



CENTRO DE INVESTIGACION EN MATERIALES AVANZADOS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**“Dinámica del Crecimiento de la Biopelícula en
un Reactor Trifásico de Lecho Fluidizado”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA

RUBEN ALFONSO SAUCEDO TERAN

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. LUISA MANZANARES PAPAYANOPOULOS

ASESORA EXTERNA:

DRA. GUADALUPE VIRGINIA NEVAREZ MOORILLON

**EGRESADO DEL PROGRAMA DE DOCTORADO
EN CIENCIAS AMBIENTALES CON EL ACUERDO
DE RECONOCIMIENTO DE VALIDEZ OFICIAL DE
ESTUDIOS 985198**

Chihuahua, Chih.

OCTUBRE DE 2002



CENTRO DE INVESTIGACION EN MATERIALES AVANZADOS, S.C.



EN CHIHUAHUA, CHIH., A LAS 16:00 HORAS DEL DIA 16
MES DE OCTUBRE DEL 2002. SE REUNIERON LOS
MIEMBROS DEL JURADO INTEGRADO POR LOS SEÑORES:

Dr. Erasmo Orrantia Borunda
Dr. Daniel Hernández Castillo
Dra. Guadalupe Virginia Nevarez Moorillon
Dr. Francisco Javier Solís Martínez
Dr. Arturo Keer Rendón



BAJO LA PRESIDENCIA DEL PRIMERO Y CON EL CARÁCTER DE
SECRETARIO EL ÚLTIMO, PARA PROCEDER A EFECTUAR LA
EVALUACIÓN DE LA TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL
CON RECONOCIMIENTO DE VALIDEZ OFICIAL DE LA SEP, SEGÚN
ACUERDO No. 985198 DE FECHA 25 DE SEPTIEMBRE DE 1998 ,
QUE SUSTENTA

RUBÉN ALFONSO SAUCEDO TERÁN

LOS MIEMBROS DEL JURADO EXAMINARON AL SUSTENTANTE Y
DESPUÉS DE DELIBERAR ENTRE SI, RESOLVIERON DECLARARLO(A)

APROBADO.

EL PRESIDENTE DEL JURADO LE DIO A CONOCER EL RESULTADO Y
PROCEDIÓ A TOMAR LA PROTESTA DE LEY.

Erasmo Orrantia B.

Dr. Erasmo Orrantia Borunda
PRESIDENTE

Daniel Hernández Castillo

Dr. Daniel Hernández Castillo
1er VOCAL

Francisco Javier Solís Martínez

Dr. Francisco Javier Solís Martínez
3er VOCAL

Vo. Bo.

David Ríos Jara

Dr. David Ríos Jara
DIRECTOR GENERAL

Arturo Keer Rendón

Dr. Arturo Keer Rendón
SECRETARIO

Guadalupe Virginia Nevarez Moorillon

Dra. Guadalupe Virginia Nevarez Moorillon
2do VOCAL

DEDICATORIA

A ti Carmen, fuente de inspiración de mi vida y motor de mis deseos de superación.

A mi hijo César Hugo, por el gozo sublime y hermoso de escuchar de sus labios la palabra "papá."

A mis padres, quienes me dieron la vida y a quienes debo mi formación.

A mis hermanos, de ahora y de siempre.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a dios nuestro señor, por cuya intersección todo es posible.

Al CONACYT, por la beca otorgada al suscrito y al sistema regional de Investigación Francisco Villa "Sivilla", fuente de financiamiento del proyecto de investigación que dio lugar a esta tesis.

A mis asesoras, la Dra. Luisa Manzanares P. y la Dra. Guadalupe V. Nevárez M., por sus valiosos consejos y apoyo incondicional.

Al Dr. Arturo Keer R., guía fundamental en la sustentación teórica de los procesos físicos del desarrollo experimental.

Al Dr. Jorge Jiménez C. de la Facultad de Zootecnia de la UACH por compartir conmigo su amistad y sus conocimientos.

A los estudiantes de la facultad de Química de la UACH Paloma A. Carrasco R., Catalina Andrade y Jair Carrasco P., mi más profundo agradecimiento por su importante participación en el proyecto.

Al Dr. Francisco Solís M. y la Ing. Lucina G. Córdoba F. de la Facultad de Medicina de la UACH, por su invaluable colaboración en el desarrollo de la fase de observaciones microscópicas del trabajo.

Al personal técnico del Cimav, los Ing. Maribel Díaz G., Enrique Torres M., Pedro Castillo C., Alfredo Campos T., Elías Ramírez E., y Víctor Ramos S., quienes de una u otra manera contribuyeron con su trabajo en el logro de mis objetivos.

Al personal técnico y directivo de los departamentos de prototipos y mantenimiento del Cimav, un especial agradecimiento por su paciencia y atenciones brindadas al suscrito.

A los estudiantes de la maestría en ciencias ambientales del Cimav Amarabi Cano J., José A. Moreno B. y Jorge Sáenz P., quienes participaron en el proyecto con los análisis de sólidos.

A mis amigos y compañeros de anhelos y vicisitudes Norma Ramírez B., Patricia Amézaga M., Laila Muñoz C., Liliana Alzate G., Vinicio Torres M., Manuel Piñón y Saúl Armendáriz .

Finalmente, a quienes creyeron en mí y me abrieron las puertas del Cimav, mis estimados amigos el Lic. Federico Stockton R. y el Dr. Raúl Bautista M.

INDICE

	Pag.
INTRODUCCION	1
CAPITULO I	
USO Y MANEJO DE AGUAS RESIDUALES EN MEXICO Y EL MUNDO	4
1.1 Importancia del agua.....	4
1.2 La paradoja sobre la escasez de agua en un planeta mayormente constituido por agua.....	5
1.3 Origen y composición de las aguas residuales.....	8
1.3.1 Principales fuentes de contaminación del agua.....	8
1.3.2 Principales constituyentes de aguas residuales y su impacto ecológico.....	11
1.4 Tecnología para el tratamiento de aguas residuales.....	17
1.4.1 Procesos físicos unitarios.....	19
1.4.2 Procesos químicos unitarios.....	20
1.4.3 Procesos biológicos unitarios.....	21
CAPITULO II	
PRINCIPIOS Y FUNDAMENTOS DE LOS REACTORES TRIFASICOS DE LECHO FLUIDIZADO	25
2.1 Conceptos básicos de los sistemas trifásicos de lecho fluidizado.....	25
2.2 Los reactores trifásicos de lecho fluidizado y su aplicabilidad como alternativa para el tratamiento " <i>in situ</i> " de aguas residuales.....	28
2.3 El principio de la fluidización: su dependencia con el material de soporte y su relación con la eficiencia del sistema.....	29

CAPITULO III	LA POBLACION MICROBIANA COMO EL PRINCIPAL COMPONENTE DEL SISTEMA.....	32
3.1	La diversidad microbiológica como producto del medio ambiente.....	32
3.2	Estudio de la microbiología ambiental: del paradigma del cultivo puro al concepto de biopelícula.....	34
3.3	Determinación del crecimiento biopelicular a través del monitoreo de indicadores bioquímicos y conteos celulares.....	36
CAPITULO IV	MATERIALES Y METODOS.....	40
4.1	Características del reactor y equipo complementario.....	40
4.1.1	Sistema de eliminación de biomasa.....	40
4.1.2	Sistema de separación de sólidos.....	41
4.1.3	Sistema de difusión de aire.....	41
4.2	Selección de materiales de soporte.....	44
4.3	Corridas experimentales.....	47
4.3.1	Condiciones generales de operación.....	49
4.3.2	Substrato.....	50
4.3.3	Variables de respuesta y técnicas de análisis.....	51
4.3.3.1	Componentes bacterianos.....	51
4.3.3.2	Conteos microbianos.....	53
4.3.3.3	Parámetros del reactor.....	55
4.3.4	Preparación de muestras para su observación mediante microscopía electrónica de barrido.....	56
4.3.5	Análisis estadístico.....	57

CAPITULO V	RESULTADOS Y DISCUSION.....	58
5.1	Selección de materiales de soporte.....	58
5.1.1	Primera etapa de selección.....	58
5.1.2	Segunda etapa de selección.....	58
5.2	Fluidización del lecho.....	62
5.3	Variables operativas.....	64
5.4	Dinámica de la actividad microbiana en el sistema.....	67
5.5	Desempeño del reactor como respuesta al incremento en la concentración del sustrato.....	70
5.6	Relación entre los cambios en los indicadores de crecimiento de la biopelícula y la eficiencia del sistema.....	73
5.7	Análisis comparativo de los dos materiales de soporte finales.....	77
5.8	Observación microscópica de los materiales de soporte....	82
CAPITULO VI	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	92
6.1	Conclusiones.....	92
6.2	Recomendaciones.....	93
BIBLIOGRAFIA	95
APENDICE	110

Dinámica del Crecimiento de la Biopelícula en un Reactor Trifásico de Lecho Fluidizado

INTRODUCCION

Día con día se incrementan los problemas de contaminación de suelos y mantos acuíferos a causa del vertido de aguas residuales en ellos. Como una medida para aminorar ese daño, en diversos Estados de nuestro país se han implementado una serie de reformas a las Leyes Ecológicas, introduciendo importantes restricciones sobre el contenido de materia orgánica de las aguas residuales vertidas en las redes municipales de drenaje y alcantarillado. Bajo tales disposiciones, numerosos usuarios se verán obligados a efectuar un tratamiento a sus aguas residuales antes de enviarlas al drenaje, situación que derivará en una alta demanda de sistemas de tratamiento *in situ*.

Los reactores trifásicos de lecho fluidizado ofrecen una serie de ventajas sobre otros sistemas, lo que los ubica como una alternativa viable para el tratamiento de aguas residuales con niveles máximos de 350 mg L^{-1} de demanda química de oxígeno. En ese rango se sitúan la mayor parte de los pequeños generadores de aguas residuales como hoteles, restaurantes, hospitales, edificios públicos y privados, cuyos volúmenes de aguas residuales y su poca disponibilidad de espacio limitan la utilización de sistemas tradicionales de tratamiento. Por lo tanto, esos establecimientos se perfilan como usuarios potenciales de los sistemas de tratamiento *in situ*, en este caso en particular, de los reactores trifásicos de lecho fluidizado.

No obstante, los altos costos de operación por concepto de consumo de energía eléctrica requerida para el bombeo constituye una importante desventaja para una adopción masiva de los sistemas de lecho fluidizado. En estos sistemas,

la arena sílica es el medio de soporte tradicional ya que es un material abundante y barato, pero debido a su alta densidad natural requiere de altas tasas de flujo de la fase líquida y/o gaseosa como medio para obtener la fluidización del lecho. Considerando que la fluidización del lecho está íntimamente ligada a la densidad de las partículas empleadas como material de soporte, el uso de materiales de baja densidad es una alternativa viable para reducir el consumo de energía eléctrica por bombeo, permitiendo minimizar los costos de operación.

En el contexto internacional, los reactores trifásicos de lecho fluidizado han mostrado ser sistemas capaces de eliminar la mayor parte de la materia orgánica contenida en aguas residuales; sin embargo, la literatura al respecto cita deficiencias importantes en materia de continuidad de operación, lo que ha conducido a la implementación de diversos esquemas de lavado del lecho así como al diseño y aplicación de diferentes accesorios como medio para propiciar la eliminación del exceso de biomasa en el reactor y previniendo, de ese modo, la saturación o estancamiento del lecho.

Con base en lo anteriormente expuesto, se llevó a cabo el presente trabajo con la finalidad de diseñar y evaluar un prototipo de reactor trifásico de lecho fluidizado, mismo que cumpla con las especificaciones internacionales de calidad y eficiencia. Se planteó también la necesidad de contribuir a la optimización del desempeño de los reactores trifásicos de lecho fluidizado, efectuando cambios en el diseño de algunos componentes del reactor así como la utilización de nuevos materiales de soporte como posibles sustitutos de la arena sílica, teniendo como premisa principal la obtención de un modelo experimental provisto del menor número posible de accesorios periféricos y factible de operar en forma continua y automatizada. Como parte del proceso de optimización y como un componente fundamental en el funcionamiento del reactor, se estudiaron los procesos de desarrollo y desprendimiento de biomasa, con el propósito de definir el contenido óptimo de microorganismos en el sistema así como identificar los mecanismos operativos para obtener un balance apropiado entre dichos procesos.

OBJETIVOS:

- 1) Estudiar la dinámica de formación de biopelícula en un reactor trifásico de lecho fluidizado empacado con materiales de soporte de baja densidad y determinar su efecto sobre la eficiencia del reactor, en términos de la remoción de la materia orgánica contenida en un agua residual sintética.
- 2) Diseñar y evaluar diversos implementos como medio para disminuir las frecuencias de lavado del reactor e incrementar el tiempo de operación continuo.

METAS:

- 1) Desarrollar un reactor aerobio de lecho fluidizado a escala experimental con potencial para obtener altos niveles de eficiencia en la remoción de materia orgánica.
- 2) Generar un material de soporte con cualidades de fluidización y de fijación de biopelícula superiores a las de la arena sílica, el material de soporte tradicional en los reactores aerobios de lecho fluidizado.

CAPITULO I

USO Y MANEJO DE AGUAS RESIDUALES EN MEXICO Y EL MUNDO

1.1 Importancia del agua

El agua es un componente esencial en los seres vivos. Su importancia biológica radica en ser el medio en el que se realizan los procesos vitales. Todos los organismos vivientes contienen agua, el cual es también su componente más abundante. Tanto en los animales como en las plantas el contenido total de agua varía, normalmente, dentro de los límites comprendidos entre la mitad y el 90% del peso total del organismo. En los vegetales superiores, del 75 al 90% del peso está constituido por agua. En los animales, el contenido hídrico corresponde a una media de 60 a 70% del peso total del cuerpo. También el cuerpo humano está constituido mayoritariamente por agua: el máximo porcentaje en peso corresponde a los primeros meses de vida embrionaria (cerca del 97%) y disminuye con la edad: en el recién nacido es del 70% y en el adulto desciende del 58 al 67% [Enciclopedia de la ciencia y de la técnica, 1980].

Además de su importancia como principal constituyente de los seres vivos y de su participación en todos los procesos biológicos, el agua también forma parte de todas y cada una de las actividades productivas del hombre. Gran parte de la utilidad del agua se debe a sus propiedades únicas en estado líquido, en relación con otras moléculas de peso molecular semejante:

- 1) El agua es un líquido en el intervalo de temperatura más adecuado para los procesos vitales, a causa del elevado punto de ebullición (100°C) y de su bajo punto de congelación (0°C).

- 2) El agua líquida cambia de temperatura con lentitud debido a su alta resiliencia térmica (la aptitud de almacenar una gran cantidad de calor sin expresar un gran cambio de temperatura).
- 3) El agua líquida posee un elevado calor de vaporización (la cantidad de calor que se necesita para evaporar el agua líquida).
- 4) El agua líquida es un solvente sin igual, capaz de disolver grandes cantidades de una gran variedad de compuestos.
- 5) El agua líquida tiene una alta tensión superficial (fuerza de atracción entre moléculas que hacen que la superficie de un líquido se contraiga) muy elevada, y una alta capacidad humectante (de adherirse y recubrir a un sólido), propiedades que, en conjunto, originan su capilaridad.
- 6) El agua líquida es la única sustancia común que se expande, en vez de contraerse, cuando se congela [Miller, 1994].

1.2 La paradoja de la escasez de agua en un planeta mayormente constituido por agua

A pesar de la gran abundancia de agua en nuestro planeta, el agua directamente aprovechable es sumamente escasa. Se estima que del volumen total de la tierra, el 75% está constituido por agua. Sin embargo, el agua dulce disponible para la industria, la agricultura y el consumo humano representa menos del 1% del volumen total. El agua se encuentra en la naturaleza en formas diversas, predominando las aguas oceánicas, mismas que comprenden algo más del 97% del total de agua en la tierra. Las aguas superficiales sólidas, acumuladas en los casquetes glaciares y en los glaciares de las montañas, constituyen aproximadamente el 2.5% del total; las aguas superficiales líquidas, que incluye a

ríos y lagos cuyo volumen es muy escaso (menos de 0.1%); las aguas subterráneas, con un porcentaje aproximado de 0.5%; el agua en forma de vapor, que se encuentra en la atmósfera, comprende aproximadamente el 0.001% del total. Todas las diferentes formas en las que el agua se encuentra en la naturaleza no son fuentes estáticas, sino que están sometidas a constantes cambios siguiendo un recorrido cíclico, denominado ciclo hidrológico o ciclo del agua en la naturaleza.

Esquemáticamente, el ciclo hidrológico comprende las siguientes etapas:

- 1) Evaporación de las aguas oceánicas y las de la superficie terrestre.
- 2) Circulación atmosférica en forma de vapor de agua.
- 3) Condensación del vapor y precipitación en forma de lluvia, nieve o granizo.
- 4) Circulación superficial y subterránea del agua procedente de las precipitaciones [De Marsily, 1986; Campos, 1992].

El promedio global de reemplazo de agua en corrientes fluviales es de 18 a 20 años, mientras que el agua de la atmósfera se reemplaza por completo cada 12 años. El agua freática o subterránea profunda necesita de varios cientos de años para renovarse, excepto en mantos fósiles de gran profundidad, los cuales no son renovables en una escala de tiempo humana. Los procesos de reciclaje y purificación naturales proporcionan abundante agua dulce. No obstante, esto sucede en tanto que el agua captada o purificada no se contamine con mayor rapidez de la que se reemplaza, no se sobrecargue con desechos de degradación lenta o no degradables o no se extraiga de mantos subterráneos de lenta renovación a una mayor rapidez de la que estos se pueden recargar. Desafortunadamente, se está perturbando el ciclo de renovación del agua al

efectuar todas las acciones contraindicadas. Por otro lado, el agua dulce utilizable se distribuye de manera poco uniforme alrededor del planeta. Debido a diferencias en la precipitación media anual, el mundo se divide en "zonas de si hay" agua, en regiones de climas templados y tropicales, y en "zonas de no hay", correspondientes a las regiones áridas y semiáridas [Miller, 1994].

Tal es el caso de México, en donde su gran variabilidad fisiográfica conduce a la delimitación de zonas ecológicas profundamente diferentes en lo que a disponibilidad de agua de lluvia se refiere. De acuerdo con el Atlas Nacional del medio físico, los climas de México están comprendidos en 97 tipos y subtipos, que van desde los muy cálidos con lluvias todo el año, hasta los muy secos, pasando por los cálido húmedos, los templados, el estepario y algo de nieves perpetuas de altura; sin embargo, los climas predominantes son los secos [INEGI, 1988]. Las zonas árida y semiárida de México comprenden áreas con precipitaciones de hasta 125 mm anuales en el extremo Noreste de Sonora, Sur y Noreste de Baja California y el extremo Noreste de Baja California Sur; las áreas con precipitaciones de 125 a 400 mm comprenden parte de la península de Baja California, Norte, Centro y sureste de Sonora, Chihuahua, Coahuila, parte de Nuevo León, Coahuila, Durango y San Luis Potosí.

En esas áreas, en las que generalmente se presentan sequías severas, son también las áreas en las que en los últimos años han ocurrido el mayor número de sequías, con un total de 12 eventos [UNAM, 1990]. Según la Comisión Nacional de las Zonas Aridas [CONAZA, 1994], de 1930 a 1977 las sequías disminuyeron en frecuencia, pero aumentaron en intensidad; 20 de las sequías registradas fueron severas y seis extremadamente severas. En 1949 el 77% de la superficie agrícola nacional resultó siniestrada; en 1969, otra sequía extremadamente severa fue causante del 73% de las pérdidas agrícolas para ese año. En el estado de Chihuahua, durante los últimos diez años la precipitación anual fue inferior al promedio histórico, resaltando años como los de 1994 y 1998, cuyas precipitaciones correspondieron al 52 y 67% del promedio histórico,

respectivamente. Como consecuencia de esos años de sequía, en la actualidad el promedio del volumen de agua almacenada en las principales presas del estado es de 33% [Servicio Meteorológico Nacional, 2002].

1.3 Origen y composición de las aguas residuales

1.3.1 Principales fuentes de contaminación del agua

Como ya se señaló anteriormente, además de la escasez, la disponibilidad de agua para el consumo y para el desarrollo de actividades productivas se ve seriamente limitada por factores de contaminación. Las previsiones en materia de eficiencia en el uso de agua señalan que, para el año 2025, el consumo nacional por hectárea irrigada se reducirá en un 25% respecto a la eficiencia actual. Igualmente se estima que para ese mismo año las dos terceras partes de los acuíferos del país quedarán inutilizados por problemas de contaminación, por lo que al menos en el 50% de los centros urbanos del país con 100,000 o más habitantes, el agua consumida deberá ser reciclada dos o más veces para poder cubrir las demandas de la población [SAGAR, 1997].

Freeman [1988] reporta los principales residuos tóxicos de origen urbano y los divide en seis grandes grupos:

- 1) Grasas y aceites.
- 2) Bifenilos policlorados.
- 3) Dioxinas.
- 4) Residuos infectocontagiosos.

- 5) Residuos de la industria minera.

- 6) Residuos domésticos.

Respecto a grasas y aceites, McCabe [1988] y Manaham [1994] señalan que este tipo de residuos se refieren a los lubricantes utilizados en la industria y en los automóviles, los derivados de la cocina doméstica y el procesamiento de alimentos, así como algunos aceites empleados en la refrigeración. La importancia de este tipo de residuos radica en los grandes volúmenes manejados en la actualidad. Se estima que en Estados Unidos anualmente se generan 4.5 millones de m³ de residuos oleosos, de los cuales el 30% se vierten al suelo y al drenaje. El mismo autor sostiene que la contaminación relacionada con residuos oleosos resulta de los cambios físicos o químicos de sus componentes o de la combinación de estos con otro tipo de residuos tóxicos, ya sea en su transporte o en su almacenaje. Por su efecto contaminante, los residuos oleosos se dividen en hidrocarburos aromáticos mono y polinucleares, dicromáticos, hidrocarburos clorados y metales. Respecto a sus efectos en la salud, los aromáticos polinucleares han sido identificados como agentes cancerígenos y mutágenos. Los metales son introducidos en los aceites como parte misma del lubricante o a partir de fuentes externas como los envases empleados.

El grupo de los bifenilos policlorados (BPCs) comprende compuestos que en el pasado fueron de gran utilidad pero que, debido a un manejo inapropiado de remanentes y equipos asociados a su uso, en la actualidad constituyen fuentes importantes de contaminación de cuerpos de agua y por ende, la fauna que los habita [Madenjian *et al.*, 1999; Chou, 2002]. Los BPCs son compuestos muy estables, tienen una baja presión de vapor, baja inflamabilidad, alta capacidad calórica, baja conductividad eléctrica y una alta constante dieléctrica. Dadas sus excelentes cualidades de aislamiento eléctrico, su mayor aplicación se efectuó en la fabricación y operación de equipos eléctricos. Desafortunadamente, estos químicos pueden penetrar al cuerpo humano a través de la piel, pulmones y tracto

gastrointestinal, acumulándose en el tejido adiposo. La Agencia para la Protección del Ambiente de Estados Unidos (EPA) ha determinado que los BPCs pueden causar trastornos reproductivos y desarrollo de tumores en humanos. También presentan el inconveniente de tender a bioacumularse en las diferentes cadenas alimenticias [McCoy, 1988]. Por tales motivos, el uso y la disposición de BPCs están sujetos a estrictas regulaciones [Levin y Gealt, 1997].

Las dioxinas constituyen una familia de compuestos aromáticos conocidos químicamente como dibenzo-p-dioxinas. Su principal uso radicó en la elaboración de herbicidas como el 2,3,4,-T y Silbex. El interés ambiental sobre las dioxinas se centra en las dioxinas cloradas, de las cuales teóricamente existen 75 compuestos, cada uno con diferentes propiedades, físicas, químicas y toxicológicas. Las dioxinas que mayor atención han recibido son las formas tetra, penta y hexacloradas. De los isómeros tetraclorados sobresale el 2,3,7,8 tetraclorodibenzo-p-dioxina (2,3,7,8-TCDD) por ser uno de los compuestos tóxicos más conocidos. Estos compuestos son muy persistentes y de prolongado efecto residual, se adhieren fuertemente a las partículas del suelo y no se mueven o se lixivian, a menos que las partículas de suelo contaminadas migren por sí mismas vía procesos de erosión [Espósito, 1988].

La presencia en el agua de residuos infectocontagiosos constituye un serio riesgo como causante de enfermedades de importancia en salud pública. A pesar de que este tipo de residuos tiene muchos orígenes, sus mayores generadores son: 1) El sector salud (hospitales, clínicas y consultorios); 2) los laboratorios de investigación; 3) la industria farmacéutica; 4) las instalaciones veterinarias; 5) las industrias de alimentos, medicamentos y cosméticos [Cross y Robinson, 1988].

Diversos giros de la actividad industrial generan volúmenes extremadamente grandes de residuos sólidos. En Estados Unidos la Industria minera genera arriba de dos mil millones de toneladas de residuos sólidos por año y contribuye con alrededor del 40% del total de sólidos generados anualmente.

Los principales residuos tóxicos derivados de tales actividades incluyen metales pesados, radionuclídeos, cianuro, elementos radioactivos, asbestos y elementos potenciales para la producción de ácidos, como piritas [Hoye y Hubbard, 1988].

Dorian [1988] define a los residuos domésticos como aquellos residuos originados en los hogares o fuentes similares, que constituyen tanto residuos dañinos o bien residuos que contengan alguna de las características potenciales de ignición, corrosividad, reactividad y/o toxicidad.

1.3.2 Principales constituyentes de las aguas residuales y su impacto ambiental.

En términos generales, la contaminación del agua tiene diferentes orígenes y por lo tanto diferentes efectos. Por su origen, las aguas residuales se pueden clasificar en domésticas, de escurrimientos urbanos, industriales y agrícolas. Las aguas residuales de origen doméstico son comúnmente de color café grisáceo, odoríferas y relativamente diluidas (99 % de agua); sus cuatro constituyentes más importantes, que son a la vez el blanco de los sistemas de tratamiento, son los sólidos suspendidos totales, materia orgánica, nutrientes (nitrógeno y fósforo) y microorganismos patógenos. Los escurrimientos originados en las cuencas urbanas son transportados en sistemas de drenaje especiales, aunque en la generalidad de los casos este tipo de aguas residuales se combina con las redes municipales contribuyendo con los mismos constituyentes de las aguas domésticas, pero con una mayor concentración, incrementando en alrededor del 10% los sólidos suspendidos totales y la demanda bioquímica de oxígeno.

Las aguas residuales de procesos industriales son muy variadas y complejas y a menudo contienen compuestos no encontrados en la naturaleza. Sus principales características son su alta turbidez, alcalinidad o acidez, según el tipo de industria. Las aguas residuales de origen agrícola son más variadas e

involucran mayores volúmenes que cualesquiera de los tipos antes mencionados. Además de los sólidos suspendidos totales, contienen nutrientes y pesticidas aplicados para la fertilización de los suelos así como para el control de insectos. La materia orgánica y los sólidos suspendidos provenientes de instalaciones ganaderas están altamente concentrados, al igual que las aguas de retorno de los sistemas tradicionales de riego [Dorian, 1988; Welch, 1992; Cheremisinoff, 1996].

De acuerdo a Pettygrove y Asano [1985] y a Tchobanoglous y Burton [1996], los principales componentes indeseables, normalmente contenidos en aguas residuales, se clasifican en:

- 1) Sólidos suspendidos.
- 2) Materia orgánica biodegradable.
- 3) Organismos patógenos.
- 4) Nutrientes.
- 5) Compuestos orgánicos estables y volátiles.
- 6) Alteraciones del pH.
- 7) Metales pesados.
- 8) Materia inorgánica disuelta.
- 9) Cloro residual.

Los sedimentos y la materia orgánica, responsables de olores y colores indeseables, son contaminantes de efecto limitado y de poco o mediano alcance.

Los sólidos suspendidos incluyen sólidos fijos y volátiles, los cuales conducen al desarrollo de depósitos de lodo y condiciones anaeróbicas cuando se descargan aguas residuales sin tratamiento en ambientes acuáticos. La descomposición de la materia orgánica puede conducir a la disminución del oxígeno disuelto en los mantos acuíferos receptores así como al desarrollo de condiciones sépticas. Los sólidos junto con la materia orgánica y los nutrientes inorgánicos contenidos en aguas residuales, son causantes de la eutrofización de lagos y presas [Pettygrove y Asano 1985; Welch, 1992].

Los compuestos orgánicos no sólo son muchos y diversos, sino que las aguas residuales que los contienen también varían día con día y de ciudad a ciudad en su composición orgánica. En términos generales, la concentración de compuestos orgánicos en aguas residuales municipales se puede clasificar como alta, mediana y débil cuando dicha concentración es de 600, 350 o 175 mg L⁻¹, respectivamente. Entre los mayores grupos de compuestos orgánicos, las grasas comprenden alrededor del 10% y el resto se divide equitativamente entre proteínas y carbohidratos. Los tres componentes mayores de la materia orgánica son fáciles de remover por la mayoría de los procesos de tratamiento conocidos. No obstante, las aguas residuales normalmente contienen pequeñas cantidades de químicos como detergentes, ceras, insecticidas y otros químicos de uso doméstico. Todos estos componentes, además de ser dañinos para el hombre y los ecosistemas, son a la vez difíciles de remover y causan por lo tanto una disminución en la eficiencia de los diferentes procesos de tratamiento [Berger, 1987].

