



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE BIOLOGÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Análisis de la diversidad biológica y de las características estructurales de la
suspensión, en un biorreactor con membranas sumergidas,
para el tratamiento de un efluente acuícola**

TESIS

que para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental

Presenta la

Ingeniera Bioquímica Atzimba Pérez Juárez

Director de Tesis:

Doctor en Ingeniería de Procesos Julio César Orantes Ávalos

Morelia, Michoacán, septiembre de 2015

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, a la Facultad de Biología y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

A mi tutor, el Dr. Julio César Orantes Ávalos, por su apoyo, formación y conocimientos sin los cuales no hubiese sido posible realizar este trabajo.

A todos los maestros, asesores y miembros de la mesa tutorial, por su apoyo y tiempo que me brindaron, durante mi formación en el Programa de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental, para la realización del presentes trabajo.

A mis compañeros Lizet, Yesenia, Isaías, Alejandro y Aniceto por su apoyo y amistad.

DEDICATORIA

- A mi hija Frida por ser mi fuente de motivación e inspiración para superarme cada día.
- A mi esposo, por su apoyo y cariño.
- A mis padres, por su apoyo incondicional y paciencia.
- A mis hermanos y familia por su apoyo, consejos y cariño.

"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica. Esa fuerza es la voluntad." Albert Einstein

ÍNDICE

ÍNDICE	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE TABLAS	5
NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS	6
NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS	7
NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS DE MICROFAUNA	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. OBJETIVOS	14
1.1.1. Objetivo general.....	14
1.1.2. Objetivos particulares	14
1.2. HIPÓTESIS	15
1.3. JUSTIFICACIÓN	16
2. MARCO TEÓRICO	17
2.1. Bioindicación	17
2.1.2. Aplicación de la bioindicación en los sistemas de tratamiento de aguas residuales	19
2.2. Configuración y funcionamiento de los BRM.....	20
2.2.1. Ventajas y desventajas de los BRM	22
2.2.2. Parámetros de operación.....	24
2.3. Suspensión Biológica	28
2.3.1. Composición de la biomasa	29
2.3.2. Actividad biológica.....	30
2.3.3. Bacterias	30
2.3.3.1. Formación y estructura del flóculo	31
2.3.4. Bacterias filamentosas.....	34
2.3.5. Comunidad de microfauna: Protozoarios y metazoarios.....	35
2.4. Dinámica de las comunidades de microfauna	36
2.4.1. Sucesión ecológica de la microfauna	37
2.4.2. Análisis de diversidad ecológica	39
2.4.3. Índice de importancia relativa (IIR)	45
3. ANTECEDENTES	46
4. MATERIALES Y MÉTODOS	49

4.1.	Diseño experimental.....	49
4.2.	Descripción y operación del BRM	49
4.2.1.	Reactor piloto.....	49
4.2.2.	Módulos de membranas y condiciones de filtración	50
4.2.3.	Sustrato para la alimentación del BRM.....	51
4.2.4.	Condiciones de pH y temperatura	52
4.3.	Análisis de laboratorio	53
4.4.	Análisis de la suspensión biológica	53
4.4.1.	Características de los flóculos.....	53
4.4.2.	Densidad de microorganismos filamentosos.....	55
4.5.	Análisis de diversidad de la microfauna	56
4.5.1.	Abundancia relativa de la microfauna	56
4.5.2.	Índices de diversidad ecológica	56
4.5.3.	Análisis estadístico	58
5.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	59
5.1.	Operación y eficiencia del BRM	59
5.1.1.	Parámetros fisicoquímicos	59
5.1.2.	DQO y eficiencia de remoción.....	61
5.1.3.	Concentración de la biomasa	62
5.1.4.	Actividad de la biomasa y tasa de consumo de oxígeno	63
5.1.5.	Producción y rendimiento de la biomasa.....	64
5.1.6.	Tasa específica de crecimiento de los microorganismos	66
5.2.	Morfología de los flóculos y densidad de filamentos	67
5.2.1.	Características de los flóculos	67
5.2.2.	Índice de filamentos.....	71
5.3.	Evolución de las poblaciones de microfauna	73
5.3.1.	Análisis de la diversidad	77
5.4.	Análisis estadístico de la información.....	89
5.4.1.	Análisis de componentes principales (PCA)	89
5.4.2.	Análisis de correspondencia linealizado (DCA)	92
5.4.3.	Análisis de varianza	96
6.	CONCLUSIONES.....	99
7.	REFERENCIAS.....	101
	ANEXOS.....	i

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.2. 1. Tipos de configuración de BRM., (a) membrana sumergida. (b) membrana externa (Zuriaga, 2010)	21
Fig.2. 2. Composición de la Suspensión biológica (Orantes, 2005).	29
Fig.2. 3.	
Fig.5. 1. Evolución de los parámetros fisicoquímicos; a) temperatura, b) pH, y c) OD durante el tiempo de experimentación.	60
Fig.5. 2. Evolución de la DQO _{influyente} y DQO _{permeado} durante el tiempo de experimentación.	61
Fig.5. 3. Evolución de la concentración sólidos en función de la carga orgánica másica en el reactor.	62
Fig.5. 4. Tasa de consumo de oxígeno (OUR) y OD en función de la carga orgánica.	63
Fig.5. 5. Tiempo de retención celular (TRC) y rendimiento de biomasa en función de la carga orgánica.....	65
Fig.5. 6. Tasa específica de crecimiento de los microorganismos (μ) en función de la carga orgánica.....	66
Fig.5. 7. Evolución del tamaño promedio de los flóculos durante el tiempo de experimentación, carga orgánica y desviación estándar.....	67
Fig.5. 8. Evolución de la forma de los flóculos en función de la carga orgánica.	69
Fig.5. 9. Evolución de la estructura de los flóculos en función de la carga orgánica.	70
Fig.5. 10. Evolución de la firmeza de los flóculos en función de la carga orgánica. ..	70
Fig.5. 11. Imágenes de los flóculos a)1,b) 65 y c) 125 día de operación (10x)	71
Fig.5. 12. Evolución del IF durante el tiempo de experimentación y carga orgánica.	72
Fig.5. 13. Abundancia relativa de las clases de microfauna durante el tiempo de experimentación y carga orgánica.....	74
Fig.5. 14. Curvas de acumulación de especies en función de la carga orgánica.	78
Fig.5.15. Índice de dominancia y diversidad por (a) género y (b) grupo.....	80
Fig.5.16. Índice de importancia relativa de la microfauna por grupo taxonómico.....	82
Fig.5.17. Índice de importancia relativa por género de la microfauna en función de la carga orgánica.....	83
Fig.5.18. Dendograma de agrupación de poblaciones por carga orgánica en el BRM.	86

Fig.5.19. Dendograma de agrupación de poblaciones por semana en función de la carga orgánica en el BRM.	86
Fig.5 20. Sucesión de poblaciones de microfauna a diferentes cargas orgánicas. ...	87
Fig.5.21. Análisis DCA de variables operativas, cinéticas y microfauna a diferentes cargas orgánicas.	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4. 1 Características del módulo de membranas de filtración.	51
Tabla 4. 2. Caracterización del sustrato preparado a partir del efluente acuícola para la alimentación del BRM.	52
Tabla 4. 3. Métodos y equipo de medición para los diferentes parámetros.	53
Tabla 4. 4. Escala de clasificación de IF (Eikelboom, 2000).	55
Tabla 4. 5. Análisis de diversidad e índices estimados.	57
Tabla 5. 6. Reducción de variables mediante PCA.	91

NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS

- **Parámetros de operación**

Notación	Descripción	Unidades
C/N	Relación de masa de nutrientes carbono/nitrógeno	(kgDQO/kgN _{Total})
CO	Carga orgánica másica	(kgDQO/kgSSV·d)
CO _v	Carga orgánica volumétrica	(kgDQO/m ³ ·d)
DQO	Demanda química de oxígeno	(mgDQO/L)
DQO _{part}	DQO particulada en el reactor	(mgDQO/L)
DQO _{perm}	DQO de permeado (efluente)	(mgDQO/L)
DQO _{sol}	DQO soluble en el reactor	(mgDQO/L)
DQO _{sustrato}	DQO de sustrato (influyente)	(mgDQO/L)
DQO _{Total}	DQO total en el reactor	(mgDQO/L)
EPS	Sustancia poliméricas extracelulares	
J	Flujo membranar	(L/m ² ·h)
OD	Oxígeno disuelto	(mgO ₂ /L)
OUR	Velocidad de consumo de oxígeno	(mgO ₂ /L·s)
PTM	Presión transmembranar	(kPa)
SMP	Productos microbianos solubles	(mgDQO/L)
SOUR	Velocidad específica de consumo de oxígeno	(mgO ₂ /mgSSV·h)
SST	Sólidos suspendidos totales	(mgSST/L)
SSV	Sólidos suspendidos volátiles	(mgSSV/L)
SSF	Sólidos suspendidos fijos	(mgSSF/L)
TRC	Tiempo de retención celular	(d)
TRH	Tiempo de retención hidráulico	(h)
μ	Tasa específica de crecimiento microbiano	(kgSSV/kgSSV·d)
μ _{máx.}	Tasa específica máxima de crecimiento microbiano	(kgSSV/kgSSV·d)
Y	Coefficiente de rendimiento de la biomasa	(kgSSV/kgDQO)

NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS

- **Análisis de diversidad de la microfauna**

Notación	Descripción	Unidades
D	Índice de dominancia de Simpson	
DF	Diámetro de flóculo	(μm)
EstF	Estructura de flóculo	(%)
FirF	Firmeza de flóculo	(%)
ForF	Forma de flóculo	(%)
H	Índice de diversidad de Shannon	(bits/ind)
IF	Índice de filamentos	
I _{MH}	Índice cuantitativo de similitud de Morisita-Horns	

NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS DE MICROFAUNA

Notación	Género, especie o morfoespecie
Aa	<i>Acineria uncinata</i>
Ad	<i>Ameba desnuda</i>
Aa	<i>Arcella arenaria</i>
Av	<i>Arcella vulgaris</i>
As	<i>Aspidisca sp.</i>
B	<i>Blesphasrosphaea sp.</i>
Ca	<i>Centropyxis aculeata</i>
Ch	<i>Chinollodella sp.</i>
Ci	<i>Ciclidium sp.</i>
C	<i>Coleps sp.</i>
Di	<i>Diffugia sp.</i>
Ep	<i>Epistylis sp.</i>
E	<i>Euglupha sp.</i>
Eu	<i>Euplotes sp.</i>
Ho	<i>Holophrya sp.</i>
Li	<i>Litonotus sp.</i>
Ma	<i>Mayorella sp.</i>
To	<i>Tokophyra sp.</i>
Tm	<i>Trochillia minuta</i>
Ur	<i>Uronema sp.</i>
Vc	<i>Vorticella conavaria</i>
Vm	<i>Vorticella minuta</i>
Po	<i>Podophyra sp.</i>
Le	<i>Lecane</i>
Co	<i>Colurella</i>
Ne	<i>Nemátodo</i>
Ae	<i>Aelosoma</i>
Ph	<i>Philodina</i>
G	<i>Gastrotiches</i>
Pf	<i>Flagelado 1</i>
Pa	<i>Parenema sp.</i>

RESUMEN

El problema causado por los efluentes residuales de los cultivos acuícolas se ha incrementado y agravado notablemente en las últimas décadas, debido al crecimiento de la acuicultura. Por lo que es necesario trabajar en el desarrollo y la aplicación de nuevas tecnologías, más eficientes para el tratamiento de aguas residuales, como los biorreactores con membranas sumergidas (BRM). Estos reactores han mostrado ser altamente eficientes, en virtud de que combinan la degradación biológica de los contaminantes, con un proceso de separación por medio de membranas porosas de ultrafiltración. En el presente trabajo se empleó un biorreactor, con un módulo de membranas planas sumergidas, a escala laboratorio, el cual fue alimentado continuamente para tratar los sólidos residuales de un sistema acuícola recirculado (RAS, por sus siglas en inglés: recirculated aquaculture system), de cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Se estudió la evolución de las diferentes poblaciones de microfauna, las características morfológicas de los flóculos y densidad de bacterias filamentosas bajo diferentes cargas orgánicas. Los resultados muestran que, a medida que se va incrementando la carga orgánica, hay una evolución de las diferentes comunidades presentes en la biomasa, así como una modificación de las características morfológicas de los flóculos y densidad de organismos filamentosos, dicho cambios en la composición de la biomasa está determinada por los interacción entre los componentes bióticos (e.g. relaciones tróficas de los microorganismos) y abióticos (e.g. parámetros de operación). La adaptación de la microfauna se refleja en la diversidad y el recambio de especies dentro de la suspensión biológica. Se llegó a estimar hasta un 77% de recambio de poblaciones en la estructura de la comunidad, con los cambios de carga orgánica.

Los resultados muestran que en cada carga orgánica se establecieron diferentes comunidades de microfauna, estructuradas funcionalmente, de acuerdo con sus requerimientos nutricionales, las condiciones ambientales y de operación del reactor biológico.

Palabras clave: BRM, microfauna, biomasa, bacterias filamentosas, tratamiento biológico de aguas residuales, diversidad ecológica, bioindicación.

ABSTRACT

The environmental problem caused by untreated wastewater effluents from fish farming has recently increased, since fish farming had experienced an important growth. So it is necessary to develop and apply more efficient technologies to treat these effluents. The membrane bioreactor (MBR) is an efficient technology that can be applied to treat this kind of effluents. These reactors have proven to be highly efficient since they combine the biological degradation of the contaminants, with an ultrafiltration membranes process. In this work, we use a MBR, with a submerged flat-membrane module. The experiment was set up at lab scale. The reactor was continuously fed to treat the solid waste of a RAS (recirculated aquaculture systems) of tilapia (*Oreochromis niloticus*). The evolution of different microfauna populations, floc morphology and density of filamentous bacteria under different organic loads was studied. The results show that, different microbial communities were established under each organic loading. Morphological characteristics of the flocs, and density of filamentous organisms were also changed under each organic loading. The biomass structure and biotic composition is determined by the interaction between biotic (e.g. trophic relationships of microorganisms) and abiotic issues (e.g. operation MBR parameters). The microfauna adaptation was reflected both, in biodiversity and species turnover within the biological suspension. It was estimated a 77% replacement of populations of the biotic community structure, with the organic loading changes.

Results showed that under each organic loading condition, different microfauna communities became established. These communities were functionally structured according to nutritional requirements, environmental and operational conditions of the biological reactor.

Keywords: MBR, microfauna, biomass, filamentous bacteria, biological wastewater treatment, ecological diversity, bioindication.

1. INTRODUCCIÓN

El uso de bioindicadores, como un auxiliar para controlar la operación de las plantas de tratamiento de aguas residuales es una herramienta que está siendo cada vez más empleada, debido a que puede ser muy práctica y económicamente asequible. Sin embargo, es necesario generar más conocimiento respecto al comportamiento de la microfauna en los reactores biológicos, sus relaciones tróficas, su asociación con la morfología de los flóculos, parámetros de operación, cinéticos y fisicoquímicos, para poder establecer bioindicadores confiables y particularmente en los biorreactores con membranas, ya que hay muy pocos estudios sobre estos aspectos en este tipo de reactores.

Muchos estudios coinciden en la importancia de los protistas en las plantas de tratamiento de agua (Curds, 1982; Al-Shahwani y Horan, 1991; Madoni *et al.*, 1993; Madoni, 1994; Salvado *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 2004), mostrando que juegan un papel fundamental en el proceso de eliminación de contaminantes por su participación en la cadena trófica dentro de la suspensión, siendo los principales depredadores de las bacterias, por lo que contribuyen a la eliminación de bacterias libres y a la clarificación de los efluentes. También permiten tener una mejor biofloculación como resultado de la estimulación de la actividad microbiana y contribuyendo directamente con la excreción de EPS, además que juegan un importante en el desarrollo de la estructura del flóculo debido a su actividad biológicas (Arregui *et al.*, 2007, 2008; Wilén *et al.*, 2008).

Funcionalmente los protozoarios dentro de los procesos bioológicos de tratamiento de agua, son productores primarios, consumidores de bacterias, pequeñas algas, otros protozoarios y ciertos metazoarios, pero también pueden ser presas de otros microorganismos. Además, actúan como intermediarios en la mineralización y el reciclaje de nutrientes esenciales (Sherr, 1984) y tiene la capacidad de bioasimilar y transformar diferentes sustancias contaminantes (Salvado *et al.*, 1995). La abundancia de éstos, estará determinada por la disponibilidad de

nutrientes, sus relaciones tróficas y, las condiciones de operación y fisicoquímicas de los biorreactores.

La mayoría de los estudios que se han realizado han sido en procesos biológicos de tratamiento de agua residual, se han realizado en procesos de lodos activados, también denominados “convencionales”, sin embargo, estos biorreactores, por sus propias condiciones de operación, tienen características biológicas muy diferentes a los sistemas más recientes, como los tratamientos avanzados para la remoción biológica de nutrientes, o los biorreactores de membrana (Pérez-Uz *et al.*, 2007, 2009; Serrano *et al.*, 2008b; Liu *et al.*, 2008; Arévalo *et al.*, 2009). Por lo anterior, es importante el estudio de diversos aspectos biológicos y su relación con la operación en las tecnologías como el biorreactor con membranas sumergidas.

Estos reactores han mostrado ser altamente eficientes, en virtud de que combinan la degradación biológica de los contaminantes, con un proceso de separación por medio de membranas porosas de micro o ultrafiltración. Este proceso presenta varias ventajas con respecto a los procesos de tratamiento ya que mejora el proceso de degradación de la materia orgánica, así como la retención de contaminantes complejos o de lenta degradación, además de que gracias a la ultrafiltración se logra un efluente completamente libre de sólidos y de bacterias. Los biorreactores con membranas sumergidas no se habían usado para el tratamiento de efluentes acuícolas, hasta hace menos de una década, sin embargo tampoco en estos casos se han estudiado aspectos biológicos que igual pueden ser de gran relevancia, dado que la biomasa producida en los biorreactores puede ser potencialmente utilizada como biofloc o alimento complementario para los peces en cultivo. No obstante, este trabajo se enfoca más al estudio de la suspensión biológica orientada al control de la operación del reactor.

El problema causado por los efluentes residuales de los cultivos acuícolas se ha incrementado y agravado notablemente en las últimas décadas, dada la demanda creciente de sistemas de producción de alimentos. Por lo que es necesario trabajar

en el desarrollo y la aplicación de nuevas tecnologías, más eficientes para el tratamiento de las aguas residuales y residuos sólidos provenientes de dicha actividad, como los BRM. Por ello en este trabajo se explora la aplicación de un BRM, para el tratamiento de la fracción sólida de un efluente acuícola, de un cultivo de tilapia, al mismo tiempo que se estudian las características morfológicas de los flóculos, como son: tamaño, forma, estructura, firmeza y densidad de bacterias filamentosas. Además, de un análisis de diversidad, que consiste en una curva de acumulación de especies, estimación de índices de diversidad α (Shannon y Simpson) y diversidad β (índice de Morisita-Horn). Posteriormente se estudió la posible conformación de comunidades que pudieran estar asociadas a las diferentes cargas orgánicas, mediante un análisis clúster y finalmente se analiza la posible correlación entre diversas variables operativas del BRM y la microfauna, mediante un análisis de componentes principales, un decorana y análisis de varianza.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

- Analizar la diversidad biológica, de las características morfológicas y estructurales de los flóculos y de la abundancia de filamentos en la suspensión biológica, en un biorreactor con membranas sumergidas, operado a diferentes cargas orgánicas, para el tratamiento de los sólidos en suspensión de un efluente acuícola.

1.1.2. Objetivos particulares

- Evaluar la eficiencia de operación de un Biorreactor de membranas a diferentes cargas orgánicas.
- Determinar las características estructurales y morfológicas de los flóculos de la suspensión biológica.
- Determinar la densidad y abundancia de bacterias filamentosas en la suspensión biológica.
- Estimar distintos índices de diversidad ecológica que se utilizan para caracterizar las relaciones de abundancia de especies.
- Evaluar mediante un análisis estadístico la formación de grupos funcionales de microfauna del BRM

1.2. HIPÓTESIS

Las características morfológicas y estructurales de los flóculos, la abundancia de filamentosas y la diversidad de las poblaciones de la microfauna presente en la biomasa, están correlacionadas con las cargas orgánicas de operación de un biorreactor con membranas sumergidas.

1.3. JUSTIFICACIÓN

Con el presente trabajo de investigación se pretende beneficiar directamente al sector acuícola del tal forma que se proporcionen bases sólidas para la operación y aplicación de nuevas tecnologías, como es el caso del Biorreactor de membranas sumergidas. El poder garantizar una mejor operación permitiría tratar más eficientemente los sólidos suspendidos del efluente acuícola, así como reutilizar tanto el agua y como los nutrientes no aprovechados en los sistemas acuícolas con recirculación. Con estos dos aspectos se minimiza el impacto negativo que genera esta la acuicultura cuando se descargan sus efluentes al ambiente sin tratamiento o con tratamientos de mala calidad y se puede lograr la recuperación de nutrientes, reciclándolos al sistema acuícola, lo cual permite reducir los costos de cultivo. Además de generar conocimiento de la estructura de la microfauna y características morfológicas de la suspensión a diferentes cargas orgánicas, que pueda ser empleada como una herramienta útil para el control, detección y prevención de posibles problemas operativos en los biorreactores con membranas. Estos conocimientos podrían servir como base para el establecimiento de bioindicadores para la operación de este tipo de reactores biológicos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Bioindicación

La bioindicación, es una técnica basada en la observación microscópica de la suspensión biológica. Es una herramienta útil para el control, detección y prevención de posibles problemas operativos en el reactor biológico, mediante la identificación y cuantificación de la microfauna presente.

El estudio de la biomasa presente en la suspensión biológica de los biorreactores con membranas sumergidas (BRM) resulta de suma importancia, ya que el conocimiento de sus características morfológicas y la estructura de su biocenosis serán el resultado de la respuesta de los microorganismos, a los cambios producidos en su ambiente, mediante la operación del reactor. Este estudio nos permite conocer el estado de la biomasa y correlacionarlo con los parámetros de operación del BRM. Con base en el análisis de la biomasa, se podrían realizar ajustes operativos del biorreactor, para lograr un funcionamiento eficiente y mantenimiento óptimo del sistema, con un bajo costo.

El análisis de la suspensión biológica es de gran utilidad en la detección, control y desarrollo de estrategias de eliminación de microorganismos asociados a problemas operativos como: (i) abultamiento o esponjamiento de los lodos, como resultado de la abundante presencia de organismos filamentosos, deficiencia de N y P, pH bajo, insuficiencia de oxígeno; (ii) malas condiciones de operación, tales como deficiencia de oxígeno, alta carga orgánica, crecimiento descontrolado de bacterias filamentosas, estructuras disgregadas de los flóculos, asociadas a la presencia del género *opercularia sp.*, ciliados nadadores libres y flagelados como grupos dominantes; iii) desfloculación debido a carga orgánica excesiva o presencia de sustancias tóxicas. Por lo anterior su estudio resulta importante como control del proceso degradativo en los tratamientos biológicos, porque nos permiten tener de manera más rápida información del funcionamiento en el BRM.

Las bacterias, que se encuentran en forma de flóculos, desempeñan un papel clave en la degradación y remoción de contaminantes, debido a que son el componente mayoritario de la suspensión biológica del reactor. La microfauna (protozoarios y micrometazoarios) juega un rol importante ya que son los principales consumidores de diversas partículas presentes en el agua residual, entre las cuales se encuentran las bacterias, porque afectan la eficiencia de operación ayudando a la clarificación de los efluentes y la eliminación de bacterias libres, además de contribuir a la formación de los flóculos bacterianos, debido a la excreción de exopolímeros y actúan como intermediarios en la remineralización y en el reciclaje de nutrientes esenciales (Shen *et al.*, 1990; Pauli *et al.* 2001).

La abundancia de los protozoarios presenta variaciones cuando hay un cambio en los parámetros de operación del reactor (CO, TRC, concentración de oxígeno disuelto, pH, etc.), que son factores esenciales que determinan las condiciones ambientales de las diferentes especies presentes en la suspensión biológica, (e.g. protozoarios), (Liu *et al.*, 2008). Por este motivo las poblaciones de protozoarios y sus abundancias han sido escogidas como indicadores de los parámetros de operación, de la calidad del efluente y del rendimiento de las plantas de tratamiento (Madoni, 1991; Madoni *et al.*, 1993; Luna-Pabello *et al.*, 1990; Esteban *et al.*, 1990; Al-Shahwani y Horan, 1991; Salvadó, 1994; Martín-Cereceda *et al.*, 1996, Lee *et al.*, 2004).

La mayoría de los estudios realizados sobre bioindicadores, han sido llevados a cabo en reactores de lodos activados, sin remoción biológica de nitrógeno, sin embargo, este tipo de reactores está sujeto a condiciones operacionales y características de la suspensión biológica muy diferentes a los BRM (Pérez-Uz *et al.*, 2007, 2009; Serrano *et al.*, 2008b; Liu *et al.*, 2008; Arévalo *et al.*, 2009).

2.1.2. Aplicación de la biondicación en los sistemas de tratamiento de aguas residuales

La identificación de los problemas operativos en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, a través del estudio de su comunidad microbiana, es actualmente considerado, en algunos países, como un componente esencial para el monitoreo de los procesos de tratamiento.

Por años, los protozoarios han sido utilizados como indicadores biológicos en el tratamiento de agua residual en los reactores de lodos activados, de diferentes maneras. En primer lugar, algunos autores establecieron las relaciones entre la sucesión de diferentes grupos de protozoarios y su evolución temporal en los sistemas de lodos activados (Curds y Cockburn 1970). Otros se enfocaron en la influencia de las condiciones fisicoquímicas que prevalecían en el tanque de aireación incluyendo la entrada de tóxicos (Abraham *et al.*, 1997; Dubber y Gray, 2011a; Madoni *et al.* 1993; Madoni *et al.*, 1996; Mortimer *et al.*, 2010; Nicolau *et al.*, 2001; Nicolau *et al.*, 2005; Nicolau *et al.*, 2007; Papadimitriou *et al.*, 2007). La acumulación de conocimiento ha ayudado a establecer una relación entre varios grupos de microfauna y el funcionamiento de la planta, incluyendo la calidad del efluente final (Fried *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2013; Madoni *et al.*, 1993; Salvadó *et al.*, 1995) y las especies presentes en los reactores biológicos (Drzewicki y Kulikowska, 2011; Pérez-Uz *et al.*, 2010).

Uno de los métodos más usados, basado en la estructura de la comunidad de microfauna, para evaluar el desempeño de la planta, es el índice biótico de lodos (SBI) propuesto por Madoni (1994), el cual se basa en la abundancia de las especies y diversidad de la comunidad de protozoarios y pequeños metazoarios, así como en la sensibilidad de éstos, a los cambios en el ambiente que son revelados por la presencia de varios de estos grupos en la suspensión biológica. Sin embargo, se ha encontrado que la estimación del SBI, en reactores de lodos activados o en BRM, no corresponden con los cambios en el conjunto de poblaciones de microfauna

presentes en los reactores biológicos. No obstante, mencionan que es importante considerar la presencia de ciertas especies de protozoarios indicadores de la eficiencia de la planta.

2.2. Configuración y funcionamiento de los BRM

Los biorreactores con membranas sumergidas, son una tecnología que combina el uso de microorganismos para la degradación biológica de contaminantes y un proceso de separación por medio de membranas de microfiltración o ultrafiltración para llevar a cabo la separación de los sólidos presentes en la suspensión biológica; obteniendo efluentes de alta calidad, completamente libres de sólidos suspendidos, bacterias y en algunos casos virus, dependiendo del tamaño de poro de la membrana. La membrana es, posiblemente, el elemento más importante en los BRM, ya que este proceso de separación es el que lo diferencia de los tratamientos convencionales y da lugar a una serie de cambios tanto en los procesos degradativos, como en las condiciones de la suspensión biológica. Una membrana es una lámina semipermeable que permite el paso selectivo de sustancias a través de ella, en función de su diámetro de poro. La membrana de microfiltración (MF) es porosa y normalmente simétrica, de un tamaño de poro de 0.1-10 μm . Los principales materiales que se utilizan para su fabricación son: polietileno, polipropileno o poliamidas, el óxido de zirconio, óxido de titanio, mezclas de ambos o alúmina, siendo las inorgánicas más caras y más resistentes con respecto a las membranas orgánicas.

Se pueden tener dos tipos de configuración de los BRM, que se diferencian por la ubicación del módulo de membranas y en la tecnología empleada para crear el gradiente de presión que constituye la fuerza impulsora del proceso de filtración. (i) Sistemas con membranas sumergidas en el interior del reactor; la fuerza impulsora es la presión a través de la membrana (Rosenberger *et al.*, 2002), que se consigue mediante la combinación de la presión hidrostática en el interior del reactor y la aplicación de vacío en el permeado (Fig. 2.5.a). Los módulos de membrana que se

emplean comúnmente en los biorreactores de membrana sumergidas son de placa y de fibra hueca. (ii) Sistemas con membranas externas, las cuales se encuentran en el exterior del reactor, y la suspensión biológica se bombea hacia el sistema de membranas externo, normalmente configurado en forma de bucles, donde otras bombas aumentan la velocidad de flujo para evitar la formación de capas de polarización por concentración sobre la membrana que limitan su permeabilidad (Fig. 2.5.b).

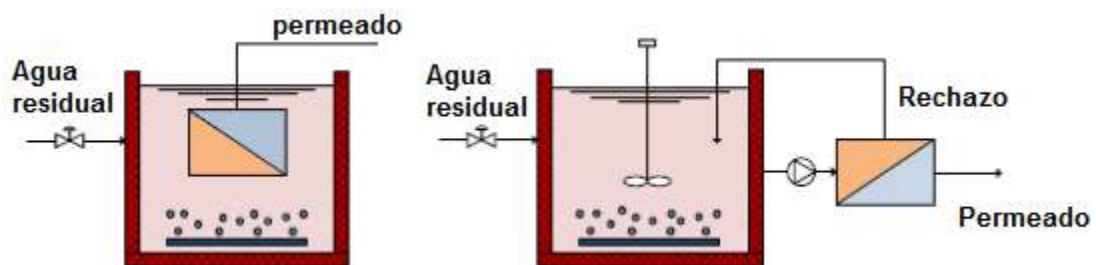


Fig.2. 1. Tipos de configuración de BRM., (a) membrana sumergida. (b) membrana externa (Zuriaga, 2010)

La diferencia en la configuración de los BRM es muy importante, ya que las fuerzas conrtantes que se generan en el bombeo de los BRM con membrana externa son considerablemente más importantes que las que se tienen en los reactores con membranas sumergidas. Esta diferencia implica cambios en la morfología y el tamaño de flóculos que se van a generar, que en los BRM con membrana sumergida son más grandes y menos densos. En los BRM normalmente se tienen flóculos de diámetros pequeños ($< 50 \mu\text{m}$). Otra diferencia importante que puede ser

La biocenosis presente en los BRM es compleja, constituida principalmente por una amplia diversidad de bacterias, protozoarios y metazoarios; que se encuentran formando parte de los flóculos, o en forma libre en la suspensión biológica. En los BRM, generalmente las bacterias emplean la materia orgánica principalmente para el mantenimiento y no para el crecimiento celular, lo cual reduce la producción de lodos residuales; sin embargo, dependiendo de la configuración del

BRM, se pueden encontrar diferentes tipos de microorganismos, fundamentalmente en la biomasa adherida a la membrana y que juegan un papel importante en la función degradativa de la biomasa del reactor biológico.

El proceso de degradación generalmente se realiza en condiciones aerobias, por lo que es necesario el suministro de oxígeno a la suspensión biológica. El efluente se filtra a través de la membrana. Para extraer este permeado se suele recurrir a una bomba de succión. El exceso de lodos se elimina por una vía diferente, mientras que la biomasa retenida por la membrana se mantiene dentro del reactor. Generalmente, se busca que las fuerzas cortantes generadas por la aireación mantengan completamente mezclada la suspensión biológica, aporten el oxígeno necesario para la degradación biológica de los contaminantes y ayuden a controlar el ensuciamiento de la membrana, para que no haya una reducción del flujo de permeado o un incremento en la presión transmembranal.

2.2.1. Ventajas y desventajas de los BRM

Debido a que los BRM presenta a algunas características particulares de operación tales como: altas concentraciones de SSV (5,000 mg/L a 20,000 mg/L), altas cargas orgánicas volumétricas (2 a 4 kgDQO/m³·d) y elevadas edades de lodo (30 a 100 d), este proceso ofrece varias ventajas en comparación con los sistemas convencionales:

- Debido a la operación con altas concentración de biomasa y al remplazo del sedimentador tradicional, un BRM requiere menos espacio.
- La filtración genera un efluente completamente libre de sólidos suspendidos, mejorando la remoción de bacterias, microorganismos patógenos y virus en algunos casos, lo cual le confiere un gran potencial de reuso, dada su calidad sanitaria y facilita la aplicación de tratamientos avanzados que conduzcan a la potabilización o incluso la purificación.

- La membrana permite tener un mejor control sobre la separación de los sólidos y consecuentemente un mejor control en la concentración de la biomasa en el reactor, por lo que se pueden lograr edades de lodos biológicos mayores, que favorecen el desarrollo de microorganismos de crecimiento lento (*e.g. bacterias nitrificantes, bacterias degradadoras de compuestos difíciles o lentamente biodegradables como los microcontaminantes*).
- Una alta concentración de biomasa en el reactor llevara a condiciones endógenas prolongadas lo que provoca una menor generación de lodos residuales (de 30% a 80% menos que en sistemas de lodos activados tradicionales).
- Se evitan los problemas ocasionados por la baja sedimentabilidad, el abultamiento de lodos y de generación de espuma; situaciones comunes en los procesos biológicos con separación de sólidos por medio de sedimentación.

A pesar de todas las ventajas mencionadas anteriormente, los biorreactores de membrana son una tecnología en crecimiento, que presenta algunos aspectos a mejorar. Entre las desventajas podemos mencionar las siguientes:

- Ensuciamiento de la membrana, lo que conlleva a una disminución del efluente permeado. Esta condición ha hecho necesario implementar estrategias de prevención del ensuciamiento de las membranas (*e.g. realizar ciclos de lavado químico, de paro y filtración o de retrolavado con mermeado, etc.*), que condicionan la operación del reactor..
- Mayores costos de operación con respecto a los procesos de lodos activados, debido a un alto consumo de energía requerida para la filtración y la aireación.
- Mayores costos de inversión, por el costo que implican las membranas y su remplazo.

2.2.2. Parámetros de operación

En la operación de un BRM, es importante tener en cuenta muchos parámetros. Los dos procesos acoplados en un BRM: 1) La degradación biológica de la materia orgánica y 2) la filtración por membrana, están relacionados con variables asociadas a su funcionamiento. Pero para la operación del reactor, es necesario valorarlas en conjunto, ya que ambas influirán en la eficiencia del BRM, la morfología de los flóculos, presencia de bacterias filamentosas, la dinámica de las poblaciones presentes en la suspensión biológica del BRM, etc.

De los parámetros de operación que están más relacionados con el proceso biológico y que son considerados para el diseño del reactor y el control de la operación son: Carga Orgánica másica (CO), Carga Orgánica volumétrica CO_v , Tiempo de Residencia Celular (TRC), Tiempo de retención hidráulico (TRH). Entre los parámetros de operación que están más relacionados con el proceso de filtración se encuentran: el flujo membranal (J) y la Presión Transmembranal (PTM).

➤ **Carga orgánica másica(CO)**

La carga orgánica se define como la relación de materia orgánica (DQO) en el influente y la cantidad de microorganismos presentes en el BRM. Su comportamiento es inversamente proporcional al TRC. La CO es un parámetro importante ya que la eficiencia del reactor depende de ella en gran medida. Con cargas orgánicas bajas (*i.e.* $CO < 0.5 \text{ kgDQO/kgSSV}\cdot\text{d}$) se tiene una mayor eficiencia de remoción de la DQO (Jegantheesan *et al.*, 2009), ya que los microorganismos disponen de más tiempo para la hidrólisis y degradación de los contaminantes. La alta concentración de SSV dentro del reactor, y los bajos valores de carga orgánica favorecen que las bacterias compitan por el poco alimento disponible, favoreciendo su adaptación ante condiciones de escasos de alimento y a la degradación de compuestos complejos o difícilmente biodegradables. La CO se estima con la siguiente ecuación:

$$CO = \frac{Q \cdot DQO_{influyente}}{V_R \cdot SSV} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:

CO=Carga orgánica (kgDQO_{influyente}/kgSSV·d)

V_R= Volumen del reactor (L)

Q= Caudal del influente (L/d)

DQO_{influyente}= Demanda química de oxígeno en el influente (mg/L)

SSV= Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)

Los rangos de referencia de acuerdo a Metcalf y Eddy (2003) que pueden ser considerados para la operación de los BRM van de 0.1 a 0.4 kgDQO/kgSSV·d.

➤ **Carga orgánica volumétrica (CO_v)**

La carga volumétrica hace referencia al valor de materia orgánica por unidad de volumen del reactor. Dado a que el volumen del reactor es más pequeño comparado con los sistemas tradicionales, este parámetro es mayor en los BRM, los rangos de referencia para este parámetro oscilan entre 2 a 4 kgDQO/m³·d. La CO_v se estima con la siguiente ecuación:

$$CO_v = \frac{Q \cdot DQO_{influyente}}{V_R} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde:

CO_v=Carga orgánica volumétrica (kgDQO_{influyente}/m³·d)

V_R= Volumen del reactor (L)

Q= Caudal de influente (L/d)

DQO_{influyente}= Demanda química de oxígeno en el influente (mg/L)

➤ **Tiempo de retención celular**

El TRC es uno de los parámetros más importantes ya que representa la relación de la masa de los microorganismos del sistema y los que salen de él (Jegantheesan *et al.*, 2009), el cual puede afectar el rendimiento del BRM.

$$TRC = \frac{V_R}{Q_W} \quad (\text{Ec. 3})$$

donde:

TRC=Tiempo de retención celular (d)

V_R = Volumen del reactor (L)

Q_W = Caudal de purga de lodos residuales de la suspensión biológica (L/d)

Los BRM generalmente son operados con altos TRC y alta concentración de SST (e.g. 5000 a 25000mg/L), lo cual permite tener una degradación eficiente del material particulado y soluble presente en el influente. Esta condición favorece el crecimiento de microorganismos con tasas lentas de crecimiento, como bacterias nitrificantes, algunos protozoarios y metazoarios. Además de que se induce una baja producción de lodos residuales, debido a que estas condiciones causan estrés en los microorganismos por la relativamente baja disponibilidad de sustrato. Esta condición ocasiona que los microorganismos utilicen su energía principalmente para el mantenimiento celular y para las funciones catabólicas en general y menos para las funciones anabólicas (e.g. la producción celular). El rango de referencia para el TRC, según Metcalf y Eddy (2003) va de 5 a 20 d.

