



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA

Depuración biotecnológica del suero lácteo empleando un sistema continuo mixto: anaerobio de lecho fijo-aerobio

TESIS

Para obtener el título de
Ingeniero en Alimentos

Presenta:

Jeanett Zamora Orozco

Director de tesis:

M.C. Vania Shuhua Robles González

Huajuapán de León, Oaxaca, Septiembre de 2006.

RESUMEN

A pesar de los usos que se le dan al suero lácteo, gran parte de lo que se produce a nivel mundial es descargado en suelos y cuerpos de agua o en plantas de tratamiento de aguas residuales, lo cual representa un problema serio de contaminación debido a las demandas químicas (DQO) y bioquímicas de oxígeno (DBO) altas que este genera, siendo necesario aplicar un tratamiento biológico para su depuración.

En el presente trabajo se aplicó un tratamiento biológico al suero lácteo, empleando un sistema continuo mixto constituido de un reactor anaerobio de lecho fijo y un reactor aerobio tipo *airlift*, inoculados con consorcios microbianos, capaces de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía, provenientes de tres fuentes naturales: suelo cercano a una lechería (consorcio A), microorganismos propios del suero (consorcio B) y de la combinación de ambos (consorcio C), los cuales se aclimataron en suero lácteo dulce previamente caracterizado durante un periodo de un mes bajo condiciones anaerobias y aerobias. Se seleccionaron los consorcios que presentaron la mayor capacidad de remoción de contaminantes del suero lácteo medida como DQO bajo ambas condiciones, resultando más eficientes el consorcio anaerobio A (45%) y el aerobio B (41%), inoculándose en su reactor respectivo. En el reactor anaerobio se evaluaron 2 diámetros de soporte, así como 3 velocidades de flujo, obteniéndose mejores resultados de remoción de contaminantes utilizando un diámetro de 1-2 cm y flujo de 1mL/min con un 36%. El reactor aerobio se evaluó empleando el flujo seleccionado en el sistema anaerobio obteniéndose una eficiencia del 47%. Como ultima etapa, los reactores se acoplaron para formar al sistema mixto anaerobio-aerobio, al evaluar la eficiencia de degradación de la DQO se obtuvo un 75%, siendo más eficiente en la degradación de contaminantes con respecto a los sistemas individuales.

A mi padre Arturo Zamora Sánchez.
A mi madre Martha Orozco Ibarra y a mis tíos, porque sin su apoyo no hubiese
podido concluir este trabajo ni las metas propuestas.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor M.C. Vania Shuhua Robles González por sustentar y guiar este proyecto de tesis.

A los profesores M.C. Leslie Arcila Lozano, Dr. Raúl Salas Coronado, M.C. Vania Shuhua Robles González y M.C. Gustavo de la Vega Ruíz, por sus críticas y consejos para hacer de este un mejor trabajo.

A mis padres, hermana, abuelos y tíos por todo el apoyo y confianza que depositaron en mí durante la realización de mis estudios.

A mis amigos y a todas aquellas personas cuyo apoyo y paciencia brindados resultaron indispensables para la culminación de esta tesis.

INDICE

	Página
Resumen.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice.....	v
Índice de figuras.....	x
Índice de Gráficas.....	xi
Índice de Tablas.....	xii
Índice de fotos.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Aguas residuales.....	3
2.1.1 Aguas residuales urbanas.....	3
2.1.2 Aguas residuales industriales.....	3
2.1.3 Tratamiento de aguas residuales.....	5
2.1.4 Sistemas de tratamiento de aguas residuales.....	6
2.1.4.1 Procesos aerobios.....	7
2.1.4.2 Procesos anaerobios.....	7
2.1.4.3 Procesos mixtos.....	7

2.2 Suero lácteo.....	9
2.2.1 Definición y clasificación.....	9
2.2.1.1 Sueros ácidos.....	9
2.2.1.2 Sueros dulces.....	9
2.2.2 Composición química del suero lácteo.....	9
2.3 Usos del suero lácteo.....	10
2.4 Contaminación ocasionada por los efluentes del suero.....	11
2.5 Procesos de tratamiento del suero lácteo.....	11
2.5.1 Los procesos convencionales.....	12
2.5.2 Los procesos no convencionales.....	13
2.6 Selección de microorganismos.....	14
2.7 Biorreactores.....	15
2.7.1 Reactor aerobio.....	15
2.7.2 Reactor anaerobio.....	16
2.7.2.1 Soportes.....	17
3. JUSTIFICACIÓN.....	18
4. HIPÓTESIS.....	19
5. OBJETIVOS.....	20
5.1 Objetivo general.....	20
5.2 Objetivos específicos.....	20
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
6.1 Material y equipo.....	21
6.2 Medio de cultivo.....	21
6.3 Medio de conservación.....	21
6.4 Métodos.....	22
6.4.1 Obtención, aclimatación y selección de los consorcios.....	22

6.4.1.1	Aclimatación de consorcios anaerobios y aerobios.....	22
6.4.1.2	Selección del consorcio anaerobio y aerobio.....	23
6.4.2	Construcción de reactores.....	23
6.4.2.1	Reactor anaerobio.....	23
6.4.2.2	Reactor aerobio tipo <i>airlift</i>	23
6.4.3	Caracterización del medio.....	23
6.4.4	Procedimiento general en los reactores anaerobios y aerobio tipo <i>airlift</i>	24
6.4.5	Reactor anaerobio de lecho fijo.....	26
6.4.5.1	Soporte de los reactores anaerobios.....	26
6.4.5.2	Selección del diámetro de soporte del reactor anaerobio.....	26
6.4.5.2.1	Aclimatación del consorcio seleccionado en sistema por lote.....	26
6.4.5.2.2	Evaluación en sistema continuo de una etapa.....	27
6.4.5.3	Selección de la velocidad de flujo de operación del reactor anaerobio con el diámetro de soporte seleccionado.....	27
6.4.6	Reactor aerobio tipo <i>airlift</i>	27
6.4.6.1	Aclimatación del consorcio seleccionado en sistema por lote.....	27
6.4.6.2	Evaluación en sistema continuo de una etapa.....	28
6.4.7	Sistema mixto anaerobio con soporte de rocas-aerobio (reactor <i>airlift</i>).....	28
6.4.8	Análisis estadístico de los resultados.....	29
6.5	Métodos analíticos.....	30
6.5.1	Determinación de la demanda química de oxígeno (Semimicro).....	30
6.5.1.1	Fundamento.....	30
6.5.1.2	Reactivos.....	31
6.5.1.3	Procedimiento.....	32
6.5.2	Determinación de sólidos sedimentables.....	33
6.5.2.1	Fundamento.....	33
6.5.2.2	Procedimiento.....	33

6.5.3	Determinación de pH.....	33
6.5.3.1	Fundamento.....	33
6.5.3.2	Procedimiento.....	33
6.5.4	Determinación de fosfatos (ortofosfato).....	34
6.5.4.1	Fundamento.....	34
6.5.4.2	Procedimiento....	34
6.5.5	Determinación de sulfatos.....	34
6.5.5.1	Fundamento.....	34
6.5.5.2	Procedimiento.....	35
6.5.6	Determinación de calcio, magnesio, sodio y potasio.....	35
6.5.6.1	Fundamento.....	35
6.5.6.2	Procedimiento.....	36
6.6	Características morfológicas de los consorcios seleccionados.....	36
6.6.1	Fundamento de Coloración de Gram.....	36
6.6.2	Procedimiento.....	37
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
7.1	Caracterización del medio.....	38
7.2	Obtención, aclimatación y selección de los consorcios.....	40
7.2.1	Obtención y aclimatación de los consorcios.....	40
7.2.2	Selección del consorcio anaerobio y aerobio.....	41
7.3	Reactor anaerobio de lecho fijo.....	43
7.3.1	Selección del diámetro de soporte.....	43
7.3.1.1	Etapa de aclimatación.....	43
7.3.1.2	Selección del diámetro de soporte en cultivo continuo.....	44
7.3.2	Selección de la velocidad de flujo de operación con el diámetro de soporte seleccionado.....	47
7.4	Reactor aerobio tipo <i>airlift</i>	50
7.4.1	Etapa de aclimatación.....	50

7.4.2 Evaluación del reactor aerobio en sistema continuo de una etapa.....	51
7.5 Sistema mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio.....	52
8. CONCLUSIONES.....	56
9. PERSPECTIVAS.....	57
10. BIBLIOGRAFÍA.....	58
APÉNDICE A. CONSTRUCCIÓN DE REACTORES.....	63
APÉNDICE B. DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO, SODIO Y POTASIO.....	70
APÉNDICE C. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS CONSORCIOS SELECCIONADOS.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Principales configuraciones de reactores airlift.....	16
2. Diagrama de bloques del procedimiento general en los reactores.....	25
3. Vista frontal del reactor anaerobio.....	63
4. Vista lateral del reactor anaerobio.....	64
5. Vista superior del reactor anaerobio.....	65
6. Corte transversal del reactor anaerobio.....	66
7. Corte transversal del reactor anaerobio con el soporte de rocas basálticas.....	66
8. Vista frontal del reactor aerobio tipo <i>airlift</i>	67
9. Vista lateral del reactor aerobio tipo <i>airlift</i>	68
10. Vista superior del reactor aerobio tipo airlift.....	69

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Página
1. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios anaerobios.....	41
2. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios aerobios.....	42
3. Evaluación del diámetro de soporte en el reactor anaerobio A operando en cultivo continuo.....	44
4. Evaluación del diámetro de soporte en el reactor anaerobio B operando en cultivo continuo.....	45
5. Evaluación de la velocidad de flujo en el reactor anaerobio con diámetro de soporte de 1-2 cm.	47
6. Eficiencia del reactor anaerobio operando en cultivo continuo de una etapa con flujo de 1 mL/min.....	49
7. Eficiencia del reactor aerobio operando en cultivo por lote.....	50
8. Eficiencia del reactor aerobio operando en cultivo continuo de una etapa con flujo de 1 mL/min.....	51
9. Eficiencia de reducción de contaminantes medida como DQO del sistema mixto anaerobio-aerobio operando en cultivo continuo de una etapa.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Cantidades específicas de aguas residuales y valores de DBO.....	4
2. Comparación entre los tratamientos anaerobio y aerobio.....	8
3. Composición química del suero lácteo.....	10
4. Fuentes de obtención de los consorcios.....	22
5. Coloración de Gram.....	37
6. Resultados de la estandarización del medio.....	39
7. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios anaerobios.....	42
8. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios aerobios.....	42
9. Eficiencias de degradación de contaminantes en el reactor anaerobio A en cultivo continuo.....	45
10. Eficiencias de degradación de contaminantes en el reactor anaerobio B en cultivo continuo.....	45
11. Eficiencia de degradación de contaminantes en la evaluación de la velocidad de flujo en el reactor anaerobio A.....	47
12. Eficiencia de degradación de contaminantes en el reactor anaerobio en cultivo continuo de una etapa (1 mL/min).....	49
13. Eficiencia de degradación de contaminantes en el reactor aerobio en cultivo por lote.....	50
14. Eficiencia de degradación de contaminantes en el reactor aerobio en cultivo continuo (1 mL/min).....	51
15. Eficiencias de degradación de contaminantes en el sistema mixto en cultivo continuo de una etapa.....	53
16. DQO y eficiencia de degradación de DQO en los tratamientos evaluados.....	54
17. Especificaciones en la determinación de elementos por Absorción Atómica.....	70

18. Porcentaje de recobro de los elementos evaluados por absorción atómica.....	71
19. Resultados de la observación al microscopio de los microorganismos presentes en los reactores anaerobios A y B y el reactor <i>airlift</i>	72
20. Características macroscópicas del consorcio anaerobio.....	72
21. Características macroscópicas del consorcio aerobio.....	72

ÍNDICE DE FOTOS

Foto	Página
1. Rocas basáltica utilizada como soporte en el reactor anaerobio.....	26
2. Sistema mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio.....	52

1. INTRODUCCIÓN.

La generación de aguas residuales es un producto inevitable de la actividad humana, se definen como aquellas provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas (Seoanez, 1995). Se clasifican en aguas residuales urbanas e industriales; las urbanas son los líquidos provenientes de las viviendas o residencias, edificios comerciales o institucionales y las industriales son las provenientes de las descargas de industrias de manufactura (Romero, 1999).

El número de industrias que vierten sus aguas residuales a los cuerpos receptores de agua ha aumentado significativamente durante los últimos 30 años. Entre los diversos sectores de la industria se registran notables diferencias en lo referente a la cantidad específica de aguas residuales producidas y al contenido orgánico e inorgánico de las mismas (Metcalf y Eddy, 1985). En el caso particular de la industria láctea, específicamente en la elaboración de quesos se produce suero lácteo al cual se le ha dado distintos usos como aditivos en la fabricación de diversos productos como por ejemplo: algunas bebidas, confitería, postres, alimento para ganado, etc. A pesar del aprovechamiento que ha tenido, aproximadamente la mitad del suero producido a nivel mundial representa una fuente de contaminación cuando es vertido en suelo, ríos o algunos otros cuerpos receptores de agua, así como a la desestabilización de plantas municipales de tratamiento de aguas residuales debido a su elevado contenido de materia orgánica y al volumen desechado (Ben-Hassan y Ghaly, 1994; Veisseyre, 1998).

Se estima que una industria quesera que emplea 100,000 L/día de agua y que vierte sin tratamiento previo las aguas utilizadas y la totalidad del suero lácteo en un curso de agua ofrece un flujo contaminante equivalente al del conjunto de las aguas domésticas de una población de 65,000 habitantes. Por lo anterior estos efluentes

antes de ser descargados deben de someterse a un tratamiento que disminuya su carga de contaminantes (Veisseyre, 1998).

En el tratamiento de aguas residuales de la industria láctea se aplican distintos procedimientos dependiendo de las cantidades que se produzcan y de su contenido de contaminantes, dentro de estos procedimientos se encuentran los tratamientos biológicos los cuales se distinguen a su vez en procesos aerobios y procesos anaerobios dependiendo de si requieren para su operación del suministro de oxígeno o no (Spreer, 1991).

Con la finalidad de disminuir la carga de contaminantes alta del suero lácteo, en el presente trabajo se empleó un sistema de tratamiento mixto constituido de un reactor anaerobio de lecho fijo y un reactor aerobio tipo *airlift*, inoculado con consorcios seleccionados a partir de fuentes naturales que presentaron la capacidad de emplear al suero lácteo como única fuente de carbono y energía.

2. ANTECEDENTES.

2.1 Aguas Residuales.

Llamamos aguas residuales a los líquidos procedentes de la actividad humana que llevan en su composición gran parte de agua y que generalmente son vertidos a cursos o masas de aguas continentales o marinas (Seoanez, 1995). Se clasifican en dos tipos principales: urbanas e industriales.

2.1.1 Aguas residuales urbanas. Se originan a causa de: desechos humanos y animales, residuos domésticos, restos vegetales, arrastres de lluvia, infiltraciones y residuos industriales. Producen alteraciones en el medio acuático debido a los diversos productos que contienen y a que las áreas receptoras son cada vez menos capaces de asimilarlas (Seoanez, 1995).

2.1.2 Aguas residuales industriales. Las industrias consideran que sus aguas residuales pueden ser eliminadas de la mejor forma por el sistema de aguas residuales urbanas y los responsables de los municipios frecuentemente creen que es su obligación aceptar los residuos que fluyen al sistema de tratamiento de la ciudad. Pueden contener constituyentes peligrosos además de la carga contaminante. Estos residuos pueden causar daños en el sistema de alcantarillado o en las plantas de tratamiento (Nemerow, 1998).

Entre las emisiones procedentes de la industria alimentaria las aguas residuales ocupan el primer lugar, se componen preferentemente de sustancias orgánicas resultantes del tratamiento de las materias primas, así como de todos los productos químicos auxiliares empleados en las medidas higiénicas (Wildbrett, 2000).

Las características de los vertidos por elaboración de productos alimenticios son extremadamente variables. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) puede ser tan baja como 100 ppm o tan elevada como 100,000 ppm. Los

sólidos en suspensión, están casi completamente ausentes en algunos vertidos y otros se encuentran en concentraciones tan altas como 120,000 ppm. El vertido puede ser muy alcalino (pH 11.0) o muy ácido (pH 3.5). Puede haber sustancias nutritivas minerales (nitrógeno y fósforo) en exceso o deficiencia de la relación necesaria en DBO/N o DBO/P para obtener buenas condiciones ambientales para el tratamiento biológico. Así mismo, el volumen de los vertidos puede ser casi nulo en algunas industrias pero llegar hasta miles de m³ por día en otras.

En lo referente a cantidad específica de aguas residuales producidas y al contenido orgánico de las mismas se registran notables diferencias entre los diversos sectores, Tabla 1.

Tabla 1. Cantidades específicas de aguas residuales y valores de DBO (Wildbrett G., 2000).