Algunas enfermedades de tipo infeccioso pueden ser transmitidas por patógenos como protozoarios, bacterias, virus y parásitos, comúnmente contenidos en aguas residuales. En los países denominados "en vías de desarrollo" las enfermedades gastrointestinales, derivadas del consumo de agua contaminada con microorganismos patógenos, constituyen una de las principales causas de mortandad infantil [Mara y Silva, 1986; Dixo *et al.*, 1995; Martínez *et al.*,

1995]. Por tales motivos, la Organización Mundial de la Salud estableció que los sistemas de tratamiento de aguas residuales deberían producir efluentes con un huevecillo o menos de nemátodos intestinales por litro y menos de 1000 coliformes fecales por 100 mL para permitir la reutilización de aguas tratadas para riego de verduras, campos deportivos y parques públicos [Ayres y Duncan, 1996].

No obstante, los problemas de salud derivados de la contaminación del agua no es privativo de los países en vías de desarrollo; Hunter *et al.*, [2002] reportan que en el período de 1991 a 1998 se registraron en Estados Unidos más de 443,000 casos de enfermedades relacionadas con el uso o consumo de agua, de los cuales el 55% estuvo asociado con agua potable contaminada y el 45% restante se relacionó con actividades acuáticas recreativas. En el mismo período, el 45% de los brotes de enfermedades en sistemas comunitarios de pozo profundo fue causado por la presencia de contaminantes químicos, en tanto que el 32% de dichos brotes fueron causados por la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium*. En aguas superficiales, estos microorganismos causaron mayor número de brotes de enfermedades (41%) que los causados por contaminantes químicos (32%). Ambos protozoarios, comúnmente presentes en aguas residuales domésticas, son causantes de enfermedades gastrointestinales caracterizadas por la presencia de diarrea, náuseas e indigestión [Tchobanoglous y Burton, 1996].

Los compuestos orgánicos estables, los cuales tienden a resistir los métodos convencionales de tratamiento, son tóxicos en el medio ambiente y su presencia puede limitar la viabilidad del uso de aguas residuales para riego [Pettygrove y Asano 1985]. Ejemplos típicos de orgánicos refractarios son los agentes tensoactivos, los fenoles y los plaguicidas agrícolas [Tchobanoglous y Burton, 1996].

La presencia de nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio normalmente incrementa el valor del agua para riego, pero cuando esa agua es descargada en medios acuáticos puede conducir al crecimiento de vida acuática indeseable como

resultado de la eutrofización [Bernardes y Klapwijk, 1996]. Cuando se descargan cantidades excesivas en el suelo, el nitrógeno puede también conducir a la contaminación de los mantos acuíferos, afectando la calidad del agua para consumo humano por ser factor de incremento de poblaciones bacteriales, las que a su vez son causantes de corrosión y deterioro de las líneas de conducción, generación de malos olores y sabores así como la proliferación de macroinvertebrados [Volk y Lechevallier, 1999].

El pH del agua es un factor determinante en todo proceso natural, un componente crítico de los sistemas biológicos así como una importante herramienta para la medición de otros parámetros de calidad del agua como la alcalinidad [Stednick, 1991]. El pH de aguas residuales afecta la solubilidad de metales así como la alcalinidad de los suelos. El rango normal del pH en aguas domésticas es de 6.5 a 8.5, pero en las aguas de origen industrial se puede alterar significativamente. La alteración del pH es causante de que algunos metales pesados se acumulan en el agua, limitando su viabilidad para riego [Tchobanoglous y Burton, 1996].

La salinidad excesiva en aguas residuales puede dañar a algunos cultivos, cuando estas son utilizadas para riego. El sodio conduce a problemas de permeabilidad en los suelos. Cantidades excesivas de cloro libre (>0.05 mg/L) provoca defoliaciones y otros daños en plantas sensibles. Sin embargo, también existe cierto interés por los efectos tóxicos de compuestos orgánicos clorados en relación a la contaminación de aguas subterráneas [Pettygrove y Asano, 1985].

Los metales pesados, los plaguicidas, cianuro, hidrocarburos y fenoles son contaminantes de mayor efecto residual y causantes de alteraciones físicas, químicas o biológicas en el agua. En los animales y el hombre pueden ocasionar trastornos nerviosos, digestivos y renales, lesiones óseas, alteraciones genéticas y en algunos casos la muerte [Saucedo, 1996].

Fifield y Haines [1995] encontraron que en suelos depositarios de aguas contaminadas, el contenido de plomo, cadmio, cobre, arsénico y zinc en plantas se incrementa considerablemente, en relación a los contenidos de esos elementos en sitios no contaminados (Cuadro 1). Al respecto, Siebe y Fischer [1996] señalan que los altos contenidos de carbono orgánico en suelos irrigados con aguas residuales incrementan la solubilidad de los metales pesados y por lo tanto favorecen su absorción en las plantas.

Cuadro 1. Toma de elementos por las plantas en sitios contaminados y no contaminados

Elemento traza	Sitio	Rango de los elementos (mg Kg ⁻¹ , base seca)		
		Zacate (hojas)	Zacate (raíces)	Lechuga (hojas)
Plomo	No contaminado	0.8 - 3.4	1.7 - 6.8	0.2 - 1.1
	Contaminado ¹	4 - 121	78 - 310	18 - 63
Cadmio	No contaminado	0.05 - 0.14	0.08 - 0.24	0.01- 0.08
	Contaminado ¹	0.5 - 8.7	5.6 - 48.3	1.1 - 4.3
Cobre	No contaminado	3.5 - 14.5	4.1 - 18.2	3 - 12
	Contaminado ¹	31 - 68	48 - 107	23 - 41
Arsénico	No contaminado	0.004 - 0.009	0.006 - 0.007	0.005 -0.011
	Contaminado ²	0.07 - 0.23	0.11 - 0.37	0.01 - 0.14
Zinc	No contaminado	15 - 67	21 - 72	14 - 60
	Contaminado ¹	120 - 265	118 - 380	72 - 190

Fuente: Fifield and Haines [1995]

¹ Con aguas residuales

² Con fertilizantes

Desafortunadamente, el esclarecimiento de los riesgos de salud pública con respecto a enfermedades de efectos retardados y, generalmente asociados a dosis bajas de exposición a productos químicos o emisiones radioactivas es un proceso ambiguo, que provee más preguntas que respuestas. Partiendo del hecho de que, por lo general, la poblaciones asentadas en áreas de riesgo están expuestas a residuos tóxicos diversos, los métodos para llevar a cabo evaluaciones epidemiológicas son a menudo inadecuados para dar respuesta a los cuestionamientos de la sociedad sobre los efectos nocivos potenciales para la salud. Independientemente del origen de la exposición a residuos dañinos, la determinación de los riesgos para la salud es altamente dependiente de la disponibilidad de tres tipos de datos.

- 1) Los relativos a la naturaleza de las exposiciones potencialmente tóxicas.
- 2) Los datos sobre la existencia y naturaleza de enfermedades o anormalidades.
- 3) Los datos concernientes al grado de las exposiciones y las anormalidades biológicas etiológicamente ligadas [Heath, 1988].

1.4 Tecnología para el tratamiento de aguas residuales

La descarga en el suelo de aguas residuales se ha llevado a cabo en Europa durante siglos [Wolman, 1977]; en los últimos años esta práctica se volvió más popular debido, entre otras razones, a que la contaminación de los ríos en que los que anteriormente se vertían aguas residuales alcanzó niveles alarmantes.

Como resultado de restricciones ambientales y económicas, el tratamiento de aguas residuales para el riego de cultivos en la actualidad es una alternativa que está recibiendo mayor atención. La reutilización de aguas residuales es una práctica ventajosa por diversas razones como son: la escasez de agua en las

zonas áridas y semiáridas; el alto costo de la energía empleada en los sistemas avanzados de tratamiento de aguas residuales y la contaminación de aguas superficiales como resultado de la descarga directa de este tipo de aguas sin tratar [Hamilton *et al.*, 1984].

Por otro lado, en comparación a otras alternativas, la reutilización de aguas residuales en la agricultura presenta el beneficio adicional del reciclado de nutrientes mediante el riego de cultivos [Comisión Nacional del Agua, 1990]. Además, el agua para riego agrícola demanda niveles de calidad menos rigurosos (Cuadro 2) por lo que su tratamiento involucra procesos más simples y menos costosos.

Cuadro 2. Límites máximos permisibles de los principales contaminantes para agua usada en riego agrícola.

Parámetro (mg L ⁻¹)	Límites máximos permisibles	
	Promedio mensual	Promedio diario
Grasas y aceites	15	25
Sólidos sedimentables	1	2
Sólidos suspendidos totales	150	200
Nitrógeno total	40	60
Fósforo total	20	30
Arsénico	0.2	0.4
Cadmio	0.2	0.4
Cobre	4.0	6.0
Cromo	1.0	1.5
Mercurio	0.01	0.02
Níquel	2.0	4.0
Zinc	10.0	20.0
Plomo	0.5	1.0

Norma Oficial Mexicana [NOM-001-ECOL-1996]

Las propiedades físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales son parámetros importantes para el diseño y operación de instalaciones de colección, tratamiento y disposición. Aunque la concentración y los tipos de residuos varían dependiendo de la población, en forma general el tratamiento de aguas residuales

consiste en una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen el propósito de remover los sólidos, materia orgánica, patógenos y nutrientes contenidos en el agua [Asano *et al.*, 1985].

1.4.1 Procesos físicos unitarios.

Los procesos físicos de tratamiento de aguas residuales, comúnmente llamados pretratamientos o tratamientos primarios, implican la reducción de sólidos en suspensión o el acondicionamiento de las aguas residuales en cuerpos receptores o para pasar a un tratamiento secundario a través de una neutralización u homogeneización.

De acuerdo con ASCE [1992], Tchobanoglous y Burton [1996] y Ramalho [1996], los procesos físicos unitarios más empleados en el tratamiento de aguas residuales son los siguientes:

- 1) Desbaste. Eliminación de sólidos gruesos y sedimentables por intercepción (retención en superficie).
- 2) Dilaceración. Trituración de sólidos gruesos hasta conseguir un tamaño uniforme.
- 3) Homogeneización. Homogeneización de caudales, cargas de DBO y sólidos suspendidos.
- 4) Mezclado. Mezclado de productos químicos y gases con el agua residual, mantenimiento de los sólidos en suspensión.
- 5) Sedimentación. Eliminación de sólidos sedimentables y espesado de lodos.

- 6) Sedimentación acelerada. Idem.
- 7) Flotación. Eliminación de sólidos suspendidos y de partículas con densidades cercanas a la del agua, espesado de lodos biológicos.
- 8) Filtración. Eliminación de sólidos suspendidos después del tratamiento químico o biológico.
- 9) Transferencia de gases. Adición y eliminación de gases.
- 10) Volatilización y arrastre de gases. Emisión de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles del agua residual.

1.4.2 Procesos químicos unitarios.

Los procesos empleados en el tratamiento de aguas residuales en los que las transformaciones se producen mediante reacciones químicas reciben el nombre de procesos químicos unitarios. Por lo general, y con el fin de alcanzar los objetivos del tratamiento de aguas residuales, los procesos químicos se llevan a cabo en combinación con las operaciones físicas unitarias descritas anteriormente.

A continuación se describen brevemente los principales procesos físicos unitarios citados por ASCE [1992], Ramalho [1996] y Tchobanoglous y Burton [1996].

- 1) Precipitación química. Eliminación de fósforo y sólidos suspendidos.
- 2) Adsorción. Eliminación de materia orgánica residual de tratamientos biológicos o químicos. También se emplea para decolorar el agua antes de su vertido final.

- 3) Desinfección. Destrucción selectiva de microorganismos causantes de enfermedades. El cloro es el producto químico más utilizado, aunque también se lleva a cabo mediante la aplicación de ozono o luz ultravioleta.

1.4.3 Procesos biológicos unitarios.

Los procesos biológicos, en los cuales las transformaciones químicas son llevadas a cabo por microorganismos, tienen diversos usos. Por supuesto, juegan un papel de suma importancia en el tratamiento de aguas residuales [Grady y Lim, 1980]. La descomposición natural de materiales orgánicos e inorgánicos ha ocurrido durante millones de años. El manejo biológico de residuos ha sido practicado por miles de años. La mayoría de los microorganismos usados actualmente son extraídos de suelos y cuerpos de agua y más recientemente se han desarrollado microorganismos para aplicaciones específicas, partiendo de la base del uso de residuos tóxicos como fuente de energía y carbón. A *grosso modo*, los procesos de tratamiento biológico pueden ser divididos en tres grupos:

- 1) Sistemas aerobios de contacto estacionario. Lechos de irrigación, biofiltros de arena, filtros percoladores y reactores de biomembrana en los que la biomasa permanece en contacto con el medio sólido de soporte y el agua a tratar fluye a su alrededor.
- 2) Sistemas aerobios de contacto en suspensión. Procesos de lodos activados, sus variaciones y lagunas aeróbicas están comprendidos en este grupo, en el que tanto la biomasa como el sustrato están en suspensión o en movimiento.
- 3) Sistemas anaeróbicos de contacto en suspensión. Digestores anaeróbicos de lodos y lagunas anaeróbicas entran en esta categoría [Cheremisinoff, 1996].

Los tratamientos convencionales de aguas residuales comprenden procesos físicos, químicos y biológicos, constituyendo un solo sistema o tren de tratamiento. Dentro de los sistemas aerobios, los más utilizados son: lodos activados, filtros percoladores, lagunas de oxidación y sistemas de medio en movimiento [Solórzano, 1996].

Los lodos activados son un sistema de cultivo continuo y homogéneo consistente en la aireación de un lodo inoculado con microorganismos durante periodos de 5 a 15 horas, tiempo en el que se efectúa una rápida remoción de materia orgánica por bioabsorción y floculación, en tanto que la oxidación y biosíntesis se realizan a una velocidad menor.

Los filtros percoladores son tanques de diversos tamaños y configuraciones, usualmente de 1 a 3 metros de profundidad, empacados con un material sólido sobre el cual se desarrolla una biopelícula. Se les considera como un cultivo continuo bifásico que involucra un cultivo mixto de microorganismos. En las capas superiores del filtro predominan bacterias y hongos aerobios heterótrofos, mientras que en las capas inferiores predominan bacterias autotróficas tales como *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*.

Las lagunas de oxidación son métodos comunes para el tratamiento de aguas residuales orgánicas cuando se dispone de suficiente terreno. Estos sistemas también se utilizan para el mejoramiento de efluentes de sistemas de tratamiento biológico.

Los principales sistemas de medios en movimiento son los biodiscos y los lechos fluidizados. En estos sistemas, la película microbiana y el medio de soporte se mueven a través del líquido sujeto a tratamiento. En los biodiscos la película microbiana se acumula sobre un medio de soporte parcialmente sumergido (40%) que gira lentamente sobre un eje horizontal dentro de un tanque. Conforme gira la

película microbiana es expuesta al aire y al agua residual. Sus principales ventajas son bajos requerimientos de energía, baja producción de lodos y bajos costos de construcción [ASCE, 1992; Solórzano, 1996; Ramalho, 1996; Tchobanoglous y Burton, 1996].

En la actualidad, la mayoría de las alternativas tecnológicas resultan altamente eficientes para el manejo de residuos específicos (Cuadro 3). Sin embargo, cuando se trata de varios elementos contaminantes, el análisis global de diferentes procesos de tratamiento de aguas residuales conduce a la conclusión de que no existe un sistema ideal aplicable a todas las condiciones [Parker y Corbitt, 1993]; por lo tanto, cada situación debe ser analizada individualmente, de tal modo que es necesaria la incorporación de especificaciones locales en cada una de las etapas de investigación y de toma de decisiones [Sperling, 1996].

A pesar del avance tecnológico en materia de tratamiento de aguas residuales, el atraso económico en la mayoría de los países en vías de desarrollo limita seriamente la posibilidad de tratar las aguas residuales generadas. En el caso específico de México se estima que de un total de $295.5 \text{ m}^3 \text{ seg}^{-1}$ de aguas residuales generadas anualmente por los sectores doméstico e industrial, sólo se tratan alrededor de $40.3 \text{ m}^3 \text{ seg}^{-1}$ al año, lo que representa el 13.6% del volumen generado [Noyola, 2000]. La misma fuente cita que a pesar de los grandes volúmenes de aguas residuales provenientes de la industria y de los hogares mexicanos, éstos no son los principales generadores, sino el sector agropecuario, el cual contribuye con un 62% del total de las aguas residuales generadas en nuestro país.

Cuadro 3. Eficiencia en la remoción de contaminantes de los principales sistemas de tratamiento de aguas residuales

SISTEMAS DE TRATAMIENTO	Eficiencia de remoción %			
	DBO	N	P	COLIF.
Tratamiento preliminar	0 - 5	0	0	0
Tratamiento primario	35 - 40	10 - 25	10 - 20	30 - 40
Estanque facultativo	75 - 85	30 - 50	20 - 60	60 - 99
Estanque anaeróbico - facultativo	75 - 90	30 - 50	20 - 60	60 - 99
Laguna aireada facultativa	75 - 90	30 - 50	20 - 60	60 - 99
Laguna y Estanques de sedimentación	75 - 90	30 - 50	20 - 60	60 - 99
Sistema convencional de lodos activados	85 - 93	30 - 40	30 - 45	60 - 90
Aireación extendida	93 - 98	15 - 30	10 - 20	65 - 90
Reactores en lote secuencial	85 - 95	30 - 40	30 - 45	60 - 90
Filtro de goteo de carga baja	85 - 95	30 - 40	30 - 45	60 - 90
Filtro de goteo de carga alta	80 - 90	30 - 40	30 - 45	60 - 90
Lecho de lodo anaeróbico flujo ascend.	60 - 80	10 - 25	10 - 20	60 - 90
Tanque séptico - filtro anaeróbico	70 - 90	10 - 25	10 - 20	60 - 90
Infiltración de carga lenta	94 - 99	65 - 95	75 - 99	> 99
Infiltración rápida	86 - 98	10 - 80	30 - 99	> 99
Infiltración subsuperficial	90 - 98	10 - 40	85 - 95	> 99
Flujo superficial	85 - 95	10 - 80	20 - 50	90 - 99

Fuente: Varios autores citados por Sperling [1996].

CAPITULO II

PRINCIPIOS Y FUNDAMENTOS DE LOS REACTORES TRIFASICOS DE LECHO FLUIDIZADO

2.1 Conceptos básicos de los sistemas trifásicos de lecho fluidizado

El concepto básico de los procesos de lecho fluidizado consiste en el paso ascendente de agua residual a través de un lecho de partículas, a una velocidad suficiente para impartir movimiento o fluidización a dichas partículas. Conforme el agua residual fluye a través del lecho biológico, denominado también zona de reacción, densas poblaciones de microorganismos que se desarrollan en la superficie de las partículas consumen los contaminantes biodegradables contenidos en el agua. Desde un punto de vista biológico, los microorganismos adheridos a las partículas pueden incluir a los organismos aeróbicos, facultativos y anaeróbicos típicamente encontrados en filtros percoladores y sistemas de crecimiento suspendido. No obstante, los sistemas de lecho fluidizado ofrecen un área superficial mayor por unidad de volumen de reactor en la cual los microorganismos crecen y, por lo tanto, pueden operar con mayores concentraciones de material biológico que otros sistemas [Stathis, 1980].

Por muchos años, las aguas residuales habían sido tratadas con reactores biológicos de película fija como filtros percoladores, reactores de lecho empacado y contactores rotatorios. Una adaptación efectuada por Dorr Oliver [Shieh *et al.*, 1981] involucró la fluidización del medio de soporte del reactor. Una vez fluidizado, el medio provee una vasta superficie para crecimiento biológico, desarrollando una concentración de biomasa mayor a la de los sistemas de lodos activados. Cuando ocurre el crecimiento biológico sobre un medio sólido, el diámetro del medio se incrementa y la densidad disminuye, resultando en una fluidización más allá de la

de un medio sin microorganismos. Para evitar el arrastre de biopartículas, es necesario limitar el espesor de la biopelícula, controlando la expansión del lecho a una altura específica. A medida que la altura del lecho excede el nivel prescrito, una fracción de la biopelícula es separada mecánicamente del medio. Las partículas son retornadas al reactor y la biomasa es vertida como lodo [Shieh *et al.*, 1981].

En los bioreactores de lecho fluidizado, un lecho de materiales tales como arena, hulla o carbón activado, cubiertos con una película microbial es fluidizada por el agua residual que fluye ascendentemente. Las principales ventajas de los lechos fluidizados sobre los reactores empacados son que no se saturan por el crecimiento de la biopelícula y que las burbujas de gas pasan fácilmente a través de ellos. Consecuentemente, se pueden usar partículas de soporte de mucho menor tamaño, dando una mayor área superficial por unidad de volumen del reactor y puede, por lo tanto, recibir mayores cargas orgánicas. En lugar de saturarse, un lecho fluidizado se expande para acomodar el volumen de la biopelícula. En el caso de un alto crecimiento aerobio, dicha expansión es muy rápida, de tal modo que la altura del lecho es controlada para la remoción de partículas de la parte alta del lecho y se regresan al reactor después del lavado del exceso de biopelícula. [Trapaso, 1985].

Un fenómeno común en los reactores de lecho fluidizado es la reducción en la densidad del material de soporte conforme la biopelícula se adhiere, hasta el punto en que las biopartículas pueden ser arrojadas fuera del reactor, vía el efluente. Comúnmente la situación anterior se aprovecha para controlar la biomasa, ya sea pasando las partículas a través de una bomba o mediante agitación mecánica en un reactor complementario. El exceso de biomasa también puede ser eliminado mediante la inducción de turbulencias periódicas dentro del reactor, inyectando agua o aire comprimido [Safferman y Bishop, 1996].

Los reactores de lecho fluidizado pueden ser alternativamente operados

bajo la modalidad de un sistema bifásico (sólido-líquido) tanto en reactores experimentales como en plantas a escala comercial. En este caso, el medio de soporte es fluidizado por la fuerza de arrastre ascendente creada por la recirculación de la fase líquida. Para propiciar el crecimiento aerobio, se inyecta oxígeno a través de un aditamento especial ubicado en la línea de recirculación [Ryhner *et al.*, 1988].

Las ventajas del diseño de dos fases son las siguientes:

- 1) Se obtiene una fluidización uniforme, no turbulenta.
- 2) La tasa de suministro de oxígeno es más flexible.
- 3) El diseño del sistema de oxigenación es independiente del reactor.
- 4) Las pérdidas de material de soporte son mínimas.

También existe la posibilidad de operar los reactores aerobios de lecho fluidizado como un sistema trifásico, en el cual una corriente de aire es introducida directamente dentro del reactor para proveer la convección requerida para suspender la fase sólida. Este sistema ofrece las siguientes ventajas:

- 1) La fluidización es creada por el flujo ascendente de las burbujas de aire.
- 2) No se requiere la recirculación de la fase líquida.
- 3) La transferencia de oxígeno se lleva a cabo en la zona de reacción.
- 4) El aire es distribuido a través de un disco metálico poroso [Ryhner *et al.*, 1988].

En la actualidad los reactores de lecho fluidizado funcionan como un sistema trifásico, con las diferencias de que el aire se aplica para suministrar el oxígeno requerido por los microorganismos aeróbicos y la fluidización del lecho es efectuada por la recirculación de la fase líquida [Schreyer y Coughlin, 1999; Larachi *et al.*, 2000].

2.2 Los reactores trifásicos de lecho fluidizado y su aplicabilidad como alternativa para el tratamiento "in situ" de aguas residuales

La aplicación de la tecnología de lecho fluidizado constituyó un parteaguas para la tecnología tradicional de tratamiento biológico de aguas residuales. Las primeras referencias sobre el uso de gránulos fluidizados aparecieron en los años de 1970, 1974 y 1975 con los trabajos de Beer, Jeris, Beer y Mueller, y Jeris y Owens, respectivamente [Stathis, 1980]. El lecho fluidizado surgió como una aplicación tecnológica novedosa que combina las mejores características de los lodos activados y los filtros percoladores en un solo proceso [Jeris *et al.*, 1977].

En la actualidad los sistemas biológicos de lecho fluidizado significan una importante alternativa tecnológica para el tratamiento de aguas residuales. Estos sistemas tienen una serie de ventajas sobre los reactores convencionales, entre las que destacan las siguientes:

- 1) Menor tiempo de retención hidráulica.
- 2) Mayor eficiencia en la remoción de DQO.
- 3) Una baja producción de lodos.
- 4) Un bajo requerimiento de espacio [Tavares *et al.*, 1995].

Una característica de este tipo de reactores es que sólo son útiles para el tratamiento de influentes de baja DQO, alrededor de 300mg/l [Tavares *et al.*, 1995], aunque como ya se mencionó anteriormente, esta concentración queda comprendida entre el rango de concentraciones típicas de aguas residuales municipales.

El mejor desempeño de los reactores de lecho fluidizado, en comparación a los procesos convencionales de crecimiento suspendido, resulta de la estabilidad de la biomasa adherida al material de soporte. Una vez fluidizado, el material de soporte provee una amplia área superficial para el crecimiento biológico, el cual resulta en una concentración de biomasa de aproximadamente un orden de magnitud mayor que la biomasa normalmente mantenida en reactores de crecimiento suspendido [Safferman y Bishop, 1996; Bignami *et al.*, 1991], lo que permite tratar mayores tasas de carga orgánica. Adicionalmente, en comparación con los sistemas de lodos activados, la biomasa adherida permite al operador una mayor estabilidad para manejar cambios bruscos de carga orgánica y residuos tóxicos. Otras ventajas adicionales de los lechos fluidizados es la ausencia del estancamiento o saturación del lecho y la canalización de las fases líquida y gaseosa, condiciones típicas de los lechos fijos [Bignami *et al.*, 1991].

2.3 El principio de la fluidización: su dependencia con el material de soporte y su relación con la eficiencia del sistema

A pesar de que los mecanismos y las sustancias involucradas en la fijación y crecimiento de la biopelícula no son totalmente conocidos, su control es un aspecto clave en la operación eficiente de los reactores aerobios de lecho fluidizado [Massol-Deyá *et al.*, 1995; Trinet *et al.*, 1991]. Numerosos factores influyen sobre la fijación microbiana y el desarrollo de la biopelícula, pero los más importantes son: el tipo y concentración del sustrato, el medio de soporte, la difusibilidad del oxígeno y la hidrodinámica de la fase líquida [Larachi *et al.*, 2000; Arvin y Harremoes, 1990]. Un reto importante en la operación de reactores

aerobios de lecho fluidizado, y en esencia la base para el funcionamiento adecuado del sistema, es el sostenimiento del crecimiento de la biopelícula bajo condiciones estables [Trinet *et al.*, 1991].

Cuando se utilizan materiales de soporte de alta densidad (arcilla, arena sílica, carbón, etc.), se requieren altas velocidades de fluido (de la fase líquida o gaseosa) como medio para obtener la fluidización del lecho [Jiménez *et al.*, 1990; Ryhner *et al.*, 1988; Trinet *et al.*, 1991]. Estas altas tasas de fluido crean a menudo un efecto de recorte hidrodinámico lo que conduce a una pérdida excesiva de biopelícula [Fox *et al.*, 1990; Schreyer y Coughlin, 1999; Tavares *et al.*, 1995].

El desprendimiento de biopelícula es un proceso básico requerido para una operación adecuada una vez que el sistema se ha estabilizado; sin embargo, cuando este proceso toma lugar durante la fase de desarrollo se convierte en una condición indeseable dado que la estabilización de la biopelícula se ve retrasada. En contraparte, cuando se pretende controlar la pérdida de biopelícula mediante la disminución de los regímenes de velocidad de fluido, comúnmente se revierte el proceso de desprendimiento de biomasa, llegando al extremo en el que el desempeño del reactor es el correspondiente a un lecho fijo, cuya principal desventaja es la saturación del lecho en menor tiempo [Rivas *et al.*, 2001].

La utilización de materiales de soporte de baja densidad permite la expansión del lecho hasta en un 100%, bajo tasas de recirculación menores a las requeridas para arena sílica o carbón activado, favoreciendo la adhesión de biomasa e incrementando su contacto con la materia orgánica del agua residual [Trinet *et al.*, 1991; Bignami *et al.*, 1991]. A nivel experimental, se han utilizado polímeros sintéticos como material de soporte con resultados favorables. Tavares *et al.*, [1995] reportaron el uso de un material polimérico de 2.7 mm de diámetro y densidad de 1180 kg m^{-3} resultando fácilmente fluidizable y con buena capacidad

de fijación de biopelícula. Un medio de soporte ampliamente utilizado en reactores de lecho fluidizado es el carbón activado; no obstante, una desventaja importante de este material es su excesiva retención de biomasa por lo que su utilización va por lo general acompañada de mecanismos especiales para el desprendimiento de biomasa [Safferman y Bishop, 1996].

También se ha recurrido al uso de materiales de origen mineral, dadas sus bondades como material de soporte para fines diversos [Chen *et al.*, 1995; Carlson y Amy, 1998], aunque a la fecha existen pocos reportes sobre el uso de este tipo de materiales en reactores de lecho fluidizado. Jiménez *et al.* [1990] compararon diferentes materiales de origen natural y mineral, destacando la pumicita (piedra porosa de baja densidad) y la cáscara de nuez, aunque ambos materiales deben tomarse con reserva por su estabilidad mecánica, en el caso del primero, y por su biodegradabilidad en el segundo.

En términos generales, los medios de soporte utilizados en sistemas de tratamiento de aguas residuales deben cubrir los siguientes requerimientos:

- 1) insoluble.
- 2) No biodegradable.
- 3) Alta estabilidad mecánica.
- 4) Alta difusibilidad.
- 5) Alta capacidad de retención de biomasa.
- 6) Preferentemente de bajo costo [Leenen *et al.*, 1996].