➤ **Tiempo de retención hidráulico**

Representa el tiempo teórico promedio de permanencia de una molécula de agua en el Biorreactor. Es una de los parámetros más importantes para el diseño del reactor, ya que condiciona el tiempo que dispondrán los microorganismos para la

degradación biológica los contaminantes presentes en el agua. Como resultado de los altos TRC y la baja CO, el TRH generalmente se encuentran 4 y 5h.

$$TRH = \frac{V_R}{Q} \quad (\text{Ec. 4})$$

donde:

TRH=Tiempo de retención hidráulico (h)

V_R= Volumen del reactor (L)

Q= Caudal del influente (L/h)

➤ **Flujo membranar**

En un BRM la tasa de flujo membranar (J), se define como el volumen que se transfiere a través de la superficie de la membrana, por unidad de tiempo (l/m²·h), es un importante parámetro de diseño y operación pues afecta directamente la viabilidad y los costos del proceso (WEF, 2006).

$$J = \frac{Q_e}{A} \quad (\text{Ec. 5})$$

donde:

J=Flujo membranar (L/m²·h)

A= Área de filtración (m²)

Q_e= Caudal del efluente (L/h)

➤ **Presión transmembranar**

La presión a través de la membrana (*transmembrane pressure, TMP*) es el gradiente de presiones que hace posible que el permeado atravesase la membrana. A mayor TMP permitido en la operación, se obtienen mayores cantidades de permeado. No

obstante, también se ha constatado que, a mayores TMP, se produce un mayor ensuciamiento de la membrana (Vizcaya, *et al.*, 2006). Esto se puede explicar por la razón de que, a mayores TMP, más es la cantidad de sustancias susceptibles de depositarse sobre la membrana, debido a que es mayor la cantidad de permeado que la atraviesa. Siempre se produce ensuciamiento, aun trabajando a valores de muy bajos de flujo membranal. Pero cuando se trabaja con valores de flujo arriba del crítico para la membrana (Field, 2010), el ensuciamiento se acentúa de manera importante (Ognier, 2004). Los rangos típicos de operación son de 4 a 35 kPa.

La demanda de aireación está determinada, parcialmente, por las necesidades de flujo de aire para evitar el ensuciamiento y mantener una buena permeabilidad de las membranas (*e.g.* 5 a 10 L/min), (Pulefou *et al.*, 2008) y junto con la PTM van a determinar la correcta operación del proceso de filtración con las membranas.

2.3. Suspensión Biológica

Los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales pueden ser considerados como ecosistemas artificiales, con interacciones continuas entre los diversos factores bióticos y abióticos. Los microorganismos degradan los contaminantes del agua, mediante la conversión de la materia coloidal y disuelta, fundamentalmente en diferentes gases y otros compuestos usados en el anabolismo. Los microorganismos se encuentran en una suspensión biológica, donde podemos encontrar diversas poblaciones de bacterias (de diferentes especies), sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés: extracellular polymeric substances), así como otros microorganismos, como (protozoarios y metazoarios), los cuales participan en el proceso de remoción de contaminantes ya que estos constituyen su fuente de su alimento (Fig. 2.2).

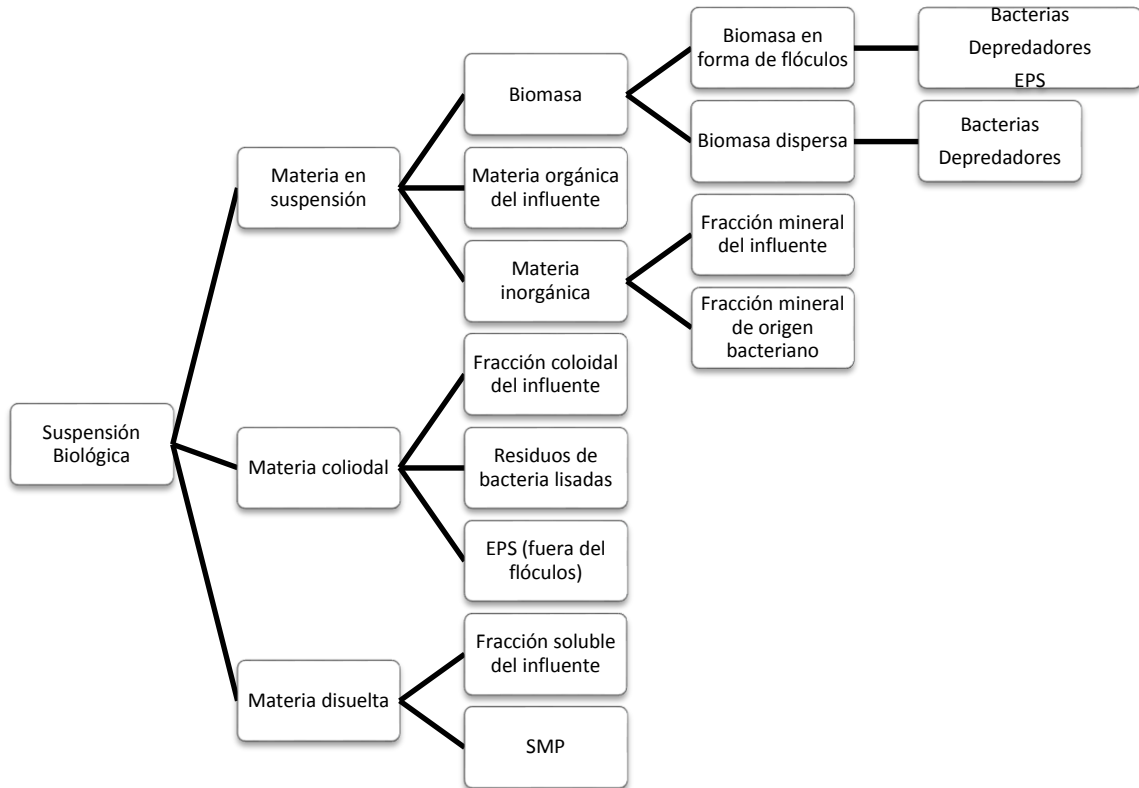


Fig.2. 2. Composición de la Suspensión biológica (Orantes, 2005).

2.3.1. Composición de la biomasa

En la biomasa se encuentran los microorganismos encargados de realizar el proceso de depuración que son principalmente: bacterias, hongos, protozoarios y metazoarios. La mayoría de las bacterias presentes en el BRM se encuentran en suspensión, pero asociadas en forma de flóculos, lo que les permiten adaptarse al medio y constituye un medio de protección contra sus depredadores (Wanner, 2003). La composición química de la materia viva está en función de las especies presentes. La fracción orgánica, es más importante y está compuesta químicamente de un 50±5% de carbono, de 20 a 30% de oxígeno, de 8 a 15% de nitrógeno, 8% de hidrógeno y de 2.5 a 5% de fósforo (Chudoba, 1990). La fracción inorgánica (expresada como peso seco) solo representa aproximadamente el 3%, ella está compuesta de iones: Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Fe^{3+} , S y de otros elementos únicamente

en cantidades traza (ASCE, W.-M., 1998). El 40% de la composición de la biomasa corresponde a las proteínas, seguidas de un 15 a 40% de la composición de ácidos húmicos, de 10 a 20% de material polimérico, de 1 a 2 % de ácidos urónicos y de 1 a 6% de ADN (expresados en peso seco) Wilén *et al.*, (2003).

2.3.2. Actividad biológica

Los microorganismos requieren de diversos nutrientes y de una fuente de energía para realizar sus funciones vitales. La oxidación biológica es el mecanismo mediante el cual los microorganismos degradan la materia orgánica del influente a tratar. Durante la oxidación de biológica, la materia orgánica en suspensión y coloidal primeramente es adsorbida en los flóculos, posteriormente, algunas sustancias son hidrolizadas y otras con ingeridas directamente por las bacterias para su degradación. En este proceso, una parte de la materia orgánica se oxida hasta sustancias más simples como el CO₂. Este es un proceso de mineralización, ya que la materia orgánica se está transformando en un compuesto inorgánico, pero otra parte se convierte en material celular nuevo, este es llamado proceso de asimilación.

Hay dos procesos biológicos, que se llevan a cabo cuando la biomasa está sometida a condiciones de baja carga orgánica, uno de ellos es que las bacterias orientan la energía obtenida, mayoritariamente para el mantenimiento celular, mantenerse viva. El otro, es el proceso de respiración endógena, que consiste en la oxidación de compuestos celulares internos, primero productos de reserva de energía acumulados al interior de la célula y, cuando la carencia de sustrato es muy prolongada, puede haber consumo celular y pérdida en la integridad de la membrana celular (*i.e.* lisis), liberando partículas residuales y compuestos solubles en la suspensión biológica. En los BRM, dados sus altos tiempos de retención celular y sus bajas cargas orgánicas, generalmente las bacterias presentan respiración endógena.

2.3.3. Bacterias

Las bacterias constituyen el componente mayoritario y el grupo más importante de microorganismos presentes en la suspensión biológica, se estima que pueden constituir hasta el 95% de la biomasa en un reactor biológico de tratamiento de aguas residuales, debido a que pueden metabolizar una gran cantidad de compuestos orgánicos y otros nutrientes presentes en el agua residual. Las bacterias presentes en los sistemas de depuración se pueden dividir en tres grandes grupos según sus formas de asociación y su morfología:

- a) Bacterias dispersas: son aquellas que se encuentran libres en la suspensión biológica, sin agruparse, las cuales pueden ser consumidas por los protozoarios.
- b) Bacterias floculantes: son capaces de segregar EPS, agruparse y formar flóculos (Fernández-Galiano *et al.*, 1996).
- c) Bacterias filamentosas: son bacterias que, tras su división, las células no se separan y quedan asociadas entre sí formando filamentos.

2.3.3.1. Formación y estructura del flóculo

Un flóculo es la unidad ecológica y estructural donde se aglutinan las bacterias y alrededor del cual se desarrolla el proceso de degradación biológica. Un flóculo puede ser considerado como un microsistema, con una población dinámica, donde hay una interacción entre los componentes bióticos y abióticos presentes en la suspensión biológica (Fig. 2.3).

Un flóculo está formado por dos componentes: el biótico y el abiótico. El componente biótico es el más importante y está integrado principalmente por bacterias, protozoarios y metazoarios. El componente abiótico lo constituyen las partículas orgánicas e inorgánicas presentes en el agua residual, así como los

polímeros extracelulares (EPS) generados por los propios microorganismos por secreción activa (Sutherland, 2001), los cuales desempeñan un papel importante, como constituyente mayoritario de la fracción orgánica, en la formación de los flóculos (Frolund *et al.*, 1996).

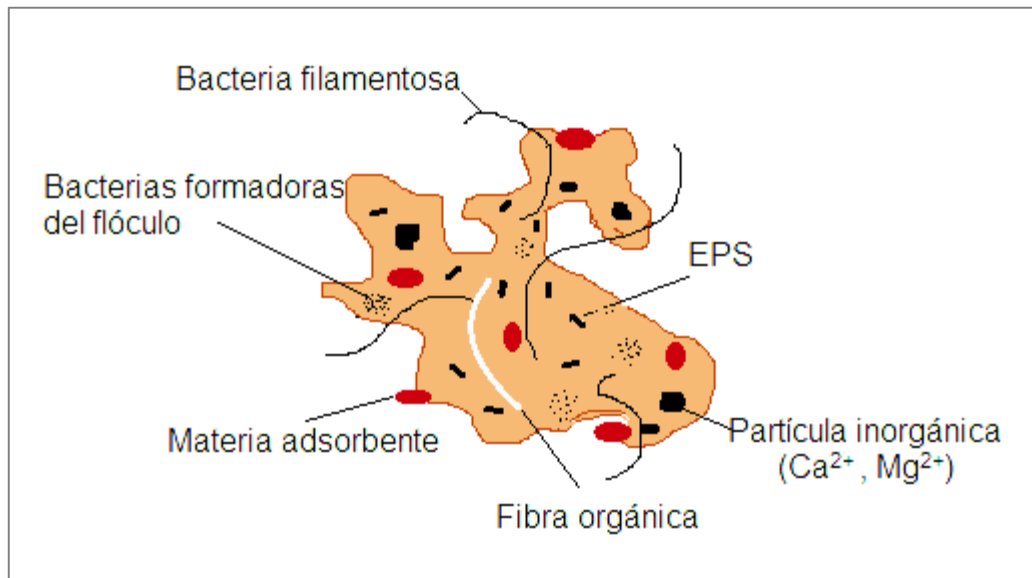


Fig.2. 3. Esquema de la composición de un flóculo (Adaptado de Govoreanu, 2004).

En el flóculo se distinguen dos niveles estructurales: microestructura y macroestructura (Jenkins *et al.*, 1993). La microestructura constituye la base de la formación del flóculo y está determinada por los procesos de agregación microbiana y de biofloculación, que resultan de la interacción entre las bacterias y los EPS. La macroestructura la proporcionan los microorganismos filamentosos que forman una red o microesqueleto, en el interior del flóculo, donde se adhieren las bacterias formadoras del mismo. La morfología de cada flóculo será distinta y estará en función de su micro y macroestructura. Cuando los flóculos presentan únicamente microestructura suelen ser de forma esférica, tamaño pequeño ($\leq 75 \mu\text{m}$) y débiles. En contraste con aquellos que presentan una macroestructura que son de mayor tamaño, forma irregular y menos compactos.

Un crecimiento equilibrado de bacterias filamentosas y de bacterias formadoras de flóculos permite obtener el llamado flóculo ideal, en el que los filamentos se desarrollan en el interior del flóculos, proporcionándole estructura y resistencia. Estos flóculos pueden ser caracterizados por su estructura (tamaño, firmeza, bacterias filamentosas), propiedades físicas y por los compuestos que los componen.

✓ **Floculación**

La formación de los flóculos es un proceso muy complejo ya que implica fenómenos físicos, químicos y biológicos; debidos a su composición heterogénea y estructura compleja en la que muchos factores interactúan e influyen en su formación. Durante la floculación los microorganismos consumen parte de los contaminantes biodegradables solubles y excretan EPS que inducen la floculación de las partículas suspendidas y coloidales del agua residual.. Debido a la alta densidad de carga negativa de las EPS, los cationes presentes en el agua residual (e.g. Na^+ , K^+) juegan un papel importante en el proceso de floculación actuando como un ligamiento de los diferentes constituyentes del flóculo unidos por fuerzas electrostáticas descritas por la teoría de Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek (DLVO)(Zita y Hermansson, 1994), formación de puentes por cationes multivalentes como Mg^{2+} , Ca^{2+} y Fe^{3+} (Keiding y Nielsen, 1997), fuerzas intermoleculares (Rijnaarts *et al.*, 1995) e interacciones hidrofóbicas (Urbain *et al.*, 1993), que participan en el proceso de floculación de las bacterias.

✓ **Sustancias poliméricas extracelulares**

Las sustancias poliméricas extracelulares (EPS), son mezclas complejas de polímeros de un amplio espectro de peso molecular, que son excretados por las bacterias. Están formadas básicamente por proteínas y polisacáridos; también presentan en su composición, carbohidratos, ácidos nucleicos, lípidos, ácidos húmicos, etc., (Frolund *et al.*, 1996; Urbain *et al.*, 1993). Desde un punto de vista microbiológico, Los EPS son

importantes ya que protegen a la célula frente a agentes tóxicos y fenómenos de fagocitosis, permiten la adhesión de las bacterias en la superficie, protegen a la célula de la deshidratación, actúan como agentes quelantes de metales reduciendo su toxicidad, intervienen en la agregación de bacterias para formar flóculos y biopelículas y pueden actuar como fuente de carbono o energía en condiciones de escasez de nutrientes (Bitton, 2005).

Se define dos tipos de EPS: enlazados y solubles. Cuando están enlazados al floculo le dan estructura, pero cuando se desprenden, a causa de un proceso de defloculación, estos pueden encontrarse en forma soluble en la suspensión y entonces son considerados como parte de los SMP. En el caso de los BRM, estos SMP son de gran interés, ya que se encuentran entre los principales responsables del ensuciamiento de las membranas en los procesos de filtración, haciendo que disminuya el flujo de permeado y aumente la presión transmembranal.

2.3.4. Bacterias filamentosas

Las bacterias filamentosas se originan por división celular de ciertas especies bajo condiciones específicas, anormales del medio o bien como respuesta a variaciones bruscas en los parámetros de funcionamiento en el medio donde se desarrollan. La células resultantes de la división celular no se separan, quedando asociadas entre sí y formando largos filamentos que en ocasiones pueden llegar a medir varios milímetros (Parody, 1997). Los filamentos se identifican rutinariamente sobre la base de sus características morfológicas y reacciones de varios procedimientos de tinción (Eikelboom y Van Buijsen, 1983; Jenkins *et al.*, 1993). De manera más reciente, se han empleado métodos biológicos basados en la secuencia del RNA ribosomal 16 S para determinar sus relaciones filogenéticas (Pacheco *et al.*, 2000).

El crecimiento de los filamentosos depende en gran medida, de las condiciones de operación, tales como: baja concentración de oxígeno disuelto (OD), baja carga orgánica, deficiencia de nutrientes (*e.g.* nitrógeno y fósforo), pH bajo, temperatura, alta concentración de DQO soluble, altas concentraciones de grasas y

aceites, altos tiempos de retención celular, etc., (Jenkins *et al.*, 1993). Cuando la concentración de O₂ disuelto en la suspensión biológica es menor a 0.5 mg/L, la difusión de oxígeno al interior del flóculo es muy poca, por lo cual hay muy poco crecimiento de la bacterias formadoras del flóculo, favoreciendo el crecimiento de las bacterias filamentosas, esto debido a que tienen una alta proporción área/volumen con respecto a las bacterias formadoras del flóculos, que les permite crecer mejor cuando la cantidad de oxígeno y nutrientes son limitadas, ya que esta relación facilita la transferencia de masa al interior de las células aún en bajas relaciones F/M (Martins *et al.*, 2003).

2.3.5. Comunidad de microfauna: Protozoarios y metazoarios

La biocenosis presente en los sistemas de tratamiento biológicos de tratamiento de aguas residuales, está constituida principalmente por bacterias, protozoarios y metazoarios. En términos generales se acepta a los protozoarios como organismos unicelulares, que no forman órganos ni tejidos, ni presentan desarrollo embrionario. La mayoría de los protozoarios depende, para su alimentación, de la existencia de materia orgánica en descomposición ya sea de origen animal o vegetal por lo que son considerados saprobios (Martín, 1980; Luna–Pabello *et al.*, 1994).

Las comunidades de protozoarios en los sistemas de tratamiento de aguas pueden ser dividido en tres grupos principalmente, flagelados, ciliados y amebas. Los metazoarios pueden ser clasificados en dos grupos principalmente, rotíferos y nematodos. Algunos microorganismos están unidos a los flóculos (*i.e.* ciliados fijos o sésiles, trepadores y reptantes), mientras otros se encuentran presentes libres en el agua (*i.e.* ciliados nadadores libres, flagelados, rotíferos y nematodos). El grupo más dominante son los ciliados, tanto por número de especies, como por número de individuos y biomasa (Pauli *et al.*, 2001). Los protozoarios juegan un papel fundamental en el proceso de remoción de contaminantes en las plantas de tratamiento de agua. Contribuyendo a la calidad del efluente debido a que son los principales consumidores de las poblaciones de bacterias presentes en la suspensión bilógica, libres o asociadas

en los bordes de los flóculos. Además tienen una influencia indirecta en la clarificación de los efluentes a través de sus efectos en los procesos de floculación, aumentando la actividad de las bacterias, contribuyendo en la secreción de EPS y contribuyendo al desarrollo de la estructura del flóculo como resultado de su actividad biológica (Arregui *et al.*, 2007; Arregui *et al.*, 2008). Se ha propuesto que los protozoarios ciliados sean usados como indicadores de la operación de las plantas de tratamiento de aguas residuales debido a su rápida respuesta a los cambios en la composición de las aguas residuales y condiciones de operación de la planta (e.g. condiciones de aireación, TRC, carga orgánica másica y la presencia de compuestos tóxicos (Zhou *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2004).

En contraste con las bacterias y protozoarios, los metazoarios son microorganismos pluricelulares, lo que significa que son los organismos superiores. Los tamaños de las diferentes especies pueden variar de 100 μm hasta 1-2 mm. Se alimentan de bacterias dispersas, en ocasiones suelen consumir flóculos completos y de algunos protozoarios. Se han relacionado principalmente con cargas orgánicas por debajo de los 0.15 kgDBO/kgSST-d. Las poblaciones de rotíferos y en especial de nemátodos han sido relacionadas con la baja producción de lodos en sistemas de tratamiento de aguas residuales (Khursheed y Kazmi, 2011).

2.4. Dinámica de las comunidades de microfauna

Los reactores biológicos de tratamiento de aguas residuales pueden ser entendidos como ecosistemas, donde diferentes grupos de microorganismos compiten por el alimento y el espacio. Entre estos microorganismos se distinguen dos tipos principales: Los descomponedores que son los que se nutren de la materia orgánica disuelta (fundamentalmente, bacterias y hongos) y los denominados consumidores o depredadores, que se alimentan de bacterias y otros microorganismos (Madoni, 1994; Salvadó, 2001). Los protozoarios son consumidores primarios, consumidores de bacterias, pequeñas algas y hongos, otros protozoarios y pequeños metazoarios, y son presa de otros organismos (Gifford, 1991). Los protozoarios juegan un papel

muy importante en las cadenas tróficas microbianas presentes en la suspensión biológica del reactor, actúan como intermediarios en la remineralización y en el reciclaje de los nutrientes esenciales (Sherr, 1984). También son capaces de asimilar y transformar diferentes sustancias, entre ellas, determinados contaminantes (Salvadó *et al.*, 1995). La abundancia de los protozoarios presenta variaciones según la disponibilidad de nutrientes, las relaciones de depredación y los cambios físico-químicos.

2.4.1. Sucesión ecológica de la microfauna

Las sucesiones de los diferentes grupos de microorganismos que se encuentran en la suspensión biológica no solo ocurrirán como resultado de las relaciones tróficas, sino que estarán determinadas o influenciadas por variaciones significativas en los parámetros operativos (e.g. características del agua residual, TRC, pH, carga orgánica, etc).

Se han efectuado estudio previos en los cuales se ha descrito la sucesión de diferentes grupos de microfauna, en el proceso de lodos activados (Védry, 1987) bajo diferentes cargas orgánicas (Fig. 2.12). En la fase inicial, con carga orgánica alta, dominan las bacterias dispersas y los protozoarios que entran con el influente. Las bacterias se empiezan a reproducir, en fase exponencial, gracias al exceso de sustrato. Posteriormente empiezan a duplicarse los flagelados, los ciliados libres. Los flóculos se estabilizan y disminuye el número de bacterias libres y de protozoarios flagelados, como resultado del consumo de sustrato por bacterias y flagelados. Una vez que se tiene carga orgánica media, se desarrollan los ciliados pedunculados y reptantes con estructuras bucales eficaces para la captura de alimento, estos acaban por desplazar a los ciliados nadadores. Más tarde, ya con carga orgánica baja, se reproducen los metazoarios que se encuentran al final de la cadena trófica.

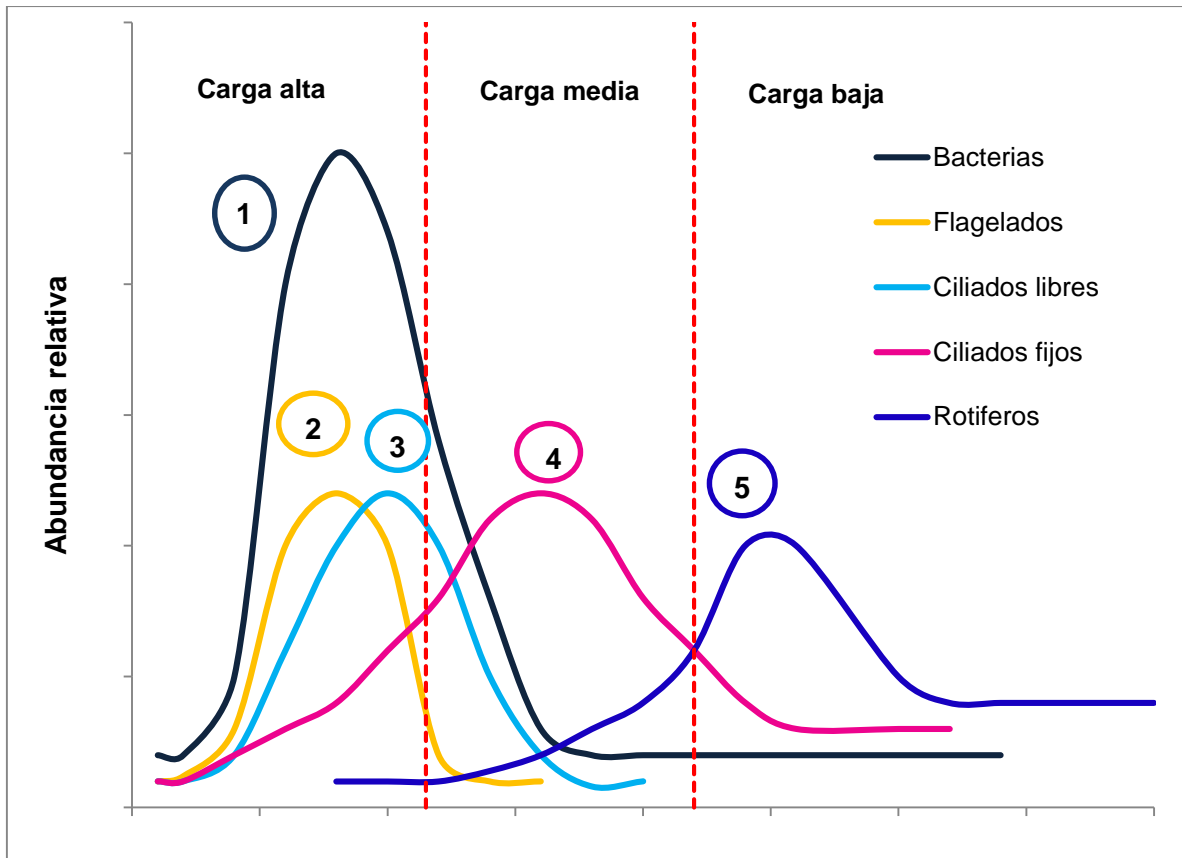


Fig.2. 4. Abundancia relativa de microorganismos a diferentes cargas orgánicas (Védry, 1987)

Eikelboom presenta también un diagrama (Fig. 2.11) en el que muestra las poblaciones predominantes de diferentes clases de protozoarios y metazoarios, con diferentes valores de carga orgánica (expresada en kgDBO/kgSST-d) de un reactor biológico de lodos activados tradicionales. La composición de la comunidad presente en el reactor biológico está relacionada con la carga orgánica. Si la carga orgánica no es muy alta, estarán presentes principalmente los ciliados, amebas testadas y ocasionalmente deberán estar presentes algunos metazoarios. La falta de oxígeno en bajas cargas orgánicas resulta en un cambio en la población hacia la presencia de flagelados y amebas.

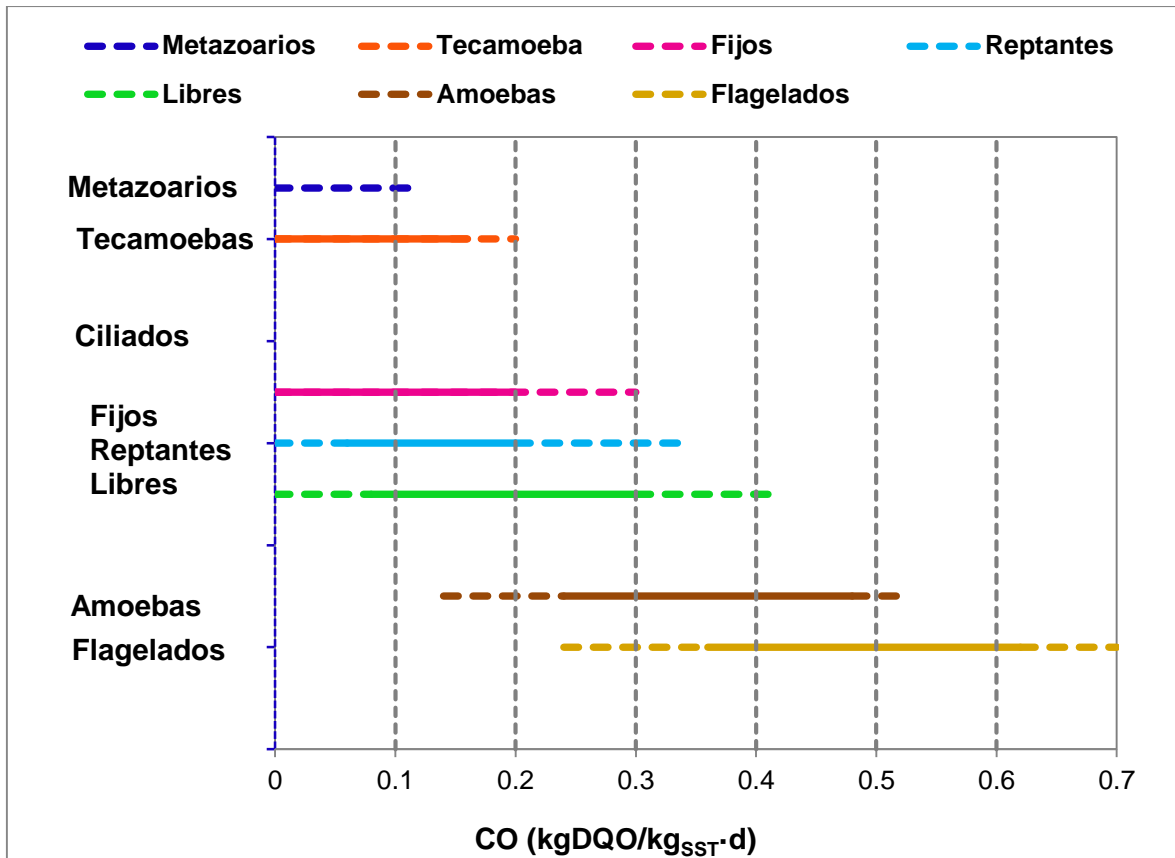


Fig.2. 5. Sucesión y predominancia de protozoarios y metazoarios a diferentes cargas orgánicas (Adaptada de Eikelboom, 2000).

2.4.2. Análisis de diversidad ecológica

El estudio de la diversidad de la microfauna presente en el reactor nos ayuda a entender las condiciones operativas. Los protozoarios son excelentes bioindicadores, ya son muy susceptibles a los cambios en las condiciones operativas. Algunos de los protozoarios y metazoarios se desempeñan como microorganismos depuradores, mientras que otros lo harán como indicadores de la calidad del tratamiento del agua. Por ejemplo, *Spirostomum teres*, rotíferos y nemátodos, entre otros, son los principales microorganismos que se encuentran en aguas con poca materia orgánica y altos TRC, por lo que su presencia indicaría poca o baja carga orgánica en dichas aguas. Al contrario, la presencia de microorganismos como flagelados *Bodo saltans*, *Cyclidium* y amebas, entre otros, serían microorganismos indicadores de la

existencia de alto contenido de materia orgánica y bajos TRC, lo que indicaría por lo tanto alta carga orgánica.

Cuando se experimentan cambios operativos o en las condiciones del reactor biológico, éstas se reflejan en cambios o desequilibrios en la diversidad global o un cambio en la densidad total. A partir de esos cambios se pueden identificar condiciones limitantes para el crecimiento de ciertas poblaciones, como son condiciones de carga orgánica, concentración de oxígeno, presencia de sustancias tóxicas, etc., (Nicolau *et al.*, 2005). La diversidad y densidad de la microfauna dentro de un reactor biológico está altamente relacionada con su desempeño (Madoni, 2011; Martins *et al.*, 2003; Pauli *et al.*, 2001), asimismo la abundancia relativa de un determinado microorganismo o taxa en un hábitat particular puede ser considerada como una medida de su significancia dentro de la estructura ecológica del sistema biológico.

Para el estudio de la ecología de las poblaciones presentes dentro del reactor biológico es necesario conocer su diversidad o heterogeneidad, es decir, tanto el número de especies (riqueza específica) como la abundancia relativa de las mismas. La heterogeneidad de una comunidad será mayor en la medida que haya más especies (abundancia específica) y de que estas últimas sean igualmente abundantes.

Hay diferentes tipos de diversidad. La primera se estima con base en la escala espacial en la que se mide la diversidad biológica, ésta se clasifica en: diversidad alfa (α) ó diversidad puntual, diversidad beta (β) ó diversidad entre hábitats y diversidad gamma (γ) ó diversidad a escala regional. La diversidad alfa es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea, la diversidad beta es el grado de cambio o remplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades en un paisaje y, la diversidad gamma es la riqueza de especies del conjunto de comunidades que integran un paisaje, resultante tanto de las diversidades alfa como de las diversidades beta (Moreno, 2001). La gran mayoría

de los métodos propuestos para evaluar la diversidad de especies se refieren a la diversidad dentro de las comunidades. Para diferenciar los distintos métodos en función de las variables biológicas que miden, los dividimos en dos grandes grupos: 1) Métodos basados en la cuantificación del número de especies presentes (*i.e.* riqueza específica); 2) Métodos basados en la estructura de la comunidad, es decir, la distribución proporcional del valor de importancia de cada especie (*i.e.* abundancia relativa de los individuos, su biomasa, cobertura, productividad, etc.). Los métodos basados en la estructura pueden a su vez clasificarse según se basen en la dominancia o en la equidad de la comunidad (Fig. 2.6).

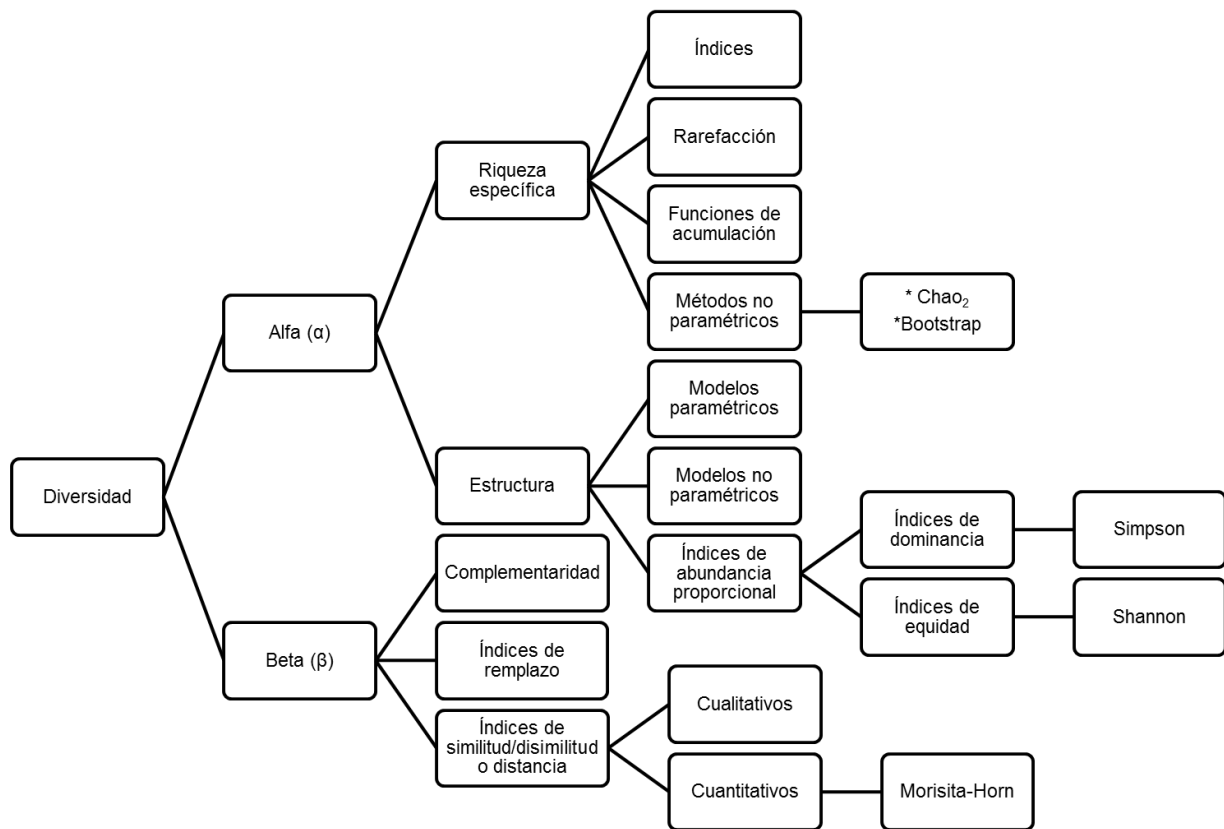


Fig.2. 6. Diversidad alfa (α) y beta (β).

La riqueza específica (S) es la forma más sencilla de medir la biodiversidad, ya que se basa únicamente en el número de especies presentes, sin tomar en cuenta el valor de importancia de las mismas. Los métodos no paramétricos, son un conjunto de estimadores no-paramétricos en el sentido estadístico, ya que no asumen el tipo de distribución del conjunto de datos y no los ajustan a un modelo determinado (Smith y van Belle, 1984; Colwell y Coddington, 1994; Palmer, 1990).

- Chao 2

$$Chao_2 = S + \frac{L^2}{2M}$$

donde:

L = número de especies que ocurren solamente en una muestra (especies “únicas”)

M = número de especies que ocurren en exactamente dos muestras

S = Riqueza específica

- Bootstrap

- $Bootstrap = S + \sum(1 - p_i)^n$

donde:

P_i = abundancia proporcional de la especie i

S = riqueza específica

n = número de muestras

Los métodos para medir la diversidad alfa se basan en la estructura de la comunidad y su estimación se puede basar en la equidad o en la dominancia. Los índices basados en la equidad se definen en función de la igualdad de abundancia de las especies. Los índices basados en la dominancia son parámetros inversos al concepto de uniformidad o equidad de la comunidad, y toman en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia, sin evaluar la contribución del resto de las especies.

