



FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA Y CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL

**“Propuesta de Diseño e Implementación
de un Laboratorio de Biotecnología
Ambiental para la Carrera de
Ingeniería Ambiental de la
Universidad de Valparaíso”**

Tesis presentada para optar al Título de Ingeniero Ambiental

Realizada por:
CRISTIAN CÁCERES BAHAMONDES

Profesor Guía:
OCIEL COFRÉ CARVAJAL

Valparaíso, Chile.
2007.

Agradecimientos

*Gracias a todos los que influyeron en la primera parte
de mi formación, no solo
como profesional, sino también como persona:
a mi familia, maestros y amigos,
gracias,
y bienvenida la segunda parte.*

RESUMEN

La presente Tesis propone un diseño de Laboratorio de Biotecnología Ambiental para la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso. Dentro de este Laboratorio, se proponen dos dimensionados a escala laboratorio de reactores destinados al tratamiento de Residuos Líquidos, estos son: un Sistema de Lodos Activados de Mezcla Completa y otro sistema UASB, enfocados a la enseñanza práctica de las Artes pertinentes y a la generación de investigación dentro de la Carrera.

INDICE GENERAL

<u>INTRODUCCIÓN</u>	<u>1</u>
<u>OBJETIVOS</u>	<u>4</u>
<u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u>	<u>5</u>
<u>JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA</u>	<u>5</u>
<u>METODOLOGIA</u>	<u>6</u>
<u>MARCO TEÓRICO:</u>	<u>8</u>
<u>1. ANTECEDENTES GENERALES:</u>	<u>8</u>
<u>1.1 HISTORIA Y DEFINICIÓN</u>	<u>8</u>
<u>1.2 REALIDAD NACIONAL</u>	<u>10</u>
<u>1.3 ¿Qué es la Biotecnología?</u>	<u>11</u>
<u>1.4 BIORREACTORES</u>	<u>12</u>
<u>2 DISEÑO DEL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL</u>	<u>13</u>
<u>2.1 Características generales</u>	<u>13</u>
<u>2.2 Procedimientos y Análisis</u>	<u>16</u>
<u>2.3 Equipos necesarios y requerimientos</u>	<u>17</u>
<u>2.4 Presupuesto</u>	<u>18</u>
<u>3.PRINCIPIOS Y DIMENSIONADO DE BIOREACTORES</u>	<u>19</u>
<u>3.1 Reactor aeróbico en base a Lodos Activados en Mezcla Completa</u>	<u>20</u>
3.1.1 Principios	20
3.1.2 Características Generales de los Lodos Activados	21
3.1.3 Parámetros Operacionales para Lodos Activados	22
3.1.4 Problemas relacionados con los Lodos	25
3.1.5 Configuración y dimensionado del sistema	26
<u>3.2 Reactor UASB</u>	<u>30</u>
3.2.1 Principios	30

3.2.2 Parámetros Operacionales para reactor UASB	31
3.2.3 Características Generales del Inóculo	41
3.2.4 Configuración y dimensionado del sistema	42
<u>DISCUSIONES Y RECOMENDACIONES</u>	48
<u>CONCLUSIONES</u>	52
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	53
ANEXO I: TRATAMIENTO SECUNDARIO DE RESIDUOS	I
ANEXO II: NORMATIVA NACIONAL APLICABLE	XLII
ANEXO III: LA TEORIA DLVO	XLV
ANEXO IV: METODOLOGÍAS ANALÍTICAS	XLVII
ANEXO V: PRESUPUESTO	LXXX

INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1:	Características del Reactor de Lecho de Lodos UASB (Aravena, 1999)	31
Tabla 3.2:	Velocidades de carga orgánica aplicables para reactores UASB operando con lodos granular (Chamy <i>et al</i> , 2003)	33
Tabla 3.3:	Rango de pH para distintos tipos de bacterias Anaerobias (Marín, 1997)	35
Tabla 3.4:	Composición del Biogás (Lazo, 1998)	40
Tabla 3.5:	Actividad metanogénica específica y concentraciones de diversos lodos (Lettinga, 1991)	42

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1:	La Alquimia en la Edad Media	8
Figura 1.2:	El Desarrollo de las Ciencias	8
Figura 1.3:	Laboratorio moderno	9
Figura 1.4:	Transferencia de oxígeno de Tratamiento Biológico de Efluentes	27
Figura 2.1:	Esquema distribución espacial Laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso, 4º piso, Facultad de Ciencias. Levantamiento realizado por Cristian Cáceres el miércoles 1º de junio de 2005	15
Figura 3.1:	Reactor Aeróbico En Base A Lodos Activados En Mezcla Completa	20
Figura 3.2:	Esquema N°2 Corte Longitudinal de Reactor Aeróbico En Base A Lodos Activados En Mezcla Completa.	28
Figura 3.3:	Detalle esquema de Biorreactor aerobio de Mezcla Completa	29
Figura 3.4:	Reactor UASB	30
Figura 3.5:	Esquema N°3 Corte longitudinal Reactor UASB	44
Figura 3.6:	Detalle Esquema reactor UASB	45
Figura 3.7:	Esquema Cámara Térmica.(Diseño: Rafael Cáceres)	46

INTRODUCCION

La carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso comenzó a ejercer su función educadora en el año 1998, dependiente hasta la fecha del Instituto de Ciencias Biológicas y Químicas perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso.

La Carrera de Ingeniería Ambiental está dirigida a la formación de un profesional con una visión integrativa en el área de Ingeniería Ambiental, proporcionándole una serie de conocimientos teóricos y prácticos que le permitan actuar con un criterio adecuado en la identificación y cuantificación de problemas ambientales, urbanos e industriales y en el desarrollo y adaptación de metodologías que posibiliten eliminar los efectos negativos de la acción antrópica sobre el medio ambiente en su globalidad.

Para poder cumplir a cabalidad este objetivo, la Universidad debe proporcionar al alumnado instalaciones adecuadas que permitan la adquisición de esos conocimientos de forma efectiva. Una instalación adecuada debe contar con salas de clases amplias, iluminadas y cómodas para las clases teóricas, y con laboratorios también amplios y bien equipados con el instrumental correspondiente para las clases prácticas.

Este último punto es fundamental para que la preparación del profesional sea completa y eficiente, ya que por medio de la experimentación en el Laboratorio, el alumno de Ingeniería Ambiental es capaz de adquirir los conocimientos básicos para desempeñarse en áreas del conocimiento que son de un complejo entendimiento, como lo son la Química, Bioquímica, Mecánica de Fluidos, Microbiología, etc.

Durante estos casi 9 años de trayectoria, la Carrera ha ido evolucionando con cambios de malla curricular, de profesores, de locaciones, etc., y entre aciertos y

desaciertos se ha convertido en una excelente entidad educadora. A pesar de ésto, la Carrera aún puede mejorar la calidad del conocimiento que imparte, en el área de Tratamiento de Efluentes, por lo cual el presente trabajo de Tesis aprovecha esta oportunidad y propone un diseño y la implementación de un Laboratorio de Biotecnología Ambiental.

“La práctica es importante en el aprendizaje pues aumenta la estabilidad y la claridad de los significados y conocimientos recién adquiridos, mejorando la capacidad de relación de los conceptos nuevos, por parte del alumno, con conocimientos ya conocidos por él y su retención...” (Barbera, 2000).

Es por eso que, poniendo en practica proyectos que mejoren el proceso de enseñanza y aprendizaje, el deber de la Universidad de formar profesionales capaces de desenvolverse en un mundo competitivo y que posean las herramientas necesarias para ello, podrá concretarse en Ingenieros Ambientales con una formación sólida basada en la experiencia que éstos puedan adquirir durante los años de su paso por esta Casa de Estudios.

El presente Trabajo de Titulación consiste en una propuesta de diseño e implementación de un Laboratorio de Biotecnología Ambiental que cumpla con las necesidades pedagógicas de las asignaturas impartidas por la Carrera de Ingeniería Ambiental en el área del Tratamiento de Residuos Líquidos (Procesos Unitarios, Análisis Instrumental, etc.), pudiendo así estos ramos entregar los conocimientos necesarios para una adecuada comprensión de las distintas materias a tratar en dichas asignaturas.

Este laboratorio contará con dos Biorreactores para el Tratamiento de Aguas Residuales a escala piloto (cuyas bases teóricas de funcionamiento se incluyen también en esta propuesta), uno aeróbico y otro anaeróbicos, los que ayudarán a mejorar el aprendizaje y la enseñanza del Tratamiento de Residuos Líquidos por medio de la observación y la experimentación, y cuyos dimensionados se presentan también este trabajo. Una vez instalados, estos equipos servirán

también para la investigación del alumnado en torno a este tema, generándose una posible especialidad dentro de la Carrera en el futuro.

También se presenta el valor de la inversión que significaría para la Carrera de Ingeniería Ambiental la implementación de un Laboratorio de estas características, por lo que se incluye en los anexos un presupuesto detallado de los distintos insumos, equipos y/o requerimientos con que debe contar el Laboratorio para su adecuado funcionamiento.

OBJETIVOS

General

- ♦ Diseñar un Laboratorio destinado al estudio de Tecnologías destinadas al Tratamiento de Residuos Líquidos, para la Carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso.

Específicos

- ♦ Diseñar un laboratorio que contemple el uso de biorreactores de Tratamiento de Aguas Residuales para la Carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso.
- ♦ Diseñar dos biorreactores de Tratamiento de Aguas Residuales, uno de modalidad aeróbica (Sistema de Lodos Activados de Mezcla Completa) y otro de modalidad anaeróbica (UASB), que funcionarán dentro del Laboratorio.
- ♦ Determinar los requerimientos técnicos y económicos de instalación del Laboratorio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso no cuenta actualmente con instalaciones adecuadas para que el alumnado ponga en práctica y desarrolle los conocimientos adquiridos en el aula sobre el Área del Tratamiento de Aguas, por lo que este Trabajo de Titulación representa una oportunidad para mejorar la calidad de la enseñanza que se imparte en la Carrera.

JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Es imprescindible contar con instalaciones que generen instancias de aplicación de los conocimientos adquiridos durante el pregrado, ya que así el alumno tendrá la posibilidad de conocer a cabalidad el Área en la cual realizó actividades prácticas durante su formación (lo que genera un conocimiento empírico importantísimo para un Ingeniero), como lo es un Laboratorio de Biotecnología que esté abocado al Tratamiento de Aguas, y así, al final de su formación universitaria, tener la capacidad de optar con mayores antecedentes a especializarse en un Área específica de la Ingeniería Ambiental como lo es el Tratamiento de Aguas.

METODOLOGÍA

El tema de este trabajo de titulación surge de la necesidad manifestada por el Profesor Coordinador de la Carrera de Ing. Ambiental, la cual es la falta de un Laboratorio de docencia e investigación especializado para algunos de los ramos de carrera, que estuviera orientado al área de Tratamiento de Residuos Líquidos. Es por esto que se ideó, junto con el Profesor Guía de esta Tesis, un Laboratorio que contara con equipamiento especializado que permitiera la enseñanza de e investigación de ésta área en particular, como lo son los Biorreactores a escala Laboratorio, los cuales deberían contar con ciertas características para que pudieran cumplir con su fin de manera eficiente (características que serán descritas más adelante).

El trabajo de titulación se inició con la búsqueda bibliográfica en distintas universidades de la zona (PUCV, UFSM, UV), encontrándose la mayor cantidad de información en trabajos de titulación. Aparte de encontrarse la base para generar los diseños de biorreactores en la bibliografía consultada, ésta también arrojó las bases microbiológicas para la comprensión del funcionamiento que debían tener los biorreactores, las que están incluidas en este documento en el Anexo I. De la bibliografía también fueron desprendidas las metodologías analíticas de laboratorio necesarias para el control de las distintas variables presentes en los biorreactores (incluidas en el Anexo III), y poder mantener así el funcionamiento adecuado de éstos en el tiempo. A su vez, al tener claro las metodologías que se aplicarían en el Laboratorio, se evidencia el equipamiento técnico mínimo requerido para la implementación de estas metodologías, que consiste en equipos de laboratorio electrónicos, material de vidrio y reactivos químicos.

Una vez listados todos los requerimientos del Laboratorio, se precedió a contactar a los proveedores de dicho equipamiento para la solicitud de las cotizaciones del material correspondiente a cada proveedor. Una vez obtenidas las cotizaciones se

procedió a entregarlas al Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, para la emisión de las Ordenes de Compra del equipamiento, destinadas a los proveedores seleccionados por dicho Departamento.

Paralelamente, se confeccionaron los dimensionados de los biorreactores, basados en diseños a escala Laboratorio encontrados en la bibliografía consultada (poner bibliografía). A la vez, se confeccionó el documento escrito del presente trabajo. Junto con esto, se encargó el diseño de la Cámara térmica que contendría él o los reactores (según corresponda), a don Rafael Cáceres, Dibujante Proyectista.

También se confeccionó el plano general del Laboratorio en formato dwg (Autocad), incluido en el presente trabajo (véase pág. 15)

Todo este proceso se tardó un periodo de 1 año y medio.

Marco Teórico:

1. Antecedentes generales:

1.1 HISTORIA Y DEFINICIÓN



Figura 1.1: La Alquimia en la Edad Media

El origen del moderno laboratorio proviene de los laboratorios de los alquimistas, en los gabinetes para las pruebas de minerales, metales y otros y otros productos industriales que se propagaron hacia fines de la Edad Media. La moderna organización del laboratorio y su difusión están íntimamente unidas al método experimental.

Las primeras academias y sociedades científicas tuvieron sus laboratorios, pero durante mucho tiempo la mayor parte de ellos fueron de

científicos particulares. En estos gabinetes se llevaba a cabo el trabajo de investigación y se educaba a los estudiantes y a los jóvenes científicos.

En la segunda mitad del siglo XIX, bajo el impulso del desarrollo de las ciencias – y sobre todo la química – y del creciente interés que la investigación científica adquiría en el plano económico, y por la actividad de algunos grandes científicos, se fueron construyendo laboratorios formados y subvencionados con fondos estatales. Entre las causas que colocaron a Alemania en el Siglo XIX encabeza de la química, una de las principales fue la existencia de laboratorios

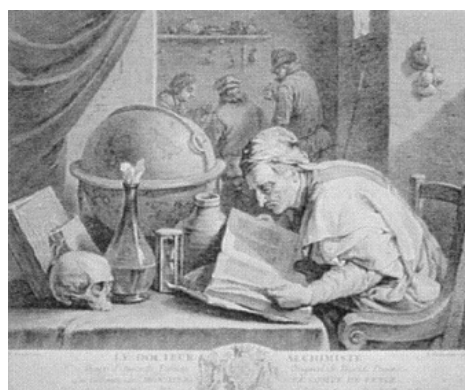


Figura 1.2: El desarrollo de las Ciencias

estatales bien montados y la consiguiente posibilidad de dar una educada enseñanza experimental que hizo famosa la escuela química alemana. Este hecho animó también a otros estados a crear laboratorios bien preparados para las distintas enseñanzas. Debido a la importancia que poco a poco fueron adquiriendo los descubrimientos científicos para el progreso industrial, numerosas empresas colocaron sus propios laboratorios de investigación junto a las fábricas para controlar con regularidad la producción.

Durante el siglo XX, los laboratorios no sólo han aumentado de número, enriqueciéndose al mismo tiempo de instrumentos cada vez más complejos, sino que han ido diferenciándose en la especialización de las distintas ramas de la ciencia. A cada laboratorio aislado que tenía un restringido número de colaboradores bajo un científico, le han seguido unidades más complejas: los centros de investigación científica, formados por un gran número de laboratorios, los poseen finalidades definidas en el cuadro de un programa de trabajo. En la actualidad, el laboratorio queda como una unidad fundamental de la investigación científica experimental, pero ha perdido su autonomía por la que se ha caracterizado hasta hace pocos decenios.

Actualmente, un laboratorio es un lugar equipado con diversos instrumentos de medida o equipos donde se realizan experimentos o investigaciones diversas, según la rama de la ciencia a la que se dedique.

Su importancia, sea en investigaciones o a escala industrial y en cualquiera de sus especialidades (química, dimensional, electricidad, biología, etc.) radica en el hecho



Figura 1.3: Laboratorio moderno

de que las condiciones ambientales están controladas y normalizadas, de modo que:

1. Se puede asegurar que no se producen influencias extrañas (a las conocidas o previstas) que alteren el resultado del experimento o medición:
Control.
2. Se garantiza que el experimento o medición es repetible, es decir, cualquier otro laboratorio podría repetir el proceso y obtener el mismo resultado:
Normalización.

1.2 REALIDAD NACIONAL

En Chile hoy existen cientos de laboratorio prestando servicios de acuerdo a la rama de las Ciencias a la que se dedican. Al ser alto el nivel de especialización que se ha alcanzado en las distintas áreas la investigación y experimentación a que ha llegado el ser humano en nuestros días, es posible encontrar a lo largo del país una gran gama de Laboratorios de Ciencias, tanto de ciencias básicas como más especializadas, como por ejemplo laboratorios abocados a la investigación de la Nutrición Humana, Toxicología, Botánica, Microbiología, Laboratorios Farmacéuticos, Clínicos, etc.. A su vez, los podemos encontrar inmersos en variados medios, como lo son los estamentos de gobierno, laboratorios particulares, con fines comerciales y Laboratorios abocados a la docencia e investigación. Estos últimos, generalmente funcionan como entes dependientes de instituciones de educación, como lo son los Institutos, Escuelas y Universidades.

Actualmente, existen algunos laboratorios en el país que están organizados de acuerdo al área de desarrollo de la ciencia a que están dedicados. Es así como existen por ejemplo la ASILFA (Asociación Industrial de Laboratorios Farmacéuticos) y la ALACLIN (Asociación Chilena de Laboratorios Clínicos), dos

asociaciones gremiales que reúnen a los Laboratorios que desarrollan sus respectivas áreas científicas en Chile.

A pesar de no estar organizados entre ellos, también el Estado lleva un registro público de laboratorios, por medio de la acreditación que éstos realizan de sus procedimientos e instalaciones, en el Instituto Nacional de Normalización (INN). Pero no todos los laboratorios que funcionan en Chile están acreditados, por lo que no es posible conocer el número exacto de laboratorios activos, pero a modo de ejemplo, existen en el país 39 laboratorios actualmente acreditados como Laboratorios de ensayo en Microbiología para aguas y aguas residuales (RILES y aguas servidas), de los cuales 5 corresponden a Laboratorios que funcionan dependientes de una casa de estudios. En la V Región, hay sólo 2 Laboratorios acreditados en este tipo de ensayos.

1.3 ¿Qué es la Biotecnología?

La definición actual de biotecnología, según la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), es *la aplicación de la ciencia y la tecnología tanto a organismos vivos como a partes, productos y modelos de ellos, con el propósito de modificar tanto materia viva como la no viva con el fin de producir conocimiento, bienes y servicios*. Otras definiciones aceptadas son *toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos*, del Convenio sobre la Diversidad Biológica de 1992 de la CdP (Conferencia de las Partes); también esta la definición de la Sociedad Española de Biotecnología: *la utilización de organismos vivos, o partes de los mismos, para obtener o modificar productos, mejorar plantas o animales o desarrollar microorganismos para objetivos específicos*.

