cm de largo colocado en el fondo del reactor conectado a una bomba de aire para aplicar una aireación de (0.3 L/min), la agitación se aplica a una velocidad de 130 rpm asegurando una mezcla completa.



**Figura 2.2.** Arreglo para los reactores 2, 3,4 y 5 durante la segunda etapa de aclimatación.

Con la finalidad de obtener una variedad de microorganismos halófilos, se reprodujeron microorganismos de origen marino aplicando el siguiente método:

1. Toma de muestra: El muestreo se realizó el 4 de mayo del 2007 a una distancia de dos metros de la zona costera de Manzanillo, Colima. Recolectándose aproximadamente cinco litros de agua de mar conservándose a 4°C por un máximo de 24 horas.
2. Inoculación. Previo a realizar las pruebas de aclimatación se permite que la muestra alcance la temperatura ambiente, en el reactor 2 se colocan dos litros de agua de mar y dos litros de agua residual con la mezcla salina (32 ppmil), para este caso no es necesario realizar una disolución salina gradual debido a que los microorganismos presentes toleran grandes cantidades de sal.
3. Operación: El reactor se mantuvo en batch durante 5 días, la mezcla fue aireada con un difusor a una tasa de 0.3 L/min y una agitación continua de 130 rpm. Para conocer la eficiencia de reproducción de la biomasa del reactor 2 se monitorean los parámetros indicados en la tabla 2.2.

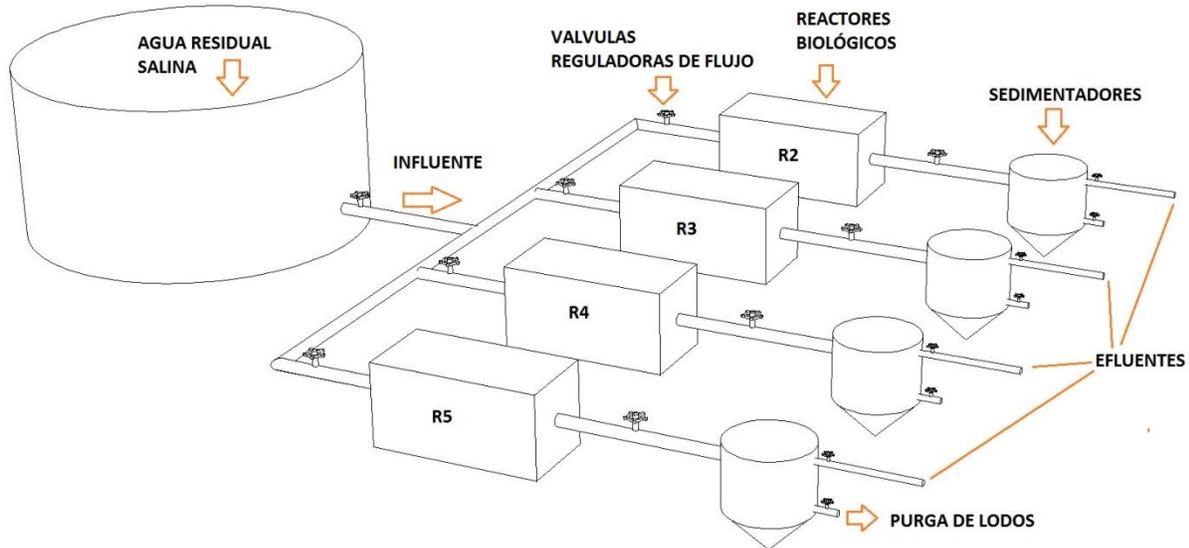
### **2.3.3. Mezcla de Lodos Biológicos**

Posterior a la primera y segunda etapa de aclimatación, los lodos biológicos contenidos en cada reactor se separaron mediante sedimentación, ambos contenidos fueron puestos en el reactor 1, obteniéndose una mezcla de microorganismos halotolerantes y halófilos estrictos degradadores de materia orgánica, este reactor se mantuvo durante 5 días en condiciones de flujo de 12.5 mL/min, una aireación de 0.3 L/min y agitación de 130 rpm. Transcurrido este periodo, se separó el lodo biológico y en proporciones iguales fueron inoculados los reactores 2, 3, 4 y 5 para iniciar la fase de variación de caudales.

### **2.4. Condiciones de Operación de los Reactores en Paralelo**

Para realizar de experimentación de variación de caudal, pH y carga orgánica, se dispusieron de cuatro reactores en paralelo definidos como R2, R3, R4 y R5, las condiciones de operación para cada etapa están indicadas en las tablas 2.3, 2.4 y 2.5 de este capítulo. El arreglo general (Figura 2.3) consiste en un contenedor de 1 m<sup>3</sup> de agua residual al cual se le agregaba sal de acuario, se mezclaba de forma manual para obtener su homogenización, posterior a éste se conectaban cuatro tomas reguladas por llaves de paso y conectadas a cada uno de los reactores, además se

incluyeron sedimentadores circulares de fondo cónico para la separación de lodos y efectuar su recirculación a los reactores, su cuantificación y/o purga.