Algunos de los índices que han sido empleados en el tratamiento de aguas residuales, para evaluar los cambios en la diversidad de la microfauna, como respuesta a variaciones en las condiciones operativas son los siguientes:

- *Índice de Simpson*: El índice de Simpson estima la probabilidad de que dos individuos tomados al azar, de una muestra, sean de la misma especie. Este índice le da un peso mayor a las especies más abundantes, subestimando las especies raras.

$$D = \sum P_i \quad (\text{Ec. 6})$$

donde:

P_i = abundancia proporcional de la especie i

- *Índice de Shannon-Wiener (Shannon y Weaver, 1949), H*. Se conoce también como el índice de Shannon. Estima la probabilidad de encontrar un determinado individuo en un ecosistema.

$$H = - \sum p_i \ln p_i \quad (\text{Ec. 7})$$

donde:

$$P_i = \frac{n_i}{N} \quad (\text{Ec. 8})$$

n_i = número de individuos en el sistema de la especie i

N = número total de individuos

P_i = abundancia proporcional de la especie i

El índice de Shannon asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra.

La diversidad β , o diversidad entre hábitats, es el grado de remplazamiento de especies, o cambio biótico, a través de variaciones en él. La medición de la diversidad beta está basada en proporciones o diferencias entre las especies que integran una comunidad (Magurran, 1988). Estas proporciones pueden evaluarse con base en índices o coeficientes de similitud, de disimilitud o de distancia entre las muestras, a partir de datos cualitativos (presencia ausencia de especies) o cuantitativos (abundancia proporcional de cada especie medida como número de individuos, biomasa, densidad, cobertura, etc.). Los índices de diversidad β más utilizados por su simplicidad son el índice de Jaccard y el índice de Sorensen (cualitativos). Los índices cuantitativos que han mostrado ser más confiables con respecto a los cualitativos, ya que no eliminan información y a que también toman en cuenta la abundancia relativa de cada especie. La versión modificada por Bray y Curtis del índice de Sorensen (también llamado índice cuantitativo de Sorensen) y la versión modificada del índice de Morisita-Horn (está fuertemente influido por la riqueza de especies y el tamaño de las muestras, sin embargo, tiene la desventaja de que es altamente sensible a la abundancia de la especie más abundante).

- Morisita-Horn

$$I_{M-H} = \frac{2\sum(an_i \times bn_i)}{(da+db) \cdot Na \cdot Nb} \quad (\text{Ec. 9})$$

donde:

aN = número total de individuos en el sitio a

bN = número total de individuos en el sitio b

an_i = número de individuos de la i-ésima especie en el sitio a

bn_j = número de individuos de la j-ésima especie en el sitio b

$$da = \sum an_i^2 / aN^2$$

$$db = \sum bn_j^2 / bN^2$$

2.4.3. Índice de importancia relativa (IIR)

El Índice de Importancia Relativa (IIR) ó Índice de Valor de Importancia (IVI) fue desarrollado por Curtis y McIntosh (1951). Es un índice sintético estructural, desarrollado principalmente para jerarquizar la dominancia de cada especie. El índice de valor de importancia permite determinar la dominancia de las especies y el grado de heterogeneidad del ecosistema. Además define cuáles de las especies presentes contribuyen en el carácter y estructura de un ecosistema (Cottam y Curtis, 1956). Este valor se obtiene mediante la sumatoria de la frecuencia relativa, densidad relativa y dominancia relativa.

Se calcula de la siguiente manera:

$$IIR = \frac{\%A. R. i + \%Dom R. i + \%Frec. Ri}{3} \quad (Ec.10)$$

donde:

A.R._i= Abundancia relativa (%)

Dom R. _i= Dominancia relativa (%)

Frec,R_i= Frecuencia relativa (%)

Su principal ventaja es que es cuantitativo y preciso; no se presta a interpretaciones subjetivas. También aporta elementos cuantitativos fundamentales en el análisis ecológico, como la densidad y la biomasa (por especie y por unidad de muestreo).

3. ANTECEDENTES

Existen pocos trabajos de aplicación de BRM para el tratamiento de efluentes acuícolas, así como estudios sobre el análisis de las características estructurales de la suspensión biológica encargada del proceso de depuración en los sistemas de tratamiento de las aguas residuales.

Durante los últimos años se han realizado estudios sobre las características morfológicas de la suspensión biológica encargada del proceso de depuración en los sistemas de tratamiento de las aguas residuales, no obstante, dichos trabajos se han llevado a cabo en procesos de lodos activados principalmente. Madoni (1994) propone el SBI, basado en las comunidades de protozoarios presentes en los sistemas de lodos activados, para la evaluación del desempeño de la suspensión biológica. Este método está basado en dos principios: (i) en los cambios de grupos claves de microfauna, con respecto a las condiciones ambientales y de operación del reactor; y (ii) la reducción del número de especies morfológicas conforme disminuye la calidad del agua tratada. Con el SBI se buscó relacionar estos grupos de microorganismos, con los parámetros de operación de un reactor, generando dos tipos de grupos, los positivos para la operación como ciliados fijos, reptantes, y amibas testadas; y los negativos tales como flagelados, ciliados libres, *Vorticella microstoma*, *Vorticella infusionum* y *Opercularia spp.* La ventaja de este índice es que provee valores numéricos, que pueden ser comparados y monitoreados y es un primer índice de diversidad biológica planteado como herramienta para evaluar la eficiencia de depuración de un reactor biológico, en función de las poblaciones de microorganismos presentes en un BRM.

Orantes *et al.* (2006) realizan un estudio donde evalúan los cambios en la permeabilidad de la membrana en función de las diferentes características de la suspensión, el medio filtrante y las condiciones hidrodinámicas en el reactor. El experimento fue desarrollando en un BRM a escala laboratorio. Se realizaron experimentos con tres cargas volumétricas y con retención total de biomasa. Sus resultados muestran una importante relación entre: la densidad de bacterias

filamentosas, el tamaño de flóculos y la concentración de SMP, derivada de la liberación de EPS, ocasionada por una desfloculación, con una mayor velocidad de colmatación de las membranas, quedando de manifiesto la importancia de las características de la suspensión biológica en la eficiencia de operación de un BRM. Además hacen un seguimiento de las diferentes grupos de protozoarios y metazoarios durante la evolución de la biomasa, concluyendo que es necesario realizar estudios más a fondo sobre la dinámica de estas poblaciones y su relación con las características morfológicas de los flóculos, la densidad de bacterias filamentosas y el desempeño del BRM, tanto en la filtración como en la degradación biológica (Orantes, 2005).

Arévalo *et al.* (2009) realizaron un estudio donde evaluaron el SBI (Sludge Biotic Index) propuesto por Madoni (1994), pero en un BRM con módulos de membranas externas, a fin de encontrar una relación entre el SBI y la eficiencia en la depuración. El estudio se realizó durante 150 días, donde operaron a dos tiempos de retención celular (TRC) de 25 y 35d. Arévalo y colaboradores en su estudio describen la presencia de flóculos pequeños ($<150\mu\text{m}$), irregulares y fragmentados, con gran cantidad de bacterias dispersas y bacterias filamentosas. También encontraron una considerable modificación entre las poblaciones de protozoarios y metazoarios que disminuyeron el SBI durante las etapas de estabilización a cada SRT. Sin embargo no encontraron relación alguna entre el SBI y las condiciones de operación presentadas por los dos TRC diferentes, aunque sugiere que sí podrían estar relacionados con el proceso de estabilización y con algunos problemas de operación, como una incorrecta oxigenación o la presencia de sustancias tóxicas.

En 2011, Chang y Cajucom utilizan una variante del BRM, realizando un tratamiento por lotes (*i.e.* BRM-SBR) para tratar un efluente acuícola. La remoción de DQO y DBO₅ más alta alcanzada fue de 81% y 90% respectivamente. Además, la nitrificación y desnitrificación fue significativa en uno de sus tratamientos, la mayor parte del tiempo el nitrato no fue detectable en el efluente tratado.

En 2012, Magondu estudió la producción de biofloc en reactores aerobio, anóxico y anaerobio de biomasa en suspensión. Dichos reactores fueron alimentados con lodos residuales del cultivo de Tilapia. Los autores encontraron que los bioflocs producidos en el reactor anaerobio tienen las más altas concentraciones de proteína (21%), lípidos (42%) y carbohidratos (31%); sin embargo, la mayor atracción por los peces se encontró hacia los lodos de reactor aerobio con 19% de proteína, 19% de lípidos y 32% de carbohidratos. Otra desventaja de los bioflocs producidos en fase anaerobia y anóxica son los bajos rendimientos de biomasa y el riesgo mayor de que contengan componentes tóxicos.

Rueda (2014), realizó un estudio de la morfología de los flóculos y la evolución de microfauna de la biomasa durante el proceso de adaptación a condiciones de un BRM. Él encontró que la evolución de la biomasa presenta dos fases: adaptación y estabilización. Observó que durante la etapa de adaptación hay mayor variabilidad en la eficiencia de degradación, mientras que en la etapa de estabilización disminuyen estas variaciones y el proceso de floculación y la morfología de los flóculos presentan mejores características para la operación del BRM. Por otro lado, identificó seis etapas sucesionales en la adaptación de la biomasa, con comunidades integradas por diferentes poblaciones de microfauna. Rueda concluye que tanto las características morfológicas de la biomasa, como la abundancia de bacterias filamentosas y la estructura de las poblaciones de microfauna en las comunidades encontradas en la suspensión biológica, están relacionadas con las condiciones de operación, particularmente con la estabilización de la carga orgánica y la eficiencia de degradación de materia orgánica en un BRM.

En 2015, Negras utilizó los lodos de un RAS como sustrato de un BRM, a escala laboratorio, el cual fue operado a diferentes cargas orgánicas. Encontrando tasas de remoción de materia orgánica mayores de 98%, nitrógeno amoniacal del 99% y, de entre 20 y 26% de nitrógeno orgánico. Debido a la calidad del efluente, concluyó que el tratamiento permite lograr un efluente adecuado para su reuso en un sistema acuícola intensivo completamente recirculado y determinó que la carga óptima para un BRM acoplado a un RAS fue de 0.3kgDQO/kgSSV·d.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño experimental

Para el desarrollo del experimento se utilizaron como sustrato los lodos residuales del efluente de un sistema acuícola con recirculación para cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Se probaron 5 niveles de CO: 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.5kgDQO/kgSSV·d. Estos diferentes niveles de carga orgánica abarcan el rango de operación de un BRM, además de una carga baja (0.05gDQO/gSSV·d) que puede alcanzarse con algunas concentraciones de los efluentes acuícolas (Sharrer *et al.*, 2007).

Las diferentes concentraciones del influente del BRM, se probaron en función del tiempo. Se dejó un periodo de aclimatación mínimo de 15d antes de iniciar los muestreos correspondientes a cada condición de trabajo y se tomaron las muestras para los diferentes análisis durante los siguientes 5d (Sharrer *et al.*, 2010), una vez habiéndose estabilizado la CO. La etapa estabilizada se verifico con una regresión lineal de la concentración de DQO del efluente del BRM, donde la estabilidad se acepta si la regresión no resulta significativa (pendiente=0, $p>0.05$), para un periodo de 3TRH.

4.2. Descripción y operación del BRM

4.2.1. Reactor piloto

Se utilizó un BRM cilíndrico, a escala de laboratorio fabricado en acrílico, con base en forma de cono truncado, con un volumen útil de 70L. El diámetro en la parte superior es de 0.5m y en el fondo del cono truncado se encuentra un difusor circular de membrana de burbuja fina de 22cm de diámetro, que fue utilizado para la aeración y agitación de la suspensión biológica del reactor (Fig. 4.1).

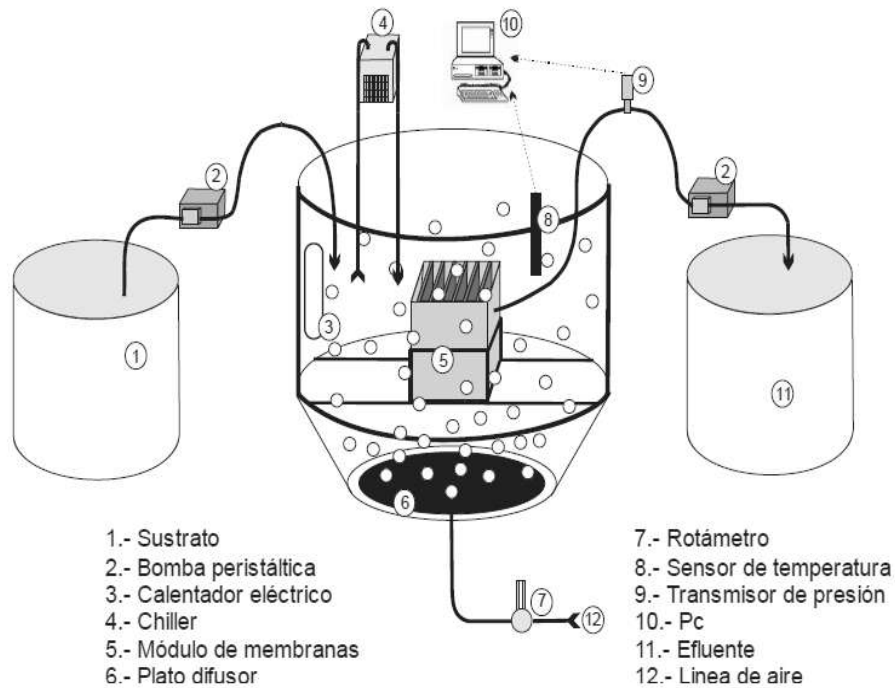


Fig.4. 1. Diagrama del BRM escala laboratorio (Rueda, 2014).

4.2.2. Módulos de membranas y condiciones de filtración

Las membranas del módulo empleado para la filtración son de hoja plana, de tipo orgánico y hechas de fluoruro de polivinilideno (PVDF); el módulo se colocó justo por encima del difusor y alineado en el centro del reactor y tiene las siguientes características (Tabla 4.2).

La extracción del permeado del BRM se realizó por medio de una bomba peristáltica Watson Marlow®, con un flujo de 1.4 l/h. Para obtener una operación más estable y reducir la colmatación de la membrana, la succión del permeado del BRM se realiza buscando mantener siempre un flujo subcrítico (Ognier *et al.*, 2004; Stephenson, 2000), en este caso se trabajó con un flujo membranar $J=7\text{L/m}^2\cdot\text{h}$. Se trabaja el sistema en forma continua hasta una presión transmembranar máxima de 0.5bar. En caso de alcanzarse esta PTM, las membranas se someterán a un lavado químico con solución de hipoclorito de sodio para la eliminación de los contaminantes

orgánicos y de ácido cítrico para la eliminación de los contaminantes inorgánicos conforme a especificaciones de fabricante. En la línea de succión de la bomba se encuentra un transductor de presión, para el monitoreo de la PTM, el cual está conectado a una caja de adquisición de datos para su registro por medio del software LabView®.

Tabla 4. 1 Características del módulo de membranas de filtración.

Concepto	Dimensión	Unidad
Diámetro de poro	0.14	µm
Número de hojas	8	pieza
Espacio entre hojas	12	mm
Área de filtración	0.20	m ²
Densidad de área	54	m ² /m ³
Resistencia nominal	1x10 ¹²	m ² /m ³

4.2.3. Sustrato para la alimentación del BRM

Para alimentar el BRM se utilizó como sustrato, el lodo residual del efluente de un sistema acuícola recirculado, para el cultivo de Tilapia. Se trabaja con diferentes concentraciones de lodos en el influente del BRM expresados como carga orgánica másica: 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.5 gDQO/gSSV·d. Para alcanzar las diferentes condiciones de carga orgánica de operación del BRM, los lodos concentrados tomados del sistema de filtración del RAS se mezclaron con agua menos concentrada del efluente de los tanques de cultivo de los peces. Adicionalmente, se empleo ácido acético (50%, grado técnico, Golden Bell ®), para alcanzar una relación C/N=15, adecuada para la generación de biomasa a partir de estos residuos.

Tabla 4. 2. Caracterización del sustrato preparado a partir del efluente acuícola para la alimentación del BRM.

Carga orgánica (kg _{DQO} /kg _{SSV} •d)	Flujo de sustrato al BRM (L/d)	SST en lodos del RAS (mgSSV/L)	DQO en lodos del RAS (mgDQO/L)	Ácido acético (mL/d)	Nitrato de amonio (gN-NH ₃ /d)	DQO total del sustrato al BRM (mg/L)
0.05	29	552	585	8	0.7	728
0.1	33	608	819	20	1.4	1122
0.2	34	1194	1414	43	1.3	2083
0.3	34	1624	2416	51	1.4	3063
0.5	33	2425	4013	52	1.9	5133

La preparación del sustrato se realizó dos veces por semana, el cual se almaceno en un contenedor cilíndrico de polietileno con capacidad de 200L, con agitación constante con un motor de ¼ hp que cuenta con un impelente de dos paletas planas. La suspensión se alimentó al BRM en forma continua mediante una bomba peristáltica (Watson Marlow® Modelo 323) a un Q=1.4L/h y un TRH=50h.

4.2.4. Condiciones de pH y temperatura

El pH del reactor se mantiene entre 7.8 y 8.3, para lo cual se manejan dosificaciones en el contenedor del influente del BRM, de solución de NaOH 5N o de H₂SO₄ 1N según fuera el caso para ajustar el pH.

La temperatura de operación del BRM se controla en 25°C ±1, para tal efecto se cuenta con un calentador sumergible de vidrio de 200W (SAH series) instalado directamente en la suspensión biológica del reactor, ésta última se hace recircular a través de un para mantener la temperatura.

4.3. Análisis de laboratorio

Se dio seguimiento a los parámetros de operación del reactor durante su evolución a retención total de biomasa. Los parámetros operativos, su método o equipo de evaluación se presentan en la siguiente tabla (4.3.).

Tabla 4. 3. Métodos y equipo de medición para los diferentes parámetros.

Parámetros	Unidades	Equipos y métodos de análisis	Muestra
pH		Thermo Scientific, Orion Star AZ11 pH Meter	Biorreactor, influente y permeado
OD	(mgO ₂ /L)	Sonda para determinación de oxígeno disuelto YSI125 modelo: 55-25 FT	Biorreactor, permeado
T	(°C)	Termómetro integrado Hach-Sension	Biorreactor, influente y permeado
DQO	(mgDQO/L)	Método de digestión en reactor y colorimetría ^c	Influente y permeado
SST	(mgSST/L)	Método por gravimetría ^{aa}	Biorreactor
SSV	(mgSSV/L)	Método por gravimetría ^a	Biorreactor
N _T	(mgN _T /L)	Método de digestión con persulfato ^c	Influente y permeado
N-NH ₃	(mgN-NH ₃ /L)	Método del salicilato ^c	Influente y permeado
N-NO ₃ ⁻	(mgN-NO ₃ /L)	Método de reducción con Cd. ^c	Influente y permeado
P-PO ₄ ³⁻	(mgP-PO ₄ /L)	Método del ácido ascórbico ^c , equivalente con: Standard Method 4500-P-E for wastewater.	Influente y permeado

^aAPHA – AWWA – WPCF, 1992.; ^bLa muestra del sustrato corresponde los lodos generados en el sistema acuícola. ^cEspectrofotómetro DR2800 Hach Co. Colorado, US.

4.4. Análisis de la suspensión biológica

4.4.1. Características de los flóculos

Se determinaron las principales características morfológicas biomasa, por medio de un análisis microscópico. Se tomaron muestras de 25 µl en el portaobjetos y se

cubriera con un cubreobjetos de 22x22 mm para ser analizada en el microscopio. Una vez preparada la muestra se realizará el análisis visual de los flóculos en un microscopio Olympus CX31 con los objetivos de 10x y 40x. Se tomaran fotografías de 80 campos de visión consecutivos, con una cámara Lumera Infinity®, tres veces por semana. Se determinaron las características de floculos como tamaño, forma, estructura y firmeza. Las imágenes se editaron en una sola imagen y posteriormente se analizaron detalladamente con base en los criterios propuestos por Védry (1987) y Eikelboom (2000).

Forma. Respecto a la forma, los flóculos se clasificaron en redondos, poco redondos e irregulares. Los redondos son aquellos que tienen un contorno cercano a la circunferencia, con un perímetro regular. Los poco redondos son aquellos que tienen una forma geométrica que tiende a una circunferencia, que podrían tener cierta ovalación o algunas irregularidades en sus bordes. Los irregulares son aquellos que tienen un contorno que no se acerca a una circunferencia y tienen bordes con irregulares muy pronunciadas.

Estructura. De acuerdo a la estructura, los flóculos se clasificaron en compactos, y dispersos . Las estructuras compactas son aquellas en las cuales no se observa prácticamente espacios abiertos en el interior del flóculo. Los dispersos son aquellos que presentan grandes huecos en el interior del flóculo o una estructura abierta. También se tomará en cuenta la dispersión de los flóculos por bacterias filamentosas, ya que por lo regular cuando tenemos crecimiento abundante de bacterias filamentosas se tiene estructuras menos compactas..

Firmeza. Respecto a la firmeza de los flóculos, estos se clasificaron en: firmes y débiles. Un flóculo firme es aquél en el que el borde del flóculo y el agua que lo rodea están claramente separados, y flóculos débiles en donde la interface entre el flóculo y el líquido que lo rodea no está firmemente definido, debido principalmente a que existen células libres en los bordes del flóculo o a que la matriz de EPS que dan soporte al flóculo ha comenzado a ser degradada, comenzando un proceso de defloculación.

Tamaño. Se midió el diámetro de los flóculos, por medio del diámetro promedio de sus ejes ortogonales, sin tomar en cuenta ramificaciones ni irregularidades. Los flóculos se clasificaron, con base en su tamaño en: flóculos pequeños ($DF < 25\mu\text{m}$), flóculos medianos ($25 \leq DF \leq 250\mu\text{m}$) y flóculos grandes ($DF > 250\mu\text{m}$).

4.4.2. Densidad de microorganismos filamentosos

La valoración de los filamentosos se realizará utilizando el índice de filamentos (IF) propuesto por Eikelboom (2000), el cual es una medida asociada al número de microorganismos filamentosos en la suspensión biológica. La suspensión se clasifica en seis clases numeradas de 0 a 5, en donde 0 es una suspensión que no presenta prácticamente ningún filamento y van incrementando conforme aumenta el IF (Tabla 4.4). La diferencia entre cada clase del IF es de aproximadamente 10 filamentos por flóculo.

Tabla 4. 4. Escala de clasificación de IF (Eikelboom, 2000).

IF	Abundancia	Descripción (Densidad de filamentos/flóculo)
0	Ninguno	No se observan
1	Pocos	Algún flóculo ocasional
2	Algunos	Comunes pero no presentes en todos los flóculos
3	Comunes	En todos los flóculos, (de 1 a 5)
4	Muy común	En todos los flóculos, (de 5 a 20)
5	Abundante	En todos los flóculos, (> 20)

4.5. Análisis de diversidad de la microfauna

4.5.1. Abundancia relativa de la microfauna

La microfauna (*i.e.* protozoarios y metazoarios) fueron identificados usando un microscopio óptico (magnificación 40x a 100x). El conteo de la microfauna presente en la muestra de la suspensión biológica del BRM, se realizó con base en la metodología propuesta por Madoni (1994). Se tomarán 3 muestras de 25 μ L (Dubber y Gray, 2009). Se realizó un conteo, por campo, de los depredadores presentes en la muestra, se identificaron y clasificaron con base en sus clases (*e.g.* ciliados fijos, ciliados reptantes, ciliados libres, amebas, rotíferos, suctíferos y nemátodos) y géneros más representativos, de cada una de las clases mencionadas anteriormente, tomando como referencia para su identificación y clasificación las descripciones realizadas por: Kudo (1980), Vedry (1987), Eikelboom (2000) y Grupo Biondicación Sevilla (2008). Para el conteo de flagelados se utilizó una cámara de conteo de Fuchs-Rosental (Madoni, 1994), tomando como referencia para su identificación las descripciones realizadas por Eikelboom (2000).

4.5.2. Índices de diversidad ecológica

La forma más simple de evaluar la diversidad es determinar la riqueza específica, que consiste en el número de poblaciones. Para ello se construyeron las curvas de acumulación de géneros, con el software Estimates 8.0, para las diversas cargas orgánicas, empleando estimadores no paramétricos (*i.e.* Chao 2 y Bootstrap) para identificar las especies potencialmente presentes en la suspensión biológica en el BRM.

Con la finalidad de analizar la dinámica de las comunidades que se fueron estableciendo a lo largo de la operación y la relación ecológica entre las poblaciones de microfauna presentes en la suspensión del BRM, se utilizaron diferentes métodos para el análisis de diversidad (α y β). Se estimaran los siguientes índices que se muestran en la tabla (4.5). De forma complementaria se estimará el índice de valor de

importancia relativa para determinar la dominancia de las especies y el grado de heterogeneidad del ecosistema. Cabe mencionar que para la determinación de este índice y aplicarlo en este trabajo se utilizara para la estimación de la dominancia relativa, el diámetro promedio de los microorganismo, la cual se estimará mediante la medición de la longitud y la amplitud de los diferentes géneros identificados. La selección de los índices de Shannon y Simpson fue en base a lo realizado por otros autores, para otros sistemas de tratamiento (Madoni, 1994;) y para BRM (Rueda, 2014). Los cuales han encontrado que los cambios en la diversidad tienen relación con variaciones en los parámetros de operación que repercuten en las abundancias de la microfauna presente en la suspensión biológica. En cuanto a la estimación de l índice de Morista- Horn, considerando que es un índice cuantitativo, el cual nos aporta mayor información acerca del grado de reemplazo de una condición de carga orgánica a otra, sin dejar de tomar información importante como es la abundancia, como es el caso de los índices cualitativos (presencia-aisencia). Finalmente se estimó este índice para poder determinar la importancia dentro de la biocenosis de los diferentes géneros correspondientes a cada grupo taxonómico y como es que se va dando la sucesión de la microfauna, durante el cambio de las condiciones de operación (CO, TRC, OD, etc.).

Tabla 4. 5. Análisis de diversidad e índices estimados.

Índice	Diversidad	Objetivo del índice
Shannon Simpson	α	Determinar como esta diversidad puede correlacionarse con la operación del BRM.
Morista-Horn	β	Determinar el proporción de cambio de poblaciones en la estructura de la comunidad, como respuesta a la variación de la CO y a las variables operativas del BRM
Índice de importancia relativa	n/a	Determinar la importancia de cada género, dentro de cada uno de los grupos taxonómicos, considerando no solamente su abundancia, sino su tamaño.

4.5.3. Análisis estadístico

Se emplearon diversas técnicas de análisis multivariado, dada la gran cantidad de variables e interacciones a las que están intrínsecamente asociadas en el proceso biológico de tratamiento de agua residual, en un BRM. Se empleó el software estadístico Past, se realizó primero, un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés: Principal Component Analysis) de las variables operativas y abundancia de la microfauna, para determinar los coeficientes de correlación entre las variables y poder, con base en los resultados de los PCA, reducir el número de variables a considerar. La selección de las variables a considerar en el DCA (Por sus siglas en inglés: Detrended Correspondence Analysis), se realizará en base también de los criterios operativos del BRM que se vinculen con la eficiencia de operación, características morfológicas de la biomasa y abundancias de la microfauna con la finalidad de lograr una explicación integral de los resultados. Posteriormente se realizó el DCA con la finalidad de establecer la correlación de las abundancias de la microfauna con los parámetros de operación (que explican el mayor porcentaje de la variación de los datos) y así establecer los grupos característicos de cada carga orgánica de trabajo. Finalmente se realizó un análisis de regresión línea con la finalidad de determinar aquellas variables y grupos taxonómicos que presentan una fuerte correlación estadística, los cuales puedan establecerse como posibles bioindicadores de dichas condiciones de carga orgánica evaluadas.

5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Operación y eficiencia del BRM

5.1.1. Parámetros fisicoquímicos

Durante la corrida experimental, en las diferentes condiciones de carga orgánica, se mantuvo un control de las variables operativas: temperatura, pH, OD, T y SST.

Las variaciones más significativas de pH se tienen en los periodos correspondientes a las dos primeras cargas orgánicas (*i.e.* primeros 60 días) (Figura 5.1.a) Estas variaciones de pH son atribuibles a las bajas concentraciones de sustrato y por lo tanto baja actividad microbiana.

El flujo de aire se mantuvo constante durante toda la experimentación. Se verificó que la concentración de OD > 2mg/L. Esta tasa de aireación siempre fue mayor que la requerida para mantener las condiciones de oxígeno disuelto recomendadas para el proceso biológico de tratamiento de aguas residuales, en virtud de que las concentraciones de oxígeno disuelto requeridas por los peces en los tanques de cultivo acuícola son más elevadas (Fig. 5.1.b). En este caso el flujo de aireación más bien estuvo determinado por las necesidades de aireación de la membrana para control de la colmatación (Orantes, 2005) y por el flujo de aire necesario para garantizar la mezcla completa de la suspensión biológica en el reactor (Villalón, 2012).

La temperatura en el BRM se mantuvo en 25 ± 1 °C. El pH se controló entre un rango de 7.5 y 8.3 (Fig. 5.1.c).

Estos resultados muestran que los principales parámetros fisicoquímicos se mantuvieron en condiciones adecuadas para la correcta operación del reactor biológico.

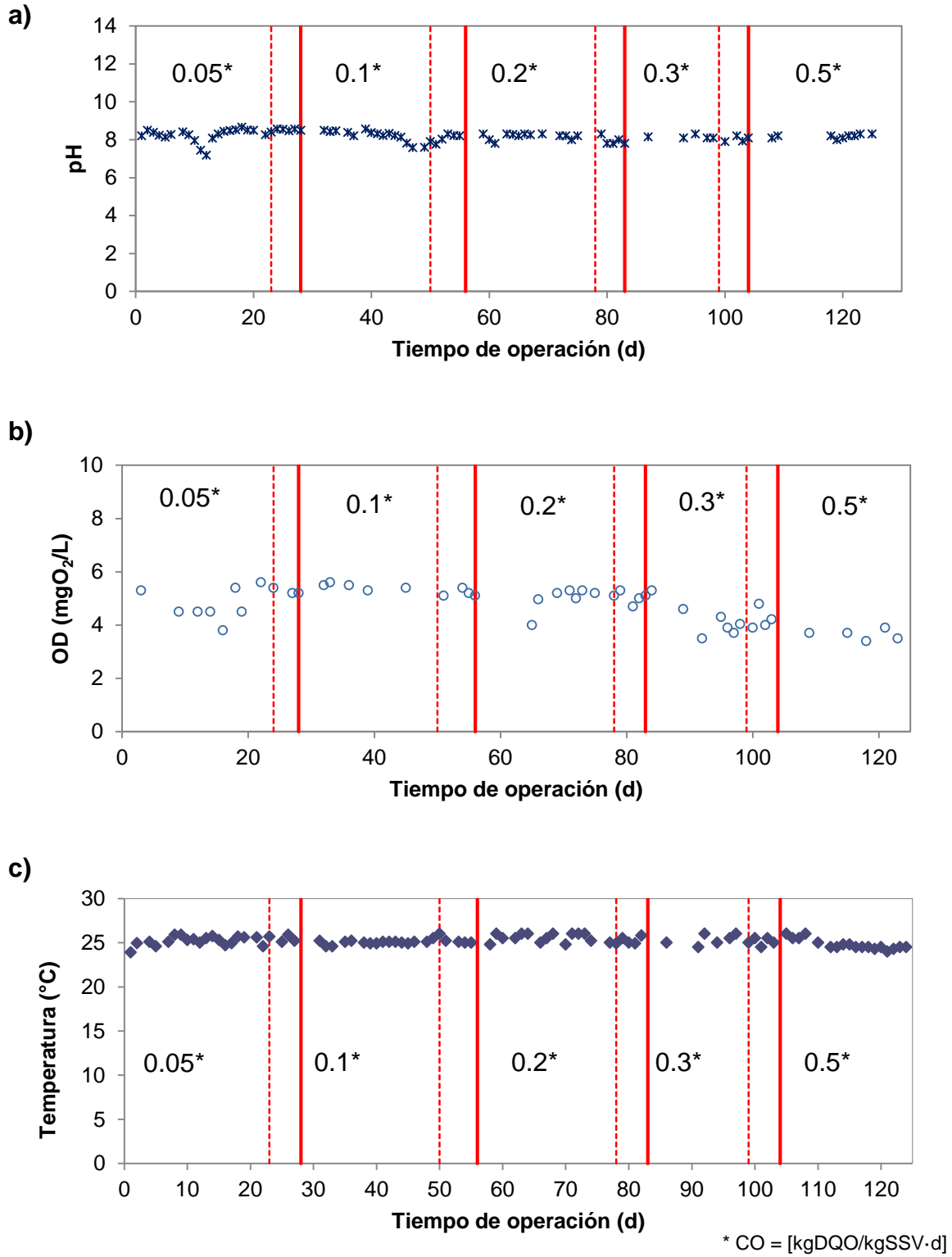


Fig.5. 1. Evolución de los parámetros fisicoquímicos; a) temperatura, b) pH y c) OD durante el tiempo de experimentación.

5.1.2. DQO y eficiencia de remoción

La variable independiente en la experimentación fue la carga orgánica, expresado como la concentración de materia orgánica (expresada como DQO), que se alimenta a la biomasa presente en el reactor, por unidad de tiempo (Ec 1). La CO se mantuvo en valores de 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.5 kgDQO/kgSSV·d. Dado que el Q, el V_R y los SSV se mantuvieron controlados y prácticamente constantes, los cambios de CO se realizaron por ajuste en la concentración de materia orgánica alimentada al reactor (i.e. $DQO_{influyente}$). Tanto CO como $DQO_{influyente}$ se mantuvieron estables en cada condición experimental (Fig. 5.2). No obstante que la CO fue aumentando, la $DQO_{efluente}$ se mantuvo siempre por debajo de los 40 mgDQO/L. Las concentraciones más altas de $DQO_{efluente}$ se presentaron en las CO de 0.3 y 0.5 kgDQO/kgSSV·d, con 32 y 37 mgDQO/L respectivamente.

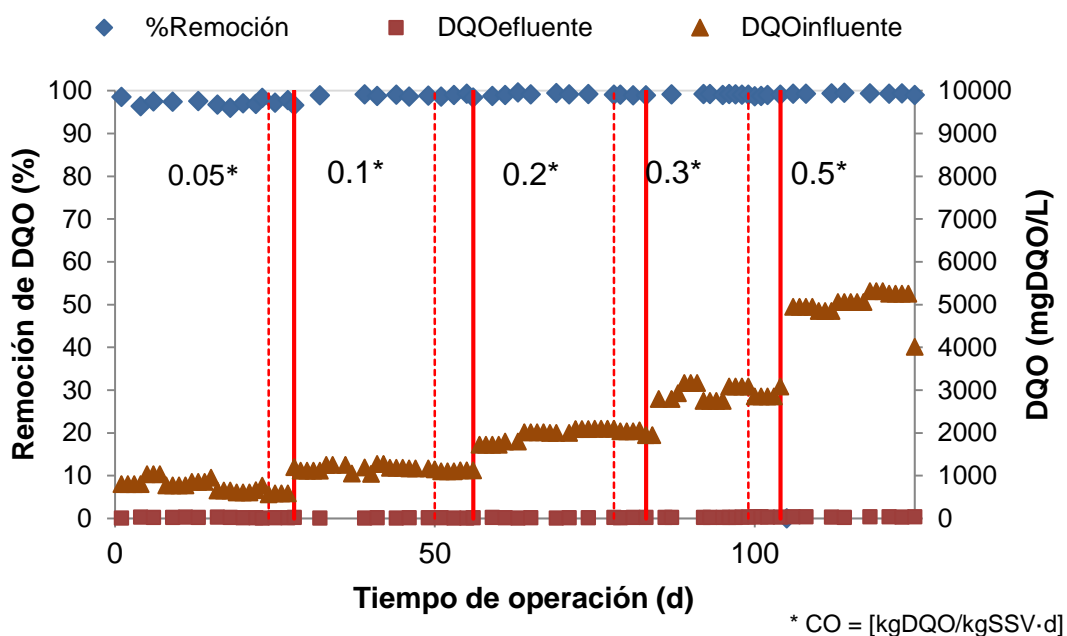


Fig.5. 2. Evolución de la $DQO_{influyente}$ y $DQO_{permeado}$ durante el tiempo de experimentación.

De manera general, se puede observar que los incrementos en la carga orgánica no afectaron la calidad del efluente. La eficiencia de remoción se mantuvo por arriba del 98%, teniendo un efluente completamente libre de sólidos suspendidos en suspensión en todas condiciones experimentales.

5.1.3. Concentración de la biomasa

La concentración de la biomasa en la suspensión del BRM se midió en forma de SSV, sin embargo, como el sustrato a base de los residuos acuícolas tiene una alta concentración de sólidos, se realizó un ajuste restando la fracción de sólidos volátiles del sustrato. Por este motivo se observa un incremento en los SST y DQO particulada a lo largo del tiempo ya que contemplan también la fracción orgánica particulada del influente, que aumenta en cada carga orgánica (Figura 5.3). Los SSV se mantuvieron en un rango de valores entre 4700 y 5000 mg/L a lo largo de toda la experimentación. Por otro lado, la concentración de SSF fue aumentando progresivamente a lo largo de la experimentación. Estos sólidos corresponden a la fracción inorgánica del efluente acuícola que se va acumulando en el reactor, sin embargo el valor de la relación SSV/SST se mantuvo cercano al valor teórico de 0.8 kgSSV/kgSST, correspondiente a la biomasa, por lo que no resulta significativo ni perjudicial para la operación del reactor ni para el experimento, dado que esta fracción de los sólidos no interviene en los procesos degradativos.

