



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

Tratamiento Microbiológico del Agua



Florina **Ramírez Vives**

Flor de María **Cuervo López**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA

Dr. Salvador Vega y León
Rector General

Mtro. Norberto Manjarrez Álvarez
Secretario General

UNIDAD IZTAPALAPA

Dr. José Octavio Nateras Domínguez
Rector

Dr. Miguel Ángel Gómez Fonseca
Secretario

Dra. Edith Ponce Alquicira
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dra. Milagros Huerta Coria
Coordinadora de Extensión Universitaria

Lic. Adrián Felipe Valencia Llamas
Jefe de la Sección de Producción Editorial

Primera edición 2017

ISBN: 978-607-28-1308-3

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA

Av. Michoacán y La Purísima
Iztapalapa, 09340. México, D. F.

Impreso y hecho en México/Printed in Mexico

Índice

Presentación	5
Introducción	7
Reglas de laboratorio	9
Procedimientos de laboratorio	11
Materiales indispensables en cada sesión de laboratorio	13
Práctica 1. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) por la técnica de refluo cerrado	15
Práctica 2. Determinación de amonio y nitrato por electrodo selectivo	19
Práctica 3. Caracterización fisicoquímica del agua residual de la UAMI (pH, T, conductividad, alcalinidad, sólidos, NH_4^+ , NO_3^- y DQO)	25
Práctica 4. Montaje y puesta en marcha de reactores biológicos para el tratamiento del agua residual de la UAMI: metanogénico-aerobio	33
Práctica 5. Montaje y puesta en marcha de un reactor UASB desnitrificante.....	41
Práctica 6. Actividad metanogénica de lodos granulares	45
Práctica 7. Actividad desnitrificante de lodos anaerobios	53
Práctica 8. Caracterización del inóculo de los reactores (Sólidos totales, fijos y volátiles, velocidad de sedimentación, índice volumétrico de lodos)	57
Anexo	61

Presentación

Este manual está dirigido a los alumnos de la UEA Tratamiento Microbiológico del Agua, que forma parte del plan de estudios de la carrera de Ingeniería Bioquímica Industrial y de otros planes de estudio de la División de CBS, CSH y CBI que pueden cursarla como UEA Optativa, impartida en la UAM-Iztapalapa.

Se incluye como primer capítulo las reglas generales de seguridad de un laboratorio. Posteriormente se describen 8 prácticas. En cada una de ellas se presentan los objetivos y una pequeña introducción para facilitar la comprensión del tema, después se indican los materiales necesarios y los procedimientos a realizarse en forma de instrucciones numeradas. Al final de cada práctica se incluye un pequeño cuestionario que el alumno deberá resolver para integrar sus conocimientos, así como las referencias bibliográficas de apoyo.

En la parte final de este manual se incorpora un anexo donde se describe la preparación de las soluciones y medios de cultivo que se requieren para la realización de las prácticas.

Las autoras

Introducción

La contaminación del agua se ha convertido en un problema prioritario debido al aumento de la población y al incremento de los agentes contaminantes que el propio hombre ha creado, por lo que el cuidado y remediación del medio ambiente es de gran interés, tanto a nivel de investigación como de docencia. Es por eso que resulta importante incluir en los laboratorios de docencia, no solo el manejo de técnicas analíticas, material y equipo de laboratorio relacionado con el tratamiento de aguas residuales, sino con una metodología integral que ilustre la puesta en marcha de algunos sistemas de tratamiento de aguas residuales así como la evaluación de los mismos.

En este sentido, la realización de prácticas de laboratorio durante el estudio de la Ingeniería Bioquímica y disciplinas afines es muy importante desde el punto de vista de formación de los nuevos ingenieros, ya que les ayuda a la mejor comprensión y reafirmación de los conocimientos adquiridos en la teoría. La intención de este manual es ejemplificar los principales temas contenidos en el curso teórico con el fin de que los alumnos puedan desarrollarlos experimentalmente y aprender a evaluar su funcionamiento.

Este manual incluye 8 prácticas que abarcan temas diversos de la operación y puesta en marcha de reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales. En la primera y segunda práctica, se presentan algunas metodologías analíticas que servirán para el desarrollo de las siguientes prácticas. En la práctica 3 los alumnos aprenderán a caracterizar las aguas residuales conforme los parámetros más importantes referidos en las normas de descarga. Las prácticas 4 y 5 servirán para que los alumnos aprendan el montaje, puesta en marcha de reactores biológicos a escala de laboratorio y la estabilización y evaluación del proceso respiratorio. En las prácticas 6 y 7, se harán cinéticas por lote para evaluar las actividades metabólicas del inóculo de los reactores. La práctica 8 corresponde a la evaluación de los lodos anaerobios después del contacto con el agua residual de la UAMI.

Reglas de laboratorio

1. Alumnos y profesor deberán usar una bata de algodón bien abotonada, la que deberá quitarse antes de abandonar el laboratorio. No usar calzado descubierto y llevar el pelo recogido.
2. Evitar la acumulación de objetos no relacionados con la práctica sobre la mesa de trabajo.
3. Se prohíbe beber, comer, fumar y aplicarse cosméticos dentro del laboratorio.
4. Se deberá lavar meticulosamente las manos con jabón y agua antes de entrar y salir del laboratorio, incluso cuando salga por breves periodos.
5. No deberá pipetear oralmente ningún tipo de solución o cultivo microbiano, lo cual deberá realizarse con pipetas adecuadas para este fin.
6. No se admitirán visitas personales ni el uso de aparatos que distraigan la atención y pongan en riesgo la seguridad en el trabajo.
7. Trabajar de manera ordenada y en silencio para evitar accidentes.

Procedimientos de laboratorio

1. Antes y después de cada sesión práctica los alumnos deberán limpiar las mesas de trabajo y lavarse perfectamente las manos con jabón.
2. Localizar extintores, botiquín y salidas de emergencia.
3. Cuando se utilice el mechero, este deberá colocarse alejado del microscopio y otros equipos así como de sus cuadernos o prendas de vestir.
4. Al concluir cada sesión los alumnos deberán asegurarse de que los materiales de desecho u objetos contaminados sean colocados en recipientes específicos para ello, colocados en lugares apropiados, que les indicará el profesor.
5. Todos los equipos utilizados (balanzas analíticas, potenciómetros, espectrofotómetros, etc.) deberán quedar perfectamente limpios y reportar al profesor cualquier irregularidad en el funcionamiento.
6. En caso de que se rompa material de vidrio, este deberá ser entregado a los laboratoristas y no depositado en el bote de basura.

Materiales indispensables en cada sesión de laboratorio

1. El manual de laboratorio.
2. Un pedazo de tela sin pelusa, cerillos, tijeras, cinta de enmarcar (masking-tape), marcador indeleble o etiquetas pequeñas, jabón para manos.

Práctica 1

Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) por el método de reflujo cerrado

Objetivo

Que el alumno conozca y comprenda el funcionamiento de la técnica colorimétrica de reflujo cerrado para la medición de DQO en aguas residuales.

Introducción

La DQO se define como la cantidad de oxígeno requerido para oxidar químicamente la materia orgánica, corresponde a una estimación de las materias oxidables presentes en el agua. En la técnica utilizada, la diferencia entre la cantidad inicial de dicromato de potasio y la determinada por valoración con el agente reductor, es la consumida en la oxidación de la materia orgánica presente en el efluente. La DQO es igual a la cantidad de dicromato de potasio consumido, expresado como mgL^{-1} de oxígeno presente en la disolución ($1 \text{ g K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 = 0.381 \text{ g de oxígeno}$). Esta prueba no provee evidencias de la descomposición biológica procedente de condiciones ambientales o producidas por el hombre (Aznar, 2000).

Material

Material	Reactivos
21 tubos (HATCH) para DQO	Glucosa anhidra ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)
2 matraces aforados de 1 litro	Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)
2 frascos ámbar de un litro	Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
1 gradilla	Sulfato de mercurio (HgSO_4)
1 palangana	Sulfato de plata (AgSO_4)
2 pipetas de 1 mL	Hielo
2 pipetas de 5 mL	Agua destilada
1 caja de Petri de vidrio	Alcohol
1 micropipeta de 1000 μL	
1 probeta de 100 mL	
1 barra magnética	
1 trozo de algodón	
	Equipo
	Digestor portátil para DQO (HATCH)
	Parrilla con agitación
	Vórtex
	Balanza analítica
	Horno de secado ($105 \text{ }^\circ\text{C}$)
	Desecador con gel de sílice
	Espectrofotómetro con adaptador para los tubos HATCH

Procedimiento

DQO

Se determinará a partir del método colorimétrico (Standard Methods APHA, 2005). Para la realización de la técnica se ocuparán dos soluciones, la solución digestora y la solución de ácido sulfúrico con sulfato de plata. Estas soluciones deben prepararse una semana antes de la práctica.

I. Preparación de soluciones

1. Solución 1 digestora

- 1.1 Secar en una superficie de vidrio (caja de Petri) durante dos horas a 105° C, 20 g de K_2CrO_7 , se enfría en un desecador por 30 minutos y se pesan 12 g.
- 1.2 Pesar 33.3 g de $HgSO_4$.
- 1.3 Colocar sobre una parrilla con agitación y sin calor, un recipiente (palangana o cristizador) con hielo y dentro un matraz aforado de 1 litro con una barra magnética, disolver el dicromato de potasio en 500 mL de agua destilada.
- 1.4 Añadir bajo agitación el sulfato de mercurio (33.3 g), y adicionar muy lentamente 167 mL de H_2SO_4 .
- 1.5 Una vez enfriada la mezcla, aforar a un litro con agua destilada.

2. Solución 2 de ácido sulfúrico con sulfato de plata

- 2.1 Pesar 5.5 g de sulfato de plata por cada Kg de H_2SO_4 . Para calcular la cantidad exacta considere el peso específico y la pureza del ácido sulfúrico que se utilice.
- 2.2 En un matraz aforado de 1 litro, agregar una parte del total del ácido sulfúrico a utilizar, por ejemplo, 300 mL, así como el sulfato de plata ya pesado. Dejar uno o dos días en agitación para que se disuelva y después completar el volumen al aforo con el ácido restante.

Debido a las proporciones en que se utilizan los reactivos, deberán prepararse dos litros de la solución de ácido sulfúrico con sulfato de plata (solución 2) por cada litro de la solución digestora (solución 1). Vaciar cada reactivo en frascos ámbar y guardarlos en la obscuridad.

II. Preparación de la Curva patrón

Preparar 100 mL de una solución de glucosa anhidra con una concentración de 1 gL^{-1} .

Preparar por duplicado la siguiente curva patrón.

Tabla 1. Elaboración de la curva patrón de DQO

Tubo	Solución de glucosa (mL)	Volumen de agua (mL)	Concentración de glucosa (mgL ⁻¹)
0	0	2	0
1	0.2	1.8	100
2	0.4	1.6	200
3	0.6	1.4	300
4	0.8	1.2	400
5	1.0	1.0	500
6	1.2	0.8	600
7	1.4	0.6	700
8	1.6	0.4	800
9	1.8	0.2	900
10	2.0	0.0	1000

III. Determinación de la curva patrón

1. Encender el digestor portátil de DQO y dejar calentar hasta alcanzar la temperatura adecuada (150 °C).
2. Marcar correctamente los tubos para poder diferenciar cada una de las concentraciones y el blanco de la curva (tubo 0).
3. Con la micropipeta de 1000 µL, tomar las cantidades de agua y de la solución de glucosa que se señalan en la tabla y depositarlas en cada uno de los tubos HATCH. Mezclar con el Vórtex.
4. Dentro de la campana de extracción añadir 1.0 mL de la solución digestora y mezclar de nuevo.
5. Añadir lentamente en las paredes del tubo, 2.0 mL de la solución de ácido con plata.
6. Tapar perfectamente y homogenizar la mezcla mediante agitación suave.
7. Colocar los tubos en el digestor portátil a 150 ° C durante 2 horas.
8. Transcurrido el tiempo, sacarlos del digestor, ponerlos en una gradilla y dejarlos enfriar.
9. Encender el espectrofotómetro 20 o 30 minutos antes de usarlo y ajustar la longitud de onda a 620 nm.
10. Ya fríos los tubos limpiarlos perfectamente con un algodón humedecido en alcohol, calibrar a cero el espectrofotómetro con el blanco a 620 nm. Leer la absorbancia de las muestras teniendo cuidado de calibrar a cero con el blanco cada vez que se cambie de concentración.
11. Desechar las muestras después de leídas en el recipiente destinado para estos residuos. NO TIRAR EN LA TARJA.