CAPITULO III

LA POBLACION MICROBIANA: EL PRINCIPAL COMPONENTE DEL SISTEMA

3.1 La diversidad microbiológica como producto del medio ambiente

Con el transcurso de los años, a partir de las observaciones de Van Leewenhoek en 1677 de lo que él denominó "animalcula" o pequeños animales, la humanidad ha aprendido a aprovechar de manera benéfica la presencia natural o artificial de microorganismos, así como de los productos derivados de su actividad metabólica. Durante las últimas décadas se ha aprendido sobre cómo utilizar las actividades biosintéticas y degradativas de los microorganismos. Estos conocimientos constituyen la base de la biotecnología microbiana, con la que se dirige la actividad de los microorganismos hacia una gran variedad de propósitos: producción de antibióticos, vitaminas, combustibles, etc., para degradar materiales naturales y antropogénicos en digestores, silos de compostaje, rellenos sanitarios; como herramientas para fines agrícolas como la protección de plantas contra insectos dañinos; como medio para reducir el uso de químicos peligrosos en operaciones geoquímicas, en lixiviación de metales y en la recuperación de petróleo en derrames, así como para prevenir actividades microbiológicas naturales como la corrosión y el daño de objetos expuestos al medio ambiente [Hurst, 1997].

Las bacterias poseen varios mecanismos de defensa; dependiendo del tipo y la población presentes, las bacterias pueden efectuar alteraciones en su estado físico o fisiológico como respuesta a cambios en los factores físico-químicos que definen su medio ambiente. La producción de ácidos orgánicos e inorgánicos, la formación de estructuras resistentes al medio ambiente adverso como esporas y

quistes, la adsorción de metales pesados, la transformación de xenobióticos, usándolos como fuente de carbono, así como la producción de polisacáridos extracelulares son importantes herramientas de adaptación de las bacterias. La resiliencia de los microsistemas ante cambios ambientales se atribuye a la interdependencia de los miembros de la comunidad en el intercambio de nutrientes y a la creación y mantenimiento de condiciones microambientales que pueden diferir completamente de ecosistemas adyacentes [Massol-Deya *et al.*, 1995].

Las bacterias representan el origen de la vida en la tierra y contribuyen con la mayor biodiversidad. En la actualidad, los microorganismos se dividen en cuatro grupos taxonómicos mayores: algas, bacterias, hongos y protozoarios. Desde el punto de vista ambiental, el aspecto de mayor importancia respecto a los tipos de microorganismos es el hecho de que en los ecosistemas tales grupos interactúan unos con otros de manera positiva (comensalismo, mutualismo o simbiosis y sinergismo), negativa (parasitismo, competencia y depredación) o neutral (cuando no se percibe daño ni beneficio). El comensalismo ocurre cuando un organismo se beneficia de otro sin perjudicarlo. En las relaciones simbióticas ambos individuos o poblaciones de individuos resultan beneficiados. El sinergismo es una relación voluntaria en la que organismos diferentes pueden existir independientemente unos de otros pero logran un mejor desarrollo conviviendo juntos. Las relaciones negativas se dan cuando cierto organismo vive a expensas de otro, generalmente diferente, el cual resulta perjudicado. La competencia se da aún entre organismos de la misma especie y es el resultado de la disputa de un recurso limitado [Hurst, 1997].

Las actividades bioquímicas y fisiológicas específicas de las células bacterianas son de una profunda importancia para su hábitat. Su alta tasa superficie/volumen las dota de la capacidad de desarrollar altas tasas de actividad bioquímica y fisiológica, ejerciendo un impacto significativo sobre la constitución química de su hábitat. Dicho impacto es de tal magnitud que las bacterias son

propriadamente consideradas como determinantes de su hábitat y no meramente, como sobrevivientes en respuesta a los cambios en su medio ambiente. En ese sentido, no existe en el mundo biológico ningún paralelo a la habilidad de las bacterias para utilizar una enorme variedad de fuentes de energía para su crecimiento [Leadbetter, 1997].

La pretensión de describir las comunidades microbianas y las interacciones entre sus poblaciones enfrenta irremediabilmente tres problemas significativos.

- 1) Existe un enorme número de microorganismos diferentes en un amplio arreglo de ambientes muy diferentes.
- 2) Las interacciones entre poblaciones microbianas no son solamente numerosas y diferentes sino que a menudo se han caracterizado pobremente o permanecen totalmente indefinidas.
- 3) En los estudios sobre microbiología ambiental es común el uso de una gran cantidad de términos que son a menudo contradictorios, algunas veces mal usados y muchas veces malentendidos, aún por especialistas [Alexander, 1997].

3.2 El concepto de biopelícula en estudios de Microbiología ambiental

La percepción tradicional de las bacterias como una forma de vida unicelular tiene sus raíces en el paradigma del cultivo puro. Aunque esta forma tradicional de cultivo de bacterias en un medio líquido ha sido instrumentado en el estudio de patogénesis, los cultivos planctónicos son poco frecuentes como forma de vida de las bacterias en la naturaleza [Davey y O'Toole, 2000]. La mayoría de los estudios microbiológicos de áreas médicas se llevan a cabo exclusivamente con cultivos puros, a diferencia de los estudios ambientales, los que a menudo

se basan en análisis de consorcios y comunidades, además de cultivos puros. Los estudios de ese tipo de asociaciones se llevan a cabo con los siguientes fines:

- 1) Lograr el entendimiento de mecanismos metabólicos a nivel comunidad involucrados en procesos ambientales específicos.
- 2) Determinar los efectos potenciales de la presencia de contaminantes ambientales sobre los sistemas microbianos.
- 3) Estudiar su aplicación en procesos de biorremediación, tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, rellenos sanitarios, como agentes de control biológico y biofertilizantes [Caldwell *et al.*, 1997].

Hasta hace poco tiempo, la falta de métodos de exploración de comunidades *in situ* habían sido motivo de detallados análisis. Afortunadamente, los avances en tecnología microscópica y molecular han hecho posible examinar tales comunidades a un gran detalle sin la necesidad de cultivos en medios líquidos. La observación directa de una gran variedad de hábitats naturales ha permitido establecer que la mayoría de los microorganismos persisten adheridos a superficies dentro de un ecosistema de biopelícula y no como organismos libres en flotación. Más aún, se ha comprobado que esos conjuntos naturales de bacterias dentro de una biopelícula funcionan como un consorcio cooperativo, de una manera relativamente compleja y coordinada [Costerton *et al.*, 1994].

Desde una perspectiva ecológica, las poblaciones de bacterias provienen de células individuales por lo que poblaciones metabólicamente similares constituyen grupos que pueden ser referidos como gremios. En esencia, las biopelículas representan una existencia independiente basada en una comunidad, y pueden estar compuestas de una población desarrollada a partir de especies únicas o de una comunidad derivada de especies múltiples, constituyendo un vasto arreglo de superficies abióticas y bióticas [McCleod *et al.*, 1990; Puhakka *et*

al., 1995; Kostyal *et al.*, 1997].

La mayoría de las biopelículas muestran cierto nivel de heterogeneidad constituyendo una serie de parches de agregados celulares de múltiples capas e interpuestas sobre una matriz de polisacáridos que varía en densidad, creando áreas abiertas donde se forman canales de agua. Las microcolonias que forma la biopelícula pueden conformarse de poblaciones bacterianas de una sola especie o de comunidades multiespecie, dependiendo de los parámetros ambientales bajo los cuales se desarrollan. Numerosas condiciones, tales como las propiedades de la superficie, la disponibilidad de nutrientes, la composición de la comunidad microbiana así como la hidrodinámica del medio, pueden afectar la estructura de la biopelícula [Davey y O'Toole, 2000].

3.3 Determinación del crecimiento de la biopelícula a través del monitoreo de indicadores bioquímicos y conteos celulares

A pesar de los conocimientos generados alrededor de las bacterias y su relación con su medio ambiente, existe todavía un importante abismo en el entendimiento entre los efectos de las bacterias sobre un sustrato en particular y la naturaleza de los consorcios bacterianos involucrados. Las dificultades para el mantenimiento en cultivo de poblaciones bacterianas diversas, en combinación con la falta de sistemas apropiados de estudio de bacterias adheridas a superficies, han limitado el alcance del estudio de biopelículas bajo condiciones que se aproximen a las condiciones *in situ* del medio ambiente correspondiente [Mittelman, 1998].

Los mayores avances en materia del estudio *in situ* de biopelículas se han dado en el desarrollo de técnicas microscópicas que permiten visualizar con gran claridad detalles ínfimos sobre la estructura de la biopelícula y la superficie a la que se encuentra adherida [Massol-Deyá, 1995]. La aplicación de nuevas tecnologías microscópicas y moleculares ha mostrado que las biopelículas no

son simplemente capas de "baba" constituidas por microorganismos, sino que representan sistemas biológicos con un alto nivel de organización, donde las bacterias forman comunidades funcionales y ordenadas.

El uso de modelos teóricos ha sido una herramienta útil para el monitoreo del crecimiento biopelicular y su actividad metabólica. En relación con el consumo de sustrato los modelos se basan en presunciones de que el espesor de la biopelícula es constante o mayor que la profundidad activa de la misma. Por lo tanto, la tasa de consumo por unidad de área de biopelícula es obtenida dependiendo solamente de la concentración del sustrato. Dado que tal presunción es adecuada para resolver problemas de diseño o relacionar la remoción del sustrato con el volumen del lecho, esto le concede una considerable complejidad. La biopelícula en una partícula individual crece a medida que consume sustrato; no obstante, el crecimiento puede ser balanceado por el metabolismo endógeno o por el desprendimiento de células. Así mismo, la biopelícula es ligera y voluminosa por lo que su crecimiento cambia la densidad de la partícula y, por lo tanto, su velocidad de fluidización y de asentamiento [Trapaso, 1985].

La obtención de altos niveles de eficiencia en la remoción de sustratos depende en gran medida de la obtención de la cantidad adecuada de biopelícula adherida al material de soporte. En una biopelícula delgada (típicamente de 0.7 a 120 μm) la tasa de degradación del sustrato es determinada por la población microbiana. Conforme se incrementa la cantidad de microorganismos, mayor es la tasa de remoción del sustrato de acuerdo con la ecuación de Monod [Tchobanoglous y Burton, 1996]. En una biopelícula gruesa, la difusión de sustrato, nutrientes u oxígeno puede ser el factor limitante y no la tasa de biodegradación. La degradación del sustrato es proporcional a su concentración en el complejo líquido-sólido que pasa por la biopelícula, resultando una reacción de primer orden. Un incremento en el espesor de la biopelícula, más allá de un valor crítico, no da como resultado un incremento en la eficiencia de tratamiento.

La máxima tasa de remoción de sustrato ocurre justo antes de que el proceso de difusión se vea limitado [Safferman y Bishop, 1995].

En relación a las condiciones hidrodinámicas del medio en que se desarrollan, se ha encontrado que la estructura de las biopelículas se altera bajo diferentes regímenes hidrodinámicos. Bajo un flujo laminar, las biopelículas forman parches de agregados de células rugosas y redondas, separados por espacios intersticiales. En flujos turbulentos, las células también se disponen en parches pero su forma es mayormente elongada [Stoodley *et al.*, 1998]. Los espacios intersticiales son también una parte integral de la estructura de la biopelícula. Usando técnicas de rastreo de partículas, se ha demostrado que el agua fluye a través de dichos canales. Por lo tanto, los canales son la línea vital del sistema, dado que proveen el medio para la circulación de nutrientes, el transporte de oxígeno y el intercambio de productos metabólicos con el exterior [Lewansowski *et al.*, 1993; Massol-Deyá, 1995].

De acuerdo con Characklis *et al.*, [1982], los métodos de cuantificación directa de la biopelícula son la medición de su espesor y la determinación de su masa (Cuadro 4). La medición del espesor, aparte de la necesidad de equipo específico, conlleva también desventajas importantes de precisión, derivadas de la naturaleza rugosa e irregular de las superficies típicas de los materiales de soporte sobre las que se adhieren las biopelículas. Por otro lado, se ha encontrado que esta variable no correlaciona apropiadamente con la eficiencia en el consumo de sustrato, debido a la variación en la densidad de la biopelícula y su relación con el espesor de la misma [Belkhadir *et al.*, 1988; Safferman y Bishop, 1996]. Por tales motivos, el estudio del desarrollo de la biopelícula se ha enfocado principalmente hacia el desarrollo de mediciones indirectas como son la determinación y análisis de indicadores bioquímicos de crecimiento o de actividad celular [Characklis *et al.*, 1982; Tavares *et al.*, 1995; Safferman y Bishop, 1996].

Cuadro 4. Sumario de métodos de medición del crecimiento biopelicular.

Clasificación	Método analítico	Ventajas y/o desventajas
A) Mediciones directas	Espesor	a) Método volumétrico * Requiere equipo especial para medición * $\pm 10 \mu\text{m}$ de desviación estándar b) Medición en portaobjetos con microscopio óptico * $\pm 10\text{-}12 \mu\text{m}$ de desviación estándar
	Masa	a) Peso de portaobjetos antes y después de eliminación de biopelícula * Las mediciones de masa suelen no ser tan sensibles como algunas técnicas analíticas
B) Mediciones Indirectas: Componentes celulares	Polisacáridos	a) Técnica de fenol- H_2SO_4 de Dubois (1956)
	Carbono orgánico total	* Sensibilidad menor a $2.0 \mu\text{g cm}^{-2}$ * precisión: $\pm 0.45 \mu\text{g cm}^{-2}$
	Demanda química de oxígeno	a) Técnica del dicromato de potasio * Sensibilidad de $6 \mu\text{g cm}^{-2}$ * Precisión: $\pm 10 \mu\text{g cm}^{-2}$
	Proteínas	a) Técnica de Bradford ¹ * Indicador de biomasa y de actividad celular
C) Mediciones Indirectas:	Conteo de células totales y viables	a) Portaobjetos colonizados <i>in situ</i>
Actividad celular	Epifluorescencia microscópica	a) Extracción de agregados biopeliculares, separación de células por filtración
	Cuantificación de ATP	* El principal indicador de actividad celular
	Lipopolisacáridos	*Precisión pobre, limitado a gram negativo
	Tasa de remoción de substrato	* Contra espesor o densidad de biopelícula

Adaptado de Characklis *et al.*, [1982]

¹ Citado por Burden y Whitney [1995].

CAPITULO IV

MATERIALES Y METODOS

El desarrollo del presente trabajo se llevó a cabo en tres fases. La primera fase correspondió a la construcción y puesta a punto de dos ejemplares de un reactor trifásico de lecho fluidizado a escala experimental. La segunda fase comprendió diversas etapas de un proceso de evaluación y selección de materiales de soporte como posibles sustitutos de la arena sílica. Durante la tercera fase del trabajo se llevaron a cabo una serie de corridas experimentales empleando los materiales de soporte finalmente seleccionados.

4.1 Características del reactor y equipo complementario

El reactor experimental empleado en este trabajo fue hecho de una columna de material acrílico de 8.9 cm de diámetro interno y 90 cm de altura. Estas dimensiones fueron determinadas conforme a las especificaciones de diseño citadas en uno de los primeros reportes sobre reactores de lecho fluidizado [Jeris *et al.*, 1977], teniendo como base una relación 10:1 entre la altura nominal y el diámetro basal de la columna, la cual es señalada como la relación óptima para reducir el efecto de pared y la caída de presión en trabajos recientes [Tsuneda *et al.*, 2002; Ochieng *et al.*, 2002].

4.1.1 Sistema de eliminación de exceso de biomasa

En la parte superior interna del reactor fue colocado un cilindro hecho a base de una malla de acero inoxidable de 2 mm de apertura, 6.9 cm de diámetro y 10 cm de altura, cuya función fue la de separar la biomasa e impedir el paso de

las partículas de soporte, con base en el diseño y resultados reportados por Safferman y Bishop [1996]. Dicho cilindro fue adherido a la cara interna del reactor por medio de un empaque de caucho de 1 cm de altura y 1 cm de ancho. Como una modificación adicional a los diseños convencionales, la salida del aire fue cambiada, ubicándola en el puerto del efluente del reactor con el fin de desprender la biomasa adherida al cilindro antes mencionado.

4.1.2 Sistema de separación de sólidos

Como complemento del reactor, se integró un sistema de separación de sólidos consistente en un presedimentador, empleado para la colecta y purga de lodos, así como un sedimentador el cual cubría la función de reducir el contenido de sólidos suspendidos en el efluente final. En la parte inferior del sedimentador se colocó un recipiente desde donde el precipitado del efluente era recirculado al reactor con una bomba centrífuga de 1/50 cp, cuyo flujo era medido con un rotámetro y controlado a través de una válvula de esfera (Figura 1).

4.1.3 Sistema de difusión de aire

Como sistema de difusión de aire se implementó un plenum de 5 cm de alto ubicado en la parte inferior del reactor, en el cual se inyectaba el aire procedente de un compresor a través de una boquilla de espiga de ¼ npt. Dicho plenum cubría la función de distribuir uniformemente la presión en toda la superficie transversal de la parte inferior del reactor. El aire pasaba a la zona de reacción (la zona del reactor en la que entran en contacto las fases líquida, sólida y gaseosa) a través de un disco cerámico poroso compuesto de arcilla (37.5%), alúmina (15.0%), carbonato de magnesio (10.0%) y perlita expandida (37.5%), mismo que fue sinterizado térmicamente a una temperatura de 1200 ° C durante dos horas.

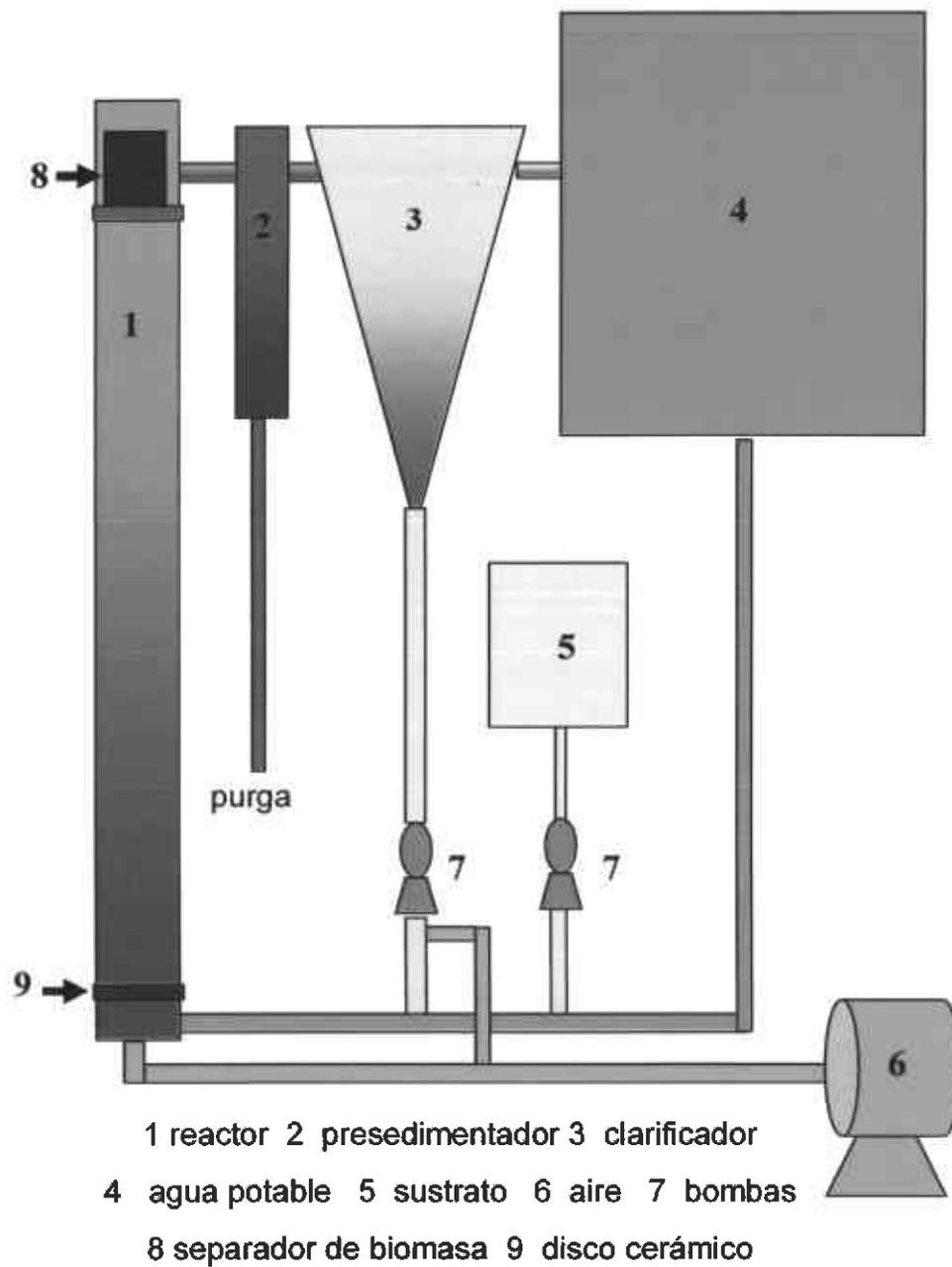


Figura 1. Diagrama del reactor trifásico de lecho fluidizado y equipo complementario.

Para unir el disco cerámico al cuerpo del reactor se utilizó una brida de material acrílico de 0.9cm de espesor, de diámetros exterior e interior de 16.7 y

8.9 cm, respectivamente (Figura 2). El disco cerámico fue unido a la parte interna de la brida mediante un pegamento epóxico tipo plastilina (Plastiloka M.R.). Para desarrollar el disco cerámico se probaron mezclas de diferentes materiales, tomando como criterios de selección las siguientes propiedades:

- 1) Que fuese un material inocuo.
- 2) Que tuviera una adecuada resistencia mecánica bajo las condiciones de operación de un reactor biológico.
- 3) Que pudiera ser producido con materiales típicos y abundantes en la región.
- 4) Que fuese preferentemente de bajo costo.

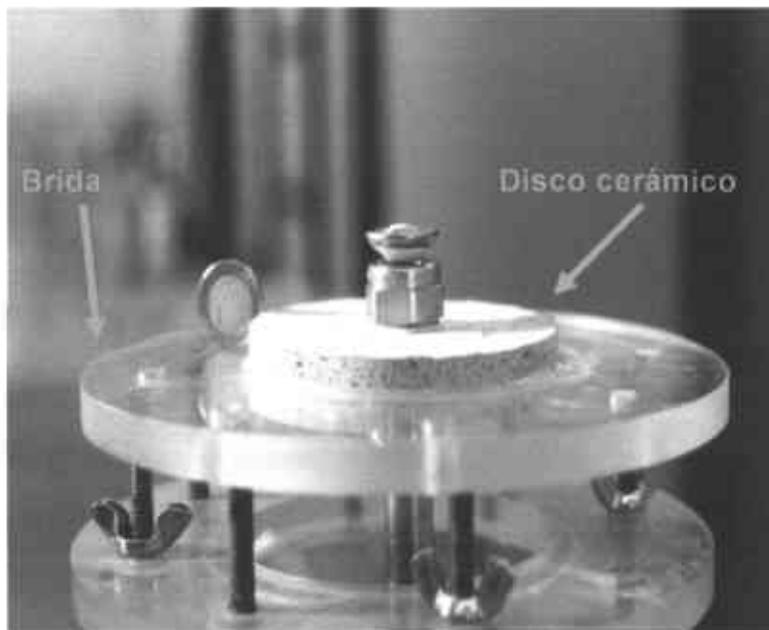


Figura 2. Disco cerámico montado en una brida para su acoplamiento en el cuerpo del reactor

4.2 Selección de materiales de soporte

Con el fin de obtener los materiales de soporte con las características deseadas de densidad, porosidad y resistencia mecánica, se procedió a elaborar una lista de candidatos de entre varias opciones de materiales de origen mineral, teniendo como principal característica una densidad específica menor que la densidad de la arena sílica.

En una segunda etapa, se evaluaron varios materiales porosos de densidad específica ligeramente menor a la densidad de la arena sílica, pero con una densidad aparente significativamente menor. En este caso, se planteó hipotéticamente que algunos materiales de baja densidad aparente podrían ser fluidizados bajo velocidades de recirculación menores a los requeridos para fluidizar materiales de densidad específica alta. Esta hipótesis se basó en la presunción de que la presencia de la biopelícula evitaría que los poros internos de los materiales se mantuvieran ocupados por aire, evitando así que este fuera desplazado por agua y, por lo tanto, conservarían una fuerza gravitacional menor que la correspondiente al material saturado con agua.

Un material con las propiedades arriba citadas es la perlita, un mineral abundante en nuestro país, el cual al ser sometido a un proceso térmico (800 ° C) se expande formando partículas sumamente porosas y con propiedades térmicas, razón por la cual este material es utilizado en la industria de la construcción para el aligeramiento de lozas. Una desventaja importante de la perlita expandida es su baja estabilidad mecánica por estar constituida principalmente por pequeños aglomerados que forman partículas de alrededor de 2 mm de diámetro, las cuales son fácilmente disgregables, aun bajo una leve presión entre las palmas de la mano. No obstante, durante el proceso térmico de expansión del material madre, se produce una escoria, comúnmente llamada perlita vitrificada, la cual conserva las propiedades de baja densidad pero su tenacidad y dureza se incrementan considerablemente, razones por la cuales este material también fue considerado

como posible material de soporte.

También se incluyeron dos materiales poliméricos de baja densidad: Una resina de intercambio iónico hecha a base de partículas de poliestireno cuaternario de amonio y una resina de poliéster, la cual fue mezclada con perlita expandida con el fin de mejorar sus propiedades de porosidad y rugosidad superficial. En el Cuadro No. 5 se muestran las principales características de los medios de soporte evaluados, entre las que destacan las bajas densidades de la resina de poliestireno (1.08 g cm^{-3}), de la flaggstafita (1.09 g cm^{-3}) y de la mezcla de poliéster + perlita (1.22 g cm^{-3}).

Cuadro 5. Principales características de los materiales preseleccionados como candidatos a medios de soporte

Material	Densidad (g/cm^3)		Diámetro (mm)
	Especifica	Aparente	
Poliestireno	1.08	0.7060	0.7 – 1.1
Flaggstafita	1.09	-	-
Resina+perlita	1.22	0.6469	2.5 - 4.00
Carnalita	1.60	-	-
Perlita expandida	1.76	0.1231	Agregados
Block espuma	1.97	0.3184	2.38 – 3.36
Piedra pómez	2.07	0.3173	2.38 – 3.36
Perlita vitrificada	1.71	0.4860	2.10 – 4.00
Pumicita	2.31	0.6287	2.38 – 3.36
Basalto CJ	2.45	0.8068	2.38 – 3.36
Arena sílica	2.60	1.6145	2.38 – 3.36
Alúmina	2.76	0.8092	2.38 – 3.36

A diferencia del resto de los materiales, cuya aplicación en el reactor se podía efectuar sin la necesidad de realizar cambios en sus propiedades físicas, la

mezcla de poliéster con perlita expandida y la perlita vitrificada, requirieron de un proceso de preparación, antes de ser utilizados en el reactor. El poliéster, el cual se expende comercialmente en estado líquido y cuya densidad es de 1.008 g cm^{-3} , se mezcló con un 50% (volumen/volumen aparente) de perlita expandida (Carlita M.R.) con densidad de 1.76 g cm^{-3} . A la mezcla se agregó la cantidad apropiada (2% v/v) de etil metil cetona como catalizador para obtener su solidificación, siendo inmediatamente vaciada en un recipiente de acero inoxidable con las siguientes dimensiones: 30 cm de ancho, 50 cm de largo y 0.5 cm de alto. Cuando el poliéster presentaba un estado gelatinoso se procedió a realizar una serie de cortes con navaja, generando cubos de alrededor de 0.5 cm por lado. Una vez que la mezcla se solidificó por completo, los pequeños cubos fueron sometidos a un proceso de esferonización, hasta obtener la mayor esfericidad posible (Figura 3). La esfericidad fue determinada gráficamente mediante la medición de la longitud de ocho segmentos radiales por partícula, en un total de 78 imágenes digitalizadas de partículas esferonizadas (Anexos 1,2 y 3 del apéndice).



Figura 3. Partículas esferonizadas de la mezcla de poliéster+perlita.

En el caso de la perlita vitrificada, ésta fue sometida a una serie de trituraciones hasta obtener partículas de aproximadamente 5 a 8 mm de diámetro, ya que los aglomerados tal y como salen del horno tienen un tamaño aproximado de entre 5 y 15 cm de diámetro; después de ser trituradas, las partículas fueron sometidas a un proceso de esferonización. La esferonización de las partículas de poliéster+perlita así como las de perlita vitrificada se llevó a cabo mediante un disco abrasivo rotatorio (600 rpm), accionado por medio de un motor eléctrico de 0.5 cp (Figura 4).



Figura 4. Aparato empleado para la esferonización de las partículas de poliéster + perlita y de perlita vitrificada.

4.3 Corridas experimentales

En el cuadro 6 se resumen las condiciones específicas de operación en cada corrida experimental, los materiales de soporte empleados así como la duración de cada una de las corridas experimentales antes citadas.

Cuadro 6. Materiales de soporte y concentración de la demanda química de oxígeno del influente en el total de corridas experimentales efectuadas

No. de Corrida	Duración (días)	Material de Soporte	Concentración de DQO (mg/L)
A1	5	Poliestireno	210
A2	7	Alúmina activada	300
B1, B2	41	Poliéster + perlita	210, 280 y 350
C1, C2 D1, D2	21	Poliéster + perlita	210
C3-C5 D3, D4	21	Perlita vitrificada	210

Las corridas D1-D4 fueron efectuadas por Amarabi Cano Jiménez, José Alberto Moreno Baca y Jorge Sáenz Peinado como proyecto de desarrollo tecnológico para la Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental del Cimav, S.C.