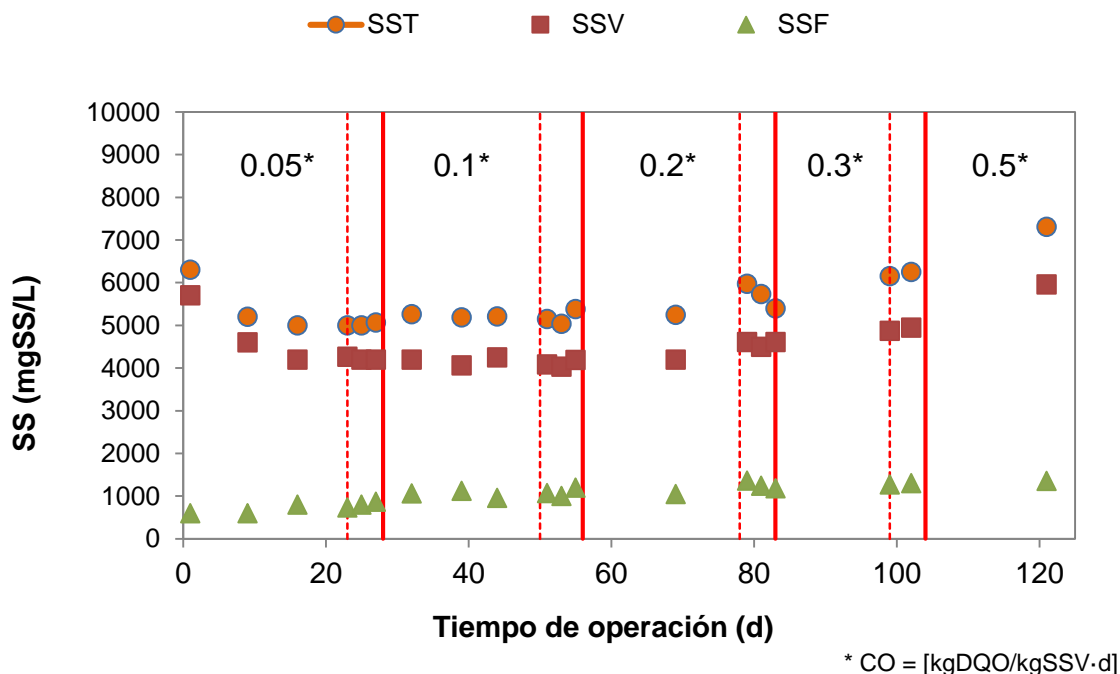


Fig.5. 3. Evolución de la concentración sólidos suspendidos, durante el tiempo de experimentación.

5.1.4. Actividad de la biomasa y tasa de consumo de oxígeno

La tasa de consumo de oxígeno es un parámetro que se puede relacionar con la actividad de los microorganismos, ya que es la cantidad de oxígeno consumido en la suspensión biológica, por unidad de tiempo (Ec.4). Los resultados muestran que hubo una disminución de la concentración de OD en el reactor, conforme incrementaba la CO (Fig.5.4). Dado que el flujo de aire suministrado al reactor, esta disminución se puede atribuir a una mayor actividad de la biomasa, como respuesta al incremento en la CO. Cuando la CO es baja, se han reportado procesos metabólicos predominantes el mantenimiento celular y la respiración endógena (Villalón, 2012). En estos procesos, la biomasa emplea el sustrato para la obtención de energía para el mantenimiento de sus actividades metabólicas básicas (e.g. respiración, presión osmótica) y no para crecimiento celular. Lo anterior se refleja en las tres primeras cargas orgánicas (*i.e.* 0.05, 0.1 y 0.2 kgDQO/kgSSV-d) en las cuales se presenta los valores más bajos de la OUR, como resultado de una baja actividad de la biomasa en respuesta a la baja carga orgánica.

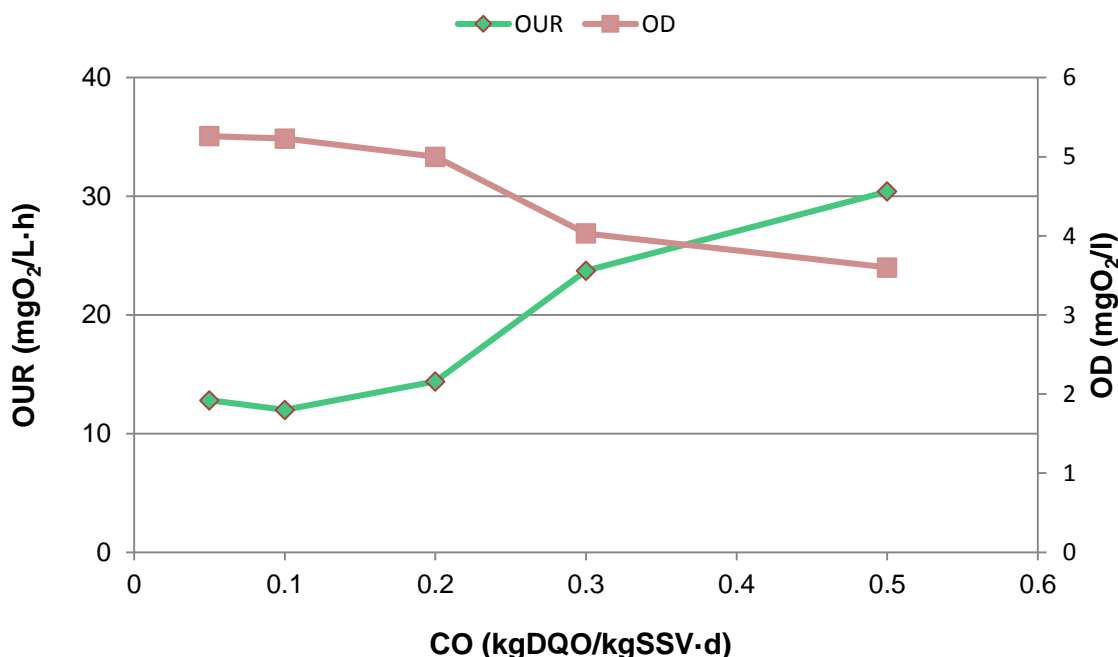


Fig.5. 4. Tasa de consumo de oxígeno (OUR) y oxígeno disuelto (OD) en función de la carga orgánica.

En cambio en las dos CO más altas (*i.e.* 0.3 y 0.5 kgDQO/kgSSV-d), se observa que la OUR presenta un incremento significativo, reflejando una mayor actividad microbológica en la suspensión, derivada de una mayor disponibilidad de sustrato soluble, el cual favorece la síntesis de tejido celular de la biomasa (Villalón, 2012),

5.1.5. Producción y rendimiento de la biomasa

Debido a las condiciones experimentales, la concentración de biomasa se mantiene constante. Sin embargo, a medida que se incrementó la carga orgánica, se observó una mayor producción de biomasa. Sin embargo, esta producción de biomasa no es proporcional al incremento de la CO. Esto se puede apreciar en la curva del TRC (Fig. 5.5). La biomasa producida prácticamente corresponde al gasto de purga de lodos (Q_w), ya que se tiene que extraer para mantener constante la concentración de biomasa en el reactor. Q_w es inversamente proporcional al TRC (Ec. 3). En la misma figura se puede apreciar que el rendimiento de la biomasa va incrementando en las primeras tres CO, donde alcanza su máximo y posteriormente disminuye, a pesar de que en las últimas dos CO se tienen mayores tasas de consumo de oxígeno (Fig. 5.4) y las mayores tasas de producción de biomasa. Por lo tanto su metabolismo se torna menos eficiente y los microorganismos podrían haber alcanzado su tasa máxima de producción de biomasa. Esto también se puede confirmar por los coeficientes de rendimiento que alcanzan hasta $Y= 0.62$ kgSSV/kgDQO para la carga orgánica de 0.2 kgDQO/kgSSV-d y disminuyen hasta $Y=0.45$ kgSSV/kgDQO en la carga de 0.5 kgSSV/kgDQO. Estos valores se encuentran dentro del rango de los valores típicos para los reactores aerobios de biomasa heterótrofa en suspensión degradando residuos orgánicos (Schneider *et al.*, 2007).

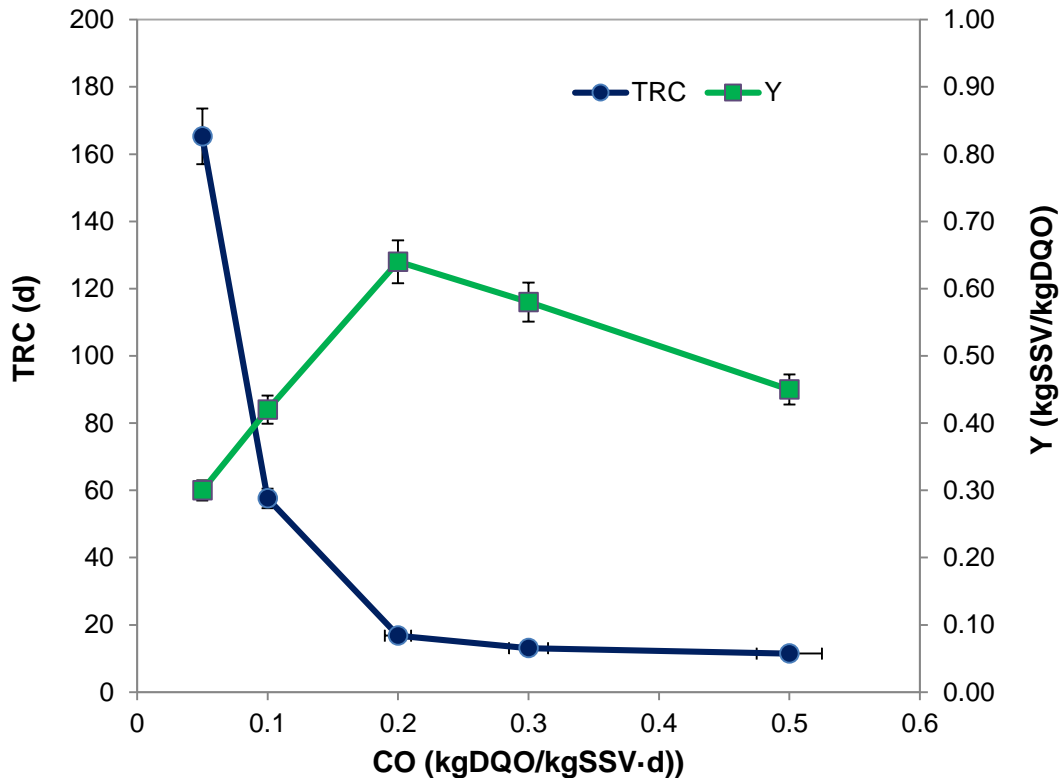


Fig.5. 5. Tiempo de retención celular (TRC) y coeficiente de rendimiento de la biomasa (Y), en función de la carga orgánica.

Los valores más bajo de rendimiento de la biomasa se observaron en las cargas orgánicas bajas (0.05 y 0.1 kgDQO/kgSSV·d), presentándose valores promedio de 0.2. Lo anterior como resultado de la poca actividad de los microorganismos, debido a la baja concentración de sustrato y a que bajo estas condiciones el sustrato es utilizado como fuente de energía para mantenimiento celular y no para formación de nuevas células. Por otro lado esto también podría explicarse por la baja disponibilidad de sustrato soluble, dada su naturaleza principalmente particulada, ya que implica un mayor consumo de energía para la hidrólisis en el proceso de biodegradación.

5.1.6. Tasa específica de crecimiento de los microorganismos

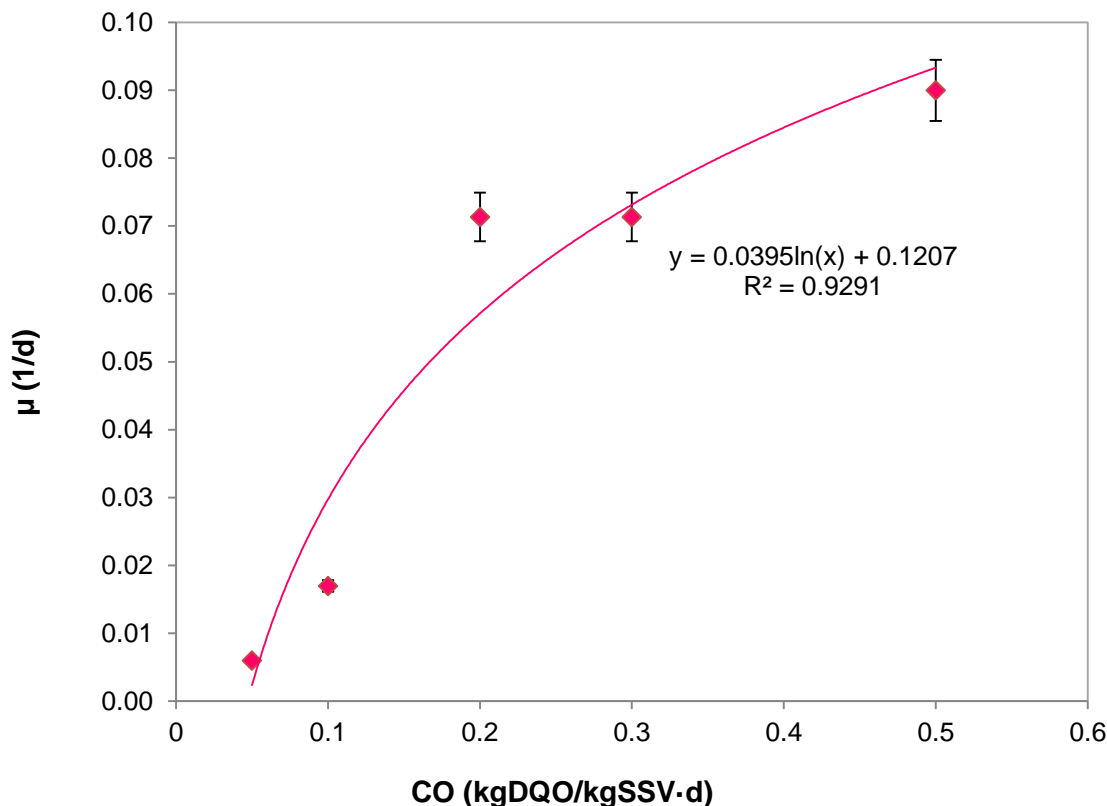


Fig.5. 6. Tasa específica de crecimiento de los microorganismos (μ) en función de la carga orgánica.

Con respecto al comportamiento de la tasa específica de crecimiento de los microorganismos observada μ (Fig.5.6.), durante la evolución de la carga orgánica (0.05 a 0.5 kgDQO/kgSSV·d), ésta presentó un comportamiento logarítmico, alcanzando su valor máximo ($\mu_{\text{máx.}}$) en aproximadamente 0.1 kgDQO/kgSSV·d, mostrando que la eficiencia del crecimiento tiende a estabilizarse. Dicho comportamiento es similar a lo encontrado por (Schneider *et al.* 2007). Lo anterior puede atribuirse las condiciones de operación del BRM, como mayores TRC (mínimos de 11 d), TRH (hasta 40 h) además de la concentración de SSV (5 g/L). Estos resultados también serían congruentes con la disminución observada en la producción de biomasa en las dos CO más altas.

5.2. Morfología de los flóculos y densidad de filamentos

5.2.1. Características de los flóculos

Para evaluar las características de los flóculos se procedió a analizar los siguientes aspectos: Tamaño, forma, firmeza y estructura. En la siguiente figura (5.7.) se muestra la evolución del tamaño de los flóculos durante (DF) el tiempo de operación y sus desviaciones estándar.

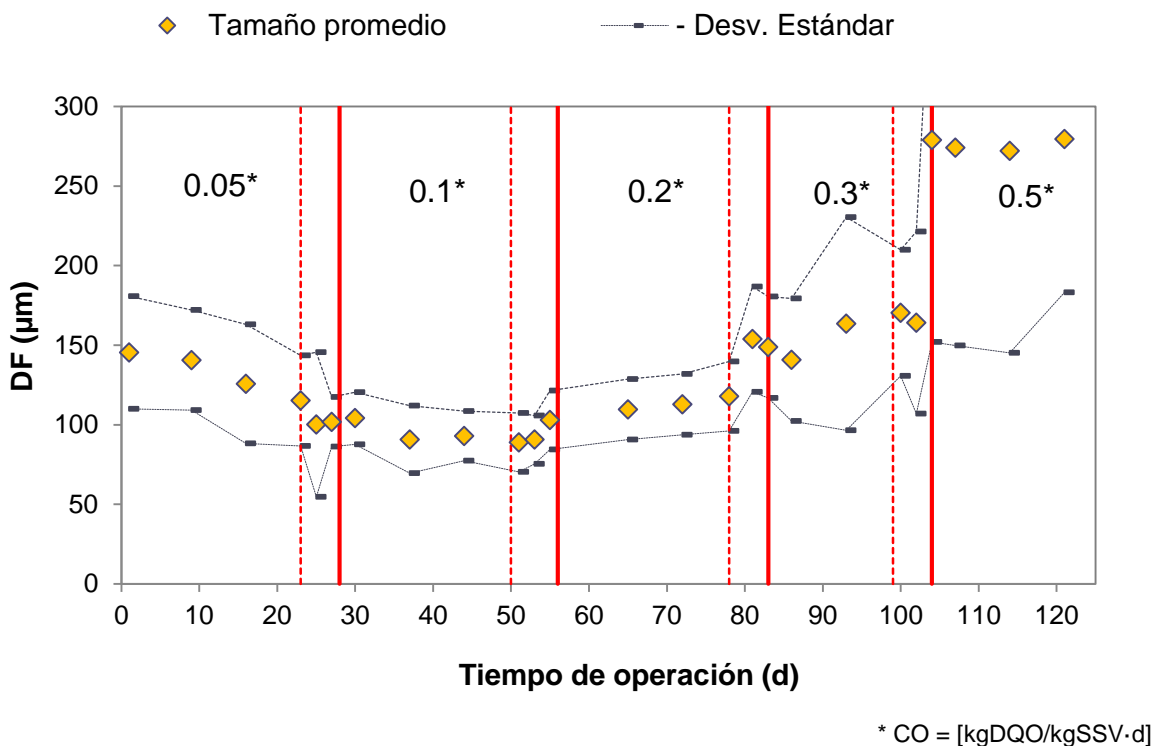


Fig.5. 7. Evolución del diámetro promedio y desviación estándar de los flóculos (DF) durante el tiempo de experimentación.

El rango del diámetro promedio de los flóculos osciló entre 89 y 279µm. Se presentó un incremento en el DF a medida que se incrementó la carga orgánica. Los flóculos presentaron estructura dispersa, débil ($\geq 30\%$) e irregular ($>50\%$). Estas características morfológicas coinciden con lo reportado por otros autores (Arévalo *et al.*, 2009; Rueda, 2013), excepto el tamaño. Esta diferencia se puede atribuir a la

naturaleza del sustrato empleado, ya que Arévalo et al., (2009) y Rueda (2013) emplearon un sustrato soluble, en cambio en la presente investigación el sustrato fue de naturaleza mayoritariamente particulada y una fracción soluble. Esta fracción particulada influye en las características de los flóculos presentes en la suspensión y particularmente en el tamaño (Puigagut *et al.*, 2007), generando flóculos con estructuras más compactas y estables.

El tamaño de los flóculos que se presentaron en las diferentes condiciones de carga orgánica, fueron flóculos de tamaño medio (entre 25-250 μ m), excepto en la última carga orgánica (*i.e.* 0.5kgDQO/kgSSV·d) en la se presentaron flóculos grandes (>250 μ m) (Fig. 5.7). A mayor TRC hay una reducción del DF, como resultado de una menor producción de EPS (Spérandio *et al.*, 2004), dado que m ay una menor CO, menor actividad de la biomasa y consecuentemente la energía del catabolismo la emplean para el mantenimiento y no para el proceso de floculación. Por otro lado, los TRC altos y baja CO, favorecen el desarrollo de bacterias filamentosas, que se han asociado con la formación de flóculos de mayor tamaño (Orantes, 2006).

La flóculos presentaron predominantemente forma irregular (>50%), en todas las condiciones de CO (Fig. 5.8). Esta forma irregular se puede atribuir a la presencia de bacterias filamentosas y a la baja producción de EPS, dadas las condiciones de baja CO y TRC altos, ya que en estas condiciones los EPS normalmente son empleados por as bacterias como fuente alterna de sustrato exógeno (Hejzlar & Chudoba, 1986). Los flóculos regulares fueron incrementando de un 23 a 40 % al final de las corridas experimentales, pero no llegaron a ser predominantes. Este incremento se puede atribuir a que pudo haber una mayor producción de EPS en las CO más altas, resultado de una mayor actividad de la biomasa. Por otro lado, las bacterias tienden a formar flóculos más grandes, estables y compactos cuando se tienen efluentes particulados, ya que la hidrólisis de estos contaminantes se lleva a cabo por las bacterias dentro de los flóculos (Frølund *et al.*, 1996, Laspidou & Rittmann, 2002). El resultado son flóculos de mayor resistencia a condiciones

hidrodinámicas agresivas y al ataque de los depredadores, debido a una mayor fuerza de cohesión entre las estructuras que se encuentra en los flóculos.

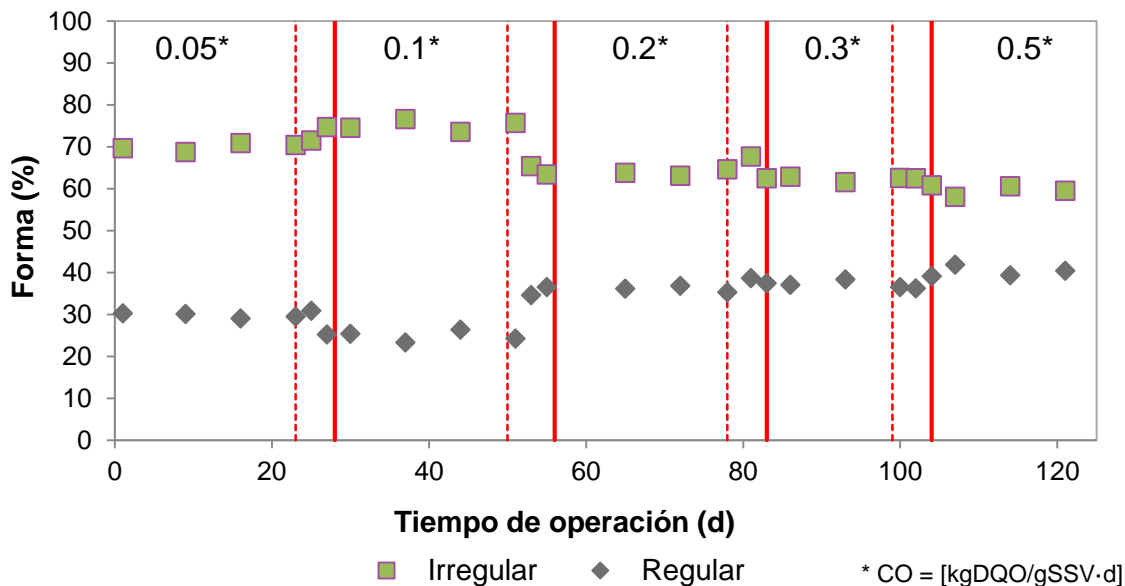


Fig.5. 8. Evolución de la forma de los flóculos en función de la carga orgánica.

En cuanto a la estructura se observó (Fig. 5.9.) que predominaron los flóculos dispersos (>70%), lo anterior como resultado de la presencia de bacterias filamentosas que crecen en condiciones de baja carga orgánica y elevados TRC.

En las cargas orgánicas de 0.05 y 0.1 kgDQO/kgSSV-d) se observaron flóculos de menor tamaño (Fig. 5.7). Los DF pequeños están asociados a formas irregulares y estructuras dispersas, dada la menor producción de EPS, que reduce la fuerza de cohesión entre ellos. En las ultimas carga orgánicas (0.3 y 0.5 kgDQO/kgSSV-d) hay un aumento estructuras compactas y robustas en el orden de 10 a un 29%, lo cual corresponde con lo reportado por otros autores (Massé *et al.*, 2006).

Finalmente en lo que se refiere a la firmeza de los bordes, predominaron los débiles (>70%), se presentó un incremento de flóculos firmes al final de la corrida experimental pero no significativo de 18 a 22 % (Fig. 5.10).

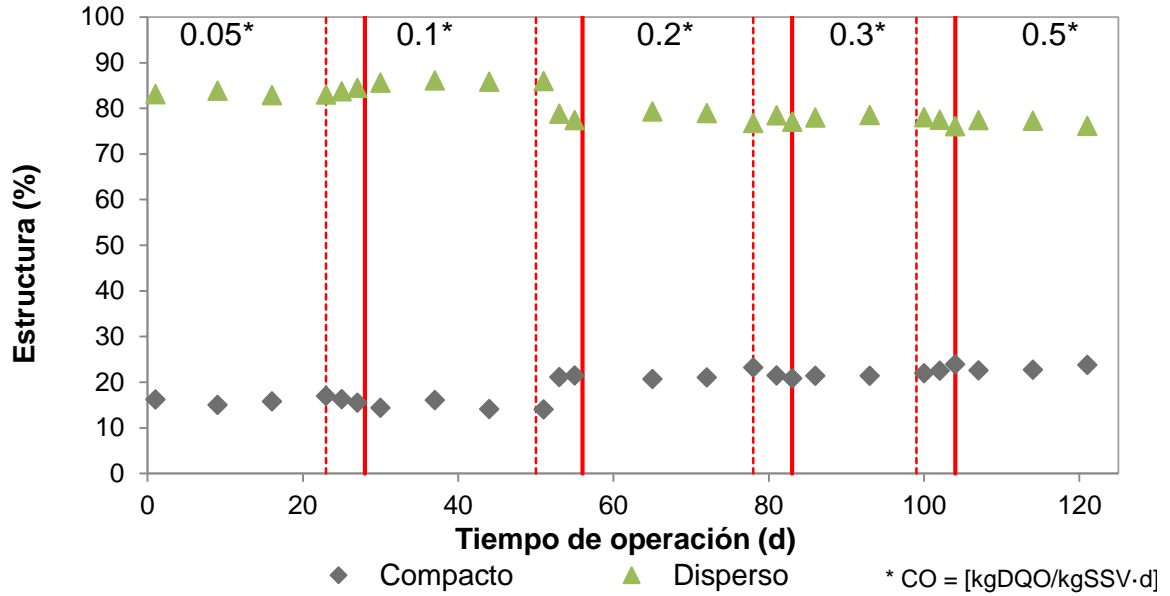


Fig.5. 9. Evolución de la estructura de los flóculos en función de la carga orgánica.

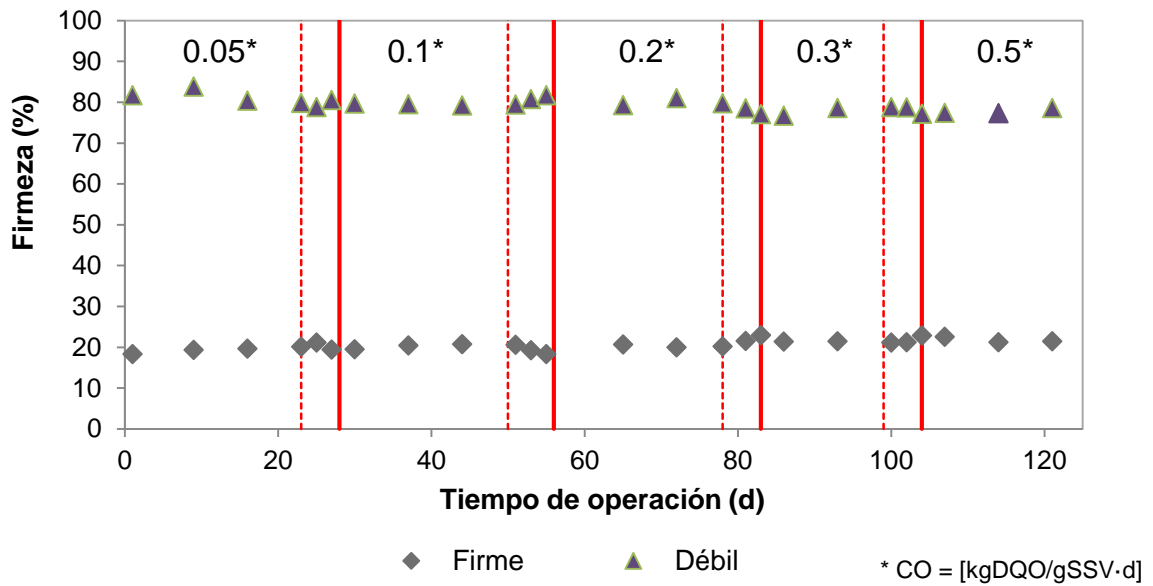


Fig.5. 10. Evolución de la firmeza de los flóculos en función de la carga orgánica.

La evolución de estas características morfológicas, así como del tamaño se ilustra en las siguientes imágenes (Fig. 5.11)

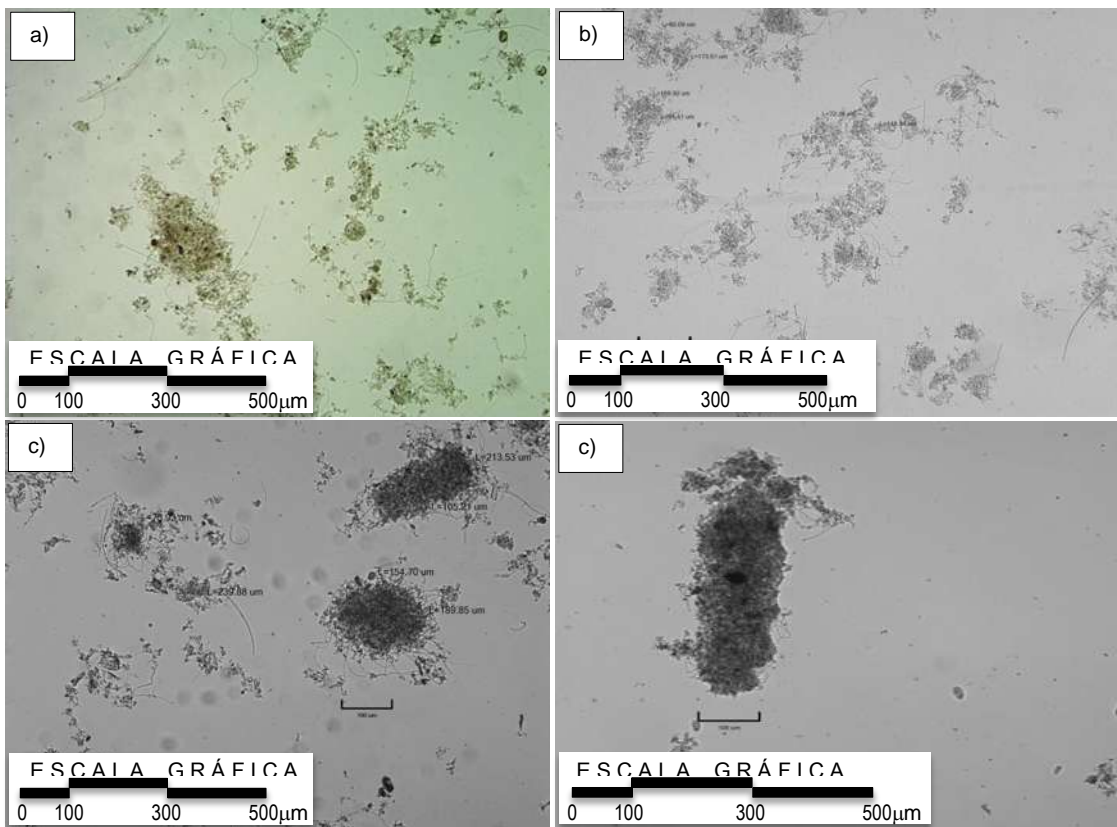


Fig.5.11. Imágenes de los flóculos a) día 1 ,b) día 65 y c) día 125 de operación (10x).

5.2.2. Índice de filamentos

Los resultados de la estimación de la densidad de organismos filamentosos, con base en el criterio propuesto por Eikelboom (2000) se muestran en la figura (5.10). Se observó la presencia de filamentos delgados, que llegaron a ser comunes, pero en baja densidad, presentando $IF=2$. En las CO de 0.05 y 0.2 kgDQO/kgSSV·d, el rango de valores de IF observado se mantuvo entre 2 y 4. La CO = 0.5 kgDQO/kgSSV·d se alcanzó un $IF=4$, como resultado de una mayor carga orgánica, y una menor concentración de OD.

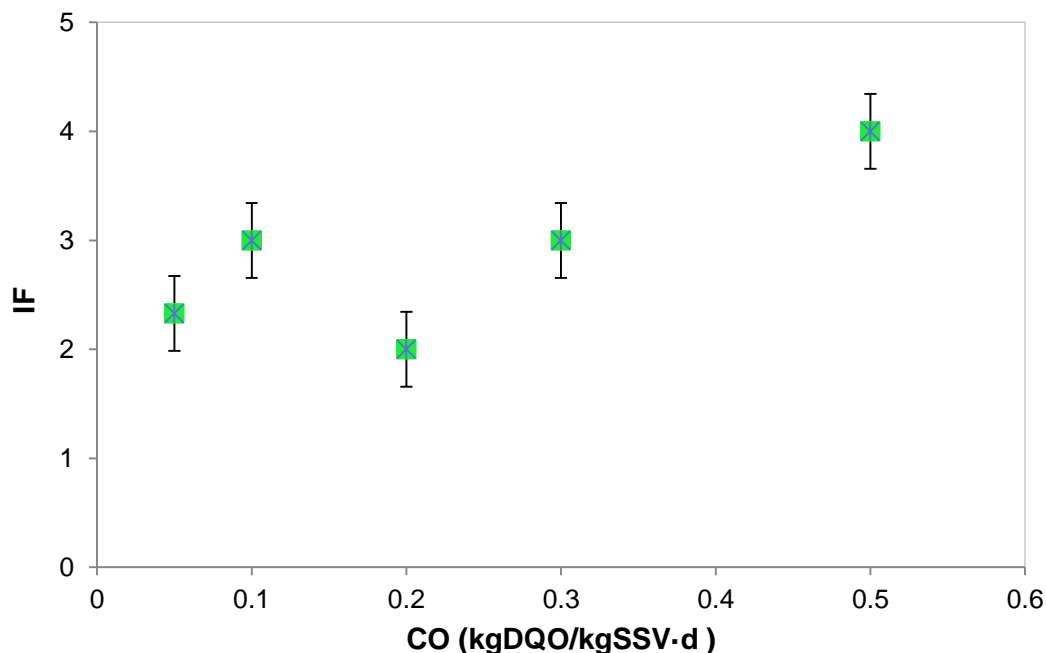


Fig.5. 12. Evolución del índice de filamentosas (IF) en cada carga orgánica (CO).

El valor promedio obtenido fue de $IF = 3$ con una desviación estándar de ± 0.5 . Lo cual coincide con lo reportado por otros autores (Arévalo *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2008; Orantes, 2006) para la biomasa de BRM, quienes atribuyen la abundancia de filamentosas a los altos TRC y a las bajas CO. Además que el incremento en el IF aumenta el tamaño del flóculo, pero genera estructuras irregulares, dispersa y débiles (Orantes, 2006; Zhang *et al.*, 2006). Las bacterias filamentosas resultan importantes para ayudar a que haya una mejor estructuración de los flóculos (Gerardi, 2002), debido a que estos constituyen el esqueleto de los flóculos, las cuales promueven la adhesión de otras células por sus EPS (Urbain *et al.*, 1998). Por otra parte, se ha reportado una relación positiva entre la presencia de bacterias filamentosas y la eficiencia de filtración; lo anterior como resultado de una mayor distribución del tamaño de partícula, bajo contenido de partículas hidrofóbicas en los SMP y el efecto especial de retención inducida por la capa de fouling por las bacterias filamentosas (Wang *et al.*, 2010). Sin embargo, el crecimiento excesivo de estos organismos, ha sido asociado al ensuciamiento de la membrana (Orantes, 2006).

5.3. Evolución de las poblaciones de microfauna

Un total de 36 géneros de microfauna (protozoarios y metazoarios) fueron observados y organizados, con base en los principales grupos de microfauna (clasificación a nivel de phylum aproximadamente) presentes en sistemas biológicos de depuración de aguas residuales (Eikelboom, 2000; Madoni, 2011; Védry, 1987; Kudo, 1984, Luna-Pabello, 2006). Entre los géneros encontrados, 20 corresponden al grupo de los ciliados (nadadores, reptantes, sésiles, carnívoros y suctores), 7 a las amebas (testadas y desnudas), 7 a los metazoarios y 2 a los flagelados. De los géneros identificados de protozoarios y metazoarios, 13 presentaron poblaciones pequeñas (*i.e.* menor de 300 ind/ml) durante el tiempo de operación. El promedio de protozoarios y metazoarios fue de 81,425 ind/ml valor más alto que el encontrado para sistemas de lodos activados de 6038 ind/m (Zhou *et al.*, 2008), lo anterior se puede explicar como resultado de las altas concentraciones de biomasa que se pueden alcanzar y trabajar en este tipo de sistemas; lo cual coincide por lo encontrado por Rueda (2013) en un BRM y por otros autores en sistemas no convencionales (Pérez-Uz *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008; Arévalo *et al.*, 2009). Durante la experimentación se observaron cambios tanto en las abundancias, como en los géneros identificados en la suspensión biológica del BRM (Fig. 5.13).

La comunidad de la CO-1 (0.05 kgDQO/kgSSV·d) está constituida por amebas testadas como grupo dominante, con una abundancia relativa promedio de 0.82; entre los géneros identificados tenemos *Euglypha sp.*, *Arcella arenaria*, *Diffugia sp.*, siendo este último el género dominante dentro del grupo de la amebas testadas (A.R. promedio de 0.51). Se presentó una disminución considerable de 0.31 en su abundancia relativa, en los días 25 y 27 de operación, como resultado del aumento en el grupo de los ciliados reptantes. También se presentaron durante esta corrida experimental la presencia de metazoarios (*Lecane*, *Aelosoma* y nemátodos), así como ciliados sésiles (*Operculia minima*, *Vorticella microstoma* y *Epistylis sp.*) y ciliados reptantes (*Aspidisca sp.*, *Chinollodella sp.*, *Euplotes sp.* y *Acineria uncinata*); con una abundancia relativa promedio de 0.04, 0.013 y 0.158 respectivamente.