Resultados y discusión

1. Registrar las lecturas de absorbancia en la siguiente tabla:

Tabla 2. Registro de resultados de la absorbancia de la DQO

Tubo	Concentración de glucosa (mgL ⁻¹)	Absorbancia		Promedio	Desviación estándar	C.V. (%)
		Abs 1	Abs 2			
0	0					
1	100					
2	200					
3	300					
4	400					
5	500					
6	600					
7	700					
8	800					
9	900					
10	1000					

2. Elaborar una gráfica del promedio de la absorbancia contra concentración a partir de los resultados obtenidos.
3. Obtener la ecuación correspondiente de la recta y su coeficiente de determinación.

Cuestionario

1. ¿Por qué es importante determinar la DQO de las aguas residuales?
2. ¿Cuál es la diferencia más importante entre determinar DQO y DBO₅ en las aguas residuales?
3. Describa las desventajas que pudiera tener este método.

Bibliografía

-  APHA (2005). Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, *American Public Health Association*, Washington, DC.
-  Aznar, J.A (2000). "Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas". *Gestión Ambiental*, vol. 2(23) pág. 12-19.
-  Norma oficial mexicana NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de agua-Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

Práctica 2

Determinación de amonio y nitrato por electrodo selectivo

Objetivo

Que el alumno conozca y comprenda el funcionamiento de las técnicas analíticas para cuantificar amonio y nitrato en aguas residuales.

Introducción

Los contaminantes encontrados en las aguas residuales pueden ser muy diversos, dependiendo principalmente del origen de éstas. Las aguas residuales urbanas están contaminadas por materia orgánica soluble, donde el carbono y el nitrógeno, (en forma amoniacal, de nitrito o nitrato), son la fracción más importante. La concentración de amonio y nitrato se puede medir en las aguas residuales por diversos métodos. Uno de ellos consiste en utilizar electrodos selectivos, en los que se encuentra una membrana permeable que permite la separación del soluto a medir. Así, para el caso del amonio, se utiliza una membrana hidrofóbica permeable al amoniaco. La concentración del compuesto nitrogenado a determinar, es convertida a una señal potenciométrica que es registrada en un medidor de pH. En el caso del nitrato, se utiliza un electrodo con un sensor selectivo que responde al ion nitrato y que genera un potencial a través de una membrana inerte. Al igual que en el caso de la medición de amonio, la concentración del compuesto nitrogenado a determinar, es convertida a una señal potenciométrica que es registrada en un medidor de pH (Martínez, 2009).

Material

Material para curva de amonio por electrodo selectivo

Material	Reactivos
2 matraces aforados de 100 mL	Hidróxido de sodio (NaOH)
10 matraces aforados de 50 mL	Cloruro de amonio (NH ₄ Cl)
1 micropipeta de 100-1000 µL	Agua destilada
2 vasos de precipitados de 50 mL	
1 pipeta de 1 mL	
1 probeta de 50 mL	
1 piceta	
1 frasco ámbar de 1 L	
5 puntas azules	
	Equipo
	Electrodo selectivo de amonio
	Potenciómetro que mida en mV (para electrodo selectivo)
	Agitador magnético pequeño (1.5 cm)
	Parrilla de agitación

Material para curva de nitrato por electrodo selectivo

Material	Reactivos
2 matraces aforados de 1L	Hidróxido de sodio (NaOH)
6 matraces aforados de 100 mL	Nitrato de potasio (KNO ₃)
1 probeta de 100 mL	Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N
5 puntas azules	Agua destilada
1 micropipeta 100 – 1000 µL	Sulfato de aluminio (Al ₂ (SO ₄) ₃ ·18H ₂ O)
2 vasos de precipitados de 50 mL	Sulfato de plata (Ag ₂ SO ₄)
2 pipetas de 10 mL	Ácido bórico (H ₃ BO ₃)
1 probeta de 50 mL	Ácido sulfámico (H ₂ NSO ₃ H)
1 piceta	
1 frasco ámbar de 1 L	
	Equipo
	Electrodo selectivo de nitrato
	Potenciómetro
	Agitador magnético pequeño (1.5 cm)
	Parrilla de agitación
	Potenciómetro que mida en mV (para electrodo selectivo)

Procedimiento
1. Determinación de Amonio por electrodo selectivo

El amonio se cuantifica mediante un electrodo específico para amoniac (Phoenix Electrode Co.), cuya respuesta de linealidad se obtiene en el intervalo de 0.01 a 1000 mgL⁻¹ de amoniac (Standard Methods APHA, 2005). La muestra a cuantificar se hace alcalina a fin de convertir el ion amonio en amoniac (ASTM, 1992).

1. Preparar una solución de NaOH 10 N (100 mL).
2. Pesar 1.486 g de NH₄Cl, disolver en agua destilada y aforar a 100 mL a fin de preparar una solución de 5000 mgL⁻¹ de NH₄⁺. Almacenar esta solución en refrigeración.
3. Con la solución anterior, preparar por duplicado la siguiente curva patrón (Tabla 3). Cada punto se afora con agua destilada a 50 mL.

Tabla 3. Elaboración de la curva patrón de amonio

Matraz	Volumen solución de amonio (mL)	Volumen de NaOH 10 N (mL)	Concentración de amonio (mgL ⁻¹)
1	0.2	0.5	20
2	0.4	0.5	40
3	0.6	0.5	60
4	0.8	0.5	80
5	1.0	0.5	100

4. Colocar el contenido de cada matraz en un vaso de precipitado e introducir el electrodo selectivo de amonio. Para evitar pérdidas de amonio por arrastre, las muestras deben medirse inmediatamente después de prepararse.

5. Mantener en agitación constante a temperatura ambiente, registrar las lecturas del potencial en milivolts cuando éstas sean estables (aproximadamente 3 minutos después de adicionar el NaOH). Colocar el electrodo con una inclinación de 45° para evitar la formación de burbujas que pueden interferir con la lectura.
6. El valor en milivolts que indica el electrodo es proporcional al logaritmo de la concentración, la cual puede ser calculada mediante la ecuación de la recta ajustada.

$$(ec. 1) \quad \text{Potencial} = m \logaritmo ([NH_4^+]) + b$$

$$(ec. 2) \quad [NH_4^+] = \frac{\text{antilog}(\text{Potencial} - b)}{m}$$

Donde m es la pendiente y b es la ordenada al origen.

Utilizar 49.5 mL de la muestra a analizar y adicionar 0.5 mL de una solución de NaOH 10 N. Tomar las lecturas con el electrodo de acuerdo a las instrucciones anteriores. En caso de tener muestras con concentraciones mayores a las detectadas en la curva patrón se deberán hacer las diluciones correspondientes antes de agregar la solución de NaOH 10 N.

2. Determinación de Nitrato por electrodo selectivo

El nitrato se cuantifica mediante un electrodo específico para nitrato, cuya respuesta de linealidad se obtiene en el intervalo de 0.14 a 1400 mg N-NO₃⁻L⁻¹ (Standard Methods APHA, 2005).

A. Preparación de soluciones

1. Solución amortiguadora

- 1.1 Disolver 17.32 g Al₂(SO₄)₃·18H₂O, 3.43 g Ag₂SO₄, 1.28 H₃BO₃, 2.52 g H₂NSO₃H (ácido sulfámico) en aproximadamente 800 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 3 lentamente con la adición de NaOH 0.1 N. Aforar a 1L y guardar en un frasco ámbar.

2. Solución estándar de nitrato

- 2.1 Secar NaNO₃ en un horno a 105 °C durante 24 h. Pesar 0.6855 g de NaNO₃, disolver en agua destilada y aforar a 100 mL a fin de preparar una solución de 5000 mgL⁻¹ de NO₃⁻. Guardar esta solución en refrigeración.
- 2.2 Con la solución anterior, preparar por duplicado la siguiente curva patrón (Tabla 4). Cada punto se afora con agua destilada a 50 mL.

Tabla 4. Elaboración de la curva patrón de nitrato

Matraz	Volumen sol. de NaNO ₃ (mL)	Concentración de NO ₃ (mg NO ₃ ⁻ L ⁻¹)
1	0.2	20
2	0.4	40
3	0.6	60
4	0.8	80
5	1.0	100

B. Determinación de nitrato.

1. Colocar 10 mL de la solución estándar de 20 mg NO₃⁻L⁻¹ en un vaso de precipitados de 50 mL, adicionar 10 mL de la solución amortiguadora y agitar con una barra magnética.
2. Mantener en agitación constante a temperatura ambiente, registrar las lecturas del potencial en milivolts cuando éstas sean estables (esperar aproximadamente 1 minuto). Colocar el electrodo con una inclinación de 45° para evitar la formación de burbujas que pueden interferir con la lectura.
3. Repetir el procedimiento con las soluciones estándar de 10 y 50 mg N-NO₃⁻L⁻¹.
4. El valor en milivolts que indica el electrodo es proporcional al logaritmo de la concentración, la cual puede ser calculada mediante la ecuación de la recta ajustada.

$$(ec. 3) \quad \text{Potencial} = m \logaritmo ([NO_3^-]) + b$$

$$(ec. 4) \quad [NH_4^+] = \frac{\text{antilog}(\text{Potencial} - b)}{m}$$

Donde m es la pendiente y b es la ordenada al origen.

Utilizar 10 mL de la muestra a analizar y adicionar 10 mL de la solución amortiguadora. Agitar y tomar las lecturas con el electrodo de acuerdo a las instrucciones anteriores. En caso de tener muestras con concentraciones mayores a las detectadas en la curva patrón se deberán hacer las diluciones correspondientes antes de agregar la solución amortiguadora.

Calcular la concentración en la muestra utilizando la curva de calibración.

Resultados y discusión

1. Registrar los resultados obtenidos en cada medición en las siguientes tablas.

Tabla 5. Registro de las lecturas en milivolts de la concentración de NH₄⁺ y NO₃⁺

Matraz	Concentración de (mg NH ₄ ⁺ L ⁻¹)	Milivolts	Concentración de NO ₃ (mg NO ₃ ⁻ L ⁻¹)	Milivolts
1	20		20	
2	40		40	
3	60		60	
4	80		80	
5	100		100	

2. Elaborar una gráfica de absorbancia/milivolts contra concentración para amonio y nitrato.
3. Obtener las ecuaciones correspondientes para cada recta y sus coeficientes de determinación.

Cuestionario

1. ¿Cuál es el fundamento de la determinación de amonio y nitrato por este método?
2. ¿Cuál es la importancia de controlar la concentración de amonio y nitrato en las aguas residuales?
3. Diga cuáles son las posibles interferencias en la medición de nitrato y amonio.

Bibliografía

-  Martínez, H.S., Olguín, J., Gómez, J., Cuervo-López, F.M. (2009). "Acetate enhances the specific consumption rate of toluene under denitrifying conditions". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 57:679-687
-  http://www.wtw.de/fileadmin/upload/Kataloge/Online/ES/Onl_040_056_Nitrogeno_2-MB_ES-pdf.pdf
-  <https://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/7408/6/Anexo%20E.pdf>

Práctica 3

Caracterización fisicoquímica del agua residual de la UAMI (pH, T, conductividad, alcalinidad, sólidos, NH_4^+ , NO_3^- y DQO)

Objetivo

Que el alumno determine los principales parámetros de caracterización de las aguas residuales basándose en algunos parámetros de las Normas 001 y 002 de la SEMARNAT, utilizando técnicas estandarizadas y los instrumentos de medición adecuados.