Rama producción	Cantidad específica de agua residual (m³)	Unidad de referencia	Carga total/año, DBO (en ton O₂)
Sacrificio bovinos	0.5-1.0	1 CGM	13,275
Sacrificio cerdos	0.1-0.36	1 CGMn	10,862
Tratamiento leche	1-2	Ton de leche	55,528
Queso	-	Ton de queso	46,000-52,355
Mosto dulce	0.82-1.42	Ton de fruta	14,000
Azúcar	0.5-1.0	Ton de remolacha	-
Tratamiento pescado fresco	7	Ton de pescado	-
Conservas de pescado	-	Ton	-

CGM=Cabeza de ganado mayor, por ejemplo 1 vaca, CGMn=Cabeza de ganado menor, por ejemplo 1 cerdo, Ton=Tonelada.

La tabla 1 nos muestra que la rama de producción de queso representa un papel importante con relación a las aguas residuales producidas, debido a que representan una cantidad considerable en cuanto a la materia orgánica que contienen expresada en DBO equivalente a un valor aproximado de 52,355 toneladas de oxígeno.

Por lo anterior, la eliminación inmediata del agua residual desde sus fuentes de generación, seguida de su tratamiento y evacuación, no es solamente deseable sino que es necesaria en una sociedad industrializada (Metcalf, 1985).

2.1.3 Tratamiento de aguas residuales. Una planta de tratamiento biológico, si tiene el tamaño adecuado, puede utilizarse para tratar un residuo industrial de fácil descomposición y con carga orgánica. Sin embargo, cada uno de estos residuos así como otros residuos orgánicos típicos contienen contaminantes que pueden interferir con el tratamiento efectivo cuando se combinan con aguas negras (Nemerow, 1998).

El propósito del tratamiento de las aguas residuales es remover contaminantes que pueden perjudicar el ambiente acuático y en general a los seres vivos. El tratamiento es una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos, los cuales pueden ser utilizados como pretratamiento, tratamientos primarios, secundarios y terciarios. El pretratamiento elimina del agua residual aquellas materias que pueden obstruir las bombas y canalizaciones, o bien interferir en el desarrollo de los procesos posteriores (Nemerow, 1998), en el tratamiento primario se separa por medios físicos a las partículas en suspensión no retenidas en el pretratamiento para acondicionar el agua para los tratamientos posteriores; en el tratamiento secundario o biológico se utilizan microorganismos para eliminar la materia orgánica disuelta y por último el tratamiento terciario o de desinfección se basa en sistemas físicos, químicos y biológicos que se aplican cuando se desea obtener agua potable (González M. y Nava R., 1995).

Hay parámetros de contaminación orgánica a tomar en cuenta, como lo son la demanda química y bioquímica de oxígeno, los cuales son los más utilizados y aplicables a las aguas residuales y superficiales.

La demanda química de oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno necesaria para degradar la materia orgánica e inorgánica disuelta en el agua residual; la DQO se usa ampliamente para estimar la cantidad de materia oxidable

presente en una muestra. Es una medida de los equivalentes de oxígeno de los materiales presentes en la muestra, los cuales se someten a oxidación por medio de un agente oxidante químico fuerte.

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es la cantidad de oxígeno requerida para degradar la materia orgánica disuelta en el agua residual e impone una carga en las unidades de tratamiento biológico de la planta. Hay que aportar oxígeno para que las bacterias puedan crecer y oxidar la materia orgánica. La adición de una carga de DBO producida por un incremento en los vertidos orgánicos exige mayor actividad bacteriana, más oxígeno y una mayor capacidad de tratamiento biológico (Nemerow, 1998).

Puesto que muchas plantas de tratamiento de aguas residuales utilizan de alguna forma un tratamiento biológico, es esencial para un funcionamiento satisfactorio que se eviten características extremas en las aguas residuales industriales. El agua residual deberá ser (Nemerow, 1998):

- 1) tan homogénea en composición, forma y caudal como sea posible, libre de bruscos vertidos industriales, más peligrosos;
- 2) no muy cargada con materia en suspensión;
- 3) libre de una excesiva acidez o alcalinidad y que no tenga un contenido muy alto de productos químicos que precipiten al neutralizarse u oxidarse;
- 4) que esté prácticamente libre de materiales antisépticos, metales o trazas de metales tóxicos;
- 5) que tenga una baja concentración de compuestos con una Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO) altas;
- 6) que el contenido de aceites y grasas sea pequeño.

2.1.4 Sistemas de tratamiento de aguas residuales. Se pueden clasificar en dos tipos: los sistemas que emplean procesos fisicoquímicos y los que se sustentan en procesos biológicos. Los procesos biológicos pueden ser

llevados a cabo mediante procesos aerobios, anaerobios o una combinación de ambos (mixtos) (Jones, 1974).

2.1.4.1 Procesos aerobios. Someten a cualquier volumen de agua residual a aireación durante un tiempo en el cual se reduce su contenido de materia orgánica y se forma a la vez un lodo biológico. Éste lodo está formado por una población heterogénea de microorganismos que cambia continuamente en función de las variaciones en la composición de las aguas residuales y de las condiciones ambientales (Ramalho, 1993).

2.1.4.2 Procesos anaerobios. Son procesos que se llevan a cabo en ausencia de oxígeno. Constan de dos etapas:

1) Fermentación ácida. Se hidrolizan en primer lugar los compuestos orgánicos complejos del agua residual (proteínas, grasas e hidratos de carbono) para producir unidades moleculares menores, las que a su vez son sometidas a biooxidación convirtiéndose principalmente en ácidos grasos de cadena corta.

2) Fermentación metanogénica. Los microorganismos metanogénicos, que son estrictamente anaerobios, convierten los ácidos de cadenas más largas a metano, dióxido de carbono y ácidos orgánicos de cadenas más cortas. Las moléculas ácidas se hidrolizan repetidamente dando lugar a ácido acético el cual se convierte en dióxido de carbono y metano (Ramalho, 1993).

Los procesos anaerobios no han tenido mucho éxito cuando se utilizan como los únicos sistemas de tratamiento, ya que la calidad de sus efluentes es inferior a la requerida por los estándares reguladores. Sin embargo, el proceso ofrece un sistema de bajo costo para el tratamiento de aguas residuales.

2.1.4.3 Procesos mixtos (anaerobio-aerobio). Cuando se utiliza un proceso anaerobio como etapa previa a un sistema aerobio se obtienen procesos aerobios más efectivos en la remoción de los contaminantes del agua industrial.

En la tabla 2 se presentan algunos parámetros que permiten comparar los sistemas anaerobios con los aerobios.

Tabla 2. Comparación entre los tratamientos anaerobio y aerobio
(Vochten, P.S., 1988).

Parámetro	Anaerobio	Aerobio
Requerimientos de energía	Bajos	Altos
Grado de tratamiento	Moderado (60 a 90%)	Alto (95%)
Producción de lodos	Baja	Alta
Estabilidad del proceso (a compuestos tóxicos y sobrecargas)	Baja a moderada	Moderada a alta
Tiempo para arranque	2 a 4 meses	2 a 4 semanas
Requerimientos de nutrientes	Bajos	Altos para ciertos desechos industriales
Olor	Problemas potenciales	Menores posibilidades
Requerimientos de alcalinidad	Alto para ciertos desechos industriales	Bajos
Producción de biogás	Sí	No

Se puede observar que las diferencias entre unos y otros sistemas sugieren la conveniencia de aplicarlos en forma conjunta en lugar de antagonizarlos como se ha pretendido durante mucho tiempo. La unión o combinación de estos sistemas en forma apropiada da por resultado la obtención de un tratamiento adecuado y más económico para un fin determinado y, en especial, para el tratamiento de aguas residuales industriales (Vochten, P.S., 1988).

2.2 Suero lácteo.

Los efluentes de la industria láctea tienen una composición muy variada según los procesos de tratamiento a que se someta la leche entera. En algunos casos, como en la manufactura de quesos se genera suero lácteo (Jones, 1974).

2.2.1 Definición y clasificación. Los sueros lácteos se definen como la fracción de la leche de cualquier especie que no precipita por la acción del cuajo o por los ácidos durante el proceso de elaboración de quesos. Los sueros lácteos procedentes de quesería se dividen en dos categorías: sueros ácidos (pH 4.6-4.8) y dulces (pH 5.9-6.4) (Rondan, 2000).

2.2.1.1 Sueros ácidos. Se producen en su mayor parte en la fabricación de caseína por la incorporación de un ácido que produce su coagulación, el más empleado suele ser el clorhídrico.

Hay otra parte menor de producción de suero ácido que procede de la coagulación de la caseína, por la siembra de bacterias lácticas, en la fabricación de quesos de pasta blanda. Presenta una acidez muy elevada que puede llegar a 120° Dornic, la cantidad de lactosa presenta un valor del 60%, con un aumento del ácido láctico de 3-5 unidades todo ello expresado en 100 g de sustancia seca.

2.2.1.2 Sueros dulces. Se obtienen a partir de la elaboración de quesos de pasta prensada utilizando para la coagulación cuajo y quimosina, o bien otros tipos como pueden ser los cuajos de hongos o vegetales. Presentan una acidez no muy elevada comprendida entre 5 a 26° Dornic. La concentración de lactosa es del 70-75%, la presencia del ácido láctico es menor que en los sueros ácidos, expresado en 100 g de sustancia seca (Rondan, 2000).

2.2.2 Composición química del suero lácteo. La composición química del suero depende de muchos factores entre los que se encuentran los procesos

de tratamiento a que se someta la leche entera y los procesos de manipulación y tratamiento a que se sujete el suero lácteo (Jelen, 1992).

Tabla 3. Composición química del suero lácteo (Oura, 1983).

Componente	Porcentaje
Lactosa	4.5-5.2
Proteínas	0.7-1.0
Sales minerales	0.7-1.0
Ácido láctico	0.1-0.8
Grasas	Trazas
Vitaminas	Trazas
Agua	94

La lactosa es el mayor componente del suero lácteo después del agua (véase tabla 3). Es el principal soluto del suero con aproximadamente el 71%. El segundo componente en importancia de los solutos son las proteínas que constituyen del 9 al 11% (Jelen, 1992).

2.3 Usos del suero lácteo.

Debido a los grandes volúmenes de suero que se producen cada año y a la concentración alta de materia orgánica que contiene, se han buscado alternativas para la utilización de este residuo industrial o alguno de sus componentes (Lund y col., 1992), utilizándose como aditivos en la fabricación de diversos productos como alimento para ganado e infantes, algunas bebidas, confitería, dulces, helados, postres, yoghurt, productos de panificación, etc. Sin embargo, las concentraciones altas de lactosa y de sales minerales evitan el uso generalizado del suero en la alimentación de seres humanos (Kossaric y Asher, 1985), además de que la demanda de lactosa a nivel mundial es equivalente a la contenida en el 5% del suero total disponible (González, 1996).

A pesar de los usos antes mencionados, aproximadamente la mitad del suero producido a nivel mundial provoca contaminación al ser descargado en el suelo y otros cuerpos de agua o en plantas de tratamiento de aguas residuales (Ben-Hassan y Ghaly, 1994).

2.4 Contaminación ocasionada por los efluentes del suero lácteo.

La producción mundial anual de suero lácteo puede ser estimada a partir de la producción anual de quesos, ya que por 1 kg de queso producido se generan aproximadamente 9 kg de suero lácteo. El suero producido en México contiene en promedio 53 mil ton de lactosa (Cristiani, 2000).

Una industria quesera media que produzca diariamente 400,000 L de suero sin depurar está produciendo una contaminación diaria similar a una población de 1, 250,000 habitantes.

El suero lácteo genera una DBO y una DQO muy altas aproximadamente de 40,000-60,000 ppm (Ben-Hassan y Ghaly, 1994) y de 50,000-80,000 ppm respectivamente y más del 90% de esas demandas se debe a la lactosa presente en el mismo (Fournier y col, 1993).

La descarga continua del suero en el suelo puede alterar la estructura física y química del suelo y disminuir el rendimiento de las cosechas. Además, el nitrógeno del suero es soluble en agua y puede lixiviar, proceso mediante el cual las sustancias disueltas son arrastradas por el agua a través de las diversas capas hasta las aguas freáticas, convirtiéndose de esta manera en una amenaza para la salud de animales y humanos (Ben-Hassan y Ghaly, 1994).

2.5 Procesos de tratamiento del suero lácteo.

Se han realizado estudios encaminados a resolver los problemas de contaminación ocasionados por el suero lácteo obteniéndose eficiencias de 15.9% al 90% de remoción de la DQO utilizando levaduras para la producción de proteína unicelular (Ben-Hassan y Ghaly, 1994).

En algunos tratamientos biológicos de aguas residuales de la industria láctea (cuyos valores de DQO oscilaban entre 850 y 9000 ppm) se obtuvieron reducciones de la DQO del 25% al 98% (Jones, 1974).

En el laboratorio de Bioingeniería del Departamento de Ingeniería Bioquímica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas se ha propuesto la utilización del suero lácteo parcialmente desproteinado como fuente de carbono y energía para el crecimiento de microorganismos y con ello disminuir la carga contaminante alta del suero lácteo, encontrándose eficiencias de reducción de la DQO del 95.8% cuando se utilizó un cultivo mixto de levaduras generalmente consideradas como seguras (GRAS) (Cristiani, 2000).

Así mismo se han aislado consorcios microbianos constituidos de cuatro formas diferentes de bacterias (bacilos, cocos, diplococos y estreptococos) siendo éstas en su mayoría del tipo Gram (+), obtenidos de fuentes naturales con la capacidad de aprovechar a la lactosa y las proteínas (compuesto más recalcitrante) del suero lácteo como fuente de carbono y energía, obteniéndose eficiencias de consumo de lactosa mayores al 90%, de proteínas del 54 % y un 80 a 85% en la eficiencia de remoción de contaminantes medida como reducción de la DQO (Robles V., 2000).

Con el propósito de reducir el problema de contaminación es conveniente aplicar un tratamiento biológico al suero lácteo antes de ser descargado a los cuerpos de agua o al suelo, por lo que se han planteado procesos convencionales y no convencionales para su tratamiento.

2.5.1 Los procesos convencionales. En estos procesos se depuran industrialmente las aguas residuales de la industria láctea y no el suero en sí. Debido a la DBO alta que genera el suero de leche así como la obtención de ácido láctico en las aguas residuales, puede alterar significativamente los procesos biológicos que se llevan a cabo en las plantas de tratamiento, así mismo provoca que los costos de tratamiento de la mayoría de los sistemas actualmente utilizados sean excesivamente altos. Por consiguiente, el tratamiento convencional del suero en las plantas de tratamiento de aguas

residuales es un método caro para remover la materia orgánica (Ben-Hassan y Ghaly, 1994; Degrémont, 1979).

2.5.2 Los procesos no convencionales. Estos aíslan en una primera etapa las corrientes residuales sin mezclarlas o diluirlas con corrientes indeseables y son substratos útiles para el crecimiento de microorganismos (Olsen y Allerman, 1987).

Su objetivo es utilizar el residuo industrial como un recurso para la producción de metabolitos con mayor valor agregado y con ello subsanar en parte los costos de depuración biológica del efluente de la industria láctea. Entre los metabolitos que se pueden obtener empleando suero lácteo como substrato encontramos: proteína unicelular, enzimas (β -galactosidasa), etanol, lípidos, pigmentos (carotenoides), ácido láctico, lactato de amonio, glicerol, goma Xantana y butanol (Kosaric y Asher, 1985).

El uso de levaduras y bacterias lácticas para la producción de biomasa es el proceso más simple en el tratamiento del suero, tiene la ventaja de que facilita la eliminación final del efluente industrial ya que disminuye significativamente su carga de contaminantes. Además, convierte la lactosa del suero a biomasa microbiana la cual puede utilizarse como fuente de proteína unicelular para la alimentación de seres humanos (productos tales como alimento para infantes, concentrados proteicos, frituras, helados, macarrones, productos cárnicos, quesos, sustituto de la clara de huevo y productos horneados) y de animales (Moresi y col. 1990; Kosaric y Asher, 1985).

Estos consorcios microbianos de levaduras y bacterias se obtienen a partir de una selección durante determinado tiempo en condiciones específicas.

2.6 Selección de microorganismos.

Una técnica comúnmente utilizada para lograr la selección de consorcios microbianos es el cultivo de enriquecimiento. En estos cultivos se combinan técnicas tradicionales de selección con el uso de medios de composición química y condiciones ambientales definidas, que en conjunto ejercen una presión de selección.

Los cultivos de enriquecimiento resultan del incremento en el número de microorganismos que poseen las características deseadas, en comparación con el número de microorganismos que no poseen tales características y que estaban en el inóculo original. Este proceso involucra a una población microbiana bajo condiciones ambientales que sean propicias para el crecimiento de los microorganismos deseados o bajo condiciones adversas para el crecimiento de los microorganismos no deseados (Stanbury y Whitaker, 1987).

Las técnicas de enriquecimiento pueden llevarse a cabo en cultivos por lote y en cultivos continuos.