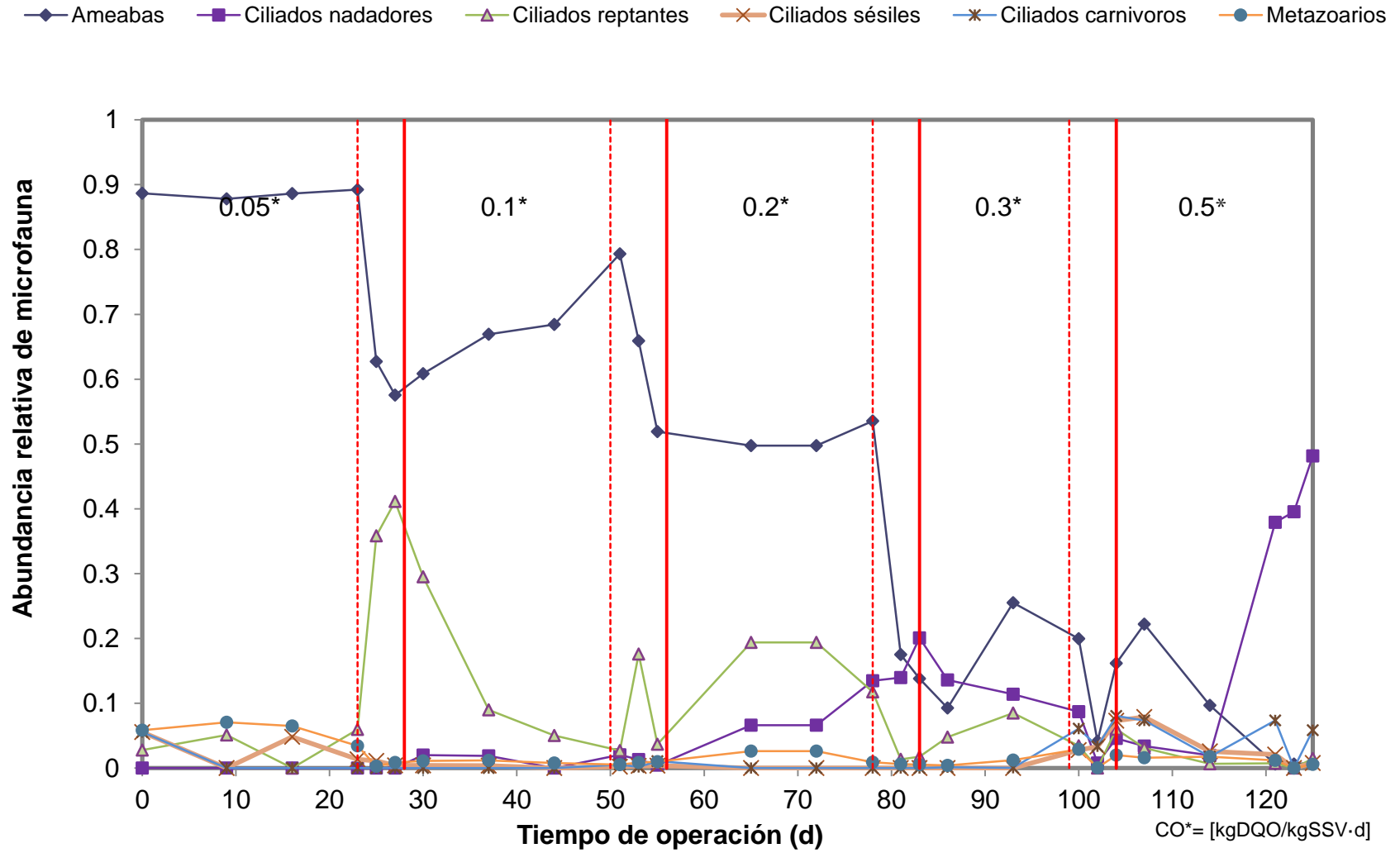


Fig.5. 13. Abundancia relativa de las clases de microfauna durante el tiempo de experimentación.

La comunidad de la CO-2 está formada por amebas como grupo dominante, con una abundancia relativa promedio de 0.70; entre los géneros identificados tenemos *Euglypha sp.*, *Arcella arenaria*, *Centropyxis aculeata*, *Arcella vulgaris*, y *Diffugia sp.*). Se presentaron ciliados (nadadores, reptantes, sésiles y carnívoros), con una abundancia relativa promedio de 0.114, siendo el grupo de ciliados reptantes el grupo más representativo; entre los géneros identificados tenemos (*Aspidisca sp.*, *Euplotes sp.*, *Acineria uncinata*, *Chinollodella sp.*). También se encontraron metazoarios, siendo el género representativo de este grupo *Lecane sp.* y flagelados (A.R. promedio de 0.18).

La comunidad de la CO-3, se caracterizó por estar formada por amebas desnudas y testadas, siendo los género representativos de este grupo *Diffugia* y *Mayorella sp.* Entre los ciliados, los géneros más representativos fueron *Ciclidium sp.*, *Acineria uncinata* (reptantes y nadadores). También se encontraron metazoarios, sin embargo el grupo dominante fue el de los flagelados (A.R. de 0.44).

LA comunidad de la CO-4, está formada por amebas, siendo el género representativo las amebas desnudas (A.R. promedio de 0.098). En esta carga orgánica las amebas testadas presentaron abundancia más bajas con respecto a las tres anteriores (A.R. promedio 0.0789).

Las poblaciones correspondientes a las últimas dos cargas orgánicas presentaron como parte de su composición: amebas desnudas, aunque no presentaron poblaciones numerosas y que se puede atribuir al cambio significativo de carga orgánica (de 0.3 a 0.5 kgDQO/kgSSV·d) y posible estado de transición y periodo de estabilización de una de baja a alta carga. Además se presentaron poblaciones de ciliados sésiles (*Vorticella conavaria*, *Vorticella microstoma*). Posteriormente aparecen los ciliados nadadores (*ciclidium sp.*, *uronema sp.*), ciliados carnívoros (*Litonotus s.p.*), suctores (*podophyra sp.*), así como una población de ciliados reptantes (*Euplotes sp.*) y flagelados, que fueron el grupo más dominante.

De los géneros identificados en la biomasa del BRM, algunos coinciden con los microorganismos encontrados en sistemas convencionales y otros en sistemas avanzados de tratamiento de agua, aunque se presentan con diferentes abundancias y estructuran diferentes comunidades (Arévalo, 2009; Pérez-Uz, 2010; Rueda, 2014). Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron que se tuvo una población estable de amebas y flagelados, los cuales estuvieron asociados a altas eficiencias de remoción en el BRM y coincide con lo reportado por otros autores en BRM (Pérez-Uz, et al., 2007; Liu et al., 2008; Arévalo, 2009). Estos resultados contrastan con lo encontrado para sistemas convencionales de lodos activados, en los cuales la presencia de estos grupos se encuentra asociada a malas condiciones de operación. Los ciliados sésiles y reptantes han sido asociados a buena calidad del efluente (Curds and Cockburn, 1970; Esteban *et al.*, 1991; Madoni, 1994; Martín-Cereceda *et al.*, 1996).

Durante las CO-1 y CO-2 (0.05 y 0.1 kgDQO/kgSSV·d respectivamente) las amebas testadas, los ciliados reptantes, los nemátodos y los rotíferos fueron los grupos que estuvieron presentes. La presencia de estas poblaciones es resultado de la baja carga orgánica, que favorece la presencia de aquellos grupos de microfauna que son capaces de obtener alimento para su crecimiento a través de su alta eficiencia de clarificación del agua, ya que se alimentan de los flóculos, es decir, de la fracción partícula presente en la suspensión ya que hay poca bacterias libre en la suspensión (Madoni *et al.*, 1993; Martín-Cereceda *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2006; Papadimitriou *et al.*, 2007; Tyagi *et al.*, 2008) los cuales asocian la presencia de estos grupos a condiciones de baja CO, oxígeno suficiente para la actividad microbiológica y altas calidad del efluente.

Durante las CO2, CO3, CO4 (0.2, 0.3 y 0.5 kgDQO/kgSSV·d) se observó la presencia de ciliados libres, ciliados fijos y flagelados, lo anterior se puede atribuir a una mayor actividad de los microorganismos como resultado de una mayor carga orgánica, reflejándose en un incremento de la SOUR (4.52 y 5.50 mg/g·h), teniendo

las tasa de consumo de oxígeno más altas como resultados de la mayor actividad microbiológica en estas condiciones de carga orgánica. La anterior ha sido reportado por otros autores que mencionan que la carga orgánica y el TRC son los principales factores que influyen en la biocenosis en los sistemas de tratamiento de agua (Salvadó y Gracia, 1993; Jenkins *et al.* 1993; Salvadó, 1994). La presencia de ciliados nadadores, sésiles y flagelados han sido asociados a condiciones altas de carga orgánica, menor cantidad de oxígeno disuelto, alta actividad de bacterias dispersas lo que se refleja en un aumento de las poblaciones de flagelados debido a que se alimentan de ellas (Madoni, 1992; Salvadó *et al.*, 1995; Ginoris *et al.*, 2007).

Los resultados muestran que a medida que se va incrementando la carga orgánica, hay una evolución de las diferentes poblaciones presentes en la biomasa (Fig. 5.11). Esta evolución es una respuesta a diversos factores: (i) a la carga orgánica de trabajo, (ii) las interacciones entre las diferentes especies que componen dicha comunidad, (iii) a los cambios en la composición de la suspensión, como resultado de la actividad metabólica de los microorganismos y (iv) a las relaciones tróficas. No obstante que no se encontró una relación específica de algún grupo o género en particular con cada una de las cargas orgánicas, los cambios en la carga orgánica si generan variación de las poblaciones de microfauna presentes en la suspensión biológica. Por otro lado, es importante señalar que la abundancia relativa de los diversos grupos de microorganismos no se vincula a la estabilización en términos de la calidad del efluente del tratamiento. Esta estabilidad está garantizada por el proceso de separación por membranas que complementan al proceso degradativo y aseguran la calidad del efluente.

5.3.1. Análisis de la diversidad

➤ Riqueza específica

Las curvas de acumulación de géneros mostraron un comportamiento asintótico horizontal en la fase final (Fig. 5.14), lo cual indica que aunque se analizaran más muestras ya no aparecerían nuevos géneros. En este caso se muestra la curva

correspondiente a la CO-4, a modo de ejemplo, sin embargo, todas muestran la misma tendencia. Se alcanzó una eficiencia promedio de muestreo del 95%; es decir que se estima que se logró identificar aproximadamente un 95% de los géneros presentes en el reactor, por lo tanto, se considera que se tuvo un muestreo eficiente. Este tipo de análisis no han sido empleados previamente en los sistemas de tratamiento de agua residual. Dicha herramienta resulta útil en la medida que nos permite inferir el número de géneros o especies que podríamos esperar identificar y así poder definir el número de muestras necesarias para lograr contabilizar la mayor proporción de especies presentes en la suspensión en este caso del BRM, mas no nos aportaría información adicional en cuanto a la dinámica de la comunidad, ya que no toma el valor de importancia de los géneros o especies presentes.

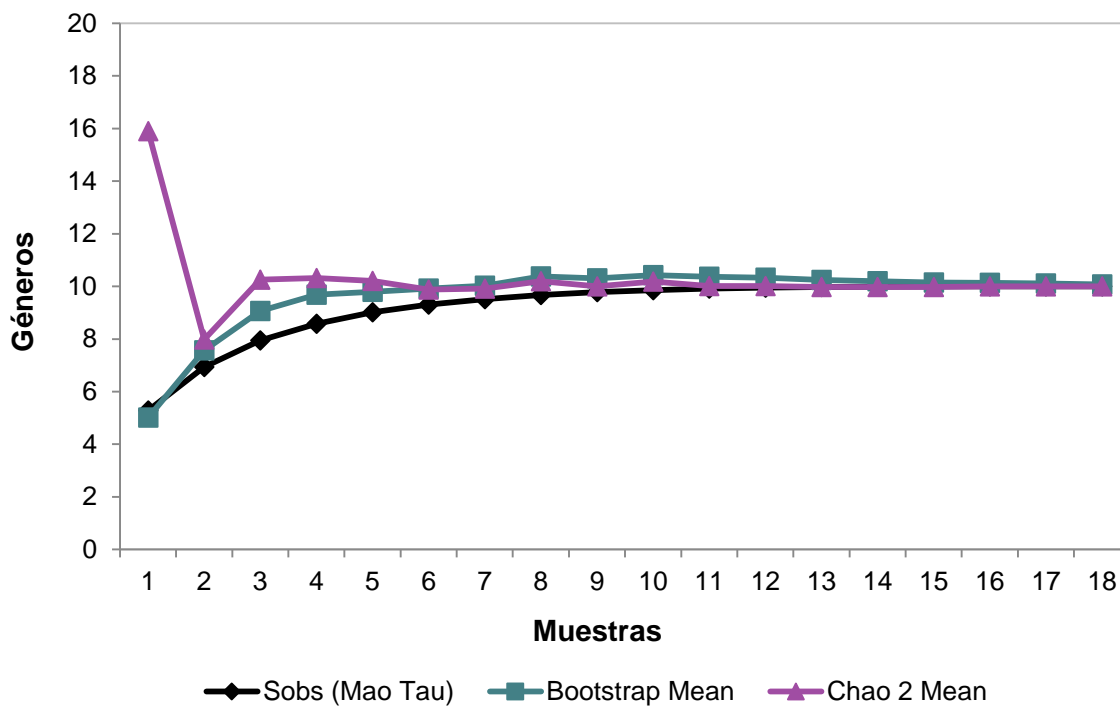


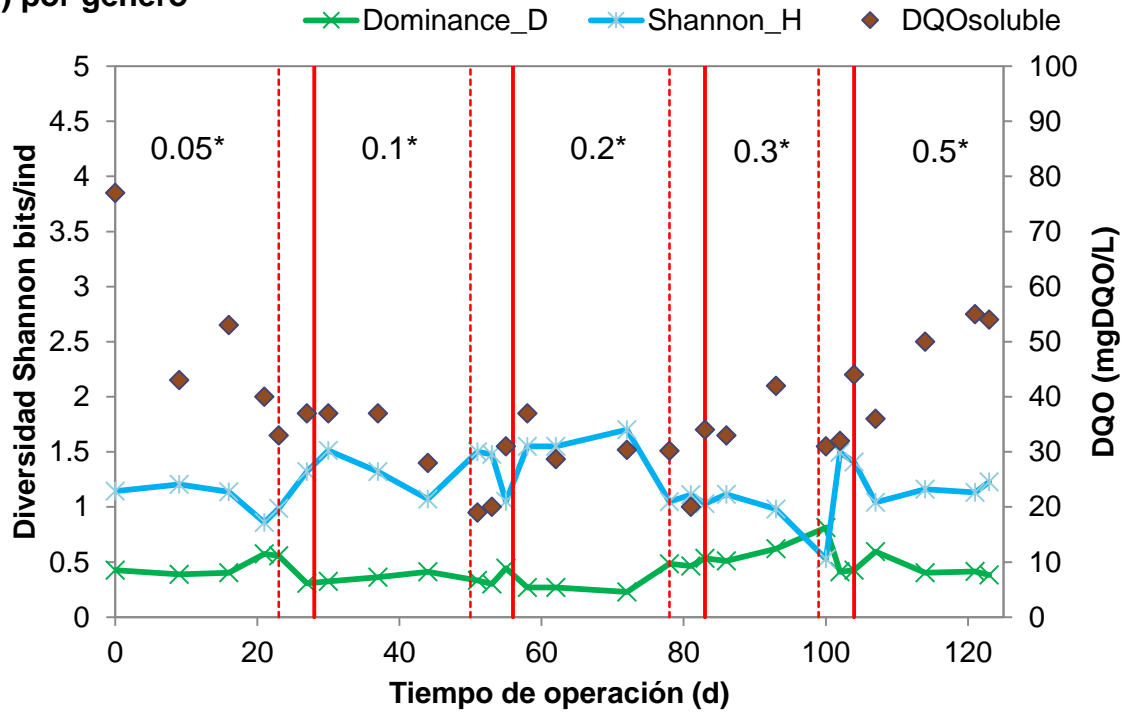
Fig.5. 14. Curvas de acumulación de géneros, correspondientes a la cuarta carga orgánica (CO = 0.3kgDQO/kgSSV·d).

➤ **Diversidad alfa**

Los resultados obtenidos de la estimación de los índices de diversidad (Shannon) y dominancia (Simpson) por género muestran (Fig. 13.a) que un descenso en la diversidad de la microfauna se puede relacionar con un descenso también en la eficiencia de depuración del sistema (Madoni, 1994). Los descensos en la diversidad que se presentaron en nuestro BRM coinciden también con un aumento en la DQO_{sol} en el reactor, con lo que se confirma la relación observada por Madoni (1994) para sistemas de lodos activados y lo encontrado para condiciones de BRM por Rueda (2014). La diversidad microbiológica permite que haya una mejor degradación de la fracción soluble retenida en el BRM. Sin embargo, cuando hubo incrementos en la DQO_{sol} del reactor, no se presentó un descenso en la calidad del efluente, ya que este tipo de sistema tiene la ventaja de que la retención por la membrana, ayuda a dar mayor estabilidad a la calidad del efluente (Rueda, 2014)

Sin embargo, la presencia de DQO_{sol} en el reactor, que corresponde fundamentalmente a las macromoléculas contaminantes, SMP y residuos de bacterias que son retenidas por la membrana en la suspensión biológica (Radjenovic *et al.*, 2008), si no son degradadas, a largo plazo, podría implicar mayores tasas de ensuciamiento de las membranas, particularmente por bloqueo de poros en la membrana dinámica (Orantes, 2006). Por ello lo deseable es que se mantenga una mayor diversidad biológica (e.g. índice de Shannon por género ≥ 1.5). Si se logra mantener una mayor diversidad biológica en la suspensión, se reducirá la presencia de macromoléculas colmatantes y se logrará tener mayores tiempos de operación de la membrana sin que se ensucie y requiera un lavado químico. Los valores obtenidos del índice de Shannon son más bajos que los obtenidos para sistemas convencionales de lodos activados (Madoni, 1994; Spyridon *et al.*, 2011), pero similares a los obtenidos para sistemas avanzados de tratamiento de agua como el BRM (Pérez-Uz, 2011; Rueda, 2014).

a) por género



b) por grupo

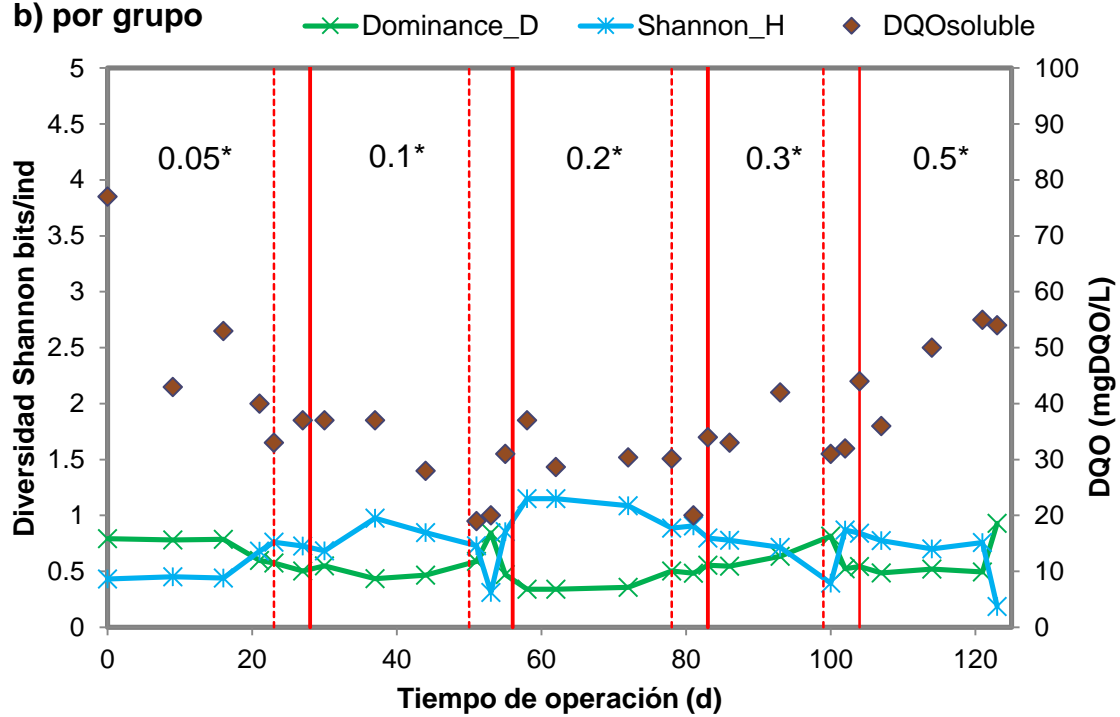


Fig.5.15. Índice de dominancia y diversidad (a) por género y (b) por grupo taxonómico.

Cuando se observa un incremento en el valor del índice de diversidad por grupo, en la biomasa (e.g. índice de Shannon por grupo ≥ 0.8), también se puede observar una reducción en la DQOsol del reactor (Fig.5.15.b). Esto podría suponer un mejoramiento del funcionamiento del sistema ecológico dentro del reactor, cuando hay en la biomasa una mayor diversidad de géneros de microfauna interactuando entre sí, en especial degradando y consumiendo la mayor parte de la materia responsable de la DQOsol en el reactor (Madoni, 1994; Rueda, 2014).

➤ **Índice de Importancia Relativa (IIR)**

Este índice nos permiten determinar la importancia de los diferentes grupos taxonómicos presentes en la biocenosis de las suspensión biológica del reactor, no solamente por el número de individuos de cada población, ya que este índice contemplan tres aspectos, el tamaño promedio de cada género, la frecuencia con la que se presentan y el número de individuos por unidad de muestreo; lo cual nos aporta información acerca del desempeño de cada uno de los diferentes grupos y subgrupos taxonómicos dentro de la biocenosis del BRM.

El grupo de ciliados es el grupo de mayor importancia relativa (40-60%) dentro de la biocenosis del BRM (Fig. 5.14). Los ciliados son el grupo taxonómico con mayor diversidad de géneros y están presentes en todas las condiciones de CO, lo anterior no habla del rol y la importancia de su presencia dentro de la biocenosis. Este grupo es el principal constituyente de la microfauna encargados de la degradación de los contaminantes (Fried *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2013; Madoni *et al.*, 1993; Salvadó *et al.*, 1995), por lo tanto es uno de los principales responsables de la clarificación de los efluentes, tanto por su actividad depredatoria sobre las bacterias, como por el papel que juegan en la estimulación del proceso de.

También podemos observar que los grupos de las amebas, los metazoarios y los flagelados, se encuentra dentro de la biocenosis como grupos de importancia relativa secundaria (con un IIR de 13 a 43%, de 25 a 30% y de 10 a 20%, respectivamente). Después del grupo de los ciliados, las amebas y los metazoarios

son los grupos taxonómicos que presentaron mayor diversidad de géneros. En cambio el grupo de flagelados fue el grupo con mayores abundancias, junto con las amebas. Lo anterior puede atribuirse a las condiciones de operación (carga orgánica, TRC, OD, etc.), que determinan las condiciones ambientales que favorecen su presencia durante prácticamente toda la operación, contribuyendo a la reducción de la fracción particulada y soluble presentes en el influente en menor medida que los ciliados. Esta biocenosis muestra las relaciones presa-depredador que se presentan como resultados de las relaciones tróficas y por lo tanto del reciclaje nutrientes dentro del de la suspensión biológica del BRM.

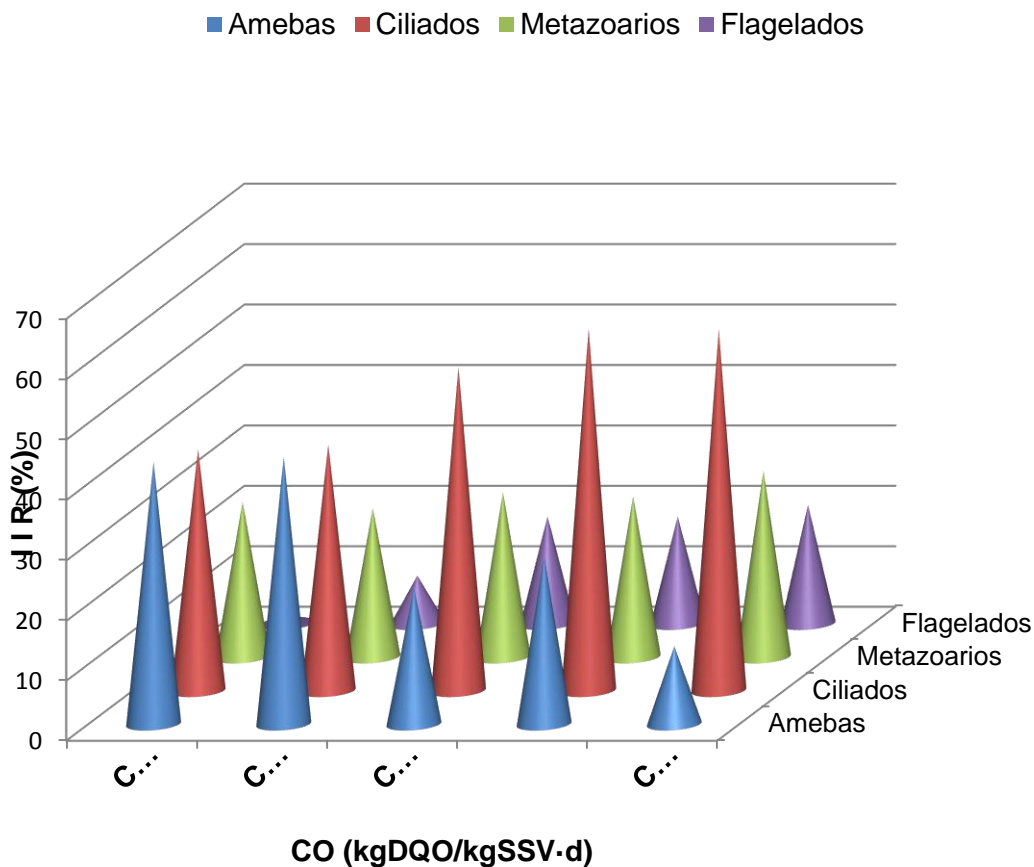


Fig.5.16. Índice de importancia relativa de la microfauna por grupo taxonómico.

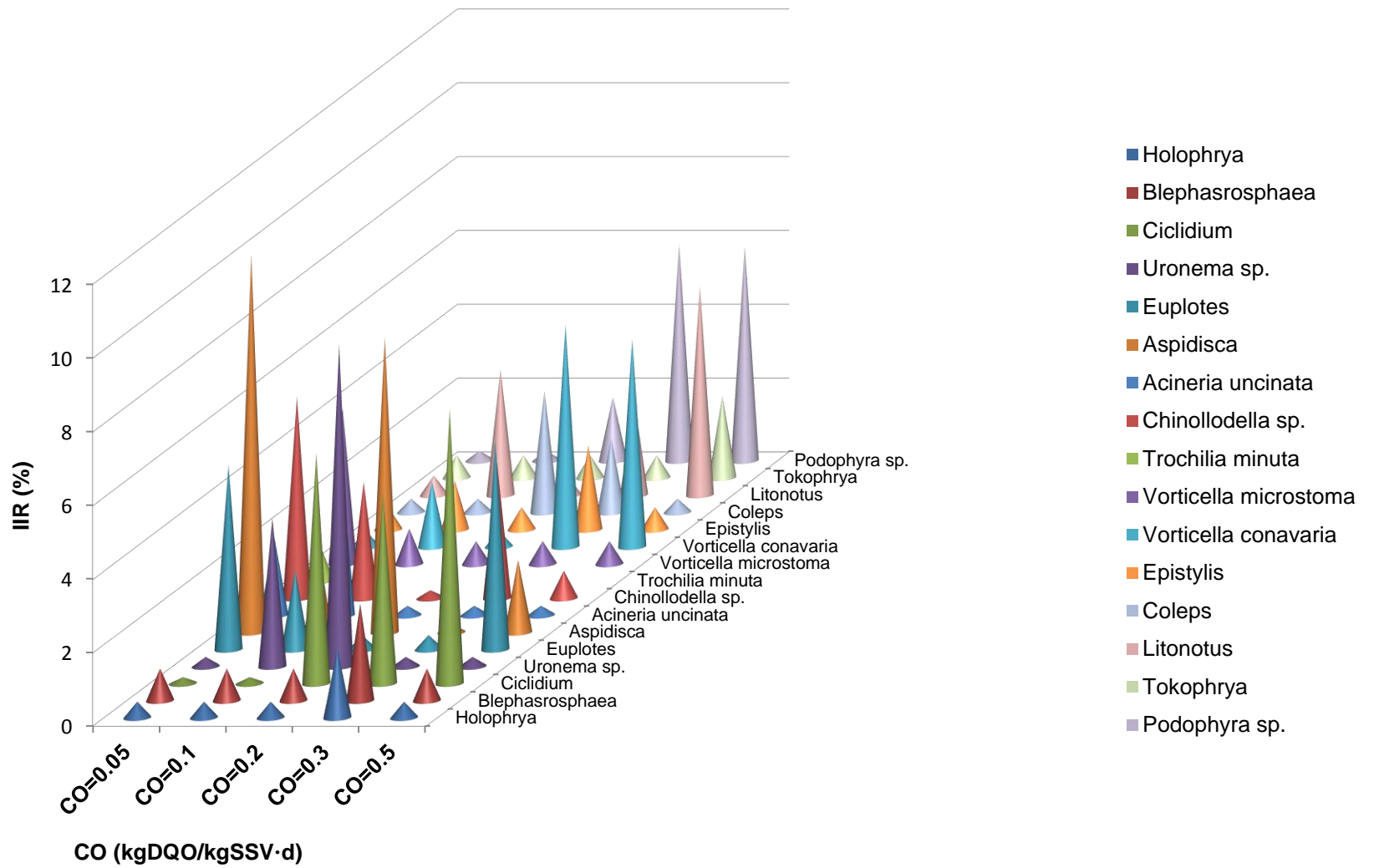


Fig.5.17. Índice de importancia relativa por género de la microfauna en función de la carga orgánica.

El IIR para todos los género encontrados en los diversos grupos taxonómicos (Fig. 5.17) se puede observar como se va dando una sucesión de los diferentes géneros de ciliados; primeramente se establecieron los ciliados reptantes, posteriormente ciliados libres, ciliados sésiles y finalmente los ciliados carnívoros y suctores. El grupo taxonómico de los ciliados sigue siendo el grupo con mayor importancia relativa, ya que se presenta a lo largo de toda la condiciones de carga orgánica, aunque con diversos géneros y con diversos subgrupos, ya que cada uno de ellos juega un rol diferente en la suspensión. El grupo de los ciliados tiene una importancia relativamente alta, además de que es el grupo con mayor diversidad de géneros. El IIR permite observar que la sucesión de los diferentes géneros de microfauna coincide con los resultados obtenidos por medio del gráfico de abundancia relativa (Fig. 5.13), donde el grupo de las amebas testadas es el grupo con mayor importancia relativa durante las dos primeras condiciones de CO (0.05, 0.1 kgDQO/kgSSV-d), disminuyendo su importancia relativa en las dos últimas CO, como resultado del aumento de la presencia de la amebas desnudas.

Los pequeños flagelados van incrementando su IIR a medida que incrementa la CO, lo anterior como resultados de una mayor actividad de las bacterias y dada la alta carga orgánica. Los metazoarios se mantuvieron con un %IIR prácticamente constante a lo largo de las diferentes CO, siendo la primera en la cual tuvieron mayor %. La sucesión de los diferentes grupos se presentó como respuesta a los cambios inducidos para alcanzar las condiciones de carga orgánica en todas las variables operativas y la dinámica de la biocenosis de la suspensión.

Por lo anterior podemos darnos cuenta que tanto metazoarios como protozoarios juegan un papel importante dentro de los procesos biológicos de tratamiento de agua. Su presencia se refleja en la reducción de DQO_{sol} (*i.e.* Materia orgánica del influente, SMP) y DQO_{part} (Materia particulada del influente, residuos de bacterias lisadas, bacterias libres, etc.) dentro del reactor, por lo cual su estudio nos aporta información relevante acerca del funcionamiento del BRM.

➤ **Diversidad beta**

Con la finalidad de establecer con mayor precisión las relaciones de los géneros identificados que forman la comunidad presente en la biomasa del BRM, se realizó un análisis de la diversidad beta. Se utilizó el índice de similaridad de Morisita-Horns modificado, dado que contempla tanto las abundancia como los géneros presentes. Mediante un análisis clúster se realizó la agrupación de las diferentes poblaciones que caracterizarían las comunidades presentes en la suspensión biológica, en cada carga orgánica.

Para la agrupación, se tomaron en cuenta aquellos grupos que comparten una similaridad de por lo menos el 70%. De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis clúster, realizado por carga orgánica, se identificaron dos conglomerados (Fig. 5.18); los cuales corresponden a las comunidades de microfauna presentes en la suspensión del reactor. En el primero encontramos las cargas orgánicas de 0.05 y 0.1 kgDQO/kgSSV·d (bajas). El segundo constituido por las cargas orgánicas de 0.2, 0.3, 0.5 kgDQO/kgSSV·d (altas), se puede ver claramente que se mantuvo únicamente el 23% de las especies, presentando un recambio importante de especies en el paso de la CO-2 a la CO-3. El conglomerado correspondiente a las cargas orgánicas bajas está constituido por amebas testadas, ciliados reptantes y metazoarios (*Aelosoma*) y el de cargas orgánicas altas por ciliados nadadores, amebas testadas y desnudas, ciliados carnívoros, sésiles y flagelados.

Por otro lado, si el análisis cluster lo realizamos por semana de operación, se pueden identificar 5 comunidades diferentes (Fig. 5.19). No obstante que estas comunidades ya no están claramente asociadas a una carga orgánica en particular, ni tienen una clara sucesión temporal, sí se vuelve a apreciar la separación entre comunidades asociadas a las CO bajas y a las CO altas, así como también se puede apreciar que estas comunidades está vinculada con la sucesión de poblaciones a lo largo del tiempo de experimentación (Fig. 5.20).

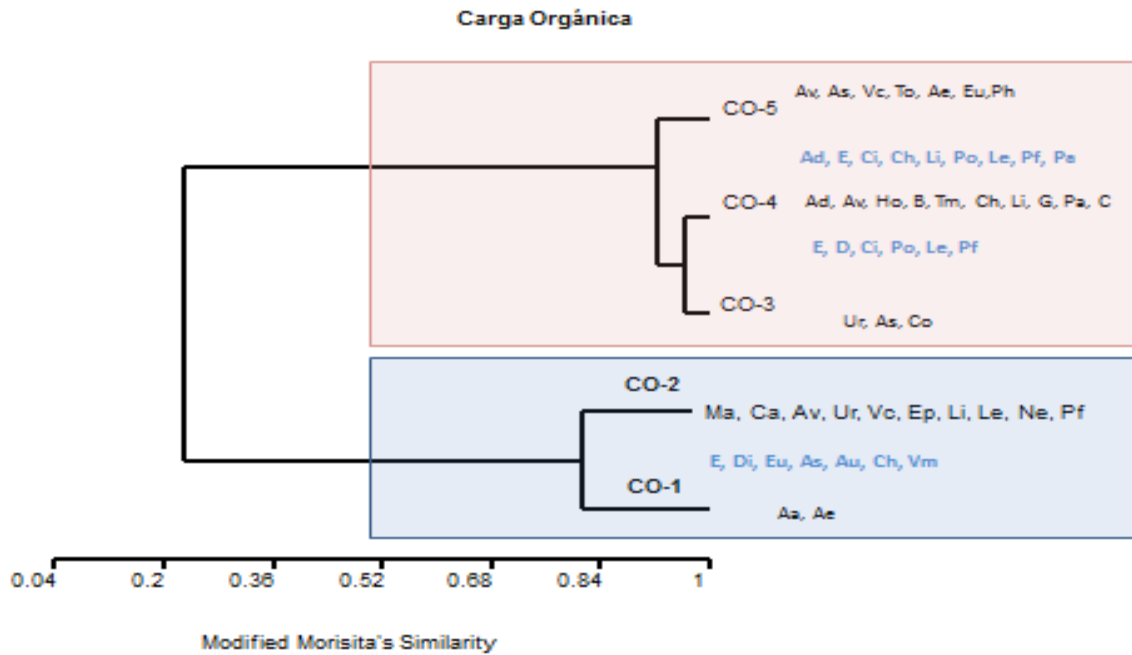


Fig.5.18. Dendrograma de agrupación de poblaciones, en comunidades, por carga orgánica en el BRM.

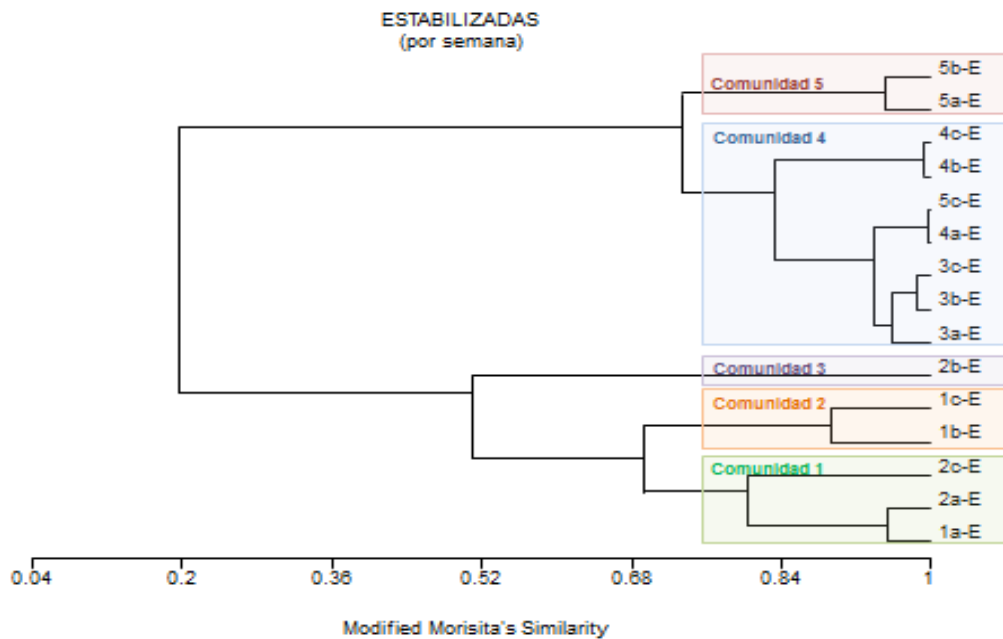


Fig.5.19. Dendrograma de agrupación de poblaciones, en comunidades, por semana, en función de la carga orgánica en el BRM.