De acuerdo a estas definiciones, la biotecnología ha sido aplicada hasta el día de hoy en diversas áreas del conocimiento y la investigación, como lo son la medicina, la genética, la investigación forestal y agropecuaria, las ciencias de los alimentos, el tratamiento de aguas residuales, etc., siendo en cada una de ellas una herramienta fundamental para el desarrollo de nuevos avances y descubrimientos.

Es así que se decidió el nombre de “Laboratorio de Biotecnología”, dado que en él se trabajará con bioreactores, los que trabajan a base de microorganismos, además que las instalaciones estarán equipadas con instrumental base que permitirá ampliar el campo de investigaciones que se llevarán a cabo en él.

1.4 BIOREACTORES.

Etimológicamente hablando, *bioreactor* es una palabra compuesta: **bio**: de la raíz griega **bio** → vida; y la palabra **reactor**: “instalación preparada para que en su interior se produzcan reacciones químicas o biológicas”, según la R.A.E..

Un bioreactor es un sistema en el cual se mantienen vivos distintas clases de microorganismos de manera controlada para lograr un fin, que es el sintetizar determinados productos provenientes de la metabolización que realizan dichos microorganismos de distintas sustancias. En el caso particular de los bioreactores descritos más adelante, se busca disociar distintas sustancias e incluso otros microorganismos presentes en aguas residuales para generar distintas clases de gases y agua.

Los sistemas presentes en bioreactores poseen variables físicas, químicas y biológicas (temperatura, pH, cantidad de biomasa, etc.) que deben ser controladas para la mantención de la vida dentro de este sistema. Obviamente, solo nos interesa mantener con vida a ciertas especies de microorganismos (ver Anexo I),

por lo que los parámetros de las variables deben ser los óptimos para estos individuos.

En este Trabajo de Titulación nos referiremos a 2 tipos de bioreactores:

- Bioreactor aeróbico de Lodos Activados de Mezcla Completa, y un
- Bioreactor UASB (por sus siglas en inglés : Upflow Anaerobic Sludge Blanket; en español Biorreactor Anaeróbico de Lodo Ascendente).

2. DISEÑO DEL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

2.1 Características Generales

El Laboratorio de Biorreactores estará diseñado e implementado con los accesorios mínimos requeridos para que en él pueda generarse tanto la investigación como el aprendizaje adecuado al nivel que lo requieren los distintos ramos que la Carrera de Ingeniería Ambiental imparte en el área de los Bioprocesos: Procesos Unitarios, Análisis Instrumental, Laboratorio de Química Ambiental, Química Orgánica, etc.

Las instalaciones del Laboratorio están diseñadas para albergar a una cantidad de 30 alumnos por vez aproximadamente y estará ubicado en el 4º piso de la Facultad de Ciencias de la Universidad. En él existirán distintas áreas de trabajo y almacenamiento:

- Área de almacenamiento de reactivos químicos
- Área de procedimientos analíticos o de trabajo
- Sala de pesaje
- Área de almacenamiento de material de vidrio y equipamiento en general
- Área de biorreactores

- Área de tránsito
- Área de lavado

La distribución de estas áreas se muestra en el siguiente esquema:

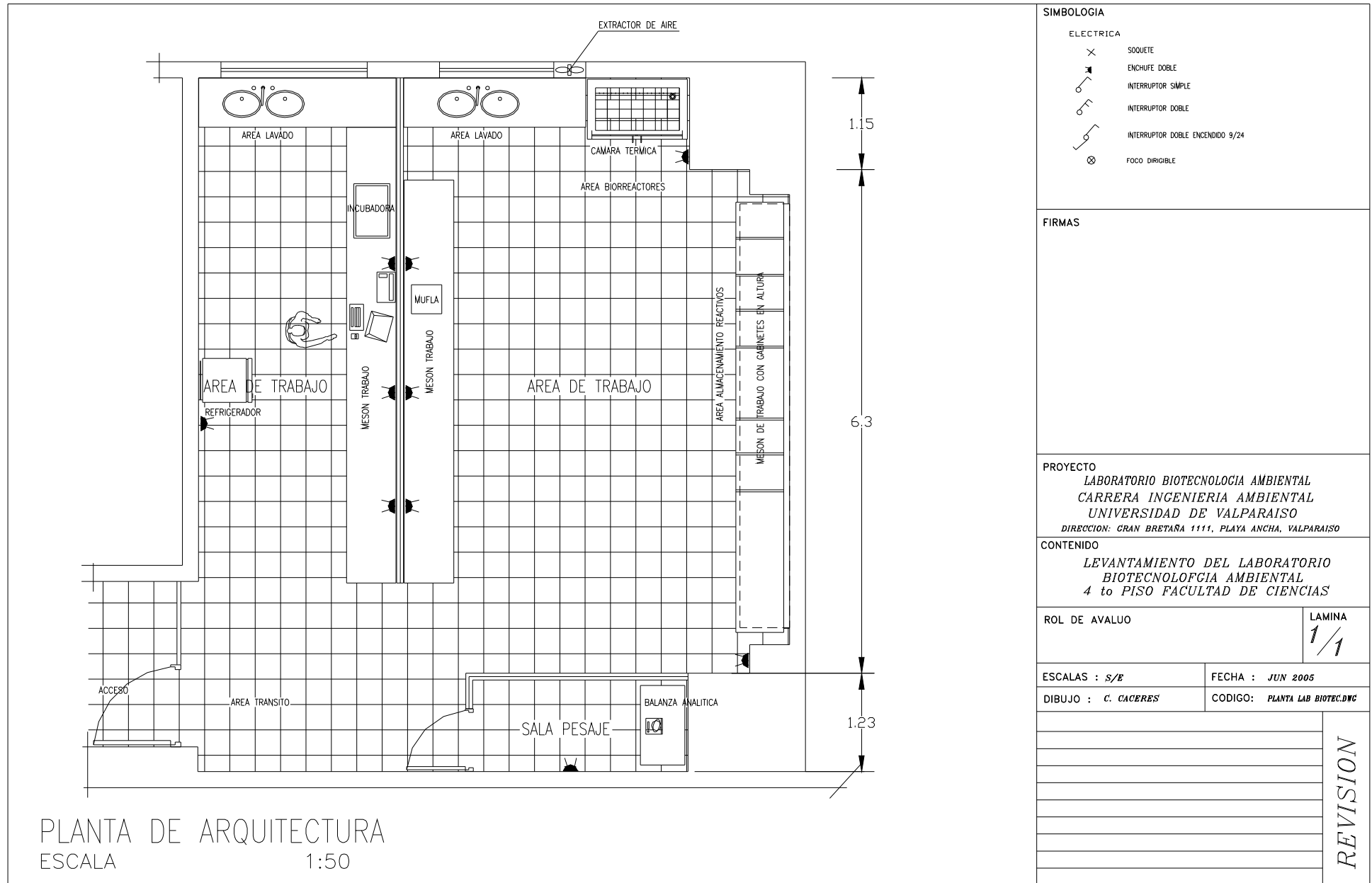


Figura 2.1: Esquema distribución espacial Laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Valparaíso, 4° piso, Facultad de Ciencias. Levantamiento realizado por Cristian Cáceres el miércoles 1° de junio de 2005.

2.2 Procedimientos y Análisis

El Laboratorio de Biotecnología Ambiental tendrá como piezas centrales a los biorreactores que se dimensionan en el Capítulo 3 de esta Tesis. Para su funcionamiento y correcto control, estos biorreactores deberán ser monitoreados por medio de distintos procedimientos analíticos, los cuales llevarán al experimentador a detectar los cambios y estados físicos, químicos y biológicos presentes en los dos sistemas de tratamiento de agua propuestos. Por esto, el Laboratorio estará capacitado para que dentro de sus instalaciones puedan realizarse los siguientes procedimientos analíticos:

- Determinación de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO_5)
- Determinación de Sólidos Sedimentables.
- Determinación de Sólidos Suspendidos Totales.
- Determinación de Sólidos Totales
- Determinación de pH.
- Determinación de la Alcalinidad
- Determinación de la Demanda Química de Oxígeno DQO. (Reflujo cerrado, Método de Titulación).
- Determinación de Nitrógeno
- Determinación de Fósforo Total
- Determinación de la Actividad Metanogénica
- Experimentación variada con biorreactores para tratamiento de efluentes a escala laboratorio (uno aerobio y otro anaerobio).

Las metodologías para la aplicación de los procedimientos recién nombrados pueden revisarse en el ANEXO IV.

2.3 Equipos necesarios y requerimientos

Para poder realizar los procedimientos anteriormente nombrados, es necesario que el Laboratorio cuente con el siguiente equipamiento:

Infraestructura básica:

- Lavadero
- Mesones de trabajo
- Repisas para almacenamiento
- Material de vidrio y porcelana (tubos de ensayo, matraces, pipetas, etc.)
- Material de aseo (lavalozas, paños de aseo, esponjas, etc)
- Sistema de ventilación

Aparatos:

- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Digestor de DQO
- Bomba de vacío
- Baños termorregulados
- Hornos de secado
- Incubadora DBO
- Refrigerador
- Congelador
- Campanas extractoras de aire con aislamiento
- Calefactores/Agitadores magnéticos
- Cronómetros
- Extractores de aire
- pHmetro de electrodo
- Kit para detección de oxígeno disuelto

Horno Mufla

Cámara de aislación térmica para biorreactor anaerobio

Bioreactor de lodo activado

Bioreactor UASB

El detalle de la implementación total se puede revisar en el ANEXO V, en donde se especifica el material adquirido.

2.4 Presupuesto

El costo total de la implementación del Laboratorio (Aparatos, Reactivos, Fungibles, Instalación y Equipamientos) asciende a \$ 23.033.326.- pesos chilenos. (ver detalle ANEXO V)

3. PRINCIPIOS Y DIMENSIONADO DE BIORREACTORES

Para el dimensionado de los bioreactores primero se consideró donde y para qué iban a ser usados, y así decidir sobre tamaño y materialidad. Como éstos estarán ubicados dentro del Laboratorio de Tratamiento de Residuos Líquidos, debían poseer el tamaño adecuado para un Laboratorio (25cm x 60cm x 90 cm app.), y como serán ocupados tanto para investigación como para actividades prácticas, el material debería ser uno que dejara observar los fenómenos que se produzcan en el interior del sistema (que sea transparente). Por ello, se escogió al acrílico transparente, debido a su maleabilidad, fácil mantención, durabilidad y bajo costo.

A continuación se presentan los diseños para un Reactor aeróbico en base a Lodos Activados de Mezcla Completa y un Reactor UASB.

3.1 Reactor aeróbico en base a Lodos Activados en Mezcla Completa:

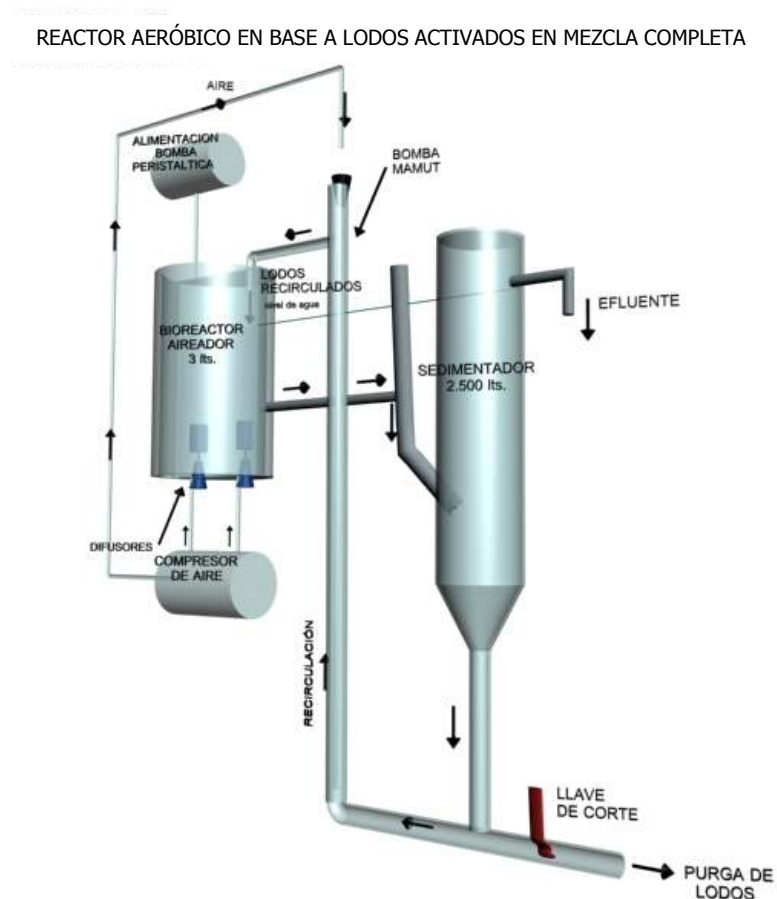


Figura 3.1: Reactor Aeróbico En Base A Lodos Activados En Mezcla Completa

3.1.1 Principios

Este proceso fue desarrollado en Inglaterra en 1914 por Ardern y Lockett, y su nombre proviene de la producción de una masa activada de microorganismos capaz de estabilizar un residuo por vía aerobia. En la actualidad, existen muchas versiones del proceso original, pero son todas fundamentalmente iguales (Metcalf & Eddy, 1996).

Los sistemas de lodos activados más comunes son:

- ♦ Mezcla Completa
- ♦ Flujo en Pistón
- ♦ Canales de Oxidación
- ♦ Contacto – estabilización y
- ♦ Reactores discontinuos secuenciales (Kiely, 1999).

Este apartado se centrará en el estudio de Reactores de Mezcla Completa, ya de que esta versión se presentará más adelante una propuesta de diseño para el Laboratorio proyectado en esta Tesis.

3.1.2 Características Generales de los Lodos Activados

Este tipo de sistemas incluye una amplia gama de diseños, de acuerdo a su configuración, método de aireación y características operacionales. Básicamente, las aguas residuales se ponen en contacto con una población de microorganismos, en un biorreactor, bajo condiciones aeróbicas. Los microorganismos consumen el material orgánico disuelto y suspendido. El efluente del reactor se alimenta a un sedimentador (u otro sistema de separación sólido-líquido), donde se obtiene el efluente final clarificado, mientras que los flóculos microbianos (lodos) son concentrados y reciclados parcialmente al biorreactor.

En el reactor, la materia orgánica disuelta se elimina rápidamente, debido a adsorción en los flóculos y aglomeración del material orgánico suspendido. La degradación metabólica del material orgánico tiene lugar más lentamente, por acción de los microorganismos presentes. En este proceso, parte del material orgánico se oxida a CO_2 (mineralización) y parte se convierte en nueva masa celular (asimilación). Parte de la masa microbiana muere y se descompone regenerando el

material orgánico disuelto. Los lodos desechados representan la cantidad neta de biomasa producida por asimilación.

La naturaleza floculenta de los organismos es un factor fundamental, tanto para la adsorción de materias coloidales, iónicas y en suspensión dentro del agua residual, como para la separación rápida y efectiva de la biomasa del agua tratada.

3.1.3 Parámetros Operacionales para Lodos Activados (Zaror, 1998)

Existen varios parámetros operacionales claves para el funcionamiento del proceso:

- Nivel de carga de la planta.
- Tiempo de residencia hidráulico.
- Concentración de lodos.
- Tiempo de residencia de los lodos.

A continuación, se revisan los principales conceptos acerca de estos parámetros.

- **Nivel de Carga de la Planta:** Se refiere a la cantidad de material orgánico que se carga al reactor. Los parámetros usados comúnmente para describir la tasa de carga:

i) **Carga Orgánica, Q_0 :** Es la cantidad de DBO alimentada por unidad de volumen de reactor, expresada como ($\text{Kg. DBO m}^{-3} \text{ día}^{-1}$):

$$Q_0 = \frac{F[C]}{V} \quad 10$$

donde F es el flujo de afluente a tratar ($\text{m}^3/\text{día}$), $[C]$ es la concentración de DBO del afluente (kg/m^3) y V es el volumen del biorreactor(m^3). La carga orgánica varía con

la operación de la planta, tanto en flujo como en concentración de DBO. Típicamente, los valores de diseño son entre 0,25-2,0 (Kg. DBO m⁻³ día⁻¹).

ii) Razón Alimento/Microorganismos (A/M): La A/M o factor de carga de los lodos es uno de los parámetros más útiles; se refiere a la cantidad de DBO alimentado por unidad de lodos presente en el reactor:

$$A/M = \frac{F[C]}{V X} \quad 11$$

donde $[X]$ es la concentración de lodos en el reactor (sólidos suspendidos en el licor mezclado (SSLM)). Valores típicos para A/M se encuentran en el rango 0,1 - 0,6 [(Kg. DBO alimentado) (Kg. lodos)⁻¹ día⁻¹]. Cuando la cantidad de DBO se expresa como DBO *removido* por unidad de lodos por día, la A/M se denomina Factor de Carga del Proceso. La A/M es uno de los únicos parámetros que pueden ser manipulados por el operador de la planta, ya que la concentración de microorganismos en el sistema, puede ser modificada aumentando o disminuyendo la purga de lodos.

iii) Carga de flóculos: Se refiere a la relación entre DBO y microorganismos en un instante dado (Kg. DBO/kg lodos).

- **Tiempo de Residencia Hidráulico (o Carga Volumétrica):** El tiempo de residencia del líquido (V/F) debe ser suficiente para permitir un tiempo de contacto adecuado, entre el material orgánico disuelto y los microorganismos. Los sistemas convencionales presentan tiempos de residencia hidráulicos entre 6 y 10 horas.
- **Concentración de lodos:** Se refiere a los Kg. lodo/m³ reactor y se denomina sólidos suspendidos en el licor mezclado (SSLM). Normalmente, las determinaciones de lodos (peso seco) no diferencian entre el lodo orgánico e inorgánico. Cuando se determinan los lodos orgánicos, se habla de sólidos

suspendidos volátiles en el licor mezclado (SSVLM). La concentración de lodos en el sistema, está dada por la tasa de reciclo de los lodos y por la capacidad del clarificador secundario para concentrar los flóculos. Los valores típicos de concentración de lodos son del orden de $1,2 - 3,5 \text{ (kg/m}^3\text{)}$ ($3,5$ a $5 \text{ (kg/m}^3\text{)}$) en el caso de aireación extendida).

- **Tiempo de residencia de los lodos, t_R (edad de los lodos):** La característica esencial de los Lodos Activados es la recirculación de lodos concentrados al reactor. Por lo tanto, el t_R es uno de los parámetros más importantes de la operación. Se calcula como la cantidad total de lodos dividida por la tasa de pérdida (purga) de lodos (incluyendo la pérdida en el sobrenadante del clarificador; este es normalmente despreciable). El t_R típico es 7 días (4-10 días).
- **Consumo de O_2 por unidad de DBO removido:** Depende de la naturaleza de la carga orgánica y del t_R , entre otros factores. Varía de sistema a sistema, pero normalmente se encuentran valores en el rango $0,6-2,0 \text{ (Kg. } O_2/\text{Kg. DBO removido)}$ (1,2 para un t_R de 7 días).
- **Requerimientos de Nutrientes:** La relación DBO:N:P es 100:3:0.6 en los sistemas de lodos activados convencional.
- **Tasa de remoción de DBO :** Los sistemas de lodos activos bien operados, pueden lograr alrededor de 90-95% de eliminación de DBO.
- **Tasa de producción de lodos:** Alrededor de $0.5 \text{ Kg. lodos (peso seco)/Kg. DBO removido}$. En cuanto a la sedimentación, normalmente los lodos en el reciclo tienen una concentración del orden de dos veces la concentración en la salida del aireador ($<1\%$ peso seco).