En total se llevaron a cabo 13 corridas experimentales. Dos corridas cortas (A1, A2) de cinco y siete días de duración, respectivamente, en las que se evaluaron los materiales de poliestireno y de alúmina activada. Dos corridas largas (B1, B2) de 41 días de duración cada una en las que se empleó la mezcla de poliéster y perlita expandida. Estas corridas largas tuvieron el objetivo de determinar el desempeño del reactor en términos de su eficiencia para la remoción de la materia orgánica del sustrato así como de su capacidad para eliminar el exceso de biomasa como respuesta a incrementos predeterminados en la concentración del sustrato. Posteriormente se llevaron a cabo cinco corridas de 21 días de duración cada una, dos corridas con poliéster + perlita (C1, C2) y tres corridas con perlita vitrificada (C3-C5) como material de soporte, en las que

conjuntamente con los resultados de los primeros 21 días de las corridas B1 y B2 se estudió la dinámica de diferentes indicadores de crecimiento de la biopelícula y su relación con la eficiencia del sistema. Finalmente se efectuaron cuatro corridas de 21 días de duración cada una, dos corridas con poliéster + perlita (D1, D2) y dos con perlita vitrificada (D3, D4) en las que se efectuó un balance de sólidos como indicador de la dinámica de transformación de biomasa en el reactor.

4.3.1 Condiciones generales de operación

La altura estática del lecho (la altura del lecho en reposo) fue de 30 cm, correspondiente a un 24% del volumen de la zona de reacción. La fluidización del lecho se llevó a cabo mediante el ajuste gradual de la velocidad de recirculación de la fase líquida hasta llegar a un caudal final de 1.7 L min⁻¹ para el lecho de poliéster + perlita y de 1.8 L min⁻¹ para el de perlita vitrificada (Cuadro7).

Cuadro 7. Condiciones de operación en las corridas experimentales con los materiales de soporte a base de poliéster+perlita y perlita vitrificada.

Variable	Poliéster + Perlita	Perlita vitrificada
Tiempo de retención hidráulica (min)	30	30
Altura estática del lecho (cm)	30	30
Volumen del lecho (L)	2.450	2.450
Flujo de recirculación (L min ⁻¹)	1.7	2.1
Velocidad de recirculación (cm seg ⁻¹)	0.45	0.55
Flujo de influente (L min ⁻¹)	0.14	0.14
Velocidad superficial del aire (m h ⁻¹)	10	10

El suplemento de oxígeno para la respiración microbiana se llevó a cabo mediante la aplicación de aire comprimido a razón de un caudal constante de 1.2 L min^{-1} , correspondiente a una velocidad de 10 m h^{-1} . Con el propósito de aminorar las fluctuaciones de temperatura en el reactor por efecto de los cambios de temperatura ambiental se empleó un calentador eléctrico de 100 watts equipado con termostato para mantener una temperatura constante en el reactor, mismo que fue colocado en el tanque de recirculación. El arranque del reactor se llevó a cabo sin la aplicación de inóculo, de tal modo que los microorganismos que crecieron en el reactor fueron los existentes en el medio ambiente, principalmente en el agua, así como en los ingredientes del sustrato y en la cristalería empleada para su preparación.

4.3.2 Sustrato

Como sustituto de aguas residuales se preparó un sustrato concentrado compuesto de dextrosa, glicerol, extracto de carne, urea y KH_2PO_4 , con base en la composición mostrada en el cuadro No. 8. El concentrado se mantuvo bajo condiciones de refrigeración (4° C) con el fin de aminorar la acción bacteriana antes de su ingreso al reactor; posteriormente, al salir del refrigerador por acción de una bomba de diafragma, el concentrado era diluido con agua potable hasta alcanzar las concentraciones deseadas de demanda química de oxígeno.

En las dos corridas de 41 días de duración, durante los primeros 20 días se aplicaron 210 mg L^{-1} , 280 mg L^{-1} del día 21 al 30 y 350 mg L^{-1} del día 31 al 40. En el resto de las corridas, la concentración del sustrato fue de 210 mg L^{-1} durante toda la corrida experimental. El tiempo de retención hidráulica del sustrato en la zona de reacción para todas las corridas fue de aproximadamente 30 minutos, mismo que fue controlado mediante la aplicación de un flujo constante de influente calculado con base en el volumen real del reactor, el cual se obtuvo a partir de la

diferencia entre el volumen del reactor y el volumen de la fase sólida (biopartículas).

Cuadro 8. Composición del sustrato utilizado como sustituto de aguas residuales

Componente	Concentración ² (mg L ⁻¹)
Extracto de carne	40
Dextrosa ¹	40
Glicerol ¹	40
Urea ¹	8
KH ₂ PO ₄ ¹	4

¹ Grado reactivo

² Por cada 100 mg L⁻¹ de DQO, calculada a partir de la fórmula reportada por Tavares *et al.*, [1995].

4.3.3 Variables de respuesta y técnicas de análisis

4.3.3.1 Componentes bacterianos

La determinación de la cantidad de microorganismos adheridos al medio de soporte evaluado se llevó a cabo mediante el monitoreo de la concentración de proteínas y polisacáridos, los cuales son los principales componentes bioquímicos indicadores del crecimiento de la biopelícula [Characklis *et al.*, 1982]. Las muestras de biopartículas para los análisis de indicadores de crecimiento de la biopelícula se tomaron introduciendo un tubo de pvc de 1" de diámetro hasta el fondo del reactor. El tubo estaba equipado con una tapa de caucho unida a una varilla de acero inoxidable, la cual al ser girada obstruía la parte baja del tubo,

evitando así la pérdida de las muestras. Inmediatamente después de que la muestra de biopartículas era colectada, una cantidad semejante de partículas limpias, libres de biopelícula, era depositada en el reactor con el fin de mantener estable la misma cantidad de material de soporte en el reactor. Después de su extracción del reactor, las muestras fueron sometidas a centrifugación (1200 rpm) con el fin de separar la biopelícula y proceder a su análisis. Los muestreos se efectuaron cada 48 horas y cada muestra fue analizada por sextuplicado.

Después de la eliminación del sobrenadante, el extracto de biopelícula, en este caso el precipitado, fue rehidratado hasta obtener un volumen fijo de 1 mL, el cual constituyó la muestra final para llevar a cabo los análisis de proteína y polisacáridos. La concentración de proteínas se determinó siguiendo la técnica de Bradford [Burden and Whitney, 1995], consistente en la formación de un complejo colorido al reaccionar el reactivo de Bradford con las proteínas presentes, en una reacción estequiométrica. Se construyó una curva patrón usando albúmina sérica bovina (ABS) como referencia (0, 100, 200, 400 y 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$). De las muestras obtenidas en el reactor se colocaron 100 μL en un tubo de ensaye de vidrio y se les agregaron 3 mL de reactivo de Bradford. Las lecturas de la reacción colorida se llevaron a cabo a 590 nm en un lector de microplacas (Biorad Modelo 560).

Los polisacáridos fueron analizados mediante la técnica colorimétrica de Dubois *et al.*, [1956]. Como primer paso, se prepararon los tubos de ensayo requeridos sometiéndolos a una temperatura de 200 °C durante la noche previa al análisis, o bien, lavándolos con H_2SO_4 concentrado. Posteriormente se preparó una solución con 2.5 g de sulfato de hidracina en 500 mL de H_2SO_4 concentrado en una cubeta con hielo, así como una solución de fenol bidestilado al 5% vol/vol en agua destilada. De las muestras rehidratadas, se tomaron seis submuestras de 0.5 mL cada una y se colocaron en tubos de ensayo. A las submuestras y a los estándares se les adicionaron 0.5 mL de la solución de fenol y 2.5 mL de la solución de hidracina. Se construyó una curva patrón usando glucosa como referencia (0, 25, 50, 100 y 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Las lecturas de la reacción colorida se

llevaron a cabo a 480 nm en el lector de microplacas mencionado. Las concentraciones de proteína y polisacáridos fueron transformadas a masa ($\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco de material de soporte) mediante la división de ambas concentraciones entre el peso seco de la muestra de partículas. Los análisis de componentes bacterianos fueron efectuados por Abril Paloma Carrasco, estudiante y tesista de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

4.3.3.2 Conteos microbianos

Adicionalmente, se llevaron a cabo conteos de bacterias mesofílicas aerobias totales, bacterias mesofílicas aerobias proteolíticas, amilolíticas, lipolíticas y productoras de exopolisacáridos. La determinación de microorganismos por su tipo de actividad metabólica, además de constituir un indicador de crecimiento biopelicular, también se llevó a cabo con el fin de evaluar la capacidad de la población microbiana presente en el reactor para degradar los principales componentes del sustrato.

Cada cinco días se tomó una muestra de aproximadamente 100 ml de biopartículas de la que se tomó una alícuota de 1 g (peso drenado) misma que fue colocada en 9 ml de una solución amortiguadora estéril de fosfato 0.2 M, homogeneizando la muestra por medio de agitación con vortex con lo cual se desprendió la biopelícula adherida al material de soporte. De la suspensión obtenida se realizaron diluciones seriadas hasta una concentración final de 1×10^{-8} , de la cual se tomaron 1 mL para cuantificación de mesofílicas totales y 0.1 ml para el resto de los tipos de bacterias, inoculando por duplicando los medios de cultivo correspondientes en cajas petri desechables.

Los medios de cultivo empleados fueron: Agar cuenta estándar para cuantificación de bacterias mesofílicas totales [Ben Omar y Ampe, 2000]; agar de leche descremada para proteolíticas [APHA, 1992]; agar de hidrólisis de almidón

para amilolíticas [Atlas, 1997]; agar de tributirina para lipolíticas [Atlas, 1997]; y medio para cuantificación de productoras de exopolisacáridos [Ben Omar y Ampe, 2000]. Las placas se incubaron a temperatura ambiente (20 a 30 °C) por 48 horas. El conteo del número total de colonias se efectuó por medio de un contador de colonias en aquellas placas con un rango de 30 a 300 colonias por placa. En el caso de mesofilicas aerobias totales, se contaron todas las colonias presentes. Respecto a las amilolíticas, se contabilizaron las colonias que aparecieron rodeadas por una zona clara, indicadora de la hidrólisis del almidón. De las proteolíticas se contaron las de halo transparente, de las lipolíticas las rodeadas por una zona transparente y de las productoras de exopolisacáridos las de aspecto mucoide (Figura 5).

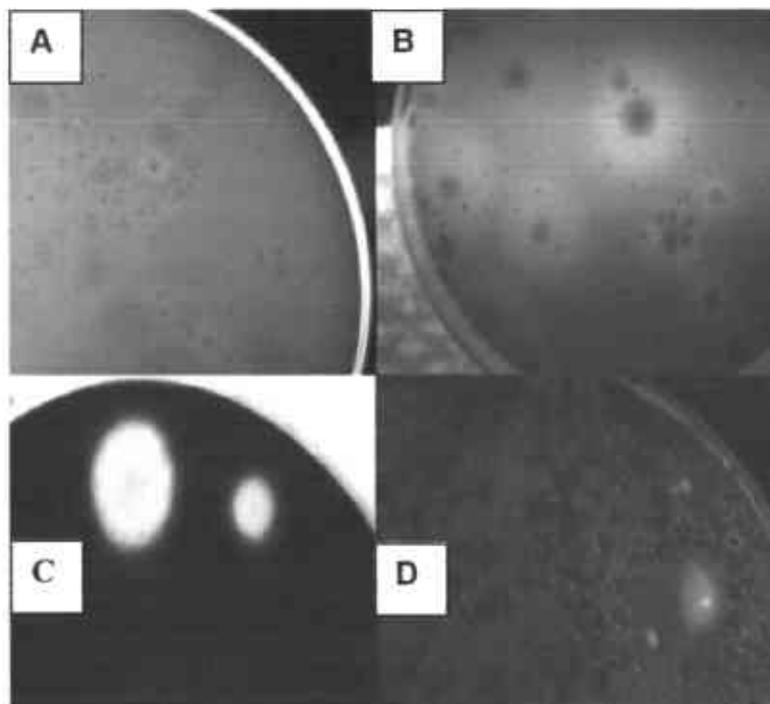


Figura 5. Aspecto de las colonias de bacterias desarrolladas en los diferentes medios de cultivo: A lipolíticas; B proteolíticas; C amilolíticas; D productoras de exopolisacáridos.

Los resultados de los conteos se multiplicaron por el factor de dilución y aparecen expresados como logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de biopartícula (Log UFC.g^{-1}). Los conteos microbianos fueron realizados por Jair Carrazco Palafox, constituyendo su tesis para la obtención del título de Químico Bacteriólogo Parasitólogo por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

4.3.3.3 Parámetros del reactor

Como indicadores de condiciones de operación y de calidad del efluente se monitorearon las variables de temperatura, oxígeno disuelto, turbidez, pH, demanda química de oxígeno y sólidos suspendidos volátiles. El oxígeno disuelto se determinó con un electrosensor marca Corning modelo 317. La turbidez se determinó con un espectrofotómetro portátil marca Hach modelo 2100 P. El pH fue monitoreado con un potenciómetro marca Corning, modelo 315. Las determinaciones de DQO se efectuaron sometiendo las muestras de efluente a un proceso de digestión a 150°C durante 2 horas en un reactor para DQO marca Hach. La cuantificación de la concentración de DQO se efectuó en un colorímetro marca Hach modelo DR 890, de acuerdo con la técnica normalizada de oxidación de dicromato de potasio [Ramalho, 1996].

Los sólidos suspendidos volátiles se determinaron en muestras del licor mezclado, en biopartículas y en el efluente final, siguiendo las técnicas convencionales [APHA/AWWA/WPCF, 1989]. Las muestras licor mezclado se tomaron de un puerto ubicado a la misma altura del puerto de salida hacia el presedimentador. Las muestras de biopartículas para el análisis de sólidos fueron tomadas del mismo modo que las biopartículas extraídas para el análisis de indicadores de crecimiento de la biopelícula. Una vez extraídas, las biopartículas eran sometidas a una homogeneización para separar la biopelícula adherida a las mismas. La muestra de efluente fue tomada del puerto de salida del sedimentador.

4.3.4 Preparación de muestras para su observación mediante microscopía electrónica de barrido

De las muestras de biopartículas extraídas del reactor para la determinación de indicadores de biopelícula, una porción de aproximadamente de 10 a 15 partículas fueron separadas del resto de las partículas, tratando de causar la mínima alteración posible a la biopelícula, siendo posteriormente colocadas en un recipiente de plástico de 50 mL. En dicho recipiente, se agregó como fijador glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de cacodilato con un volumen suficiente para cubrir las partículas. El recipiente fue cubierto con papel aluminio para evitar el paso de la luz y almacenado bajo condiciones de refrigeración. Las partículas permanecieron embebidas en glutaraldehído durante un período aproximado de dos horas, al término del cual se eliminó el glutaraldehído, efectuando dos lavados consecutivos con cacodilato de sodio 0.1 M, continuando almacenadas con cacodilato de sodio y en refrigeración hasta el momento de la preparación final para su observación en el microscopio [Dykstra, 1993].

Después de la eliminación del cacodilato, las partículas fueron sometidas a deshidratación mediante inmersiones consecutivas de 15 minutos en alcohol etílico al 75, 85, 95% y dos inmersiones finales en alcohol absoluto. El secado se llevó a cabo sumergiendo las partículas en hexametildisilazano colocando las muestras en desecador hasta la evaporación de este reactivo. Una vez concluido el proceso de secado, las partículas fueron colocadas en una base de aluminio empleando pasta de carbón como adherente.

Posteriormente, las partículas fueron sometidas a dos baños iónicos en oro de 30 segundos de duración cada uno, bajo una atmósfera de argón en un aparato aspersor marca DENTUM VACUUM modelo DESK II [Dykstra, 1993; Stewart *et al.*, 1995]. La observación microscópica se llevó a cabo en un microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-5410LV. La preparación de muestras y las observaciones en el microscopio electrónico de barrido fueron

efectuadas por el Dr. Francisco Javier Solís Martínez, catedrático investigador de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Chihuahua, I.Q. Lucina Guadalupe Córdoba Fierro, técnico laboratorista de la misma Facultad y Catalina Andrade Molinar, estudiante y tesista de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

4.3.5 Análisis estadístico

La información generada fue analizada estadísticamente con base en un diseño completamente al azar y un arreglo factorial de mediciones repetidas, en el que los dos materiales de soporte finales fueron el factor 1 y el tiempo de operación el factor 2 [Winer, 1971]. La comparación de medias se llevó a cabo mediante la prueba de Student. El estudio de la relación entre la eficiencia del reactor y los cambios en los indicadores de crecimiento bacteriano se llevó a cabo mediante la determinación de coeficientes de correlación de Pearson [Steel y Torrie, 1985]. El análisis estadístico se llevó a cabo con el uso del paquete estadístico "Statistica" [Stat Soft Inc., 2000].

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Selección de materiales de soporte

5.1.1 Primera etapa de selección

A partir de la primera etapa de selección de materiales se eliminaron candidatos como la flaggstafita y la carnalita, cuyas densidades específicas son de 1.09 y 1.6 g cm⁻³, respectivamente, pero que su disponibilidad es limitada para fines de aplicación a escala comercial por ser una especie de colección, en el caso del primero y un material escaso el segundo. También se eliminaron la perlita expandida, el block espuma, la piedra pómez y la pumicita, materiales de baja densidad específica y aparente, de fácil fluidización, pero inservibles para los fines del presente trabajo por su baja estabilidad mecánica. También se eliminó el basalto volcánico poroso, material de baja densidad aparente pero de rápida saturación con agua por lo que sus requerimientos de fluidización rebasaron los límites establecidos en este trabajo (Cuadros 9 y 10).

5.1.2 Segunda etapa de selección

En la segunda fase de selección se eliminaron la resina de poliestireno y la alúmina activada. En el caso de la resina de poliestireno se obtuvo una fluidización sumamente suave, totalmente libre de cualquier turbulencia, salvo pequeños arrastres de partículas ejercida por el ascenso de las burbujas de aire, sin la necesidad de aplicar el flujo de recirculación, alcanzando una expansión del lecho superior al 100%. No obstante, debido al escaso movimiento de las partículas y la poca fricción entre ellas, a partir del segundo día de operación se observaron

coágulos formados por biomasa y las partículas del lecho, siendo prácticamente imposible su desintegración, sin causar el arrastre y la expulsión de biopartículas hacia el exterior del reactor. En el quinto día de operación, el total del lecho formó con la biomasa una sola pieza gelatinosa que, al intentar ser disgregada mediante el incremento de la velocidad de flujo de las fases líquida y gaseosa, ascendía hacia la salida del reactor sin observarse ningún desprendimiento de biomasa (Figura 6, Cuadro 10). Además de la coagulación, también se presentó acanalamiento de substrato y aire, estancamiento del lecho, la aparición de corpúsculos de color negro y olor a compuestos azufrados, indicadores de la formación de condiciones anaeróbicas [Stronach *et al.*, 1987; Norsker *et al.*, 1995].

Cuadro 9. Resumen de resultados generales de los candidatos para materiales de soporte seleccionados en este trabajo.

Material	Observaciones Generales
Poliestireno	Fácilmente fluidizable $U_{mf}^1 = 0.037 \text{ cm seg}^{-1}$
Poliéster + perlita	Fácilmente fluidizable $U_{mf} = 0.35 \text{ cm seg}^{-1}$
Perlita expandida	Baja estabilidad mecánica
Block espuma	
Piedra pómez	
Perlita vitrificada	Fácilmente fluidizable $U_{mf} = 0.45 \text{ cm seg}^{-1}$
Pumicita	Soluble en agua
Basalto CJ	Fluidización bajo velocidades de recirculación por encima de los límites preestablecidos en este trabajo
Arena sílica	
Alúmina	

¹ Mínima velocidad de fluidización expresada como la velocidad de recirculación de la fase líquida.

Cuadro 10. Resumen de resultados del proceso de selección de materiales de soporte en el total de corridas experimentales efectuadas.

No. de corrida	Material de Soporte	Observaciones Generales
A1	Poliestireno	Coagulación de biomasa con el material de soporte Saturación del lecho aún con intentos de retrolavado
A2	Alúmina activada	Coagulación de biomasa con el material de soporte Saturación del lecho aún con intentos de retrolavado
B1, B2	Poliéster + perlita	Adecuado balance entre los procesos de fijación y desprendimiento de biomasa Operación continua del reactor sin necesidad de efectuar retrolavados del lecho
C1, C2 D1, D2	Poliéster + perlita	
C3-C5 D3, D4	Perlita vitrificada	

En el caso de la alúmina, al término de los 7 días de prueba, se observó la presencia de una biopelícula densa y uniforme alrededor de las partículas del material de soporte. A pesar de considerables incrementos en los regímenes de velocidad del flujo de agua y aire, el lecho en su totalidad no pudo ser fluidizado. Sólo se obtuvo la fluidización de aproximadamente el 10% de la parte superior del lecho, bajo un flujo de recirculación de $3,000 \text{ cm}^3 \text{ seg}^{-1}$, equivalente a una velocidad de recirculación de 0.80 cm seg^{-1} , el límite de flujo de recirculación considerado en este trabajo. Sin embargo, al permanecer fijo el resto del lecho, éste se empezó a coagular con la biomasa terminando por estancarse y formar una sola pieza gelatinosa, la cual también fue imposible de disgregar mediante el

incremento en la velocidad del aire (Cuadro 10).

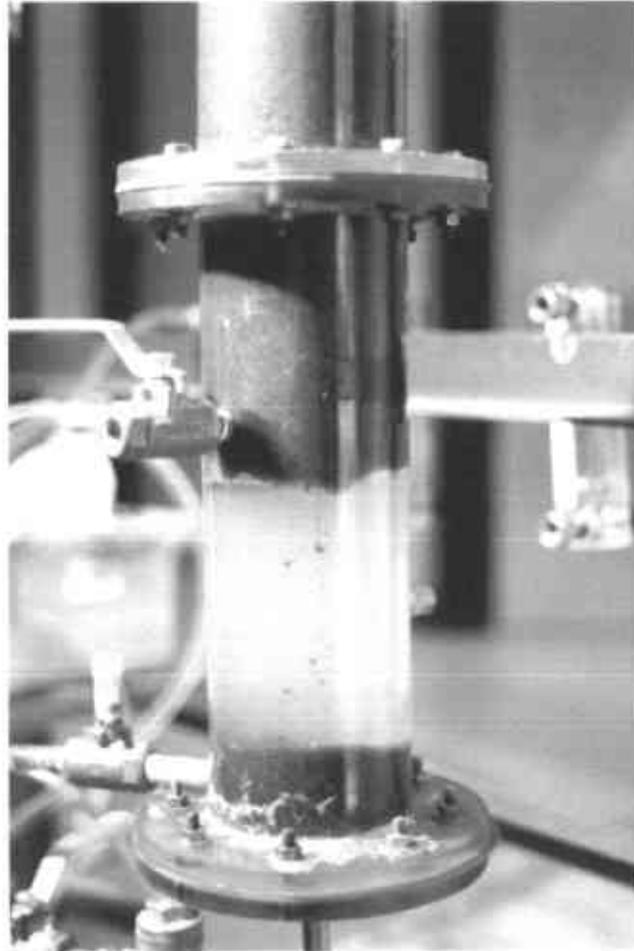


Figura 6. Elevación del lecho coagulado por efecto del incremento en la velocidad de flujo de las fases líquida y gaseosa

El desempeño de la alúmina era predecible, ya que su densidad es similar a la de la arena sílica, la que bajo condiciones de poca o nula fluidización, se comporta como un lecho fijo, terminando por saturarse en poco tiempo [Rivas *et al.*, 2001]. A pesar de lo anterior, la alúmina fue incluida en este trabajo porque se planteó la posibilidad de que, dada su baja densidad aparente podría ser fluidizada bajo velocidades de recirculación menores a los requeridos para fluidizar

materiales de densidad específica alta. Sin embargo, para que lo anterior se cumpliera, era necesario que los poros internos de las partículas de alúmina no fueran saturados con agua, formando pequeñas cámaras de aire, lo cual sería posible si la película de polisacáridos formara una capa impermeable alrededor de las partículas. Aparentemente, tales condiciones no se presentaron y los poros de la alúmina se saturaron con agua antes de que la biopelícula cubriera la superficie de la partícula. De ese modo, se perdió el posible efecto favorable de la alta porosidad típica de la alúmina, requiriendo por lo tanto, de altas velocidades de recirculación como medio para obtener su fluidización [Jiménez *et al.*, 1990; Ryhner *et al.*, 1988; Trinet *et al.*, 1991].

Por tales motivos, se dio por concluida la prueba procediéndose a la eliminación de la alúmina como posible material de soporte. Cabe mencionar que la alúmina constituía, dentro del grupo de materiales candidatos, el material de soporte de mayor densidad. Por lo tanto, del total de materiales candidatos finalmente sólo quedaron la mezcla de poliéster+perlita y la perlita vitrificada, los cuales fueron sometidos a las pruebas definitivas del trabajo y serán sólo estos dos materiales sobre los que en lo sucesivo se hará mención como los materiales de soporte evaluados.

5.2 Fluidización del lecho

La baja densidad de la mezcla de polyester+perlita y de la perlita vitrificada permitió que ambos materiales fueran fácilmente fluidizables, aún mediante velocidades de recirculación por debajo de las reportadas en otro estudio en el que emplearon un material de soporte de densidad similar [Tavares *et al.*, 1995]. La fluidización del lecho se llevó a cabo por efecto de la recirculación de la fase líquida. Partiendo de flujos de recirculación mayores al inicio de la operación del reactor, conforme la densidad de las partículas del lecho cambiaba por efecto de la adhesión de biopelícula, el flujo de recirculación fue gradualmente ajustado hasta un flujo final de $1.7 \text{ cm}^{-3} \text{ min}^{-1}$ para el lecho de poliéster y de $2.1 \text{ cm}^{-3} \text{ min}^{-1}$

para el de perlita vitrificada, equivalentes a velocidades de recirculación de 0.45 y 0.55 cm seg^{-1} , respectivamente. Tales velocidades de recirculación resultaron teóricamente mayores que la mínima velocidad de fluidización, ya que de acuerdo a la caída de presión en el reactor, la mínima velocidad de fluidización para las partículas de poliéster+ perlita y para las de perlita vitrificada fue de 0.35 cm seg^{-1} y de 0.45 cm seg^{-1} , respectivamente (Figura 7). La fluidización del lecho ejerció un papel fundamental en la prevención del estancamiento del reactor, dado que propició un movimiento de las biopartículas con la suficiente fuerza de arrastre requerida para evitar la aglutinación y finalmente la coagulación del lecho por la adhesión de biomasa. La fluidización obtenida consistió en un flujo ascendente por el centro del reactor en el que las biopartículas al llegar a la zona de separación de biomasa, ubicada en la parte superior del reactor, perdían parte de su biopelícula por acción de la turbulencia creada por las burbujas de aire así como por su fricción contra las paredes de la malla de acero.

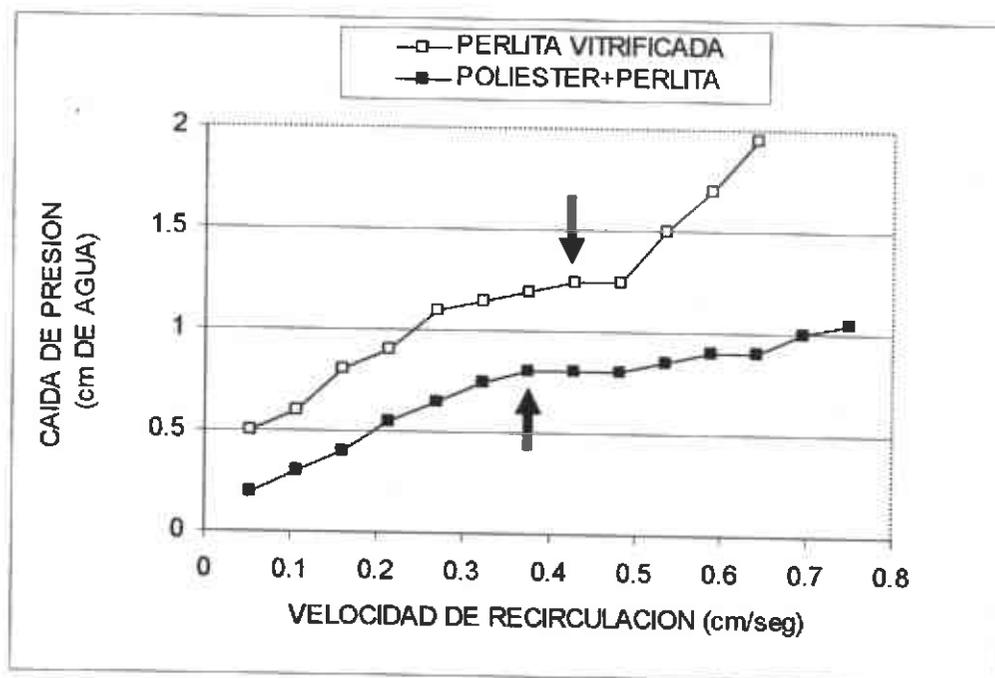


Figura 7. Comportamiento del lecho en un reactor trifásico de lecho fluidizado, bajo diferentes velocidades de recirculación de la fase líquida. Las flechas indican la zona de fluidización.

Sin embargo, de acuerdo a otros resultados de investigación, la abrasión causada por la colisión entre partículas es considerada como el mecanismo clave para el desprendimiento del exceso de biopelícula en el sistema de tratamiento de aguas residuales bajo estudio [Chang *et al.*, 1991; Nicoletta *et al.*, 1997]. Al perder parte de su biopelícula, la densidad de las partículas se veía aumentada por lo que iniciaban un flujo descendente, deslizándose por las paredes hasta llegar al fondo del reactor. Desde ahí se reiniciaba el flujo ascendente por un efecto sinérgico de arrastre causado por los flujos de recirculación, del sustrato y de las burbujas de aire (Figura 8).

5.3 Variables operativas

La temperatura promedio del agua en la zona de reacción fue de 25.7 ± 0.21 °C (Cuadro 11). Esta temperatura está comprendida en el rango óptimo (25 a 40 °C) para el crecimiento de microorganismos mesófilos y es también la temperatura óptima de operación, desde el punto de vista económico, de la mayor parte de los procesos aerobios de tratamiento de aguas residuales [Brock, 1993; Solórzano, 1996].