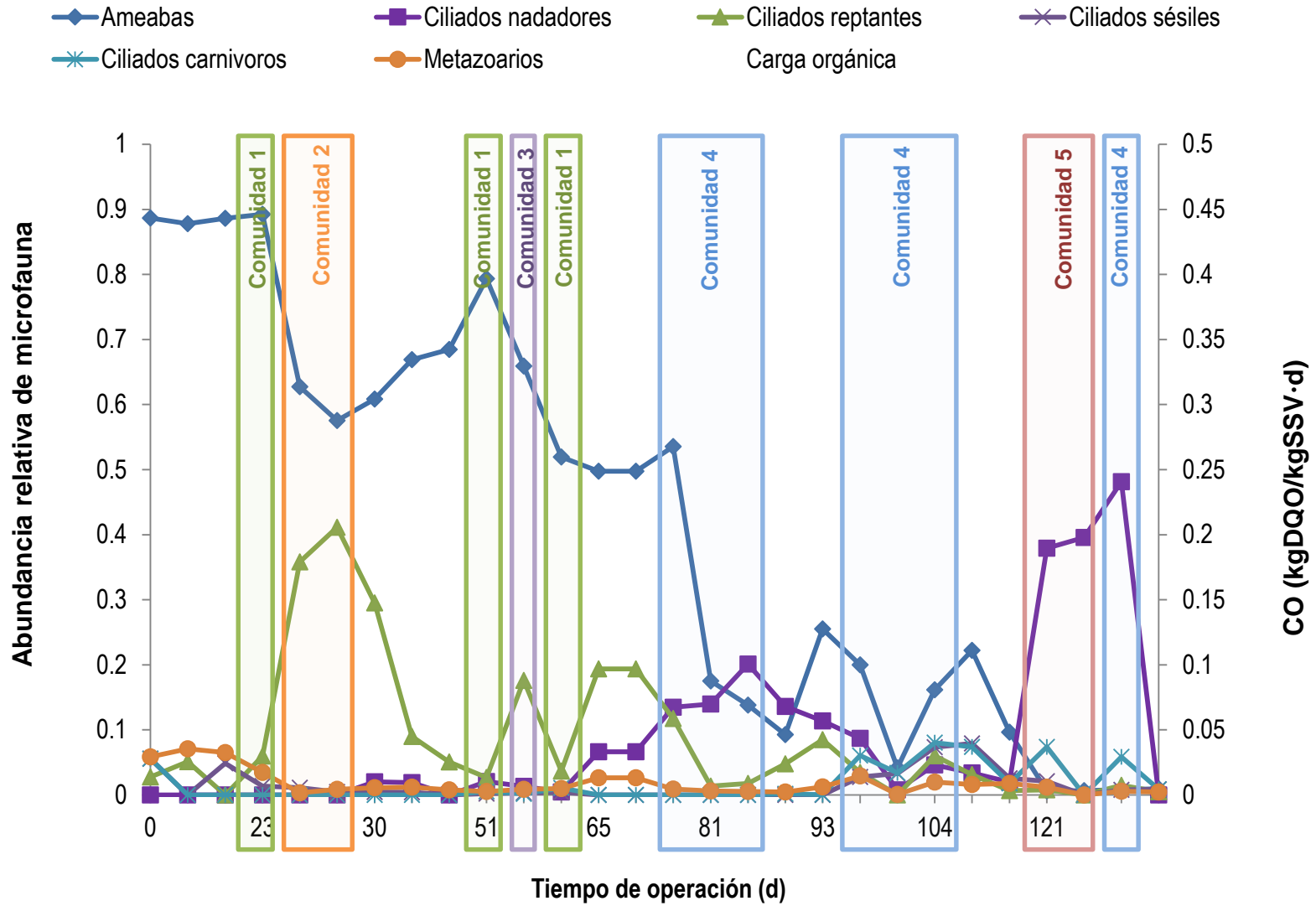


Fig.5 20. Sucesión de poblaciones de microfauna a diferentes cargas orgánicas.

- La comunidad 1, está constituida por amebas testadas, ciliados reptantes, ciliados sésiles, ciliados libres, metazoarios y flagelados. Entre los géneros que se encuentran presentes en dicha comunidad tenemos *Euglypha sp.*, *Diffugia sp.*, *Mayorella sp.*, *Centropyxis aculeata*, *Arcella vulgaris*, *Euplotes sp.*, *Chinollodella sp.*, *Vorticella microstoma*, *Uronema sp.*, *Aelosoma*, *Proales*, *Lecane* y *pequeño flagelado*.
- La comunidad 2 está constituida por ameba testadas, ciliados reptantes, ciliados sésiles, metazoarios y flagelados. Los géneros que se encuentran son: *Euglypha sp.*, *Diffugia sp.*, *Arcella vulgaris*, *Euplotes sp.*, *Chinollodella sp.*, *Aspidisca, sp.*, *Trochilia minuta*, *Vorticella microstoma*, *Aelosoma* y *pequeños flagelados*.
- La comunidad 3 está constituida por amebas testadas, ciliados nadadores, ciliados libres, ciliados reptantes, ciliados carnívoros, metazoarios y flagelados. Los géneros que se encuentran en la comunidad son: *Euglypha sp.*, *Diffugia sp.*, *Mayorella sp.*, *Arcella vulgaris*, *Uronema sp.*, *Euplotes sp.*, *Chinollodella sp.*, *Aspidisca, sp.*, *Trochilia minuta*, *Acinerua uncinata*, *Vorticella conavaria*, *Litonotus sp.*, *Lecane*, *flagelados*.
- La comunidad 4 está formada por amebas desnudas y testadas, ciliados libres, ciliados reptantes, ciliados sésiles, ciliados carnívoros, metazoarios y flagelados. Los géneros que se encuentra formada esta comunidad son: *Mayorella sp.*, *Diffugia sp.*, *Euplotes sp.*, *Aspidisca, sp.*, *Vorticella conavaria*, *Epistilys sp.*, *Litonotus sp.*, *Tokophrya*, *Podophyra sp.*, *Lecane*, *Gastrotiches*, *Philodina*, *Parenema sp.* y *pequeños flagelado*.
- La comunidad 5 está constituida por amebas testadas y desnudas, ciliados libres, ciliados carnívoros, ciliados reptantes, ciliados sésiles, metazoarios y flagelados. Los géneros que conforman esta comunidad son: *Arcella sp.*, *ameba desnuda grande*, *Ciclidium sp.*, *Euplotes sp.*, *Chinollodella sp.*, *Vorticella conavaria*, *Litonotus sp.*, *Tokophrya*, *Podophyra sp.*, *Parenema sp.* y *pequeños flagelado*.

La conformación de estas comunidades podría atribuirse a las variables operacionales (e.g. CO, TRC, OD, DQO_{sol}, etc.), que determinaron las condiciones ambientales, favoreciendo la presencia de ciertos grupos de microfauna y que influyeron en la estructura de la biocenosis del BRM, ya que estas condiciones ambientales determinan el tiempo requerido para el crecimiento de los microorganismo y la cantidad de alimento disponible para ellos (Salvadó y García,1993; Jenkins *et al.*, 1993; Salvadó,1994). Estas condiciones ambientales también pueden condicionar la presencia de bacterias libres, cuya presencia puede a su vez condicionar la presencia de ciertos grupos de depredadores. Las comunidades dominadas por amebas testadas, ciliados reptantes, sésiles y metazoarios, están generalmente asociadas a cargas orgánicas bajas (Eikelboom, 2000; Madoni, 1995; Vedry, 1987); mientras que las comunidades dominadas por flagelados pequeños y ciliados nadadores más bien están asociadas a CO altas (Eikelboom, 2000; Vedry, 1987).

5.4. Análisis estadístico de la información

Para revelar la relación entre las condiciones de operación y la estructura de la microfauna, se aplicó un enfoque multivariado inferencial. Primeramente se realizó, la reducción de las variables operativas.

5.4.1. Análisis de componentes principales (PCA)

Se analizaron 27 variables operativas mediante un análisis de correlación múltiple y uno de componentes principales (PCA). Con base en estos análisis se llevó a cabo una reducción de variables, eliminando aquellas que eran redundantes. De acuerdo con los resultados obtenidos en dicho análisis de correlación son doce variables las que nos explican el mayor porcentaje de la variación del proceso (Correlación > 0.60) (Tabla 4.6).

Del análisis de componentes principales, resultaron en cuatro componentes significativos que explican el 97% de la variación de la información (Tabla 4.5.). CO, DQO, μ , OUR, SOUR, DF, ForF, EstF, son aquellas variables que se encuentran formando el primero componente, el cual nos explica el 74.54%. Los Y y el IF se encuentran en el segundo que nos explica el 17% y finalmente el tercer y cuarto componente que nos explican el 3.25% y el 1.93% respectivamente del total de la variación mostrada.

Tabla 5. 6. Reducción de variables mediante PCA.

Análisis PCA	Reducción de variables
CO	CO
DQOsol	
DQOcol	
DQOpart	DQOpart
DQOefluente	DQOefluente
% Rem	
OD	
pH suspension	
pH sustrato	
SST	
SSV	SSV
SSF	
SS	
V/SST	
OUR	OUR
SOUR	SOUR
TRC	
μ	μ
Y	Y
N-NH4	
N-NO3	
P-PO4	
DF	DF
ForF	ForF
EstF	EstF
FirF	
IF	IF
Varianza acumulada:	Varianza acumulada:
94.46%	97.00%

5.4.2. Análisis de correspondencia linealizado (DCA)

Los resultados del PCA indicaron una variación acumulada del 97% con doce variables operativas, la cuales explican la variación del espacio multivariado de cinco grupos funcionales, conformados en un análisis de decorana (DCA), el cual nos permite observar la relación de cada género de microfauna presentes en la biocenosis con los diferentes variables y agruparlos (Anexos C y D). En el DCA podemos ver la formación de 5 grupos (Fig. 5.21) los cuales comparten características en común que les permiten coexistir y establecer una dinámica poblacional, determinada tanto por las condiciones bióticas y abióticas presentes en la suspensión biológica. Los cuales definitivamente nos hablan de las condiciones que pueden ocurrir en un momento dado en la operación del BRM, y en base a sus abundancias o presencia y establecer criterios que nos permitan evaluar la eficiencia operativa.

- El primer grupo que correspondería a la CO-1 (0.05 kgDQO/kgSSV·d) está conformado por 3 géneros: *Arcella arenaria*, *Aspidisca sp.* y *Vorticella microstoma*, los cuales se caracterizan por estar presentes en cargas orgánicas bajas en el reactor TRC-1 (>60d), bajas tasas de consumo de oxígeno OUR-1 (de 0 mgO₂/L·s < OUR < 9 mgO₂/L·s) lo cual se refleja en altas concentraciones de OD (OD > 4 mgOD/L) en la suspensión, bajos coeficientes de rendimiento de biomasa Y-1 (0.11kgSSV/kgDQO < Y < 0.14kgSSV/kgDQO) y bajas tasas específicas de crecimiento de los microorganismo, μ-1 (de 0.006009kgSSV/kgSSV·d < μ < 0.009009kgSSV/kgSSV·d). En lo que se refiere a las características morfológicas de los flóculos su presencia se encuentra asociada a flóculos de tamaño medio es decir DF-2 (25 < DF < 250 μm), estructura débil del borde EstF-1 (0 < EstF < 25) y presencia de organismos filamentosos común pero no en todos los flóculos (IF-2). Lo anterior puede atribuirse a sus hábitos de alimentación, a los parámetros de operación que determinan la disponibilidad de alimento, las características de los flóculos.

- El segundo grupo está constituido por 7 géneros: *Acineria uncinata*, *Arcella vulgaris*, *Mayorella sp.*, *Centropyxis aculeata*, *Chinollodella sp.*, *Diffugia sp.*, Nematodo; que su presencia se encuentra asociada a baja carga orgánica de CO-2 ($CO = 0.1 \text{ kgDQO/kgSSV}\cdot\text{d}$), elevados TRC ($30\text{d} < \text{TRC} < 60\text{d}$), baja concentración de $DQO_{\text{sol-1}}$ ($0\text{mgDQO/L} < DQO_{\text{sol}} < 15\text{mgDQO/L}$) y particulada $DQO_{\text{part-2}}$ ($5000\text{mgDQO/L} < DQO_{\text{part}} < 6000\text{mgDQO/L}$), bajas tasas de crecimiento específico, $\mu-1$ ($0.006\text{kgSSV/kgSSV}\cdot\text{d} < \mu < 0.009\text{kgSSV/kgSSV}\cdot\text{d}$) y coeficiente de rendimiento de la biomasa $Y-1$ ($0.11\text{kgSSV/kgDQO} < Y < 0.14\text{kgSSV/kgDQO}$), bajas velocidades de consumo de oxígeno OUR-1 (de $0 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{s} < \text{OUR} < 9 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{s}$). En lo que se refiere a las características de los flóculos, se encuentra asociadas a flóculos de tamaño medios DF-2 ($25 < \text{DF} < 250\mu\text{m}$), predominan estructuras irregulares EstF ($0 < \text{EstF} < 25$), con flóculos débiles y dispersos, y con organismos filamentosos comunes en todos los flóculos(IF-3).
- El tercer grupo está conformado por 3 géneros: *Euglypha sp.*, *Uronema sp.* y *Colurella*; los cuales se encuentran distribuidos en cargas orgánicas media-alta CO-3 ($CO = 0.2 \text{ kgDQO/kgSSV}\cdot\text{d}$), están asociados bajos TRC ($< 20 \text{ d}$), con altas tasas de crecimiento específico de la biomasa $\mu-3$ ($0.03\text{kgSSV/kgSSV}\cdot\text{d} < \mu < 0.07\text{kgSSV/kgSSV}\cdot\text{d}$), altos coeficientes de rendimiento de la biomasa, $Y-3$ ($0.25\text{kgSSV/kgDQO} < Y < 0.4\text{kgSSV/kgDQO}$), bajas tasas de consumo de oxígeno, OUR-2 ($9 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{s} < \text{OUR} < 20 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{s}$) y concentración media de material particulado, $DQO_{\text{p-3}}$ ($6000\text{mgDQO/L} < DQO_{\text{p-3}} < 7000\text{mgDQO/L}$), asociados a eficiencias de remoción de 96 a 98% y con flóculos de forma irregular (ForF-1) y con filamentos presentes en los flóculos frecuente pero no en todos (IF-2).
- En el cuarto grupo está conformado por 7 géneros: *Ameba desnuda*, *Holophrya sp.*, *Blephasrosphaea sp.*, *Coleps sp.*, *Gastrotiches*, *Trochillia minuta*, *Vorticella conavaria*, los cuales se encuentran asociados a cargas orgánicas altas CO-4 ($CO = 0.3\text{kgDQO/kgSSV}\cdot\text{d}$), bajos TRC ($< 20 \text{ d}$), mayor concentración de fracción soluble, $DQO_{\text{sol-3}}$ ($30\text{mgDQO/L} < DQO_{\text{sol}} < 50\text{mgDQO/L}$) y particulada $DQO_{\text{part-4}}$

(7000mgDQO/L<DQO_{part}), altas tasa específicas de crecimiento, μ -4 (0.071kgSSV/kgSSV·d< μ <0.08kgSSV/kgSSV·d) y coeficientes de rendimiento de la biomasa, Y-2 (0.15kgSSV/kgDQO<Y<0.25kgSSV/kgDQO), los flóculos predominantes fueron aquellos de forma irregular (ForF-1), porcentaje de estructuras compactas EstF-2 (25<EstF<50), con presencia de organismos filamentosos en todos los flóculos (IF-3).

- En el quinto grupo se encuentra conformado por 10 géneros: *Aelosoma*, *Ciclidium sp.*, *Euplotes, sp.*, *Lecane*, *Litonotous sp.*, *Parenema sp.*, *Pequeño flagelado 1*, *Philodina*, *Tokophrya*, *Podophrya sp.*, los cuales se encuentran asociados a altas cargas orgánicas CO-5 (CO = 0.5kgDQO/kgSSV·d), bajos TRC (<20 d), altas tasas de consumo de oxígeno OUR-3 (21mgO₂/L·s<OUR<25 mgO₂/L·s), altas tasa específicas de crecimiento μ -5 (0.081kgSSV/kgSSV·d< μ <0.09kgSSV/kgSSV·d) y altos coeficientes cinéticos de rendimiento de la biomasa Y-2 (0.15kgSSV/kgDQO<Y<0.25kgSSV/kgDQO), mayor concentración de fracción soluble DQO_{sol}-3 (30mgDQO/L<DQO_{sol}<50mgDQO/L) y particulada DQO_{part}-4 (7000mgDQO/L<DQO_{part}), altas eficiencias de remoción (>98%), flóculos con mayor firmeza de borde y mayor porcentaje de estructuras regulares y compactas EstF, que incrementó de 10 a 40% (25<EstF<50), y con un mayor número de organismo filamentosos de 5 a 20 filamentos por flóculo (IF-4)

Los resultados del DCA coinciden con los resultados obtenidos en las secciones anteriores y con lo encontrado por estudios previos en que mencionan que las condiciones operativas son un factor importante que determinaran la dinámica de las poblaciones; además de que de acuerdo a los resultados obtenidos en análisis clúster no solamente serán dichas variaciones las que determinaran la presencia o ausencia de algún específico género de microfauna en una determinada condición de carga orgánica, esto será también determinados por las relaciones tróficas que tienen lugar en la biocenosis y que juegan un papel fundamental en la dinámica de las comunidad de la suspensión biológica en los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

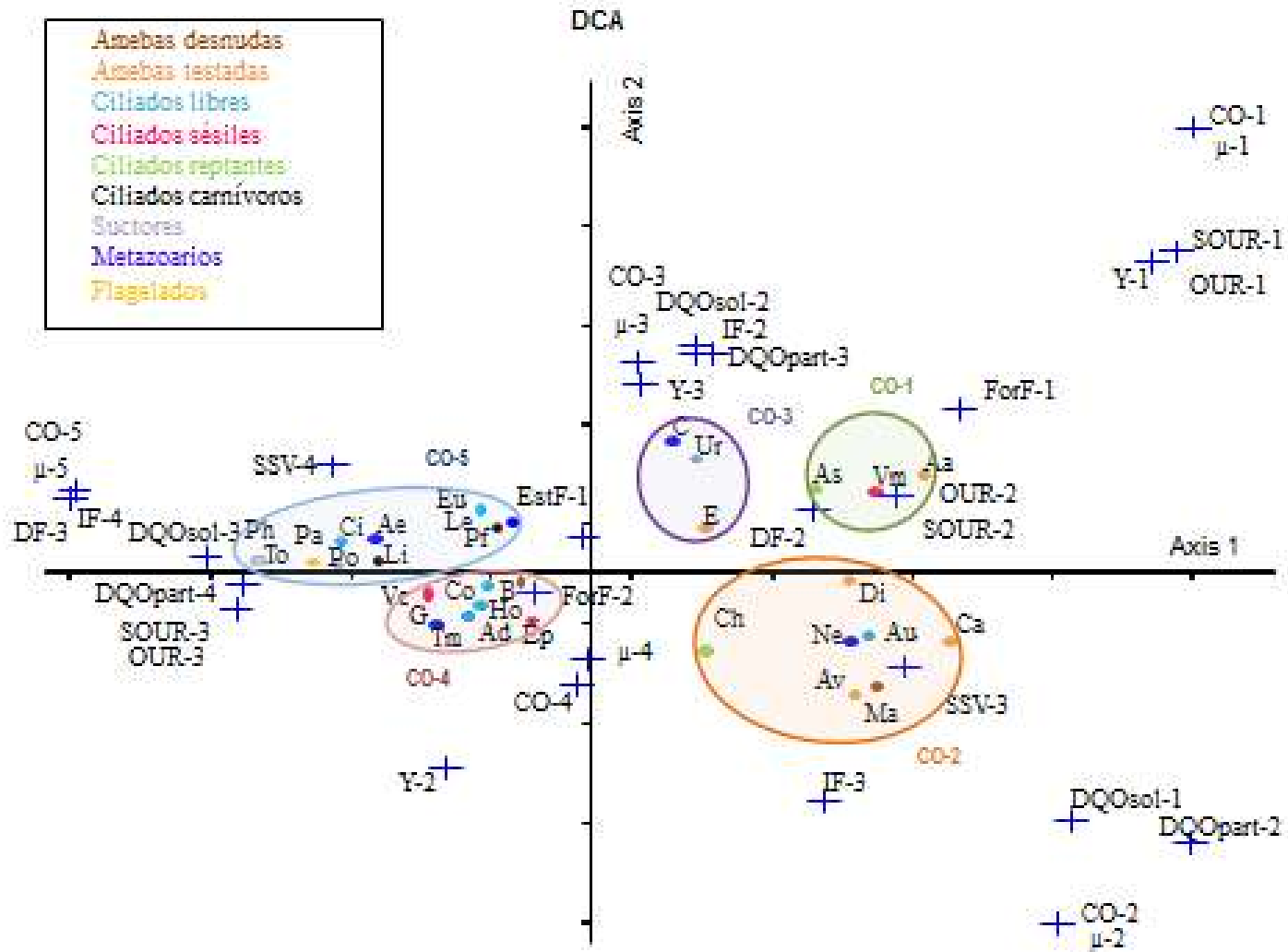


Fig.5.21. Análisis DCA de variables operativas, cinéticas y microfauna a diferentes cargas orgánica

5.4.3. Análisis de varianza

Para evaluar aquellas variables operativas que determinan las fuentes de variación, es decir, que influyen en la abundancia de los diferentes géneros de microfauna presentes en la suspensión biológica, se realizó un análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés: Analysis of variance), para estimar cuales de ellas presentan diferencias significativas. Para el análisis estadístico se empleó un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos del ANOVA, muestra que las variables operativas como: carga orgánica, DQO_{sol} , $DQO_{efluente}$, SSV, OUR, SOUR, μ , Y, DF, ForF, EstF, IF; son las que presentan diferencia estadística significativa con valores de $p \leq 0.05$ para todas, en las condiciones de carga orgánica evaluadas. Lo anterior confirma los resultados obtenidos en el PCA y el DCA, siendo estas variables las que presentan diferencia estadística en sus medias, siendo las que nos explican el mayor porcentaje de variación en los cambios en la suspensión del BRM, en cada carga orgánica. Lo anterior se puede atribuir a que para lograr cada condición de CO estabilizada fue necesario ajustar parámetros operativos (DQO, TRC, Q, SSV), los cuales influyeron cambio en actividad microbológica que se reflejó en variaciones en parámetros operativos, cinéticos y estequiométricos (e.g. OUR, SOUR, μ , Y).

✓ Regresiones lineales

Con la finalidad de determinar el grado de asociación de los diferentes grupos taxonómicos y las variables operativas, se realizaron las regresiones lineales, de las cuales se seleccionaron aquellas que presentaron un $R^2 \geq 80\%$, siendo estos los que podrían ser potencialmente empleados como bioindicadores, ya que serían aquellos que nos explicarían una proporción alta de la variación total en la variable dependiente (abundancias de los grupos taxonómicos) que se explica por la variación de la variable independiente (variables operativas).

Tabla 4.6. Regresión lineal de abundancia de microfauna con variables operativas.

x	y	Ajuste lineal	R²	Prob>F
DQOpart	Ciliados libres	Ciliados libres = -38939.98 + 6.6242908 DQOpart	0.8153	0.0354
DQOpart	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 7100.268 + 1.1924428 DQOpart	0.9563	0.0043
DQOpart	Metazoarios	Metazoarios = -830.9587 + 0.1632112 DQOpart	0.9574	0.0038
DQOpart	Flagelados	Flagelados = -101440.2 + 19.248152 DQOpart	0.8955	0.0148
DQOsol	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 2466.521 + 159.48737 DQOsol	0.8094	0.0376
DQOsol	Flagelados	Flagelados = -27287.91 + 2601.922 DQOsol	0.7767	0.0482
μ	Flagelados	Flagelados = -7520.762 + 837491.1 μ	0.9083	0.0121
OUR	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 2989.184 + 228.21341 OUR	0.9398	0.0064
OUR	Metazoarios	Metazoarios = -214.9597 + 28.379984 OUR	0.7792	0.0473
SOUR	Ciliados sésiles	Ciliados sésiles = -1250.465 + 516.15122 SOUR	0.7935	0.0426
SOUR	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 3647.014 + 1364.7957 SOUR	0.9250	0.0089
DF	Ciliados libres	Ciliados libres = -12832.05 + 134.51932 DF	0.7867	0.0448
DF	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 2479.953 + 24.73854 DF	0.9588	0.0036
DF	Metazoarios	Metazoarios = -193.4667 + 3.3523336 DF	0.9439	0.0057
DF	Flagelados	Flagelados = -25982.54 + 393.53647 DF	0.8748	0.0195
EstF	Flagelados	Flagelados = -111345.4 + 7397.4443 EstF	0.7786	0.0475
FirF	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 62666.23 + 3060.3284 FirF	0.9215	0.0096
ForF	Flagelados	Flagelados = -113246.5 + 4342.0923 ForF	0.7799	0.0471
IF	Ciliados carnívoros	Ciliados carnívoros = - 5066.264 + 2210.6038 IF	0.7976	0.0413

Las correlaciones encontradas pueden atribuirse al incremento de la fracción soluble en el sustrato, como resultado de una mayor carga orgánica; a la reducción del TRC, lo cual se reflejó en una mayor cantidad de bacterias que se liberaron de los flóculos debido a las condiciones de carencia de sustrato y al proceso de defloculación, constituyéndose en una fuente de alimento para diferentes poblaciones de ciliados (reptantes, sésiles, libres y carnívoros). Lo anterior, debido al cambio en las relaciones presa-depredador, modificó las relaciones tróficas dentro de la biocenosis del BRM.

En contraparte, el incremento en el TRC permite que crezcan microorganismos cuyo tiempo de crecimiento es menor, entre ellos las poblaciones de metazoarios y protozoarios.

Adicionalmente, la presencia de estas poblaciones de microorganismos, ocasionó cambios en el tamaño, la estructura y morfología de los flóculos.

6. CONCLUSIONES

- Las características morfológicas y estructurales de los flóculos y la abundancia de filamentosas están correlacionadas con las cargas orgánicas de operación de un biorreactor con membranas sumergidas.
- Las características morfológicas de los flóculos estuvieron determinadas por la interacción de diversos factores. Las variables operativas (CO, TRC, OD, TRH, SSV) modifican las condiciones ambientales al interior del biorreactor, por lo tanto modifican la actividad microbiológica y los procesos de floculación en la suspensión biológica del BRM.
- La presencia de bacterias filamentosas, dentro de la suspensión biológica del BRM, es importante para lograr mejorar la estructura de los flóculos, ya que constituyen el esqueleto sobre el cual se desarrollan las bacterias formadoras del flóculo y que su presencia depende de las condiciones operativas (CO, TRC, OD).
- No se encontró correlación directamente con los índices de diversidad de las poblaciones de la microfauna presente en la biomasa. Sin embargo sí se encontró correlación entre ciertos grupos taxonómicos y comunidades constituidas por grupos funcionales con las cargas orgánicas de operación de un biorreactor con membranas sumergidas.
- Las comunidades estructuradas por grupos funcionales de microorganismos, que comparten hábitos de alimentación, condiciones ambientales que les permiten coexistir y establecen asociaciones relaciones tróficas que favorecen la degradación de los contaminantes y el reciclaje de nutrientes en la suspensión.

- La abundancia relativa de las poblaciones de microfauna no se relaciona con la carga orgánica, sin embargo, estas variaciones en las poblaciones no se vincula, ni afectó la estabilización del biorreactor, en términos de la calidad del efluente. Esta estabilidad puede estar vinculada a la fase de separación por membranas que complementan al proceso degradativo.

- Es importante mantener la mayor diversidad de microfauna posible en la biocenosis, lo cual favorecerá una mayor interacción entre los diferentes niveles tróficos y la degradación de macromoléculas colmatantes de la membrana dando como resultado una mejor desempeño del BRM; tanto en términos de degradación, como de filtración.

- Se lograron identificar algunas poblaciones que están correlacionadas con algunas variables operativas y que constituyen un avance para lograr, en un futuro próximo, establecer bioindicadores confiables para evaluar la operación de un BRM.

7. REFERENCIAS

- Arévalo, J., Moreno, B., Pérez, J. y Gómez, M. a. (2009). "Applicability of the Sludge Biotic Index (SBI) for MBR activated sludge control". *J. of Haz. Mat.* 169(1-3); 784–9.
- Arregui, L., Muñoz, C., Guinea, A. y Serrano, S. (2003). "FLUTAX employment simplifies the visualization of the ciliature of oxytrichid hypotrichs". *Eur. J. Protistol.* 39; 169–172.
- Arregui, L., Serrano, S., Linares, M., Pérez-Uz, B. y Guinea, A., (2007). "Ciliate contributions to bioaggregation: laboratory assays with axenic cultures of *Tetrahymena thermophila*". *International Microbiology* 10; 91- 96.
- Arregui, L., Linares, M., Pérez-Uz, B., Guinea, A. y Serrano, S., (2008). "Involvement of crawling and attached ciliates in the aggregation of particles in wastewater treatment plants". *Air, Soil and Water Research* 1; 13-19.
- Bernard Vedry (1987). "L' analyse écologique des boues activées" C. Brucker, SEGETEC.
- Bradford D., Christensson C., Jakab N. y Blackall L. L. (1998). "Molecular biological methods to detect *Microthrix parvicella* and to determine its abundance in activated sludge". *Water Sci. Technol.* 37; 37-45.
- Nazim, C., Winnen, H., Suidan, M.T., Wrenn, B.E., Urbain, V. y Manem, J. (1998) "Effectiveness of the membrane bioreactor in the biodegradation of high molecular weight compounds". *Wat. Res.* 32; 1553-1563.
- Nazim, C., Yang, W. y Ilg, J. (2005). "State-of-the-art of membrane bioreactors: Worldwide research and commercial applications in North America." *J. Membrane Sci.* 270; 201-211.
- Curds, C. R. (1969) "An Illustrated Key to the British Freshwater Ciliated Protozoa commonly found in Activated Sludge".
- Chiemchaisri C., K. Yamamoto (1993). "Biological nitrogen removal under low temperature in a membrane separation bioreactor" *Water Sci. Technol.* 28; 325–333.
- Eikelboom, D.H. (2000). "Process Control of Activated Sludge Plants By Microscopic Investigation" *IWA Publishing*.

- Papadimitriou, C., Palaska, G., Lazaridou, M., Samaras, P. y Sakellaropoulos, G.P. (2007) "The effects of toxic substances on the activated sludge microfauna". *Desalination* 211; 177–191.
- Dubber, D. y Gray, N. F. (2009) "Enumeration of protozoan ciliates in activated sludge : Determination of replicate number using probability". *Wat. Res.* 43(14); 3443–3452. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.watres.2009.05.006
- Ebeling, J.M., M.B. Timmons y J.J. Bisogni. (2006). "Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems". *Aquaculture* 257; 346-358.
- Esteban, G., Tellez, C. y Bautista, L.M. (1990). "Effects of habitat quality on ciliated protozoa communities in sewage treatment plants". *Environ. Technol.* 12; 381-386.
- Esteban, G., Tellez, C. y Bautista, L.M. (1991). "Dynamics of ciliated protozoa communities in activated sludge process". *Wat. Res.* 25; 967-972.
- FAO. (2012). *Departamento de pesca y acuicultura*. Retrieved Consultado diciembre 2013, from Estado mundial de la pesca y la acuicultura.://www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s.pdf
- FAO. (2012). *Departamento de pesca y acuicultura*. Consultado diciembre 2013, from. Situación actual de la Acuicultura en México ://www.fao.org/docrep/field/003/ab487510/AB487510.htm
- FAO. (2012). *Departamento de pesca y acuicultura*. Consultado mayo 2014, from. Visión general del sector acuícola en México: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es
- Fernández- Galiano, D. (1996). "Los protozoos en los procesos de depuración de las aguas dulces". *Rev. Soc. Méx. Hist. Nat.* 45; 37-46.
- Field, R. (2010). "Fundamentals of Fouling". *Membranes for Water Treatment* (P. Klaus-Viktor & S. N. Pereira, eds.), Vol. 4, 1–23. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.
- Frolund, B., Palmgren, R., Keiding, K. y Nielsen, P.H. (1996). "Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin". *Water Res.* 30; 1749-1758.

- Garrido, A., Canals, M., Ramírez, J. y Castanedo, C. (1988). "Seguimiento práctico por microscopía de la formación de flocúlos de fango activo en la puesta en marcha de una depuradora de aguas residuales". *Tecnología del Agua* 48, 35-44.
- Gander, M., Jefferson B. y Judd S. (2000). "Aerobic MBRs for domestic wastewater treatment: a review with cost considerations". *Sep. Purif. Technol.* 18;119-130.
- Gehlert, G., Wienands, H. y García, J.L. (2007). "Reutilización de agua en procesos industriales", Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial de Barcelona, 79-82.
- Govoreanu, R. (2004). "Activated sludge flocculation dynamics: On-Line measurement methodology and modelling. Tesis de conctorado de la Universidad de Gent.
- Gotelli, N.J. y R. K.Colwell (2001). "Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness". *Ecol. Lett.*, 4; 379-391.
- Hejzlar J. y Chudoba, J. (1986). "Microbial polymers in the aquatic environment. II. Isolation from biologically nonpurified and purified municipal wastewater and analysis". *Water Res.* 20; 1217–122v1.
- Hoinkis, J., Deowan, S.A., Panten, V., Figoli, A., Huang, R.R. y Drioli, E. (2012). "Membrane Bioreactor (MBR) Technology – a Promising Approach for Industrial Water Reuse". *Procedia Engineering* 33; 234-241.
- Hwang, B., Lee, C., Chang, I., Drews, A. y Field, R. (2012). "Membrane bioreactor: TMP rise and characterization of bio-cake structure using CLSM-image analysis". *Journal of Membrane Science*, 419-420, 33–41.
- Jenkins D., Richard M. G. y Daigger G. T. (1993). "Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming." 2a ed. *Lewis Publishers*, Nueva York, Pp.193.
- Jegatheesan, V., Shu, L. y Visvanathan, C. (2009). "Application of membrane bioreactors for water reuse, in new horizons in biotechnology". *Asiatech Press*, New Delhi, India, pp.272-285.
- Johir, M.A., George, H., Vigneswaran, J., Kandasamy, S., Sathasivan, A.J. y Grasmick, A. (2012). "Effect of imposed flux on fouling behavior in high rate membrane bioreactor". *Bioresource Technology*, 122; 42–9.

- Khursheed, A. y Kazmi, A.A. (2011). "Retrospective of ecological approaches to excess sludge reduction". *Water Res.* 45(15); 4287–310.
- Laspidou, C.S. y Rittman, B.E. (2002). "A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass". *Wat. Res.* 36, 2711-2720.
- Liu, J., Yang, M., Qi, R., An, W. y Zhou, J. (2008). "Comparative study of protozoan communities in full-scale MWTPs in Beijing related to treatment processes". *Wat. Res.* 42; 1907-1918.
- Lee, J.J., Leedale, G.F. y Bradbury, P. (2000). "The Illustrated Guide to the Protozoa. Society of Protozoologists", Second ed. *Allen Press. Inc.*
- Madoni, P. (1994). "A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis". *Wat. Res.* 28; 67–75.
- Magurran, A.E. (1998). "Ecological Diversity and Its Measurement". *Princeton University Press.* Princeton, New Jersey. 172 pp.
- Martín, J., Camacho-Muñoz, M.D., Santos, J.L., Aparicio, I. y Alonso, E. (2012). "Distribution and temporal evolution of pharmaceutically active compounds alongside sewage sludge treatment. Risk assessment of Sludge application onto soils". *Journal of Environmental Management* 102; 18-25.
- Martínez PJA y Gutiérrez ME. (1985). "Introducción a la protozoología". *Editorial Trillas.* México. Pp.186.
- Metcalf, L. y Eddy, H.P. (1996) "Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización". México: McGraw-Hill.
- Moreno, C. E. (2001). "Métodos para medir la biodiversidad". (MIT–Manuales y Tesis SEA, Ed.) *M&T–Manuales y Tesis SEA 1 Vol.*, 84 pp. Zaragoza España.
- Negra Jiménez, Isaías (2015). "Asimilación de nutrientes y materia orgánica para la reducción de biomasa, en un Biorreactor con membranas sumergidas acoplado a un sistema acuícola con recirculación". Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental, UMSNH. Morelia, México.
- Orantes, J. (2005). "*Cinétiques réactionnelles et performances de filtration en bioreacteur à membranes immergées, sous rétention totale de biomasse*". Tesis de Doctorado en Ingeniería de procesos. Université Montpellier II. Montpellier, France.

- Orantes, J., Wisniewski, C., Heran, M. y Grasmick, A. (2006). "The influence of operating conditions on permeability changes in a submerged membrane bioreactor". *Sep. Purif. Technol.* 52; 60–66.
- Ognier, S., Wisniewski, C. y Grasmick, A. (2004). "Membrane bioreactor fouling in sub-critical filtration conditions: a local critical flux concept". *J. Memb. Sci.* 229(1-2); 171–177.
- Pabello Víctor Manuel (2006). "Atlas de ciliados y microorganismos frecuentes en tratamiento aerobio de aguas residuales". Universidad Autónoma de México., pp.21-25,73-75.
- Pacheco S.V.F., Pavón S.T.B. y Jáuregui R. B. (2000). "Proyecto sobre microorganismos filamentosos". Convenio General de Colaboración Reciclagua–Facultad de Química, UAEM, Toluca, pp. 1-47.
- Pérez-Uz, B., Franco, C., Martí'n-Cereceda, M., Arregui, L., Campos, I., Serrano, S., Guinea, A., Fernández-Galiano, D. (1998). "Biofilm characterization of several wastewater treatment plants with rotating biological contactors in Madrid, Spain". *Wat. Sci. and Technol.* 37; 215-218.
- Pérez-Uz, B., Arregui, L., Salvado, H., Zornoza, A., Rodríguez, E., Fernández, N., Calvo, P. y Serrano, S. (2007). "Estructura de las comunidades de ciliados en la zona de nitrificación en depuradoras con sistemas avanzados de eliminación de nitrógeno". In: XXI Congreso Nacional de Microbiología. Sevilla, 17-20 Septiembre 2007.
- Pulefou, T., Jegatheesan, V., Steicke, C., y Kim, S.-H. (2008). "Application of submerged membrane bioreactor for aquaculture effluent reuse". *Desalination*, 221(1-3), 534–542.
- Parody D.F. (1997). "Microorganismos filamentosos. Microorganismos filamentosos en el fango activado". EMASESA. Ayuntamiento de Sevilla, pp. 23-95.
- Pauli, W., Jax, K. y Berger, S. (2001). "Protozoa in Wastewater Treatment: Function and Importance". *The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 2 Part K*, Vol. 2, 203–252.
- Pelmont, J. (1993). "Bactéries et environnement, adaptations physiologiques." Grenoble, Presses universitaires de Grenoble.
- Puytorac P de Grain J, y Mignot JP. (1987). Précis de Protistologie. Societé Nouvelle des Editions Boubée. París, Francia.