**Figura 2.3.** Arreglo general de los reactores en paralelo para las pruebas de variación de caudal, pH y carga orgánica.

#### 2.4.1. Variación del tiempo de retención hidráulico

Para efectuar el estudio de la cinética de tratamiento biológico por aireación extendida se efectuó mediante el arreglo de reactores, conformado por cuatro unidades R2, R3, R4 y R5 operando paralelamente con flujo continuo de 0.43, 0.50, 0.60 y 0.75 L/h respectivamente. Los reactores están contruidos de PVC con una capacidad de 12 litros y están equipados con un agitador mecánico de pala y un difusor cerámico de 25 cm de largo colocado en el fondo del reactor conectado a una bomba de aire, se utilizó una bomba peristáltica para la alimentación del agua residual salina (salinidad de 32 ppmil). Cada reactor se inoculó con 3 litros de la mezcla proveniente del reactor R1 indicada en el punto 2.3.3. En la Tabla 2.3. se indican las condiciones de operación para cada reactor, el origen del agua residual fue obtenida posterior al pretratamiento de la planta de tratamiento de CIDETEQ y San Juan del Río.

**Tabla 2.3.** Condiciones de operación de los reactores 2, 3, 4 y 5 en la fase de variación de caudales.

Reactor	Inoculación cepa combinada (L)	Tiempo de Retención $t_h$ (h)	Caudal $Q=V/t_h$ (L/h)	Mezclado (rpm)	Aireación (L/min)	DBO <sub>5</sub> Promedio afluente (mg/L)
2	3	28	0.43	130	0.3	80
3	3	24	0.50	130	0.3	80
4	3	20	0.60	130	0.3	80
5	3	16	0.75	130	0.3	80

### 2.4.2. Aireación Prolongada Variación en el pH

Con la finalidad de observar la influencia del pH del afluente sobre el tratamiento de aireación prolongada se efectuó una variación de este parámetro en los reactores R1, R2, R3 y R4 fijando el caudal de operación de todos los reactores a 0.5 L/h, y un tiempo de retención hidráulico de 24 horas, se inocularon los cuatro reactores con inóculo nuevo proveniente del reactor 1 para asegurar la homogeneidad de condiciones de inicio en los cuatro reactores, con alimentación continua de agua residual salina (agua residual + salinidad 32 ppmil) proveniente de las instalaciones de la planta de tratamiento de CIDETEQ y San Juan del Río, las condiciones de operación generales se exponen en la Tabla 2.4.

**Tabla 2.4.** Condiciones de operación de los reactores 2, 3, 4 y 5 en la fase de variación del pH del afluente.

Reactor	pH	Inoculación cepa combinada (L)	Tiempo de Retención $t_h$ (h)	Caudal $Q=V/t_h$ (L/h)	Mezclado (rpm)	Aireación (L/min)	DBO <sub>5</sub> Promedio influente (mg/L)
2	10	3	24	0.50	130	0.3	80
3	8	3	24	0.50	130	0.3	80
4	6	3	24	0.50	130	0.3	80
5	5	3	24	0.50	130	0.3	80

### 2.4.3. Aireación Prolongada Variación en la Carga Orgánica

Para conocer la influencia de una carga orgánica más concentrada se hizo una variación con dos cargas DBO<sub>5</sub> promedio de 300 mg/L y 500 mg/L del afluente, en este caso el agua residual utilizada proviene de la planta de aguas residuales de San Juan del Río y se diluye con agua residual de CIDETEQ hasta obtener las concentraciones de DBO<sub>5</sub> señaladas, se agrega sal marina hasta obtener una salinidad de 32 ppt para cada caso. Para asegurar condiciones de inicio similares se inoculan con 3 litros de agua proveniente del reactor 1, se mantiene un tiempo de

retención hidráulico de 24 horas y pH de 8 en todos los reactores, las condiciones de operación de los reactores se indican en la Tabla 2.5.

**Tabla 2.5.** Condiciones de operación de los reactores 2, 3, 4 y 5 en la fase de variación de carga orgánica del influente.

Reactor	pH	Inoculación cepa combinada (L)	Tiempo de Retención $t_h$ (h)	Caudal $Q=V/t_h$ (L/h)	Mezclado (rpm)	Aireación (L/min)	DBO <sub>5</sub> Promedio influente (mg/L)
2	8	3	24	0.50	130	0.3	300
3	8	3	24	0.50	130	0.3	500
4	8	3	24	0.50	130	0.3	500

## 2.5. Métodos Analíticos

Las muestras fueron tomadas de los reactores en intervalos de 24 y 48 horas, las mediciones de parámetros tales como: Oxígeno Disuelto, Salinidad, Conductividad, Temperatura fueron realizados utilizando un analizador YSI85, mientras que la medición del pH se efectuó con un analizador Oakton, cada uno de estos analizadores previo a su uso fueron calibrados de acuerdo al procedimiento señalado en el manual.