En los cultivos de enriquecimiento por lote se tiene la desventaja de que la presión de selección disminuye constantemente a lo largo de todo el cultivo, debido a que el crecimiento de los microorganismos modifica la composición del medio. El predominio de algunos microorganismos en un cultivo de enriquecimiento por lote dependerá de su velocidad específica máxima de crecimiento, comparada con las velocidades específicas de los otros microorganismos presentes en el inóculo original. Esto implica que en los cultivos de enriquecimiento por lote en los cuales se utilizan varios subcultivos, el organismo dominante será aquél que sea capaz de crecer más rápidamente. Sin embargo, el organismo que posea la velocidad específica de crecimiento más alta no necesariamente será el que posea la afinidad más alta por el substrato (Stanbury y Whitaker, 1987).

En el presente trabajo se llevó a cabo una selección de consorcios anaerobios (anaerobios facultativos) y aerobios obtenidos a partir de fuentes naturales, los cuales tuvieron la mayor capacidad de emplear al suero lácteo como fuente de

carbono y energía y se inocularon en biorreactores a fin remover la materia orgánica del suero lácteo.

2.7 Biorreactores.

Un biorreactor es un equipo en el que se pueden realizar reacciones bioquímicas por la acción de biocatalizadores para convertir cualquier sustrato en un producto de utilidad (enzimas, células o estructuras celulares). Estos se aplican en el tratamiento de aguas residuales (Chisti y Moo-Young, 2002).

Los reactores biológicos pueden clasificarse en dos tipos: aerobios y anaerobios.

2.7.1 Reactor aerobio. Existen biorreactores que utilizan agitación mecánica (Reactores Agitados Mecánicamente ó RAM); algunos que aprovechan el aire suministrado con fines de mezclado (reactores con agitación neumática) como son las columnas de burbujeo y los reactores *airlift*, los que utilizan el bombeo de parte del mismo medio para el mezclado (biorreactores de chorro) y otros que se utilizan para el cultivo de células o enzimas inmovilizadas, como los reactores de lecho fijo, lecho fluidizado, con microportador y los de membrana. De todos éstos los más comunes son los RAM, las columnas de burbujeo y los reactores *airlift*.

En el presente proyecto se utilizará un reactor *airlift* de tubos concéntricos (ver Fig.1), los cuales poseen recirculación y son conocidos como biorreactores de elevación con aire o en rizo (Scriban, 1985). Consisten en un tanque dividido en dos zonas interconectadas, principalmente por un *baffle* o un tubo de *draft*. Sólo una región es asperjada con gas y es conocida como ascendente o *riser*, la otra zona se nombra descendente o *downcomer*. La división en dos zonas conduce a una diferencia de densidades en el fluido entre ambas regiones, tendiendo a ser menor en el caso del *riser* con lo que se origina la recirculación del medio en el reactor. La separación en dos zonas

hace que sean más efectivos en la suspensión de células y en la transferencia de oxígeno que las columnas de burbujeo (Chisti y Moo-Young, 2002).

Se eligió éste biorreactor como el sistema aerobio debido a que generan velocidades lineales de transferencia de oxígeno altas sin la necesidad de un mecanismo de recirculación externa. Son altamente eficientes en energía al compararlo con los RAM y tienen productividades comparables a éstos (Chisti y Moo-Young, 2002).

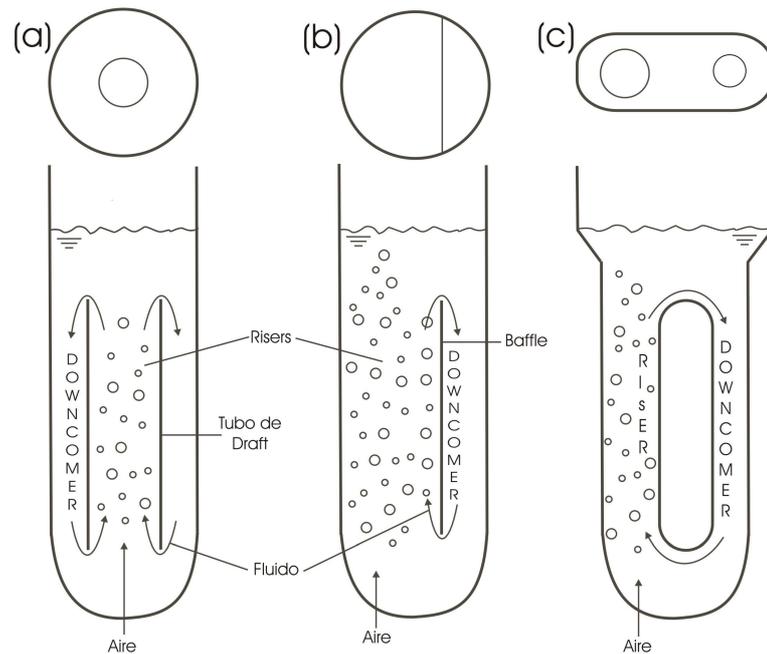


Fig. 1. Principales configuraciones de reactores *airlift*. (a) ALTC (*airlift* de Tubos Concéntricos), (b) SCAL (*airlift* de Cilindro Seccionado) y (c) ALL (*airlift* de Recirculación Externa). Tomado de Chisti y Moo-Young, 2002.

2.7.2 Reactor anaerobio. La oxidación anaerobia se define como aquella en que la descomposición se ejecuta en ausencia de oxígeno disuelto y se usa el oxígeno de compuestos orgánicos, nitratos y nitritos, los sulfatos y el CO_2 como aceptor de electrones (Romero, 1999).

En los reactores anaerobios se pueden tratar aguas residuales procedentes de industrias con una base biológica, donde sus residuos tienen un contenido de materia orgánica alta como es en el caso de la industria láctea.

En los sistemas anaerobios de lecho fijo se suelen utilizar soportes, los cuales ayudan a que se fijen los microorganismos y se pueda lograr una eficiencia mayor en el tratamiento.

2.7.2.1 Soportes. Los soportes pueden ser superficies blandas, animadas o inanimadas en donde se llega a formar una biopelícula, la cual se define como una serie de microorganismos que se encuentran agregados en un exopolímero compuesto de glicocalix y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies (soportes).

El exopolímero que es producido por los microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos. Los procesos para el tratamiento de las aguas residuales son prácticamente sistemas de cultivo microbiano a gran escala que utilizan biopelículas en los cuales las sustancias orgánicas de los desechos se degradan a dióxido de carbono, gas metano y otros nutrientes inorgánicos. El agua residual se trata dentro del fondo de un tanque donde se pone en contacto con lodos o agregados de biopelículas unidos a partículas muy pequeñas. La degradación anaeróbica de los sustratos orgánicos ocurre en el lecho del lodo y allí mismo se genera gas metano como uno de los productos finales (Costerton J. W., 1999).

En este sentido se han realizado trabajos en la Universidad Tecnológica de la Mixteca empleando rocas de la región, como posibles soportes en biorreactores, en dichos estudios se encontró que las rocas provenientes de Zapotitlán Palmas municipio de Huajuapán de León, Oaxaca, pueden ser una buena alternativa de soporte en reactores biológicos de tratamientos de aguas residuales, ya que poseen una buena tolerancia a los cambios de pH y debido a que presentan orificios en toda la superficie de la roca pudiendo favorecer la formación de una biopelícula (Robles V., Castañón H., 2003).

3. JUSTIFICACIÓN.

Se ha utilizado al suero lácteo para la elaboración de diferentes productos, sin embargo, las concentraciones altas de lactosa y de sales minerales evitan su uso generalizado en la alimentación de seres humanos (Kossaric y Asher, 1985); a pesar de sus usos, aproximadamente la mitad del suero producido a nivel mundial es descargado en el suelo y otros cuerpos de agua o en plantas de tratamiento de aguas residuales provocando serios problemas de contaminación (Ben-Hassan y Ghaly, 1994). Se han propuesto diversos procesos biológicos a fin de disminuir su carga de contaminantes, algunos de los métodos empleados son los tratamientos no convencionales, en los cuales se emplean líneas celulares a fin de producir algún metabolito por lo que se requiere de un cuidado mayor en su manejo, teniendo la desventaja de ser poco prácticos a nivel industrial, otro método que se ha utilizado es la combinación de los procesos anaerobios y aerobios, el cual tiene la ventaja de que el consumo de energía y producción de lodos residuales resultantes de los procesos aerobios pueden reducirse de un 60% a un 70%, teniendo impacto sobre la preservación ecológica y energética. La combinación de este proceso anaerobio-aerobio, aventaja económicamente al resto de los procesos, lo que conlleva a su factible aplicación en el tratamiento biotecnológico del suero lácteo.

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se pretende emplear un tratamiento mixto formado por un sistema anaerobio-aerobio, inoculado con consorcios de microorganismos que posean la capacidad de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía con la finalidad de remover la cantidad de contaminantes mayor presentes en el suero lácteo.

4. HIPÓTESIS.

El empleo de un sistema de tratamiento biológico continuo de una etapa, constituido de un reactor anaerobio de lecho fijo y un reactor aerobio tipo *airlift*, inoculado con consorcios seleccionados a partir de fuentes naturales con la capacidad de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía, aumentará la eficiencia de degradación de contaminantes presentes en el suero lácteo con relación a los sistemas individuales.

5. OBJETIVOS.

5.1 Objetivo General.

Llevar a cabo la depuración biotecnológica del suero lácteo empleando un sistema mixto continuo de una etapa constituido de un reactor anaerobio de lecho fijo y un reactor aerobio (tipo *airlift*), inoculado con consorcios microbianos provenientes de fuentes naturales con la capacidad de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía.

5.2 Objetivos Específicos.

- Aclimatar y seleccionar consorcios microbianos que posean la capacidad para degradar los contaminantes presentes en el suero lácteo.
- Evaluar la degradación de contaminantes del suero lácteo medida como DQO en un reactor anaerobio de lecho fijo variando el diámetro del soporte (rocas basálticas) utilizando dos diámetros promedio: 1-2 cm y 3-4 cm así como la velocidad de entrada del medio: 1,2 y 3 mL/min.
- Evaluar la degradación de contaminantes del suero lácteo medida como DQO en un reactor aerobio tipo *airlift*.
- Evaluar la degradación de contaminantes del suero lácteo medida como DQO en el sistema mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio tipo *airlift*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 Material y equipo.

Biorreactor anaerobio de lecho fijo

Biorreactor aerobio tipo *airlift*

Bomba Masterflex Cole-Parmer modelo 77200-60

Mangueras marca Masterflex Cole-Parmer tipo C-flex L/S 13

Reactor para DQO marca Hach

Espectrofotómetro UV/Vis marca Hach modelo DR 5000

Espectrofotómetro de absorción atómica GBC932AA

6.2 Medio de cultivo

Suero lácteo dulce proveniente de Santiago Huajolotitlán municipio de Huajuapán de León, Oaxaca, el cual fue caracterizado.

6.3 Medio de conservación

Tubos inclinados y placas con agar nutritivo y Saboraud.

6.4 Métodos.

6.4.1 Obtención, aclimatación y selección de los consorcios. En la tabla 4 se muestran las tres fuentes naturales de obtención de microorganismos que posiblemente poseen la capacidad de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía.

Tabla 4. Fuentes de obtención de los consorcios.

Consortio	Fuente
A	Suelo cercano a una lechería (Santiago Huajolotlán, municipio de Huajuapán de León)
B	Microorganismos propios del suero
C	Combinación del consorcio A y B

Para la obtención del consorcio aislado del suelo a una lechería (consorcio A) se utilizó un sistema por cuadrante. Se trazó un cuadro de 1 m * 1m en el suelo cercano a donde se realiza la ordeña de las vacas, éste a su vez se dividió en 25 cuadros de 20 cm cada uno, se tomó una muestra de 5 de ellos aleatoriamente para después mezclarlos y así obtener una muestra representativa. Se colocaron 10 g de suelo en un matraz Erlenmeyer de 250 mL al cual se le añadió 100 mL de suero lácteo.

Para obtener el consorcio B se colocaron 100 mL de suero lácteo en otro matraz Erlenmeyer de 250 mL.

6.4.1.1 Aclimatación de consorcios anaerobios y aerobios. Se llevó a cabo una aclimatación en cultivo de enriquecimiento por lote de los consorcios A y B, a 25 °C bajo condiciones anaerobias y aerobias en matraces Erlenmeyer de 250 mL, conteniendo 100 mL de suero lácteo y empleando los microorganismos provenientes de las fuentes mostradas en la tabla 4. Se realizaron recambios del medio de cultivo cada 48 horas y tomando un inóculo de 20 mL para su resiembra. Se obtuvo el consorcio C colocando 50 mL del consorcio A y 50 mL del B. La aclimatación se realizó durante un periodo de un mes.

6.4.1.2 Selección del consorcio anaerobio y aerobio. Se realizaron cinéticas de fermentación en cultivo por lote a 25°C empleando matraces Erlenmeyer de 250 mL, bajo condiciones anaerobias y aerobias, tomando 20 mL de inóculo del consorcio A y conteniendo 100 mL de suero lácteo. Lo anterior se repitió con los consorcios B y C. Se evaluó semanalmente la eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO durante 6 semanas y en base a los resultados obtenidos se seleccionó al consorcio con el valor de eficiencia más alto bajo condiciones anaerobias y aerobias. Los consorcios seleccionados se conservaron en cajas petri y tubos con agar inclinados con los medios antes citados.

6.4.2 Construcción de reactores.

6.4.2.1 Reactor anaerobio. Se construyeron 2 reactores con una relación altura/diámetro de 4.7, basándose en la relación entre 4 y 6 para el reactor aerobio, con una capacidad de 2 L, empleando tubo, coples, tapas y codos de PVC, llave de ½ pulgada para la salida de biomasa concentrada, una manguera para la salida del efluente, cono de sedimentación, y una rejilla que sostuviera al soporte (Ver apéndice A).

6.4.2.2 Reactor aerobio tipo airlift. Las columnas de burbujeo usualmente tienen una relación altura/diámetro entre 4 y 6 (Chisty y Moo-Young, 2002) por lo que el cuerpo del reactor es de vidrio con una relación altura/diámetro de 4.45, tapa de PVC y una capacidad de 2.0 L. Se le colocaron dos baffles de acrílico de dimensiones iguales para servir de separación de las zonas del riser y downcomer. En el fondo del reactor, dentro de la zona del riser se colocó un difusor de placa porosa para el suministro de aire (Ver apéndice A).

6.4.3 Caracterización del medio. El suero lácteo se sedimentó en conos Imhoff, al sobrenadante se le retiró la grasa de la superficie y se filtró con una malla de algodón. Se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: DQO, pH,

fosfatos, sulfatos, sólidos suspendidos, fijos y volátiles, calcio, magnesio, sodio y potasio.

6.4.4 Procedimiento general en los reactores anaerobios y aerobio tipo *airlift*.

En el diagrama 2 se muestra el procedimiento general seguido en los reactores anaerobios de lecho fijo y en el reactor aerobio tipo *airlift*.

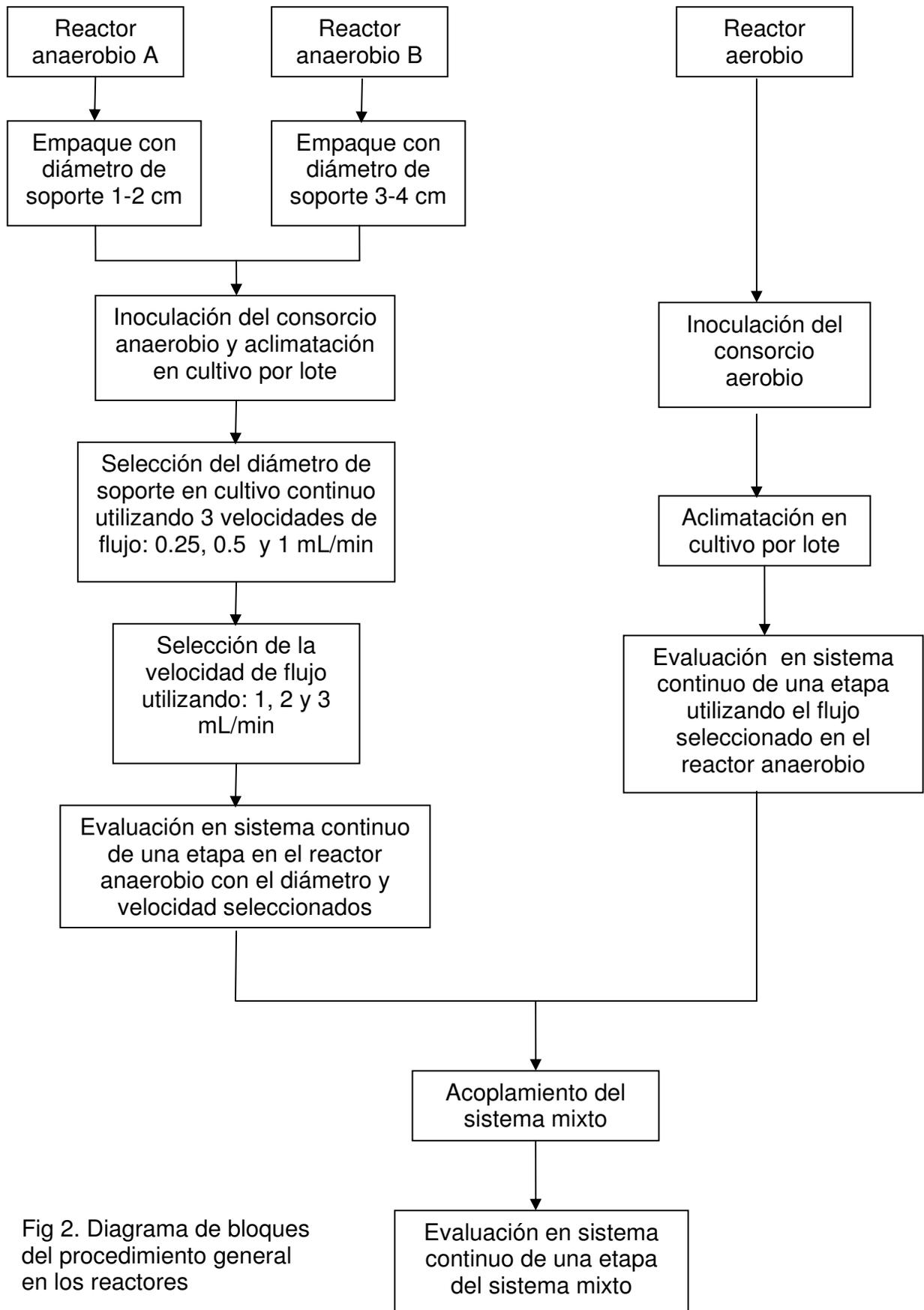


Fig 2. Diagrama de bloques del procedimiento general en los reactores

6.4.5 Reactor anaerobio de lecho fijo.

6.4.5.1 Soporte de los reactores anaerobios. Las rocas basálticas fueron colectadas en Zapotitlán Palmas municipio de Huajuapán de León, Oaxaca, las cuales se trituraron en 2 diámetros promedio diferentes: 1-2 cm y 3-4 cm. Antes de introducirse en el reactor se lavaron y esterilizaron.