La concentración de oxígeno disuelto en la zona de reacción tuvo un promedio de 0.57 mg L^{-1} , situándose ligeramente por debajo del nivel óptimo para biopelículas aerobias [Norsker *et al.*, 1995; Picioreanu *et al.*, 1997]. En el sistema evaluado predominan microorganismos consumidores de oxígeno, por lo que la baja concentración de este elemento puede ser considerada una condición normal. Xu *et al.*, [1998] encontraron que la mayor actividad fisiológica en una biopelícula aerobia se llevó a cabo bajo concentraciones de oxígeno disuelto de 0.25 mg l^{-1} , observando inclusive una importante actividad a niveles de oxígeno disuelto por debajo de 0.05 mg l^{-1} ; los mismos autores señalan que en este tipo de biopelículas, el oxígeno disuelto es a menudo un factor limitante debido a su rápido consumo, razón por la cual, el oxígeno decae en forma proporcional al incremento de la actividad de la biopelícula (Ryhner *et al.*, 1987).

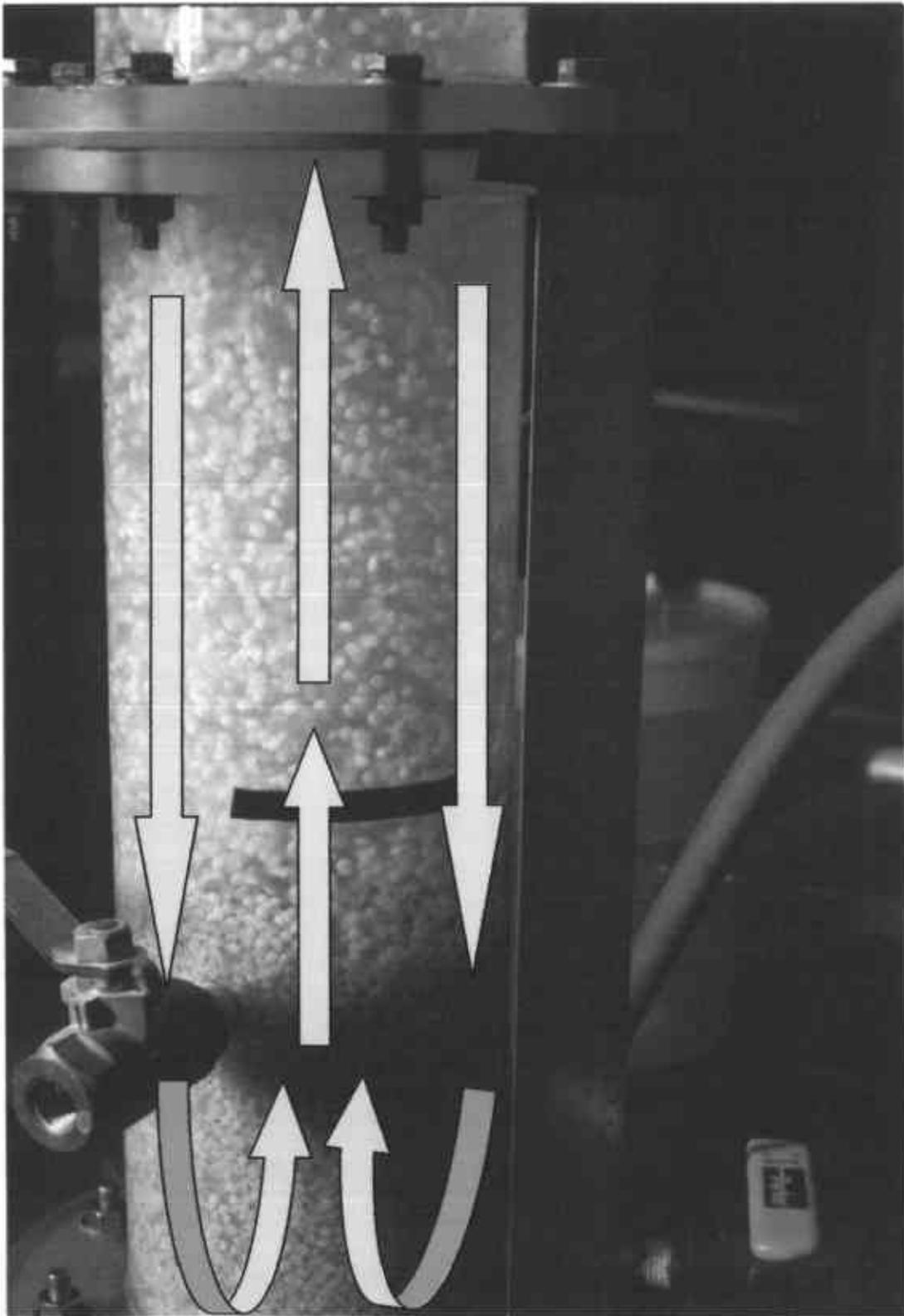


Figura 8. Representación esquemática del régimen de fluidización. Reactor trifásico de lecho fluidizado para el tratamiento de aguas residuales.

Respecto a la turbidez del efluente, debido a las altas tasas de crecimiento bacteriano esta variable se incrementa; no obstante, como efecto del sistema de transferencia de biomasa implementado en el reactor, la turbidez en el efluente mostró un rango de 16.78 a 22.03 NTU, situándolo como un efluente claro, de calidad aceptable a la vista (Anexo 4).

El pH ambiental también constituye un factor importante en el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de las bacterias no toleran niveles de pH por debajo de 4.0 ni superiores a 9.5, siendo el nivel óptimo entre 6.5 y 7.5 [Brock, 1993]. La media del pH durante el estudio fue de 7.8, ligeramente superior al límite superior del nivel óptimo, pero distante del nivel letal. Mayores detalles sobre las condiciones de operación se muestran en el Anexo 4 del apéndice.

Cuadro 11. Valores de las principales variables operativas durante el período de estudio¹.

Variable	Promedio	Error Estándar
Temperatura (° C)	25.7	0.21
Oxígeno Disuelto (mg · l ⁻¹)	0.57	0.071
pH	7.8	0.051

¹Promedios de dos corridas (B1-B2)

5.4 Dinámica de la actividad microbiana en el sistema

Se observó una importante actividad microbiológica, tanto en términos de cantidad de biopelícula adherida a las partículas del material de soporte como en la disminución del contenido de demanda química de oxígeno en el efluente,

desde las primeras 24 horas de operación del reactor aerobio de lecho fluidizado, independientemente de los dos materiales de soporte empleados. La cantidad de biopelícula adherida al material de soporte durante el segundo día de operación, expresada por el contenido de carbohidratos y proteínas en la biopelícula extraída de las biopartículas, mostró valores aproximados de 20 y 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ de material de soporte, respectivamente (Figura 9).

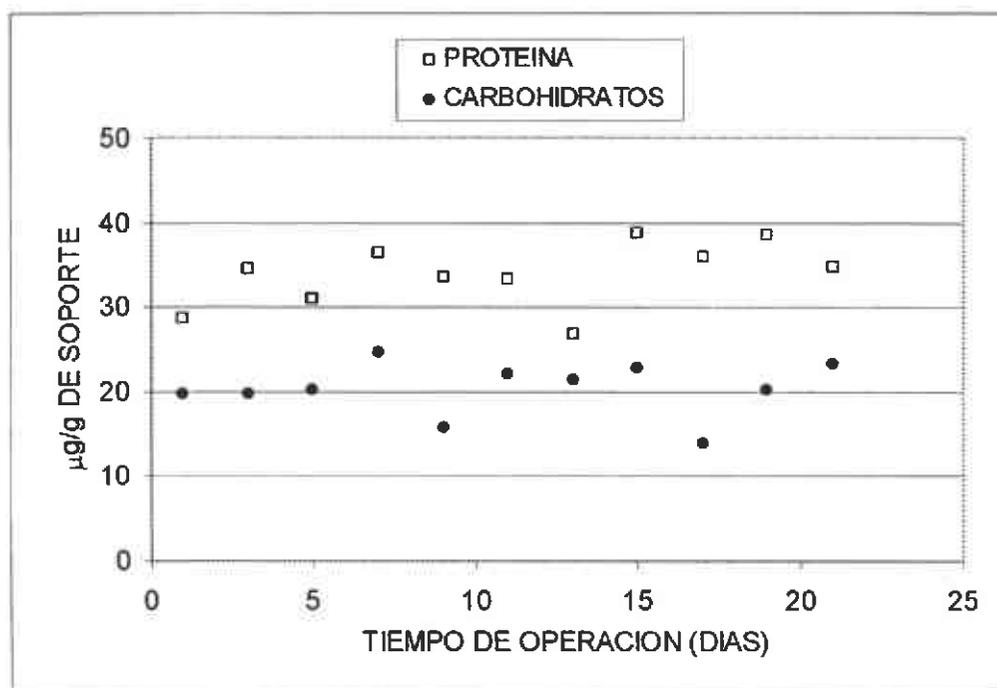


Figura 9. Componentes microbianos como indicadores de crecimiento de la biopelícula en un reactor trifásico de lecho fluidizado, usando agua residual sintética como substrato a una temperatura de 25 °C. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

A pesar de que durante el transcurso del trabajo se observaron importantes variaciones en las concentraciones de proteínas y carbohidratos, estos indicadores mostraron cierta estabilidad, situándose en su mayoría entre 30 y 40 μg y entre 20 y 25 $\mu\text{g g}^{-1}$ de material de soporte, respectivamente.

Al igual que con los indicadores de crecimiento de la biopelícula, en los conteos bacterianos también se encontraron variaciones importantes con respecto al tiempo de operación, mostrando cierta tendencia de estabilización hacia el final de las corridas experimentales. Como se observa en la figura 10, existió una alta correlación entre las poblaciones de gremios bacterianos a través del período de operación, cuyos valores se situaron entre las 7.5 y las 8.5 log UFC g⁻¹ de biomasa húmeda.

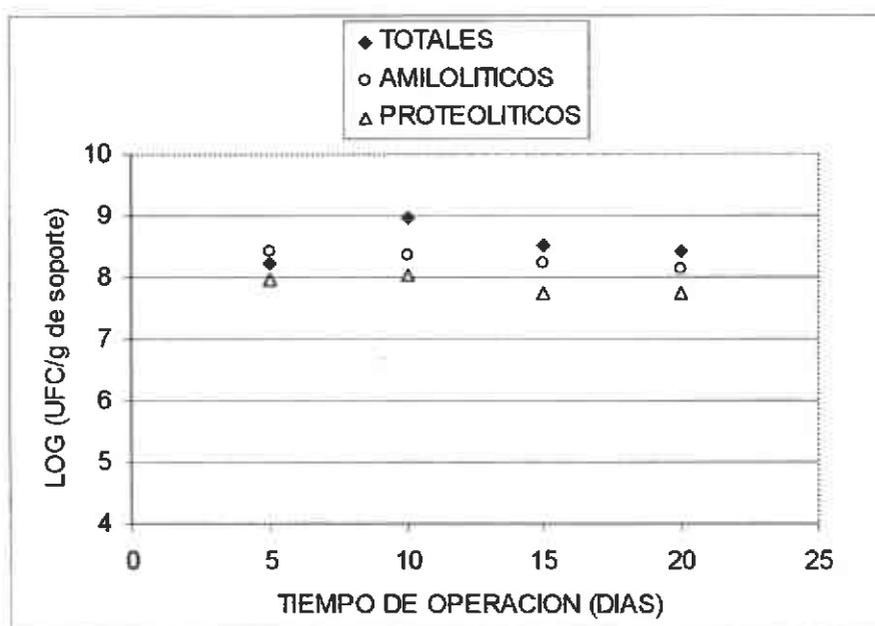


Figura 10. Cambios en la población de consorcios bacterianos en un reactor trifásico de lecho fluidizado, usando agua residual sintética como sustrato a una temperatura de 25 °C. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

Las poblaciones de bacterias lipolíticas y productoras de exopolisacáridos (EPS) mostraron un comportamiento diferente al resto de los consorcios antes citados, observándose un decremento durante el 10° día de operación seguida por una tendencia asintótica hacia el final de las corridas experimentales pero con poblaciones sensiblemente menores que las encontradas al inicio del estudio, ya

que de las 7.1 y 8.0 unidades de lipolíticas y productoras de exopolisacáridos encontradas durante el 5° día, éstas disminuyeron aproximadamente una unidad para situarse finalmente en 6.2 y 7.2 log UFC g⁻¹ de biomasa húmeda (Figura 11).

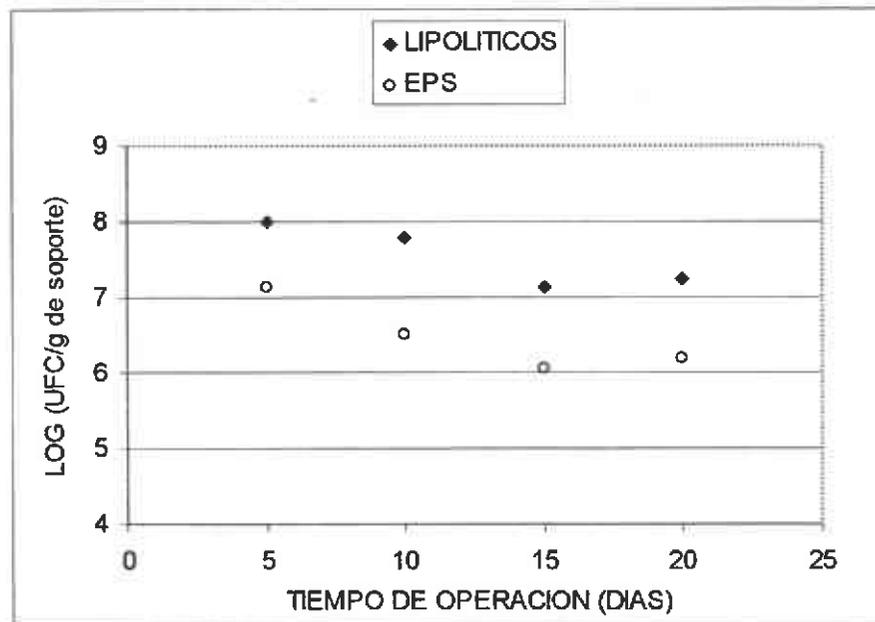


Figura 11. Cambios en la población de consorcios bacterianos en un reactor trifásico de lecho fluidizado, usando agua residual sintética como sustrato a una temperatura de 25 °C. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

La presencia de menores poblaciones de bacterias lipolíticas, con respecto al resto de las bacterias con diferente actividad metabólica, se debe a que en el sustrato el contenido de grasas es considerablemente menor que el resto de los componentes, aunado al hecho de que generalmente este gremio metabólico es menos abundante. Si bien es cierto que la variación en el contenido de componentes bioquímicos no repercute en un incremento o disminución en los gremios bacterianos y que cada tipo de bacteria tiene una actividad metabólica preferencial, esto no significa que la bacteria en particular sea estrictamente lipolítica, proteolítica, etc., [White *et al.*, 1997; Caldwell *et al.*, 1997].

En lo que respecta a las bacterias productoras de exopolisacáridos, la literatura señala que este tipo de microorganismos juega un papel fundamental para la formación de la matriz de la biopelícula durante las primeras etapas de colonización del material de soporte [Bakke *et al.*, 2001]. Eso explicaría la disminución en su población observada en el transcurso de las corridas experimentales, ya que a pesar de que durante los períodos posteriores a la estabilización de la biopelícula la actividad de productoras de exopolisacáridos continúa, como se mencionará más adelante en la sección correspondiente a la observación microscópica del desarrollo de la biopelícula, dicha actividad debe ser menor a la de las etapas de colonización, la cual normalmente se lleva a cabo durante los primeros cuatro días de operación [Davey y O'Toole, 2000; Costerton *et al.*, 1994].

5.5 Desempeño del reactor como respuesta al incremento en la concentración del sustrato.

Tal y como se señaló anteriormente, se observó una importante actividad microbiológica en el reactor desde las primeras horas de operación, a pesar de no haberse efectuado inoculación del mismo. A 24 horas de haberse iniciado las corridas experimentales, la DQO presentó una disminución de 90 mg L⁻¹, correspondiente al 43% de la DQO contenida en el influente (Figura 12). Conforme el tiempo de operación transcurrió, la tasa de remoción de DQO presentó una ligera tendencia hacia el incremento, alcanzando su primer punto máximo en el 13° día, a partir del cual se observa un ligero decremento.

Lo anterior coincide con la etapa conocida como "falso estado de condiciones estables" en la que alrededor de los primeros 10 días se observa una aparente estabilidad en la actividad microbiana de la biopelícula, pero tanto la densidad como el espesor de la biopelícula continúan incrementándose hasta llegar a un "estado verdadero de condiciones estables" el cual normalmente se

obtiene de los 18 a los 21 días [Bakke *et al.*, 2001, Lewandowski *et al.*, 1999].

Las máximas tasas de remoción de materia orgánica (un promedio de 220 mg L⁻¹, equivalente a un 79% de la DQO contenida en el influente) se obtuvieron de los 23 a los 29 días de operación, cuando la concentración de la DQO en el influente se incrementó de 210 a 280 mg L⁻¹, siendo esta última una concentración muy próxima a la máxima carga orgánica bajo la cual los reactores de lecho fluidizado alcanzan su óptimo de operación, aunque la capacidad de tratamiento se puede incrementar empleando mayores tiempos de retención hidráulica [Sutton y Mishra, 1990; Ochieng *et al.*, 2002].

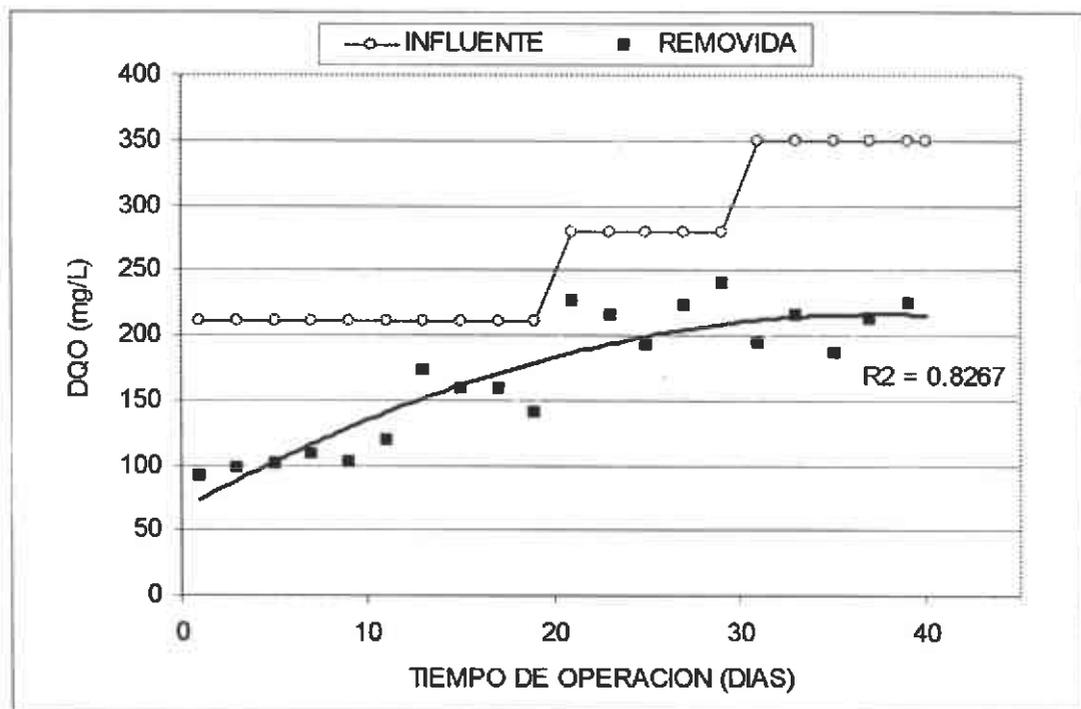


Figura 12. Efecto de la concentración de DQO en el influente sobre la eficiencia del sistema. Los valores son promedios de dos corridas (B1-B2) en las que se utilizó la mezcla poliéster+ perlita como material de soporte.

Después del 30° día, a partir del cual se aplicó la mayor concentración de DQO en el influente, la tasa de remoción de DQO se vio mermada, alcanzando niveles menores a los obtenidos en los días anteriores. La teoría del crecimiento bacteriano bajo condiciones de cultivo continuo señala que la disponibilidad del sustrato en cantidades limitadas tiene igualmente un efecto limitador del crecimiento (Monod, 1949). Dado que en el presente estudio la disponibilidad de sustrato no fue limitante, por lo tanto, la disminución en la tasa de remoción de la DQO puede atribuirse en parte a la posible presentación de una segunda fase de adaptación de los microorganismos al cambio en la concentración del sustrato, pero sobre todo al efecto inhibitor del sustrato, quedando de manifiesto lo reportado en la literatura consultada, misma que señala que la máxima eficiencia de los reactores aerobios de lecho fluidizado se sitúa en niveles de DQO de alrededor de 300 mg L⁻¹ [Tavares *et al.*, 1995].

Sin embargo, respecto a la concentración de DQO en el efluente, es importante señalar que esta variable no sólo es indicadora de la materia orgánica no degradada por el sistema de tratamiento, sino que también está constituida por la biomasa eliminada del reactor así como por los metabolitos derivados de la actividad microbiana y otros factores de interferencia [Su *et al.*, 2001], de tal modo que la determinación de la eficiencia del sistema a niveles más finos debería, en primera instancia, considerar la posibilidad de separar cada uno de esos componentes. Aún así, cabe destacar la apreciable eficiencia en la remoción de DQO (hasta 79%) obtenida con la mezcla de poliéster+ perlita como material de soporte (Figura 12), a pesar del bajo tiempo de retención hidráulica (30 min.) y del bajo volumen del medio de soporte (25%).

Algunos autores [Safferman y Bishop, 1996; Ryhiner *et al.*, 1987; Tavares *et al.*, 1995] reportan tasas de remoción de DQO ligeramente mayores a las obtenidas en este trabajo pero con mayores volúmenes de medio de soporte (40%), con menores concentraciones de DQO en el influente (60 a 180 mg L⁻¹) y con mayores tiempos de retención hidráulica (desde 1 hasta 4 horas).

5.6 Relación entre los cambios en los indicadores de crecimiento de la biopelícula y la eficiencia del sistema

Respecto a la eficiencia del sistema y su relación con los cambios en las concentraciones de los indicadores de crecimiento de la biopelícula así como con los conteos de población bacteriana no se encontró una dependencia significativa estadísticamente (Anexo 5). Lo anterior se atribuye principalmente a la alta variabilidad en los niveles de remoción de demanda química de oxígeno observada en el transcurso de las pruebas experimentales con respecto a los valores correspondiente de cada uno de los indicadores de crecimiento de la biopelícula. Además, en este tipo de sistemas de tratamiento de aguas residuales, la eficiencia se ve limitada tanto por altos como por bajos contenidos de biopelícula en el material de soporte, debido a limitaciones en la difusión de nutrientes y oxígeno bajo condiciones de biopelícula abundante y a una baja población de microorganismos consumidores cuando la biopelícula es escasa.

Al respecto, Safferman y Bishop [1996] sostienen que la remoción de la demanda química de oxígeno no correlaciona bien con el espesor de la biopelícula. Además, en este tipo de sistemas de tratamiento de aguas residuales actúan de manera conjunta tanto la biomasa adherida al material de soporte como la suspendida en la fase líquida [Jeris, 1977; Stahis, 1980; Shieh, 1981]. Por lo tanto, se puede establecer que la biomasa suspendida jugó también un papel importante en la degradación de la materia orgánica.

Por otro lado, la consideración de la remoción de materia orgánica como indicadora de la eficiencia del reactor debe complementarse con la determinación de variables indicadoras de actividad microbiológica, como son la determinación más precisa de los cambios en la concentración de oxígeno disuelto en el reactor así como de la cantidad de dióxido de carbono generada en el reactor. No obstante, ambas variables requieren del uso de equipos costosos como son

microsensores y equipo de cómputo para el monitoreo del oxígeno disuelto, así como respirómetros para la medición del dióxido de carbono.

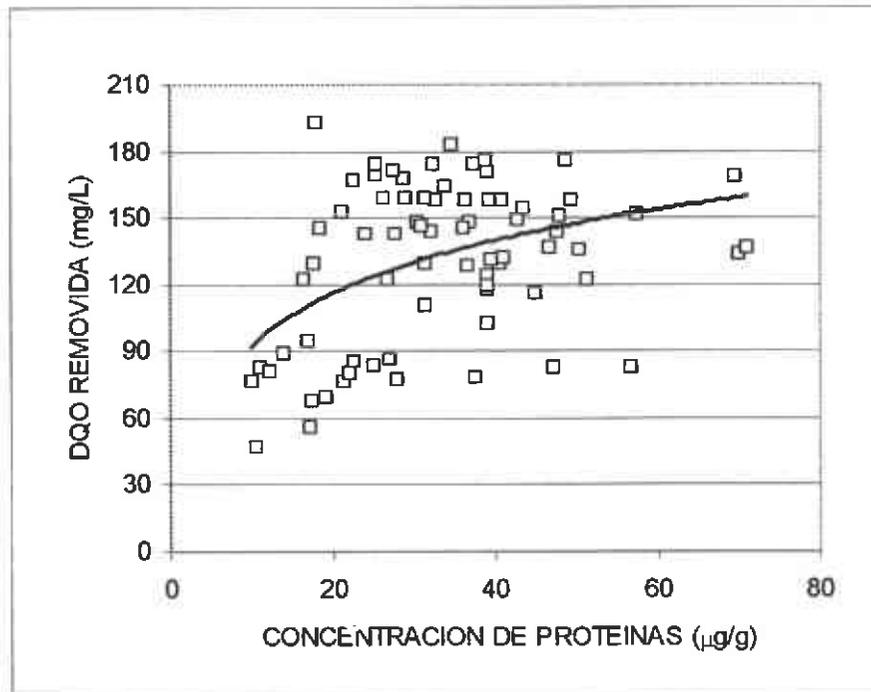


Figura 13. Relación entre la eficiencia del sistema y la concentración de proteínas como indicadora del crecimiento biopelicular. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

A pesar de lo anterior, en términos descriptivos se puede establecer que la mayor eficiencia del reactor estuvo relacionada con valores de medios a altos de concentración de biopelícula, ya que, como puede observarse en las figuras 13 y 14, los valores más bajos de concentración de proteínas y de proteínas + carbohidratos estuvieron ligados a los menores niveles de eficiencia en la remoción de demanda química de oxígeno. Así mismo, en las mismas figuras también puede observarse que la capacidad de remoción de materia orgánica nunca se vio limitada por un exceso de biopelícula en el reactor, lo que confirma la buena eficiencia del sistema para eliminar el exceso de biomasa en el mismo.

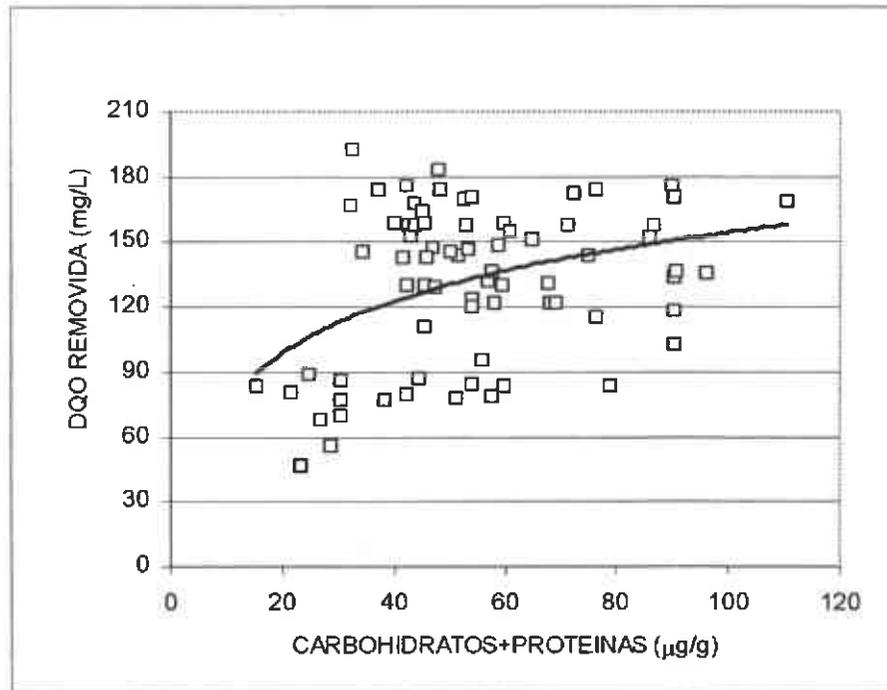


Figura 14. Relación entre la eficiencia del sistema y la concentración de carbohidratos+proteínas como indicadora del crecimiento biopelicular. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

Con base en los datos obtenidos, se puede dar por hecho la posibilidad de incrementar la eficiencia del reactor a través del ajuste de las condiciones de operación que favorecen la presencia de una mayor concentración de biomasa en el reactor, como son la disminución de la velocidad de fluidización del lecho o el incremento del área superficial del lecho, mediante la disminución del tamaño de partículas o bien, aumentando la porosidad superficial de las mismas. A diferencia de las concentraciones de proteína y de la masa de proteínas + carbohidratos, las concentraciones de carbohidratos no mostraron una relación definida con respecto a la eficiencia del sistema (Figura 15).