Introducción

Las aguas residuales se definen como aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales y de servicios, entre otros, así como la mezcla de ellas. La NOM-001-SEMARNAT, en su apartado 3.8 especifica los contaminantes básicos que se presentan en las descargas de aguas residuales, que pueden ser removidos o estabilizados mediante tratamientos convencionales. La NOM 002 establece los límites máximos permisibles de contaminantes para la descarga de las aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano y municipal, (NOM-002-SEMARNAT).

El agua residual de la UAM-I, está compuesta por descargas que provienen de todos los sanitarios, de la cafetería, de los laboratorios, de las oficinas y de las actividades de mantenimiento. Se ha observado que los parámetros de caracterización de esta agua dependen de factores tales como la hora del día, la actividad trimestral y la época del año.

Material

Material	Reactivos
2 charolitas de aluminio o papel aluminio	Solución digestora y solución de ácido para la determinación de DQO
2 filtros de fibra de vidrio de 0.45 μm de 5.5 cm de diámetro	Soluciones Buffer pH 7 y 4
1 pinzas de disección	Hielo
3 tubos HATCH para DQO	Solución 0.02N de H_2SO_4
1 desecador con gel de sílice	Soluciones estándar de conductividad
1 embudo Buschner de 5.5 cm	Cloruro férrico (FeCl_3)
1 matraz Kitasato de 250 mL	Acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COO}^-\text{Na}$)
1 tapón de hule para el matraz	Nitrato de potasio (KNO_3)
1 m de manguera de látex	Cloruro de sodio (NaCl)
1 pipeta graduada de 1 mL	Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$)
2 pipetas graduadas de 2 mL	Cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
3 vasos de precipitados de 50 mL	Fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4)
1 micropipeta de 1000 μL	Sulfato de magnesio (MgSO_4)
1 propipeta	Molibdato de sodio ($\text{Na}_2\text{M}_0\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
1 parrilla con agitación	Alcohol
1 agitador magnético	
1 trozo de algodón	Equipo
1 bureta de 50 mL	Balanza analítica
1 soporte universal	Estufa a 105 °C
2 toallitas de papel	Mufla a 550 °C
1 piceta con agua destilada	Hielera
1 gradilla	Bomba de vacío
1 frasco de 1 L con tapa	Espectrofotómetro con adaptador para tubos HATCH
1 pinzas para bureta	Potenciómetro portátil con registro de temperatura y conductividad
2 matraces Erlenmeyer de 125 mL	Digestor de DQO (HATCH) de 21 plazas

Procedimiento

I. Determinación de pH, temperatura, sólidos, alcalinidad y conductividad

1. Recolectar 2 L de agua residual en el cárcamo de la planta de tratamiento de la UAMI. Transportar al laboratorio en una hielera.

Determinación de pH y temperatura

1. Calibrar el potenciómetro con las soluciones buffer (pH 7 y 4).
2. Tomar una muestra de 25 mL de agua residual en un vaso de precipitados de 50 mL.
3. Retirar el electrodo del frasco con buffer, enjuagarlo con agua destilada y limpiarlo con una toallita desechable (el potenciómetro, deberá ser operado a temperatura ambiente).
4. Introducir el electrodo en la muestra y esperar hasta que la lectura de pH se estabilice.
5. Retirar el electrodo y repetir la operación de enjuague y guardarlo de nuevo en el frasco de buffer.
6. Repetir la operación por triplicado y obtener un promedio.

7. Hacer el mismo procedimiento con el sensor de temperatura.
8. Registrar los resultados de todos los equipos en la tabla 6 y obtener el promedio, la desviación estándar (D.E.) y el coeficiente de variación (C.V.).

Determinación de la alcalinidad

La alcalinidad de un agua es su capacidad para neutralizar ácidos y constituye la suma de todas las bases valorables. La alcalinidad depende del pH de punto final utilizado (APHA, 1995), consiste en la valoración con un ácido fuerte hasta pH 4.3. A este pH más del 99% del bicarbonato del sistema es convertido a CO_2 . Hill y Jenkins (1989) propusieron la utilización de la valoración hasta pH 5.75, que se ajusta mucho mejor al valor real de alcalinidad debida al bicarbonato. Tomando estos dos puntos finales de pH se definen tres parámetros de medida de la alcalinidad: alcalinidad total (AT) medida al punto de pH 4.3; alcalinidad parcial (AP), asociada a la alcalinidad al bicarbonato, medida al punto de pH 5.75 y alcalinidad intermedia (AI), asociada a la concentración de AGV, y estimada como diferencia de ambas. El valor de relación de alcalinidades (α) mantiene su relación con el pH y la alcalinidad. Cuando el valor de α desciende por debajo de 0.4, indica que los ácidos grasos volátiles (AGV) se están acumulando y que el reactor se acerca al límite de carga para una operación estable.

Procedimiento

1. En un soporte universal, colocar las pinzas para bureta, llenar la bureta con la solución de H_2SO_4 0.02 N. Debajo de ella colocar una parrilla de agitación (sin calentamiento) y colocar un matraz Erlenmeyer con 25 mL de muestra a titular y una mosca magnética.
2. Introducir el electrodo del potenciómetro y registrar el pH de la muestra, según las indicaciones para determinar el pH.
3. Cuidadosamente realizar la titulación de la muestra con una solución de H_2SO_4 0.02 N hasta alcanzar un pH de 5.75. Si la muestra tiene un pH menor a este valor continuar con el punto 5.
4. Registrar el volumen de la solución de ácido utilizada.
5. Continuar la titulación hasta un pH de 4.3 y registrar el volumen de la solución utilizada.
6. El cálculo de la alcalinidad se realiza utilizando la ecuación 5:

(ec.5)

$$\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1} = \frac{(\text{Volumen H}_2\text{SO}_4 \text{ pH 5.75 ó 4.3}) * (50000) * \text{Normalidad H}_2\text{SO}_4}{L \text{ muestra}}$$

7. La relación (α) de la alcalinidad se obtiene con la siguiente relación:

(ec.6)

$$\alpha = \frac{(\text{volumen de ácido gastado a pH 5.75})}{(\text{volumen de ácido gastado a pH 4.3})}$$

8. Repetir la operación de dos muestras más de agua para obtener un promedio.
9. Registrar los resultados de todos los equipos en la tabla 6 y obtener el promedio, la desviación estándar (D.E.) y el coeficiente de variación (C.V.).

Determinación de la conductividad

1. Conectar el electrodo ORP del potenciómetro al conector BNC del potenciómetro.
2. Poner el equipo en modo "mV" encender el dispositivo (ON) y presionar la tecla RANGE hasta que la pantalla cambie a mV.
3. Colocar una muestra de 25 mL de agua residual en un vaso de precipitado de 50 mL.
4. Sumergir la punta del electrodo ORP (al menos 4 cm) dentro de una solución estándar (usar por lo menos dos soluciones estándar) y dejar un tiempo para que la lectura se estabilice (hasta que el símbolo del reloj de arena se apague (ver nota de funcionamiento en el manual del equipo).
5. Sumergir la punta del electrodo ORP (al menos 4 cm) dentro de la muestra y dejar un tiempo para que la lectura se estabilice.
6. Retirar el electrodo y repetir la operación para enjuagar y guardar el electrodo.
7. Repetir la operación con dos muestras más de agua para obtener un promedio.
8. Registrar los resultados de todos los equipos en la tabla 6 y obtener el promedio, la desviación estándar (D.E.) y el coeficiente de variación (C.V.).

II. Cuantificación de sólidos suspendidos totales, fijos, volátiles y sedimentables.

1. En las charolitas de aluminio, colocar con las pinzas y sin tocarlo, un círculo de papel filtro de fibra de vidrio.
2. Marcar cada charolita en su base con los números 1 y 2.
3. Pasarlos a la estufa por 2 horas a 110 °C y después a un desecador durante 30 minutos para que alcancen la temperatura ambiente.
4. Con las pinzas, sacar del desecador las charolitas y pesarlas en la balanza analítica. Repetir el procedimiento de la estufa tres veces o hasta obtener peso constante, es decir que las primeras dos cifras de la lectura permanezcan sin cambio.
5. Registrar los resultados en la tabla 7 (P_1) y obtener el promedio de los valores de cada uno.
6. Al alcanzar el peso constante con las pinzas, colocar un filtro en el embudo Büchner y filtrar una alícuota de 25 mL de agua residual, teniendo cuidado de hacerlo con una pipeta para depositarlo solamente en el centro del papel con la ayuda de la bomba de vacío.
7. Colocar el papel filtro con la muestra en la charolita y después en la estufa a una temperatura de 110 °C durante dos horas, terminado este tiempo, pasarlos al desecador para que se enfríen.
8. Pesar los filtros en la balanza analítica cuando alcancen la temperatura ambiente.
9. Repetir el proceso de estufa y pesado al menos tres veces o hasta tener peso constante.
10. Registrar los resultados en la tabla 7 (P_2) y obtener el promedio.
11. Colocar las charolas y los filtros en la mufla a 550 °C por 15 minutos.
12. Pasado este tiempo pasarlos a la estufa a una temperatura de 110° C durante 30 minutos y de nuevo al desecador por 30 minutos más hasta alcanzar la temperatura ambiente.

13. Pesar de nuevo al menos tres veces, hasta obtener peso constante.
14. Registrar los resultados en la tabla 7 (P_3).

La cantidad de sólidos totales, fijos y volátiles se obtendrá con las siguientes ecuaciones:

(ec.7) **Sólidos suspendidos totales (SST):**

$$(SST) (gL^{-1}) = \frac{P2(g) - P1(g)}{VOLUMEN MUESTRA (L)}$$

(ec. 8) **Sólidos suspendidos fijos (SSF):**

$$(SSF) (gL^{-1}) = \frac{P3 - P1 (g)}{VOLUMEN MUESTRA (L)}$$

(ec.9) **Sólidos suspendidos volátiles (SSV)**

$$SSV (gL^{-1}) = \text{Sólidos suspendidos totales} - \text{Sólidos suspendidos fijos}$$

15. Para la determinación de los sólidos sedimentables, colocar 100 mL de agua residual en una probeta de 100 mL y dejar reposar durante 1-2 horas. Anotar el volumen de los sólidos que sedimentan por unidad de tiempo.

III. Determinación de NH_4^+ , NO_3^-

Determinación de Amonio por electrodo selectivo

El amonio se cuantifica mediante un electrodo específico para amoníaco (Phoenix Electrode Co.), cuya respuesta de linealidad se obtiene en el intervalo de 0.01 a 1000 mgL^{-1} de amoníaco (Standard Methods APHA., 2005). La muestra a cuantificar se hace alcalina a fin de convertir el ion amonio en amoníaco (ASTM, 1992).

1. Vaciar en un vaso de precipitado y con agitación 49.5 mL de la muestra de agua a analizar y adicionar 0.5 mL de una solución de NaOH 10 N. Para evitar pérdidas de amonio por arrastre, las muestras deben medirse inmediatamente después de prepararse.
2. Introducir el electrodo selectivo de amonio. Mantener en agitación constante a temperatura ambiente, registrar las lecturas del potencial en milivolts cuando éstas sean estables (aproximadamente 3 minutos después de adicionar el NaOH). Colocar el electrodo con una inclinación de 45° para evitar la formación de burbujas que pueden interferir con la lectura.
3. El valor en milivolts que indica el electrodo es proporcional al logaritmo de la concentración, la cual puede ser calculada mediante la ecuación de la recta ajustada.

$$(ec. 10) \quad \text{Potencial} = m \logaritmo ([NH_4^+]) + b$$

$$(ec. 11) \quad [NH_4^+] = \text{antilog} \left(\frac{\text{Potencial} - b}{m} \right)$$

Donde m es la pendiente de la curva patrón y b es la ordenada al origen.