Foto 1. Roca basáltica utilizada como soporte en el reactor anaerobio.

6.4.5.2 Selección del diámetro de soporte del reactor anaerobio.

6.4.5.2.1 Aclimatación del consorcio seleccionado en sistema por lote.

Como etapa previa a la evaluación en sistema continuo del consorcio anaerobio seleccionado, se aclimató en dos reactores anaerobios a 25°C, uno de ellos se empacó con soporte de rocas basálticas con un diámetro promedio de 1-2 cm (reactor A) y otro con un diámetro promedio de 3-4 cm (reactor B). En cada uno se inocularon 100 mL del consorcio y 1.9 L de suero lácteo. Se realizaron recambios de suero lácteo cada semana durante aproximadamente 5 semanas.

6.4.5.2.2 Evaluación en sistema continuo de una etapa. A los consorcios aclimatados en los reactores A y B se les evaluó la eficiencia de degradación de contaminantes del suero lácteo medida como DQO en un sistema continuo de una etapa a 25°C, empleando 3 flujos: 0.25, 0.5 y 1.0 mL/min utilizando un sistema de regulación de flujo por gravedad. Para cada velocidad de flujo se calculó el tiempo de retención operando el sistema continuo 5 veces dicho tiempo con la finalidad de alcanzar un estado de equilibrio dinámico. En base a los resultados obtenidos se llevó a cabo una comparación de las eficiencias de degradación de contaminantes de los 2 reactores con los 3 flujos propuestos con la finalidad de determinar el diámetro promedio de soporte con el cual se obtuviera la eficiencia mayor de remoción de contaminantes medida como DQO.

6.4.5.3 Selección de la velocidad de flujo de operación del Reactor anaerobio con el diámetro de soporte seleccionado. Una vez seleccionado el diámetro promedio de soporte se probaron tres velocidades de flujo: 1, 2 y 3 mL/min, utilizando una bomba peristáltica Marca Masterflex modelo 77200-60 y manguera marca Masterflex tipo C-flex L/S 13. Para cada velocidad de flujo se calculó el tiempo de retención, operando el sistema continuo 5 veces dicho tiempo con la finalidad de alcanzar un estado de equilibrio dinámico. Se evaluó en cada flujo la eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO, seleccionando el flujo con el valor de eficiencia de degradación de contaminantes más alto.

6.4.6 Reactor aerobio tipo *airlift*.

6.4.6.1 Aclimatación del consorcio seleccionado en sistema por lote. Como etapa previa a la evaluación en sistema continuo de una etapa del consorcio aerobio seleccionado, se aclimató en un reactor aerobio tipo *airlift* en cultivo por lote a 25°C, para lo cual se inocularon 100 mL del consorcio y

1.9 L de suero lácteo. Se realizaron recambios de suero lácteo cada semana durante aproximadamente 60 días.

6.4.6.2 Evaluación en sistema continuo de una etapa. Al consorcio aclimatado en el reactor aerobio se le evaluó la eficiencia de degradación de contaminantes del suero lácteo medida como DQO en un sistema continuo de una etapa, empleando el flujo seleccionado en el reactor anaerobio y operando el sistema continuo 5 veces el tiempo de residencia, con la finalidad de alcanzar un estado de equilibrio dinámico. El flujo se reguló mediante una bomba peristáltica Marca Masterflex modelo 77200-60 y manguera marca Masterflex tipo C-flex L/S 13.

6.4.7 Sistema mixto anaerobio con soporte de rocas-aerobio (reactor tipo *airlift*). Una vez evaluado el reactor anaerobio de lecho fijo y el reactor aerobio tipo *airlift* en sistema continuo de una etapa, se acoplaron para dar lugar al sistema mixto anaerobio-aerobio, evaluándose la eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO.

Como última etapa, se realizó un comparativo entre las eficiencias de degradación de contaminantes del reactor anaerobio, reactor aerobio y del sistema mixto a fin de comprobar que el sistema mixto anaerobio-aerobio tuvo una eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO mayor en el suero lácteo.

6.4.8 Análisis estadístico de los resultados. Para evaluar si hay diferencia significativa entre los diámetros de soporte utilizados en el reactor anaerobio, se realizó un diseño bifactorial utilizando el software Design-Expert 6.0.10, los factores fueron: diámetro de soporte el cual constó de dos niveles (1-2 cm y 3-4 cm) y flujo de entrada del medio con 3 niveles (0.25, 0.5 y 1 mL/min) donde la respuesta fue el % de reducción de contaminantes medida como DQO.

Se realizó un análisis de varianza para determinar si hubo diferencia significativa entre las eficiencias obtenidas en el reactor anaerobio con el diámetro de soporte y flujo seleccionados, el reactor aerobio y el sistema mixto.

6.5 Métodos Analíticos.

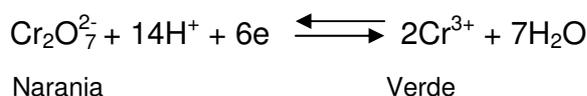
6.5.1 Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO). Método titulométrico de reflujo cerrado Semimicro (APHA, 1992).

6.5.1.1 Fundamento. Muchos contaminantes se pueden oxidar en caliente con dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), lo cual constituye un método analítico habitual para la determinación de materia orgánica en residuos. Se define la Demanda Química de Oxígeno (DQO) como la cantidad de O_2 químicamente equivalente al $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ consumido en este proceso. Se determina en términos de la cantidad de dicromato de potasio que la muestra reduce durante 2 horas a reflujo en un medio ácido a ebullición y en presencia de un catalizador de sulfato de plata.

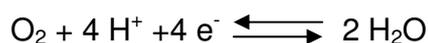
Se utiliza el método de digestión con dicromato en reactor (Método 8000 de Hach, 1997). El reactor es un incubador de tipo baño seco el cual proporciona constantemente una temperatura de $150 \pm 2^\circ\text{C}$, que es la requerida para la estimación de la demanda química de oxígeno de una muestra.

La materia orgánica en la muestra se oxida, como resultado se consume el dicromato de color amarillo que se reemplaza por el ion crómico color verdoso.

Semireacción para el dicromato:



Semireacción para el oxígeno:



Como se puede observar, cada $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ consume 6 electrones al reducirse, mientras que cada molécula de oxígeno consume 4 electrones. Por

consiguiente, el consumo de 1 mol de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ en la oxidación es equivalente al consumo de 1.5 moles de O_2 .

La medición se lleva a cabo por valoración del dicromato restante con sulfato ferroso amoniacal y ferroína como indicador; en el punto final se obtiene un color rojo-marrón el cual es debido a la formación de un complejo de ion ferroso con fenantrolina, como se muestra en las siguientes reacciones:



Fenantrolina férrica
(Azul pálido)

Fenantrolina ferrosa
(Rojo-marrón)

6.5.1.2 Reactivos.

Reactivo I: Solución oxidante: 0.25 N.

Se secan aproximadamente 15 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en una estufa a 103°C durante 2 horas. Se agregan 12.259 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ seco a 500 mL de agua destilada con 167 mL de H_2SO_4 concentrado. Posteriormente, la solución se enfría y se diluye a un litro con agua destilada.

Reactivo II: Solución catalítica.

Se disuelven 11 g de AgSO_4 en 500 mL de H_2SO_4 , aforando a un litro con H_2SO_4 .

Sulfato Ferroso Amoniacal (SFA) 0.05 N:

Se pesan 29.6 g de SFA hexahidratado y se disuelven en 500 mL de agua destilada, agregando lentamente 20 mL de H_2SO_4 concentrado, se deja enfriar y se diluye a 1 L con agua destilada.

Fenantrolina:

Se disuelven 1.485 g de fenantrolina y 695 g de sulfato ferroso heptahidratado aforando a 100 mL.

6.5.1.3 Procedimiento. Se preparan tubos previamente identificados con 1.5 mL de solución oxidante, 3.5 mL de solución catalizadora y 2.5 mL de muestra. Igualmente se preparan 2 blancos con 2.5 mL de agua destilada como muestra. Se agitan todos los tubos para prevenir el calentamiento local del fondo del tubo y una posible proyección del contenido del mismo.

Se conecta el reactor Hach para que alcance la temperatura correcta de 150°C y se colocan los tubos dentro durante 2 horas. Transcurrido este tiempo, se dejan enfriar y se transfiere el contenido de cada tubo en un vaso de precipitado, colocándole una gota de fenantrolina como indicador, utilizando SFA como solución titulante. El cambio de color en el punto final de la titulación es de azul-verdoso a café-rojizo.

Aparte, se coloca por triplicado en vasos de precipitado 3.5 mL de agua destilada, 1.5 mL de solución oxidante y 1 gota de fenantrolina, se titulan con la solución de SFA, para llevar a cabo la valoración. La normalidad de la solución del SFA se calcula con la siguiente fórmula:

$$N_{\text{SFA}} = (N_{\text{Solución oxidante}} \cdot 1.5 \text{ mL}) / \text{promedio de gastos SFA}$$

Donde:

N_{SFA} = Normalidad de la solución de SFA

$N_{\text{Solución oxidante}}$ = 0.25

La concentración de DQO en mg/L se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{mg DQO/L} = ((A-B) \times N \times 8000 \text{ mg/eq}) / V \text{ muestra (mL)}$$

Donde:

A = promedio de los mL de SFA gastados en el blanco.

B = promedio de los mL de SFA gastados en la muestra.

N = Normalidad del SFA

8000 = Factor de dilución

V = volumen de la muestra, 2.5 mL

6.5.2. Determinación de sólidos sedimentables (APHA, 1992).

Método volumétrico.

6.5.2.1 Fundamento. Los sólidos sedimentables son los materiales que sedimentan de una suspensión en un período de tiempo definido en un cono Imhoff.

6.5.2.2 Procedimiento. Se introduce en un cono Imhoff de 1 L la muestra perfectamente mezclada, se deja sedimentar y se lee el volumen del sedimento a los 10 minutos en la escala. A los 45 minutos se raspa la pared del cono con una varilla de vidrio para desprender las partículas adheridas, se deja sedimentar 15 minutos más y se lee el volumen del sedimento en la escala a los 60 minutos de iniciado el ensayo. Se midieron los sólidos sedimentables en 10 L de suero.

6.5.3 Determinación de pH.

6.5.3.1 Fundamento. El pH o la actividad del ión hidrógeno indican a una temperatura dada, la intensidad de las características ácidas o básicas de una muestra. Se define como el logaritmo inverso de la actividad de los iones hidrógeno.

$$\text{pH} = - \log [\text{H}^+]$$

$[\text{H}^+]$ = actividad de los iones hidrógeno, mol/L.

El método consiste en la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medidas potenciométricas usando un electrodo combinado o un electrodo estándar de hidrógeno de vidrio con un electrodo de referencia.

6.5.3.2 Procedimiento. Se calibra un potenciómetro con soluciones buffer de pH 4 y 7 para posteriormente medir el pH de la muestra por triplicado.

6.5.4 Determinación de Fosfatos (Ortofosfato). Aprobado por la EPA

6.5.4.1 Fundamento (Manual de operación de espectrofotómetro Hach DR 2000). El fósforo se encuentra en las aguas naturales y residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos, los fosfatos orgánicos se forman principalmente en procesos biológicos y también se pueden formar a partir de los ortofosfatos durante los procesos de tratamiento biológico o por recibir la carga biológica del agua.

El molibdato amónico y el tartrato antimonílico potásico reaccionan en medio ácido con ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico que se reduce a azul de molibdeno, de color intenso por el ácido ascórbico.

6.5.4.2 Procedimiento. Método PhosVer 3(Ácido ascórbico). (0 a 2.50 mg/L PO_4^{-3}). Se toman 50 mL del medio (suero) y se centrifugan a 3500 rpm durante 10 minutos. Se toman 0.025 mL de muestra del sobrenadante y se depositan en una celda de cuarzo marca Hach aforando a 25 mL, se adiciona el contenido de un sobre PhosVer3 marca Hach agitando para realizar un mezclado total de la muestra, se dejó 2 minutos en reposo para que se llevara a cabo la reacción. Así mismo, se prepara un blanco con agua deionizada siguiendo el procedimiento anterior.

Se emplea el número de programa 490 que se encuentra pre-establecido en el espectrofotómetro UV/Vis marca Hach modelo DR 5000 para la determinación de PO_4^{-3} expresados en mg/L ajustando la longitud de onda a 890 nm. Primeramente se ajusta a cero con el blanco y posteriormente se realiza la lectura de la muestra.

6.5.5 Determinación de sulfatos. Aprobado por la EPA

6.5.5.1 Fundamento (Manual de operación de espectrofotómetro Hach DR 2000). Los sulfatos se distribuyen ampliamente en la naturaleza y pueden presentarse en aguas naturales en concentraciones que van desde unos

pocos a varios miles de miligramos por litro. El ión sulfato se precipita en medio acético con cloruro de bario para formar cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme.

La absorción de luz producida por la suspensión del sulfato de bario se mide colorimétricamente.

6.5.5.2 Procedimiento. Método SulfaVer 4. (0 A 70 mg/L SO_4^{-2}). Del sobrenadante de la muestra centrifugada se toman 0.5 mL colocándola en una celda de cuarzo marca Hach y aforando a 25 mL. Se adiciona el contenido de un sobre de SulfaVer 4 agitando para realizar un mezclado total de la muestra, se deja 5 minutos en reposo para que se lleve a cabo la reacción. Así mismo, se prepara un blanco con agua deionizada siguiendo el procedimiento anterior. Se emplea el número de programa 355 que se encuentra pre-establecido en el espectrofotómetro UV/Vis marca Hach modelo DR 5000 para la determinación de SO_4^{-2} expresado en mg/L, ajustando la longitud de onda a 450 nm. Primeramente se ajusta a cero con el blanco y posteriormente se realiza la lectura de la muestra.

6.5.6 Determinación de calcio, magnesio, sodio y potasio.

6.5.6.1 Fundamento (Harris, 1998). La muestra se digiere para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA).

La muestra se aspira en una llama y se atomiza; se dirige un rayo luminoso a través de una llama a un monocromador y sobre un detector que mide la cantidad de luz absorbida por el elemento atomizado en la llama. Como cada metal tiene su propia longitud de onda de absorción característica, se utiliza como fuente luminosa una lámpara compuesta de dicho elemento, esto proporciona un método relativamente libre de interferencias espectrales o de radiación. La cantidad de energía absorbida en la llama a una longitud de

onda característica es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, en un intervalo de concentración limitado.

6.5.6.2 Procedimiento. A 5 mL de suero lácteo se le agregan 10 mL de ácido clorhídrico marca JT Baker al 10%, por triplicado en vasos de precipitado, se prepara un blanco con 5 mL de agua deionizada y 10 mL de ácido clorhídrico al 10%. Las muestras se digieren, calentándolas en una parrilla marca Thermoline, a una temperatura de 80 °C durante 2 horas, tapados con vidrio de reloj. Las muestras se filtran a través de un filtro Whatman No. 42 y se colocan en matraces volumétricos aforando a 100 mL.

Las muestras se leen en un espectrofotómetro de absorción atómica marca GBC modelo 932 AA (Ver apéndice B).