3.1.4 Problemas relacionados con los Lodos.

Lejos de ser un sistema homogéneo, los lodos son un complejísimo sistema ecológico, formado por una mezcla de diferentes clases de organismos, aglomerados, adsorbidos en sedimentos inorgánicos, floculados, etc. Además, contienen compuestos orgánicos e inorgánicos. La composición en cada sistema depende de la composición de los nutrientes, de las condiciones de operación, de las características locales, condiciones climáticas, etc.

Los flóculos microbiales de los lodos, son cúmulos de varios millones de células bacterianas, junto a otros organismos y materiales, que se encuentran en un equilibrio dinámico. Los protozoos contribuyen al proceso de floculación y su presencia en alta concentración se considera un signo de buena salud del sistema biológico. Su importancia radica en su capacidad para alimentarse de las bacterias dispersas, las que no serían separables por sedimentación. Algunos protozoos están fijos en los flóculos, mientras que otros nadan libremente. Muchos protozoos segregan una mucosidad que permite acelerar la floculación.

El Índice de Volumen de los Lodos (IVL) es uno de los índices más usados para determinar las características de sedimentación de los lodos, y corresponde al volumen sedimentado en 30 minutos, expresado por unidad de lodos en suspensión.

Cuando la densidad de los lodos es menor que la del agua, éstos tienden a flotar (esponjamiento), lo que representa un serio problema operacional. Se cree que esto se debe a la presencia de organismos filamentosos, entre los que se encuentran principalmente algunos hongos y protozoos ciliados. Existe controversia sobre cuales son los factores que favorecen la formación de esponjamiento. Al parecer, las condiciones ácidas, el desbalance de nutrientes, las altas temperaturas (sobre 30°C), el descenso de la concentración de O₂ bajo 1 (g/m³) y las bajas tasas de carga orgánica (bajo 0.2 [(kg DBO) (kg lodos)⁻¹ día⁻¹]) favorecen el crecimiento de hongos filamentosos.

Otro problema operacional bastante frecuente es la mala floculación que puede ocurrir debido a bajos niveles de O_2 , bajo pH y presencia de compuestos tóxicos.

Los lodos están compuestos por organismos que se encuentran en distintas etapas de su ciclo biológico, materia orgánica biodegradable y materia inorgánica inerte. La proporción de lodos viables (organismos vivos) es baja. En el proceso convencional, los lodos viables representan entre el 2-3 % (para 4 días de retención de lodos). Mientras más largo el tiempo de residencia, mayor será el número de organismos no viables y viceversa. De ello se deduce que el requerimiento de oxígeno depende de la "edad" de los organismos (Zaror, 1998).

3.1.5 Configuración y dimensionado del sistema

La configuración y dimensionado están basados en trabajos encontrados durante la revisión bibliográfica (con algunas modificaciones)(Guzmán, 1998) y observaciones *in situ* realizadas en los laboratorios de la Carrera de Ingeniería Bioquímica de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, ya que dichos dimensionados responden a necesidades similares a los que se presentan en este Trabajo de Titulación (respecto a aspectos como espacio – escala laboratorio –, tipos de RILES a tratar, etc.).

Este reactor consta de 3 partes principales: el Tanque de biorreacción aireado, el tanque de sedimentación y la bomba mamut, los cuales están comunicados entre sí. Como primer paso, el líquido a tratar ingresa al tanque de biorreacción de 3 Lts de capacidad por medio de una bomba peristáltica. Este tanque está equipado con 2 microdifusores de aire en su parte basal interna, y estos a su vez están conectados a un compresor de aire, el cual insuflará aire al interior del tanque. Este compresor será el que proporcione la ventilación y la mezcla del caldo generado necesaria para la acción de los microorganismos aerobios sobre el contaminante a tratar, según sea el caso.

Una vez transcurrido cierto tiempo (a determinar por el experimentador, de acuerdo a necesidades especiales de sustrato, microorganismos, tipo de RIL a tratar, etc. Ver referencia ANEXO I, ecuaciones 3,4,5 y 6 según corresponda), el agua tratada circulará hacia el tanque sedimentador de 2,5 Lts, en el cual se producirá la decantación de la biomasa generada en el tanque de aireación o biorreacción. En la superficie del tanque de sedimentación se encontrará la tubería por la que saldrá el efluente clarificado. En el fondo del tanque de sedimentación se encuentra una tubería conectada con una Bomba Mamut (conectada a un compresor de aire), la cual conducirá el lodo decantado en tanque sedimentador de vuelta al tanque de birreactor, manteniendo así la biomasa circulando dentro del sistema. Para casos de exceso de fango o biomasa en el sistema, existirá en dirección contraria a la bomba Mamut una llave de paso por la cual se podrán realizar purgas de lodo (ver Figuras 3.2 y 3.3).

La presión del flujo de aire que insuflará el compresor en el tanque de reacción como en la bomba mamut será determinado por el experimentador dependiendo de las necesidades especiales de cada experimentación.

Todo el sistema será desarmable para su mantención y lavado, y se sujetará y mantendrá en su posición por medio de pinzas de 3 dedos y nueces, en una rejilla vertical

ESQUEMA N°2 CORTE LONGITUDINAL

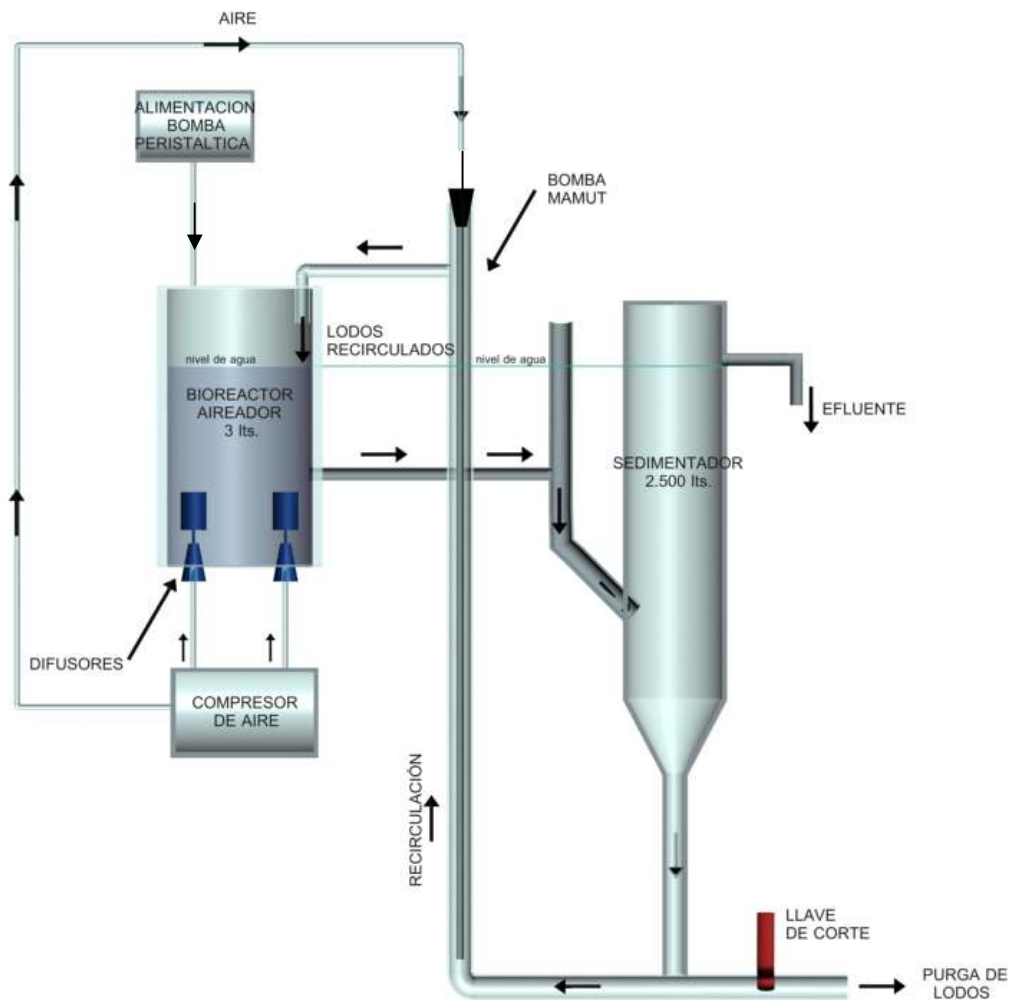


Figura 3.2: Esquema N°2 Corte Longitudinal de Reactor Aeróbico En Base A Lodos Activados En Mezcla Completa.

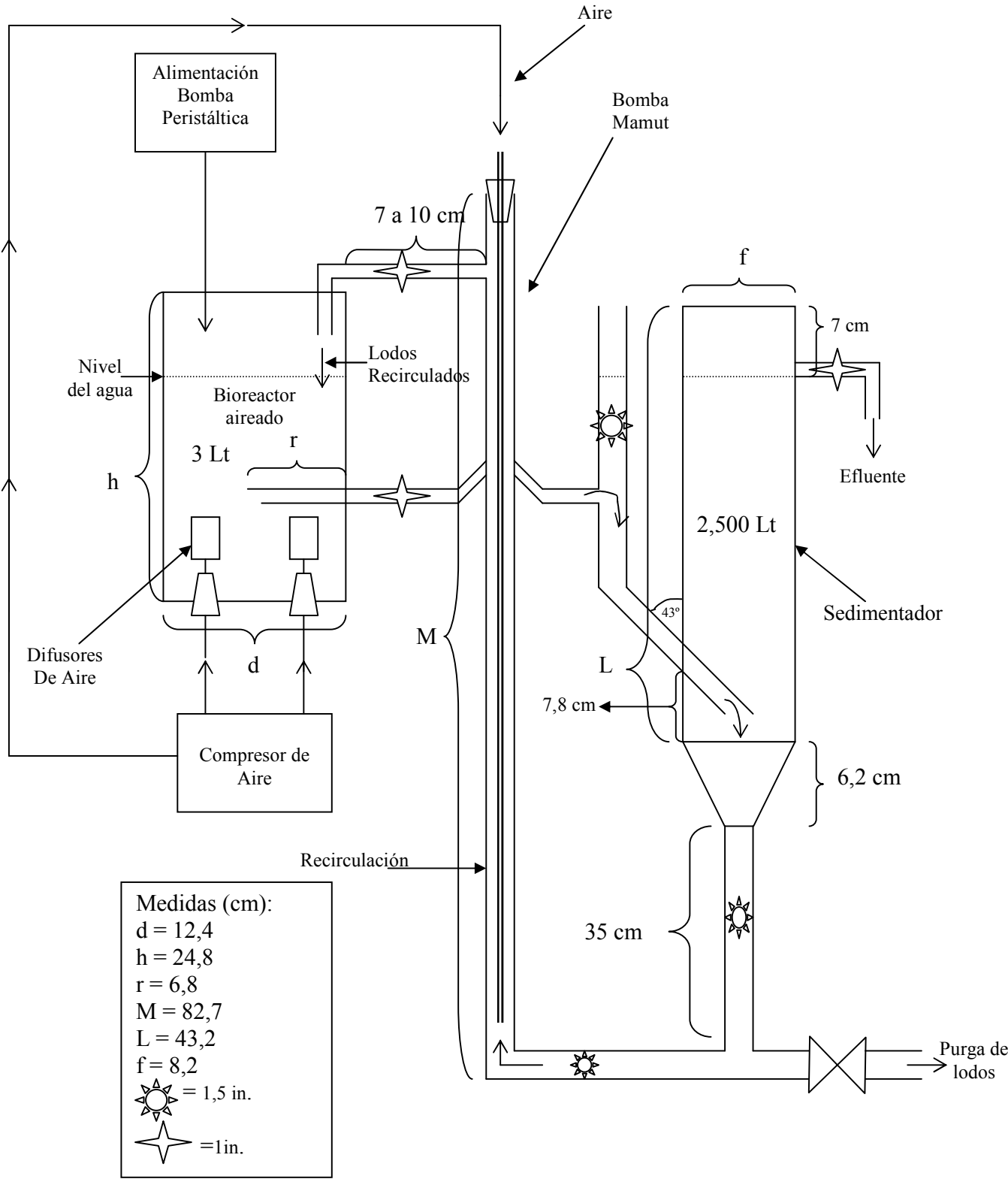


Figura 3.3: Detalle esquema de Biorreactor aerobio de Mezcla Completa

3.2 Reactor UASB:

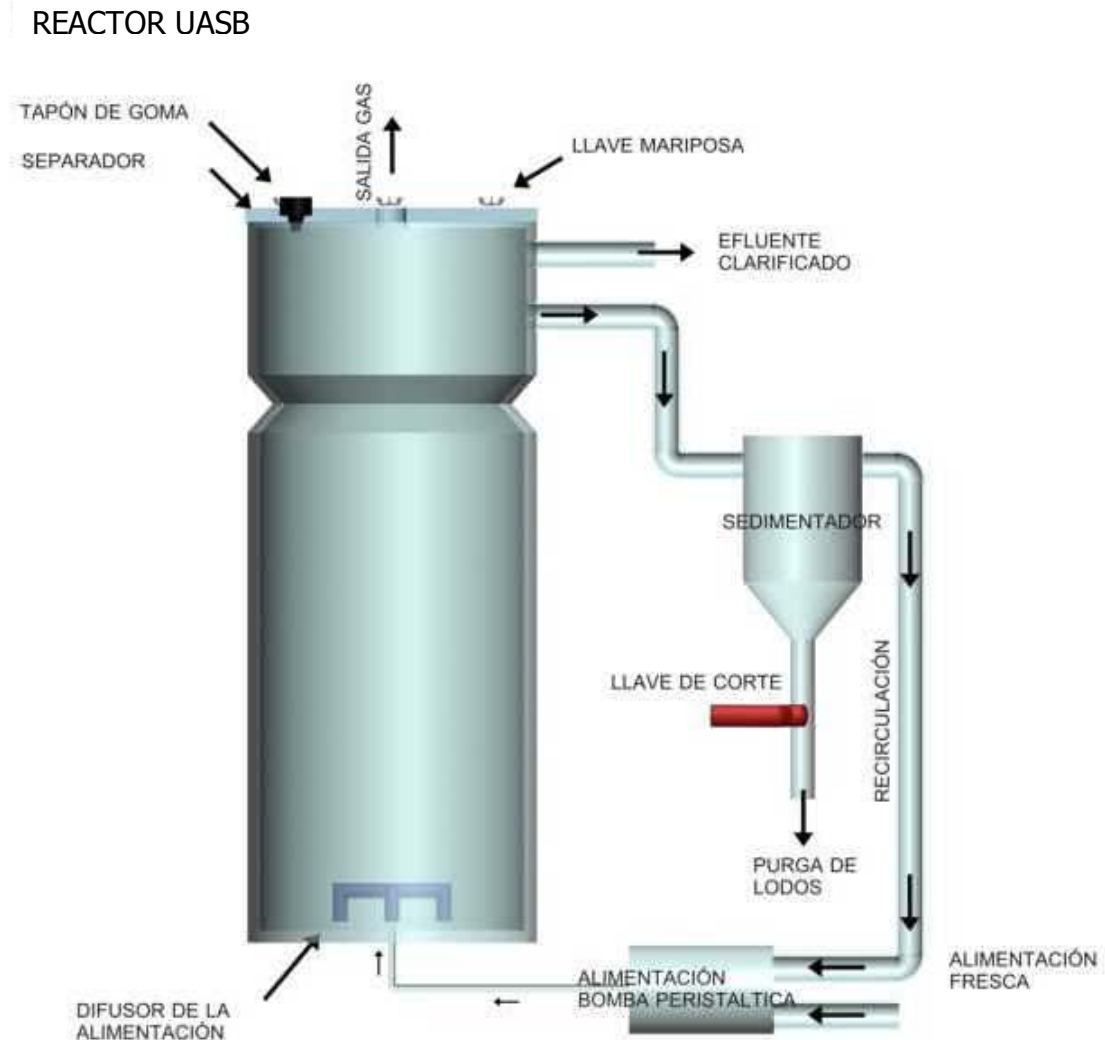


Figura 3.4: Reactor UASB.

3.2.1 Principios

El reactor UASB es sin lugar a dudas la aplicación más exitosa y por tanto más ampliamente utilizada de la digestión anaerobia. Se basa en la formación de un lecho de lodos, de preferencia granular, cuyas buenas propiedades de sedimentación definen su permanencia en el reactor. Las principales ventajas y desventajas del UASB se presentan en la siguiente Tabla:

Tabla 3.1: Características del Reactor de Lecho de Lodos UASB (Aravena, 1999).

Ventajas	Desventajas
Tiene una puesta en marcha rápida, cuando se usa un inóculo obtenido de una planta existente.	La granulación es lenta y no necesariamente controlable.
Existe una alta retención de sólidos, lo que permite tratar aguas con contenido orgánico bajo 0,4 (kg DBO/m ³).	No todas las aguas favorecen la granulación.
Soporta altas cargas.	Requerimientos de inóculo de determinadas características.
Bajo requerimiento de energía.	Sensible a SS y a grasa y aceites en el influente.
Construcción relativamente simple.	Riesgo de flotación de los gránulos durante .rearranques.
Con inóculo apropiado puede arrancar en forma inmediata.	Ca y NH _x inhiben la formación de gránulos.
Aplicable a pequeña y gran escala.	
Operación comparativamente simple.	
Proceso ampliamente probado.	

Los puntos clave en el diseño de un reactor UASB son el sistema de distribución del influente y el sistema separador SLG. El primero debe distribuir de forma homogénea el agua residual, de manera tal de ponerla en contacto con toda la biomasa contenida en el reactor. Una distribución inadecuada generará zonas muertas en el digestor, disminuyendo por tanto la eficiencia del mismo. Por su parte, el sistema separador SLG, además de recolectar el biogás, define la permanencia del lodo al interior del reactor, por lo que su diseño es crucial. Un diseño ineficiente puede generar el lavado excesivo de la biomasa, disminuyendo la concentración al interior (Chamy, 2003).

3.2.2 Parámetros Operacionales para reactor UASB

Los principales factores ambientales que inciden en el proceso anaerobio para el tratamiento del agua residual, están relacionados con aquellos parámetros cuyo

control permite un buen crecimiento de la biomasa y por consiguiente, una mayor eficiencia en la remoción de la materia orgánica y en la producción de biogás (Lazo, 1998).

Los parámetros de operación de un reactor UASB son generalmente la velocidad de carga orgánica (VCO), pH, alcalinidad, DBO, DQO, presencia de los distintos tipos de sólidos (ST, SSV, SS, etc.), actividad metanogénica y si es más acucioso, concentraciones de nitrógeno y fósforo. Un parámetro de vital importancia lo constituye la velocidad superficial. Valores muy elevados pueden traducirse en el lavado excesivo de la biomasa el valor máximo dependerá del diseño del separador SLG y de la calidad del lodo granular.

Entre otros, Lazo nos entrega una descripción de los parámetros de control más importantes:

- Carga Orgánica

Esta variable expresa la cantidad de material orgánico presente en las aguas a tratar. Esta cantidad de materia orgánica se mide a través de la DBO o la DQO. Se utiliza más comúnmente la DQO para representar la carga orgánica, por su reproductibilidad y facilidad de determinación. Su unidad de medida es mg de O_2 /Lt de solución.