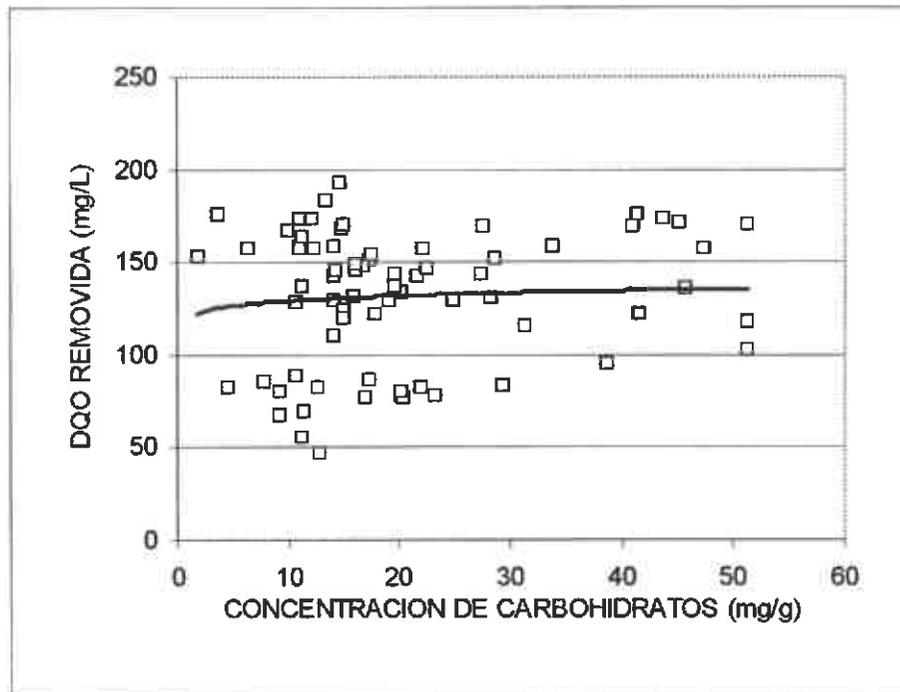


Figura 15. Relación entre la eficiencia del sistema y la concentración de carbohidratos como indicadora del crecimiento biopelicular. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

Esto se atribuye mayormente al hecho de que en la concentración de carbohidratos están no sólo comprendidos los carbohidratos contenidos en las células bacterianas sino que también, con una contribución importante, están presentes los exopolisacáridos, principales constituyentes de la matriz de la biopelícula, cuya función es estructural, de tal modo que en relación a la remoción de materia orgánica no participa de manera directa [Costerton *et al.*, 1978; Kachlany *et al.*, 2001; Tsuenda *et al.*, 2003]. Lo anterior queda de manifiesto en la figura 16 en la que puede apreciarse que la mayor proporción de los valores de alta eficiencia en la remoción de la demanda química de oxígeno están ligados a las menores tasas de carbohidratos sobre proteínas.

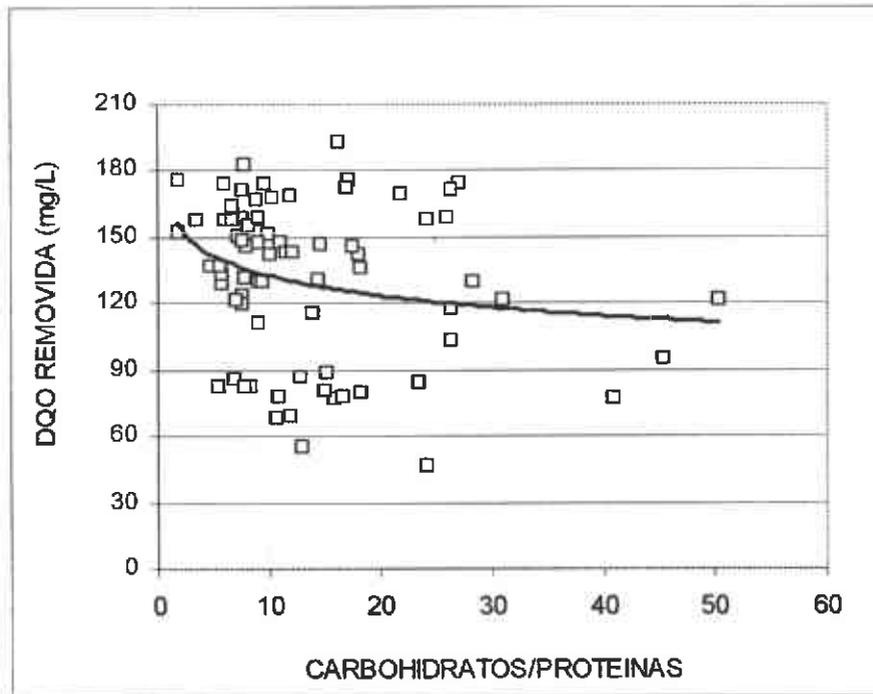


Figura 16. Relación entre la eficiencia del sistema y la concentración de carbohidratos/proteínas como indicadora del crecimiento biopelicular. Los valores son promedios de 7 corridas (B1-B2: Poliéster+perlita; C1-C5: Perlita vitrificada).

5.7 Análisis comparativo de los dos materiales de soporte finales

La figura 17 muestra los promedios de remoción de la demanda química de oxígeno durante 21 días de operación en 11 corridas experimentales, seis corridas con poliéster+perlita y cinco con perlita vitrificada como material de soporte. En dicha figura puede observarse que ambos materiales mostraron niveles de eficiencia similares, resultando ligeramente superior la mezcla de poliéster+perlita hacia el final del periodo de estudio, aunque estadísticamente no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el efecto de los materiales de soporte ni en su interacción con el tiempo de operación (Anexo 6).

Al igual que en las dos corridas largas (B1-B2) en las otras corridas (C1-D4)

también se observó una importante eficiencia de remoción de materia orgánica desde el primer día de operación, habiéndose removido alrededor del 60% de la demanda química de oxígeno en ambos materiales. La eficiencia en el reactor empacado con poliéster+perlita mostró niveles de eficiencia de alrededor del 65% durante los primeros 13 días de operación, incrementándose ligeramente a partir del 13° día a partir del cual el promedio de remoción de DQO fue de alrededor de 80%. En cuanto a la perlita vitrificada, su eficiencia se incrementó ligeramente con respecto al primer día de operación, mostrando enseguida una estabilidad con niveles de remoción muy similares a lo largo del estudio, teniendo un promedio aproximado de 70% de remoción de DQO (Figura 17).

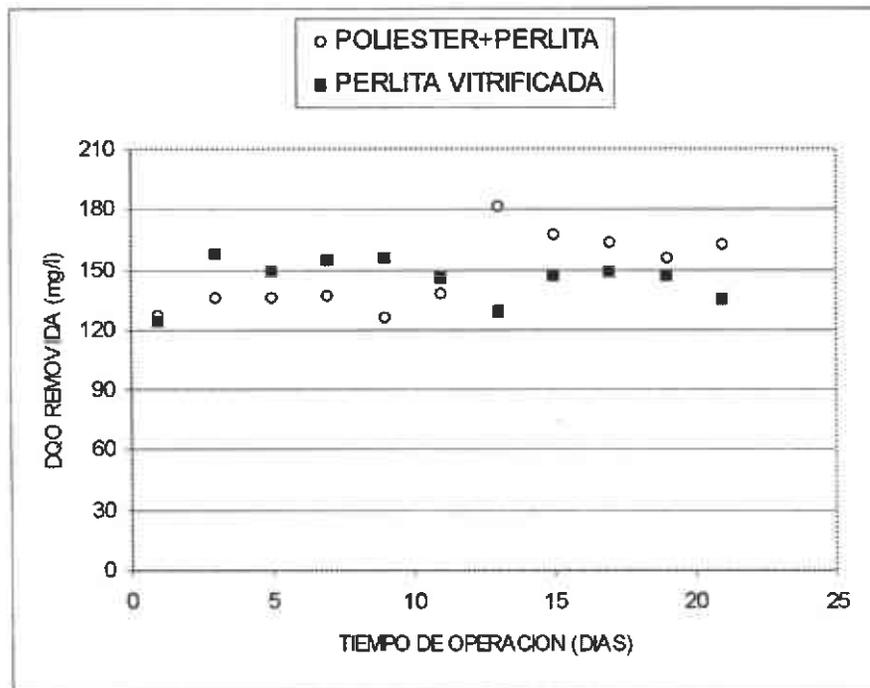


Figura 17. Eficiencia en la remoción de DQO en un reactor trifásico de lecho fluidizado con dos materiales de soporte. Los valores son promedios de 11 corridas (B1-B2, C1-C2, D1-D2: Poliéster+perlita; C3-C5, D3-D5: Perlita vitrificada).

La figura 18 contiene los resultados sobre los cambios en la concentración de sólidos suspendidos volátiles en el reactor empacado con la mezcla de poliéster+perlita. Como puede observarse, las concentraciones de los sólidos

suspendidos volátiles obtenidos en las partículas del material de soporte, en la fase líquida del reactor (licor mezclado) así como en el efluente muestran una tendencia muy similar, tendiendo a incrementarse durante los primeros 15 días y alcanzando una estabilidad hacia el final del tiempo de operación del reactor.

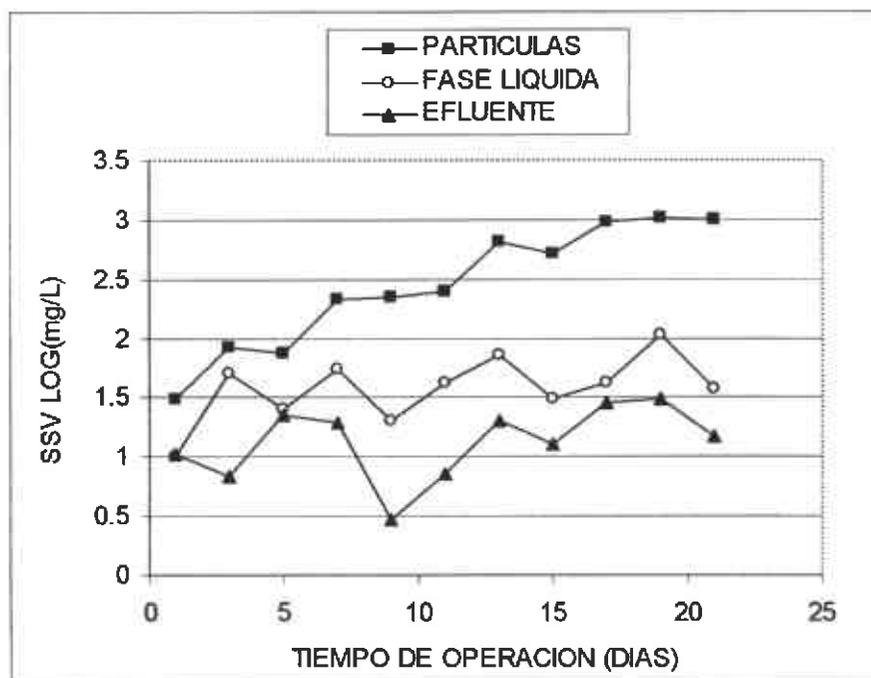


Figura 18. Cambios en la concentración de sólidos suspendidos volátiles en el reactor con lecho de poliéster+perlita. Los valores son promedios de dos corridas (D1-D2).

La mayor similitud en la tendencia de los sólidos suspendidos volátiles se observa entre las concentraciones de la fase líquida y el efluente del reactor. Cabe mencionar que las diferencias en las concentraciones de sólidos entre la fase líquida del reactor y el efluente del mismo se debe a que una parte importante de los sólidos generados en el reactor fueron colectados en un presedimentador (Figura 1), los cuales eran cotidianamente eliminados como purga cada cinco días. Obviamente, al tratarse de sólidos suspendidos no todos fueron eliminados en el presedimentador, de ahí su presencia en el efluente.

De la similitud en las tendencias de las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles se puede afirmar que prácticamente las mismas cantidades de sólidos volátiles que se producían en el reactor, y por lo tanto de biopelícula, eran eliminadas del reactor, contribuyendo a la estabilidad del sistema sin la necesidad de aplicar labores de lavado del lecho lo que significa una importante contribución al mejoramiento del desempeño de los reactores aerobios de lecho fluidizado. Comúnmente, el exceso de biomasa se elimina mediante agitación mecánica aplicando corrientes de agua a alta presión o aire comprimido dentro del reactor o bien, en un reactor complementario [Sutton y Mishra, 1990; Safferman y Bishop, 1996]. Lo anterior, además de mayores consumos de energía requeridos para el bombeo de agua y la compresión de aire, representa también una disminución en la eficiencia del reactor, dados los tiempos muertos que se presentan en cada ciclo de lavado.

De manera semejante al reactor con lecho de poliéster+perlita, en el reactor empacado con perlita vitrificada los sólidos suspendidos volátiles contenidos en las partículas del lecho, en la fase líquida y en el efluente mostraron tendencias similares entre sí (Figura 19). No obstante, destaca la menor concentración de este tipo de sólidos, observada en el reactor de perlita vitrificada, en comparación al empacado con poliéster+perlita. Lo anterior se constata estadísticamente en el anexo 7, el cual muestra diferencias significativas ($P < 0.05$) en el efecto que el material de soporte ejerció sobre la concentración de sólidos volátiles. En el mismo anexo también puede observarse un efecto altamente significativo ($P < 0.01$) respecto al tiempo de operación así como en la interacción del tipo de material empleado con el tiempo. Por lo tanto, se puede inferir que la cantidad de biomasa adherida al material de soporte fue altamente dependiente del tiempo y que la mezcla de poliéster+perlita mostró mayor capacidad de adhesión de biopelícula que la perlita vitrificada.

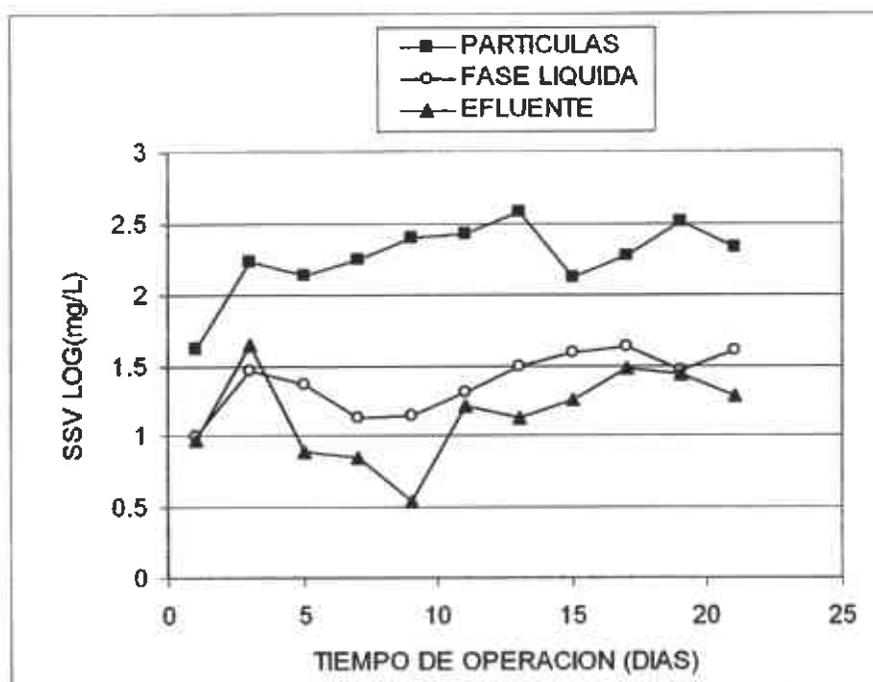


Figura 19. Cambios en la concentración de sólidos suspendidos volátiles en el reactor con lecho de perlita vitrificada. Los valores son promedios de dos corridas (D3-D4).

Además de las posibles diferencias superficiales entre los dos tipos de materiales, también se debe tomar en cuenta que, independientemente de la velocidad de fluidización inferida por la recirculación de la fase líquida, el hecho de haber tenido una mayor velocidad de recirculación en el lecho de perlita vitrificada pudo ser la causa de un mayor desprendimiento de biopelícula y por lo tanto de la diferencia en las concentraciones de sólidos volátiles en ambos tipos de materiales de soporte. Por otro lado, aunque estadísticamente no se encontraron diferencias en la remoción de la demanda química de oxígeno entre los materiales de soporte, las diferencias en términos descriptivos en la capacidad de remoción de materia orgánica puede atribuirse a las diferencias en la cantidad de sólidos volátiles encontrada en cada material de soporte. En relación a lo anterior, cabe mencionar que los sólidos suspendidos volátiles corresponden a lodos biológicos, constituidos por una población heterogénea de microorganismos, razón por la cual

son ampliamente utilizados como indicadores de crecimiento bacteriano [Ramalho, 1996; Tchobanoglous y Burton, 1996; Tsuneda *et al.*, 2002].

5.8 Observación microscópica de los materiales de soporte

Las micrografías de las biopartículas de los dos materiales de soporte evaluados, obtenidas mediante el microscopio electrónico de barrido, permitieron observar la presencia de importantes cantidades de bacterias desde los primeros cinco días de operación (Figuras 20 y 21). Durante esas primeras etapas de colonización, la fijación de bacterias se llevó a cabo principalmente en concavidades, grietas y en las partes más rugosas de la superficie de las partículas, donde la biopelícula se ve más protegida del efecto de recorte hidrodinámico causado por la fluidización del lecho [Massol-Deya *et al.*, 1995; Safferman y Bishop, 1996]. De acuerdo con Nicoletta *et al.*, [1997], la acumulación de biopelícula es el resultado de varios procesos como adsorción, adhesión, crecimiento y desprendimiento; el desprendimiento es causado por procesos ligados al movimiento del lecho como erosión y abrasión, así como por el recorte hidrodinámico [Liu y Tay, 2002].

Conforme transcurrió el tiempo de operación, la colonización se extendió cubriendo casi la totalidad de la superficie de las partículas de poliéster+perlita a 40 días del inicio de la operación del reactor (Figura 20). A 20 días del inicio de la corrida experimental, en las partículas de perlita vitrificada se observa que la colonización por bacterias continuó llevándose a cabo principalmente en grietas y concavidades, quedando sin colonizar las partes más expuestas como protuberancias y superficies lisas (Figura 21). En dichas figuras destacan también diferencias importantes en la superficie de ambos materiales de soporte. En la figura 20 puede observarse que la mezcla de poliéster+ perlita presenta una superficie más irregular, con concavidades numerosas y pequeñas a diferencia de la perlita vitrificada cuya superficie está mayormente constituida por cráteres de entre 50 y 200 μm de diámetro así como por la presencia de importantes áreas de

superficie lisa (Figura 21).

Aparte de las características superficiales del material de soporte, otro aspecto importante acerca de la distribución de las bacterias sobre las partículas es el carácter segregacionista de las mismas. Como puede observarse en la figura 22, correspondiente a la mezcla de poliéster+perlita, existen áreas bien definidas con presencia de bacterias de forma esférica (cocos) o de forma cilíndrica (bacilos y espirilos) pero nunca aparecen mezcladas. De hecho, resulta fácil identificar los límites entre una y otra comunidad, existiendo así mismo extensas áreas de la partícula en que sólo están presentes bacterias esféricas, sobre todo en aquellas áreas de biopelícula mas gruesa, formada por capas múltiples de bacterias.

Contrastando con lo observado en las partículas de poliéster+perlita, en las partículas de perlita vitrificada predominaron las bacterias de forma cilíndrica, principalmente bacilos y espirilos (Figura 23). En relación al tipo de bacterias predominantes en sistemas de tratamiento de aguas residuales, la literatura señala que los principales factores determinantes son la composición química de las aguas residuales, la temperatura, el oxígeno disuelto y el pH del agua [Brock, 1993; Tchobanoglous y Burton, 1996]. Las condiciones de temperatura y concentración de oxígeno disuelto fueron prácticamente iguales para los dos materiales de soporte. A pesar de que hubo ciertas diferencias en cuanto al pH de la fase líquida de ambos materiales de soporte, los cambios observados en el transcurso del estudio no mostraron una tendencia definida que pudiera explicar la diferencia en el tipo de bacterias, ya que en ciertas etapas el pH del poliéster+perlita era más alto pero en otras era superado por el de la perlita vitrificada.

El principal efecto del pH estuvo relacionado con la menor presencia de sólidos, ya que en el efluente la diferencia del pH entre ambos materiales fue mínima al igual que la concentración de sólidos suspendidos volátiles. Una diferencia importante en las condiciones de operación fue la mayor velocidad de

recirculación de la fase líquida aplicada a la perlita vitrificada y quizá este fue el factor determinante de las diferencias en el tipo de bacterias presentes en ambos materiales de soporte. En ese sentido, se ha encontrado que la estructura de las biopelículas se altera bajo diferentes regímenes hidrodinámicos. Bajo un flujo laminar, las biopelículas forman parches de agregados de células rugosas y redondas; en flujos turbulentos, las células también se disponen en parches pero su forma es mayormente elongada [Stoodley *et al.*, 1998].

La figura 24 muestra la presencia de exopolisacáridos, compuestos que como ya se señaló anteriormente, son fundamentales para la colonización inicial de las partículas pero también para la formación de las diferentes capas de bacterias conforme la biopelícula se va tornando más gruesa con el transcurso del tiempo. Así mismo puede observarse que los exopolisacáridos constituyen también un vínculo de unión entre bacterias, contribuyendo a su retención en biopelículas gruesas, formadas por capas múltiples de bacterias [Costerton *et al.*, 1978; Massol Deyá *et al.*, 1995; Kachanly *et al.*, 2001; Prouty *et al.*, 2002].

En la figura 25 aparece la estructura de la biopelícula pudiéndose observar que ésta está constituida por diferentes capas de bacterias, en la que exopolisacáridos forman una película a la que se adhieren las bacterias. No obstante, como puede observarse en la misma figura, dicho película no forma una estructura compacta sino que se aprecia la presencia de aperturas que se continúan en forma de canales hacia el interior de la biopelícula, resultando fundamental para la difusión de oxígeno y nutrientes para las bacterias que se localizan en las capas inferiores de la biopelícula [Massol Deyá *et al.*, 1995]. De hecho, en las etapas más avanzadas de edad de la biopelícula, las capas de exopolisacáridos no pueden ser apreciadas, ya que aparecen cubiertas por una densa capa superior de bacterias (Figura 26).

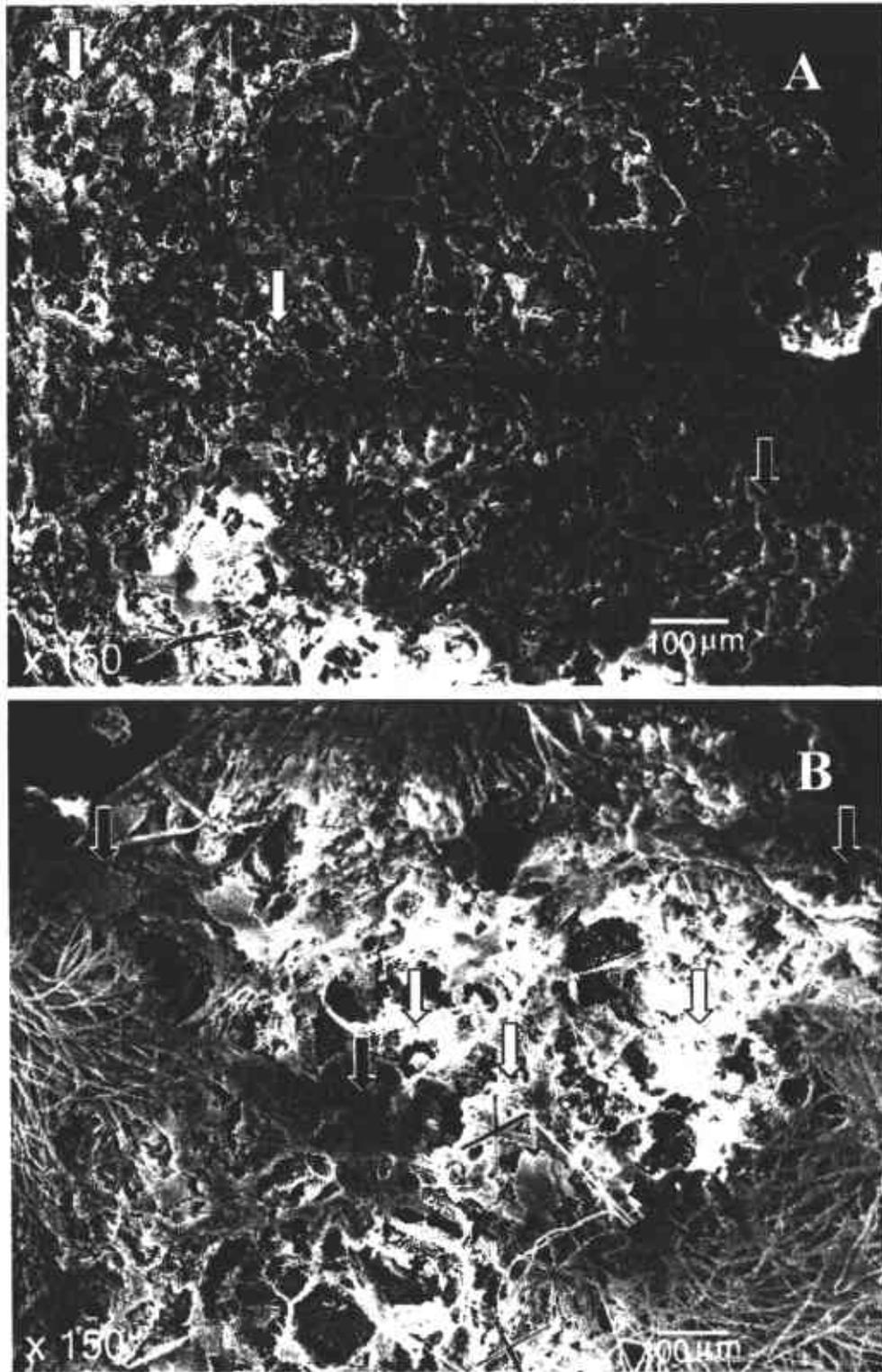


Figura 20. Micrografías de las partículas de poliéster +perlita con presencia de bacterias. A 5 días de operación; B 40 días de operación. Flechas blancas y negras representan áreas con y sin bacterias, respectivamente.

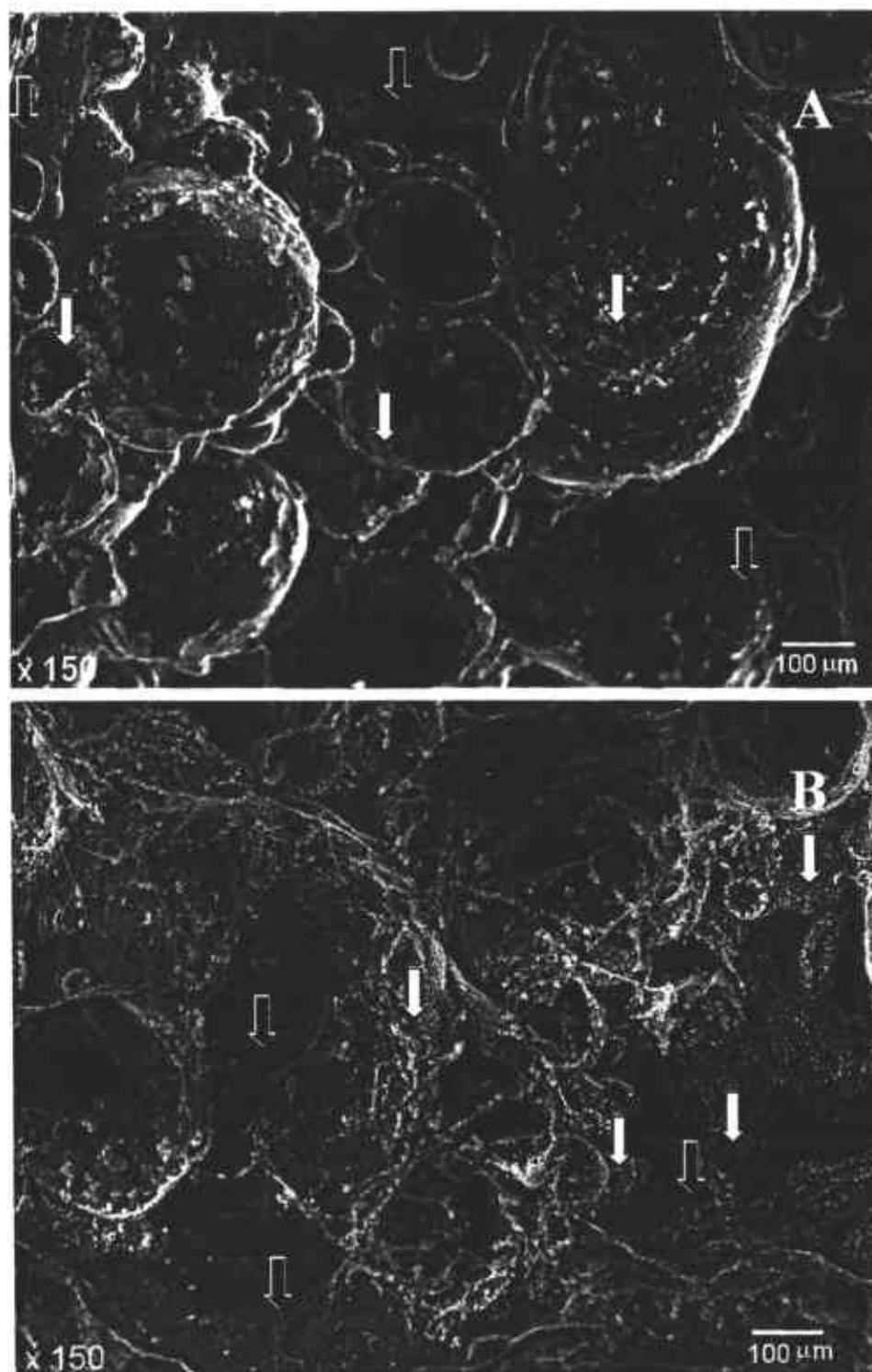


Figura 21. Micrografías de las partículas de perlita vitrificada con presencia de bacterias. A 5 días de operación; B 20 días de operación. Flechas blancas y negras indican áreas con y sin bacterias, respectivamente.