- Radjenovic, J., Matosic, M., Mijatovic, I. & Petrovic, M. (2008) Membrane bioreactor (MBR) as an advanced wastewater treatment technology. *Hdb Env Chem* (November 2007), 37–101.
- Ramalho R. S. (1996). “Tratamiento de aguas residuales”. Reverté, México, 705 p.
- Richard R. Kudo (1980) Protozoología. México: Campania Editorial Continental.
- Rosenberger S., U. Krüger, R. Witzig, W. Manz, U. Szewzyk y M. Kraume (2002). “Performance of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal waste water” *Wat. Res.* 36; 413-420.
- Rueda Rocha, Aniceto. (2014). Estudio de las características morfológicas de los flóculos y de las poblaciones de microfauna, durante la adaptación de la biomasa, en un biorreactor con membranas sumergidas. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental, UMSNH. Morelia, México.
- Salvadó, H., Gracia, M.P., Amigo, J.M., (1995). “Capability of ciliated Protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants”. *Wat. Res.* 29; 1041-1050.
- Salvadó, H. (2001). “La microscopía como técnica para optimizar el control del tratamiento biológico de las aguas residuales mediante fangos activos”. *Ciencia y tecnología*. Vol. 2. Tibidabo Edicions. Barcelona.
- Schneider, O., Sereti, V., Machiels, M.A.M., Eding, E.H. y Verreth, J.A.J. (2006). “The potential of producing heterotrophic bacteria biomass on aquaculture waste”. *Wat. Res.*, 40(14); 2684–2694. doi:10.1016/j.watres.2006.05.008.
- Shafir, M., Avisar, D. (2012). “Development method for extracting and analyzing antibiotic and hormone residues from treated wastewater sludge and composted biosolids”. *Water, air and soil pollution*. 223(5); 2571-2587.
- Shnel, N., Barak, Y., Ezer, T., Dafni, Z., y van Rijn, J., (2002). “Design and performance of a zero-discharge tilapia recirculating system”. *Aquacultural Engineering*. 26; 192-203.
- Stephenson, T., Jefferson, S., y Brindle, K. (2000). “Membrane bioreactor for wastewater treatment”. IWA Publishing. UK.
- Timmons, M., Ebeling, J., Wheatson, F., Felt, S. S., y Vinci, B. (2002). “Recirculating Aquaculture Systems” (Vol. 2a Edition). Cayuga Aqua Ventures. USA.
- Van Rijn, J. (2013). “Waste treatment in recirculating aquaculture systems”. *Aquacultural Engineering*, 53; 49–56.

- Jegatheesan L.S., V. (2009). "Application of Membrane Bioreactors for Water Reuse". *New Horizons in Biotechnology*. Asiatech, New Delhi, India, pp. 272-285.
- Villalón, A. (2012) Análisis cinético y de la actividad bacteriana por microscopía de fluorescencia, en un BRM bajo retención total de sólidos. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental. UMSNH. Morelia, México.
- Visvanathan, C., Aim, B. R., Parameshwaran, K. y Aim, R. Ben. (2010). "Membrane Separation Bioreactors for Wastewater Treatment". *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 30(30); 1–48. doi:10.1080/1064338009118.
- Vizcaya Lozano F. J., F. Estrany Cod, R. Oliver Pujol (2006). "El reactor biológico de membrana en el tratamiento de aguas residuales." Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial de Barcelona.
- Wang, L. K. y Menon, R. (2009). "Membrane Bioreactors". *Handbook of Environmental Engineering, Volume 9: Advanced Biological Treatment Processes*, Vol. 9; 129–156
- Wang, Z., Wang, P., Wang, Q., Wu, Z., Zhou, Q. & Yang, D. (2010). "Effective control of membrane fouling by filamentous bacteria in a submerged membrane bioreactor". *Chem. Eng. J.* 158(3); 608–615.
- Water Environment Federation (2006). "Membrane Systems for Waste Water Treatment." *Ed. McGraw Hill; USA*. pp. 55-75
- Wei, C., Huang, X., Ben, R., Yamamoto, K. y Amy, G. (2010). "Critical flux and chemical cleaning-in-place during the long- term operation of a pilot-scale submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment". *Wat. Res.* 45(2); 863–871.
- Wilén B. M., Jin B. y Lant P., (2003). "The influence of key chemical constituents in activated sludge on surfaces an flocculating properties" *Wat. Res.* 37; 2127-2139.
- Yiannakopoulou, T. V. (2010). "An ecosystem analysis of the activated sludge microbial community". *J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 45(5); 587–602.
- Zhou, K., Xu, M., Dai, J. y Cao, H. (2006). "The microfauna communities and operational monitoring of an activated sludge plant in China". *Eur. J. Protistol.* 42(4); 291–5. doi:10.1016/j.ejop.2006.07.005

- Zhou, K., Xu, M., Liu, B. y Cao, H. (2008). "Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China". *J. Environ. Sci.* 20(September 1996); 482–486.
- Zuriaga Agustí, Elena. (2010). "Estudio de la relación entre las características químicas del licor de mezcla en biorreactores de membrana y su correlación con las resistencias a la filtración". Tesis de Maestría. Universidad politécnica de Valencia.

ANEXOS

Anexo A. Tablas de matrices de análisis de componentes principales (PCA).

Tabla A.1. Matriz de correlaciones entre variables operativas, del PCA.

	Carga	DQO s	DQO c	DQO p	DQO e	% rem	OD	pH sus	pH sus	SST	SSV	SSF	SSV/S	OUR	SOUR	TRC	μ	Y	N-NH4	N-NO3	P-PO4	Diámet	Forma	Estruc	Firmez	IF
Carga orgánica	1	0.714	-0.23	0.943	0.902	0.598	-0.93	-0.27	-0.69	0.97	0.743	0.846	-0.01	0.929	0.915	-0.71	0.953	0.279	0.755	-0.16	0.025	0.949	0.837	0.845	0.71	0.695
DQO soluble	0.714	1	0.386	0.826	0.766	0.12	-0.74	0.415	-0.51	0.756	0.561	0.535	0.389	0.814	0.786	-0.21	0.64	-0.07	0.72	0.022	-0.47	0.83	0.689	0.587	0.494	0.6
DQO coloidal	-0.23	0.386	1	0.055	-0.25	-0.33	0.221	0.74	0.162	-0.13	-0.3	-0.16	0.505	-0.08	-0.09	0.392	-0.3	-0.35	0.143	-0.17	-0.78	-0.05	-0.19	-0.33	-0.19	0.094
DQO particulada	0.943	0.826	0.055	1	0.82	0.512	-0.88	-0.05	-0.62	0.921	0.6	0.851	0.219	0.919	0.896	-0.57	0.841	0.087	0.813	-0.25	-0.24	0.969	0.747	0.717	0.662	0.778
DQO efluente	0.902	0.766	-0.25	0.82	1	0.305	-0.92	-0.1	-0.7	0.878	0.792	0.671	0.05	0.903	0.887	-0.55	0.871	0.183	0.651	0.164	0.067	0.895	0.856	0.831	0.708	0.62
% remoción	0.598	0.12	-0.33	0.512	0.305	1	-0.47	-0.6	-0.31	0.573	0.375	0.598	-0.44	0.453	0.465	-0.86	0.625	0.491	0.355	-0.36	0.177	0.415	0.351	0.454	0.469	0.404
OD	-0.93	-0.74	0.221	-0.88	-0.92	-0.47	1	0.204	0.597	-0.91	-0.72	-0.72	-0	-0.96	-0.96	0.594	-0.86	-0.07	-0.7	-0.05	0.022	-0.91	-0.77	-0.78	-0.76	-0.73
pH suspensión	-0.27	0.415	0.74	-0.05	-0.1	-0.6	0.204	1	0.085	-0.17	-0.18	-0.25	0.547	-0.09	-0.12	0.67	-0.34	-0.46	-0.02	0.192	-0.72	-0.06	-0.15	-0.34	-0.29	-0.03
pH sustrato	-0.69	-0.51	0.162	-0.62	-0.7	-0.31	0.597	0.085	1	-0.69	-0.81	-0.55	0.095	-0.56	-0.53	0.534	-0.72	-0.43	-0.39	0.103	-0.12	-0.65	-0.83	-0.69	-0.61	-0.3
SST	0.97	0.756	-0.13	0.921	0.878	0.573	-0.91	-0.17	-0.69	1	0.757	0.863	-0.1	0.936	0.929	-0.68	0.941	0.302	0.675	-0.13	-0.07	0.897	0.817	0.834	0.631	0.668
SSV	0.743	0.561	-0.3	0.6	0.792	0.375	-0.72	-0.18	-0.81	0.757	1	0.516	-0.31	0.665	0.646	-0.57	0.856	0.533	0.332	0.093	0.301	0.64	0.847	0.828	0.458	0.231
SSF	0.846	0.535	-0.16	0.851	0.671	0.598	-0.72	-0.25	-0.55	0.863	0.516	1	-0.09	0.803	0.799	-0.65	0.782	0.219	0.478	-0.35	-0.08	0.773	0.617	0.708	0.451	0.626
SSV/SST	-0.01	0.389	0.505	0.219	0.05	-0.44	-0	0.547	0.095	-0.1	-0.31	-0.09	1	0.059	0.016	0.467	-0.21	-0.63	0.464	-0.13	-0.52	0.295	-0.02	-0.21	0.122	0.282
OUR	0.929	0.814	-0.08	0.919	0.903	0.453	-0.96	-0.09	-0.56	0.936	0.665	0.803	0.059	1	0.997	-0.57	0.844	0.045	0.691	-0.06	-0.19	0.919	0.749	0.766	0.676	0.776
SOUR	0.915	0.786	-0.09	0.896	0.887	0.465	-0.96	-0.12	-0.53	0.929	0.646	0.799	0.016	0.997	1	-0.59	0.833	0.05	0.667	-0.07	-0.18	0.893	0.732	0.766	0.67	0.765
TRC	-0.71	-0.21	0.392	-0.57	-0.55	-0.86	0.594	0.67	0.534	-0.68	-0.57	-0.65	0.467	-0.57	-0.59	1	-0.77	-0.6	-0.4	0.215	-0.32	-0.52	-0.56	-0.65	-0.63	-0.47
μ	0.953	0.64	-0.3	0.841	0.871	0.625	-0.86	-0.34	-0.72	0.941	0.856	0.782	-0.21	0.844	0.833	-0.77	1	0.535	0.645	-0.13	0.171	0.843	0.89	0.922	0.601	0.494
Y	0.279	-0.07	-0.35	0.087	0.183	0.491	-0.07	-0.46	-0.43	0.302	0.533	0.219	-0.63	0.045	0.05	-0.6	0.535	1	0.042	-0.19	0.479	0.052	0.475	0.546	-0	-0.31
N-NH4	0.755	0.72	0.143	0.813	0.651	0.355	-0.7	-0.02	-0.39	0.675	0.332	0.478	0.464	0.691	0.667	-0.4	0.645	0.042	1	-0.24	-0.28	0.843	0.629	0.518	0.661	0.668
N-NO3	-0.16	0.022	-0.17	-0.25	0.164	-0.36	-0.05	0.192	0.103	-0.13	0.093	-0.35	-0.13	-0.06	-0.07	0.215	-0.13	-0.19	-0.24	1	0.233	-0.14	-0.08	-0.11	0.085	-0.09
P-PO4	0.025	-0.47	-0.78	-0.24	0.067	0.177	0.022	-0.72	-0.12	-0.07	0.301	-0.08	-0.52	-0.19	-0.18	-0.32	0.171	0.479	-0.28	0.233	1	-0.15	0.086	0.248	0.026	-0.36
Diámetro de floc	0.949	0.83	-0.05	0.969	0.895	0.415	-0.91	-0.06	-0.65	0.897	0.64	0.773	0.295	0.919	0.893	-0.52	0.843	0.052	0.843	-0.14	-0.15	1	0.807	0.746	0.733	0.755
Forma de flocul	0.837	0.689	-0.19	0.747	0.856	0.351	-0.77	-0.15	-0.83	0.817	0.847	0.617	-0.02	0.749	0.732	-0.56	0.89	0.475	0.629	-0.08	0.086	0.807	1	0.925	0.621	0.316
Estructura de floc	0.845	0.587	-0.33	0.717	0.831	0.454	-0.78	-0.34	-0.69	0.834	0.828	0.708	-0.21	0.766	0.766	-0.65	0.922	0.546	0.518	-0.11	0.248	0.746	0.925	1	0.49	0.262
Firmeza de flocu	0.71	0.494	-0.19	0.662	0.708	0.469	-0.76	-0.29	-0.61	0.631	0.458	0.451	0.122	0.676	0.67	-0.63	0.601	-0	0.661	0.085	0.026	0.733	0.621	0.49	1	0.706
IF	0.695	0.6	0.094	0.778	0.62	0.404	-0.73	-0.03	-0.3	0.668	0.231	0.626	0.282	0.776	0.765	-0.47	0.494	-0.31	0.668	-0.09	-0.36	0.755	0.316	0.262	0.706	1

Principal Components: on Correlations																											
Eigenvalue	14.62	4.653	1.936	1.591	0.961	0.72	0.522	0.265	0.211	0.205	0.159	0.1	0.04	0.021	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Percent	56.21	17.9	7.447	6.12	3.697	2.769	2.007	1.02	0.81	0.789	0.611	0.386	0.154	0.082	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cum Percent	56.21	74.11	81.55	87.67	91.37	94.14	96.15	97.17	97.98	98.77	99.38	99.76	99.92	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Eigenv																										
Carga orgánica	0.259	-0	-0.04	-0.02	0.023	0.09	0.027	0.139	-0.06	-0.07	-0.03	-0.17	-0	0.099	0.267	-0.19	0.225	0.085	-0.11	-0.15	0.496	-0.49	0.353	0.15	-0.01	-0.16	
DQO soluble	0.196	0.261	0.176	0.112	-0.09	-0.06	0.18	0.026	0.123	-0.07	0.192	0.131	0.276	-0.02	0.101	-0.08	0.245	-0.03	-0.08	-0.51	0.131	0.052	-0.45	-0.2	0.055	0.214	
DQO coloidal	-0.05	0.352	-0.04	0.346	-0.13	-0.34	0.12	-0.04	0.604	0.114	0.145	-0.21	-0.06	0.037	-0.1	-0.01	-0.06	-0.09	0.09	0.255	0.169	-0.03	0.166	0.019	-0.05	0.009	
DQO particulada	0.245	0.125	-0.1	0.053	0.007	0.068	-0.01	0.228	0.054	-0.02	0.146	-0.16	-0.2	-0.4	0.086	0.164	0.177	0.361	0.449	-0.11	-0.34	-0.03	0.08	0.004	0.257	-0.08	
DQO efluente	0.241	0.028	0.209	-0.14	0.012	0.064	0.012	0.041	0.004	0.103	-0.24	0.299	0.227	-0.12	-0.1	-0.21	-0.02	-0.18	0.484	0.217	0.21	0.085	0.211	-0.42	0.036	-0.04	
% remoción	0.152	-0.2	-0.4	0.061	-0.13	-0.26	0.132	0.165	-0.31	-0.27	0.522	0.163	0.133	-0.01	0.035	0.085	-0.13	-0.05	0.098	0.233	0.15	0.028	0.042	-0.06	-0.09	0.188	
OD	-0.25	-0.04	-0.04	0.19	0.086	-0.06	-0.05	0.23	9E-04	0.23	-0.03	0.181	0.036	0.448	0.338	0.337	0.18	0.291	0.015	0.004	0.103	0.245	0.112	-0.3	0.086	-0.15	
pH suspensión	-0.06	0.368	0.284	0.2	-0.2	-0.11	-0.08	0.239	-0.28	-0.1	-0.01	0.25	0.295	0.016	-0.14	-0.11	0.04	0.055	-0.23	0.14	-0.26	-0.04	0.275	0.261	0.25	-0.04	
pH sustrato	-0.19	0.062	-0.22	-0.18	-0.18	0.276	0.627	-0.06	0.065	0.013	0.079	0.214	-0.21	0.288	-0.07	-0.25	0.008	-0.03	0.095	-0.07	-0.12	-0.02	0.086	0.047	0.286	-0.06	
SST	0.254	0.01	-0	0.059	-0.17	0.05	0.006	0.086	-0.05	-0	-0.09	-0.34	0.29	0.491	0.044	0.073	-0.38	-0.11	0.225	-0.17	-0.36	-0.19	-0.02	-0.09	-0.15	-0.07	
SSV	0.204	-0.13	0.324	0.11	-0.07	-0.06	-0.11	0.032	0.177	-0.52	0.036	0.159	-0.43	0.154	0.192	-0.26	-0.23	0.126	-0.07	0.053	-0.04	0.16	-0.07	-0.11	0.012	-0.2	
SSF	0.216	-0.01	-0.19	0.105	-0.21	0.31	-0.29	0.311	-0.02	0.457	0.154	-0.1	-0.12	0.044	-0.13	-0.41	-0.06	0.08	-0.21	0.111	0.048	0.204	-0.15	-0.07	0.016	0.068	
SSV/SST	-0.01	0.383	-0.01	-0.05	0.524	0.15	-0	0.223	0.033	0.062	0.159	0.356	-0.1	0.083	0.024	-0.04	-0.18	0.054	0.119	0.03	-0.06	-0.18	-0.11	0.171	-0.45	0.014	
OUR	0.246	0.093	-0.01	-0.09	-0.19	0.131	0.031	-0.21	0.048	-0.04	-0.04	0.143	0.015	0.037	-0.42	0.298	-0.21	0.469	-0.1	-0.24	0.22	0.21	0.266	0.058	-0.2	0.05	
SOUR	0.243	0.08	-0.03	-0.1	-0.22	0.14	0.046	-0.31	0.06	0.004	-0.05	0.11	0.121	0.088	0.121	0.127	0.295	0.265	-0.1	0.554	-0.13	-0.25	-0.33	-0.03	-0.12	-0.1	
TRC	-0.19	0.231	0.236	-0	0.052	0.315	-0.02	-0.04	-0.24	-0.25	0.115	-0.4	0.03	0.186	-0.03	0.007	0.034	0.091	0.314	0.217	0.329	0.254	-0.17	0.177	0.103	0.16	
μ	0.25	-0.1	0.052	0.098	-0.01	0.033	0.144	0.125	-0.01	-0.06	-0.08	-0.04	-0.15	0.153	-0.1	0.052	0.56	-0.31	0.029	0.004	-0.19	0.351	0.18	0.201	-0.4	0.063	
Y	0.078	-0.34	0.084	0.41	0.051	-0.19	0.284	0.152	-0.11	0.16	-0.32	0.098	-0.03	0.006	-0.23	-0.03	-0.07	0.2	0.204	0.029	0.167	-0.11	-0.35	0.318	0.056	-0.05	
N-NH4	0.193	0.174	-0.13	0.011	0.393	-0.1	0.442	0.05	-0.14	-0.07	-0.24	-0.31	0.095	-0.13	0.086	-0.13	-0.13	0.174	-0.35	0.162	-0.08	0.253	0.05	-0.24	0.012	0.001	
N-NO3	-0.03	-0.01	0.46	-0.48	-0.26	-0.27	0.258	0.291	-0.1	0.3	0.144	-0.14	-0.19	-0.07	0.099	0.131	-0.09	0.055	-0.06	0.064	0.042	-0.03	-0.05	0.006	-0.17	0.006	
P-PO4	1E-04	-0.39	0.147	-0.22	0.252	0.141	0.023	0.311	0.492	-0.14	0.143	-0.04	0.353	0.093	-0.18	0.011	0.058	0.142	-0.11	0.127	-0.08	-0.05	0.059	0.087	0.165	0.216	
Diámetro de floc	0.247	0.123	-0.01	-0.04	0.148	0.094	-0	0.172	-0.03	-0.04	0.089	-0	-0.15	0.072	-0.33	0.44	-0.02	-0.39	-0.18	0.061	0.152	-0.05	-0.18	-0.08	0.333	-0.4	
Forma de floculo	0.229	-0.04	0.235	0.164	0.211	-0.02	-0	-0.25	-0.15	0.193	0.092	0.03	-0.32	0.201	-0.03	0.096	-0	-0.03	-0.05	0.056	-0.09	-0.24	0.17	-0.15	0.244	0.592	
Estructura de floc	0.227	-0.12	0.166	0.141	0.057	0.232	0.141	-0.24	0.078	0.262	0.22	0.1	0.195	-0.16	0.445	0.117	-0.25	-0.17	-0.03	0.026	0.016	0.265	0.106	0.37	0.109	-0.14	
Firmeza de flocu	0.195	0.028	-0.07	-0.32	0.256	-0.47	-0.18	-0.28	-0.06	0.158	0.195	-0.03	0.068	0.287	-0.12	-0.27	0.14	0.125	0.134	-0.07	-0.04	0.175	-0.04	0.206	0.18	-0.22	
IF	0.179	0.193	-0.28	-0.28	-0.12	-0.14	-0.14	0.189	0.15	-0.08	-0.44	0.129	-0.08	0.083	0.276	0.136	-0.12	-0.11	0.025	0.041	0.096	0.134	-0.1	0.301	0.218	0.37	

Tabla A.2. Matriz de covarianza entre variables operativas, del PCA.

	Carga	DQO s	DQO c	DQO part	DQO e	% rem	OD	pH sus	pH sus	SST	SSV	SSF	SSV/S	OUR	SOUR	TRC	μ	Y	N-NH4	N-NO3	P-PO4	Diámet	Forma	Estruc	Firmez	IF
Carga orgánica	0.02	1.081	-0.24	193.309	1.32	0.098	-0.1	-0.01	-0.11	95.81292	29.79544	52.8706	-0	0.999	0.166	-6.5812	0.004	0.003	0.009	-0.03	0.01	9.325	0.711	0.423	0.075	0.072
DQO soluble	1.081	116.8	30.37	13062	86.41	1.521	-5.84	1.267	-6.5	5761.006	1736.464	2579.94	0.216	67.48	10.97	-150.04	0.232	-0.05	0.66	0.286	-14.4	629.2	45.16	22.62	4.026	4.819
DQO coloidal	-0.24	30.37	52.99	583.825	-19.1	-2.82	1.17	1.52	1.383	-667.038	-630.896	-508.841	0.189	-4.28	-0.87	189.257	-0.07	-0.18	0.088	-1.51	-16.2	-24	-8.37	-8.69	-1.04	0.507
DQO particulada	193.3	13062	583.8	2142329	12528	879.8	-935	-21.2	-1057	950680.3	251577.9	555333	16.5	10323	1695	-55555	41.27	8.9	101	-434	-1006	99514	6630	3744	730.5	845.8
DQO efluente	1.32	86.41	-19.1	12528.2	109	3.743	-7.01	-0.3	-8.58	6461.543	2367.36	3122.28	0.027	72.35	11.96	-382.8	0.305	0.134	0.577	2.045	1.977	655.6	54.2	30.95	5.575	4.812
% remoción	0.098	1.521	-2.82	879.805	3.743	1.378	-0.4	-0.2	-0.43	473.929	125.8539	312.756	-0.03	4.079	0.705	-66.67	0.025	0.04	0.035	-0.5	0.592	34.19	2.499	1.903	0.415	0.352
OD	-0.1	-5.84	1.17	-935.15	-7.01	-0.4	0.529	0.042	0.51	-466.919	-149.621	-232.264	-0	-5.38	-0.9	28.6752	-0.02	-0	-0.04	-0.04	0.046	-46.3	-3.4	-2.01	-0.42	-0.4
pH suspensión	-0.01	1.267	1.52	-21.196	-0.3	-0.2	0.042	0.08	0.028	-33.8138	-14.2965	-32.0901	0.008	-0.19	-0.05	12.5514	-0	-0.01	-0	0.065	-0.58	-1.14	-0.25	-0.34	-0.06	-0.01
pH sustrato	-0.11	-6.5	1.383	-1057.3	-8.58	-0.43	0.51	0.028	1.379	-570.945	-270.708	-287.786	0.006	-5.01	-0.8	41.6002	-0.03	-0.04	-0.04	0.145	-0.41	-53.2	-5.93	-2.89	-0.54	-0.26
SST	95.81	5761	-667	950680	6462	473.9	-467	-33.8	-571	497226.8	152871.5	271230	-3.72	5063	846.4	-31711	22.26	14.93	40.4	-111	-135	44395	3492	2099	335.9	349.8
SSV	29.8	1736	-631	251578	2367	125.9	-150	-14.3	-271	152871.5	81985.03	65944.4	-4.61	1460	238.9	-10757	8.223	10.71	8.074	31.99	245.2	12846	1470	846	98.95	49.1
SSF	52.87	2580	-509	555333	3122	312.8	-232	-32.1	-288	271229.8	65944.42	198886	-2.02	2746	460.2	-19360	11.7	6.867	18.08	-184	-108	24172	1668	1126	151.8	207.5
SSV/SST	-0	0.216	0.189	16.5001	0.027	-0.03	-0	0.008	0.006	-3.72063	-4.61002	-2.01814	0.003	0.023	0.001	1.5929	-0	-0	0.002	-0.01	-0.08	1.063	-0	-0.04	0.005	0.011
OUR	0.999	67.48	-4.28	10323.1	72.35	4.079	-5.38	-0.19	-5.01	5063.48	1460.322	2746.42	0.023	58.88	9.882	-292.38	0.217	0.024	0.45	-0.58	-4.07	494.9	34.84	20.97	3.916	4.424
SOUR	0.166	10.97	-0.87	1694.55	11.96	0.705	-0.9	-0.05	-0.8	846.3567	238.8843	460.202	0.001	9.882	1.669	-50.315	0.036	0.005	0.073	-0.1	-0.65	80.89	5.731	3.531	0.653	0.735
TRC	-6.58	-150	189.3	-55555	-383	-66.7	28.68	12.55	41.6	-31710.9	-10757.1	-19360.4	1.593	-292	-50.3	4408.41	-1.71	-2.78	-2.24	17.05	-61.3	-2435	-227	-153	-31.5	-23.2
μ	0.004	0.232	-0.07	41.2681	0.305	0.025	-0.02	-0	-0.03	22.26271	8.22262	11.6969	-0	0.217	0.036	-1.7123	0.001	0.001	0.002	-0.01	0.016	1.983	0.181	0.11	0.015	0.012
Y	0.003	-0.05	-0.18	8.90014	0.134	0.04	-0	-0.01	-0.04	14.93239	10.70994	6.86729	-0	0.024	0.005	-2.7847	0.001	0.005	3E-04	-0.02	0.096	0.257	0.202	0.137	-0	-0.02
N-NH4	0.009	0.66	0.088	100.978	0.577	0.035	-0.04	-0	-0.04	40.40486	8.0735	18.0781	0.002	0.45	0.073	-2.2386	0.002	3E-04	0.007	-0.02	-0.07	5.02	0.323	0.157	0.042	0.042
N-NO3	-0.03	0.286	-1.51	-433.72	2.045	-0.5	-0.04	0.065	0.145	-111.139	31.99096	-184.344	-0.01	-0.58	-0.1	17.0538	-0.01	-0.02	-0.02	1.432	0.791	-11.5	-0.55	-0.46	0.077	-0.08
P-PO4	0.01	-14.4	-16.2	-1006.4	1.977	0.592	0.046	-0.58	-0.41	-135.108	245.23	-107.711	-0.08	-4.07	-0.65	-61.261	0.016	0.096	-0.07	0.791	8.095	-30.7	1.491	2.521	0.056	-0.75
Diámetro de flócu	9.325	629.2	-24	99514	655.6	34.19	-46.3	-1.14	-53.2	44395.06	12846.18	24172.3	1.063	494.9	80.89	-2434.9	1.983	0.257	5.02	-11.5	-30.7	4922	343.2	186.7	38.81	39.35
Forma de flóculo	0.711	45.16	-8.37	6629.95	54.2	2.499	-3.4	-0.25	-5.93	3492.456	1469.851	1667.73	-0	34.84	5.731	-226.65	0.181	0.202	0.323	-0.55	1.491	343.2	36.78	20.01	2.843	1.423
Estructura de fló	0.423	22.62	-8.69	3743.56	30.95	1.903	-2.01	-0.34	-2.89	2099.197	845.9596	1126.2	-0.04	20.97	3.531	-153.14	0.11	0.137	0.157	-0.46	2.521	186.7	20.01	12.73	1.32	0.696
Firmeza de flócu	0.075	4.026	-1.04	730.528	5.575	0.415	-0.42	-0.06	-0.54	335.869	98.95482	151.809	0.005	3.916	0.653	-31.502	0.015	-0	0.042	0.077	0.056	38.81	2.843	1.32	0.569	0.396
IF	0.072	4.819	0.507	845.836	4.812	0.352	-0.4	-0.01	-0.26	349.8164	49.09843	207.455	0.011	4.424	0.735	-23.162	0.012	-0.02	0.042	-0.08	-0.75	39.35	1.423	0.696	0.396	0.552

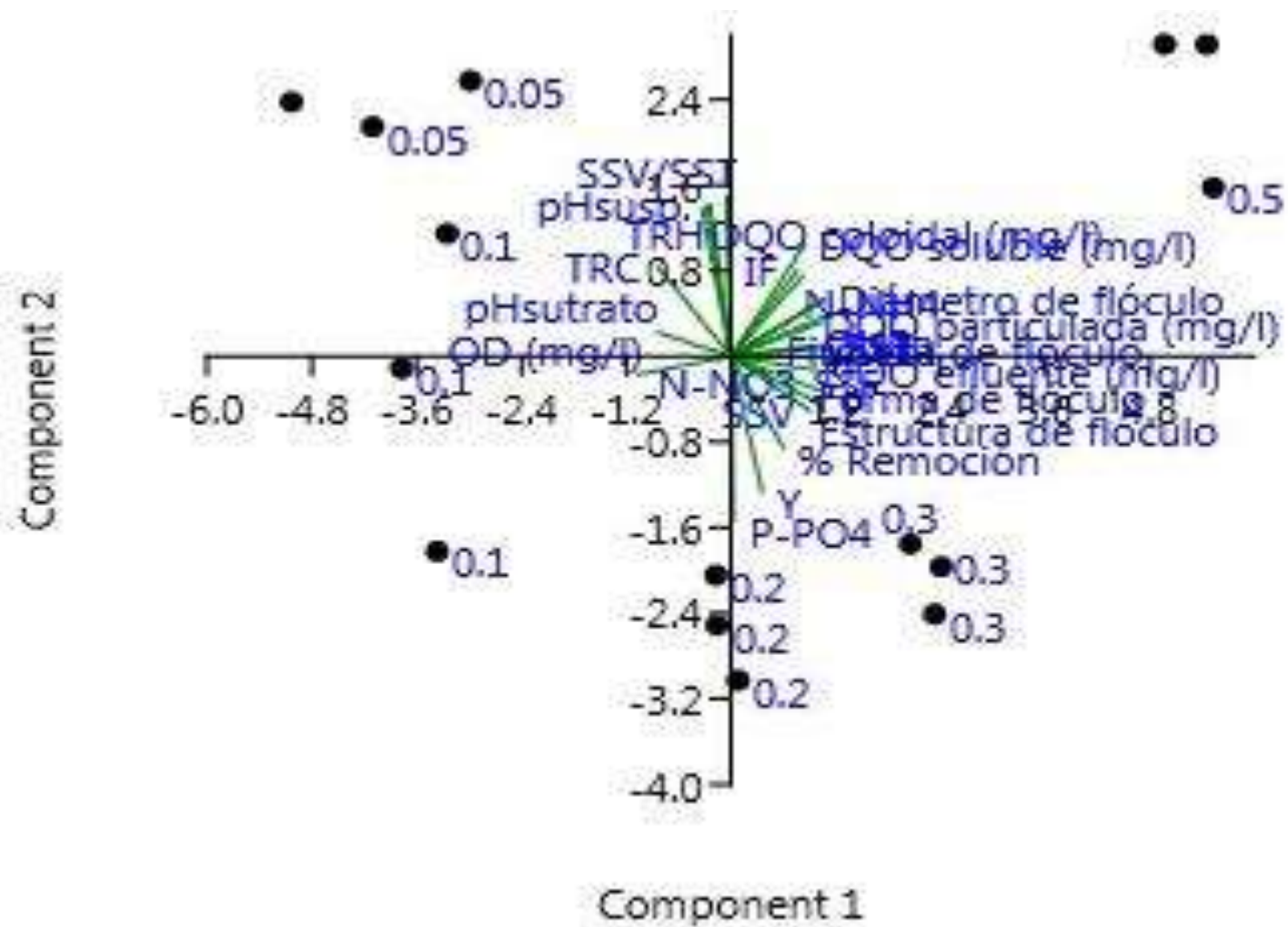


Fig. A.1. Gráfico PCA con todas las variables operativas analizadas.

Anexo B. Reducción de variables, con base en análisis de componentes principales (PCA) en correlaciones y covarianzas.

Tabla B.1. Matriz de covarianza entre variables operativas, del PCA.

	Carga orgánica	DQO efluente	SSV	OUR	SOUR	μ	Y	Diámetro de floculo	Forma de floculo	Estructura de floculo	IF
Carga orgánica	0.01964	1.32048	29.79544	0.99867	0.16571	0.00448	0.00275	9.32509	0.71093	0.42254	0.07238
DQO efluente	1.32048	109.03095	2367.3596	72.35476	11.9581	0.30494	0.13443	655.63752	54.20098	30.95145	4.8119
SSV	29.79544	2367.3596	81985.027	1460.3216	238.88433	8.22262	10.70994	12846.177	1469.8513	845.95956	49.09843
OUR	0.99867	72.35476	1460.3216	58.88381	9.8819	0.21714	0.02414	494.92048	34.83538	20.97376	4.42381
SOUR	0.16571	11.9581	238.88433	9.8819	1.66898	0.03611	0.00451	80.88791	5.7308	3.5314	0.73476
μ	0.00448	0.30494	8.22262	0.21714	0.03611	0.00113	0.00126	1.98299	0.18112	0.11041	0.01231
Y	0.00275	0.13443	10.70994	0.02414	0.00451	0.00126	0.00493	0.25697	0.2022	0.13685	-0.01614
Diámetro de floculo	9.32509	655.63752	12846.177	494.92048	80.88791	1.98299	0.25697	4921.5669	343.17803	186.69976	39.35433
Forma de floculo	0.71093	54.20098	1469.8513	34.83538	5.7308	0.18112	0.2022	343.17803	36.77603	20.0066	1.42267
Estructura de floculo	0.42254	30.95145	845.95956	20.97376	3.5314	0.11041	0.13685	186.69976	20.0066	12.73491	0.69576
IF	0.07238	4.8119	49.09843	4.42381	0.73476	0.01231	-0.01614	39.35433	1.42267	0.69576	0.55238

Tabla B.1. Matriz de covarianza entre variables operativas, del PCA.