Este parámetro es de gran importancia y utilidad, ya que si es medido en la entrada y la salida del reactor, nos dice de la efectividad del tratamiento aplicado y se pueden establecer los balances de DQO.

- Tiempos de Residencia

Es el tiempo necesario para que el volumen alimentado sea igual al volumen del reactor. Existen 2 tiempos de residencia: el Tiempo de Residencia Hidráulico (TRH) y el Tiempo de Residencia Celular (TRC).

Se busca mantener un Tiempo de Residencia de sólidos alto, lo que significa un bajo flujo de bacterias dentro del reactor.

- Velocidad de Carga Orgánica (VCO)

La capacidad de tratamiento de un reactor UASB varía dependiendo tanto de la capacidad del agua residual (biodegradabilidad, concentración, etc.) como de la actividad del lodo utilizado. La carga orgánica máxima debe ser por lo tanto determinada por medio de la realización de ensayos a escala laboratorio y/o piloto. La Tabla 3.2 presenta algunos valores de referencia para la velocidad de carga orgánica aplicada a reactores UASB, dependiendo de la concentración del agua residual y de su fracción de DQO insoluble.

Tabla 3.2: Velocidades de carga orgánica aplicables para reactores UASB operando con lodo granular (Chamy *et al*, 2003)

Concentración (mgDQO/L)	Fracción de DQO insoluble	Velocidad de carga orgánica aplicable a 30°C (kgDQO/m ³ x d)	
		Remoción reducida de sólidos suspendidos	Remoción significativa de sólidos suspendidos
hasta 2000	10 a 30%	8 – 12	2 – 4
	30 a 60 %	8 – 14	2 – 4
2000 – 6000	10 a 30%	12 – 18	3 – 5
	30 a 60 %	12 – 24	2 – 6
6000 – 9000	10 a 30%	15 – 20	4 – 6
	30 a 60 %	15 – 24	3 – 7
9000 – 18000	10 a 30%	15 - 24	4 - 6

Una consideración importante es que a cada tipo de reactor y tipo de influente residual corresponde un valor máximo de VCO, el que si es sobrepasado, se presenta una inestabilidad del reactor y un menor rendimiento en la depuración.

- Temperatura

La temperatura es un parámetro muy importante en el control del proceso ya que afecta directamente a las constantes de equilibrio químico, produciendo desplazamientos en los valores de otros parámetros como la alcalinidad , pH,

precipitaciones o redisoluciones de compuestos inorgánicos, cambios en la composición del gas por efecto del cambio de las solubilidades, etc.

La temperatura también afecta la actividad biológica de los microorganismos. Si se tiene un aumento limitado de la temperatura de corta duración, la actividad microbiana aumenta; sin embargo, si esta alza es sostenida, la degradación del complejo enzimático celular y el aumento de la muerte microbiana reduce la cantidad de microorganismos, pudiendo llegar a desaparecer especies microbianas completas.

La temperatura define a la especies predominantes en los ambientes anaerobios. Para las bacterias metanogénicas mesofílicas, se tiene una temperatura óptima de crecimiento de 35°C. Se pueden obtener incrementos en la tasa de actividad microbiana en el intervalo de 20° a 37°C. Con aumentos de 10°C en la temperatura la actividad microbiana se dobla.

- pH

En los digestores anaeróbicos se tienen distintos tipos de microorganismos, los que intervienen en cada fase de la digestión. Debe establecerse un equilibrio entre la producción de ácidos y su regresión, para que ambos tipos de microorganismos puedan coexistir dentro del digestor y se encuentren posibilidades ambientales para su desarrollo. Concretamente, los microorganismos productores de ácidos y, por consiguiente, el proceso de digestión suele interrumpirse por el decaimiento de los organismos productores de metano, debido a algún cambio ambiental que les hace menos visibles.

El control del pH determina si los distintos procesos se realizan satisfactoriamente. La digestión anaerobia se puede llevar a cabo dentro de un pH comprendido entre 6,2 y 7,8, siendo el óptimo entre 7,0 y 7,2. La digestión puede continuar fuera de este rango aunque en forma ineficiente. Por debajo del pH 6,2, la supervivencia de los microorganismos productores de metano es imposible, y, por consiguiente,

cuando en un digestor se alcanza este pH, se debe considerar interrumpida la digestión.

Se tiene rangos de pH para las diferentes especies de bacterias donde su actividad es máxima. Esto se presenta en la Tabla 3.3:

Tabla 3.3: Rango de pH para distintos tipos de bacterias anaerobias (Marín, 1997).

Bacterias	pH
Hidrolíticas	7,2 – 7,4
Acetogénicas	7,0 – 7,2
Acidogénicas	6
Metanogénicas	6,5 – 8,0

Es importante mencionar que los microorganismos anaerobios pueden ser inhibidos en su actividad microbiológica por la presencia de sustancias tóxicas, lo que está directamente relacionado con el pH. El amoníaco, el ácido sulfhídrico y los ácidos grasos volátiles se disocian en agua dependiendo del pH y de la constante de disociación del compuesto. De esta manera, la forma ionizada es la que provoca problemas, ya que pueden atravesar fácilmente las pared celular de las bacterias metanogénicas y una vez dentro, pueden disociarse nuevamente, provocando un cambio en el pH interno de la célula.

- Potencial Redox

Este parámetro indica la posible presencia de materiales oxidantes que pudieran afectar la operación. Sin embargo, para un efluente homogéneo, y siempre que no produzca la entrada masiva de aire al sistema, el ambiente reductor no se suele ver modificado por los cambios en las demás condiciones de operación, por lo que generalmente es suficiente su comprobación ocasional.

Las bacterias anaerobias estrictas presentan poca tolerancia a las variaciones en el potencial redox, por lo que se recomiendan potenciales menores que -350 mV.

- Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

La concentración de AGV, productos de la fermentación, es de gran importancia en el proceso de la digestión anaerobia, debido a que estos compuestos intermedios pueden provocar la inhibición del proceso al acidificar el reactor. En condiciones normales de operación, la concentración de AGV en el efluente debe ser muy baja o inapreciable, inferior a 100 mg/Lt.

El aumento de la concentración de los AGV puede deberse a una sobrecarga en la alimentación o una inhibición de las metanobacterias. Este aumento puede provocar la destrucción de la capacidad amortiguadora del reactor, disminución del pH y, por lo tanto, la inhibición de las bacterias formadoras de metano.

La cantidad de AGV presentes puede ser determinada directamente por cromatografía o indirectamente por la medida de la alcalinidad. La relación AGV/AT también es indicadora de la estabilidad del reactor; una relación superior a 0,3 – 0,4 es indicadora de fallo inminente.

- Alcalinidad

La alcalinidad se relaciona con la capacidad amortiguadora o tampón del reactor, la que es de vital importancia para un buen desarrollo del proceso, debido a que las bacterias acidogénicas poseen una mayor actividad que las bacterias metanogénicas, ante sobrecargas orgánicas son capaces de provocar la acidificación del reactor, lo que puede evitarse manteniendo en el digestor una óptima capacidad amortiguadora.

El sistema tampón presente en los sistemas anaerobios debido a los valores de pH de operación típicos presentes es el formado por el ión bicarbonato y el ácido carbónico en solución. Un alto índice de alcalinidad indica una marcada capacidad para controlar cambios bruscos de pH.

La alcalinidad por sí sola no representa un parámetro de control, debido a que es muy poco sensible ante el aumento de ácidos dentro del equipo.

Como se dijo anteriormente, la cantidad de AGV presentes en el reactor pueden ser determinados mediante cromatografía o indirectamente. La medición indirecta de AGV se hace determinando la alcalinidad parcial y total.

De acuerdo al método de control, se propone realizar para el caso de la digestión anaerobia, una valoración hasta pH 5,75 que corresponde a la alcalinidad parcial (AP) aportada básicamente por el bicarbonato, y luego hasta 4,3 que determina la alcalinidad total (AT). La diferencia entre ambas alcalinidades corresponde a la contribución debida a las sales de los AGV.

De esto, entonces, se puede determinar la razón AGV/AT que es uno de los parámetros más importantes para constatar la estabilidad del funcionamiento del reactor anaerobio.

- Compuestos Tóxicos e Inhibidores

Es de gran importancia controlar la presencia de sustancias tóxicas o inhibitorias de las bacterias anaerobias en el reactor. Estos inhibidores se pueden diferenciar de acuerdo a la reversibilidad de su acción y se clasifican en *bacteriostáticos* y *bactericidas*.

Los inhibidores bacteriostáticos también llamados inhibidores *metabólicos*, provocan una inhibición reversible, es decir, una vez que el compuesto desaparece del medio, se recupera la actividad original.

Los inhibidores bactericidas o *fisiológicos*, son capaces de mantener sus efectos permanentemente, ya que afectan al material celular de las bacterias de manera irreversible. Así, los agentes bactericidas ejercen una acción catastrófica, ya que provocan la muerte de la población microbiana.

Las consecuencias inmediatas pueden ser la disminución de la producción de metano y la posterior acidificación del reactor.

Los compuestos tóxicos más comunes son:

Amoníaco: El amoníaco es un compuesto muy común en aguas residuales, el cual proviene de la degradación de proteínas y aminoácidos o por su uso en los procesos industriales.

Una concentración de 200 – 300 mg/Lt de nitrógeno amoniacal no disociado (NH_3) se considera inhibitoria para la metanogénesis, a pH neutro. Si se tiene una concentración de 1500 – 3000 mg/Lt, resultan ser inhibitoras sólo a pH alcalinos. Concentraciones por sobre estos valores resultan ser fuertemente inhibitorias independientes del pH.

Ácido Sulphídrico: Este compuesto se forma por la degradación de proteínas y por la reducción de sulfatos y sulfitos que participan en reacciones biológicas de óxido – reducción.

El H_2S es un compuesto muy tóxico en su forma no disociada. Concentraciones de 100 mg/Lt inhiben fuertemente la producción de metano, mientras que concentraciones por sobre los 200 mg/Lt se consideran fuertemente inhibitorias para la digestión anaerobia.

Las bacterias acetoclásticas son afectadas por concentraciones entre 26 y 322 mg/Lt de H_2S , mientras que las bacterias hidrogenofílicas son afectadas por concentraciones entre 64 y 96 mg/Lt.

AGV: Como ya se mencionó anteriormente, el control de la concentración de los AGV en el reactor puede llegar a ser determinante para el buen funcionamiento del reactor, ya que en exceso pueden llegar a acidificarlo, provocando el fallo del proceso.

Sales de metales pesados: La biomasa anaerobia necesita de metales nutrientes para sobrevivir. No obstante, ante un pequeño aumento en la

concentración en la concentración de los iones metálicos, éstos se vuelven tóxicos.

Los metales pesados generalmente son más tóxicos en su forma soluble, aunque muchos de éstos precipitan en presencia de sulfuros y en condiciones alcalinas, disminuyendo así su efecto inhibidor.

Las sales de Cobre, Cinc y Cadmio resultan tóxicas para las metanobacterias, por lo que su concentración no debe ser superior a los 0,5 mg/Lt.

Existen otros compuestos tóxicos como los compuestos clorados, que son nocivos a muy bajas concentraciones. Por otra parte, iones CN^- resultan tóxicos a niveles de 1 ppm, sin embargo, las bacterias pueden adaptarse a mayores concentraciones.

- Nutrientes

Por ser la digestión anaerobia un proceso biológico, la biomasa requiere de ciertos nutrientes inorgánicos esenciales para su crecimiento. La ausencia o limitación de estos nutrientes son por lo tanto un factor limitante para el proceso.

La biomasa requiere nutrientes tales como Nitrógeno, Fósforo, Azufre y elementos traza como Níquel, Cobalto, Helio y Molibdeno, los cuales a ciertas concentraciones aumentan la eficiencia del proceso.

La cantidad de nutrientes debe mantenerse en ciertas proporciones para que el reactor opere de la mejor manera, por lo que comúnmente se recomienda una relación DQO : N : P : S de 400 : 5 : 1 : 0,2.

- Homogeneización

Para homogeneizar el sistema, existen distintos métodos que utilizar, dependiendo de la situación, usando:

1. La distribución de la alimentación, la que además permite obtener una buena distribución de microorganismos.

2. La agitación, que dependiendo del caso, logra facilitar procesos de transferencia de masa.
 3. La recirculación, ya sea interna o externa del efluente en sistemas de lecho fijo. O bien, aprovechando el mismo gas producido por el sistema, el cual se recomprime y se reinyecta al equipo (Sistema de Contacto).
- Producción de Biogás

El biogás se constituye principalmente por CO_2 y metano, aunque generalmente se encuentran pequeñas cantidades de ácido sulfúrico, N, H y CO. La composición del biogás se encuentra en la Tabla 2.4:

Tabla 3.4: Composición del Biogás (Lazo, 1998).

GAS	Composición (%)
Metano	45 – 70
CO_2	30 – 45
Oxígeno	0,1 – 2
Nitrógeno	0,5 – 5
Ac. Sulfúrico	0,001 – 0,002

El biogás se genera de la DQO eliminada del influente, sin considerar la DQO que utilizan los microorganismos para su supervivencia. Por esta razón, las DQO de entrada y salida son muy buenos indicadores de la eficacia del sistema, y con lo que, además, se puede plantear un balance de velocidad de carga orgánica (Lazo, 1998).

En el caso de aguas residuales de baja concentración (DQO menores a 1000 mg/L) es posible que el reactor se vea limitado por la carga hidráulica antes que por la carga orgánica alimentada. Dado que existe una velocidad superficial máxima a la que se puede operar el reactor, existirá por tanto un flujo máximo de

entrada al mismo, y un tiempo de residencia mínimo. En el tratamiento de aguas de baja concentración, la velocidad de carga orgánica máxima a aplicar puede quedar determinada por tal tiempo de residencia mínimo, aunque la biomasa contenida al interior del reactor sea capaz de metabolizar una mayor carga de materia orgánica. Es así como para un reactor UASB de 6 m de altura, alimentado con agua residual de 1 gDQO/L no se puede superar una VCO de 6 kgDQO/m³*d sin superar una velocidad superficial de 1,5 m/h. Por tanto es totalmente factible que un digestor UASB se vea limitado por consideraciones hidráulicas y no por su capacidad de degradación de la materia orgánica.

3.2.3 Características Generales del Inóculo.

Mientras mayor sea la cantidad de lodo anaeróbico usado como inóculo, y mejor su calidad, más rápido será completada la puesta en marcha de un reactor. Para un UASB, el lodo granular permite arranques rápidos, con incrementos más rápidos de la carga orgánica aplicada, y con una mayor producción de biogás. Además, dada su mayor concentración (gSSV/Lt), se logra inocular una mayor cantidad de biomasa a pesar de utilizarse iguales volúmenes de inóculo en comparación con otro tipo de lodo.

Es importante que el inóculo se encuentre adaptado a un efluente similar, dado que no todos los tipos de agua favorecen la granulación, pudiendo incluso provocar la desintegración del gránulo en caso de utilizarse inóculo granular. En caso de no tener acceso a lodos anaerobios de buena calidad, puede usarse una mezcla de varios inóculos, con el fin de enriquecer y homogeneizar la flora bacteriana. Entre estas fuentes se cuentan las contenidas en la Tabla 3.5:

Tabla 3.5: Actividad metanogénica específica y concentraciones de diversos lodos (Lettinga, 1991).

Fuente (tipo)	Act. Metanogénica (gCH ₄ DQO/gSSVd)	Concentración típica (gSSV/Lt)
Lodo Granular	0,5 a 1,5	70 a 120
Biopelícula en F.A.	0,4 a 1,2	ND
Lodos domésticos digeridos	0,02 a 0,2	15 a 40
Estiércol digerido	0,02 a 0,08	20 a 80
Lodo fosa séptica	0,01 a 0,07	10 a 50
Laguna anaerobia	0,03	30
Estiércol de chanco fresco	0,001 a 0,02	30 a 140
Sedimento laguna	0,002 a 0,02	20 a 50

ND: no determinado debido a la dificultad de muestrear biomasa en este tipo de reactores.

En lo que se refiere a volúmenes de inóculo, en general se recomienda al menos un 10% del volumen total del reactor. Paralelamente, algunos autores hablan de valores cercanos a los 10 Kg de SSV por m³ del reactor (Lettinga, 1991).

3.2.4 Configuración y dimensionado del sistema

El reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket; en español Biorreactor Anaeróbico de Lodo Ascendente) diseñado en esta Tesis, consta de 2 partes principales: el tanque de biorreacción y un tanque de sedimentación. El tanque de biorreacción posee a su vez dos áreas definidas: el área del lecho fluidizado y el Separador SLG (sólido-líquido-gas) (ver Figuras 3.5 y 3.6). Al fondo del área donde se encuentra el lecho fluidizado, se encuentra el difusor de alimentación de 4 brazos que surte al tanque del líquido a tratar desde una bomba peristáltica. A su vez, éste proporciona el movimiento necesario para la correcta acción de los microorganismos anaerobios sobre el líquido a tratar. En la parte superior del tanque de reacción se encuentra el Separador SLG, el cual consta de un sección en la que se reduce el diámetro interno del tanque en un 29,5% (13 a 9,16 cm). Esto cambiaría el curso de las burbujas de gas generadas desde el metabolismo de los microorganismos anaeróbicos cercanas a la pared del tanque de reacción, acercándolas hacia el centro del mismo. Sobre esta sección se encuentra un embudo de 10 cm de alto y 11,7 cm de diámetro (reducción de área interna de un 20% app, según Lettinga, 1991). Es éste el encargado de captar las burbujas de

gas generadas y conducir las hacia una única vía de salida para el gas en la tapa superior del tanque. Ésta, está sujeta al tanque por medio de 8 llaves mariposa y en su centro está sujeto por el cuello el embudo. En la tapa también se encuentra un tapón de goma que puede retirarse para tomar muestras del líquido que asciende por entre el borde del embudo y la pared interna del tanque.

Existen 2 salidas para el líquido tratado: una superior por la que se evacua el líquido clarificado y otra inferior 2 cm más abajo, la cual conduce al líquido a un sedimentador, el cual, a su vez, está conectado con la bomba peristáltica que suministra la alimentación fresca, generándose así un sistema con recirculación (ver FIGURA 3.6). La recomendación general es incorporar una línea de recirculación de aproximadamente un 25% del caudal de alimentación. La recirculación se usa habitualmente durante la puesta en marcha, sobre todo durante un periodo de alimentación batch, y la primera etapa de alimentación continua (Lettinga, 1991).

Es importante señalar que los sellos del tanque deben evitar siempre la entrada de aire hacia su interior, ya que esto provocaría la eliminación de los microorganismos anaeróbicos presentes dentro del tanque.