Calcular la concentración en la muestra utilizando la ecuación de la recta de la curva de calibración.

Determinación de nitrato

1. En un vaso de precipitado vaciar 10 mL de la muestra de agua a analizar y adicionar 10 mL de la solución amortiguadora y agitar con una barra magnética.
2. Mantener en agitación constante a temperatura ambiente, registrar las lecturas del potencial en milivolts cuando éstas sean estables (esperar aproximadamente 1 minuto). Colocar el electrodo con una inclinación de 45° para evitar la formación de burbujas que pueden interferir con la lectura.
3. El valor en milivolts que indica el electrodo es proporcional al logaritmo de la concentración, la cual puede ser calculada mediante la ecuación de la recta ajustada.

$$(ec. 12) \quad \text{Potencial} = m \logaritmo ([NO_3^-]) + b$$

$$(ec. 13) \quad [NO_3^-] = \text{antilog} \left(\frac{\text{Potencial} - b}{m} \right)$$

Donde m es la pendiente y b es la ordenada al origen de la curva patrón.

Calcular la concentración en la muestra utilizando la ecuación de la recta de la curva de calibración.

IV. Determinación de la DQO

1. Encender el digestor portátil de DQO y dejar calentar para alcanzar la temperatura adecuada (150 °C).
2. Encender el espectrofotómetro 30 minutos antes de su uso y ajustar la longitud de onda a 620 nm.
3. Marcar correctamente los tubos para poder diferenciar cada una de las muestras y el blanco.
4. Tomar una alícuota de 2 mL de la muestra filtrada que se obtuvo de la determinación de sólidos (DQO soluble) y 2 mL del agua residual sin filtrar (DQO total) y depositarla en los tubos HATCH.
5. Hacer un tubo con 2 mL de agua destilada (blanco).

Dentro de la campana de extracción:

6. Añadir a cada tubo 1.0 mL de la solución digestora y mezclar.
7. Añadir lentamente 2.0 mL de solución de ácido con plata.
8. Tapar perfectamente y homogenizar la mezcla mediante agitación suave.
9. Pasar los tubos al digestor portátil a 150 °C por 2 horas.
10. Transcurrido el tiempo, sacarlos del digestor, ponerlos en la gradilla y dejarlos enfriar.
11. Ya fríos los tubos limpiarlos perfectamente con un algodón humedecido en alcohol, calibrar con el blanco y leer las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm.
12. Desechar las muestras después de leídas en un recipiente destinado para estos residuos. NO TIRAR EN LA TARJA.

Resultados y discusión

1. Los resultados obtenidos deberán registrarse en las tablas 6 y 7.
2. Calcular el contenido de los sólidos suspendidos totales, fijos y volátiles de la muestra con las ecuaciones 1, 2 y 3.
3. Calcular la DQO de la muestra, utilizando la ecuación de la recta obtenida de la curva patrón realizada anteriormente.
4. Comparar los resultados obtenidos de los parámetros del agua residual por su equipo con los resultados obtenidos de los demás equipos. En caso de encontrar diferencias, discutir el por qué.

Tabla 6. Resultados de la caracterización del agua residual de la UAMI

Equipo	T °C	pH	Conductividad (mVs ⁻¹)	Alcalinidad pH _{5,75} (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	Alcalinidad pH _{4,3} (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)	NH ₄ (mg L ⁻¹)	NO ₃ (mg L ⁻¹)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
Promedio								
DE								
CV (%)								

Tabla 7. Sólidos suspendidos totales, fijos y volátiles del agua residual de la UAMI

Peso de los papeles filtros + charola de aluminio (P1)				
Charola No.	1ª pesada(g)	2ª pesada(g)	3ª pesada (g)	Promedio (g)
1				
2				
3				
			Promedio/Vol. Muestra (L)	
Peso de los filtros+ 25 mL de muestra (P2)				
Charola No.	1ª pesada (g)	2ª pesada (g)	3ª pesada (g)	Promedio (g)
1				
2				
3				
			Promedio/Vol. Muestra (L)	
Peso de los filtros + 25 mL de muestra (mufla) (P3)				
Charola No.	1ª pesada (g)	2ª pesada (g)	3ª pesada (g)	Promedio (g)
1				
2				
3				
			Promedio/Vol muestra (L)	

Cuestionario

1. ¿Cómo crees que afecten las actividades de la UAM-I a la composición de las aguas residuales que se producen? y ¿Por qué?
2. ¿Cuál es la composición de los sólidos volátiles y de los sólidos fijos?
3. ¿Cuáles son los efectos nocivos de altas concentraciones de amonio y nitratos en las aguas residuales?

Bibliografía

-  APHA (2005). *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, Washington, DC.
-  Hill, D., & Jenkins, S. (1989). "Measuring alkalinity accurately in aqueous systems containing high organic acid concentrations. *Transactions of ASAE*", Vol. 32, 2175-2178.
-  *Norma Oficial Mexicana. NOM-001-Ecol-1996*. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales.
-  *Norma Oficial Mexicana. NOM-002-Ecol-1996*. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.

Práctica 4

Montaje y puesta en marcha de reactores biológicos para el tratamiento del agua residual de la UAMI: metanogénico-aerobio

Objetivo

Que el alumno identifique las principales características y parámetros de funcionamiento de algunos reactores biológicos en el tratamiento de aguas residuales.

Introducción

El tratamiento biológico de las aguas residuales puede llevarse a cabo por dos tipos de respiración microbiana: aerobia o anaerobia. Uno de los reactores anaerobios más ampliamente utilizado es el reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente conocido mundialmente como UASB. Mantener estable la operación de este tipo de reactor es particularmente importante para favorecer la eficiencia del proceso, ya que después de un periodo de inestabilidad toma un largo tiempo restaurarla. Por lo que es importante dar un seguimiento cuidadoso de los parámetros de funcionamiento. El monitoreo y diagnóstico del funcionamiento de un reactor anaerobio tiene cierto grado de complejidad debido a la variedad de procesos tanto biológicos como hidráulicos que se llevan a cabo, por lo que es necesario combinar conocimientos de ambas índoles para caracterizar la hidrodinámica del reactor y determinar los parámetros concernientes a las poblaciones microbianas (Franco, 2007).

El reactor completamente agitado conocido como quimiostato es un sistema en donde se introduce el agua residual a una velocidad constante y por la agitación del sistema, los componentes que entran en el reactor se mantienen también constantes. Cuando se trabaja en un sistema en donde la biomasa esté suspendida, se puede introducir oxígeno o aire y un sedimentador de lodos. Un buen sistema de tratamiento de un agua residual, es aquel en el que se obtienen los valores de los parámetros permisibles de descarga especificada en las Normas mexicanas.

Material

Material	Reactivos
1 manguera de tygon de calibres 13, 14 y 15	500 g de sal de mesa
1 tubo de vidrio	Colorante rojo de metilo
1 probeta de vidrio de 500 mL	Ácido clorhídrico concentrado (HCl)
1 probeta de 100 mL	Agua destilada
2 vasos de precipitado de 50 mL	Solución 0.02 N de H ₂ SO ₄
2 matraces Erlenmeyer de 125 mL	Soluciones para DQO
2 pinzas para bureta	Lodos granulares anaerobios y lodos aerobios
1 soporte universal	Equipo
2 tapones de hule	Reactores (columnas) de vidrio de 1 L
1 m de gasa	Recipiente de 20 L
1 probeta de 50 mL	Bomba peristáltica de 100 rpm
1 cristizador mediano	Parrilla con agitación
1 columna de vidrio para medir el biogás	Cronómetro
2 pinzas de 3 dedos	Potenciómetro
1 nuez	Congelador
1 bureta de 25 mL	Potenciómetro
5 cinchos de distintos tamaños para asegurar las uniones de mangueras	Parrilla para DQO
1 matraz Erlenmeyer de 100 mL	Espectrofotómetro
1 matraz Erlenmeyer de 1000 mL	
1 tapón de hule para el matraz Erlenmeyer de 100 mL	
1 tapón de hule para el matraz Erlenmeyer de 1000 mL	
1 barra magnética	
1 matraz Erlenmeyer de 2 L	
1 propipeta de 3 vías	
2 m de manguera látex	
2 abrazaderas para sujetar las columnas	
5 tubos HATCH para DQO	
2 embudos de vidrio de 5 cm de diámetro	
1 pipeta de 2 mL	
1 pipeta de 5 mL	
1 gradilla	
1 pipeta con agua destilada	
1 embudo de plástico	
10 frascos de plástico (100 mL) con tapa para congelar las muestras	

Procedimiento

I. Solución salina coloreada con rojo de metilo.

- En una parrilla con agitación, colocar un matraz Erlenmeyer de 2.5 L con un agitador magnético y vaciar aproximadamente 1.5 litros de agua destilada.
- Agregar 300 g de sal de mesa poco a poco y con agitación.
- Con el potenciómetro medir el pH y ajustarlo a 2.5 agregando algunas gotas de ácido clorhídrico concentrado.

- d. Agregar 300 g de sal más y ajustar de nuevo el pH.
- e. Adicionar colorante rojo de metilo disuelto en 10 mL de agua y el agua restante.
- f. Disolver la sal completamente y ajustar de nuevo el pH si es necesario.

II. Volumen útil del reactor y cantidad de lodos a inocular.

- a. Considerando la siguiente figura calcular el volumen útil del reactor:

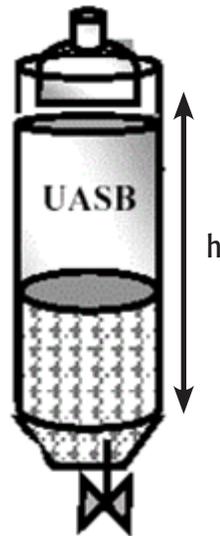


Figura 1 Altura de reactor para calcular el volumen útil.

III Montaje del reactor UASB.

- a. Montar el dispositivo como lo indica la figura.
- b. Inocular el reactor con 20-30% (V/V) de lodos anaerobios granulares.

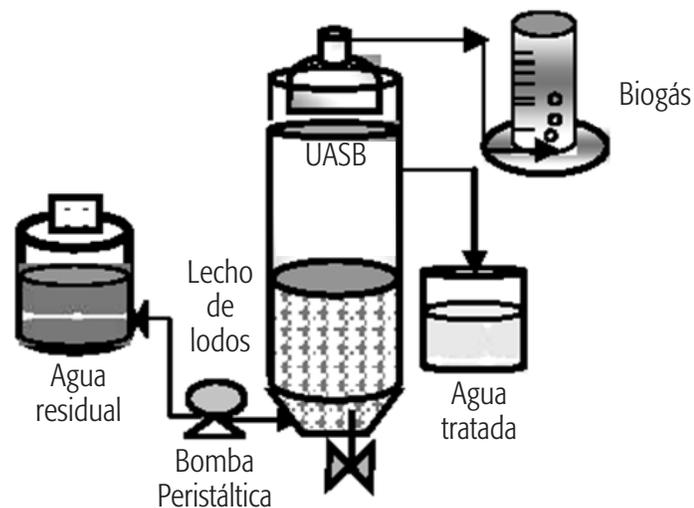


Figura 2 Esquema de un reactor UASB.

- c. Llenar el recipiente de alimentación con agua residual y hacerla pasar al reactor en flujo ascendente.
- d. Calcular el flujo por minuto que tendrá el reactor en cada uno de los tiempos de residencia hidráulico (TRH) propuestos (24, 18, 12, 9 y 6 horas), con la ecuación 14:

$$(ec. 14) \quad Flujo = \frac{V_r}{TRH}$$

Donde V_r = Volumen útil del reactor en mL y TRH = tiempo de residencia hidráulica en minutos.