6.6 Características morfológicas de los consorcios seleccionados.

Coloración de Gram.

6.6.1 Fundamento. Ésta técnica diferencial es una de las de uso más común en microbiología. El froti bacteriano teñido se somete a las soluciones siguientes en el orden que se indica: cristal violeta, solución de yodo, alcohol (decolorante) y safranina o alguna otra solución colorante de contraste conveniente. Las bacterias sometidas al método de Gram pertenecen a dos grupos: bacterias gram positivas, que retienen el cristal violeta y aparecen color violeta profundo; las bacterias gram negativas que pierden el cristal violeta y por el contraste de la safranina aparecen rojas (Pelczar, 1998).

Tabla 5. Coloración de Gram (Pelczar, 1998).

Soluciones aplicadas por su orden	Grampositivas	Gramnegativas
1 Cristal violeta	Las bacterias se tiñen en violeta	Las bacterias se tiñen en violeta
2 Solución yodo yodurada (Iugol)	Complejo CV-I se forma dentro de las bacterias; las bacterias permanecen violeta	Complejo CV-I se forma dentro de las bacterias, las bacterias permanecen violeta
3 Alcohol	Las paredes celulares se deshidratan, hay retracción de los poros, la permeabilidad disminuye, el complejo CV-I no puede salir de la bacteria, permanecen violeta	Extracción de lípidos de las paredes celulares, aumento de porosidad, CV-I sale de la bacteria
4 Safranina	Las bacterias no afectadas permanecen violeta	Las bacterias toman este colorante y se tiñen de rojo

6.6.2 Procedimiento. Se preparan frotis fijos por triplicado tanto del consorcio anaerobio como del aerobio de la siguiente manera:

1. Se hace el froti o película tomando asadas de la muestra y colocándolas en el portaobjetos formando una película delgada con la misma asa.
2. Se fijan los microorganismos dejando secar y pasando rápidamente el portaobjetos por el mechero.
3. Se hace la aplicación de las soluciones colorantes en el orden de la tabla 5.
4. Se observan al microscopio con 100x de aumento colocando una gota de aceite de inmersión sobre un cubreobjetos.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 Caracterización del medio.

Debido a que cada agua residual es única en sus características, en el presente trabajo se llevó a cabo la caracterización del suero lácteo determinando sus principales parámetros fisicoquímicos.

Como parte de un pre-tratamiento del suero lácteo, se eliminaron los sólidos en suspensión y grasa, para lo cual se colocó 1 L de suero lácteo en un cono Imhoff determinando el volumen de sedimento a los 10 y 60 min, se llevaron a cabo 10 corridas. A los 10 min de iniciado el ensayo no se registró ningún cambio, a los 60 min se alcanzó un volumen de sedimento, el cual en promedio fue de 0.4 ± 0.1 mL.

Una vez sedimentado el medio, se separó el sobrenadante al que se le retiró la grasa de la superficie y se filtró a través de una malla de algodón a fin de eliminar algunas partículas que no se alcanzaron a sedimentar y grasa no removida.

Posteriormente se determinó la DQO, pH, así como los siguientes parámetros fisicoquímicos: fosfatos, sulfatos, calcio, magnesio, sodio y potasio a fin de conocer la proporción en la cual se encontraban presentes en el suero lácteo, los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de la estandarización del medio.

Parámetro	Concentración (ppm)
DQO	71 740±13.9
pH	6.4±0.02
Sulfatos	850
Fosfatos	1010
Calcio	438±9.8
Magnesio	82±2.07
Sodio	368±4.6
Potasio	680.6±3.9

El valor obtenido de DQO del suero lácteo fue de 71,740 ppm, el cual se encuentra en el rango reportado por Fournier y col. en 1993 que es de 50,000-80,000 ppm. En el presente trabajo, se determinó la DQO como medida indirecta del componente principal del suero lácteo que es la lactosa, compuesto a quien se debe más del 90% de las demandas químicas y bioquímicas que el suero genera (Fournier y col, 1993).

El segundo constituyente en importancia en el suero lácteo son las proteínas, las cuales no se determinaron en el presente trabajo debido a que el aporte en la demanda química de oxígeno es menor en comparación con la que aporta la lactosa (Fournier y col, 1993), así mismo se ha reportado como el componente más recalcitrante del suero lácteo (Jones, 1974; Robles, 2000), por lo que la mayoría de los microorganismos no poseen la capacidad para consumirlas siendo muy probable que su concentración en el medio de cultivo no varíe significativamente al no contar con un consorcio que pudiera consumirlas.

De acuerdo con la clasificación realizada por Rondan, el suero lácteo empleado en el presente trabajo corresponde a un suero lácteo dulce, ya que su valor de pH fue de 6.4.

En el caso de los macronutrientes calcio y potasio, se obtuvieron valores mayores a lo reportado por Nemerow en 1977, cuyas concentraciones fueron 350 y 450 ppm respectivamente, para sodio el valor obtenido fue menor a lo reportado de 648 ppm, para magnesio, sulfatos y fosfatos no se encontraron concentraciones reportadas en bibliografía (Nemerow, 1977). Estas variaciones podrían deberse principalmente a la composición de la materia prima (leche) utilizada, ya que varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, alimento, época del año y muchos otros factores (Wattiaux M.A., 2000), así como a los procesos a los cuales se somete la leche para la elaboración de los quesos.

7.2 Obtención, aclimatación y selección de los consorcios.

7.2.1 Obtención y aclimatación de los consorcios anaerobios y aerobios.

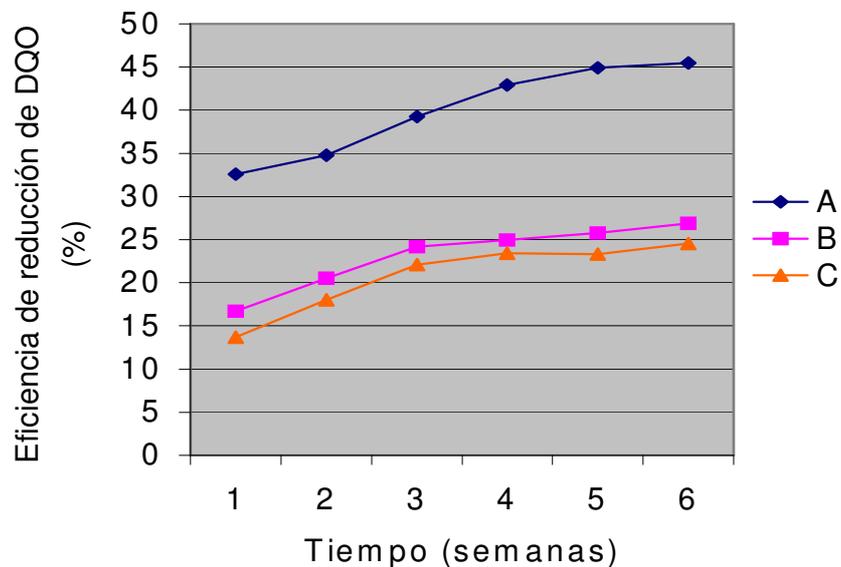
En la tabla 4 se muestran las fuentes de obtención de los consorcios en la cual existe la posibilidad de encontrar a microorganismos que posean la capacidad de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía. Una vez obtenidos los microorganismos se aclimataron colocando una muestra de ellos en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, conteniendo 100 mL de suero lácteo caracterizado a temperatura ambiente (25°C), realizando recambios cada 48 horas tomando un inóculo de 20 mL para su resiembra, durante un periodo de un mes.

Tabla 4. Fuentes de obtención de los consorcios.

Consortio	Fuente
A	Suelo cercano a un establo
B	Microorganismos propios del suero
C	Combinación del consorcio A y B

7.2.2 Selección del consorcio anaerobio y aerobio. Una vez aclimatados los consorcios anaerobios y aerobios, se sometieron a una selección realizando cinéticas de fermentación bajo condiciones anaerobias y aerobias en cultivo por lote a una temperatura de 25°C. Se emplearon matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 100 mL de suero lácteo inoculados con 20 mL del consorcio, evaluando semanalmente la eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO durante 6 semanas.

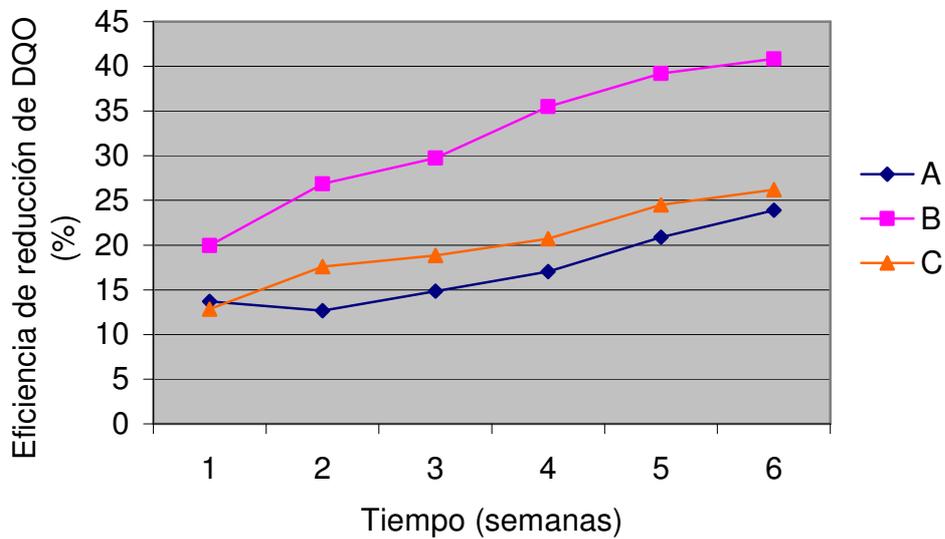
Los resultados obtenidos de eficiencia de degradación de contaminantes para cada uno de los consorcios se muestran en la gráfica 1 y 2.



Gráfica 1. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios anaerobios.

Tabla 7. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios anaerobios.

Consortio	Eficiencias de degradación de contaminantes (%)					
A	32.6	34.8	39.3	42.9	44.9	45.5
B	16.7	20.5	24.2	24.9	25.8	26.9
C	13.7	18	22.1	23.4	23.3	24.5



Gráfica 2. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios aerobios.

Tabla 8. Eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO de los consorcios aerobios.

Consortio	Eficiencias de degradación de contaminantes (%)					
A	13.7	12.7	14.9	17.02	20.9	23.9
B	19.9	26.9	29.7	35.5	39.2	40.8
C	12.9	17.6	18.9	20.7	24.5	26.2

En las gráficas 1 y 2 se puede observar que a medida que transcurre el tiempo, la eficiencia de remoción de contaminantes aumenta, debido probablemente a que existe un incremento en cada recambio del número de microorganismos que poseen una capacidad mayor de emplear al suero lácteo como fuente de carbono y energía.

Se seleccionó el consorcio anaerobio A y el aerobio B, los cuales tuvieron la eficiencia mayor de remoción de contaminantes medida como DQO con un 45% y 41% respectivamente, por lo que se conservaron en cajas petri y tubos con agar inclinados.

Los resultados obtenidos con el consorcio anaerobio A pueden deberse a que el suelo del cual se aislaron estuvo en contacto con leche derramada, teniendo los microorganismos presentes una capacidad mayor de emplear a los componentes de la leche como fuente de carbono y energía. El consorcio aerobio B tuvo una eficiencia mayor debido probablemente a que fue el que mejor se adaptó a las condiciones de trabajo.

Una vez seleccionados los consorcios, fueron utilizados como inóculo para las etapas de evaluación de los sistemas continuos de una etapa en un reactor anaerobio de lecho fijo y del reactor aerobio tipo *airlift*.

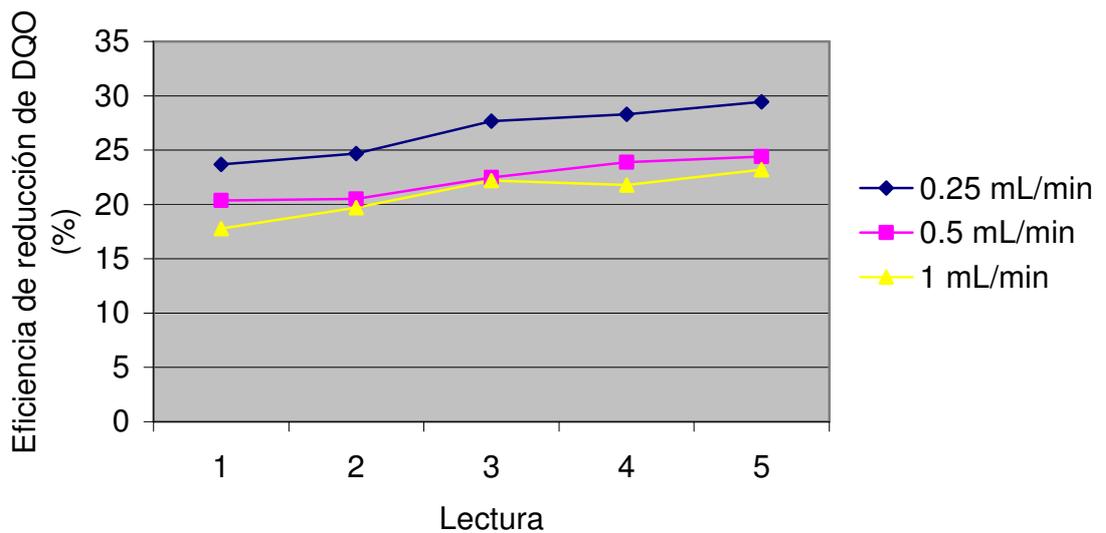
7.3 Reactor anaerobio de lecho fijo.

7.3.1 Selección del diámetro de soporte. La selección del diámetro de soporte se llevó a cabo en sistema continuo de una etapa, para lo cual, como una primera fase se aclimató el consorcio anaerobio seleccionado en cultivo por lote en los reactores A y B, con la finalidad de que se formara una biopelícula sobre la superficie del soporte.

7.3.1.1 Etapa de aclimatación. Se emplearon dos reactores construidos de PVC, el reactor A se empacó con roca basáltica como medio de soporte con diámetro de 1-2 cm y el reactor B con diámetro de soporte de 3-4 cm. Se inocularon con 100 mL del consorcio A adicionando 1.9 L de suero lácteo,

realizando recambios del medio cada semana durante aproximadamente 5 semanas, al término de este periodo se tomaron muestras de la superficie de la roca las cuales se observaron al microscopio identificándose la presencia de levaduras, hongos y bacterias (ver Apéndice C).

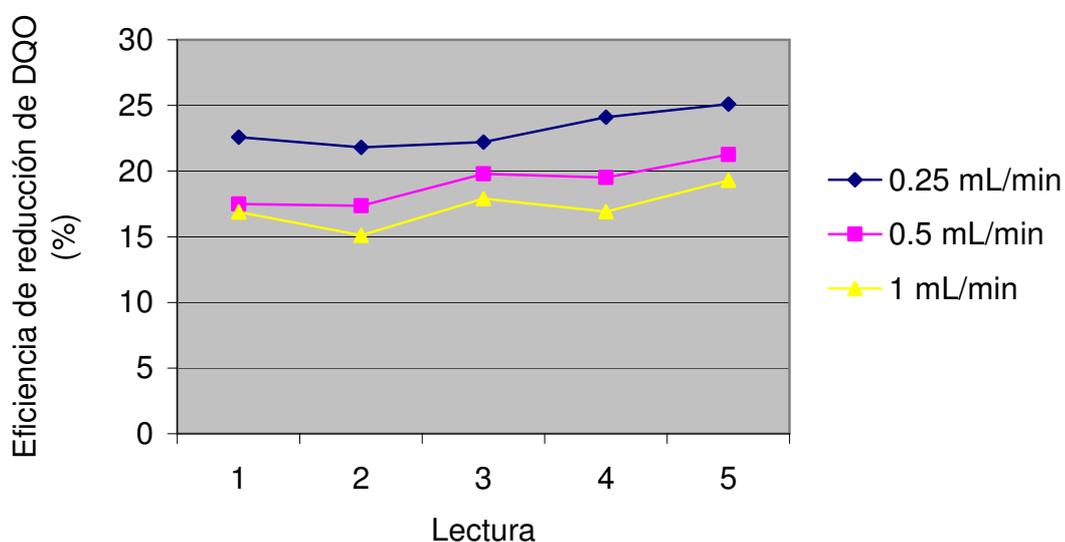
7.3.1.2 Selección del diámetro de soporte en cultivo continuo de una etapa. Una vez aclimatados los consorcios en los reactores A y B, se evaluaron en un sistema continuo, probando tres velocidades de flujo: 0.25, 0.5 y 1.0 mL/min, en cada velocidad de dilución se determinó la remoción de contaminantes medida como DQO. Los resultados obtenidos se muestran en las gráficas 3 y 4.



Gráfica 3. Evaluación del diámetro de soporte en el reactor anaerobio A (1-2 cm) operando en cultivo continuo.

Tabla 9. Eficiencias de degradación de contaminantes en el reactor anaerobio A en cultivo continuo.