ESQUEMA N° 3 CORTE LONGITUDINAL

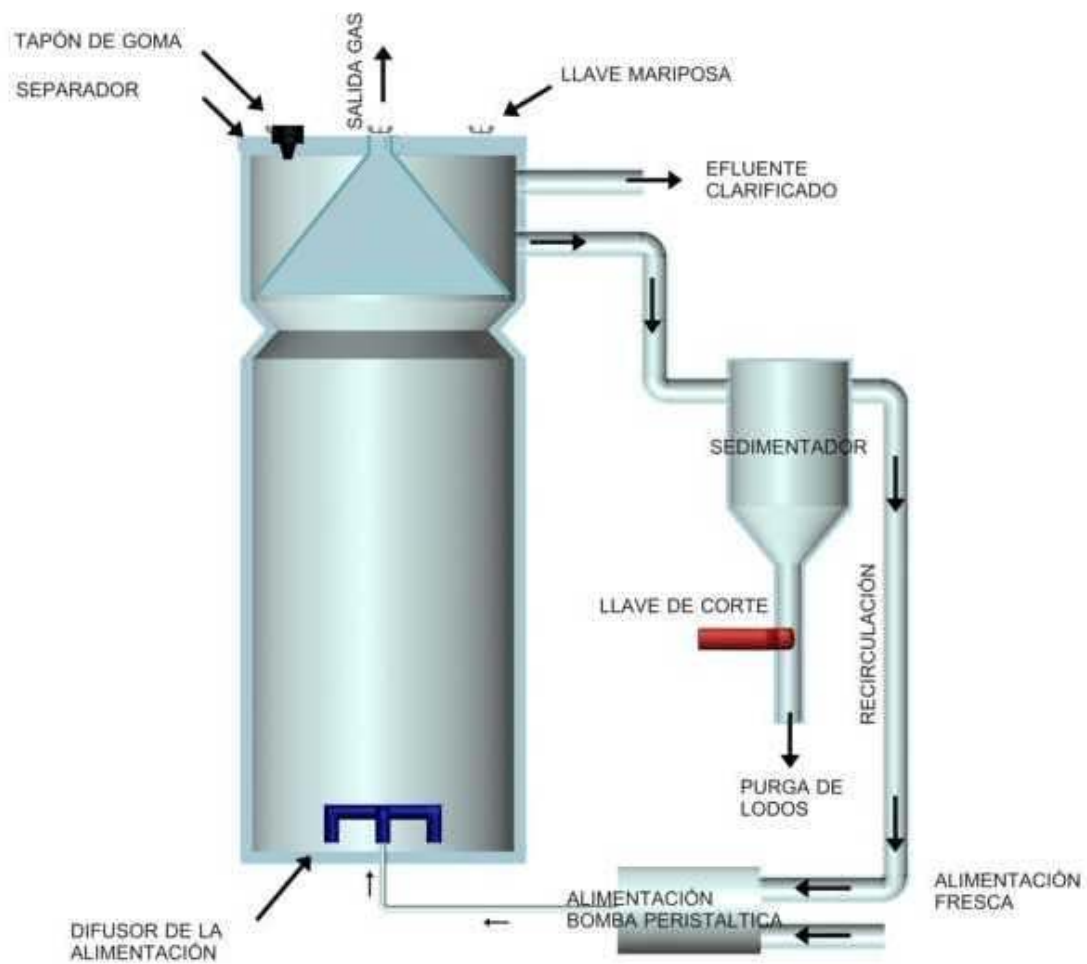


Figura 3.5: Esquema N°3 Corte longitudinal Reactor UASB

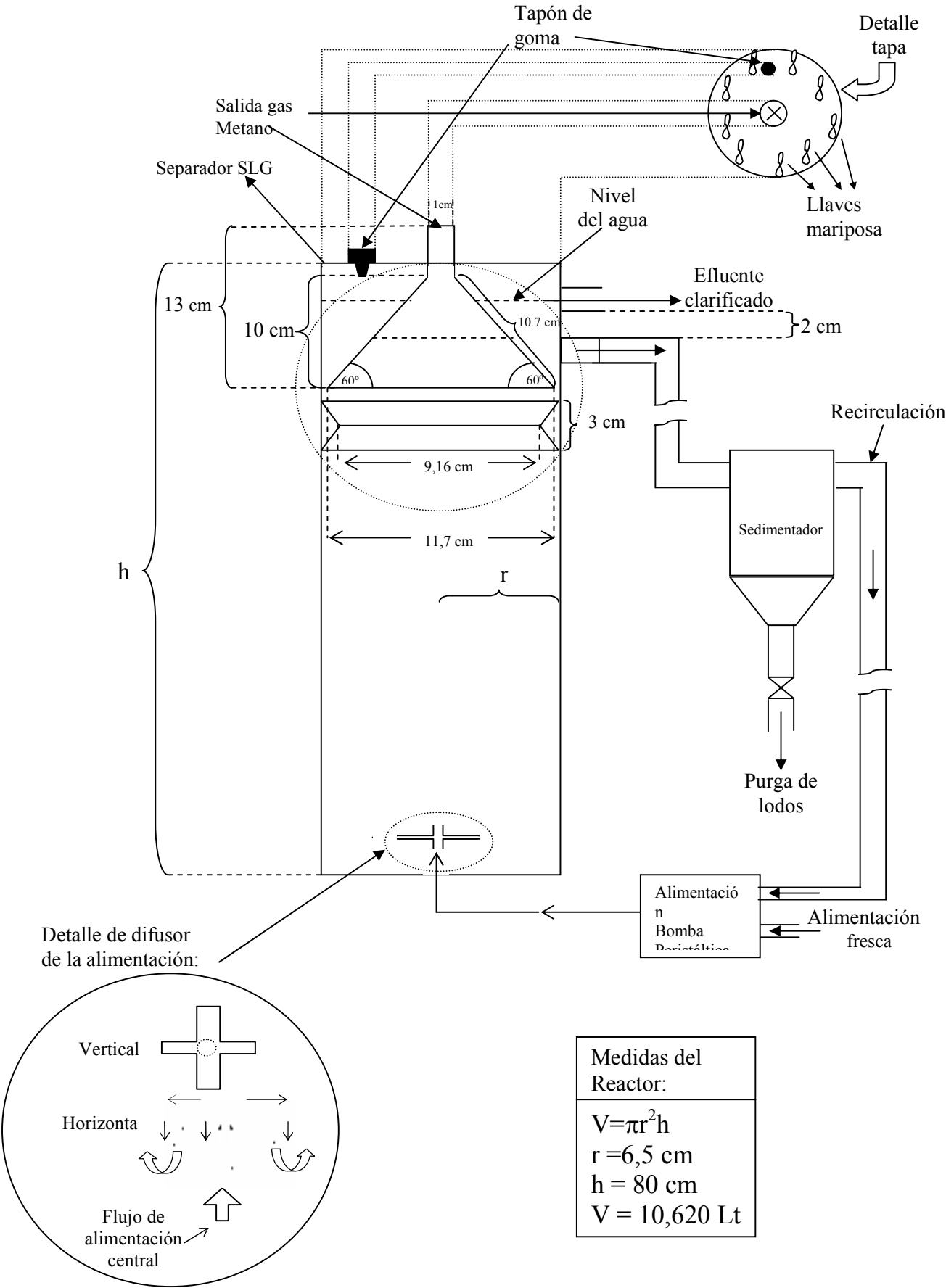


Figura 3.6: Detalle Esquema reactor UASB.

El biorreactor anaeróbico funcionará dentro de una Cámara Térmica, esquematizada en la Figura 3.7, que ha sido diseñada para mantener la temperatura necesaria para que el metabolismo microbiano pueda mantenerse de óptima.

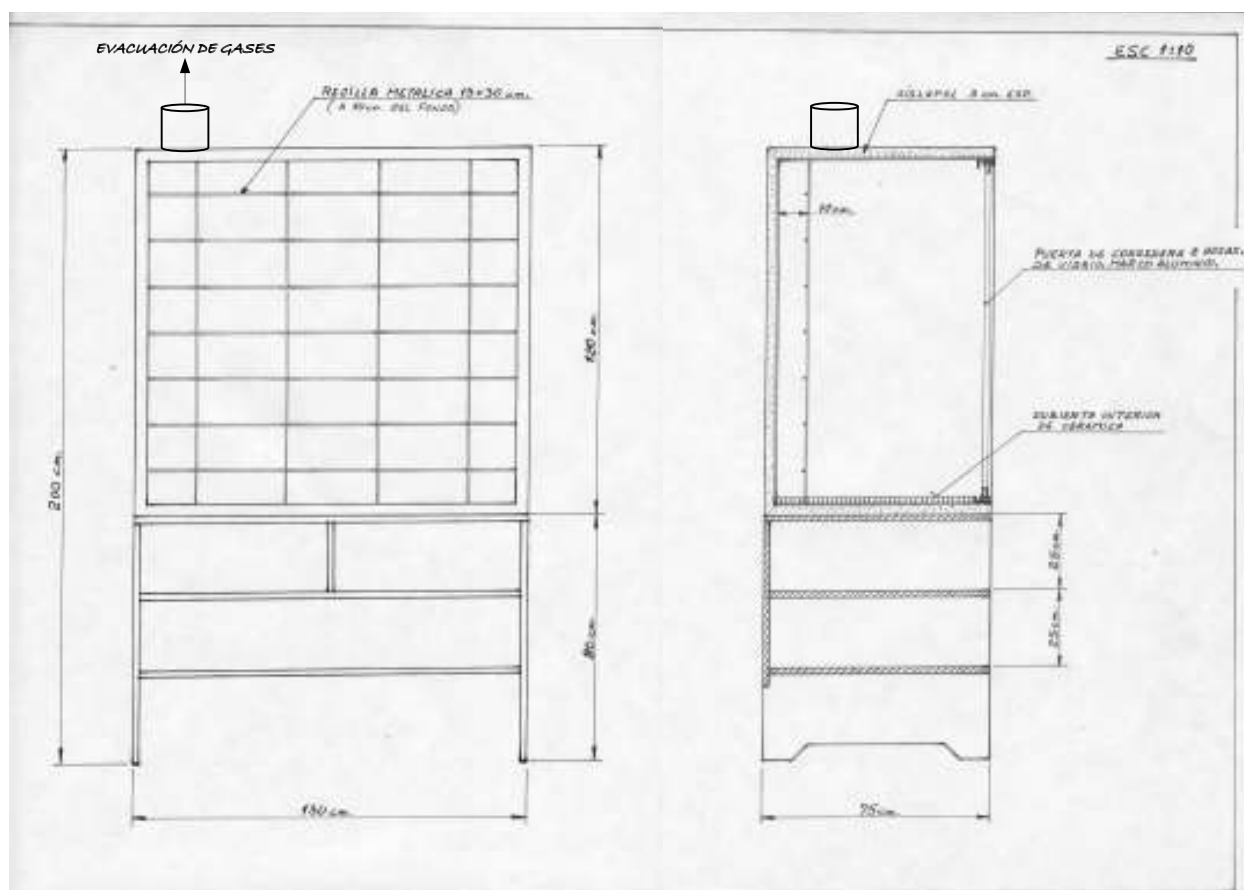


Figura 3.7: Esquema Cámara Térmica.(Diseño: Rafael Cáceres)

La Cámara Térmica esta compuesta en sus caras externas e internas de recubrimiento de maciza de $\frac{1}{2}$ cm, recubierta en la cara visible por acrílico. Entre las caras internas y externas se ubicará el material aislante AISLAPOL de 3 cm de espesor, el que mantendrá la aislación térmica necesaria. El área o mesón de trabajo estará cubierto con cerámica en baldosas, lo que facilitará su rápida y fácil limpieza, además de resistencia al desgaste por uso. En una de las esquinas del mesón de trabajo se ubicará un desagüe conectado a la alcantarilla, que permitirá la rápida evacuación de líquidos cuando se requiera. Anterior a la pared posterior, se ubicará una rejilla metálica esmaltada (a 10 cm del fondo) con medidas 15x30

cm de grilla y con un grosor de varilla de 1 cm de diámetro. Esta rejilla ira empotrada en el mesón de trabajo de cerámica, así como también en paredes laterales y cielo de la Cámara Térmica, y cumplirá la función de servir de soporte para la instalación del biorreactor que se instale en su interior y el equipamiento que lo requiera, por medio de llaves de sujeción.

DISCUSIONES y RECOMENDACIONES

El resultado obtenido en esta Tesis de Titulación conlleva al planteamiento de preguntas tales como ¿será realmente suficiente el dimensionamiento de las cantidades de materiales?, ¿suplirán las necesidades mínimas de la Carrera las instalaciones en donde se emplazará el Laboratorio? Originalmente esta Tesis fue pensada para suplir una necesidad que presenta el área de Pregrado de la Carrera de Pregrado de Ingeniería Ambiental, entiéndase por ésto los ramos que intervienen en el Área de Tratamiento de Aguas, pero el desarrollo de los acontecimientos y las circunstancias que se hicieron manifiestas durante la elaboración de la Tesis hicieron que este objetivo principal se cambiara, entregándose parte del espacio del Laboratorio al Área de Ecología de la Carrera, y el resto en su totalidad a los tesisistas que en el momento trabajan en temas relacionados con el Tratamiento de Aguas. Esta necesidad era real y se hizo presente desde que los primeros alumnos comenzaron con sus trabajos de titulación, y necesitaban instalaciones apropiadas para realizar actividades prácticas dentro de sus investigaciones, tanto en el Área de tratamiento de Aguas como en Ecología.

Se debe tener presente que este tipo de instalaciones (Laboratorios) son las que contribuyen en gran medida a determinar el perfil al egresado, pudiendo éste desarrollar las capacidades y conocimientos adquiridos durante los años de estudio. Es así como el alumno tiene la posibilidad de orientar su formación y posterior desarrollo profesional en las áreas en las que ha podido aplicar habilidades de investigación y desarrollo de proyectos de forma tangible, y gracias a que ha estado inmerso en las distintas realidades (aunque sea a escala) de su ámbito laboral, puede elegir con certeza el área en el cual desea desempeñarse, teniendo en cuenta que la Ingeniería Ambiental es multidisciplinaria.

A pesar que el objetivo original a cambiado, es importante no perderlo de vista, ya que como se mencionó en el inicio de esta Tesis, es fundamental que *durante* la

formación del alumno, éste tenga acceso a las posibilidades prácticas que ofrece el Laboratorio, y no tener que esperar a terminar el pregrado para poder ocupar las instalaciones.

En el ámbito práctico, el Laboratorio de Biotecnología Ambiental tendrá una capacidad máxima aproximada de 30 personas, por lo que deberá contemplar las siguientes normas mínimas de seguridad:

- No correr dentro del Laboratorio.
- Mantener las zonas de tránsito y salidas despejadas, y contar con elementos de emergencia (extintor, lavador de ojos, salida, etc.).
- No mantener conectados aparatos a la red eléctrica si no es estrictamente necesario.
- Mantener gabinetes en altura siempre cerrados con llave, excepto cuando se estén usando para sacar o guardar elementos.
- Mantener la limpieza y el orden dentro del Laboratorio.
- No comer, beber ni fumar dentro del Laboratorio.
- No cruzar cables ni tubos por las áreas de tránsito.
- Disponer un Botiquín de Primeros Auxilios en un lugar de rápido acceso.
- Mantener una ventilación adecuada del Laboratorio, evitando así la acumulación de gases en su interior.
- Mantener vigilancia constante de los procedimientos aplicados en su interior.
- Disponer de un adecuado cierre del Laboratorio para evitar pérdidas de material de trabajo.

Es recomendable hacer que alguna institución de seguridad en el trabajo (como el IST) verifique las condiciones de seguridad con que cuenta el Laboratorio, ya que su asesoramiento contribuiría a disminuir los riesgos de posibles accidentes en su interior.

Si posteriormente se desean ocupar las instalaciones del Laboratorio para la prestación de servicios externos como toma de muestras, análisis, investigaciones, etc., es necesario considerar la certificación de los procedimientos y de las mismas instalaciones, por lo que se incluyen en el ANEXO II una pequeña introducción a las Normas Chilenas correspondientes a este tema, siendo la más representativa para esto la Guía ISO/IEC 25: “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”, que implementa sistemas de calidad en laboratorios, llamando la atención hacia las actividades de calibración y de ensayo (siendo este último el caso del Laboratorio de Biotecnología Ambiental) y se toman en cuenta otros requisitos para la competencia de laboratorios tales como los establecidos en el Código OECD de Buenas Prácticas de Laboratorio y las normas de la serie ISO 9000 sobre aseguramiento de calidad (Guía ISO/IEC 25).

La presencia de un encargado permanente se hace indispensable, ya que ciertos sistemas biológicos y el mismo funcionamiento de los reactores requiere de atención periódica, además de conocimientos técnicos mínimos de laboratorio. Esta persona deberá también mantener un control de los insumos del Laboratorio por medio de registros y/o inventarios, además de llevar una Bitácora de los procedimientos realizados y una programación de los procedimientos por realizar.

Se deberán además mantener ubicables y en un mismo lugar, todas las garantías de reposición de piezas y/o reparación de todos los aparatos del Laboratorio, para recurrir a ellas en caso de ser necesario.

En cuanto a los biorreactores, su materialidad (acrílico y vidrio) permite su aseo cada vez que sea necesario. Esto se puede determinar por simple inspección visual, al observar acumulación de residuos orgánicos en sus paredes internas. Esta limpieza se puede realizar si ello no conlleva una interrupción de alguna actividad práctica en la que se estén utilizando los biorreactores, o si es estrictamente necesario. Esto puede realizarse con una escobilla o esponja, y con

una dilución de jabón o ac. sulfúrico muy diluido o una dilución poco concentrada de cloro comercial de limpieza. Luego del lavado, se debe proceder a un prolijo enjuague con agua corriente (de preferencia destilada), para la eliminación de todo residuo que pueda quedar, tanto de materia orgánica, como de elemento limpiador.

El almacenamiento de las piezas limpias de los biorreactores debe ser en un lugar fresco y seco, protegidas del polvo, en un gabinete cerrado, sin mayores cuidados.

Se hace interesante contar dentro del Laboratorio con un ejemplar actualizado del manual "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", manual de estándar internacional, por lo que constituye un excelente material de consulta sobre metodologías de laboratorio, además del resto de la bibliografía que el o los encargados consideren necesaria.

CONCLUSIONES

Como conclusión del presente Trabajo de Titulación tenemos el diseño de un Laboratorio de Biotecnología Ambiental abocado al estudio e investigación del Tratamiento de Aguas Residuales, que cuenta con 2 biorreactores a escala laboratorio: un UASB y un Bioreactor de Mezcla Completa de Lodo Activado, además de establecer cual es el equipamiento necesario y la conformación de las instalaciones físicas requeridas para que el Laboratorio funcione de manera relativamente autónoma, por cuanto al funcionamiento de dichos biorreactores y a otros procesos que el o los futuros investigadores consideren necesarios de realizar en sus instalaciones. Además se logró determinar el costo en detalle y total de la implementación del Laboratorio, que asciende a un total de \$ 23.033.326 pesos chilenos.

BIBLIOGRAFÍA

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 1992, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 18th edition, E.E.U.U.

Aravena R., J.P., 1999, "Puesta en marcha y operación de un reactor de lecho fluidizado para aguas residuales a escala laboratorio", Memoria para optar al Título de Ingeniero Civil Químico. Profesor Guía: Dr. Daniel Alkalay. Universidad Técnica Federico Santa María.

Barbera, E. *Et al*, 2000, "El Constructivismo en la Práctica. N°2 Colección Claves para la Innovación Educativa". Editorial Laboratorio Educativo y Editorial GRAÓ.