- a. Verificar el flujo por minuto, dejando pasar agua residual de la salida del reactor a una probeta graduada y medir la cantidad de líquido.
- b. Ajustar la bomba hasta alcanzar el flujo deseado.
- c. Iniciar el funcionamiento de la bomba, considerando los parámetros anteriores y vigilar que éste sea uniforme.
- d. Determinar el flujo del reactor cada día, cuando se tome la muestra del efluente.
- e. Pegar una tira de cinta adhesiva en la columna de vidrio, marcándola por centímetros de arriba hacia abajo.
- f. Armar la columna según el diagrama y colocar la solución salina en el recipiente. Llenar la columna con una propipeta de 3 vías.
- g. Registrar continuamente la cantidad de solución salina desplazada de la columna, la cual es equivalente al biogás producido.

IV. Instalación del reactor completamente agitado (Quimiostato).

1. Usar una jarra de vidrio (puede ser un matraz Kitasato) de 0.5 L e instalarla conforme se ilustra en la figura, colocando un embudo en el efluente que servirá como sedimentador para retener los lodos que salen del reactor y recircularlos.
2. Inocular con un 10 % (V/V) de lodos aerobios.
3. Alimentar con el efluente del reactor UASB.
4. Ajustar el flujo de entrada considerando un TRH de 12, 9, 6 y 3 horas.
5. Tomar muestras de entrada y salida para medir los parámetros de funcionamiento.
6. Instalar un sistema de aireación dentro del reactor por medio de una bomba, para aumentar la concentración de oxígeno disuelto y aumentar la eficiencia en la eliminación de la materia orgánica.

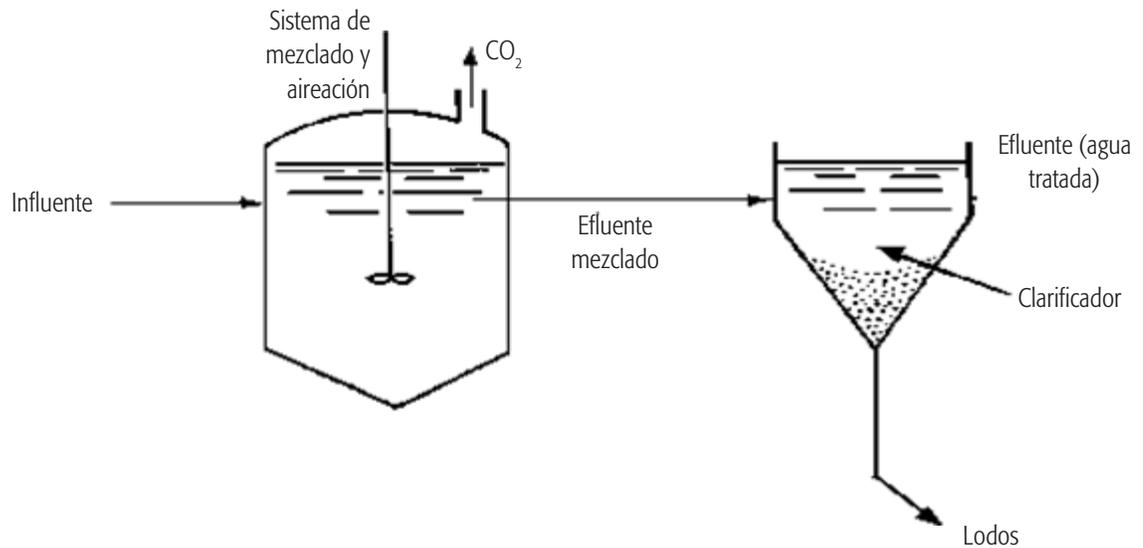


Figura 3 Esquema de un reactor aerobio.

V. Toma de muestras del efluente de los reactores y medición de parámetros.

- Tomar con una probeta, 50 mL de muestra del influente y efluente de cada uno de los reactores.
- Verificar el flujo de cada reactor midiendo el tiempo que se tarda en acumular 50 mL del efluente.
- De ser necesario, ajustar el flujo con base en el TRH fijado.
- Colocar las muestras en botellas de plástico, etiquetadas con la fecha, la hora, influente o efluente y el reactor de donde proviene.
- Congelar la muestra hasta su uso
- Identificar en cada una de las etapas de funcionamiento de los reactores si se encuentran en estado pseudoestacionario y de ser así, cambiar al siguiente TRH.

Medición de los diferentes parámetros en cada uno de los reactores

Cada semana las muestras acumuladas y congeladas de cada uno de los reactores, deberán descongelarse antes de determinar los diferentes parámetros por duplicado (pH, alcalinidad, DQO, etc.), conforme las técnicas descritas en la práctica número 2.

Resultados y discusión

Anotar los resultados en la tabla 8.

2. Graficar las cargas orgánicas ($\text{gDQO}(\text{L}\cdot\text{d})^{-1}$) de entrada y salida de cada uno de los reactores a los distintos TRH evaluados y calcular las eficiencias de remoción de la materia orgánica por medio de la ecuación 15:

$$(ec.15) \quad \eta \% = (\text{DQO}_{\text{entrada}} - \text{DQO}_{\text{salida}} / \text{DQO}_{\text{entrada}}) \times 100$$

- 3.- Discutir las diferencias en los parámetros obtenidos en cada uno de los reactores.

Cuestionario

1. Explicar cómo se relacionan los parámetros; el pH de salida, la alcalinidad y la producción de biogás con cada una de las etapas de la digestión anaerobia.
2. ¿Por qué es importante vigilar que las condiciones del funcionamiento de los reactores sea de manera constante?
3. ¿Cuál es la eficiencia del tren de tratamiento, respecto a los parámetros de funcionamiento y qué calidad de agua residual se espera obtener?

Bibliografía

-  Franco, A; Mosquera-Corral, A; Campos, J.L.; Roca, E. (2007). "Learning to operate anaerobic bioreactors". *Communicating Current Research and educational topics and trends in applied microbiology*, P.P. 618-627.
-  APHA (2005). *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, Washington, DC.
-  Norma Oficial Mexicana. *NOM-001-Ecol-1996*. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales.
-  Norma Oficial Mexicana. *NOM-002-Ecol-1996*. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.

Práctica 5

Montaje y puesta en marcha de un reactor UASB desnitrificante

Objetivo

Que el alumno aprenda los fundamentos teóricos, instalar un reactor desnitrificante y a controlar las condiciones ambientales necesarias para que alcance el estado estacionario respiratorio.

Introducción

Los contaminantes encontrados en el agua residual pueden ser muy diversos, dependiendo principalmente del origen de éstas. Las aguas residuales urbanas están contaminadas por materia orgánica soluble, donde el carbono y el nitrógeno, (en forma amoniacal, de nitrito o nitrato), son la fracción más importante.

La forma idónea para la eliminación biológica del nitrógeno presente en las aguas residuales, es mediante nitrificación y desnitrificación, en donde ambos procesos biológicos deberán ser desasimilativos y disipativos para no generar biomasa. La desnitrificación heterótrofa requiere de la presencia de materia orgánica como fuente de electrones. Esta característica permite considerar a la desnitrificación como un proceso mediante el cual sea posible eliminar simultáneamente, nutrientes carbonados y nitrogenados de las aguas residuales. La ecuación 16 lo ilustra.



Los sistemas biológicos utilizados para llevar a cabo la desnitrificación son principalmente de dos tipos: los que tienen a los microorganismos en suspensión y los que los tienen adheridos a un soporte o formando biopelículas. Dentro de los primeros se puede mencionar a los reactores de mezcla completa (CSTR: Completely Stirred Tank Reactor). Entre los sistemas que utilizan microorganismos fijos, se pueden mencionar a los filtros anaerobios empacados, reactores de lecho fluidizado, reactores de contacto biológico rotatorio y reactores anaerobios de lecho de lodos (UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket), entre otros. En general, estos reactores tienen como ventaja el requerir de volúmenes de trabajo pequeños, dada la mayor concentración de células que logran reunir en su interior, soportan mayores cargas volumétricas y sobrecargas de tratamiento que los reactores con células en suspensión.

Material

Material	Reactivos
2 crisoles (10 mL) 2 vasos de precipitado (2000 mL) 1 vaso de precipitado (1000 mL) 1 propipeta 2 pipetas de 10 mL 1 tubo de vidrio 2 tubos para centrifuga de 20 mL 1 espátula 1 matraz Erlenmeyer de 1000 mL 1 probeta (1000 mL) 1 embudo de vidrio 1 cono Imhoff 1 agitador magnético 1 columna de vidrio 1 manguera de tygon (16) 2 pinzas de presión 1 manguera de látex	Cloruro de sodio (NaCl) Acetato de sodio (C ₂ O ₂ H ₄) Nitrato de sodio (NaNO ₃) Molibdato de sodio (NaMoO ₄) Sulfato de cobre pentahidratado (CuSO ₄ 5(H ₂ O)) Cloruro férrico (FeCl ₃) Cloruro de calcio dihidratado (CaCl ₂ 2(H ₂ O)) Fosfato de potasio dibásico (KH ₂ PO ₄) Sulfato de magnesio (MgSO ₄)
	Equipo
	Reactor UASB Bombas peristálticas de velocidad variable con cabezal ajustable Balanza analítica Parrilla de agitación Centrifuga Mufla Parrilla para DQO Electrodo selectivo de nitrato Cromatógrafo de gases Centrifuga Horno a 70 °C Potenciómetro para medir voltaje Electrodo selectivo de amonio

Procedimiento

I. Inóculo.

Se empleará un inóculo conformado por lodos anaerobios provenientes del reactor UASB de la Planta Piloto de Tratamiento de aguas residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (PPTA). Previa inoculación de los reactores bajo condiciones desnitrificantes, los lodos se lavarán varias veces (al menos 3) con solución fisiológica (8.5 g NaClL⁻¹). La experimentación se iniciará con una concentración de los lodos en los reactores de 6 g SSVL_{reactor}⁻¹.

II. Reactor UASB desnitrificante.

La experimentación se llevará a cabo en un reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente (UASB: upflow anaerobic sludge blanket), alimentado en continuo (Figura 4), cuyas dimensiones se encuentran en la tabla 10.

Tabla 10. Dimensiones del reactor UASB

	UASB	UASB ₂
Volumen de operación (L)	1.45	1.4
Altura (cm)	48	47
Diámetro interno (cm)	6.6	6.4

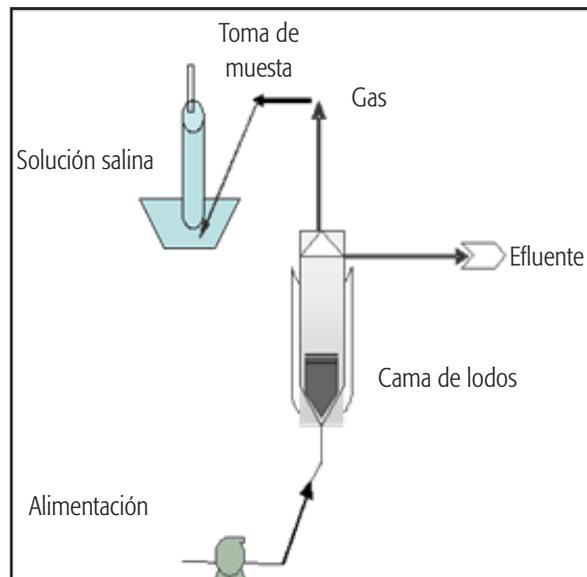


Figura 4 Esquema de un reactor UASB desnitrificante de laboratorio.