Flujo (mL/min)	Eficiencias de degradación de contaminantes (%)				
0.25	23.7	24.7	27.6	28.3	29.5
0.5	20.4	20.5	22.5	23.9	24.4
1	17.8	19.7	22.2	21.8	23.2



Gráfica 4. Evaluación del diámetro de soporte en el reactor anaerobio B (3-4 cm) operando en cultivo continuo.

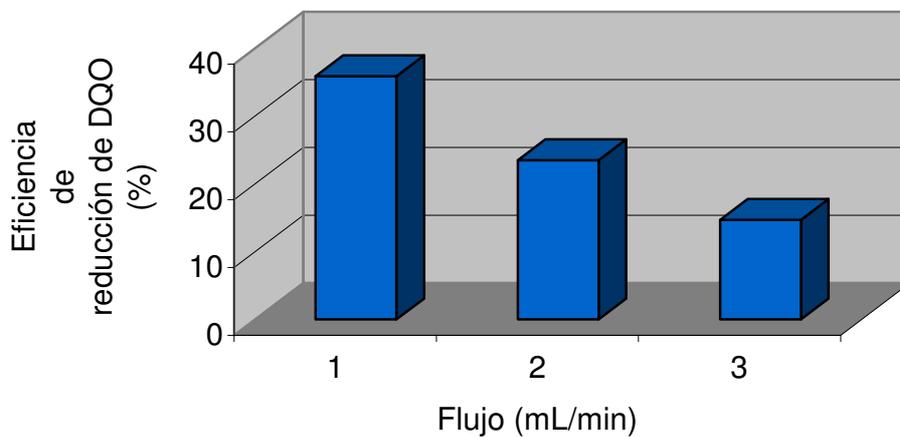
Tabla 10. Eficiencias de degradación de contaminantes en el reactor anaerobio B en cultivo continuo.

Flujo (mL/min)	Eficiencias de degradación de contaminantes (%)				
0.25	22.6	21.8	22.2	24.1	25.1
0.5	17.5	17.4	19.8	19.5	21.3
1	16.9	15.1	17.9	16.9	19.3

En las gráficas 3 y 4 se observa que la eficiencia mayor de degradación de contaminantes medida como DQO en ambos reactores (A y B), se logró con un flujo de 0.25 mL/min, alcanzándose un 29.5% y un 25.1% respectivamente, así mismo a velocidades mayores de 0.25 mL/min la eficiencia de degradación de contaminantes disminuye, lo cual podría deberse a que el tiempo de contacto entre los microorganismos y el medio es menor; por otra parte durante este periodo de evaluación los flujos fueron regulados empleando un sistema de regulación de goteo por gravedad, no siendo constantes durante ciertos periodos de tiempo, lo cual pudo afectar los resultados obtenidos debido a que no se alcanzaba un estado de equilibrio dinámico. El reactor anaerobio A (diámetro de soporte de 1-2 cm) tuvo una eficiencia de degradación de DQO mayor en comparación con el reactor B (diámetro de 3-4 cm); al realizar el análisis estadístico se encontró que no existe diferencia significativa entre las eficiencias obtenidas en ambos. Basándose en los resultados obtenidos cabe esperar que al emplear diámetros menores a 1 cm, aumente la eficiencia siendo significativo con respecto a lo obtenido con el diámetro de 3-4 cm, sin embargo al disminuir el diámetro de soporte, la roca se fragmenta con facilidad y se pierden las cavidades siendo poco práctico para el proceso propuesto. Por lo anterior se eligió el reactor anaerobio A debido a que las eficiencias de degradación de contaminantes así como las características físicas de la roca permanecieron constantes en el periodo de tiempo evaluado.

Con la finalidad de aumentar las eficiencias de remoción de contaminantes en los siguientes experimentos, el suero lácteo se complementó con sulfato de amonio como fuente externa de nitrógeno a una relación sulfato de amonio/lactosa de 0.26 (Galíndez y Ruiz, 1994). La cantidad requerida se obtuvo considerando que el suero lácteo tiene 5.2 g de lactosa/L (Oura, 1983).

7.3.2 Selección de la velocidad de flujo de operación con el diámetro de soporte seleccionado. Debido a que el sistema de regulación de flujo empleado durante la selección del diámetro de soporte no permitió un suministro de medio constante, en esta etapa se utilizó una bomba peristáltica marca Masterflex y manguera marca Masterflex tipo C-flex L/S 13, obteniéndose un flujo mínimo de 1mL/min, así mismo se probaron: 2 y 3 mL/min, en cada velocidad de dilución evaluada se determinó la remoción de contaminantes medida como DQO. Los resultados se muestran en la gráfica 5.



Gráfica 5. Evaluación de la velocidad de flujo en el reactor anaerobio con diámetro de soporte de 1-2 cm.

Tabla 11. Eficiencia de degradación de contaminantes en la evaluación de la velocidad de flujo en el reactor anaerobio A.

Flujo (mL/min)	Eficiencia de degradación de contaminantes (%)
1	37.9
2	25.0
3	14.7

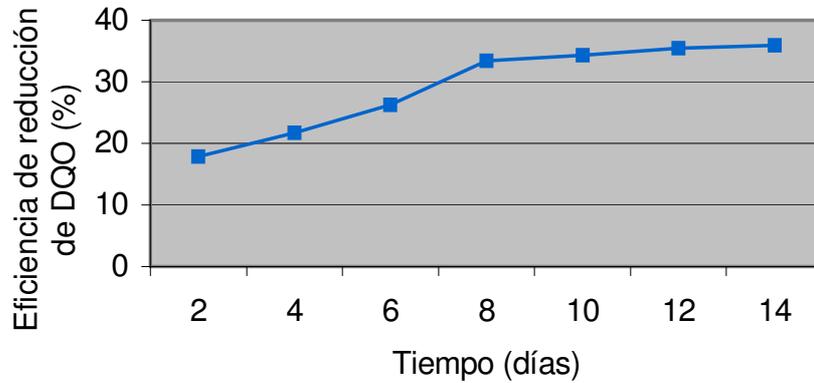
La eficiencia mayor de remoción de contaminantes se obtuvo con un flujo de 1mL/min, a velocidades mayores disminuye la eficiencia de degradación de contaminantes.

Una característica observada durante las etapas de selección del diámetro de soporte y la velocidad de flujo fue que a medida que la velocidad de dilución aumenta, la eficiencia de degradación de contaminantes disminuye, esto quiere decir que el tiempo de residencia de los microorganismos en el medio de cultivo no es suficiente para degradar a la materia orgánica. Si quisiéramos emplear una velocidad de dilución mayor sin que se vea afectada la remoción de contaminantes, se podría pensar en emplear un sistema con retroalimentación de biomasa en los reactores biológicos, con lo cual el tiempo de residencia de los microorganismos aumentaría y por lo tanto habría la posibilidad de obtener un mejor resultado en la eficiencia de remoción de la DQO.

Se podría elegir el flujo de 0.25 mL/min obtenido en la etapa de selección del diámetro de soporte en el que se observó una eficiencia de remoción de contaminantes mayor, sin embargo para obtener dicho flujo el diámetro de la tubería tendría que ser menor a 2 mm, lo cual no permitiría el paso de suero lácteo debido a su contenido de materia orgánica obstruyéndose la tubería y no permitiendo un flujo constante, así mismo se tiene la restricción de flujos obtenidos con la bomba peristáltica empleada cuyo flujo mínimo es de 1 mL/min. Por lo anterior se eligió el flujo obtenido en la presente etapa con el cual se alcanzó la eficiencia de remoción de contaminantes mayor.

En las siguientes etapas (sistema aerobio de etapa simple y sistema mixto) se empleó el flujo seleccionado en la etapa anterior (1 mL/min), ya que con esto se evitaría la acumulación de medio en la etapa anaerobia en el caso que el flujo sea mayor con respecto a la etapa aerobia o bien la falta de medio en la etapa aerobia en caso contrario.

En la gráfica 6 se muestra la cinética del reactor anaerobio con la velocidad de flujo de 1 mL/min.



Gráfica 6. Eficiencia del reactor anaerobio operando en cultivo continuo de una etapa con flujo de 1 mL/min.

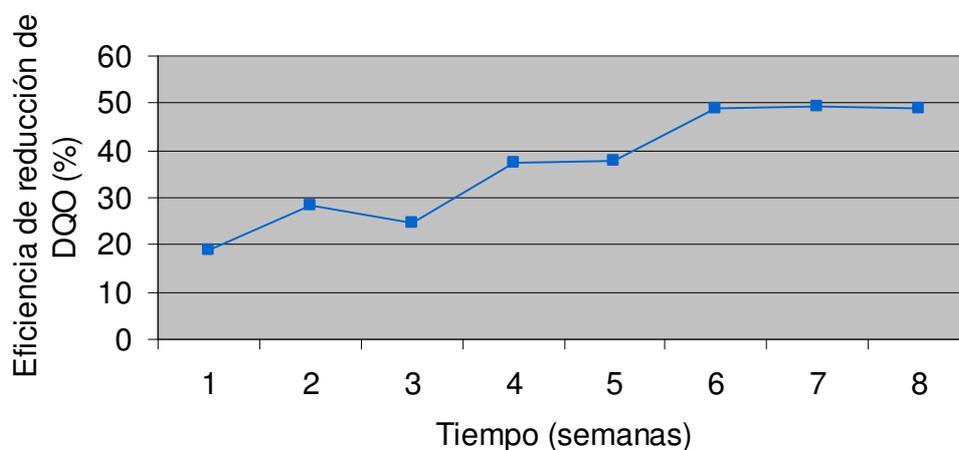
Tabla 12. Eficiencia de degradación de contaminantes en el reactor anaerobio en cultivo continuo de una etapa (1 mL/min).

	Días							
	2	4	6	8	10	12	14	
Eficiencia de degradación de contaminantes (%)	17.8	21.7	26.2	33.4	34.3	35.5	35.9	

Como se muestra en la gráfica 6 conforme transcurre el tiempo de operación la eficiencia de remoción de contaminantes aumenta hasta alcanzar un valor constante del 36%, esto se logra a los 8 días de haber empezado la cinética lo cual concuerda con el tiempo de residencia teórico donde el sistema alcanza un estado de equilibrio dinámico aproximadamente a los siete días. Éste valor fue mayor al obtenido en la etapa de selección del diámetro de soporte del reactor anaerobio (23.2%). El incremento en la eficiencia podría deberse a la adición de una fuente externa de nitrógeno en el medio de cultivo y al suministro constante de medio.

7.4 Reactor aerobio tipo *airlift*.

7.4.1 Etapa de aclimatación. El reactor aerobio se inoculó con 100 mL del consorcio aerobio B adicionando 1.9 L de suero lácteo. Se realizaron recambios semanalmente durante aproximadamente 60 días evaluando la eficiencia de degradación de contaminantes medida como DQO obteniendo los resultados mostrados en la gráfica 7.



Gráfica 7. Eficiencia del reactor aerobio operando en cultivo por lote.

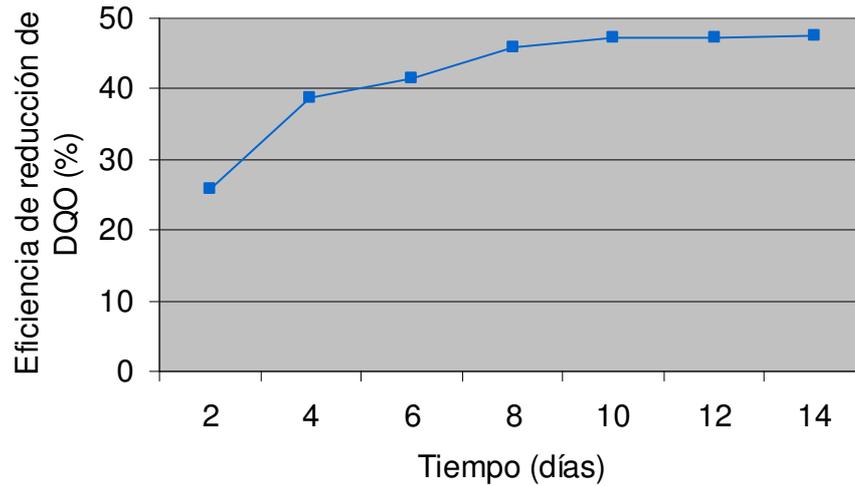
Tabla 13. Eficiencia de degradación de contaminantes en el reactor aerobio en cultivo por lote.

	Semanas							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Eficiencia de degradación de contaminantes (%)	18.8	28.4	24.8	37.2	37.6	49.0	49.4	49.0

En la gráfica 7 se puede observar que conforme transcurre el tiempo de aclimatación el porcentaje de eficiencia de remoción de contaminantes aumenta gradualmente hasta llegar a un valor constante a partir de la sexta semana con un valor de 49% finalizando el periodo de aclimatación, por lo que se procedió a evaluar al consorcio en un sistema continuo de una etapa.

7.4.2 Evaluación del reactor aerobio en sistema continuo de una etapa.

Durante esta etapa se empleó la velocidad de flujo de alimentación de 1 mL/min. Se evaluó la eficiencia de remoción de contaminantes medida como DQO obteniendo los resultados que se muestran en la gráfica 8.



Gráfica 8. Eficiencia del reactor aerobio operando en cultivo continuo de una etapa con flujo de 1 mL/min.

Tabla 14. Eficiencia de degradación de contaminantes en el reactor aerobio en cultivo continuo (1 mL/min).

	Días						
	2	4	6	8	10	12	14
Eficiencia de degradación de contaminantes (%)	25.8	38.6	41.4	45.9	47.2	47.3	47.4

En la gráfica 8 se muestra que en los primeros días de operación del reactor biológico la eficiencia de degradación de contaminantes aumentó, hasta llegar a un estado de equilibrio dinámico a partir de los 8 días de haber empezado la cinética obteniéndose una eficiencia del 47%.

El reactor aerobio presentó una eficiencia de degradación de contaminantes mayor medida como DQO en comparación con el reactor anaerobio de lecho fijo, debido a que bajo condiciones aerobias el oxígeno suministrado ayuda a los consorcios microbianos a llevar a cabo la oxidación de la materia orgánica e inorgánica (Vochten, P.S., 1988).

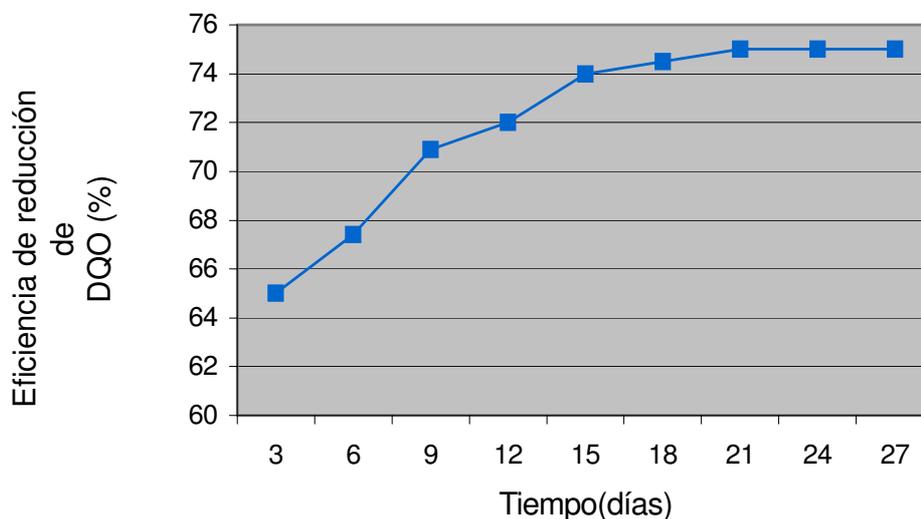
7.5 Sistema mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio (tipo *airlift*).

Una vez evaluado el reactor anaerobio de lecho fijo y el reactor tipo *airlift* en sistema continuo de una etapa, se acoplaron para dar lugar al sistema mixto anaerobio-aerobio tal como se muestra en la foto 2.



Foto 2. Sistema mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio.

Los resultados obtenidos de la eficiencia total de degradación de contaminantes en el sistema mixto se muestran en la gráfica 9.



Gráfica 9. Eficiencia de reducción de contaminantes medida como DQO del sistema mixto anaerobio-aerobio operando en cultivo continuo de una etapa.

Tabla 15. Eficiencias de degradación de contaminantes en el sistema mixto en cultivo continuo de una etapa.

	Días									
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	
Eficiencia de degradación de contaminantes (%)	65.0	67.4	70.9	72.0	74.0	74.5	75.0	75.0	75.0	75.0

Como se puede observar en la gráfica 9 durante los primeros 15 días de operación del sistema mixto la eficiencia de reducción de DQO aumentó alcanzando un estado de equilibrio dinámico a partir de los 18 días con una eficiencia máxima de 75%, lo cual se aproxima al tiempo de residencia teórico en el cual se alcanzaría un estado de equilibrio dinámico cuyo valor es de aproximadamente catorce días.