Para los parámetros tales como Amoniaco, Nitritos, Nitratos, Carbono Orgánico Total se efectuaron utilizando métodos espectrofotométricos con el equipo DR4000 Marca HACH, para la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) se aplicó un método respirométrico establecido en el Manual HACH. En Tabla 2.6 se presenta un resumen de los métodos utilizados para la determinación de los parámetros de control del sistema de tratamiento, los métodos desarrollados se encuentran en el Anexo I del presente documento.

**Tabla 2.6.** Parámetros de monitoreo para los Reactores 2, 3, 4 y 5.

Metodología	Análisis	Frecuencia	Agua residual inicial	Licor mezclado	Efluente
Medición Directa YSI85	Oxígeno Disuelto	Diariamente	-	X	-
Medición Directa YSI85	Temperatura	Diariamente	-	X	-
Medición Directa	pH	Diariamente	X	X	X
Medición Directa YSI85	Conductividad	Diariamente	-	X	-
Medición Directa YSI85	Salinidad	Diariamente	-	X	-
Método 2540 B y E (Standard Methods)	MLVSS (mg/l)	Diariamente	-	X	X
Medición Directa YSI85	Oxígeno disuelto (OD) (mg/l)	Diariamente	-	X	-
Medición Indirecta (Ramalho)	Velocidad de utilización de Oxígeno	Tercer día	-	X	-

Medición Indirecta (Ramalho)	Índice Volumétrico de Lodos	Tercer día	-	X	-
Método HACH 10099	DBO <sub>5</sub>	Tercer día	X	-	X

## 2.6. Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos como resultados de los análisis de aclimatación, variación de caudal y pH se analizaron estadísticamente utilizando el programa GraphPad InStat 3, el procedimiento consistió en la determinación de la normalidad de la distribución de los datos, para posteriormente realizar la definición de la aplicación de pruebas paramétricas y no paramétricas, y posterior comparación de grupos y correlación de variables.

### 2.6.1 Prueba de Normalidad

Es bien sabido que muchos de los procedimientos estadísticos se basan en la normalidad de las observaciones, aunque algunos de los procedimientos son relativamente robustos frente a esta suposición, no todos lo son, por lo que es importante considerar un análisis de normalidad antes de aplicar un análisis paramétrico o no paramétrico. El primer análisis se basa en el supuesto de que los datos presentan una distribución Gaussiana, pero cuando las pruebas no aplican esta suposición sobre la distribución de la población son conocidas como pruebas no paramétricas, todas estas pruebas comúnmente aplican un rango a la variable de salida que va desde un valor bajo hasta el más alto, antes de analizar los datos. (Motulsky, 1995)

Existen diversos procedimientos para realizar una prueba de normalidad, tales como: un procedimiento gráfico, la prueba Shapiro-Wilk,  $\chi$ -cuadrado y la prueba Kolmogorov-Smirnov. La hipótesis nula siempre es que la muestra proviene de una variable normal. (Delgado de la Torre, 2008).

De las pruebas antes mencionadas, la prueba de normalidad que se aplicó en el grupo de datos es la de *Kolmogorov-Smirnov* porque tiene una mayor ventaja, ya que se puede usar tanto para muestras grandes como pequeñas, es una prueba muy conservadora que se aplica a variables continuas. Se basa en la determinación de la máxima diferencia (D) entre las frecuencias acumuladas observadas (AO<sub>i</sub>) y las frecuencias acumuladas esperadas (AE<sub>i</sub>), partiendo de la hipótesis nula de que los datos se ajustan a una distribución normal (Guisande et al., 2006).

### 2.6.2. Pruebas de comparación de grupos y correlación entre variables.

Para la comparación de dos grupos de datos emparejados se aplicó la prueba *Wilcoxon*, la cual es utilizada de la misma forma que la prueba *t*, donde para cada par de datos se calcula la diferencia,

manteniendo un registro del signo. Una disminución es un número negativo, un incremento es positivo, ignorando las diferencias igual a cero. Posteriormente se suman los rangos de las diferencias positivas y negativas, obteniendo el valor T y su correspondiente valor P que es comparado con el valor de significancia establecida.

Para la comparación de tres o más grupos emparejados se aplica la prueba de **Friedman**, esta prueba primero establece el rango de los datos desde el valor más pequeño al más grande y posteriormente se analiza la distribución de los rangos entre los grupos (Motulsky, 1995).

Para reconocer las asociaciones en conjuntos de datos complejos no lineales se utiliza el coeficiente de correlación de rango de **Spearman** ( $r_s$ ). Para datos numéricos, los valores reales de  $x$  y  $y$  son reubicados en rangos; el valor más pequeño de  $x$  tiene el valor 1, el siguiente valor más grande tiene el rango 2, etc., similarmente, los rangos se asignan para  $y$ . La interpretación del coeficiente  $r_s$  de Spearman es similar a la de Pearson; valores próximos a 1 indican una correlación fuerte y positiva. Valores próximos a  $-1$  indican una correlación fuerte y negativa. Valores próximos a cero indican que no hay correlación lineal. El éxito de este coeficiente es esencialmente debido a su insensibilidad a las contribuciones individuales de los resultados (Borradaile, 2003).

# **CAPITULO 3**

## **Resultados**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**

**Esta página fue eliminada debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 Fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.**