El volumen de gas producido en el reactor (N_2 , CO_2), se recolectará y medirá en una columna por desplazamiento con una solución salina saturada, preparada con $300 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ en agua destilada.

El caudal tratado por los reactores se calcula mediante la medición diaria del volumen del efluente dividido entre el tiempo transcurrido.

III. Influyente.

Se utilizará un medio mineral, el cual se complementa con NaNO_3 como fuente de nitrógeno y acetato de sodio como fuente de electrones. A fin de evitar contaminación del medio de alimentación, tanto la fuente de nitrógeno como la de carbono se alimentarán al reactor en dos fracciones separadas (fracción 1 y fracción 2), según se indica en el anexo 1.

IV. Estado estacionario (EE) desnitrificante.

Para lograr la estabilización de los lodos desnitrificantes hasta el estado estacionario, se usarán las siguientes condiciones de operación: alimentación con $250 \text{ mg N(Ld)}^{-1}$ y con la carga respectiva de acetato de sodio utilizando una relación carbono-nitrógeno (C/N) de 1.5 y un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 1 día. Se considera que el reactor alcanza el EE cuando las velocidades volumétricas de consumo de NO_3^- y de producción de N_2 sean constantes.

1. Se tomará diariamente una alícuota del medio de alimentación de los reactores (influyente) y del medio agotado a la salida de los mismos (efluente).

2. Filtrar las muestras con membrana de 0.45µ, se les medirá el pH y el contenido de nitrato y DQO.
3. Se tomará asimismo el volumen del gas producido para estimar el nitrógeno molecular generado.
4. Con este reactor en estado estacionario, se evaluarán diferentes velocidades de carga nitrogenada, al ajustar diferentes TRH (h: 24, 12, 9).

Las variables de respuesta serán las velocidades de carga de entrada y salida de DQO, de nitrato y de nitrógeno molecular producido, la eficiencia en el consumo de nitrato (E_{NO_3}), el rendimiento desnitrificante (Y_{N_2}), calculado mediante el nitrógeno molecular generado y el nitrato consumido y el índice volumétrico de lodos (IVL).

Resultados y discusión

1. Registrar los resultados de cada uno de los reactores en archivos de Excel, realizando la estadística básica (promedio, desviación estándar y coeficiente de variación) y elaborar las gráficas de cada uno de los parámetros de funcionamiento.
2. Graficar las cargas orgánicas $gDQO(Ld)^{-1}$ de entrada y salida de cada uno de los reactores a los distintos TRH evaluados y calcular las eficiencias de remoción de la materia orgánica y de nitrato por medio de las ecuaciones siguiente:

$$(ec. 17) \quad E_{MO} \% = (DQO_{entrada} - DQO_{salida} / DQO_{entrada}) \times 100$$

$$(ec.18) \quad E_{NO_3} \% = (N-NO_3_{entrada} - N - NO_3_{salida} / N - NO_3_{entrada}) \times 100$$

3. Discutir las diferencias en los parámetros obtenidos en cada uno de los reactores.

Tabular los valores de las variables de respuesta:

Tabla 11. Resultados de los parámetros de funcionamiento de los reactores UASB desnitrificantes a los diferentes TRH

Tiempo (d)/ Parámetro	Velocidad de carga (gDQO(Ld) ⁻¹) entrada y salida	pH entrada y salida	Velocidad de carga gN-NO ₃ (Ld) ⁻¹ entrada y salida	Producción volumétrica de biogás (L(Ld) ⁻¹)	Flujo vol. (Ld ⁻¹) entrada y salida	TRH (d)

Graficar las velocidades de carga y de descarga de los compuestos carbonados y nitrogenados con respecto al tiempo de operación.

Reportar el balance de nitrógeno de la siguiente forma:

Balance de nitrógeno.

Se hace en el estado estacionario, considerando las especies nitrogenadas que se alimentan, se generan, se consumen y salen del reactor, [mg N (Ld)⁻¹]. Está representado en la ecuación 19:

$$(ec.19) \quad \frac{dN}{dt}_{\text{reactor}} = D (N - NO_3^- - E - (N - NO_3^- + N - NH_4^+ + N - \text{biomasa}_s)) - QN_2 = 0$$

donde:

D es la tasa de dilución,

E corresponde al valor de entrada,

S corresponde al valor de salida y

Q es la producción volumétrica de gas expresada en mgN (Ld)⁻¹.

Cuestionario

1. Define en qué consiste la desnitrificación organotrófica.
2. Define en qué consiste la desnitrificación litotrófica.
3. Describe cómo afecta la temperatura, pH y relación C/N a la desnitrificación.

Bibliografía

-  APHA (2005). *Standard methods for examination of water and wastewater*. 16th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
-  López, J., Olayo R., Gómez J., Cuervo, F. (2006). "Determination of Sludge settleability using the interfacial analysis of contact angle", *Environmental Technology* 27:1241-1247.
-  Cuervo, F., Martínez, S., Texier, A. and Gómez, J. (2009). "Denitrification for wastewater treatment", In: *Environmental Technologies to treat nitrogen pollution. Principles and Engineering*. International Water Association Publishing

Práctica 6

Actividad metanogénica de lodos granulares

Objetivo

Que el alumno realice la prueba de la actividad metanogénica para cuantificar la capacidad que tienen los lodos granulares para remover la materia orgánica bajo condiciones anaerobias.

Identifique los principales parámetros que influyen en el funcionamiento de esta prueba.

Introducción

La digestión anaerobia es un proceso bioquímico en el cual un grupo de microorganismos, en ausencia de oxígeno molecular, lleva a cabo la transformación de compuestos orgánicos complejos (carbohidratos, proteínas y lípidos) en productos más simples, como metano, bióxido de carbono y trazas de otros gases (sulfhídrico y amonio).

La actividad metanogénica específica (AME) es una variable que evalúa el comportamiento de la biomasa, pues permite cuantificar la máxima capacidad de producción de metano por concentración de microorganismos presentes en los lodos anaerobios. A través de ella es posible determinar la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema, examinar la degradabilidad de los sustratos y el efecto de compuestos potencialmente inhibidores o tóxicos.

Material

Material	Reactivos
10 probetas de 25 o 50 mL	Acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COO-Na}$)
10 tubos con tapón de rosca	Hidróxido de sodio (NaOH)
1 matraz aforado de 250 y 500 mL	Fosfato de sodio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
1 botella ámbar	Fosfato dibásico de potásico (K_2HPO_4)
1 piceta con agua destilada	Cloruro de amonio (NH_4Cl)
2 vaso de precipitado de 100 mL	Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
1 pipeta de 10 mL	Cloruro de calcio (CaCl_2)
1 pipeta de 5 mL	Cloruro férrico ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
1 probeta graduada de 50 mL	Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
1 espátula	Glucosa o dextrosa anhidra
1 termómetro	Selenito de sodio (Na_2SeO_3)
1 m de manguera látex de diámetro pequeño	Molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$)
5 botellas serológicas	Ácido clorhídrico (HCl)
5 tapones de neopreno	Ácido Bórico (H_3BO_3)
5 aros de aluminio	Cloruro de zinc (ZnCl_2)
1 pipeta de 10 mL despuntada	Cloruro de aluminio (AlCl_3)
4 jeringas de insulina con aguja intercambiable	Cloruro de níquel ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
4 botellas serológicas	Cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
1 columna de vidrio	Cloruro de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
1 cristizador chico	
1 soporte universal	
2 pinzas de 3 dedos	
2 agujas estériles	
1 propipeta de 3 vías	
	Equipo
	Balanza analítica
	Baño María con temperatura controlada
	Engargoladura para botellas

Procedimiento

Preparación de las trampas de NaOH.

Preparar una solución de NaOH, 3%. Llenar tubos de tapón de rosca o botellas serológicas con esta solución sin dejar aire dentro. Cerrar con el tapón de neopreno y asegurar el aro de aluminio con la engargoladora.

Preparación de los lodos para la puesta en marcha de la actividad metanogénica.

Los ensayos se realizarán en botellas serológicas.

- Una noche previa al experimento resuspender los lodos anaerobios en el medio de cultivo descrito en el anexo 1, sin el sustrato con el fin de agotar los sustratos y gases residuales presentes en ellos.
- La cantidad de lodos para inocular oscilará entre 1 o 2 g, dependiendo de la cantidad de SV de los lodos, conforme la ecuación 20:

$$(ec.20) \quad V_{\text{LODO}} = \frac{V_{\text{MEZCLA}} * C_{\text{fija}}}{C_{\text{INICIAL LODO}}}$$

Donde:

V_{LODO} = Volumen de lodo a adicionar en R1 (L).

V_{MEZCLA} = Volumen total de reacción o de mezcla .

(medio con sustrato más lodo)(L).

C_{fija} = Concentración fija de SV que se quiere adicionar ($1 - 2 \text{ g SVL}^{-1}$).

C_{inicial} = Concentración de SV que tiene el lodo (g SVL^{-1}).

- c. La cantidad de sustrato (acetato de sodio o glucosa) que se agregará a cada una de las botellas ($2 - 4 \text{ g L}^{-1}$), dependerá de la cantidad de SV que tenga el lodo anaerobio tomando en cuenta la ecuación 21.

$$\text{(ec. 21) } \frac{2 - 4 \text{ g de DQO del sustrato}}{\text{g SSV de los lodos}}$$

Cinética:

- Las botellas serológicas se lavan perfectamente, se les adiciona la cantidad de medio (50 mL) con base en el volumen de lodo a inocular.
- De ser posible, pasar una corriente de N_2 durante un minuto a cada una de las botellas para desplazar el oxígeno presente en ellas y tapar con los tapones de neopreno y sellos de aluminio.
- Agregar la cantidad de sustrato requerida a partir de una solución concentrada para adicionar NO más de 1 mL a cada botella.
- Incubar las botellas (reactor 1) dentro de un baño María a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ y montar el sistema según el esquema siguiente.

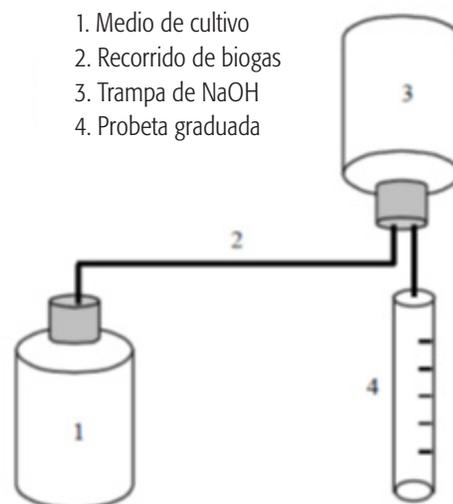


Figura 5. Determinación de la actividad metanogénica

- Trabajar la cinética por duplicado con sustrato y un control sin sustrato para evaluar la respiración endógena. Cada equipo trabajará con diferente concentración de sustrato.

f. Registrar el volumen de metano producido a través del tiempo en la tabla 12.

Tabla 12. Metano producido en las botellas

Metano desplazado (mL de NaOH evacuado)							
Tiempo (h)	Control 1	Control 2	Promedio controles	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Promedio muestras

La producción teórica de metano debe ser calculada teniendo en cuenta las condiciones de temperatura y presión atmosférica bajo las cuales se realicen los montajes de AME.

Considerando la ecuación de combustión del metano, teniendo una oxidación completa de éste, un mol de CH₄ consume dos moles de O₂. Por lo tanto, a condiciones normales de temperatura y presión (T=273°K; P=1atm), 22.4 litros de metano corresponden a 64 g de DQO, es decir, 0.35 litros de CH₄ por gramo de DQO removida.

Como esta relación es válida para condiciones normales de temperatura y presión, para cualquier otra condición el volumen obtenido debe ser corregido.