Chamy, R. *et al*, 2003, "Archivos de Ingeniería Bioquímica. Tratamiento de Residuos Líquidos y Sólidos". Ediciones Universitarias de Valparaíso. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Guía ISO/IEC 25 (ISO/IEC GUIDE 25 (es)): "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración", 1990, 3^{ra} edición. Organización Internacional para la Normalización, (ISO), Ginebra, Suiza. Instituto Nacional de Normalización, (INN), Chile.

Guzmán R., K. A., 1998, "Co-Tratamiento aerobio de aguas residuales industriales y domésticas", Tesis para optar al Título de Ingeniero en Ejecución Químico mención Control, Profesora Guía: L. Guerrero S., Departamento de Procesos Químicos, Universidad Técnica Federico Santa María.

Jeison, D., 1999, "Estudio del comportamiento de Reactores UASB y EGSB para el tratamiento de Aguas residuales", Tesis para optar al Grado de Magister en Ciencias de la Ingeniería mención en Ingeniería Bioquímica. Profesor Guía: Rolando Chamy. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Kiely, G., 1999, "Ingeniería Ambiental. Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión", 1^a edición en español, Editorial McGraw Hill.

Lazo C., P.J., 1998, "Puesta en marcha de un reactor anaerobio EGSB para el tratamiento de Aguas Residuales", Memoria para optar al Título de Ingeniero en Ejecución Químico Mención Operaciones. Profesores Guías: Dra. Lorna Guerrero y Dr. Daniel Alkalay. Universidad Técnica Federico Santa María.

Lettinga, G.L.W. Hulshoff Pol. 1991, "UASB-Process Dewatering Various Types of Waste-waters". Wat. Sci. Tech. Vol 24 (8), p 87-107.

Marín M., P. N., 1997, "Diseño y puesta en marcha de un sistema anaerobio de lecho fluidizado para el tratamiento de aguas residuales", Tesis para optar al Título de Ingeniero Civil Químico, Profesores Guía: L. Guerrero S. y D. Alkalay L., Departamento de Procesos Químicos, Universidad Técnica Federico Santa María.
Metcalf & Eddy, INC., 1996, "Ingeniería de Aguas Residuales" ,Tomos I y II, 3ª edición, Editorial McGraw Hill.

Tchobanoglous, G., Theisen, H., Vigil, S., 1994, "Gestión Integral de Residuos Sólidos", Volumen II, Editorial McGraw Hill.

Zaror, C., 1998, "Introducción a la Ingeniería Ambiental", Documento electrónico.

Zeta-Meter +3 Catalog, 2003. "El Balance de Repulsión y Atracción" Catálogo de instrumento medidor electrónico de Potencial Zeta para soluciones coloidales.

ANEXO I

TRATAMIENTO SECUNDARIO DE RESIDUOS LÍQUIDOS

El objetivo del tratamiento biológico del agua residual es la eliminación de los contaminantes presentes en ella, por medio de su metabolización y síntesis. En el caso del agua residual doméstica, el principal objetivo es la reducción de la materia orgánica presente y, en muchos casos, la eliminación de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo. A menudo, la eliminación de compuestos a nivel traza que puedan resultar tóxicos, también constituye un objetivo de tratamiento importante. En el caso de las aguas de retorno de usos agrícolas, el principal objetivo es la eliminación de los nutrientes que puedan favorecer el crecimiento de plantas acuáticas, como el nitrógeno y el fósforo. En el caso de las aguas residuales industriales, el principal objetivo es la reducción de la concentración de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos. A menudo, puede ser necesario llevar a cabo un pretratamiento, debido a la potencial toxicidad de estos compuestos para los microorganismos (Metcalf & Eddy, 1996)

Las materias orgánicas, aportadas a los vertidos, son combinaciones del carbono con otros elementos. Sin embargo, las materias que hay en el agua residual no son, en la mayoría de los casos, combinaciones puras en el sentido químico de la palabra, (que es como se han estudiado teóricamente en la mayoría de los casos), sino residuos de complicada estructura procedentes de los procesos vitales de los hombres, los animales y las plantas.

Algunos de los contaminantes de mayor importancia presentes en aguas residuales se presentan en la Tabla 1.1:

Tabla 1.1: Contaminantes de importancia en el agua residual (Metcalf & Eddy, 1996).

Contaminantes	Razón de la importancia
Sólidos en suspensión	Los sólidos en suspensión pueden dar lugar al desarrollo de depósitos de fango y de condiciones anaeróbicas cuando se vierte agua residual sin tratar al entorno acuático.
Materia orgánica biodegradable	Compuesta principalmente por proteínas, carbohidratos, grasas animales, la materia orgánica biodegradable se mide, en la mayoría de las ocasiones, en función de la DBO (demanda biológica de oxígeno). Si se descargan al entorno sin tratar su estabilización biológica puede llevar al agotamiento de los recursos naturales de oxígeno y al desarrollo de condiciones sépticas.
Patógenos	Pueden transmitirse enfermedades contagiosas por medio de los organismos patógenos presentes en el agua residual.
Nutrientes	Tanto el nitrógeno como el fósforo, junto con el carbono, son nutrientes esenciales para el crecimiento. Cuando se vierten al entorno acuático, estos nutrientes pueden favorecer el crecimiento de una vida no deseada. Cuando se vierten al terreno en cantidades excesivas, también pueden provocar la contaminación del agua subterránea.
Contaminantes prioritarios	Son compuestos orgánicos o inorgánicos determinados en base a su carcinogenicidad, mutagenicidad, teratogenicidad o toxicidad aguda conocida o sospechada. Muchos de estos compuestos se hallan presentes en el agua residual.
Materia orgánica refractaria	Esta materia orgánica tiende a resistir los métodos convencionales de tratamiento. Ejemplos típicos son los agentes tensoactivos, los fenoles y los pesticidas agrícolas.
Metales pesados	Los metales pesados son, frecuentemente, añadidos al agua residual en el curso de ciertas actividades comerciales e industriales, y puede ser necesario eliminarlos si se pretende reutilizar el agua residual.
Sólidos inorgánicos disueltos	Los constituyentes inorgánicos tales como el calcio, sodio y los sulfatos se añaden al agua de suministro como consecuencia del uso del agua, y es posible que se deban eliminar si se va a reutilizar el agua residual.

Una vez que se tenga el conocimiento de a que grupo de la Tabla 1.1 pertenece el contaminante presente en el agua residual, se podrá elegir con claridad el tipo de tratamiento a aplicar a mencionado residuo, sin olvidar por cierto otros factores también importantes, como lo son por ejemplo:

- Características del medio receptor (alcantarillado público, aguas superficiales, aguas subterráneas, características de ventilación atmosférica, etc.).
- Normativa legal aplicable.
- Eficiencia de depuración requerida.
- Generación de residuos secundarios; por ejemplo: lodos de tratamiento primario y secundario.
- Cambio de fase de contaminantes peligrosos (ej.: adsorción de metales pesados a los lodos biológicos en el tratamiento secundario).
- Requerimientos energéticos y aditivos químicos. Etc. (Zaror, 1998).

Casi todas las materias existentes en el agua residual, son muy inestables y se descomponen rápidamente. Sólo en una pequeña parte, las transformaciones de las materias son puramente químicas, como las uniones de los ácidos y las bases, que forman las sales. Sin embargo, los procesos químicos que ocurren en la depuración tienen importancia, por ejemplo, cuando se adiciona al agua un producto coagulante al agua, se puede captar material fino en suspensión y descender al fondo junto con las sustancias sedimentables.

El papel de los microorganismos en el tratamiento de las aguas residuales consiste principalmente en la eliminación de la DBO_5 (Demanda Biológica de Oxígeno), la coagulación de los sólidos coloidales no sedimentables, y la estabilización de la materia orgánica de forma biológica, a través de la acción de bacterias de distintas especies, principalmente. Los microorganismos se utilizan para convertir la materia orgánica carbonosa coloidal y disuelta en diferentes gases y tejido celular. Dado que el tejido celular tiene un peso específico ligeramente superior al del agua, se puede eliminar por decantación. (Metcalf & Eddy, 1996).

La depuración biológica de las aguas se produce de forma natural en los ecosistemas acuáticos, que sólo necesitan de unas pocas condiciones adecuadas para la utilización de nutrientes presentes en el agua. Es por eso que un control adecuado de estas condiciones conducirá a una buena depuración.

Hongos y bacterias son conocidos por generar efectos nocivos en la salud humana, pero en el caso de la depuración de las aguas, son los encargados de la descomposición de la materia orgánica y mantener los ciclos esenciales de algunos importantes elementos como el carbono o el nitrógeno. Procesos generados por la actividad de los organismos que se conocen como “metabolismo”.

Las reacciones químicas desarrolladas en el metabolismo, quedan limitadas por la temperatura y presión, entre otros factores externos que pueden afectar a las células vivas. Estos factores pueden ser controlados para asegurar una depuración que cumpla con los requerimientos de un sistema de tratamiento de residuos líquidos.

Luego de la metabolización de los contaminantes presentes en las aguas en tratamiento, debe separarse el líquido del tejido celular generado, para que éste no se registre como DBO presente en el efluente. Si esto no se logra, el único tratamiento que se habrá llevado a cabo es el asociado con la conversión bacteriana de una fracción de la materia orgánica presente originalmente en diversos productos gaseosos finales (Metcalf & Eddy, 1996).

Para abarcar una mejor comprensión del Tratamiento Biológico de efluentes, es importante conocer los conceptos en los que se basa. Entre ellos algunos de los más importantes son:

Procesos aerobios: Son los procesos de tratamiento biológico que se dan en presencia de oxígeno.

Procesos anaerobios: Procesos de tratamiento biológico que se dan en ausencia de oxígeno.

Desnitrificación anóxica: Es el proceso por el cual el nitrógeno de los nitratos se transforma, biológicamente, en nitrógeno gas en ausencia de oxígeno. Este proceso se conoce también como desnitrificación anaerobia.

Eliminación biológica de nutrientes: Término que se aplica a la eliminación de nitrógeno y fósforo mediante procesos de tratamiento biológico.

Procesos facultativos: Son los procesos de tratamiento biológico en los que los organismos responsables pueden funcionar en presencia o ausencia de oxígeno molecular. Estos organismos se conocen con el nombre de organismos facultativos.

Eliminación de la DBO carbonosa: Es la conversión biológica de la materia carbonosa del agua residual en el tejido celular y en diversos productos gaseosos. En la conversión, se supone que el nitrógeno presente en los diferentes compuestos se convierte en amoníaco.

Nitrificación: es el proceso biológico mediante el cual el amoníaco se transforma, primero en nitrito y luego en nitrato.

Desnitrificación: Proceso biológico mediante el cual el nitrato se convierte en nitrógeno gas y en otros productos gaseosos.

Substrato: Es el término empleado para representar la materia orgánica o los nutrientes que sufren una conversión o que pueden constituir un factor limitante en el tratamiento biológico.

Procesos de cultivo fijo: Son los procesos de tratamiento biológico en los que los microorganismos responsables de la conversión de la materia orgánica u otros constituyentes del agua residual en gases y tejido celular están fijados a un medio inerte, tal como piedras, escorias, o materiales cerámicos y plásticos especialmente diseñados para cumplir esta función. Los procesos de cultivo fijo también se conocen con el nombre de película fija.

Procesos de cultivo en suspensión: Son los procesos de tratamiento biológico en los que los microorganismos responsables de la conversión de la

materia orgánica u otros constituyentes del agua residual en gases y tejido celular, se mantienen en suspensión dentro del líquido.(Metcalf & Eddy, 1996).

De todos estos conceptos, se pondrá especial atención en los dos primeros y en el último, estos son los conceptos básicos para comprender posteriormente el funcionamiento de un biorreactor usado en el tratamiento de aguas residuales.

1.1 Crecimiento Bacteriano

1.1.1 Características principales del crecimiento en cultivos puros (Metcalf & Eddy, 1996)

Las bacterias se pueden reproducir por fisión binaria, sexualmente o por gemación. Por lo general, se reproducen por fisión binaria, es decir, por división: la célula original se convierte en dos organismos. El tiempo necesario para cada fisión, que recibe el nombre de tiempo de generación, puede variar entre días y menos de 20 minutos. Por ejemplo, si el tiempo de generación es de 30 minutos, una bacteria producirá 16.777.216 bacterias después de un período de 12 hrs. Esta es una cifra hipotética, puesto que las bacterias no continúan dividiéndose indefinidamente a causa de diversas limitaciones ambientales, como por ejemplo, la concentración del substrato, la concentración de nutrientes, e incluso el tamaño del sistema.

1.1.1.1 Crecimiento en términos de número de bacterias. La forma general en que se produce el crecimiento de las bacterias en un cultivo discontinuo se ilustra en la Figura 1.1. Inicialmente, se inocula un pequeño número de organismos en un volumen determinado de un medio de cultivo y se registra el número de organismos viables en función del tiempo. El modelo de crecimiento basado en el número de células consta, más o menos, de cuatro fases diferenciadas:

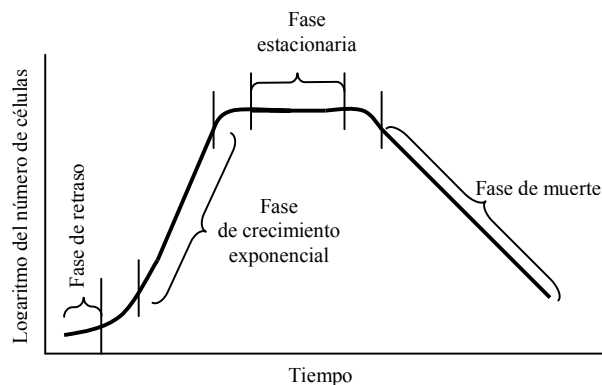


Figura 1.1: Curva de crecimiento bacteriano típica, en términos del número de bacterias (Metcalf & Eddy, 1996)

1. Fase de retraso: Tras la adición de un inóculo a un medio de cultivo, la fase de retraso representa el tiempo necesario para que los organismos se aclimaten a las nuevas condiciones ambientales y comiencen a dividirse.
2. Fase de crecimiento exponencial: Durante esta fase, la célula se divide a una velocidad determinada por su tiempo de generación y su capacidad de consumir el sustrato (tasa constante de crecimiento porcentual).
3. Fase estacionaria: En esta fase, la población permanece constante. Las razones que se apuntan para la explicación de este fenómeno son las siguientes:
 - a) las células han agotado el sustrato o los nutrientes necesarios para el crecimiento, y
 - b) la generación de células nuevas se compensa con la muerte de células viejas.
4. Fase de muerte exponencial: Durante esta fase, la tasa de mortalidad de bacterias excede la de generación de células nuevas. La tasa de mortalidad suele ser función de la población viable y de las características ambientales. En algunos casos, la fase de muerte exponencial se corresponde con la inversa de la fase de crecimiento exponencial.

1.1.1.2 Crecimiento en términos de masa de bacterias. El modelo de crecimiento también se puede abordar estudiando la variación con el tiempo de la masa de microorganismos. En este modelo de crecimiento también se pueden diferenciar cuatro fases:

1. Fase de retardo: De nuevo, las bacterias precisan de cierto tiempo para aclimatarse al nuevo medio. Cuando se aborda el estudio en términos de masa de bacterias, la fase de retardo no es tan larga como en el enfoque en función del número de bacterias, debido a que la masa de bacterias empieza a aumentar antes de que se produzca la división celular.
2. Fase de crecimiento exponencial: Siempre existe una cantidad en exceso de alimento alrededor de los microorganismos; la tasa de metabolismo y crecimiento sólo es función de la capacidad de los organismos para procesar el sustrato.
3. Fase de crecimiento decreciente: La tasa de crecimiento y, en consecuencia, la masa de bacterias, disminuyen como consecuencia de la limitada disponibilidad de alimentos.
4. Fase endógena: Los microorganismos se ven forzados a metabolizar su propio protoplasma sin reposición del mismo, ya que la concentración de alimento disponible se encuentra al mínimo. Durante esta fase, se puede presentar el fenómeno conocido con el nombre de lisis, según el cual los nutrientes que quedan en las células muertas se difunden en el medio proporcionando alimento a las células vivas existentes ("crecimiento críptico").

1.1.2 Crecimiento en cultivos mixtos (Metcalf & Eddy, 1996)

Lo observado anteriormente responde sólo a cultivos de microorganismos de poblaciones únicas. Comúnmente los procesos de tratamiento biológico están compuestos por complejas poblaciones biológicas mezcladas e interrelacionadas, en las que cada microorganismo posee su propia curva de crecimiento. La

ubicación y forma de la curva particular de crecimiento en el sistema, en función del tiempo, depende de los sustratos y de los nutrientes disponibles y de factores ambientales como la temperatura y el pH, y si el sistema es aerobio o anaerobio. La variación con el tiempo del predominio de microorganismos en la estabilización aerobia del agua residual orgánica se presenta en la Figura 1.2. Si bien las bacterias son de importancia primordial, existen muchos otros organismos que participan en la estabilización del residuo orgánico. Al proyectar o analizar un proceso de tratamiento biológico, el ingeniero debe pensar en términos de un ecosistema o comunidad, tal como que se muestra en la Figura 1.2, y no en una “caja negra”.

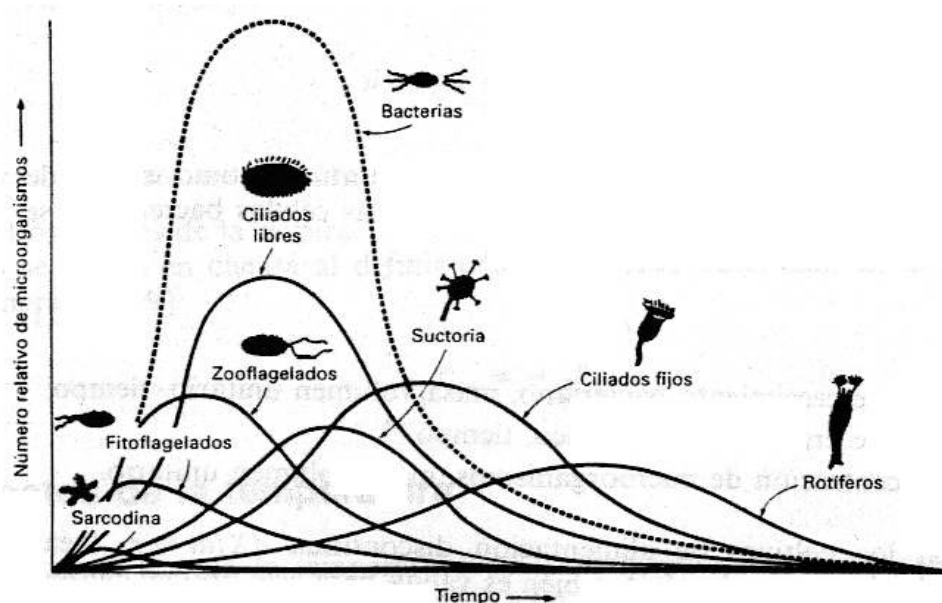


Figura 1.2:

Crecimiento relativo de los microorganismos en el curso de la estabilización de un residuo orgánico en un medio líquido

(Metcalf & Eddy, 1996)

1.1.3 Cinética del crecimiento bacteriano

Luego de haber descrito las características del medio ambiente necesarias para el crecimiento de los microorganismos, se expondrá ahora la forma y la medida del control que se puede ejercer sobre estas características, para que los

microorganismos dispongan así del medio adecuado para su desarrollo (regulación del pH, de la temperatura, adición de nutrientes o elementos traza, disposición de oxígeno, etc.).