Eigenvalue	84205.21	2890.46	15.4196	8.6807	5.4254	1.0156	0.0475	0.0017	0.0009	0.0001	0
Percent	96.6473	3.3176	0.0177	0.01	0.0062	0.0012	0.0001	0	0	0	0
Cum Percent	96.6473	99.9649	99.9826	99.9925	99.9988	99.9999	100	100	100	100	100
	Eigenvectors										
Carga orgánica	0.00037	0.00155	0.00172	-0.00149	0.00681	-0.01495	0.09144	0.04101	0.59002	0.79314	-0.11169
DQO efluente	0.02904	0.09396	0.83007	0.26104	-0.48171	-0.03133	-0.01079	0.00064	0.00588	-0.00115	-0.00022
SSV	0.98626	-0.16403	-0.01371	-0.01354	-0.00346	-0.0006	0.00016	0.00029	-0.00008	-0.00009	-0.00002
OUR	0.01809	0.0892	0.51748	-0.4661	0.64439	0.22235	-0.09532	-0.16844	-0.04524	0.04998	0.00105
SOUR	0.00296	0.01458	0.10134	-0.07961	0.13636	0.029	0.08808	0.87884	0.31376	-0.29163	-0.0114
μ	0.0001	0.00022	0.00028	0.00068	0.00242	-0.00488	0.02621	-0.05785	0.18796	-0.00195	0.9801
Y	0.00013	-0.00051	-0.00278	0.00886	0.00749	-0.01542	0.1198	-0.43838	0.69536	-0.53179	-0.16359
Diámetro de floculo	0.16026	0.97693	-0.13301	-0.01652	-0.03617	-0.02467	-0.00573	0.00289	0.00123	-0.0023	-0.00014
Forma de floculo	0.01791	0.03602	-0.00896	0.75895	0.36847	0.5344	0.02901	-0.0047	-0.00352	0.00791	0.00086
Estructura de floculo	0.01028	0.01709	0.11725	0.34724	0.44299	-0.80573	0.12914	-0.01604	-0.0534	0.0071	0.00047
IF	0.00065	0.01084	0.03491	-0.1056	-0.02624	0.11338	0.97061	-0.04219	-0.17212	0.02114	0.00529

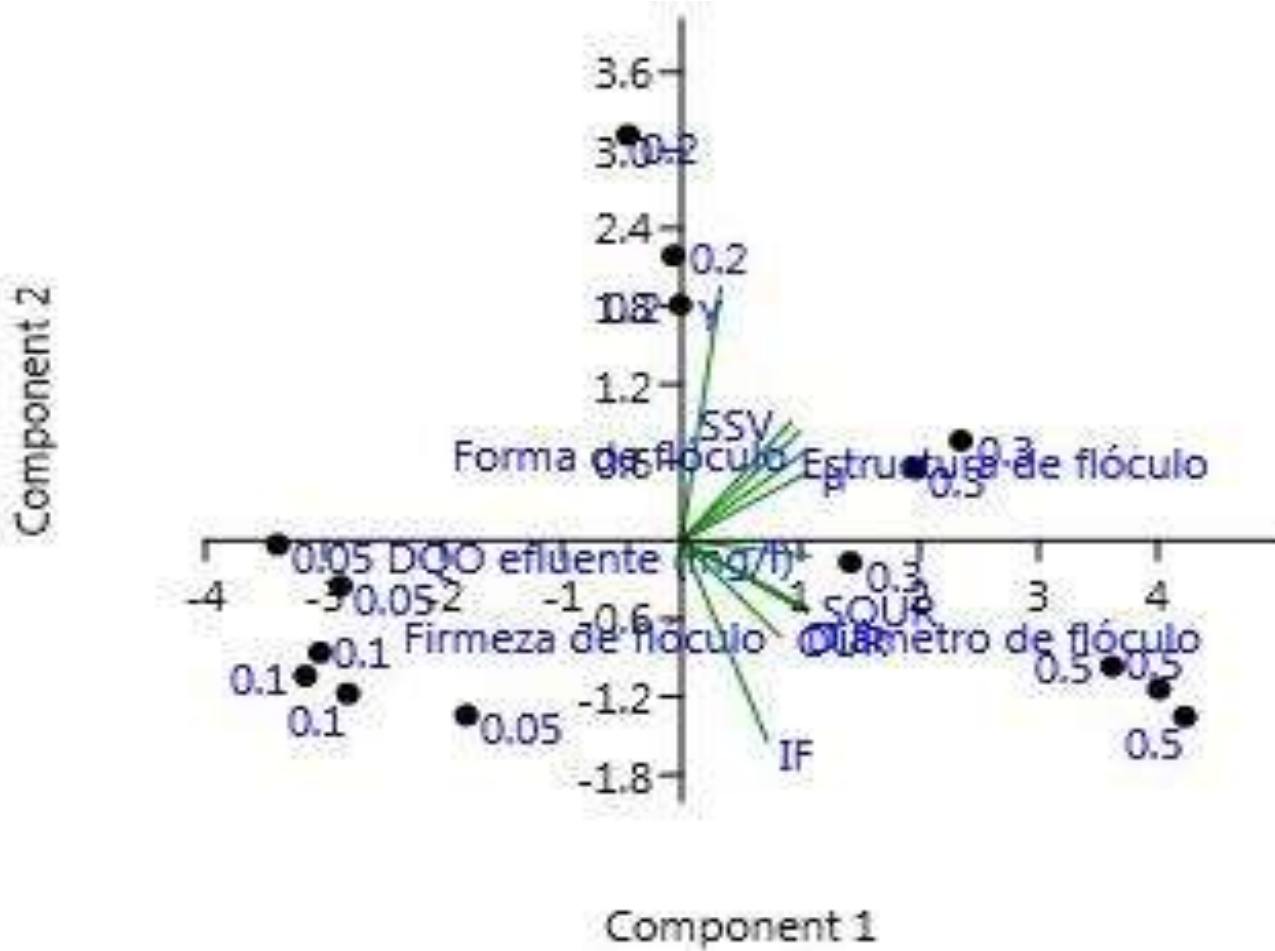


Fig. B.1. Gráfico PCA de las variables operativas seleccionadas.

Anexo C. Rangos de variables operativas del BRM

Tabla. C.1. Variables y rangos de valores empleados para los análisis estadísticos de PCA y DCA, en las variables operativas.

Variables operativas (unidades)	Nomenclatura DCA y PCA	Mín.	Máx.
CO = 0.05 kgDQO/kgSSV·d	CO-1	0.04	0.05
CO = 0.1 kgDQO/kgSSV·d	CO-2	0.1	0.12
CO = 0.2 kgDQO/kgSSV·d	CO-3	0.2	0.21
CO = 0.3 kgDQO/kgSSV·d	CO-4	0.29	0.3
CO = 0.5 kgDQO/kgSSV·d	CO-5	0.42	0.44
DQOsol (mgDQO/L)	DQOsol-1	0	15
	DQOsol-2	16	29
	DQOsol-3	30	50
	DQOsol-4	51	60
DQOpart (mgDQO/L)	DQOpart-1	4000	5000
	DQOpart-2	5001	6000
	DQOpart-3	6001	7000
	DQOpart-4	7001	8000
DF (µm)	DF-1	0	25
	DF-2	26	250
	DF-3	251	500
	DF-4	501	600
FirF (%)	ForF-1	0	25
	ForF-2	26	50
	ForF-3	51	75
	ForF-4	76	100
EstF (%)	EstF-1	0	25
	EstF-2	26	50
	EstF-3	51	75
	EstF-4	76	100
IF	IF-0	Ninguno	
	IF-1	Pocos	
	IF-2	Algunos	
	IF-3	Comunes	
	IF-4	Muy comunes	
SSV (mgSSV/L)	IF-5	Abundantes	
	SSV-2	2501	4000
	SSV-3	4001	4500
	SSV-4	4501	5000

Tabla. C.1. Variables y rangos de valores empleados para los análisis estadísticos de PCA y DCA, en las variables operativas (continuación)

	μ -1	0.006	0.009
	μ -2	0.01	0.03
μ (kgSSV/kgSSV·d)	μ -3	0.031	0.07
	μ -4	0.071	0.08
	μ -5	0.081	0.09
	Y-1	0.11	0.14
Y (kgSSV/kgDQO)	Y-2	0.15	0.25
	Y-3	0.26	0.4
	OUR-1	0	9
OUR (mgO ₂ /L·s)	OUR-2	10	20
	OUR-3	21	25
	SOUR-1	0	1.9
SOUR (mgO ₂ /mgSSV·h)	SOUR-2	2	4
	SOUR-3	4.1	6
	SOUR-4	6.1	8

Anexo D. Gráficos DCA para diferentes grupos de variables operativas.

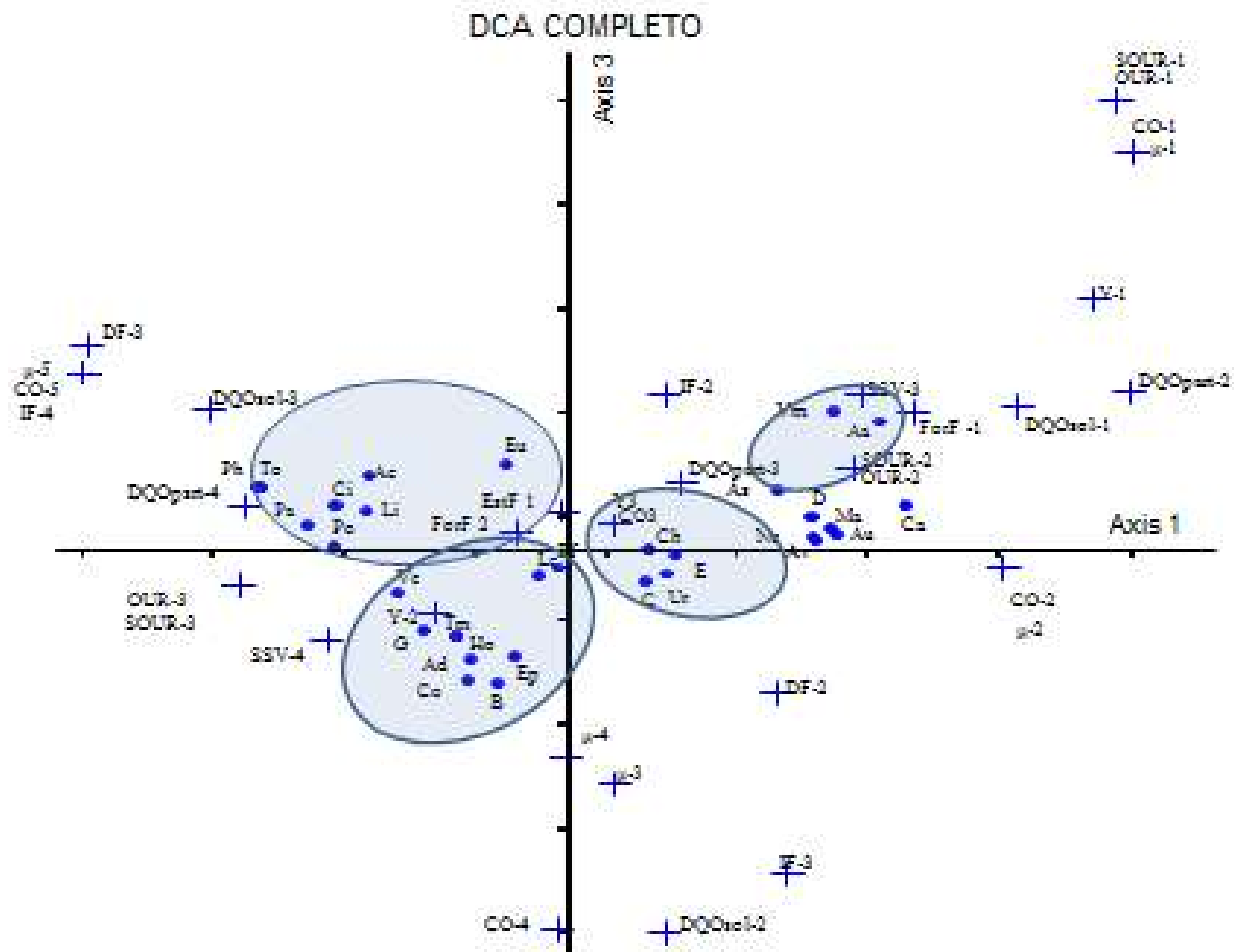


Fig.D.1. DCA con todas las variables operativas reducidas después del PCA (CO, DQO_{efluente}, DQO_{part.}, SSV, OUR, SOUR, Y, μ , ForF, EstF, IF)

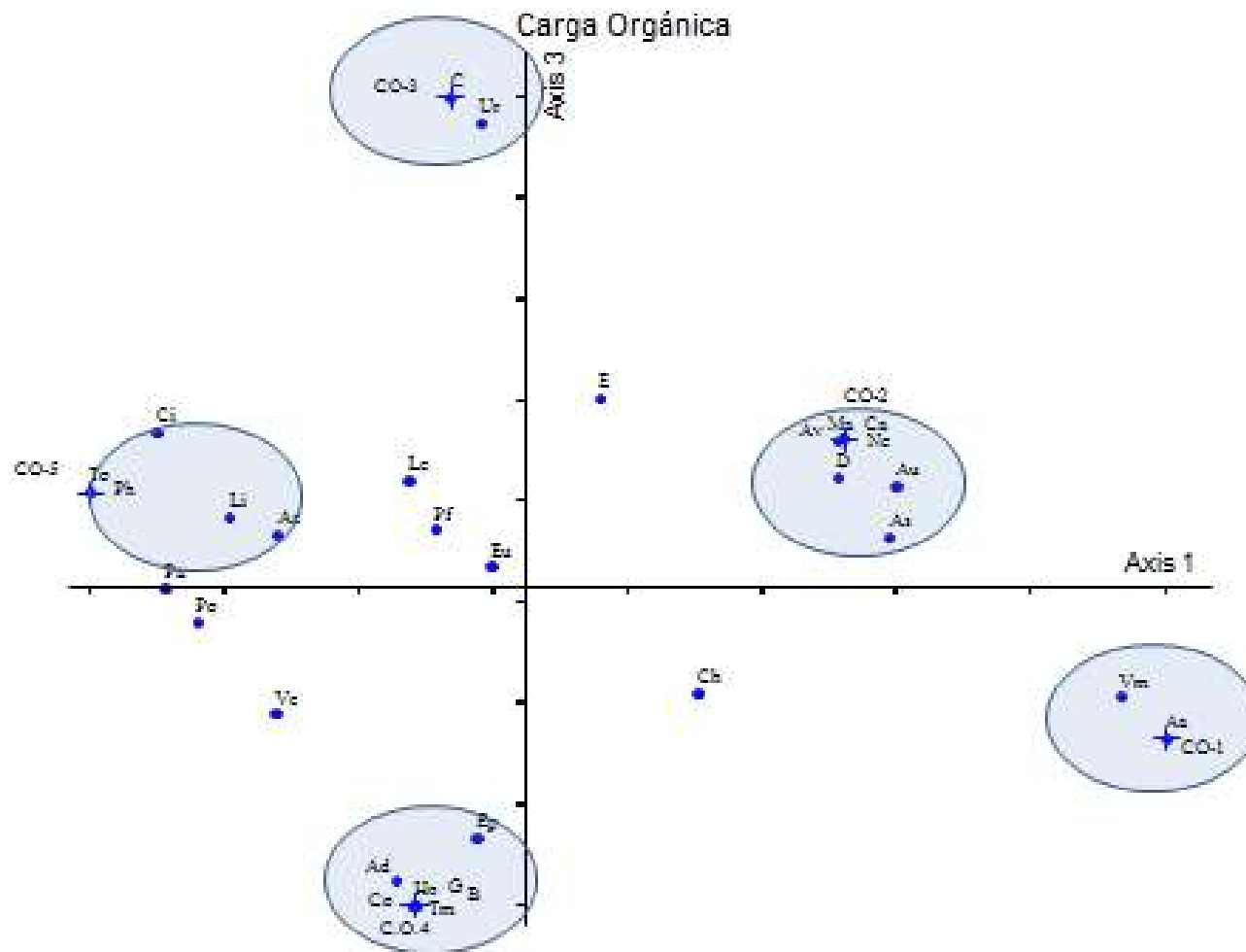


Fig. D.2. DCA con la Carga orgánica (CO)

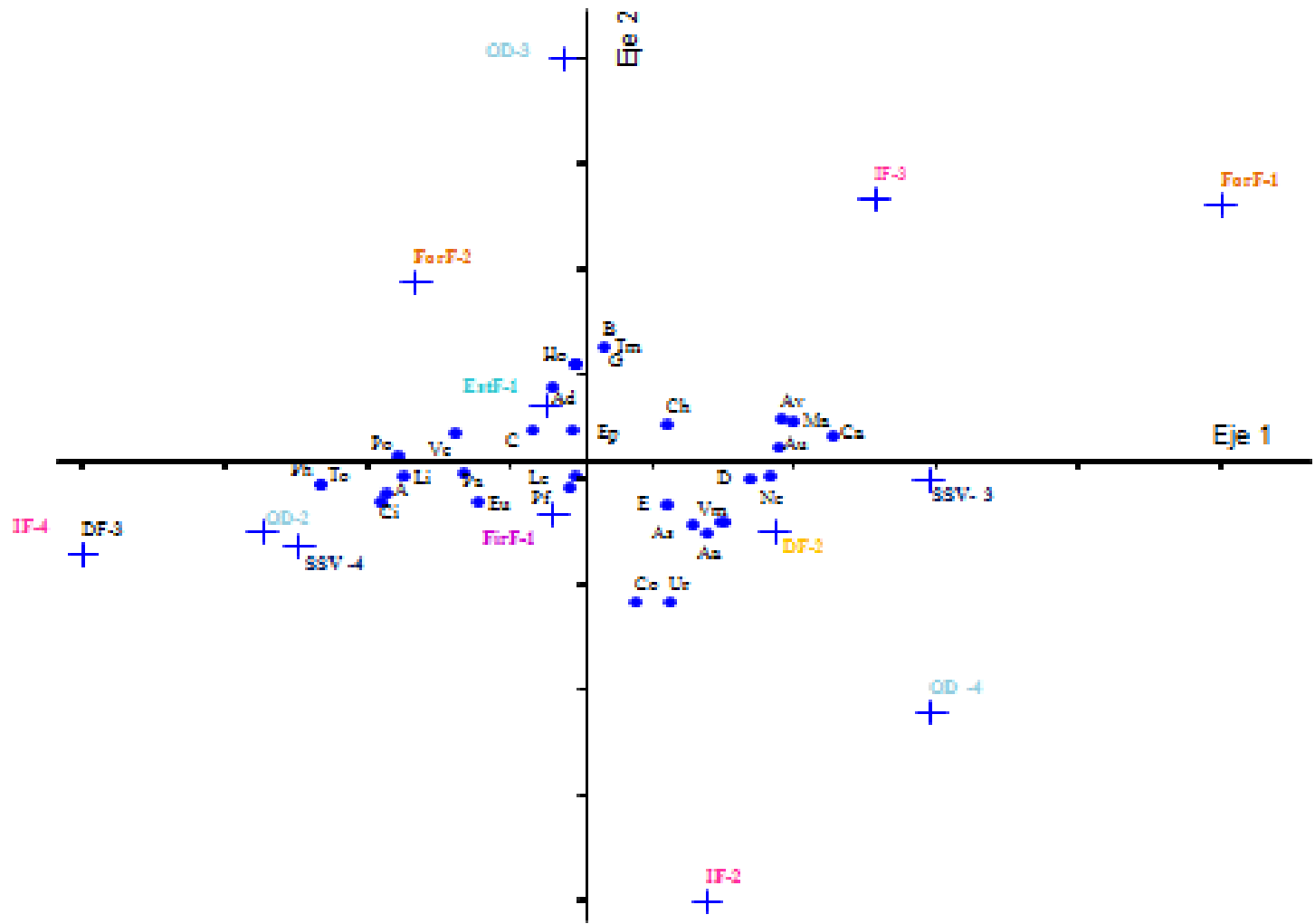


Fig. D.3. DCA con variables operativas asociadas a la biomasa (SSV, OD, EstF, ForF, IF).

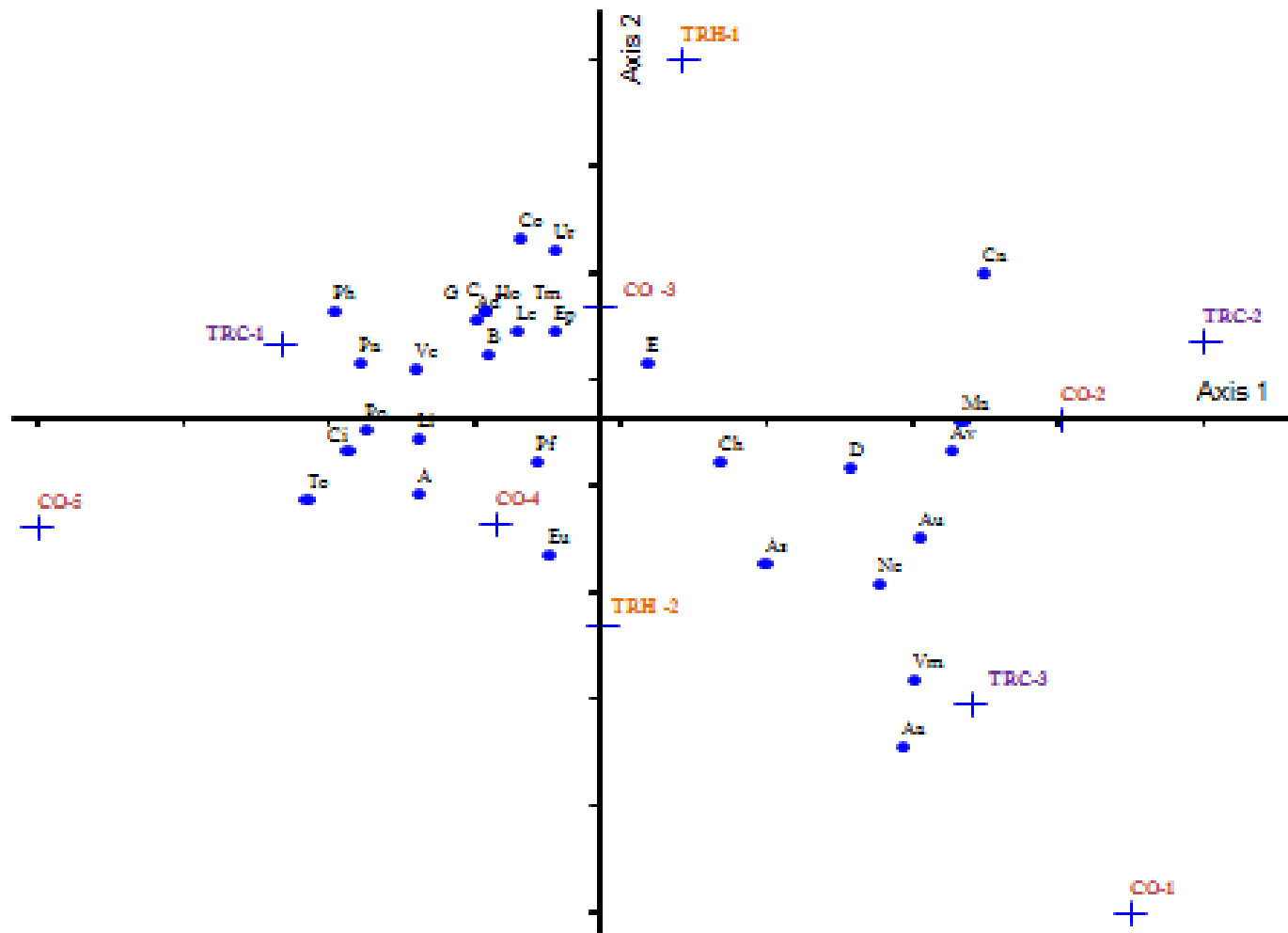


Fig. D.4. DCA con la Carga orgánica y los tiempos de retención en el reactor (CO, TRC y TRH).

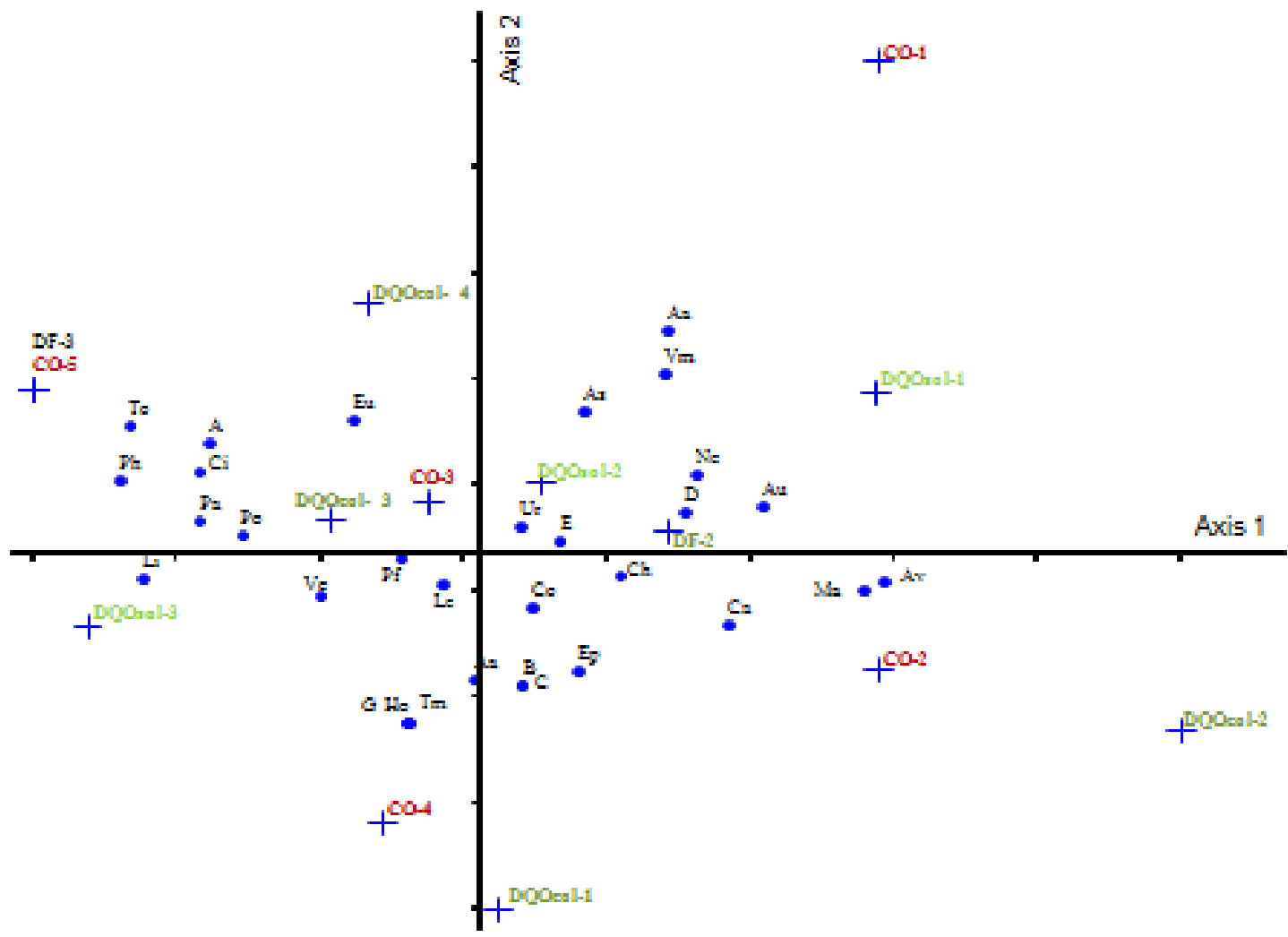


Fig. D.5. DCA con la Carga orgánica y variables operativas asociadas al proceso de floculación (CO, DQOsol, DQOcol, DF).

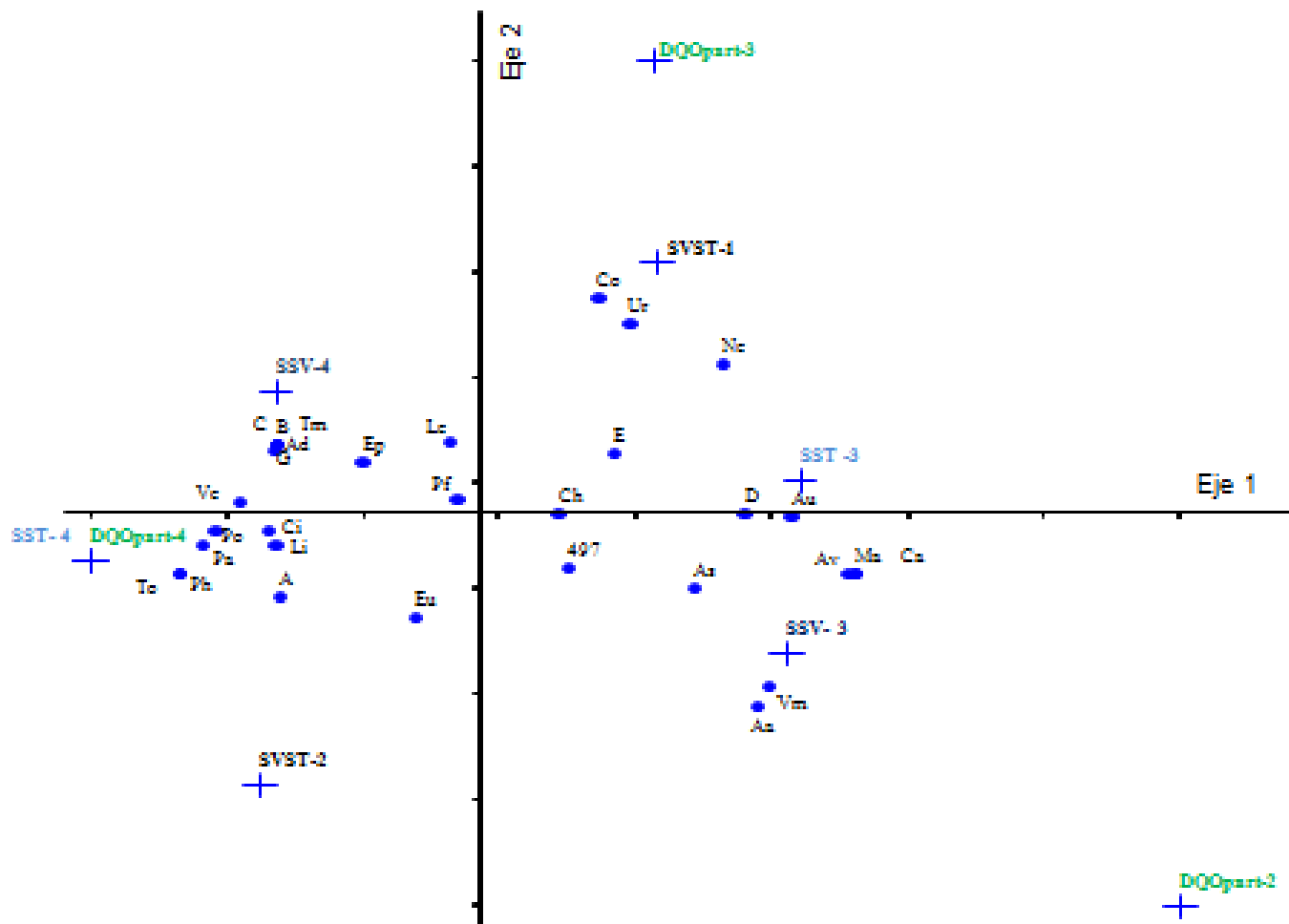


Fig. D.6. DCA con las variables operativas asociadas a la fracción sólida del reactor (DQOpart., SST, SSV, SSV/SST).

Anexo E. Abundancias absolutas de géneros durante el tiempo de operación.
Tabla. E.1. Abundancias absolutas de géneros de microfauna en el BRM.

Carla Orgánica	0.05						0.1						0.2						0.3					0.5			
Día de operación	0	9	16	21	23	27	30	37	44	51	53	55	58	62	72	78	81	83	86	93	100	102	104	107	114	121	123
Ameabas	1280	1160	1000	1880	2267	1667	3960	6160	4240	5893	8533	4440	1733	1733	3373	3440	2413	2287	1307	1880	933	1400	893	1520	173	173	280
Ameabas desnudas grande	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	107	107	227	120	0	27
Mayorella sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	320	320	0	0	0	80	0	0	0	413	67	0	0	0	0	0	0	0
Euglypha sp.	347	373	573	493	413	653	573	680	693	1027	1440	493	347	347	1227	2107	1773	1675	453	1040	613	827	427	232	173	173	240
Arcella arenaria	67	67	0	40	213	67	293	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Centropyxis aculeata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arcella vulgaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	213	4080	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	8	0	0	13
Diffugia sp.	867	720	427	1347	1640	947	3093	5480	3547	4147	2693	3947	1387	1387	2067	1333	640	611	440	773	213	453	227	552	0	0	0
Ciliados	80	67	53	147	1354	1213	1893	1160	307	400	733	493	907	907	1567	2981	3787	4624	4447	2007	1733	2330	933		13313	10520	18913
Nadadores	0	0	0	0	0	0	120	200	0	147	120	40	227	227	827	2715	3480	3345	3820	853	173	503	80		10520	10520	16200
Conchophthirus sp.	0	0	0	0	0	0	120	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0
Holophrya sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	197	0	0	0	0	0
Pleuronema sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0
Blepharospheae sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	587	0	0	0	0	0	0	13	8	0	0	0	0
Paramecium so.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	173	173	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0
Ciclidium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3080	2805	2193	427	173	307	67	176	10520	10520	16200
Uronema sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	147	120	40	53	53	240	2715	400	540	1573	413	0	0	0	0	0	0	0
Reptantes	80	67	0	120	1314	1200	1747	920	307	200	560	333	680	680	740	267	307	1240	547	333	0	507	147		213	0	493
Euploes sp.	0	0	0	53	331	0	67	0	93	67	27	0	0	0	207	0	0	0	0	0	0	0	0	0	213	213	467
Aspidisca sp.	0	0	0	0	846	1120	787	373	200	93	53	0	627	627	533	267	307	1240	547	0	0	0	0	0	0	0	0
Acineria uncinata	0	0	0	0	0	80	53	53	13	40	187	187	53	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chinollodella sp.	80	67	0	67	137	0	840	493	0	0	293	147	0	0	0	0	0	0	0	0	0	360	147	64	0	0	27
Trochilia minuta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	333	0	147	0	0	0	0	0
Sésiles	0	0	53	27	40	13	27	40	0	13	40	27	0	0	0	0	0	0	0	227	840	633	347		553	0	260
Operculia minima	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	173	0	0	0	0	0	0	0
Vorticella microstoma	0	0	0	27	40	13	27	40	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorticella conavaria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	27	0	0	0	0	0	0	0	80	507	633	347	240	553	553	260
Epistylis sp.	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	147	160	0	0	0	0	0	0	0
Camivoros y suctores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	13	93	0	0	0	0	0	40	80	593	720	687	360		2027	0	1960
Coleps	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0
Litonotus sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	13	93	0	0	0	0	0	0	27	513	67	13	0	0	320	320	213
Tokophrya sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	187
Podophrya sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	53	80	627	673	360	168	1707	1707	1560
Metazoarios	84	93	80	67	13	27	67	133	67	40	53	80	107	107	53	120	93	107	13	267	27	187	67		320	0	200
Lecane	71	80	53	0	0	0	13	0	40	40	53	0	53	53	13	120	93	80	0	267	27	173	67	80	133	133	40
Proales	0	0	13	0	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Colurella	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0
Nematodos	13	13	13	0	0	0	0	0	0	0	0	27	53	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aelosoma	0	0	0	67	13	27	53	53	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	187	187	160
Philodina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrotriches	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	13	0	32	0	0	0
Flagelados	0	0	0	0	0	0	0	3333	5000	1667	0	6667	1667	1667	2500	13333	11667	17667	13333	15000	24167	8793	4633		15222	16889	14667
flagelado1	0	0	0	0	0	0	0	3333	5000	1667	0	6667	1667	1667	2500	13333	11667	17667	13333	15000	24167	8000	4167	7500	15000	16667	13333
Peranema sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	793	467	570	222	222	222	1333	
Total	1444	1320	1133	7927	13634	2907	5920	10787	9613	8000	9320	11680	4413	4413	7493	19875	17960	24684	19100	19153	26860	12710	6527	1520	29029	15120	34060

Tabla. E.1. Abundancias absolutas de géneros de microfauna en el BRM (continuación).

Carfa Orgánica	0.05					0.1					0.2					0.3					0.5						
	0	9	16	21	23	27	30	37	44	51	53	55	58	62	72	78	81	83	86	93	100	102	104	107	114	121	123
Día de operación	0	9	16	21	23	27	30	37	44	51	53	55	58	62	72	78	81	83	86	93	100	102	104	107	114	121	123
Ameabas	1280	1160	1000	1880	2267	1667	3960	6160	4240	5893	8533	4440	1733	1733	3373	3440	2413	2287	1307	1880	933	1400	893	1520	173	173	280
Ameabas desnudas grande	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	107	107	227	120	0	0	27
Mayorella sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	320	320	0	0	0	80	0	0	0	413	67	0	0	0	0	0	0	0
Euglypha sp.	347	373	573	493	413	653	573	680	693	1027	1440	493	347	347	1227	2107	1773	1675	453	1040	613	827	427	232	173	173	
Arcella arenaria	67	67	0	40	213	67	293	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Centropyxis aculeata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arcella vulgaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	213	4080	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	8	0	13	
Diffugia sp.	867	720	427	1347	1640	947	3093	5480	3547	4147	2693	3947	1387	1387	2067	1333	640	611	440	773	213	453	227	552	0	0	
Ciliados	80	67	53	147	1354	1213	1893	1160	307	400	733	493	907	907	1567	2981	3787	4624	4447	2007	1733	2330	933	13313	10520	18913	
Nadadores	0	0	0	0	0	0	120	200	0	147	120	40	227	227	827	2715	3480	3345	3820	853	173	503	80	10520	10520	16200	
Conchophthirus sp.	0	0	0	0	0	0	120	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	
Holophrya sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	197	0	0	0	0	0	0	
Pleuronema sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	
Blephasrosphaea sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	173	173	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	
Paramecium so.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3080	2805	2193	427	173	307	67	176	10520	10520	
Ciclidium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Uronema sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	147	120	40	53	53	240	2715	400	540	1573	413	0	0	0	0	0	0	
Reptantes	80	67	0	120	1314	1200	1747	920	307	200	560	333	680	680	740	267	307	1240	547	333	0	507	147	213	0	493	
Euploes sp.	0	0	0	53	331	0	67	0	93	67	27	0	0	0	207	0	0	0	0	0	0	0	0	0	213	213	
Aspidisca sp.	0	0	0	0	846	1120	787	373	200	93	53	0	627	627	533	267	307	1240	547	0	0	0	0	0	0	0	
Acineria uncinata	0	0	0	0	0	80	53	53	13	40	187	187	53	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Chinollodella sp.	80	67	0	67	137	0	840	493	0	0	293	147	0	0	0	0	0	0	0	0	360	147	64	0	0	27	
Trochilia minuta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	333	0	147	0	0	0	0	0	
Sésiles	0	0	53	27	40	13	27	40	0	13	40	27	0	0	0	0	0	0	227	840	633	347	553	0	260	0	
Operculia minima	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	173	0	0	0	0	0	0	0	
Vorticella microstoma	0	0	0	27	40	13	27	40	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Vorticella conovaria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	27	0	0	0	0	0	0	0	80	507	633	347	240	553	553	260	
Epistylis sp.	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	147	160	0	0	0	0	0	0	
Camívoros y succioneros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	13	93	0	0	0	0	0	40	80	593	720	687	360	2027	0	1960	
Coleps	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	
Litonotus sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	13	93	0	0	0	0	0	27	513	67	13	0	0	320	320	213	
Tokophrya sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	187	
Podophrya sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	53	80	627	673	360	168	1707	1560	
Metazoarios	84	93	80	67	13	27	67	133	67	40	53	80	107	107	53	120	93	107	13	267	27	187	67	320	0	200	
Lecane	71	80	53	0	0	0	13	0	40	40	53	0	53	53	13	120	93	80	0	267	27	173	67	80	133	40	
Proales	0	0	13	0	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Colurella	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	40	0	0	0	
Nematodos	13	13	13	0	0	0	0	0	0	0	0	27	53	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Aelosoma	0	0	0	67	13	27	53	53	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	187	187	160	
Philodina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Gastroliches	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	13	0	32	0	0	0	
Flagelados	0	0	0	0	0	0	0	3333	5000	1667	0	6667	1667	1667	2500	13333	11667	17667	13333	15000	24167	8793	4633	15222	16889		
flagelado1	0	0	0	0	0	0	0	3333	5000	1667	0	6667	1667	1667	2500	13333	11667	17667	13333	15000	24167	8000	4167	7500	15000		
Peranema sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	793	467	570	222	222	1333	1333	
Total	1444	1320	1133	7927	13634	2907	5920	10787	9613	8000	9320	11680	4413	4413	7493	19875	17960	24684	19100	19153	26860	12710	6527	1520	29029		