Arrojo y Omil en el 2002 reportaron eficiencias del 95.5% en la reducción de la DQO en aguas residuales de la industria láctea con un valor inicial de DQO de 4500 ppm. El valor obtenido de degradación de contaminantes en el sistema mixto propuesto es 21% menor a lo reportado por Arrojo pero cabe aclarar que la carga de contaminantes con la que se trabajó fue mayor (71, 740 ppm).

En la tabla 9 se muestran las eficiencias del reactor anaerobio y del aerobio tipo *airlift* en el sistema mixto en estado equilibrio dinámico así como las eficiencias de los tratamientos individuales.

Tabla 16. DQO y eficiencia de degradación de DQO en los tratamientos evaluados.

Tratamiento	DQO (ppm)	Eficiencia de remoción de contaminantes en el sistema de tratamiento mixto (anaerobio-aerobio) (%)	Eficiencia de los tratamientos individuales
Inicial	71740		
Reactor anaerobio	46272.3	35.3	35.9
Reactor aerobio	17935	39.7	47.0
Sistema mixto	17935	75.0	

La eficiencia del reactor anaerobio dentro del sistema mixto se mantuvo constante con respecto a los valores obtenidos en la evaluación individual. En el caso del reactor aerobio su eficiencia disminuyó lo cual podría deberse a la producción de metabolitos secundarios, como sería el ácido láctico, el cual pudo modificar el pH del medio o bien aportar una carga orgánica mayor al sistema aerobio.

Así mismo se muestra que utilizando el sistema mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio se obtiene una eficiencia mayor con respecto a las obtenidas en los sistemas individuales, ya que los compuestos presentes en el suero lácteo fueron sometidos a oxidaciones tanto anaerobias como aerobias. En el sistema anaerobio se llevó a

cabo una hidrólisis de los compuestos orgánicos complejos (proteínas, grasas e hidratos de carbono) para producir unidades moleculares menores, así como de subproductos generados en el proceso, los cuales requieren de un tratamiento final llevado a cabo por los microorganismos presentes en el sistema aerobio así como por la oxidación debido a la presencia de oxígeno disuelto (Zitomer y Speece, 1993; Dietz, 1980). Al realizar el análisis estadístico se encontró que existe diferencia significativa entre las eficiencias de degradación de contaminantes medida como DQO por parte de los diferentes tratamientos, siendo más eficiente el sistema mixto con 75%.

Aún teniendo una reducción del 99% de la DQO el valor obtenido es todavía elevado en comparación con lo requerido en la NOM-001-ECOL-1996, lo que nos lleva a considerar la necesidad de implementar un sistema de tratamiento fisicoquímico posterior al proceso biológico con la finalidad de cumplir con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana.

8. CONCLUSIONES.

El empleo de un sistema de tratamiento mixto constituido de un reactor anaerobio de lecho fijo con soporte de rocas basálticas (con diámetro de 1-2 cm) y un reactor aerobio tipo *airlift*, ambos en sistema continuo de una etapa utilizando una velocidad de flujo de 1 mL/min e inoculados con consorcios anaerobios y aerobios obtenidos de fuentes naturales, aumentó la eficiencia de degradación de contaminantes del suero obteniéndose un valor de 75% de eficiencia en comparación con los sistemas individuales anaerobio de lecho fijo (35.9%) y aerobio (47%).

9. PERSPECTIVAS.

- Probar diferentes tipos de soportes en el reactor anaerobio y configuraciones del reactor aerobio tipo *airlift* a fin de determinar si existe una mayor remoción de contaminantes.
- Determinar la concentración de sustrato limitante (lactosa) y su relación con la remoción de contaminantes medida como DQO.
- Implementar un sistema de tratamiento fisicoquímico posterior al sistema de tratamiento mixto anaerobio de lecho fijo-aerobio con la finalidad de cumplir con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana.
- Determinar la eficiencia de remoción de contaminantes empleando un sistema de reacción con retroalimentación de biomasa en la etapa aerobia.
- Optimizar las condiciones de operación del sistema de reacción: temperatura, velocidad de flujo y porcentaje de retroalimentación.

10. BIBLIOGRAFÍA

APHA, AWWA, WPCF. (1992). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ediciones Díaz de Santo. España.

Arrojo B, Omil F. (2002). Combinación de un filtro anaerobio y un sistema SBR para el tratamiento de las aguas generadas en un laboratorio de análisis de productos lácteos. Universidad de Santiago de Compostela, Instituto de Investigaciones Tecnológicas. Facultad de Ciencias.

Ben-Hassan, R.M. y Ghaly, A. E. (1994). Continuous propagation of *Kluyveromyces fragilis* in cheese whey for pollution potential reduction. *Appl. Biochem. Biotechnol.* Vol. 47 (1), 89-105.

Chisti, Yusuf y Murray Moo-Young. (2002). Bioreactors, *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. Vol. 2 (On-line), Academic Press, 247-266.

Cristiani, U.E. (2000). Diseño de un proceso para la depuración del suero lácteo empleando cultivos mixtos de levaduras. Tesis Doctoral. ENCB, IPN. México D.F.

Costerton JW. (1999). Introduction to biofilms. *Int. J. Antimicrob. Agents*. Vol.35, 34-39.

Degrémont Company (ed). (1979). Tratamiento de efluentes industriales. Industrias agrícolas y alimentarias. En: *Manual Técnico del Agua*. 4ª edición. Artes Gráficas Grijelmo, S.A. Bilbao. España.

Dietz D.M. (1980). The intrusion of polluted water into a groundwater body and the biodegradation of pollutant. *Conf. Control of Haz. Mater. Spills*. Sponsored by U.S. EPA et al.

Fournier, D., Schwitzguebel, J.P. y Peringer, P. (1993). Effect of different heterogeneous inocula in acidogenic fermentation of whey permeate. *Biotechnol.* Vol. 15, 627-632.

Galíndez Mayer J., Ruíz Ordaz N. (1994). Fundamentos biocinéticos para el diseño de procesos fermentativos. *Informes Técnicos. Bioingeniería.* Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México.

González, M.I. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Biores. Technol.* Vol. 57, 1-11.

González Martínez S., Nava Ramírez C. (1995). Determinaciones cinéticas en películas biológicas. Instituto de ingeniería UNAM.

Hach water analysis handbook. (2000). Chemical oxygen demand. Reactor digestion method. Hach Company. 2^a edition. Colorado, USA.

Harris Daniel C. (1998). *Análisis Químico Cuantitativo* 2^a edición, Ed. Reverte. Capítulo 16.

Jelen, P. (1992). Whey: Composition, properties, processing and uses. En: *Encyclopedia of Food Science and Technology.* Hui, Y.H. (ed.). John Wiley y Sons, Inc. New York, USA. Vol. 4.

Jones, H.R. (ed.). (1974). Dairy plant waste treatment. En: *Pollution Control in the Dairy Industry.* Noyes Date Corporation. New Jersey, U.S.A.

Kosaric, N. y Asher, Y.J. (1985). The utilization of cheese whey and its components. *Adv. Biochem.Eng. Biotechnol.* Vol. 32, 25-60.

Lund, B., Norddahl, B. y Ahring, B. (1992). Production of lactic acid from whey using hydrolysed whey protein as nitrogen source. *Biotechnol.* Vol. 14, 851-856.

Metcalf y Eddy, Inc. (1985). *Ingeniería Sanitaria. Tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales.* Segunda edición. Editorial Labor. España.

Moresi, M. Trunfio, A. y Parente, E. (1990). Kinetics of continuous whey fermentation by *Kluyveromyces fragilis*. *Technol. Biotechnol.* Vol. 49, 205-222.

Nemerow, Nelson L. y Avijit Dasgupta. (1998). *Tratamiento de Vertidos Industriales y Peligrosos,* Ediciones Díaz de Santos, S. A. España.

Nemerow Nelson. (1977). *Aguas residuales industriales, Teorías, Aplicaciones y Tratamientos.* Editorial H. Blume. 1ª edición.

Olsen, J. y Allermann, K. (1987). Microbial biomass as a protein source. En: *Basic Biotechnology.* Bullock .J y Kristiansen, B. (eds). Academic Press, Inc. London, Great Britain.

Oura, E. (1983). Biomass from carbohydrates. En: *Biotechnology.* Vol.III Rhem, H.J. y Reed, G.(ed).Verlag Chemie. Deerfield Beach, Florida.

Pelczar M., Chan E. (1982). *Microbiología.* Ed. McGraw-Hill. 2ª edición. México.

Ramalho, R.S. (1993). *Tratamiento secundario.* En: *Tratamiento de aguas residuales.* Editorial Reverté. Barcelona, España.

Robles V., Castañón H. (2003). *Estudio Preliminar de la utilización de rocas de la región Mixteca, como posibles soportes en reactores biológicos.*

Robles V. (2000). Tesis de maestría. Aislamiento de consorcios microbianos naturales para la depuración del suero lácteo. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.

Romero Rojas J.A. (1999). Tratamiento de aguas residuales por lagunas de estabilización. Grupo editorial AlfaOmega. Tercera edición. México.

Rondan Laín E. (2000). El suero lácteo de quesería: el ayer y el presente.

Scriban Rene. (1985). Biotecnología, El Manual Moderno. México.

Seoanez Calvo, Mariano. (1995). Aguas Residuales Urbanas. Tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento. Ediciones MUNDI-PRENSA. España.

Spreer Edgar. (1991). Lactología Industrial. Ed. Acribia. España.

Stanbury, P.F. y Whitaker, A. (1987). Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press. Great Britain.

Veisseyre Roger. (1998). Lactología Técnica. Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche. Ed. Acribia. España.

Vochten, P. S. et al. (1988). Aerobic versus anaerobic wastewater treatment. Quinto simposium internacional, Anaerobic Digestion, IAWPRC.

Wattiaux Michel A. (2000). Composición de la leche y valor nutricional. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Esenciales Lecheras. Universidad de Wisconsin-Madison.

Wildbrett Gerhard. (2000). Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. Ed. Acribia. España.

Zitomer D. H. y Speece R. E. (1993). Sequential environments for enhanced biotransformation of aqueous contaminants. *Environmental Science and Technology*. Vol. 5, 727-732.

APÉNDICE A. CONSTRUCCIÓN DE REACTORES

Reactor anaerobio

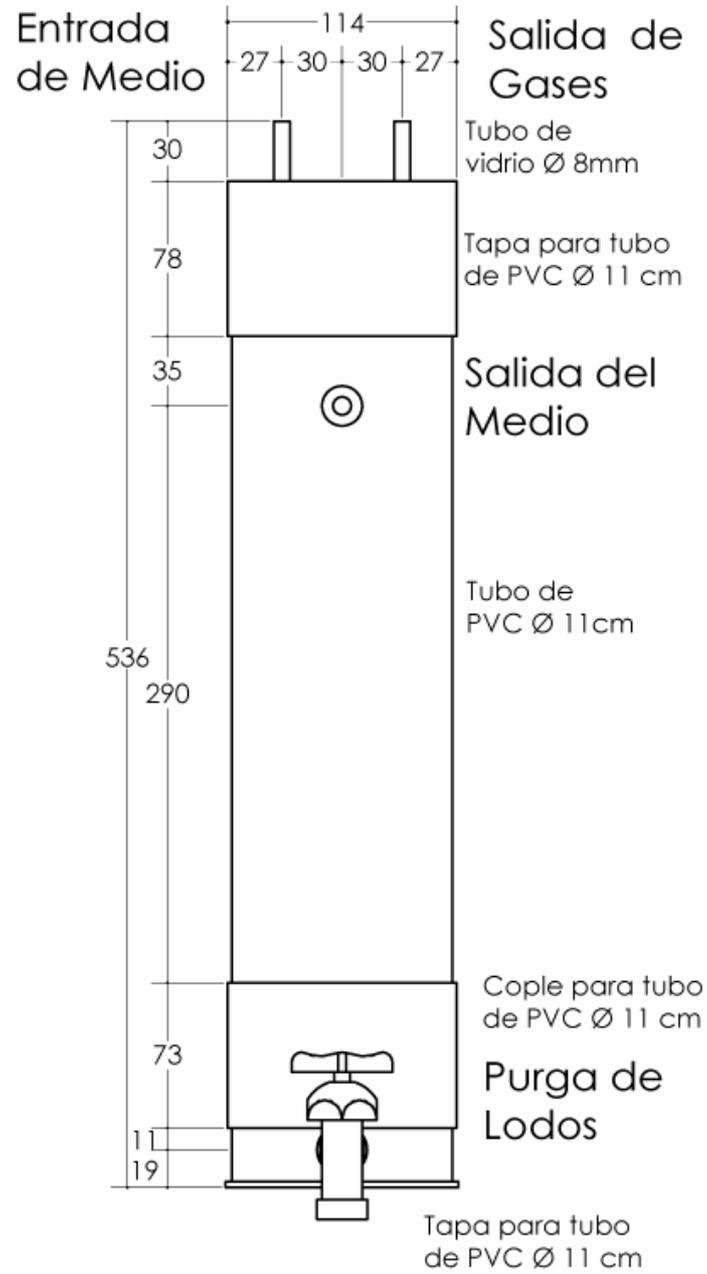


Fig.3. Vista frontal del reactor anaerobio.

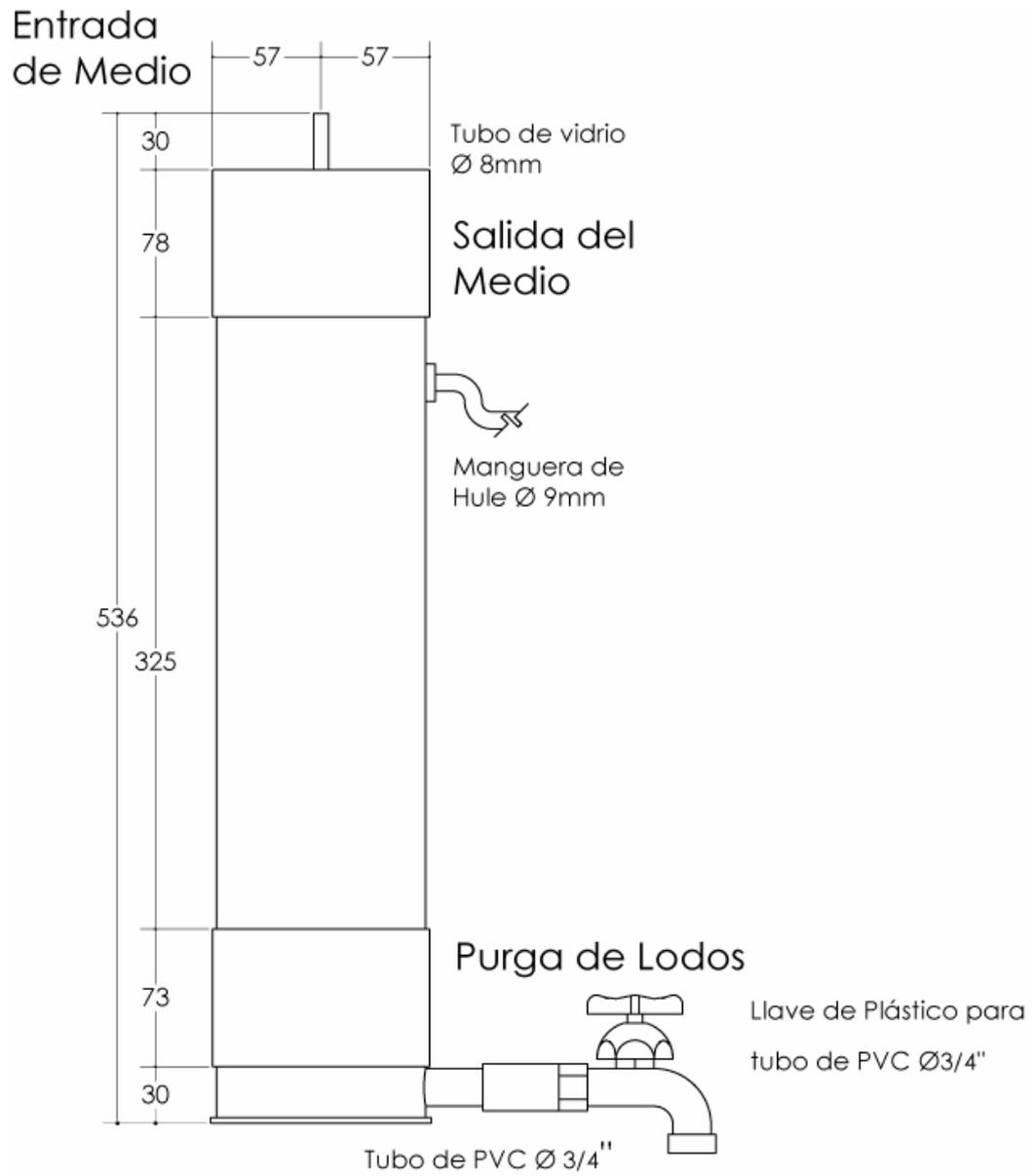


Fig. 4. Vista lateral del reactor anaerobio.