El factor de corrección por temperatura y presión puede calcularse con las ecuaciones 21 y 22:

$$(ec.21) \quad \frac{PoVo}{o} = \frac{PIV1}{T1}$$

por lo que el volumen real de metano es:

$$(ec.22) \quad Vo = \frac{T0}{T1} * \frac{Po}{P1} * V1$$

Este Vo de CH₄ se divide entre los gSSV_{lodo} y se grafica contra el tiempo de incubación para calcular la pendiente de la recta que representa la AME. Para el cálculo de la pendiente (m) deberá construirse una curva de "Volumen acumulado de CH₄" vs "Tiempo del ensayo", este último podrá ser suspendido una vez que la curva se torne asintótica.

La pendiente deberá ser tomada en el tramo de mayor inclinación de la curva y deberá corresponder a la utilización de al menos el 50% del sustrato adicionado.

La pendiente resultante se debe convertir a gDQO CH₄, considerando la ecuación de combustión del CH₄ (1 gDQO corresponde a 0.35 L de CH₄). La AME se representa como lo muestra la ecuación 23

$$(ec.23) \quad AME = \frac{gDQOCH4}{gSST*d}$$

Resultados y discusión

1. Calcular la DQO removida y el volumen de CH₄ producido.
2. En una hoja de Excel trabajar conforme la información anterior, los datos obtenidos durante el ensayo.

Tabla 13. Datos importantes para los cálculos

Rendimiento teórico de CH ₄ por cada gramo de DQO removida	Y mL CH ₄ /gDQO	
Concentración de Biomasa	X gSSVL ⁻¹	
Volumen de la botella donde se realizó el ensayo	Vol. reactor (mL)	

- Convertir los mL de metano acumulados en $\text{gDQO}_{\text{CH}_4}/\text{gSST}_{\text{lodo}}$.
- Graficar los valores de $\text{gDQO}_{\text{CH}_4}/\text{gSST}_{\text{lodo}}$ vs. tiempo transcurrido y calcular la pendiente cuando se encuentre en etapa ascendente.
- Convertir el valor de la pendiente en unidades de $\text{gDQO}_{\text{CH}_4}/\text{gSST}_{\text{lodo}} \cdot \text{d}$ y comparar este resultado con la bibliografía.
- Recopilar los datos de la AME obtenida de los demás equipos y discutir a qué se deben las diferencias en los valores.

Recomendaciones

Una vez iniciada la prueba deberán hacerse mediciones de biogás por lo menos 3 veces por día y agitar los reactores antes de hacer las mediciones para que haya evacuación del biogás y mejor contacto biomasa/sustrato.

Cuestionario

- ¿Qué diferencia existe entre utilizar, acetato de sodio o glucosa como sustratos para la determinación de la AME?
- ¿Cuál es la importancia de poner botellas de control en el ensayo?
- ¿Qué otros sustratos se pueden emplear como sustratos para esta prueba, y por qué? Fundamente su respuesta.

Bibliografía

-  APHA (2005). *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association. Washington, DC.
-  Guerra, G.R., González M.S., Trupiano, P.A., Figueroa, E.M., Sarghezzo, L., Cuevas, M.E. (2010). "Perfiles de actividad metanogénica específica en un reactor UASB (Reactor de flujo ascendente y manto de lodos) Utilizado para el tratamiento de líquidos cloacales pre-sedimentados". Universidad Nacional de Salta. Buenos Aires Argentina.
-  Guwy, A.J. (2004). "Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity". *Reviews in Env. Sci. and Biotech.* Vol. 3 No. 2, pp. 131-139.
-  Ramírez, F., Meraz, M., Fajardo, C., y Monroy O. (1994). "Determinación de la actividad metanogénica en lodos anaerobios". *Memorias del III Taller y Seminario Latinoamericano "Tratamiento anaerobio de aguas residuales"*. Montevideo-Uruguay.
-  Torres L.P., Pérez, A. (2010). "Actividad metanogénica específica: una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales". *Revista EIDENAR*.

Práctica 7

Actividad desnitrificante de lodos anaerobios

Objetivo

La presente práctica tiene como objetivo determinar la capacidad desnitrificante de un consorcio microbiano usando un sustrato orgánico modelo como el acetato.

Introducción

Uno de los contaminantes más importantes en el agua es el nitrógeno, ya que las actividades antropogénicas como las relacionadas con la agricultura y la industria, han alterado drásticamente el ciclo de este elemento provocando la acumulación de compuestos nitrogenados en la biosfera.

Existen métodos fisicoquímicos y biológicos para la eliminación de nitrato de los cuerpos hídricos. Los primeros son efectivos, aunque suelen ser más costosos que los biológicos y generalmente sólo trasladan el contaminante de un ambiente a otro. Entre los sistemas biológicos, la desnitrificación ha constituido un proceso viable en la eliminación efectiva de dicho compuesto.

La desnitrificación es un proceso respiratorio biológico anóxico, realizado principalmente por diversos géneros bacterianos en el cual el nitrato es transformado a nitrógeno molecular. El proceso involucra la actividad de diversas enzimas que llevan a la formación de intermediarios nitrogenados que pueden ser resumidos como sigue: $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$. Debido al hecho que la desnitrificación es un proceso reductivo, se requiere la presencia de una fuente de electrones, la cual puede ser proporcionada por diversos sustratos orgánicos. De lo anterior reside el atractivo del uso de la desnitrificación como un proceso biológico en el tratamientos de aguas residuales, ya que es posible la eliminación simultánea de nitrógeno y una amplia variedad de compuestos orgánicos, que van desde los fácilmente oxidables como los ácidos grasos, hasta compuestos de difícil oxidación como los derivados del petróleo.

Variables de respuesta

El proceso desnitrificante se evaluará a través de variables de respuesta fisiológicas como son eficiencias de consumo, rendimientos de producto y velocidades específicas de consumo de sustrato. Los cálculos para determinar dichas variables son detallados a continuación en las ecuaciones 24,25 y 26:

Eficiencias de consumo de sustrato

$$\text{ec.24)} \quad E = \frac{(\text{mg de sustrato consumido})}{(\text{mg de sustrato alimentado})} * 100$$

Rendimientos de productos (YP), considerado como la eficiencia de la ruta desnitrificante

$$Y_p = \frac{(\text{mg de producto})}{(\text{mg de sustrato consumido})}$$

Velocidad específica de consumo de sustrato

$$\text{(ec. 26)} \quad g_s = \frac{(\text{mg de sustrato consumido})}{(\text{mg SSV} * d)}$$

Material

Material	Reactivos
2 crisoles (10 mL)	Gas helio
1 vaso de precipitado (500 mL)	Acetato de sodio ($C_2O_2H_4$)
1 vaso de precipitado (250 mL)	Nitrato de sodio ($NaNO_3$)
1 propipeta	Cloruro de sodio (NaCl)
2 pipetas (10 mL)	Sulfato de cobre pentahidratado
3 tubos para centrifuga (20 mL)	($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)
1 probeta (500 mL)	Cloruro férrico ($FeCl_3$)
1 espátula	Cloruro de calcio dihidratado
1 embudo de vidrio	($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)
12 botellas serológicas (60 mL)	Fosfato de potasio dibásico (KH_2PO_4)
12 tapones de hule	Molibdato de sodio ($NaMoO_4$)
12 arillos metálicos	Sulfato de magnesio ($MgSO_4$)
2 agujas hipodérmicas y tubins	
1 papel parafilm	
1 porta filtros y filtros de 25 μm	
2 viales (2 mL) para cromatografía	
	Equipo
	Agitador magnético
	Incubadora con agitación
	Balanza analítica
	Parrilla de agitación
	Centrifuga
	Mufla
	Parrilla para DQO
	Electrodo selectivo de nitrato
	Cromatógrafo de gases
	Engargoladora

Inóculo: Lodo desnitrificante proveniente de un reactor UASB desnitrificante en estado estacionario.

Procedimiento

I. Obtención del inóculo

1. Tomar la cantidad de lodo necesaria (de acuerdo a la concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) de la fuente de inóculo, reactor UASB) para inocular (1 g SSV⁻¹).
2. Colocar el lodo obtenido en una probeta de 500 mL y esperar a que sedimente. Cuantificar el volumen del sedimento. Eliminar el sobrenadante.
3. Colocar el sedimento en un vaso de precipitado y lavar varias veces con abundante solución salina (NaCl, 8 g L⁻¹). Dejar que sedimente y recuperar el volumen inicial del sedimento.
4. Colocar nuevamente el sedimento en la probeta de 500 mL y aforar con solución salina al volumen total inicial.
5. Colocar el volumen total de lodos en un vaso de precipitado (250 mL), colocar un agitador magnético y poner en agitación en una parrilla.
6. Con los lodos en agitación tomar la cantidad de inóculo necesario (para inocular cada una de las botellas serológicas) y colocar en los tubos para centrifuga. Centrifugar durante 10 minutos a 5000 rpm. Retirar y cuantificar el sobrenadante.

- Recuperar el volumen del sobrenadante con solución salina y con una espátula mezclar homogéneamente con el precipitado.

II. Preparación e inoculación de botellas serológicas

Para la preparación del medio de cultivo ir al anexo 1 "Formulación del medio de cultivo para cuantificar la actividad desnitrificante de lodos anaerobios"

- Verter el lodo en cada una de las botellas y adicionar el medio de cultivo hasta aforar a 50 mL. Colocar el tapón de hule, poner el arillo metálico y sellar con la engargoladora.
- Colocar agujas (agujas hipodérmicas y tubins) de entrada y salida de gas en el tapón de hule y pasar gas helio durante 5 minutos. Retirar el gas helio, colocar papel parafilm en los tapones de las botellas, agitar y poner en agitación (150 rpm) dentro de una incubadora puesta a 30 °C.
- Las botellas se preparan en orden decreciente, para que al final, la que está etiquetada con el tiempo cero pueda determinarse inmediatamente después de su preparación.
- Trabajar la cinética por duplicado con sustrato y un control sin sustrato para evaluar la respiración endógena. Cada equipo trabajará con diferente concentración de sustrato.

III. Seguimiento del proceso desnitrificante

Para la toma de muestras:

- Se sacan las botellas de la incubadora, se mide en el espacio de cabeza la concentración de los gases producidos (N_2 y CO_2) mediante cromatografía de gases.
- De la fase líquida se toma una muestra para determinar la concentración de materia orgánica mediante la medición de DQO y de nitrato mediante el electrodo selectivo.
- Se recupera con solución salina el volumen tomado en la botella (volumen 50 mL), se vierte el contenido en un vaso de precipitado y se pone en agitación. Finalmente, se toma una muestra de 10 mL, se coloca en un crisol (previamente puesto a peso constante) y se coloca dentro de una mufla durante 1 hora a 550 °C para determinar la concentración de SSV.

Resultados y discusión

- Registrar los datos obtenidos y construir una figura de consumo de sustratos y generación de productos contra el tiempo. Caracterizar el proceso desnitrificante mediante el cálculo de eficiencias de consumo y rendimientos de conversión.

Tabla 14. Cálculo de las eficiencias de consumo de sustrato (E)

t (h)	mg de sustrato consumido	mg de sustrato alimentado	Eficiencias de consumo de sustrato (E)
0			
12			
24			
36			
48			
60			
72			

Tabla 15. Cálculo del Rendimientos de productos (Y_p)

t (h)	mg de producto	mg de sustrato consumido	Rendimientos de productos (Y_p),
0			
12			
24			
36			
48			
60			
72			

2. Calcular velocidades específicas de consumo y generación de productos. Graficar la concentración de sustratos consumidos y productos generados contra el tiempo. Mediante una regresión lineal, calcular la pendiente, que corresponde a la velocidad volumétrica de consumo de sustratos o formación de productos. Las velocidades específicas se calculan al dividir la pendiente de la recta entre la concentración de biomasa presente en cada botella.