Se debe proveer a los microorganismos de un tiempo de permanencia suficiente en el sistema para su crecimiento y reproducción. Este tiempo dependerá de la tasa de crecimiento, que está relacionada con la velocidad a la que metabolizan o utilizan los nutrientes. Si las condiciones ambientales están controladas de manera óptima, se asegurará una estabilización del sistema también óptima. Por ejemplo, la respuesta de una población de microorganismos heterótrofos a un suministro de sustrato biodegradable en un medio bien aireado es la siguiente:

1. La DQO biodegradable fácilmente soluble atraviesa la pared celular y se metaboliza rápidamente.
2. La DQO particulada y menos biodegradable es absorbida sobre los organismos y almacenada. Esta rápida reacción separa toda la DQO particulada y coloidal. Pasado un período, la DQO almacenada se rompe por la acción de las enzimas extracelulares y finalmente pasa a través de la pared celular y se metaboliza. La etapa limitante de la velocidad en la síntesis global es la ruptura enzimática a tasa de aproximadamente un 10% de la tasa de DQO fácilmente biodegradable.
3. Parte de la DQO metabolizada se transforma en nuevas células, mientras que el resto se pierde como calor en el proceso energético para la síntesis de nuevas células. En este proceso energético se consume el oxígeno de aportación externa, de forma que la cantidad de oxígeno utilizada es proporcional a la DQO perdida.
4. Al mismo tiempo, existe una pérdida neta de biomasa viva, denominada pérdida de masa endógena, donde algunos de los microorganismos emplean como alimento su propio material alimenticio almacenado o células ya muertas. Esta degradación endógena es relativamente constante con una tasa en torno al 10 o 20% al día (Kiely, 1999)

1.2 Tratamiento Aerobio

El tratamiento aerobio se basa en la acción que ejercen microorganismos aerobios sobre los distintas clases de contaminantes presentes en las aguas a tratar. Estos microorganismos pertenecen a grupos procariotas (bacterias) y eucariotas (hongos, protozoos y rotíferos, algas). A continuación se presenta una breve descripción de estos microorganismos:

1.2.1 Bacterias (Metcalf & Eddy, 1996)

Las bacterias son organismos procariontes unicelulares. Se reproducen comúnmente por escisión binaria, aunque algunas especies se reproducen sexualmente o por gemación. Según su forma, las bacterias se clasifican en 3 categorías: esféricas, cilíndricas y helicoidales o espirales, cuyos tamaños pueden variar desde 0,5 hasta 15 micras, según especie.

Necesidades medioambientales. La temperatura y el pH del medio tienen un papel importante en la supervivencia y crecimiento de las bacterias. A pesar de soportar un amplio intervalo de estos factores, las bacterias presentan su crecimiento óptimo en intervalos restringidos de pH y temperatura. Las temperaturas por debajo de la óptima tienen efectos más importantes sobre el crecimiento bacteriano que las superiores a aquélla; se ha podido comprobar que las tasas de crecimiento se doblan por cada aumento de 10°C de la temperatura hasta alcanzar el valor óptimo. Según el intervalo de temperatura de desarrollo bacteriano óptimo, las bacterias se pueden clasificar en psicrófilas, mesófilas y termófilas. Estos intervalos se indican en la Tabla 1.2.

El pH del medio también constituye un factor clave en el crecimiento. La mayoría de las bacterias no toleran niveles de pH por debajo de 4,0 ni superiores a 9,5. En general, el pH óptimo para el crecimiento bacteriano se sitúa entre 6,5 y 7,5.

Tabla 1.2: Intervalos de temperatura típicos para algunas Bacterias (*o criófilas) (Metcalf & Eddy, 1996)

Tipo	Temperatura, °C	
	Intervalo	Temperatura óptima
Psicrófilas*	-10 – 30	12 – 18
Mesófilas	20 – 50	25 – 40
Termófilas	35 - 75	55 – 65

1.2.2 Hongos (Metcalf & Eddy, 1996)

Se considera que los importantes en ingeniería ambiental son protistas heterótrofos, no fotosintéticos y multicelulares. Los hongos se suelen clasificar en función de su modo de reproducción. Se pueden reproducir sexual o asexualmente, por escisión, gemación, o por formación de esporas. Los mohos u “hongos verdaderos” producen unidades microscópicas (hifas), que colectivamente forman una masa filamentosa llamada micelio. Las levaduras son hongos que no tienen capacidad de formar micelio, razón por la cual son unicelulares.

La mayoría de los hongos son aerobios estrictos. Pueden crecer con muy poca humedad y toleran ambientes con pH relativamente bajos. El pH óptimo para la mayoría de las especies es 5,6, mientras que el intervalo de tolerancia se sitúa entre 2 y 9. Los hongos tienen una baja demanda de nitrógeno, sólo necesitan, aproximadamente, la mitad que las bacterias. La capacidad de los hongos para sobrevivir en condiciones de pH bajos y escasa disponibilidad de nitrógeno los convierte en organismos de gran importancia en el tratamiento de aguas residuales de origen industrial y en la formación de compuestos a partir de residuos orgánicos.

1.2.3 Protozoos y rotíferos (Metcalf & Eddy, 1996)

Los protozoos son protistas móviles microscópicas y , por lo general, unicelulares. La mayoría de los protozoos son heterótrofos aerobios, aunque algunos son anaerobios. Los protozoos suelen ser mayores que las bacterias, y se suelen alimentar de ellas para la obtención de energía. De hecho, al consumir bacterias y materia orgánica, los protozoos actúan como purificadores de los efluentes de procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales.

El rotífero es un animal aerobio, heterótrofo y multicelular. Su nombre procede del hecho de que disponen de dos juegos de pestañas giratorias sobre la cabeza, que emplean para la captura de alimentos y para moverse. Los rotíferos son muy eficaces en la eliminación de bacterias dispersas y floculadas, así como de pequeñas partículas de materia orgánica. Su presencia en un efluente indica un proceso aerobio de purificación biológica muy eficiente.

1.2.4 Algas (Metcalf & Eddy, 1996)

Las algas son protistas unicelulares o multicelulares, autótrofos y fotosintéticos. Su importancia en los procesos de tratamiento biológico estriba en dos hechos. En lagunas de estabilización, la capacidad de las algas para generar oxígeno por fotosíntesis es vital para la ecología del medio ambiente acuático. Para que una laguna de oxidación aerobia o facultativa funcione adecuadamente, la presencia de algas es necesaria para suministrar el oxígeno a las bacterias heterótrofas aerobias.

Las algas también son importantes en los procesos de tratamiento biológico porque el problema de la prevención del crecimiento excesivo de algas en los cuerpos de agua receptores se ha centrado, hasta la fecha, en la eliminación de nutrientes en los procesos de tratamiento. Algunos científicos abogan por la eliminación del nitrógeno en los efluentes de las plantas de tratamiento; otros recomiendan la eliminación del fósforo; y un tercer grupo recomienda la

eliminación de ambos constituyentes. Los objetivos del tratamiento condicionan el tipo de proceso que hay que seleccionar.

1.3 Sistemas de Tratamiento Aerobios

En general, existen 3 tipos de tratamientos aerobios para el tratamiento de aguas residuales: cultivos en suspensión, de cultivo fijo y tratamiento biológico dual. Dentro de estas tres clasificaciones, se pueden encontrar una gran cantidad de derivados, los que se presentan en su mayoría en el siguiente esquema:

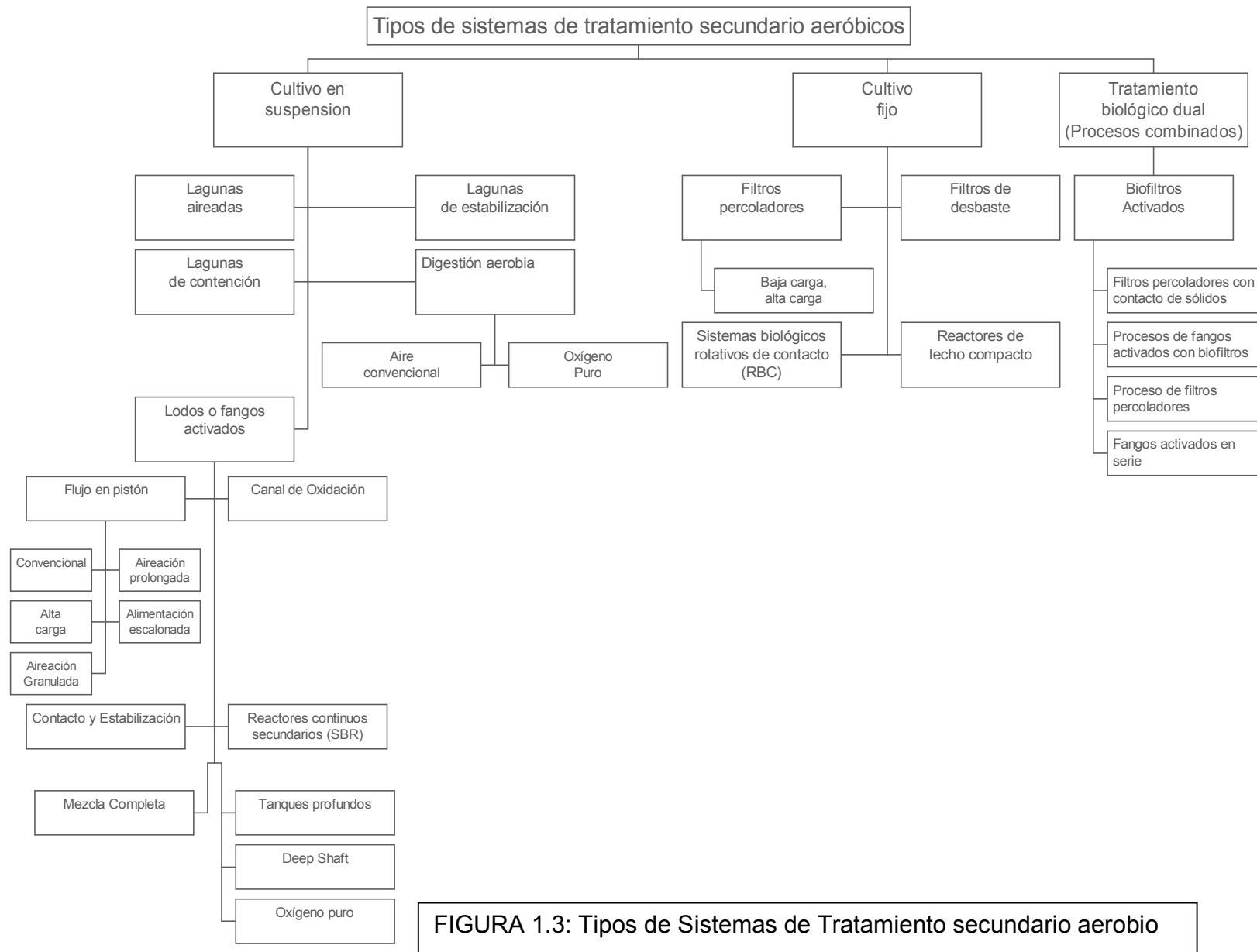


FIGURA 1.3: Tipos de Sistemas de Tratamiento secundario aerobio

Centraremos nuestra atención en los Cultivos en Suspensión, más específicamente en los Sistemas de Lodos o Fangos Activados de Mezcla Completa, ya que de este tipo será uno de los modelos que se presentan más adelante.

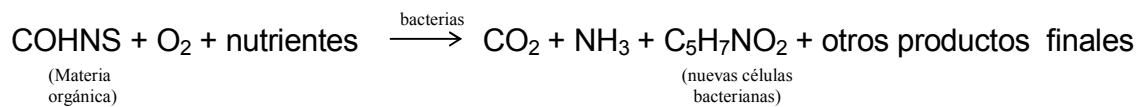
1.3.1 Sistema de Lodos Activados

En 1919 Black y Phels, así como Arden y Lockett en 1913, descubrieron que las partículas coloidales en suspensión en las aguas residuales coagulaban y decantaban, cuando se introducían en la masa de agua burbujas de aire, si bien el tiempo necesario era hasta de un mes. Posteriormente se observó que, introduciendo fango preformado en una proporción del 15 al 20%, e inyectando aire, se conseguían los mismos efectos en seis horas.

El fundamento del sistema es la propiedad que tiene el agua residual, despejada de sus sólidos sedimentables y sometida durante algún tiempo a la inyección o mezcla de aire finamente dividido, de producir la coagulación de aquellas sustancias en suspensión que, por su estado, son incapaces de sedimentar solas. Coagulación que determina su sedimentación.

1.3.1.1 Descripción del proceso (Metcalf & Eddy, 1996). Desde el punto de vista del funcionamiento, el tratamiento biológico de aguas residuales mediante el proceso de lodos o fangos activados se suele llevar a cabo introduciendo el residuo orgánico en un reactor, donde se mantiene un cultivo bacteriano en suspensión. El contenido del reactor se conoce con el nombre de “líquido mezcla”. En el reactor, el cultivo lleva a cabo la conversión en concordancia general con la estequiometría de las siguientes ecuaciones:

Oxidación y síntesis:



Respiración endógena:



En estas ecuaciones, COHNS representa la materia orgánica del agua residual. A pesar de que la reacción de la respiración endógena conduce a la formación de productos finales relativamente sencillos y al desprendimiento de energía, también se forman algunos productos orgánicos estables. A partir de la segunda ecuación, se puede observar que si todas las células se oxidan por completo, la DBO última de las células equivale a 1,42 veces el valor de la concentración de células.

Los reactores de mezcla completa poseen características uniformes en todo el reactor. La aireación puede ser proporcionada por turbinas superficiales, cuyo nivel de inmersión es ajustable con la regulación del caudal de salida o por sistemas de aireación por difusores de burbujas sumergibles, como es el caso del diseño del reactor de este proyecto. Al cabo de un periodo determinado de tiempo, la mezcla de las nuevas células con las viejas se conduce hasta un tanque de sedimentación para su separación del agua residual tratada. La relación entre el sustrato y los microbios (A/M) se encuentra en un rango entre 0,01 y 0,07. La carga volumétrica tiene unos valores típicos menores de 1 Kg DBO₅/día*m³. Así como el nivel de oxígeno disuelto (OD) se mantiene a un valor constante nunca menor de 2 mg/Lt. En general, el fango activado de retorno (FAR) procedente del decantador o sedimentador se alimenta directamente a la cuba de aireación que posee condiciones de mezcla completa para mantener en el reactor la concentración de células deseada. Una opción es la de conectar la línea de FAR con la línea de afluente y que se mezclen en la tubería antes de su entrada en el reactor. La fracción purgada finalmente corresponde al crecimiento de tejido celular, asociado a un agua residual determinada.

Empleando la nomenclatura dada por AWWA (American Water Works Association, 1992), el sistema de la FIGURA 3.1 consiste en lo siguiente:

- ◆ Línea de afluente
- ◆ Cuba de aireación
- ◆ Decantador o sedimentador secundario
- ◆ Efluente clarificado
- ◆ Fango residual
- ◆ Retorno de fango a la cuba de aireación (Kiely, 1999)

Entre las ventajas de un sistema de mezcla completa se incluyen la capacidad de soportar cargas de choque, debido a la baja relación A/M (Alimento/Microorganismos), y la buena flexibilidad para soportar amplias variaciones de estas cargas. Este sistema es conveniente para aguas residuales industriales de alta carga orgánica. La Figura 3.1 es un esquema de un sistema de mezcla completa (Kiely, 1999)

El sistema de lodos activados es un sistema de tratamiento biológico de mayor velocidad de degradación, debido a que se mantiene una alta concentración de biomasa en el reactor (Figura 3.1). El sistema consta de dos etapas básicas:

- **Biorreactor aireado:** Donde la biomasa natural (lodos activados) degrada/metaboliza los componentes orgánicos; se forman flóculos.
- **Sedimentador:** Donde los flóculos (lodos) son separados del líquido clarificado y parcialmente reciclados al biorreactor.

La existencia de reciclo de biomasa, implica mantener una población microbiana más alta en el reactor, alcanzando mayores tasas de conversión, para un volumen y tiempo de residencia (hidráulico) dado (Zaror, 1998)

1.3.1.2 Microbiología del proceso (Metcalf & Eddy, 1996). Es necesario tener en cuenta a los microorganismos dentro del sistema para poder hacer una buena

proyección de un sistema de fangos activados. En la naturaleza, el papel clave de las bacterias es descomponer la materia orgánica producida por los organismos vivos. En el proceso de fangos activados, las bacterias son las causantes de la descomposición de la materia orgánica del afluente. En tanque de aireación, las bacterias aerobias o facultativas utilizan parte de la materia orgánica del agua residual con el fin de obtener energía para la síntesis del resto de la materia orgánica en forma de células nuevas. Sólo una parte del residuo original se oxida a compuestos de bajo contenido energético tales como el NO_3^- , el SO_4^{2-} o el CO_2 , el resto se sintetiza en forma de materia celular. Los productos intermedios se representan en el término de la derecha de la ecuación de “Oxidación y síntesis”.

En general, las bacterias que intervienen en el proceso de fangos activados incluyen distintos géneros, dos tipos de bacterias nitrificantes y diversas formas filamentosas. Las actividades metabólicas de otros microorganismos son, igualmente, importantes en el sistemas de fangos activados. Por ejemplo, los protozoos y rotíferos ejercen una acción de refinado de los efluentes. Los protozoos consumen cualquier partícula biológica pequeña que no haya sido sedimentada.

También es importante que las bacterias formen un flóculo adecuado, puesto que este punto constituye un requisito previo para la separación de los sólidos biológicos en la instalación de sedimentación. Se ha observado que cuando se aumenta el tiempo medio de retención celular mejoran las características de sedimentación del flóculo biológico.

Aunque se obtenga una excelente formación de flóculos, el efluente del sistema podría tener un alto contenido de sólidos biológicos, como consecuencia de un mal diseño de la unidad de sedimentación secundaria, mal funcionamiento de los dispositivos de aireación, o por la presencia de organismos como el *Sphaerotilus*, los *E. coli* u hongos.

1.3.1.3 Aireación (Zaror, 1998): La transferencia de oxígeno en los sistemas aeróbicos, puede ser llevada a cabo de varias maneras, por ejemplo: mecánicamente, difusores de aire comprimido, alimentación con oxígeno puro, etc.

Sin embargo, no importando cual sea el sistema, las leyes físicas que gobiernan la transferencia, son comunes a todas ellas. El modelo más usado para explicar la absorción de oxígeno en un líquido, supone que la velocidad de transferencia está limitada por la resistencia difusional impuesta por la película líquida estancada, presente en las inmediaciones de la interfase gas – líquido (FIGURA 1.4).

Las moléculas de oxígeno son transferidas por difusión, a través de la película líquida. La fuerza motriz de dicho proceso, es el gradiente de concentración de oxígeno disuelto a través de dicha película líquida. El oxígeno disuelto en el líquido inmediatamente en contacto con el gas, tendrá una concentración muy cercana a su valor de saturación ($[O_2]_{SAT}$). Si la concentración de oxígeno disuelto en el seno del líquido, ($[O_2]$) es inferior a la concentración de saturación, se establece un flujo difusional desde la interfase hasta el seno del líquido, a través de la película estancada. El transporte de las moléculas de oxígeno desde el seno del líquido, hasta las inmediaciones de los microorganismos, es por convección y, posteriormente, cruzan la pared celular dentro del sistema microbiano, de acuerdo a su tasa metabólica (la que a su vez dependerá de la cantidad de nutrientes orgánicos (DBO)).