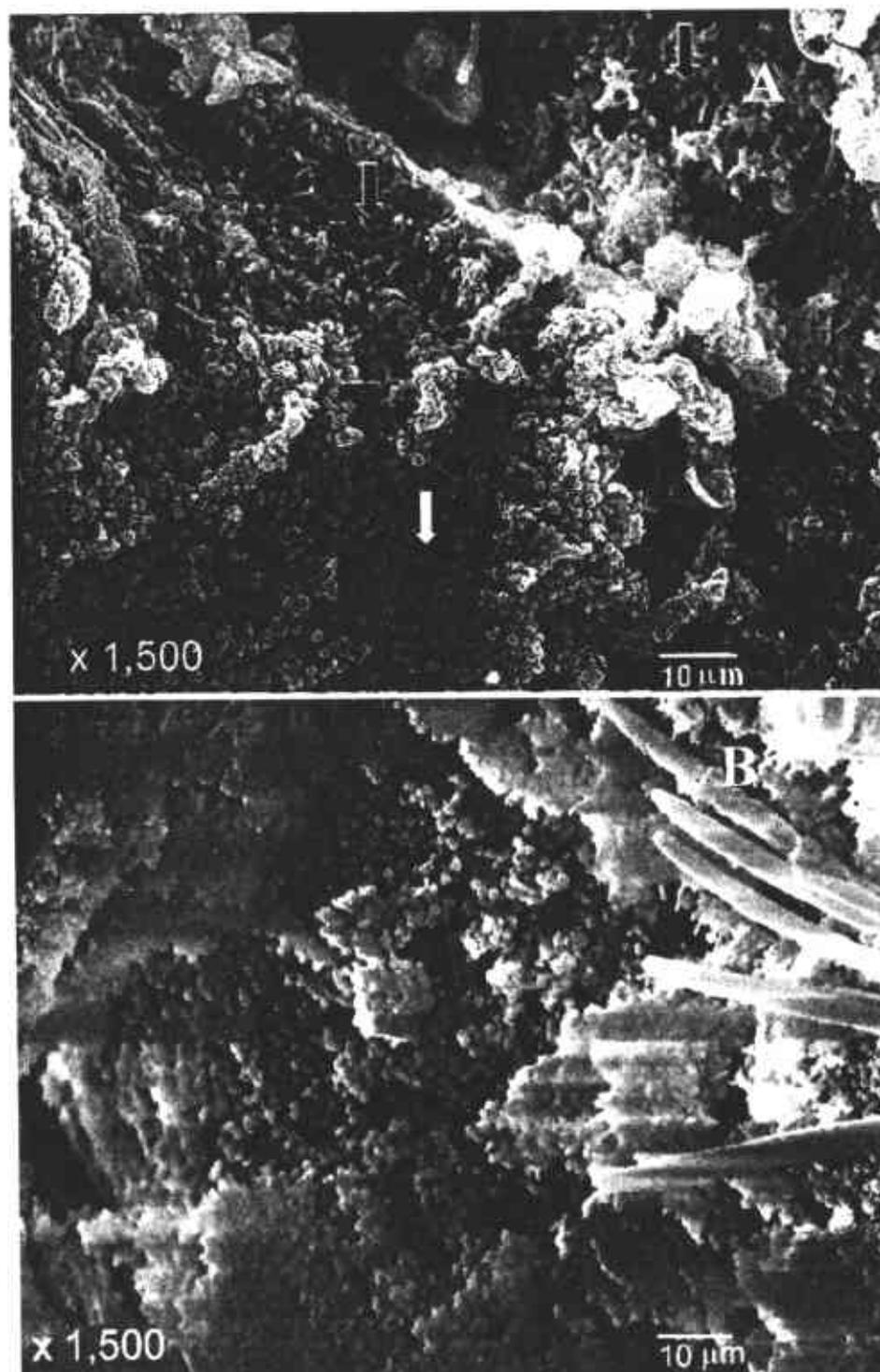


Figura 22. Micrografías de partículas de poliéster+perlita colonizadas por bacterias. A Flechas blancas y negras indican comunidades de cocos y bacilos, respectivamente. B biopelícula gruesa constituida por bacterias esféricas.

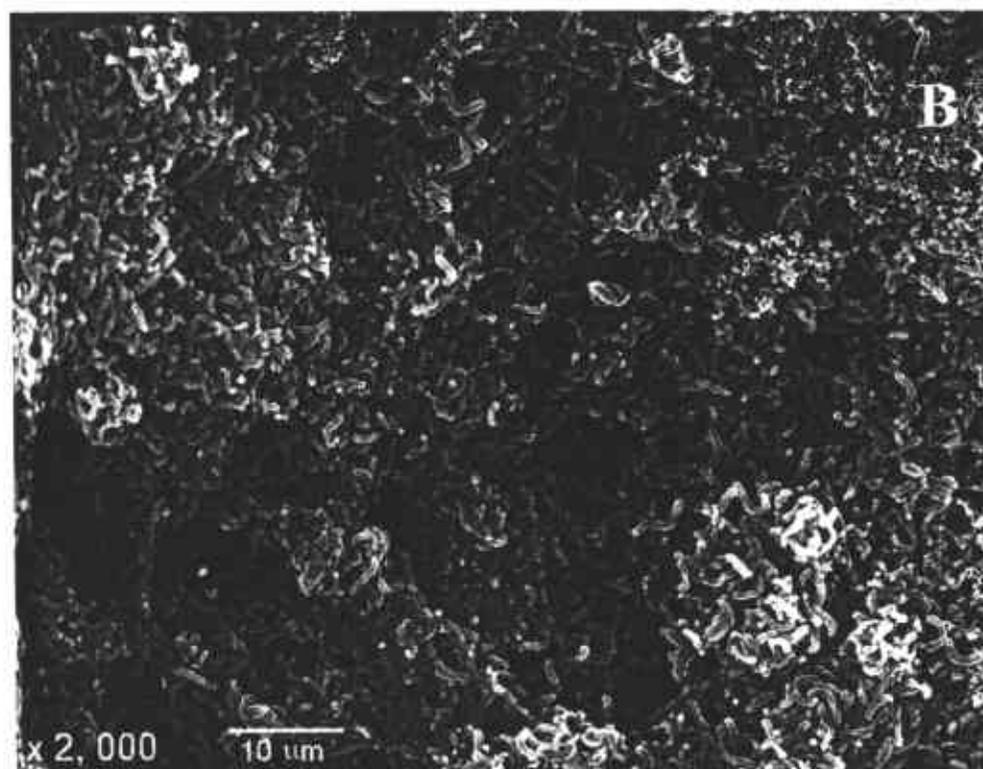
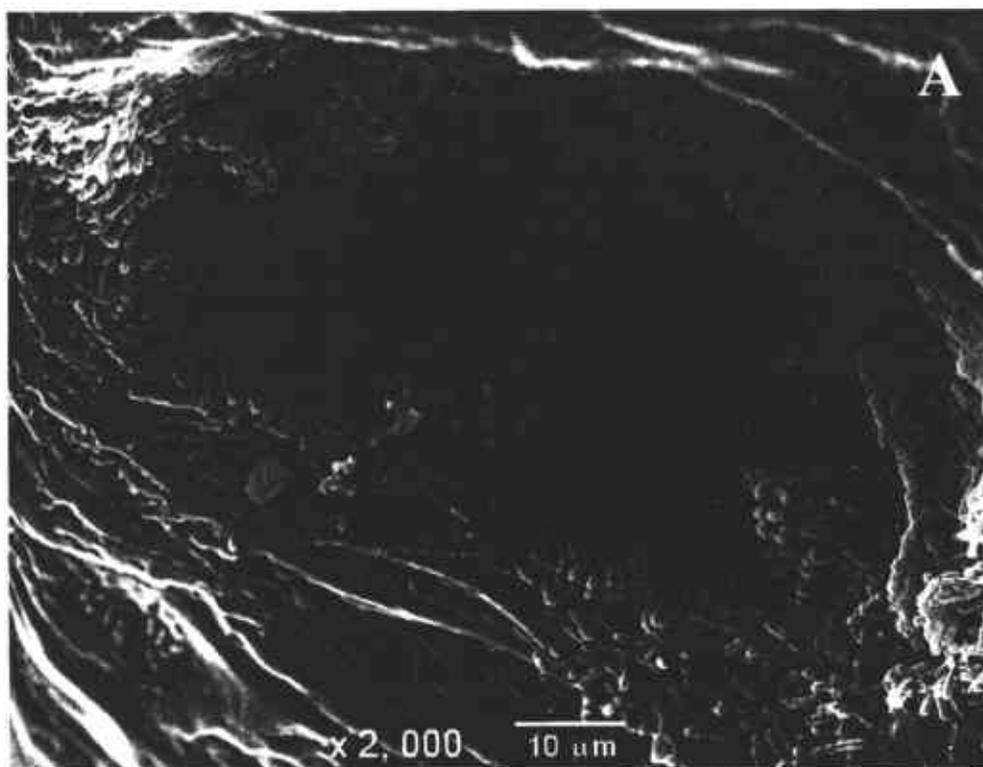


Figura 23. Micrografías de partículas de perlita vitrificada colonizadas predominantemente por bacilos y espirilos. A 5 días de operación; B 10 días de operación.

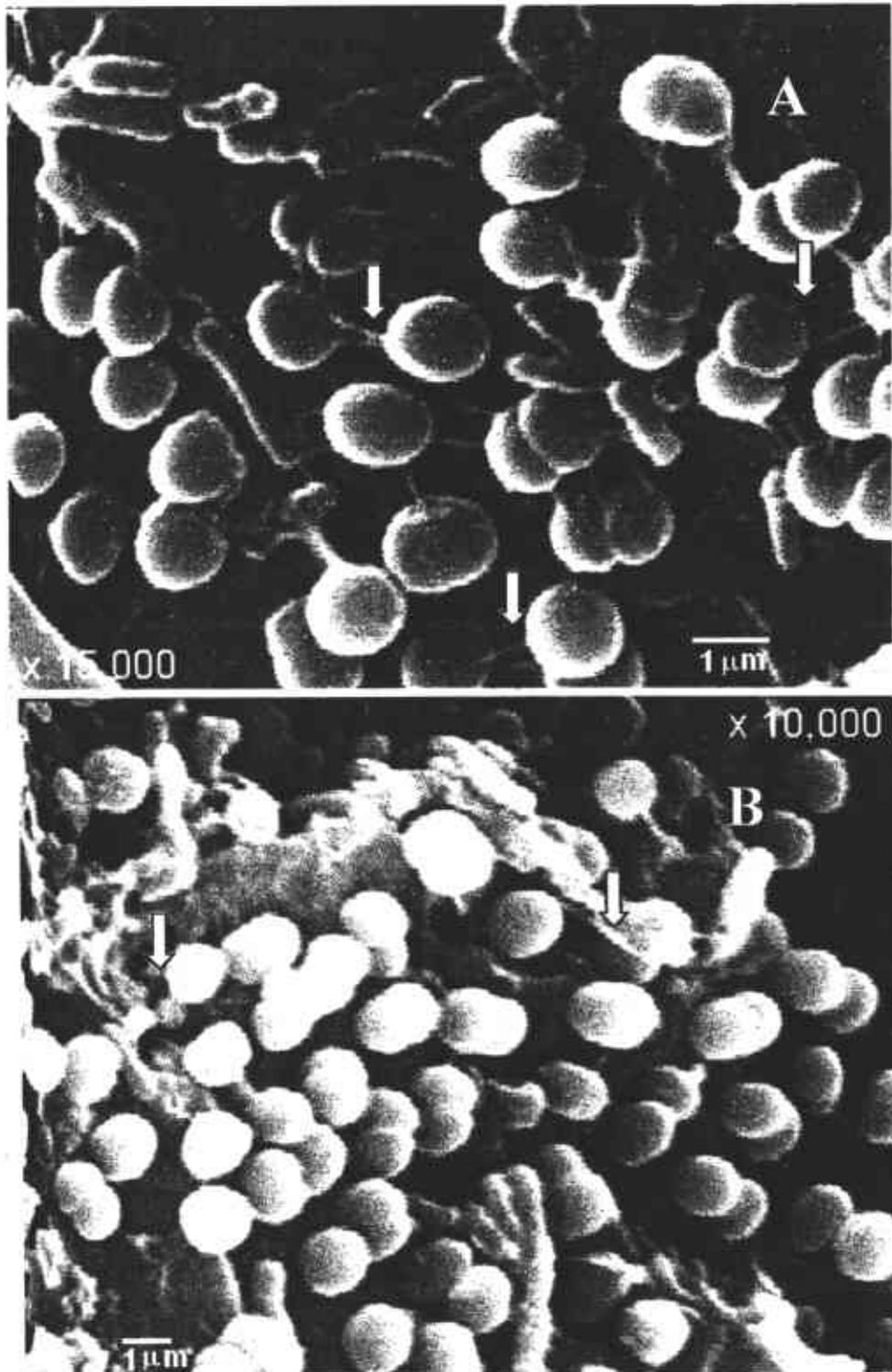


Figura 24. Micrografías de las partículas de poliéster+perlita mostrando la presencia de exopolisacáridos que favorecen la adhesión de bacterias al material de soporte. A 20 días de operación; B 25 días de operación.

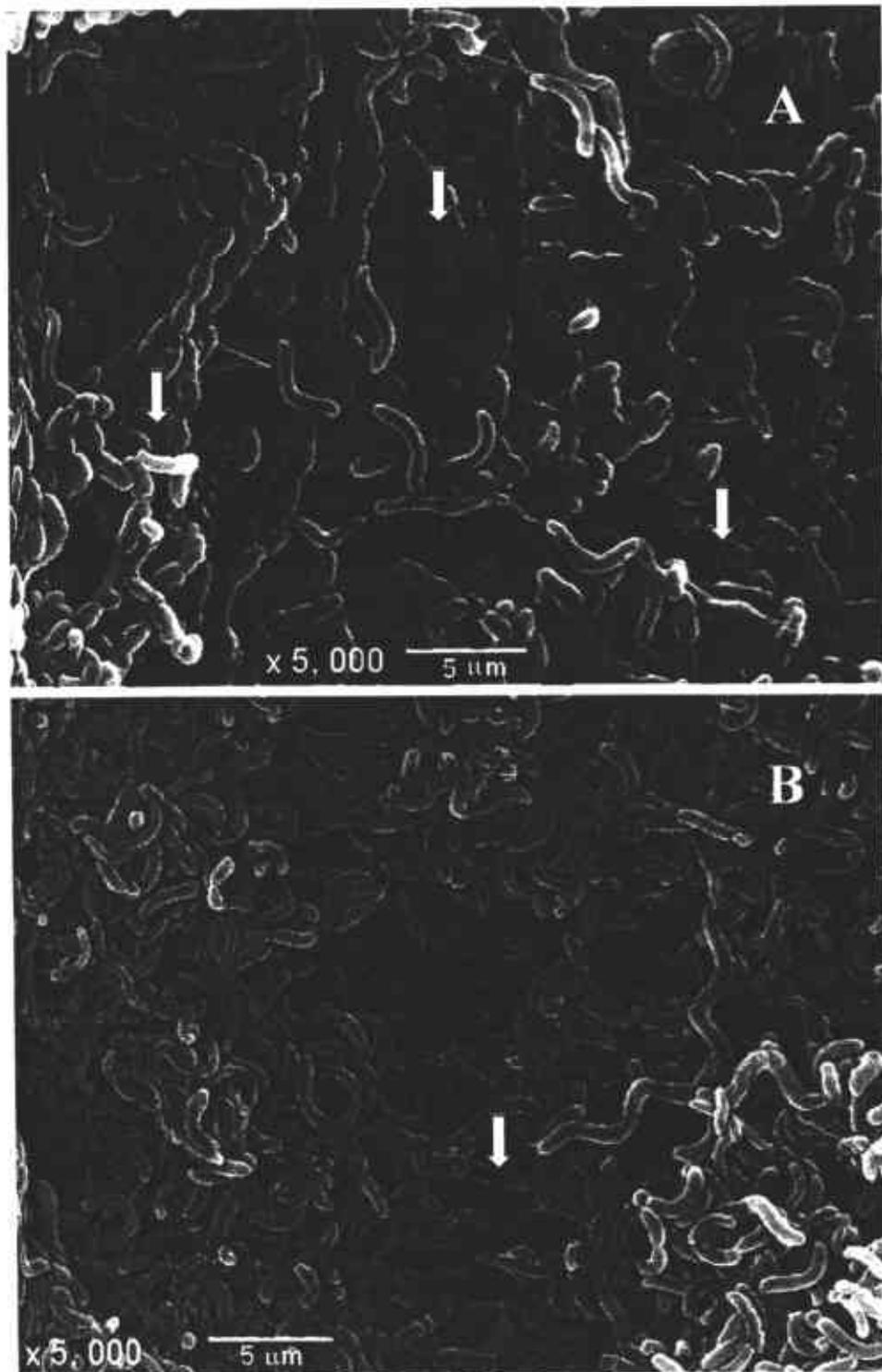


Figura 25. Micrografías de las partículas de perlita vitrificada. A estructura multicapa polisacáridos-bacterias-polisacáridos. B los polisacáridos forman también un vínculo de unión entre bacterias.

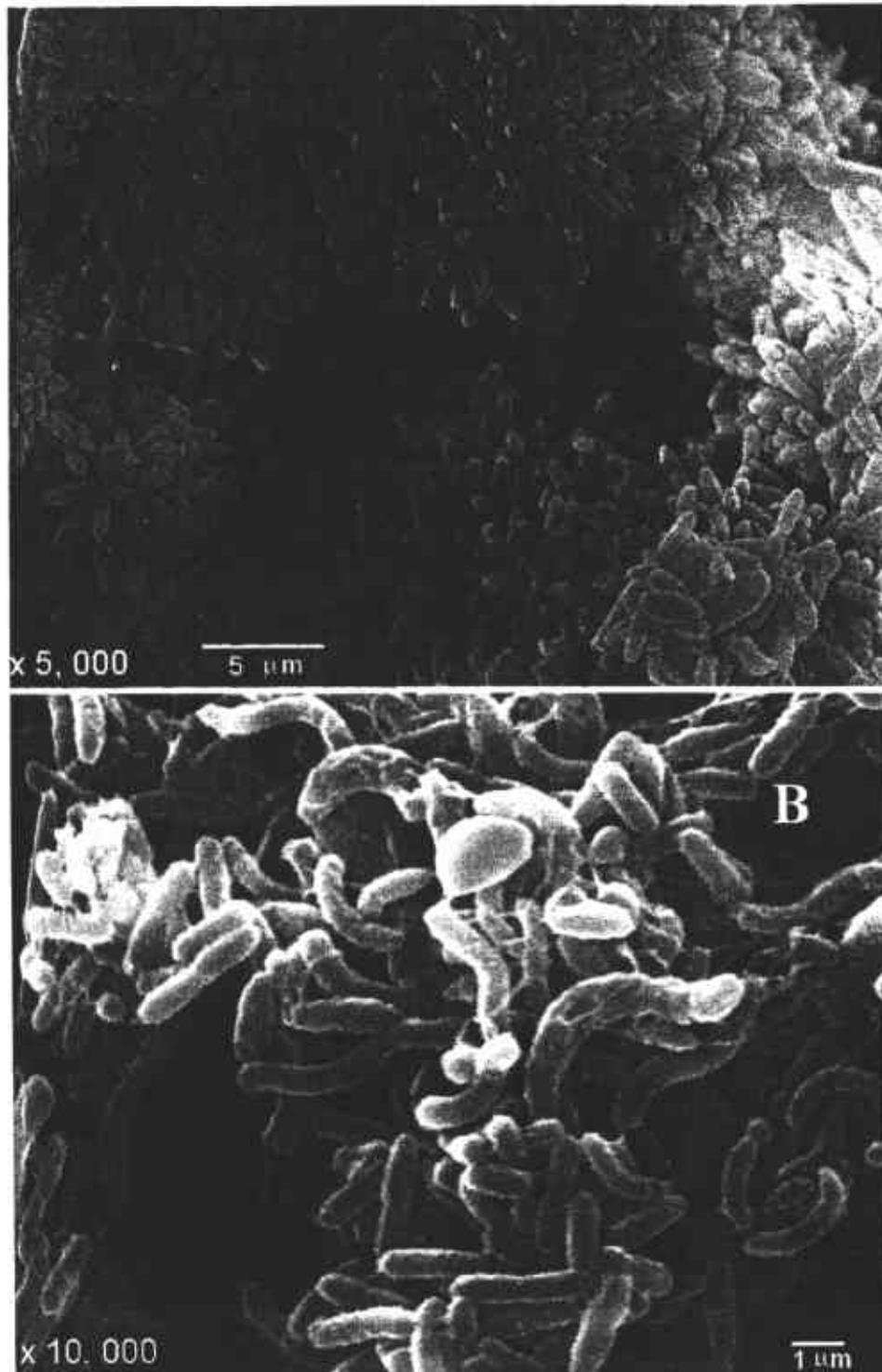


Figura 26. Micrografías de las partículas de perlita vitrificada. A, B en etapas avanzadas de desarrollo de la biopelícula se forma una capa superior de bacterias.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

El reactor aerobio de lecho fluidizado evaluado en el presente proyecto de Tesis Doctoral ha probado ser efectivo para el tratamiento de aguas residuales sintéticas con una concentración en la demanda química de oxígeno de entre 200 y 300 mg L⁻¹.

El medio de soporte hecho a base de poliéster + perlita resultó eficiente para la fijación de microorganismos degradadores de materia orgánica.

La adición de la perlita al poliéster, además de contribuir en el ajuste de la densidad, propició también la obtención de una superficie rugosa, con abundante porosidad y formación de grietas, requisitos indispensables para conseguir una adecuada fijación de microorganismos.

La baja densidad del material de soporte desarrollado favoreció la fluidización del lecho con velocidades de recirculación de la fase líquida por debajo de las requeridas para la fluidización de la arena sílica o el carbón activado y aún para materiales de densidad similar a las del presente estudio.

A pesar de haber mostrado una menor capacidad de fijación de biopelícula, el uso de la perlita vitrificada como material de soporte permitió niveles de remoción de materia orgánica similares en comparación a la de la mezcla de poliéster + perlita.

El régimen de fluidización obtenido propició la colisión entre las partículas del lecho, resultando el mecanismo clave para el desprendimiento de la biopelícula en dichas partículas.

El sistema de transferencia de biomasa implementado en el reactor contribuyó a la obtención de un adecuado balance entre los procesos de fijación y eliminación de biomasa, permitiendo la operación continua del reactor sin la necesidad de efectuar retrolavados del lecho.

La información experimental generada en el presente trabajo constituye una base de datos fundamental para el escalamiento y diseño de un reactor aerobio de lecho fluidizado a escala comercial.

La pretensión de elevar los niveles de eficiencia alcanzados experimentalmente deberá contemplar la manipulación de condiciones de operación como la altura estática del lecho, el tiempo de retención hidráulica o la concentración de biomasa en el reactor.

El incremento en la concentración de biomasa en el reactor puede obtenerse disminuyendo la velocidad de fluidización o incrementando el área superficial del lecho, mediante la utilización de partículas de menor tamaño.

6.2 Recomendaciones

Se recomienda estudiar el desempeño del reactor a una escala comercial, empleando las partículas de poliéster + perlita como material de soporte y tratando aguas residuales reales, haciendo un énfasis particular sobre la continuidad de

operación del reactor así como en los costos de operación del sistema.

Se propone complementar las determinaciones de indicadores de crecimiento biopelicular con el monitoreo de variables indicadoras de actividad microbiana como oxígeno disuelto y dióxido de carbono, a mayores niveles de precisión de los que las técnicas tradicionales lo permiten, con el propósito de estudiar de una manera mas fidedigna la relación cuantitativa entre el crecimiento biopelicular y la eficiencia del sistema.

Se sugiere complementar los estudios de crecimiento de la biopelícula con la determinación de las propiedades electrostáticas y de tensión superficial de los materiales de soporte evaluados.

Con el fin de estudiar de una manera más precisa la eficiencia de los diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales, en particular los reactores aerobios de lecho fluidizado, se plantea la necesidad de discriminar cuantitativamente los componentes de la demanda química de oxígeno contenida en el efluente como son la materia orgánica residual, la biomasa y los metabolitos derivados de la actividad microbiana.

Dado su bajo costo, por ser un subproducto de la industria de producción de perlita expandida, se plantea la posibilidad de utilización de la perlita expandida como material de soporte en otros sistemas de tratamiento de aguas residuales como biorreactores o filtros percoladores.

BIBLIOGRAFIA

Alexander, M. Microbial Communities and Interactions. En: Manual of Environmental Microbiology. Hurst, Ch.J. (Editor). ASM Press, Washington, D.C. 1997. pp. 5-13.

APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd Edition. 1992. U.S.A. pp. 183-191; 193-198.

APHA/AWWA/WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater., 17th Ed., American Public Health Association/American Water Works Association/ Water Pollution Control Federation, Washington, D.C., U.S.A., pp. 2.78-2.88 (1989).

Arvin, E., and P. Harremoës. "Concepts and Models for Biofilm Reactor Performance." Water Science and Technology. Vol.22, No. 1/2, 1990. London, pp. 71-76.

Asano, T., R.G. Smith, and G. Tchobanoglous. Municipal Wastewater: Treatment and Reclaimed Water Characteristics. En: Pettygrove, G.S., and T. Asano.. Irrigation with Reclaimed Municipal Wastewater. A Guidance Manual. 1985, pp. 2.11.

ASCE. Design of Municipal Wastewater Treatment Plants. American Society of Civil Engineers. Water Environment Federation. New York. 1992. 829 p.

Atlas R.M. Handbook of microbiological Media. L.C. Park (Editor). CRC Press. U.S.A. 1997, pp. 1256-1267; 1307-1458.

Ayres, R.M., and D. Duncan, M. Analysis of Wastewater for Use in Agriculture. A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques. Word

Health Organization. Geneva, Italy. 1996. pp. 3-31.

Bakke, R., R. Kommendal S., and S. Kalvenes. Quantification of Biofilm Accumulation by an Optical Approach. *Journal of Microbiological Methods*. Vol. 44, 2001, pp. 13-26.

Belkhadir R., Capdeville B., and Roques H. Etude fondamentale des biomasses fixes: description et modelisation des films biologiques anaérobies. 1988. Citado por: Tavares, C.R.G., Sant'Anna, G.L., Jr., Capdeville, B. "The Effect of Air Superficial Velocity on Biofilm Accumulation in a Three-Phase Fluidized-Bed Reactor". *Wat. Res.* 29, No. 10. 1995, pp. 2293-2298.

Ben Omar N. and Ampe F. Microbial community dynamics during production of the Mexican fermented maize dough pozol. *Applied Environmental Microbiology*. 66, No. 6. 2000, pp. 3664-3673.

Berger, B.B. *Control of Organic Substances in Water and Wastewater*. Noyes Data Corp. Park Ridge, New Jersey, U.S.A. 1987. pp. 5-8.

Bernardes, R.S., and A. Klapwijk. Biological nutrient removal in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Water Science and Technology*. Vol. 33, 1996. pp. 29-38.

Bignami L., Eramo B., Gavasci R., Ramadori R. and Rolle E., Modelling and experiments on fluidized-bed biofilm reactors. *Water Science and Technology*. Vol. 24, 1991. pp. 47-58.

Brock, T.D. *Microbiología*. 6ª Edición, traducida por J. Bonilla T. Prentice May. México. 1993. 956 p.

Burden, D.W., and D.B. Whitney. *Biotechnology: Proteins to PCR*. First Edition.

Birkhauser, Boston. 1995, pp. 54-57.

Caldwell, E.D., G.M. Wolfaardt, D.R. Korber, and J.R. Lawrence. Cultivation of Microbial Consortia and Communities. En: Manual of Environmental Microbiology. Hurst, Ch.J. (Editor). ASM Press, Washington, D.C. 1997. pp. 79-90.

Campos, A.D.F. Procesos del Ciclo Hidrológico. Universidad Potosina. San Luis Potosí, México, 1992. 221 p.

Carlson, K.H., and Amy, G.L. BOM Removal During Biofiltratio". J. AWWA. Vol. 90, No. 12. 1998, pp. 42-52.

Chang, H.T. B.E. Rittman. D. Amar, R. IEM, O. Ehlinger and Y. Lesty. Biofilm detachment mechanisms in a liquid fluidized bed. Biotechnology and Bioengineering. Vol. 38. 1991. pp. 499-506.

Characklis, W.G., Trulear M.G., Bryers J.D., and Zelven N. Dynamics of Biofilm Processes: Methods. Water Research, Vol. 16, 1982, pp. 1207-1216.

Chen, J.M., Hao O.J., Al-Ghusain I.A., and Lin Ch.F. Biological Fixed-Film Systems. Water Environment Research, Vol. 67, No. 4, 1995, pp. 450-458.

Cheremisinoff, N.P. Biotechnology for Waste and Waste Water Treatment. Noyes Publications, Westwood, New Jersey, U.S.A. 1996. 231p.

Chou, C.C. Polychlorinated biphenyls in San Diego Coastal Fish. Symposium of the American Society of Chemistry, Division of Environmental Chemistry. T. Mill (Ed). Orlando, Fl., April 7-11, 2002, Vol. 42, No. 1. pp. 284-285.

Comisión Nacional del Agua. Manual Técnico para el Uso, Aprovechamiento y

Manejo de Aguas Residuales en Riego Agrícola. SARH. México, junio de 1990, 10 pp.

CONAZA. 1994. Plan de acción para combatir la desertificación en México. Conaza - Sedesol - FAO. Saltillo, Coah. 160 p.

Costerton, J.W., Geesey G.G., and Cheng, K.J. How Bacteria Stick? *Scientific American*. Vol. 238. 1978, pp. 86-95.

Costerton, J.W., Z. Lewansowski, D. De Beer, D. Caldwell, D. Korber, and G. James. Biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology*. Vol. 176, 1994, pp. 2137-2142.