Tabla 16. Cálculo de la Velocidad específica de consumo de sustrato (q_s)

t (h)	mg de sustrato consumido	mg SSVd ⁻¹	Velocidad específica de consumo de sustrato (q_s)
0			
12			
24			
36			
48			
60			
72			

Cuestionario

1. Escribe las reacciones estequiométricas correspondientes con y sin formación de biomasa de la desnitrificación organotrófica con acetato como fuente de carbono.
2. Describe los principales riesgos a la salud que produce la contaminación por nitrato y nitritos.
3. Enumera los principales microorganismos involucrados en la desnitrificación organotrófica.

Bibliografía

- Rodríguez M.J.; Martínez A.S., Garza G.Y. (2000). *Desnitrificación, sulfato reducción y metanogénesis durante la biomineralización de aguas residuales de la industria farmacéutica*. Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Estrutoplan On line.
- Bremmen, N.V. (2002). "Nitrogen cycle: Natural organic tendency". *Nature*. 415. pp. 381-382.
- Soares, M. I. M. (2000). "Biological denitrification of groundwater". *Water, Air and Soil Pollution*. 123. pp. 183-193.

Práctica 8

Caracterización del inóculo de los reactores (Sólidos totales, fijos y volátiles, velocidad de sedimentación, índice volumétrico de lodos).

Objetivo

Que el alumno conozca los fundamentos y los procedimientos para evaluar los principales parámetros de caracterización de los lodos.

Introducción

Los lodos son densas capas de microorganismos que presentan un metabolismo sintrófico, en el que ninguna de las especies presentes puede degradar los residuos orgánicos complejos en forma individual. El gran contenido de biomasa presente en estos gránulos y sus características físicas y microbiológicas les permite tolerar elevadas cargas orgánicas durante el tratamiento de aguas residuales. El lodo granular, está formado por gránulos compactos con excelentes propiedades de sedimentación. Los lodos de buena calidad, deben tener velocidades de sedimentación entre 40-50 mh^{-1} , e índices volumétricos con un valor menor a 20 mLgss^{-1} , (Hulsholf y col., 2004, Valdés, 2003).

La capacidad de asentamiento de un lodo es el "índice del volumen de los lodos" (IVL), obtenido al permitir que una muestra de lodos se asiente en condiciones controladas. La proporción del volumen ocupado por el lodo asentado, comparado con el volumen total de la muestra, después de 30 minutos, se divide por el contenido de los sólidos en suspensión, para dar el IVL. Es un parámetro útil y de rápida determinación.

Material

Material	Equipo
1 cono de Imhoff de 250 mL	Estufa
1 desecador	Mufla
1 probeta de vidrio de 100 mL	Balanza analítica
1 pinzas de disección	Horno de secado
2 crisoles o cápsulas de porcelana	
1 cronómetro	
1 soporte universal	
2 anillos para soporte universal	
1 pipeta despuntada de 10 mL	
1 propipeta de 3 vías	
1 pinzas para crisol	
1 probeta de vidrio de 1 L	
1 piceta con agua destilada	

Procedimiento

1. Determinación de sólidos volátiles de los lodos

1. Enumerar con lápiz la base de los crisoles de porcelana perfectamente limpios y secos.
2. Poner los crisoles a peso constante, siguiendo el mismo procedimiento para la determinación de los sólidos suspendidos volátiles en el agua residual.

3. Agitar los lodos y con una pipeta despuntada tomar 5-10 mL y depositarlos en los crisoles que ya estarán a peso constante, para introducirlos en la estufa a una temperatura de 110 °C durante dos horas.
4. Cumplido el tiempo se pasan a un desecador para enfriarse y pesarse, repetir estas operaciones hasta tener peso constante (ST).
5. Los crisoles conteniendo los lodos y a peso constante se pasan a la mufla a 550° C por 30 minutos, después a la estufa a una temperatura de 110 °C durante 30 minutos y de nuevo al desecador; este proceso se lleva a cabo hasta alcanzar el peso constante (SF).
6. La diferencia entre los ST y los SF da los SV.

II Índice volumétrico de lodos (IVL)

Se utiliza el método recomendado por AHPA (2005):

1. Tomar una alícuota de 250 mL de lodos perfectamente mezclados.
2. Colocar el cono de Imhoff en un soporte universal con anillo.
3. Verter los lodos dentro del cono de Imhoff y con un cronómetro medir el volumen que sedimenta durante un periodo de 30 minutos.
4. Anotar el volumen sedimentado
5. Para calcular el IVL se utiliza la ecuación 27:

$$(ec. 27) \quad IVL(mL g^{-1}) = \frac{VS_{30}}{VM * SSV}$$

IVL: Índice volumétrico de lodos,
 VS₃₀: Volumen de lodos sedimentados en 30 min (mL),
 VM: volumen de la muestra (L),
 SV: Sólidos volátiles (gL⁻¹).

III Velocidad de sedimentación (Vs)

Medir la velocidad de sedimentación utilizando el método recomendado por AHPA (2005):

1. En una probeta de 1000 mL hacer una graduación en centímetros, tomar 100 mL de lodo (previa agitación) y suspenderlos en 900 mL de agua destilada.
2. Con un cronómetro y por cada intervalo de 10-30 segundos medir la cama de lodo a través de la probeta, hasta que no haya más descenso de la biomasa.
3. Repetir esta operación tres veces para obtener el promedio de las observaciones a cada tiempo señalado.
4. Con los promedios obtenidos, construir una gráfica de cm, contra el tiempo (s) en el cual desciende la cama de lodos.
5. Calcular la pendiente en la parte exponencial de la curva.
6. Calcular la velocidad de sedimentación con la ecuación 28:

$$(ec. 28) \quad V_s = \frac{a}{b}$$

V_s = pendiente en la parte exponencial de la curva
(m/h)= velocidad de sedimentación.

Resultados y discusión

1. Registre los resultados en las siguientes tablas.

Tabla 17. Sólidos totales, fijos y volátiles de los lodos

Peso de los crisoles solos (P1)				
Crisol	1ª pesada(g)	2ª pesada(g)	3ª pesada (g)	Promedio (g)
1				
2				
3				
			promedio	

Peso de los crisoles + lodos (P2)				
Crisol	1ª pesada (g)	2ª pesada (g)	3ª pesada (g)	Promedio (g)
1				
2				
3				
			promedio	

Peso de los crisoles + lodos (mufla) (P3)				
Crisol	1ª pesada (g)	2ª pesada (g)	3ª pesada (g)	Promedio (g)
1				
2				
3				
			promedio	

2. Recopile los datos obtenidos por los equipos en cada una de las pruebas y calcule la DE y la CV, en la tabla.

Tabla 18. Sólidos, índice volumétrico y velocidad de sedimentación de los lodos

Equipo	ST (gL ⁻¹)	SF (gL ⁻¹)	SV (gL ⁻¹)	IVL (mLg ⁻¹ _{SSV})	VS (mh ⁻¹)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Promedio					
DE					
CV %					

Cuestionario

1. Explique por qué es importante para el funcionamiento de los reactores UASB que los lodos tenga un bajo IVL.
2. Justifique que los lodos con alta velocidad de sedimentación son óptimos para el funcionamiento de los UASB.
3. Recopile en una tabla los factores que afectan al IVL y la VS. Discuta y argumente sus resultados obtenidos y compárelos con los resultados de los otros equipos.

Bibliografía

-  APHA (2005). *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association. Washington, DC.
-  Franco, A., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Roca, E. (2007). "Learning to Operate Anaerobic Bioreactors". *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. P.p. 618-627.
-  Lettinga, G., van Velsen, A.F.M., Hobma, S.W., de Zeeuw, W., Klapwijk, A. (1980). "Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment". *Biotechnology and Bioengineering*. Vol XXII. p.p. 699-734.
-  Abbasi, T., Abbasi, S.A. (2012). "Formation and impact of granules in fostering clean energy production and wastewater treatment in upflow anaerobic sludgeblanket (UASB) reactors". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16 p.p. 1696–1708.

Anexo

Preparación del medio mineral para el reactor desnitrificante.

Tabla 19. Medio desnitrificante

Fracción 1		Fracción 2	
Acetato de sodio adicionado de:	Concentración (mgL ⁻¹)	Nitrato de sodio adicionado de:	Concentración(mgL ⁻¹)
KH ₂ PO ₄	1000	FeCl ₃	100
Na ₂ MoO ₄	50	CuSO ₄	20
CaCl ₂	300		
MgSO ₄	200		

Preparación del medio de cultivo para la prueba de actividad metanogénica.

Tabla 20. Composición del medio de cultivo (Torres y Pérez (2010))

Solución	Compuesto	Unidades	Concentración
Macronutrientes	NH ₄ Cl	gL ⁻¹	170
	NaHCO ₃	mgL ⁻¹	1000
	KH ₂ PO ₄	gL ⁻¹	37
	MgSO ₄ ·4H ₂ O	gL ⁻¹	9
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	gL ⁻¹	8
Micronutrientes	FeCl ₃ ·6H ₂ O	mgL ⁻¹	2000
	ZnCl ₂	mgL ⁻¹	50
	CuCl ₂ ·H ₂ O	mgL ⁻¹	30
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	mgL ⁻¹	500
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	mgL ⁻¹	90
	AlCl ₃ ·6H ₂ O	mgL ⁻¹	50
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	mgL ⁻¹	2000
	NiCl ₂ ·6H ₂ O	mgL ⁻¹	50
	H ₂ BO ₃	mgL ⁻¹	50
	Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	mgL ⁻¹	100
	EDTA	mgL ⁻¹	1000
	HCl 36%*	mL ⁻¹	1
Indicador de potencial Redox RESAZURIN**	mgL ⁻¹	500	
Otros	Agente reductor NaS·7H ₂ O***	gL ⁻¹	100
	Extracto de levadura (fuente de vitaminas)****	gL ⁻¹	0.2

* Al momento de utilizar las soluciones, adicionar 1 mL de esta solución por cada litro de la solución de macronutrientes.

** Evita formación de precipitados

*** Una vez que se adicione el agente reductor, verificar la coloración final. Incoloro= bajo potencial redox; Rosa o Rojo = alto potencial redox.

Rango recomendado: pE = -100 a -200 mV

****Adicionar 0.2 g Levadura L⁻¹ al sustrato

1. En una parrilla con agitación (sin calor) colocar un matraz aforado de 1 litro con una barra magnética y aproximadamente 400 mL de agua destilada.

2. Pesar cuidadosamente los compuestos del medio y verterlos en el matraz de Erlenmeyer, esperar que se disuelva por completo cada uno de los componentes para poder agregar el otro.
3. Cuando se disuelvan todos los componentes, agregar 1 mL de la solución de elementos traza.
4. Agregar poco a poco el agua hasta aproximadamente 800 mL y ajustar el pH a 7 con solución de bicarbonato de sodio o HCl completar el volumen y corroborar el pH.

Tanto el medio como la solución de elementos traza se guardan en botellas ámbar y en refrigeración. El medio se debe preparar un día antes de iniciar la cinética, para evitar que se contamine.

Formulación del medio de cultivo para cuantificar la actividad desnitrificante de lodos anaerobios

El medio de cultivo se formulará como sigue (gL⁻¹):

Tabla 21. Medio de cultivo para cuantificar la actividad desnitrificante de lodos anaerobios

Reactivos	gL ⁻¹
NaMoO ₄	0.06
Cu ₂ SO ₄ .5(H ₂ O)	0.06
FeCl ₃	0.1
CaCl ₂ .2(H ₂ O)	0.3
KH ₂ PO ₄	1.0
MgSO ₄	0.3

El medio se ajusta a pH de 7 con NaOH 10 N. La adición de acetato y nitrato se ajustará para tener una relación C/N estequiométrica de 1.1.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Av. San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina
C.P. 09340, Del. Iztapalapa, México D.F.
Tel.: (01) 58044600



9 786072 1813083