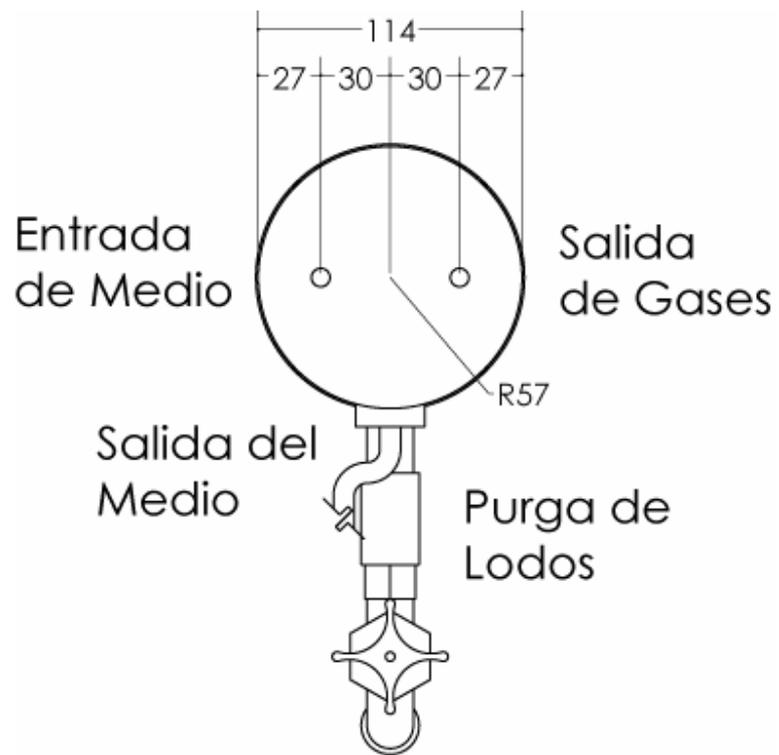


Fig. 5. Vista superior del reactor anaerobio.

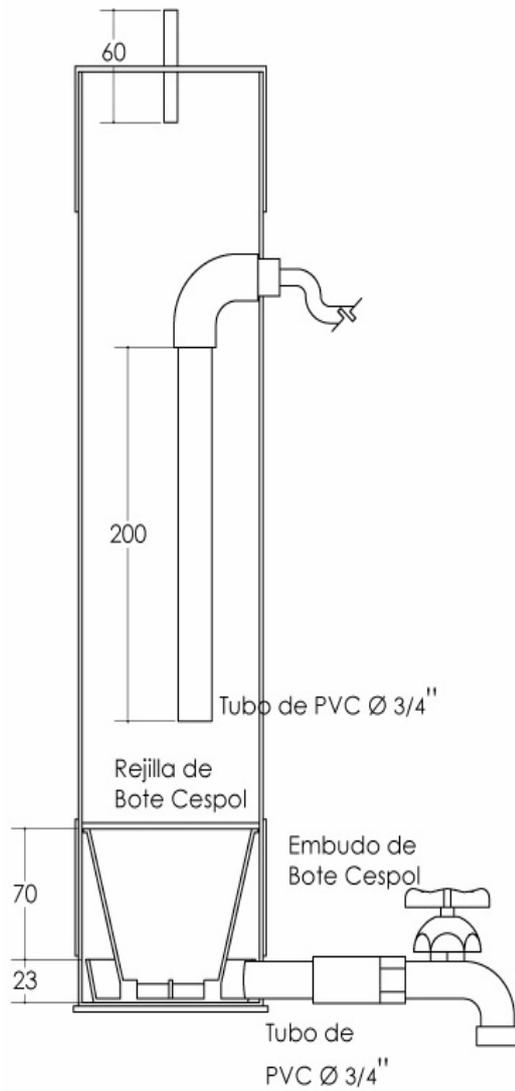


Fig. 6. Corte transversal del reactor anaerobio.

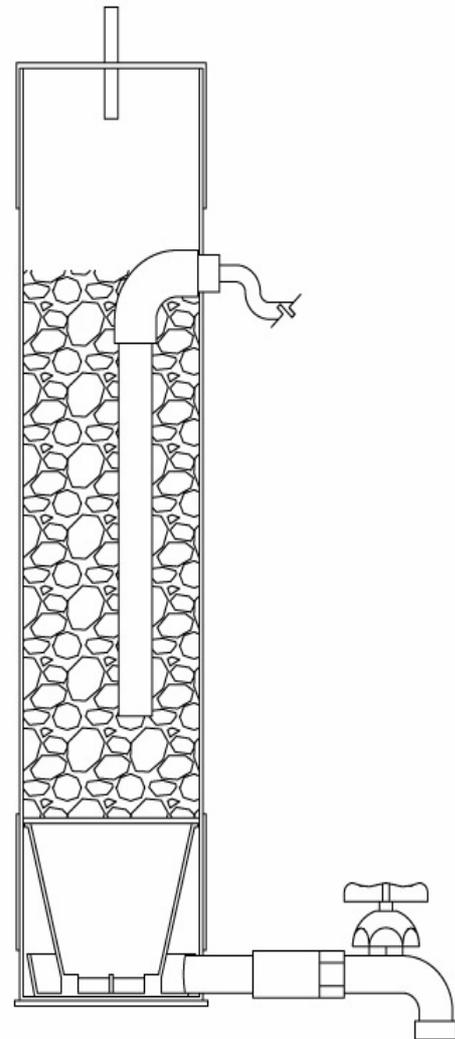


Fig. 7. Corte transversal del reactor anaerobio con el soporte de rocas basálticas.

Reactor aerobio tipo *airlift*.

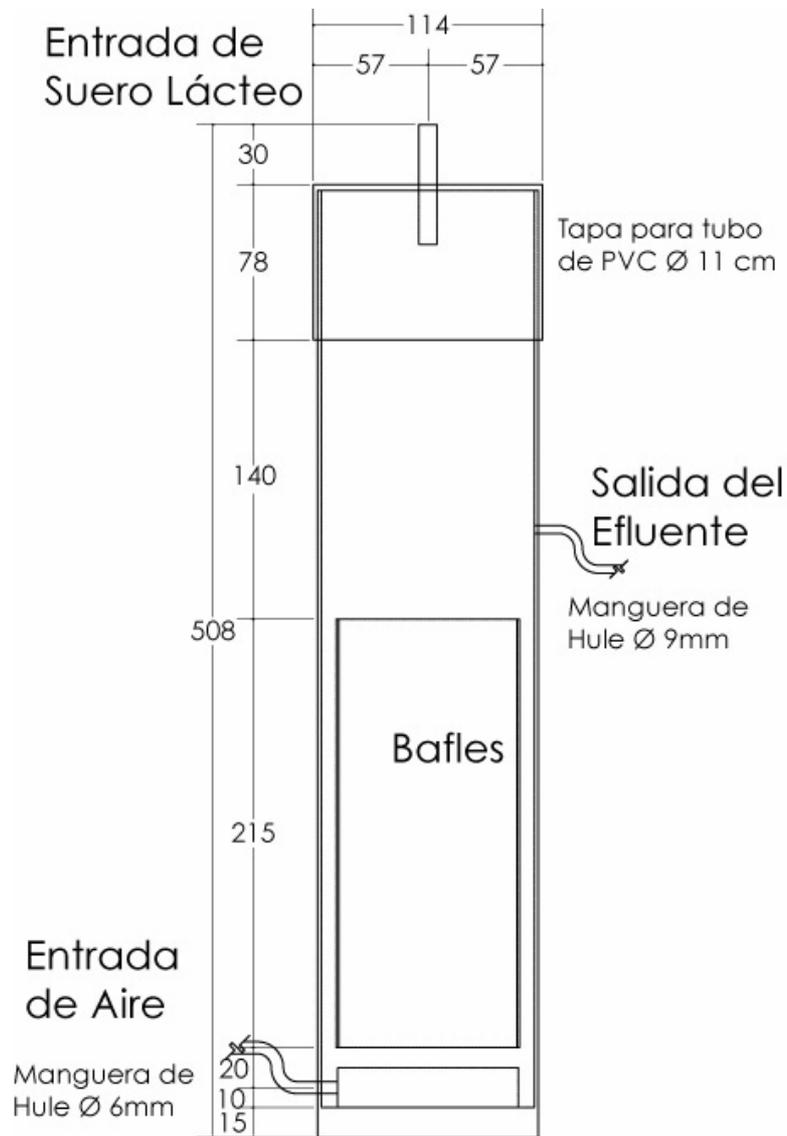


Fig.8. Vista frontal del reactor aerobio tipo *airlift*.

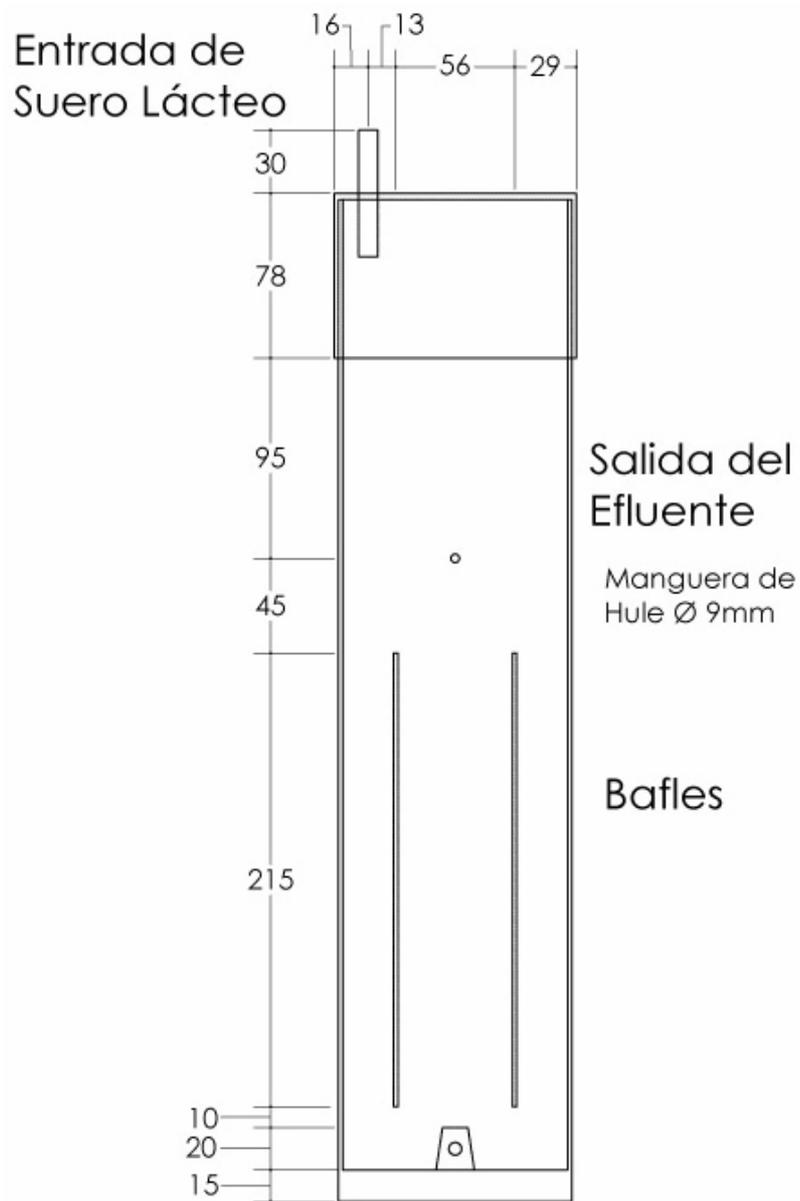


Fig.9. Vista lateral del reactor aerobio tipo *airlift*.

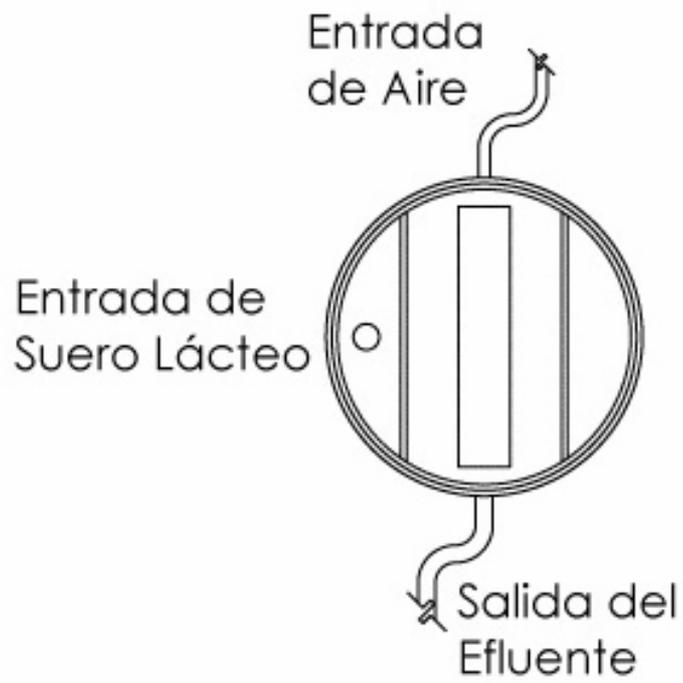


Fig. 10. Vista superior del reactor aerobio tipo *airlift*.

APÉNDICE B. DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO, SODIO Y POTASIO.

Se realizaron curvas de calibración de estándares de Na, K, Ca y Mg. Los estándares y las muestras se leyeron en un espectrofotómetro de absorción atómica marca GBC modelo 932 AA.

Las muestras se diluyeron y se midió su absorbancia a la longitud de onda, con la lámpara de cátodo hueco indicada y la flama correspondiente como se muestra en la tabla 17.

Tabla 17. Especificaciones en la determinación de elementos por Absorción Atómica.

Elemento	Longitud de onda (nm)	Lámpara de cátodo hueco	Flama
Calcio	422.7	Ca-Mg	Óxido nitroso-acetileno
Magnesio	285.2	Ca-Mg	Aire-acetileno
Sodio	589	Na-K	Aire-acetileno
Potasio	766.5	Na-K	Aire-acetileno

Porcentaje de recobro.

Se prepararon estándares por triplicado con una concentración conocida de calcio, magnesio, sodio y potasio, agregando la concentración deseada en un vaso de precipitado y se le agregó 10 mL de ácido clorhídrico al 10%. Las muestras se digirieron, calentándolas en una parrilla marca Thermoline, a una temperatura de 80°C durante 2 horas, tapados con vidrio de reloj. Las muestras se filtraron a través de un filtro Whatman No. 42 y se colocaron en matraces volumétricos aforando a 100 mL.

Se realizaron curvas de calibración de estándares de Na, K, Ca y Mg.

Se midió la concentración de calcio, magnesio, sodio y potasio de cada estándar a la longitud, con la lámpara y la flama adecuada. Se calculó el porcentaje de recobro.

Tabla 18. Porcentaje de recobro de los elementos evaluados por absorción atómica.

Elemento	Concentración esperada (ppm)	Concentración obtenida (ppm)	Porcentaje de recobro (%)
Calcio	15	12.44	82.96
Magnesio	5	4.91	98.14
Sodio	2	1.84	92
Potasio	2	1.46	73

APÉNDICE C. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS CONSORCIOS SELECCIONADOS.

Se tomó una muestra de los reactores anaerobios A y B así como del reactor aerobio, tomando una asada de ellos, se colocaron en un portaobjetos y se observaron al microscopio identificando hongos, levaduras y bacterias.

Se realizó una coloración de Gram a fin de determinar si eran microorganismos grampositivos o negativos, se observaron los frotis al microscopio con un aumento de 100X, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 19.

Tabla 19. Resultados de la observación al microscopio de los microorganismos presentes en los reactores anaerobios A y B y el reactor *airlift*.

Reactor	Gram	Características microscópicas
Anaerobio A y B	(-)	Mayor parte levaduras, después bacterias: diplococos, algunos estreptococos y en menor cantidad estreptobacilos así como algunos hongos.
Aerobio	(-)	Mayor parte bacterias: diplococos, estreptococos, y estreptobacilos más largos, algunas bacterias.

Como se muestra en la tabla 19, tanto en los reactores anaerobios como en el aerobio, se encontraron bacterias y levaduras, la diferencia que se observó fue que en el caso de los reactores anaerobios se encontró una mayor proporción de levaduras en comparación del sistema aerobio el cual presentó un mayor número de bacterias. Las levaduras al teñirse dieron grampositivo y con una forma ovoide.

Al llevar a cabo la siembra de los consorcios anaerobios y aerobios en cajas petri y tubos con agar inclinados, utilizando como medios agar nutritivo y Saboraud, se observaron las siguientes características macroscópicas:

Tabla 20. Características macroscópicas del consorcio anaerobio.

Bacterias	Levaduras	Hongos
Forma circular, color crema	Circulares, de color crema, elevación convexa, textura butirosa.	Filamentoso, aspecto aterciopelado, consistencia seca, desarrollo abundante radial, color blanco.

Tabla 21. Características macroscópicas del consorcio aerobio.

Bacterias	Levaduras
Forma puntiforme, color crema.	Color crema, opacas elevadas.