Cross, L.F., Jr, and R. Robinson. Infectious Waste. En: Freeman, H.M. (Editor). *Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal*. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 4.35.

Davey, M.E., and G.A. O'Toole. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiological And Molecular Reviews*. Vol. 64, No. 4, 2000, pp. 847-867.

De Marsily, G. *Quantitative Hydrology: Groundwater Hydrology for Engineers*. Academic Press. Orlando, Fl., U.S.A., 1986. 440 p.

Dixo, N.G.H., M.P. Gambrill, P.F.C. Catunda, and A.C. Van Haandel. Removal of pathogenic organisms from the effluent of an upflow anaerobic digester using waste stabilization ponds. *Water Science and Technology*. Vol. 31, 1995. pp. 275-284.

- Dorian, G. Household Hazardous Wastes. En: Freeman, H.M. (Editor). Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 4.53.
- Dubois, M., K.A. Giles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry. Vol.28, No. 3. 1956, pp. 350-356.
- Dykstra, M.J. A Manual of Applied Techniques for Biological Electron Microscopy. Plenum Press. New York. 1993. 257 p.
- Enciclopedia de la ciencia y de la técnica. Agua. Editorial Océano-Danae. 1980. pp. 110-115.
- Espósito, M.P. Dioxine Wastes. En: Freeman, H.M. Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal. Mc Graw-Hill. New York. 1989. pp 4.25 - 4.34.
- Fifield, F. W. and P. J. Haines. 1995. Environmental Analytical Chemistry. Chapman and Hall Press. Glasgow, U. K.
- Fox, P., M.T. Suidan, and J.T. Bandy. A Comparison of Media Types in Acetate Fed Expanded-Bed Anaerobic Reactors" Water Research. Vol. 24, No. 7. 1990. London, pp. 827-835.
- Freeman, H.M. (Editor). Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 4.1- 4.59.
- Grady, C.P.L. Jr., and H.C. Lim. Biological Wastewater Treatment. Theory and Applications. Marcel Dekker, Inc. New York. 1980. pp. 3-5.

- Hamilton, D.L., Brockman, R.P., and Kniper, J.E. The agricultural use of municipal sewage. *Canadian Journal of Physiology Pharmacology*. 1984, Vol. 62. pp. 1049-1055.
- Heath, C.W. Health Effects of Hazardous Waste. En: Freeman H. M. (Editor). *Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal*. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 3.17.
- Hoye, L.R., and S.J. Hubbard. Mining Industry Waste. En: Freeman H. M. (Editor). *Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal*. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 4.47.
- Hunter, P.R., M. Waite, and E. Ronchi. *Drinking Water and Infectious Disease*. CRC Press. Washington, D.C., U.S.A. 2002. pp. 105-117.
- Hurst, Ch.J. Introduction to Environmental Microbiology. En: *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, Ch.J. (Editor). ASM Press, Washington, D.C. 1997. pp. 3-4.
- INEGI. Atlas Nacional del Medio Físico. 1988.253 p.
- Jeris, J. S., R. W. Owens, R. Hickey, and F. Flood. Biological fluidized-bed treatment for bod and nitrogen removal. *Journal of Water Pollution Control Federation*.1977. pp. 816-831.
- Jiménez, B., E. Becerril, and I. Scola. Denitrification in a Fluidized Bed System Using Low Cost Packing Material. *Environmental Technology*. Vol. 11. 1990. pp. 409-420.

- Kachlany, S.C., S.B. Lavery, J.S. Kim, B.L. Reuhs, L.W. Lion and W.C. Ghiorse. Structure and carbohydrate analysis of the exopolysaccharide capsule of *Pseudomonas putida* G7. *Environmental Microbiology*. Vol. 3. 2001. pp. 774-784.
- Kostyal, E., E.L. Nurmiäho-Lasila, J. Puhakka and M. Salkinoya-Salomen. Nitrification, denitrification and dechlorination in bleached kraft pulpmill wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 47. 1997. pp. 734-741.
- Larachi, F., I. Iliut, O. Rival, and B.P.A. Grandjean. Prediction of Minimum Velocity in Three- Phase Fluidized-Bed Reactors. *Industrial Engineering Chemistry. Res.* Vol. 39, No. 2. 2000, pp. 563-572.
- Leadbetter, R.E. Prokariotic Diversity: Form, Ecophysiology, and Habitat. En: *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, Ch.J. (Editor). ASM Press, Washington, D.C. 1997. pp. 14-24.
- Leenen, E.J.T.M., V.A.P. Dos Santos, K.C.F. Grolle, J. Tramper, and R.H. Wijffels. Characteristics and Selection Criteria for Support Materials for Cell Immobilization in Wastewater Treatment. *Water Research*. Vol. 30, No. 2. 1996, pp. 2985-2996.
- Levin, M. y M.A. Gealt. *Biotratamiento de Residuos Tóxicos y Peligrosos*. MCGraw-Hill. México. 1997. pp. 1-2.
- Lewandowski, Z., S.A. Altobelli, and E. Fukushima. NMR and microelectrode studies of hydrodynamics and kinetics in biofilms. *Biotechnology Progress*. Vol. 9, 1993, pp. 40-45.

- Lewandowski, Z., D. Webb, M. Hamilton, and G. Harkin. Quantifying Biofilm Structure. *Water Science and Technology*. Vol.39, No. 7. 1999. London, pp. 71-76.
- Liu, Y., and J.H. Tay. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research*. Vol. 36. 2002. pp. 1653-1665.
- Madenjian, Ch. P., L.J. Schmidt, S.M. Chernyak, R.F. Elliot, T.J. Desorcie, R.T. Quintal, L.J. Beynoche, and R.J. Hesselberg. Variation in net trophic transfer efficiencies among 21 PCB congeners. *Environmental Science and Technology*. Vol. 33. 1999. pp. 3768-37773.
- Manaham, S.E. *Environmental Chemistry*. Sixth Edition. CRC Press Inc. Washington, D.C., U.S.A., 1994. pp. 181-220.
- Mara, D.D., and S.A. Silva. Removal of intestinal nematode eggs in tropical waste stabilization ponds. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. Vol. 89, 1986. pp. 71-74.
- Martínez, de C.I. J., L. del C. Velásquez, M.E. Escudero, M.I. Caffer, M. Fernández C., and A.M. Stefanini de M. *Salmonella* serotypes form surface waters in San Luis, Argentina. *Revista de Microbiología Sao Paulo*. Vol. 26, 1995. pp. 180-185.
- Massol_Deyá, A.D., J. Whallon, R.F. Hickey, and J.M. Tiedje. Channel Structures in Aerobic Biofilms of Fixed-Film Reactors Treating Contaminated Groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 61, No.2, Feb.1995, pp. 769-777.
- McCabe, M.M. Waste Oil. En: Freeman H. M. (Editor). *Standard Handbook of*

- Hazardous Waste Treatment and Disposal. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 4.1.
- McCleod, F.A., S.R. Guiot, and J.W. Costerton. Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. 56, 1990, pp. 1598-1607.
- McCoy, E.D. PCB Wastes. En: Freeman H. M. (Editor). *Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal*. McGraw-Hill. New York. 1988. pp. 4.3.
- Miller, G.T. *Ecología y Medio Ambiente*. 1ª: Edición en Español. Editorial Iberoamericana. México. 1994. 867 p.
- Mittelman, M.W. Laboratory Studies of Bacterial Biofilms. En: *techniques in Microbial Ecology*. Burlage, R.S., Atlas R., Stahl D., Geesey G., and Saylor G. (Editors). Oxford University Press. New York. 1998. pp. 337-338.
- Monod, J. The Growth of Bacterial Cultures. En: Tchobanoglous, G. y F.L. Burton. *Ingeniería de Aguas Residuales: Tratamiento, Vertido y Reutilización*. 3ª. Edición. Metcalf & Eddy, Inc., (Editores). McGraw-Hill. México. 1996, pp. 421-430.
- Nicolella C., Chiarle S., Di Felice R. and Rovatti M., Mechanisms of biofilm detachment in fluidized bed reactors. *Water Science and Technology*. Vol. 36, 1997. pp. 229-235.
- NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de los principales contaminantes para agua usada en riego agrícola. México.

- Norsker, N. H., P. H. Nielsen and T. Hvitved-Jacobsen. Influence of oxygen on biofilm growth and potential sulfate reduction in gravity sewer biofilm. *Water Science and Technology*. Vol. 31. 1995. pp. 159-167.
- Noyola, A. Tecnología aplicada al tratamiento del agua. *Revista Industria Tecnología Ambiental*. High Tech. Editores. Obregón Son., México. Pp. 5-6.
- Ochieng, A., T. Ogada, W. Sisenda, and P. Wambua. Brewery wastewater treatment in a fluidized bed bioreactor. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 90, 2002. pp. 311-321.
- Parker, S.P. and R. A. Corbitt. *Encyclopedia of Environmental Science & Engineering*, 3rd. edition. Mc. Graw Hill. U.S.A. 1993. 749 p.
- Pettygrove, G.S., and T. Asano. *Irrigation with Reclaimed Municipal Wastewater. A Guidance Manual*. 1985. pp. 2-11.
- Piciooreanu, C., M. C. Van Loosdrecht and J. J. Heijnen. Modelling the effect of oxygen concentration on nitrite accumulation in a biofilm airlift suspension reactor. *Water Science and Technology*. Vol. 36, Num. 1. 1997. pp. 147-156.
- Prouty, A.M., W.H. Schwesinger and J.S. Gunn. Biofilm formation and interaction with the surfaces of gallstones by *Salmonella* spp. *Infection and Immunity*. Vol. 70. 2002. pp. 2640-2649.
- Puhakka, J.A., R.P. Herwig, P.M. Koro, G. Wolfe and J.F. Ferguson. Biodegradation of chlorophenolic compounds by mixed and pure cultures from a fluidized-bed reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 42. 1995. pp. 951-957.

Ramalho, R.S. Tratamiento de Aguas Residuales. Versión en Español por D.J. Beltrán, F. De Lora y R.S. Ramalho. Editorial Reverté. Barcelona, España. 1996. 705 p.

Rivas, L.B.A., G.V. Nevárez M., R.A. Saucedo T., and R.G. Bautista M. Simultaneous Aerobic and Anaerobic Degradation of Wastewater in a Fixed-Bed Reactor. En: *Ex situ* Biological Treatment Technologies. Proceedings of the Sixth International Symposium of *In Situ* and On-Site Bioremediation. Batelle Press. San Diego, CA. Vol. 6, 2000. pp. 361-368.

Ryhner G., S. Petrozzi, and I.J. Dunn. Operation of a Three-Phase Biofilm Fluidized Sand Reactor for Aerobic Wastewater Treatment. *Biotechnology and Bioengineering* .Vol. 32. 1988, pp. 677-688.

Safferman, S.I., and P.L. Bishop. Aerobic Fluidized Bed Reactor With Internal Media Cleaning. *Journal of Environmental Engineering.*" Vol. 122, No. 4. April, 1996, pp. 284-291.

SAGAR. Prospectiva en el Agro y la Ganadería al Año 2025. Reunión Regional de Reflexión: Los Futuros de Largo Plazo del Sector Agropecuario de México 1997-2025. Abril 11, 1997. Monterrey, N. L.

Saucedo, M.L.R. La Calidad del agua y el uso de fertilizantes y plaguicidas en los Municipios de Delicias, Rosales y Meoqui del Estado de Chihuahua. Tesis de Maestría. Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. 1996. p. 18.

Schreyer, H.B., and R.W. Coughlin. Effects of Stratification in a Fluidized Bed Bioreactor During Treatment of Metalworking Wastewater. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 63, No. 2. 1999, pp. 129-140.

Servicio Meteorológico Nacional. Estadísticas de Precipitación y almacenaje de agua en presas del Estado de Chihuahua. Comisión Nacional del Agua. Gerencia Estatal Chihuahua. Chihuahua, Chih., 2002.

Shieh, W. K., P. M. Sutton, and P. Kos. Predicting reactor biomass concentration in a fluidized-bed system. *Journal of Water Pollution Control Federation*. Vol. 53, 1981. pp. 1574-1584.

Siebe, C., and W.R. Fisher. Effect of Long Term Irrigation with Untreated Swage Effluents on Soil Properties and Heavy Metal Absorption of Leptosols and Vertisols in Central Mexico. *Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde*. Vol. 159, 1996. pp. 357-364.

Solórzano, M.A.I. Cuadernos de Vigilancia Biotecnológica. Tratamiento de aguas residuales de mataderos y de desechos pecuarios. Sollero, J.L. y R. Castañón (Editores). *CamBio Tec*. México, D.F., 1996. pp. 1-38.

Sperling, M. V. Comparison among the most frequently used systems for wastewater treatment in developing countries. *Water Science and Technology*. Vol. 33, 1996. pp. 59-72.

Stat Soft Inc. 2000. *Electronic Statistics Textbook*. Tulsa, OK. Stat Sofá WEB: <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>.

Stathis, T.C. Fluidized bed for biological wastewater treatment. *J. Environ. Engineer. Div.* 1980. pp. 227-241.

Stednick, J.D. *Widland Water Quality Sampling and Analysis*. Academic Press, Inc. San Diego, Ca. 1991. 217 p.

Steel, R.G.D. y J.H. Torrie. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. 2ª Edición, 1ª en Español. McGraw-Hill. México. 1988. 622 p.

Stewart, P.S., R. Murga, R. Srinivasan, and D. de Beers. Biofilm structural heterogeneity visualized by three microscopic methods. *Water Research*. Vol. 29, 1995. pp. 2006-2009.

Stoodley, P.J., D. Boyle, I. Dodds, and H.M. Lappin-Scott. Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. *Journal of Applied Microbiology Symp. Ser.* Vol. 85, 1998, pp. 19S-28S.

Stronach, S.M., M.C. Díaz-Baez, T. Rudd and N.J. Lester. Factors affecting biomass attachment during start up and operation of anaerobic fluidized beds. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 45. 1987. pp. 595-608.

Su J.J. B.Y. Liu and Y.C. Yang. Identifying an interfering factor on chemical oxygen demand (COD) determination in piggery wastewater and eliminating the factor by an indigenous *Pseudomonas stutzeri* strain. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. 33. 2001. pp. 440-444.

Sutton, P.M., and P.N. Mishra. Fluidized bed biological wastewater treatment: effects of scale-up on system performance. *Water Science and Technology*. Vol. 22. 1990. pp. 419-430.

Tavares, C.R.G., Sant'Anna, G.L., Jr., Capdeville, B. The Effect of Air Superficial Velocity on Biofilm Accumulation in a Three-Phase Fluidized-Bed Reactor. *Water Research*. 29, No. 10. 1995, pp. 2293-2298.

Tchobanoglous, G. y F.L. Burton. *Ingeniería de Aguas Residuales: Tratamiento, Vertido y Reutilización*. 3ª. Edición. Metcalf & Eddy, Inc., (Editores). McGraw-Hill. México. 1996, 752 p.

Trapaso, R.G.A. The optimal design of fluidized bed bioreactors. *Journal of Water Pollution Control Federation*. Vol. 57, 1995. pp. 143-150.

Trinet, F., Heim, R., Amar, D., and Chang, H. Study of Biofilm and Fluidization of Bioparticles in a Three-Phase Liquid Fluidized-Bed Reactor. *Water Science and Technology*. Vol. 23. London, 1991, pp.1347-1354.

Tsuneda, S., J. Auresenia, Y. Inoue, Y. Hashimoto, and A. Hirata. Kinetic model for dynamic response of three-phase fluidized bed biofilm reactor for wastewater treatment. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 10, 2002. pp. 31-37.

Tsuneda, S., H. Aikawa, H. Hayashi, A. Yuasa and A. Hirata. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesión onto solid surface. *FEMS Microbioloy Letters*. Vol. 223. 2003. pp. 287-292.

UNAM. 1990. Atlas Nacional de México. Instituto de Geografía. Vol. I - III.

Volk.,Ch.J., and M.W. Lechevallier. Impacts of the reduction of nutrient levels on bacterial water quality in distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 65, 1999. pp. 4957-4966.

Welch, E.B. *Ecological Effects of Wastewater. Applied Limnology and Pollutant Effects*. Second Edition. Chapman and Hall. London. 1992. 425 p.

White, D.C., H.C. Pinkart, and D.B. Ringelberg. Biomass measurements: Biochemical Approaches. En: *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, Ch.J. (Editor). ASM Press, Washington, D.C. 1997. pp. 91-101.

Winer, B.J. *Statistical Principles in Experimental Design*. 2nd Edition. McGraw-Hill. New York. 1971. pp. 261-305.

Wolman, A. Public health aspects of land utilization of wastewater effluents and sludges. *Water Pollution Control Federation*. Vol. 49, 1977. pp. 221-2218.

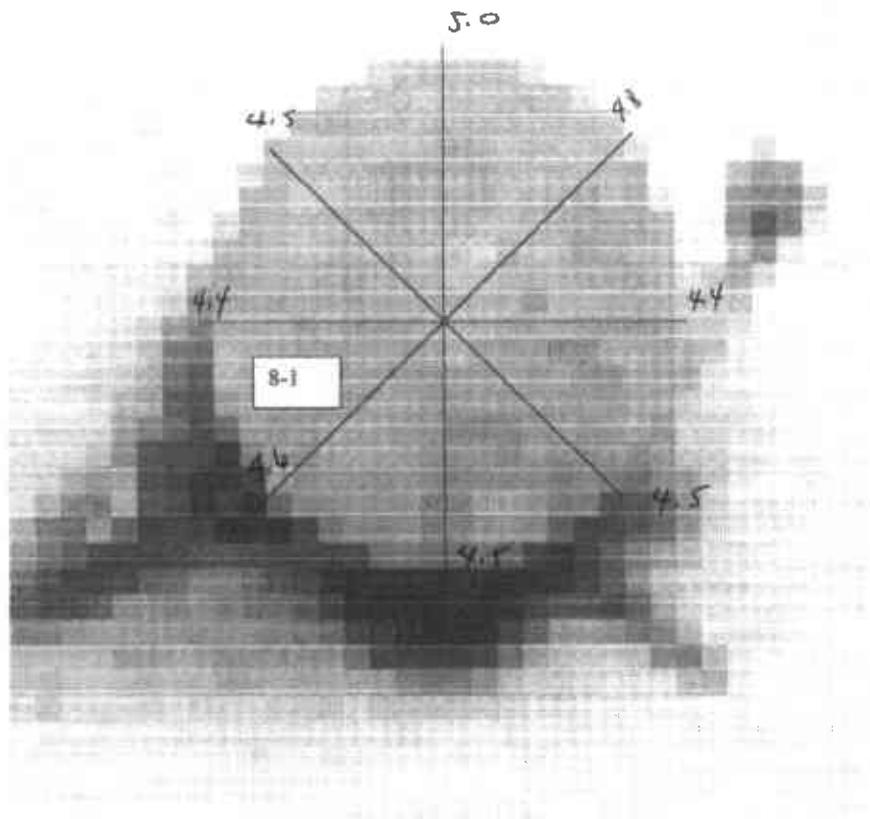
Xu, K.D., P.S. Stewart, F. Xia, Ch.T. Huang, and G.A. McFeters. Spatial Heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Is Determined by Oxygen Availability. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 64, No.10, Oct.1998, pp. 4035-4039.

Apéndice

Anexo 1. Imágenes de partículas de la mezcla de poliéster+perita empleadas para la determinación del grado de esferocidad. /



Anexo 2. Imagen magnificada de una partícula de la mezcla de poliéster+perlita en la que se midió la longitud de 8 segmentos radiales para determinar el grado de esfericidad.



Anexo 3. Parámetros estadísticos de la longitud de segmentos radiales trazados en imágenes digitalizadas de partículas de poliéster+perlita. La media del coeficiente de variación (cv) restada de 100 representa el grado de esfericidad ($100 - 7.1648 = 92.8352$)

1	2	3	4	5	6	7	8	media	ds	cv
5.1	5.4	5.4	4.9	5.4	5.4	5.4	5.4	5.3	0.19272	3.63631
4.6	4.4	4.1	4.3	4.8	4.8	4.5	5	4.5625	0.29730	6.51637
4.4	4.5	5.4	5.2	4.8	4.5	4.8	4.7	4.7875	0.35228	7.35850
4.8	4.5	5	5.3	5.3	4.7	4.8	4.5	4.8625	0.31594	6.49759
4.5	4.5	4.8	4.7	4.7	4.7	4.8	4.3	4.625	0.17525	3.78929
4.7	4.5	5	4.6	4.4	4.7	4.8	4.5	4.65	0.19272	4.14462
5.1	4.5	5.3	4.8	5.2	4.7	4.8	4.6	4.875	0.29154	5.98046
4.4	4.5	4.5	4.6	4.4	4.5	5	4.8	4.5875	0.21001	4.57802
4.9	4.8	5.1	5.2	5.2	5.3	5	4.6	5.0125	0.23566	4.70145
4.7	4.2	4.4	4.7	5	4.8	4.8	4.7	4.6625	0.25035	5.36958
5.1	4.4	4.5	4.8	5.4	4.4	4.4	4.6	4.7	0.37416	7.9609
3.7	4.1	4.8	4.9	4.3	4.2	5	4.4	4.425	0.44641	10.0884
4.1	3.4	3.4	4.9	4.8	3.8	3.6	4.4	4.05	0.6	14.8148
4	4	4.2	4.2	4.4	4.2	4.2	3.8	4.125	0.18325	4.44182
4.8	4.5	4.7	4.6	4.7	4.5	4.8	4.8	4.675	0.12817	2.74169
4.8	5.1	5.1	4	4.5	5.4	5.4	4.5	4.85	0.49280	10.1609
5	5.1	5.2	4.9	4.8	5.4	5.3	5.1	5.1	0.2	3.92156
4.2	4.7	5.1	4.9	4.9	4.5	5	4.9	4.775	0.29640	6.20747
4.5	4.3	4.6	4.7	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5125	0.11259	2.49527
4.5	4.3	4.8	5	5	4.7	5	4.8	4.7625	0.25599	5.37531
4.1	3.6	4.8	5	4.4	4.1	4.3	5.4	4.4625	0.57554	12.8973
3.6	4.7	5	4.1	3.7	4.5	5	3.7	4.2875	0.58903	13.7384
4.9	5.3	5.1	4.6	4.9	5.7	5	4.3	4.975	0.42342	8.51098
5.2	5.5	4.8	4.4	5.3	5.5	4.5	4.3	4.9375	0.49839	10.0939
4.7	4.7	5	4.9	4.5	4.1	4.5	4.6	4.625	0.27645	5.97745
4.7	5.6	5.1	4.3	4.9	5.1	4.1	4.4	4.775	0.49785	10.4262
5.9	4.7	5.1	5.5	5.5	5	4.6	5.9	5.275	0.50355	9.54613
5.1	5.6	5.2	4.8	5	5	4.9	4.4	5	0.34226	6.84522
5.4	5.2	5	5.2	5.7	5.7	5.1	5.2	5.3125	0.26423	4.97388
5.3	4.8	5.2	5.5	5.2	4.1	4.2	5.5	4.975	0.55484	11.1527

7.1648

Anexo 4. Variables operativas registradas durante las corridas experimentales con la mezcla de poliéster+perlita (B1-B2; C1-C2) y perlita vitrificada (C3-C5).

Corrida	Días	Turbidez	oxígeno disuelto	pH	Temperatura
poliéster B1	1	21	0.04	8	27.5
	3	49	0.04	7.7	26.3
	5	23	1.03	7.8	23.9
	7	32	0.93	7.8	23.9
	9	19	0.3	7.6	26.2
	11	37	1.15	7.9	25
	13	33	0.77	7.9	26.8
	15	19	0.8	8	26
	17	26	0.45	8	26.4
	19	23	0.38	7.9	25.2
	21	33	1.48	8.4	24.4
poliéster B2	1	18	0.04	8	27.2
	3	13	0.95	7.9	25.1
	5	8	1.01	8	23.5
	7	10	1.02	8	23.9
	9	8	0.56	7.8	26.2
	11	46	0.97	7.9	24.6
	13	21	0.16	8	26.1
	15	11	0.58	8	25.5
	17	25	0.53	8.1	26.3
	19	14	0.55	8	25.2
	21	24	0	8.1	24.2
poliéster C1	1	12.6	1.65	7.5	23.2
	3	25.9	0.27	7.6	24.6
	5	15.3	0.83	7.5	27.9
	7	5.8	1.34	7.9	25.2
	9	25.2	0.81	7.8	24
	11	7.4	1.77	7.8	25.3
	13	9.8	1.2	8.1	23.1
	15	14.5	0.93	7.7	24
	17	18.9	0.66	7.6	23.7
	19	20	0.77	7.9	23.5
	21	46.7	0.43	7.8	27.7
poliéster C2	1	14.7	1.11	8	20.7
	3	22.3	0.45	7.9	24.3
	5	26.5	0.25	7.8	24.2
	7	18.4	0.48	8	23.8
	9	13.4	0.96	8	15.7
	11	20.6	0.33	7.8	24
	13	16.9	0.42	8	26.8
	15	22.7	0.42	7.9	28.3
	17	13.9	0.51	7.8	23.9
	19	19.5	0.31	7.9	23
	21	19.5	0.31	7.9	23.3

Continuación del anexo 4

Corrida	Días	Turbidez	Oxígeno disuelto	pH	Temperatura
Perlita C3	1	13.1	1.21	8	24.4
	3	4.8	1.32	8	26.4
	5	5.6	1.07		
	7	13.8	1.35	7.7	22
	9	7.2	2.18	7.8	22.5
	11	9.4	1.04	7.9	24.7
	13	10.4	0.98	7.8	24.6
	15	8.5	1.11	7.9	25.4
	17	14.3	0.95	7.7	23.7
	19	16.4	1.67	7.8	24
	21	8.4	1.67	7.9	23.4
Perlita C4	1	8.4	1.23	7.5	24.6
	3	8.6	1.62	7.5	25.9
	5	25.8	1.62		
	7	11.9	1.13	7.5	22
	9	7.2	1.84	7.6	22.9
	11	12	1.68	7.6	24.4
	13	8	1.17	7.5	24
	15	10.8	1.6	8.1	24.4
	17	10.6	1.35	7.7	23.6
	19	11.5	1.31	7.6	23.4
	21	11.5	1.47	7.5	22.1
Perlita C5	1	22.4	0.27	7.7	18.9
	3	12.4	0.69	7.6	23.2
	5	30.9	0.69	7.6	23.5
	7	24.2	0.15	7.6	23.4
	9	27.3	0.04	7.7	14.6
	11	26.9	0.24	7.7	23.3
	13	21.2	0.19	7.7	27
	15	20.6	0.04	7.8	28
	17	21	0.78	7.7	23.6
	19	14.7	0.34	7.7	23
	21	15.2	0.48		

Anexo 5. Coeficientes de correlación entre variables de crecimiento biopelicular y variables operativas y de calidad del efluente. Datos de 7 corridas (B1-B2; C1-C5: Poliéster+perlita y Perlita vitrificada.)

VARIABLE	TURBIDEZ (efluente)	OXIGENO DISUELTO (reactor)	DQO (remov.)	PROTEINA (biopelícula)
TURBIDEZ				
OXIGENO DISUELTO	-0.47115			
DQO	-0.22000	0.35385		
PROTEINA	-0.06622	-0.02033	0.27885	
CARBOHIDRATOS	-0.19022	0.23032	0.09160	0.216653
Proteína+carbohidratos	-0.15916	0.12428	0.2448	
Proteína/carbohidratos	0.0114	-0.10251	0.21420	
Carbohidratos/proteína	-0.11922	0.16660	-0.16409	

Datos de 4 corridas (B1-B2; C1-C2: Poliéster+perlita)

VARIABLE	TURBIDEZ (efluente)	OXIGENO DISUELTO (reactor)	DQO (remov.)	PROTEINA (biopelícula)
TURBIDEZ				
OXIGENO DISUELTO	-0.26947			
DQO	-0.12489	0.161786		
PROTEINA	-0.05957	-0.08981	0.25407	
CARBOHIDRATOS	0.060127	0.049915	0.217748	0.43694
Proteína+carbohidratos	-0.02014	-0.04702	0.279909	
Proteína/carbohidratos	-0.11473	-0.03052	0.238747	
Carbohidratos/proteína	0.126768	0.121451	-0.04542	

Datos de 3 corridas (C3-C5: Perlita vitrificada)

VARIABLE	TURBIDEZ (efluente)	OXIGENO DISUELTO (reactor)	DQO (remov.)	PROTEINA (biopelícula)
TURBIDEZ				
OXIGENO DISUELTO	-0.6408			
DQO	-0.32758	0.544424		
PROTEINA	-0.44986	0.307783	0.48873	
CARBOHIDRATOS	-0.30379	0.204632	-0.08101	0.220637
Proteína+carbohidratos	-0.45829	0.311126	0.18684	
Proteína/carbohidratos	-0.02141	0.044148	0.399008	
Carbohidratos/proteína	-0.05729	-0.0032	-0.42047	

Anexo 6. Análisis de varianza sobre la eficiencia de dos materiales de soporte en la remoción de la demanda química de oxígeno.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	Pr > F
Materiales	1	8052.14	8052.14	2.5	0.15
Tiempo	4	574.3	143.6	0.43	0.78
Materiales * tiempo	4	3076.04	769.01	2.31	0.08
Error A	9	29007.1	3223.01	9.70	
Error B	36	11959.27			
Total	54	52668.84			

Anexo 7. Análisis de varianza sobre la concentración de sólidos suspendidos volátiles en la partícula de dos materiales de soporte.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	Pr > F
Materiales	1	679252.4	679252.4	27.1	0.03
Tiempo	10	2004110.9	200411.9	6.33	0.0002
Materiales * tiempo	10	1248908.2	124890.8	3.94	0.0044
Error A	2	50127.3	25063.6	0.79	
Error B	20	633339.7			
Total	43	4615738.5			