La velocidad de transferencia de oxígeno (J) a través de la película estancada, se puede expresar de acuerdo al modelo de Graham en la ecuación 1:

$$J = k_L a ([O_2]_{SAT} - [O_2]) \quad 1$$

donde:

a = es el área interfacial (m^2/m^3).

k_L = es el coeficiente de transferencia de oxígeno en la película líquida (m/s)).

Además, $k_L a$ es un parámetro empírico que depende de la geometría del sistema, temperatura, tamaño de burbujas, composición química, condiciones hidrodinámicas, etc.. En el caso de los agitadores mecánicos, el $k_L a$ se correlaciona con la potencia

de agitación por unidad de volumen P_V (kW/m³). Por ejemplo, se puede utilizar la ecuación de Penney como se ve en la ecuación 2:

$$k_L a = 21.5(P_V)^{0.79} \quad 2$$

Los principales factores que afectan la Concentración de Saturación son la temperatura y la presión parcial de O₂ en el gas. Por ejemplo, a 0°C $[O_2]_{SAT} = 14.6$ mg/l, a 20°C $[O_2]_{SAT} = 9.29$ mg/l (a 1 atm). El efecto de la presión parcial de O₂ en el gas es significativo; por ejemplo, la concentración de saturación en el agua en contacto con aire a 1 atm y 10°C es $[O_2]_{SAT} = 11.3$ mg/l, mientras que aquella que se obtiene cuando se usa O₂ (90%) es $[O_2]_{SAT} = 48.4$ mg/l, lo que representa un aumento de 4 veces en la capacidad de oxigenación del líquido.

Aireación por Difusores: Los difusores están montados en el fondo del reactor y el aire se alimenta en burbujas. La transferencia de oxígeno tiene lugar durante el ascenso de las burbujas. Las corrientes generadas debido al burbujeo ayudan a agitar la mezcla de líquido y microorganismos. Normalmente, no todo el O₂ alimentado es transferido, y la eficiencia de utilización en los sistemas de difusores, es baja (1-15%).

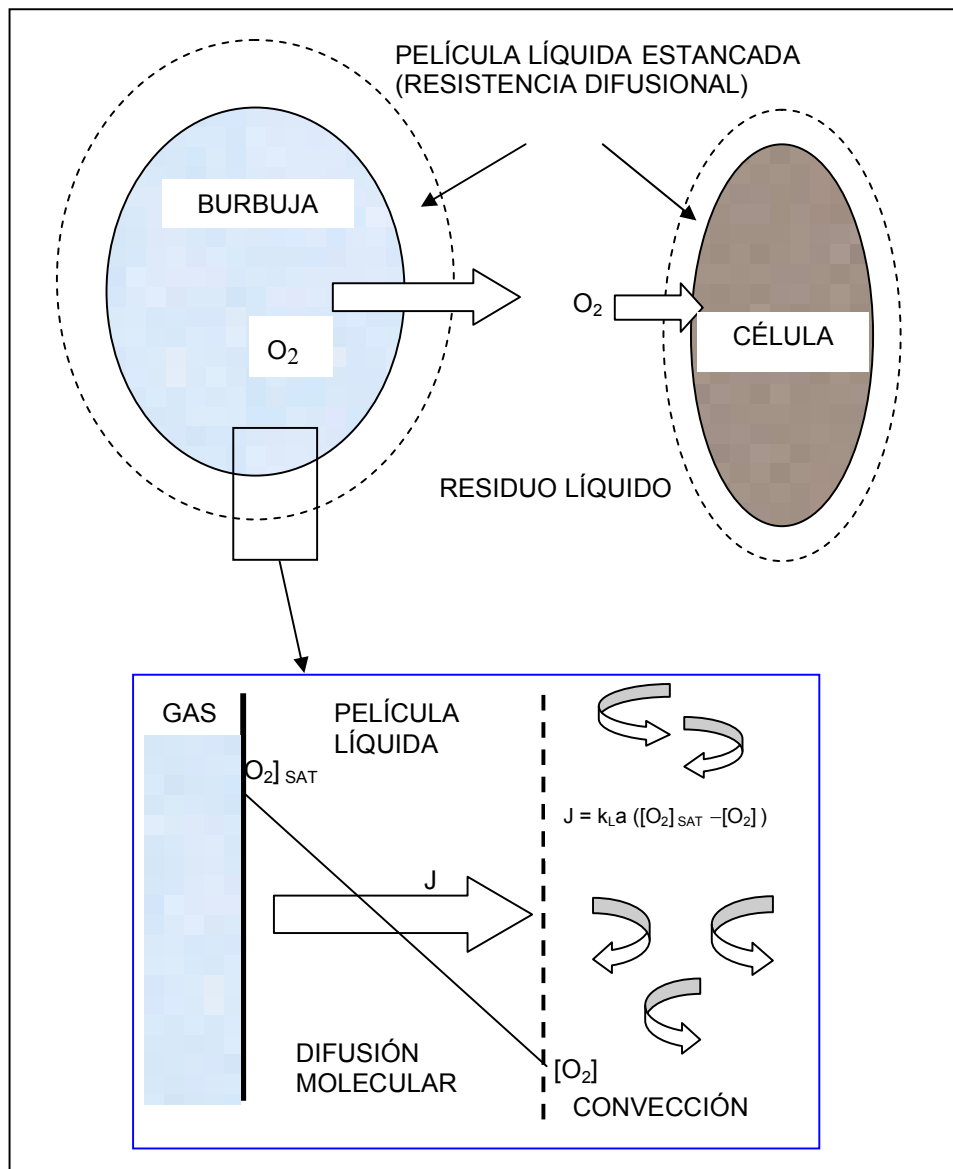


FIGURA 1.4: TRANSFERENCIA DE OXÍGENO EN TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES (ZAROR, 1998).

1.3.1.4 Análisis del proceso (Metcalf & Eddy, 1996): Reactor de mezcla completa con recirculación. En el sistema de mezcla completa, que se ilustra de forma esquemática en la Figura 3.1, el líquido del reactor se mezcla completamente, y se supone que el contenido de microorganismos en el agua que entra al reactor es nulo. Como se muestra en la Figura 3.1, la unidad de separación de sólidos (tanque de sedimentación) en la que se separan las células del reactor para su posterior recirculación, es parte integral del proceso de fangos activados. Debido a la presencia de esta unidad de separación de sólidos, la elaboración de un modelo cinético para describir este sistema precisa de dos hipótesis adicionales:

1. La estabilización de los residuos por parte de los microorganismos se produce únicamente en el reactor. Esta hipótesis conduce a un modelo conservativo (en algunos sistemas se puede producir cierto grado de estabilización de los residuos en la unidad de sedimentación).
2. El volumen utilizado al calcular el tiempo medio de retención celular del sistema sólo incluye el volumen del reactor.

En efecto, se supone que el tanque de sedimentación sirve como depósito desde el que se recirculan los sólidos para mantener un nivel determinado de éstos en el tanque de aireación. Si el sistema es tal que no se cumplen estas hipótesis, es necesario introducir modificaciones en el modelo propuesto. Por ejemplo, en sistemas de fangos activados con oxígeno puro, se ha demostrado que más del 50 % de los sólidos totales del sistema pueden estar presentes en el tanque de sedimentación secundaria.

El tiempo de retención hidráulica del sistema, θ_s , se define como:

$$\theta_s = \frac{V_T}{Q} = \frac{V_r + V_s}{Q} \quad 3$$

donde V_T = volumen del reactor + volumen del tanque de sedimentación

Q = caudal afluente.

V_r = volumen del reactor.

V_s = volumen del tanque de sedimentación.

El tiempo medio de retención hidráulica del reactor, θ , se define como:

$$\theta = \frac{V_r}{Q} \quad 4$$

donde V_r = es el volumen del reactor.

Para el sistema de lodo activado con recirculación y purga desde la línea de recirculación, el tiempo medio de retención celular viene dado por la siguiente expresión:

$$\theta_c = \frac{V_r X}{Q'_w X_r + Q_e X_e} \quad 5$$

donde Q_e = caudal de líquido efluente de la unidad de separación.

X = concentración de microorganismos en el tanque de aireación.

X_e = concentración de microorganismos en el efluente de la unidad de separación de sólidos.

X_r = concentración de microorganismos en la línea de recirculación de fangos.

Q'_w = tasa de purga de células desde el caudal de recirculación.

Es conveniente hacer mención al hecho de que, en la literatura referente a este tema, el valor de θ_c se suele calcular considerando la masa total de microorganismos contenidos, tanto en el reactor como en el tanque de sedimentación. Ambos métodos son aceptables, mientras se especifique con claridad las bases de cálculo empleadas. Comparando la ecuación 5 con las ecuaciones 3 y 4, se puede apreciar que para un volumen dado de reactor, el valor de θ_c es independiente tanto de θ como de θ_s . Sin embargo, en la práctica, θ_c no puede ser totalmente independiente de los valores de θ y θ_s .

En relación con el sistema de purga desde el reactor, se puede escribir un balance de masas para los microorganismos del sistema global de la siguiente manera:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Velocidad de} & & \text{Cantidad de} & & \text{Cantidad de} & & \text{Crecimiento neto de} \\ \text{acumulación de} & & \text{microorganismos} & & \text{microorganismos} & & \text{microorganismos} \\ \text{microorganismos} & = & \text{que entran en el} & - & \text{que salen del} & + & \text{dentro de los límites} \\ \text{dentro de los límites} & & \text{sistema} & & \text{sistema} & & \text{del sistema} \\ \text{del sistema} & & & & & & \end{array}$$

1.3.1.5 Relaciones para el diseño y control del proceso (Metcalf & Eddy, 1996). Las relaciones que hay que considerar en esta discusión, incluyen la tasa de utilización específica, el tiempo medio de retención celular, y la relación alimento-microorganismos. La relación entre la tasa de utilización específica y el tiempo medio de retención celular es, asimismo, analizada.

Si se emplea el valor θ_c como parámetro de control de tratamiento, no es necesario determinar la cantidad de sólidos biológicos activos contenidos en el sistema, ni evaluar la cantidad de alimento utilizado. El uso de θ_c se basa, simplemente, en el hecho de que, para controlar la tasa de crecimiento y por lo tanto el grado de estabilización del residuo, es necesario purgar cada día un porcentaje determinado de la masa celular del sistema. Por lo tanto, si para alcanzar un determinado nivel de tratamiento se necesita un valor de 10 días, ello implica que cada día es necesario purgar el 10% de la masa celular de todo el sistema.

En el sistema de mezcla completa con recirculación, la purga de las células se pueden realizar en el conducto de recirculación al reactor o, directamente, del líquido mezcla. Si se hace directamente en el reactor y se considera que la concentración de sólidos en el efluente es despreciable, sólo es necesario conocer los valores de Q_w y V_r para determinar el valor de θ_c mediante la ecuación 5. Por lo tanto, la purga de células, mediante este procedimiento, proporciona un método directo para la medida y el control de θ_c . En la práctica, para obtener un fango más concentrado, lo que se hace es purgar fango desde el conducto de recirculación. Suponiendo que el valor de X_c sea muy pequeño, la ecuación 5 se puede reescribir en la forma:

$$\theta_c \approx \frac{V_r X}{Q'_w X_r} \quad 6$$

Por lo tanto, la purga desde el conducto de recirculación precisa el conocimiento de la concentración de microorganismos, tanto en el líquido mezcla como en el fango de recirculación.

Un término que está íntimamente ligado a la tasa de utilización específica, U , y que se usa habitualmente en la práctica como parámetro de diseño y de control es la relación Alimento/Microorganismos (A/M), que se define como:

$$A / M = \frac{S_0}{\theta X} \quad 7$$

donde S_0 = concentración del sustrato en el afluente

Los términos U y (A/M) están relacionados por el rendimiento del proceso en la forma:

$$U = \frac{(A / M)E}{100} \quad 8$$

donde E es el rendimiento del proceso, cuya definición es la siguiente:

$$E = \frac{S_0 - S}{S_0} \times 100 \quad 9$$

donde E = rendimiento del proceso, porcentaje.

S_0 = concentración de sustrato en el afluente.

S = concentración de sustrato en el efluente.

1.3.1.6 Instalaciones de sedimentación para el proceso de fangos activados (Metcalf & Eddy, 1996). Es importante destacar y recordar que el tanque de

sedimentación es un elemento integral del proceso de tratamiento de fangos activados. No se puede considerar el diseño de un reactor independientemente del de las instalaciones de sedimentación asociadas. Para cumplir con las normativas de vertido en cuanto a sólidos en suspensión y DBO asociados a los sólidos en suspensión volátiles del efluente, y para mantener θ_c independiente de θ , es necesario tener la posibilidad de separar los sólidos del líquido mezcla y recircular parte de ellos al reactor.

Dado que la microbiología del proceso es variable, se ha comprobado que las características de sedimentación de los sólidos biológicos del líquido mezcla son diferentes para cada planta, en función de las características del agua residual y de las numerosas variables asociadas al diseño y operación del proceso. Por ello, cuando se proyectan instalaciones de sedimentación para una planta de tratamiento, tanto nueva como ya existente, se deben realizar ensayos de sedimentación en columna, y el proyecto deberá basarse en los resultados de los mismos. Si no es posible realizar ensayos de sedimentación, el proyecto deberá realizarse en función de las cargas hidráulicas y de sólidos.

1.3.1.7 El abultamiento del fango en el proceso de fangos activados (Bulking)(Metcalf & Eddy, 1996). El término “bulking” se aplica a la condición en la que se da una superabundancia de organismos filamentosos en el líquido mezcla de un proceso de fangos activados. La presencia de organismos filamentosos provoca que los flóculos biológicos del reactor sean voluminosos y poco consistentes. Los flóculos así formados no sedimentan bien, y suelen ser arrastrados, en grandes cantidades, en el efluente de los tanques de sedimentación. Los organismos filamentosos que se presentan en el proceso de fangos activados incluyen una variedad de bacterias filamentosas, actinomicetos y hongos. Las condiciones que favorecen el crecimiento de los organismos filamentosos son muy diversas, y varían en cada planta.

El control de los organismos filamentosos se ha conseguido de diferentes maneras, ya sea por adición de cloro o de peróxido de hidrógeno al fango activado

de retorno, por alteración de la concentración de oxígeno disuelto en el tanque de aireación, por alteración de los puntos de alimentación del agua a tratar para incrementar el valor de la relación A/M, mediante la adición de nutrientes básicos (N, P, etc.), adición de nutrientes y factores de crecimiento de traza o, más recientemente, mediante el uso de selectores. El control de crecimiento de los organismos filamentosos en procesos de mezcla completa se ha conseguido mezclando el fango de retorno con el agua residual entrante en un pequeño tanque de contacto anóxico conocido con el nombre de “selector”.

A partir de la experiencia práctica, se ha podido comprobar que el líquido mezcla de los procesos de fangos activados con flujo en pistón sedimenta mejor que el procedente de los procesos de mezcla completa, y que tiende a tener menos organismos filamentosos. Asimismo, se ha podido apreciar que también sedimenta mejor el líquido procedente de reactores discontinuos secuenciales. Experimentalmente, se ha podido comprobar que la abundancia relativa de organismos filamentosos y no filamentosos está relacionada con sus tasas de crecimiento cuando se exponen a diferentes concentraciones de substratos, es decir, concentraciones elevadas en el proceso con flujo en pistón, y bajas en el proceso de mezcla completa. Los organismos no filamentosos que forman flóculos presentan un valor de $\mu_{\text{máx}}$ elevado pero una baja afinidad al substrato (K_s alta), mientras que los filamentosos tienen un valor $\mu_{\text{máx}}$ bajo y una alta afinidad por el substrato (K_s baja). Por lo tanto, las bajas concentraciones de substrato que se presentan en los reactores de mezcla completa favorecen el crecimiento de los organismos filamentosos.

1.4 Tratamiento Anaerobio

1.4.1 Procesos Anaeróbicos (Zaror,1998)

Aún cuando los procesos aeróbicos han monopolizado el tratamiento secundario de las descargas industriales, en la actualidad existe un enorme impulso para aprovechar los avances experimentados en el procesamiento anaeróbico. El

proceso anaeróbico se usa masivamente en el tratamiento de los lodos producidos por los procesos aeróbicos; de esta manera se reduce el volumen final de los lodos, se estabilizan biológicamente (eliminación de patógenos) y se aprovecha parte del potencial energético.

Entre las ventajas de los procesos anaeróbicos se puede citar:

- Integración energética (produce CH_4 , 0,35 (m^3 std/kg DBO removido)).
- Menor producción de biomasa (1/3-1/5 de lo que genera un proceso aeróbico).
- Menor requerimientos de nutrientes inorgánicos.
- No se requiere aeración; menores costos energéticos.
- Se pueden dejar sin uso por largos períodos (1-25 años) y se reactivan rápidamente (1-3 días).
- Resistente a choques orgánicos.

Entre sus principales limitaciones, se pueden mencionar:

- Menor tasa de eliminación de DBO por unidad de biomasa.
- La puesta en marcha puede demorar meses (1-6 meses).
- La retención de biosólidos es crítica, debido a la baja tasa de producción de lodos (0,04-0,08 kg/kg DBO).
- Debido a las condiciones reductoras, se producen también muchos otros compuestos (H_2S , mercaptanos, ácidos orgánicos y aldehídos) produciendo corrosión y malos olores.
- Sensible a ciertos inhibidores y compuestos tóxicos (ej.: O_2 , H_2O_2 , Cl_2 , H_2S , HCN , SO_3^-).

Muchos de los problemas experimentados en el pasado (que le generaron una mala reputación), se debieron a la ignorancia sobre los aspectos fundamentales del proceso. Enormes esfuerzos en los 70 y 80, derivaron en nuevos esquemas que presentan atractivo potencial y existen centenares de plantas anaeróbicas, operando en gran escala en diferentes rubros industriales en todo el mundo.

La degradación anaeróbica es un proceso de biodegradación en múltiples etapas, que incluye un amplio rango de bacterias, las cuales se pueden agrupar en 3 categorías:

- Los compuestos de alto peso molecular (ej.: proteínas) sufren primero hidrólisis y son transformados en moléculas simples (azúcares, glicerol, etc), las que luego son convertidas en ácidos orgánicos, H_2 y CO_2 por las bacterias acidificantes o fermentadoras.
- Los ácidos mayores, son entonces convertidos a ácido acético e H_2 por las bacterias acetogénicas.
- La etapa final (metanogénesis) incluye a tres tipos de bacterias que metabolizan CO_2 , H_2 , metanol, ácido fórmico y ácido acético a metano.

Estas etapas se describen a continuación:

1.4.1.1 Etapa hidrolítica y fermentativa (Lazo, 1998): En esta primera etapa, un amplio grupo de enzimas hidrolíticas (celulasas, hemicelulasas, amilasas, lipasas, proteasas) actúan sobre los polímeros orgánicos (carbohidratos, lípidos, proteínas) u otros materiales complejos, despolimerizándolos en los correspondientes monómeros o fragmentos más sencillos (azúcares, aminoácidos y ácidos grasos).

Esta etapa es indispensable para lograr la ruptura de los biopolímeros complejos en polímeros solubles o monómeros, puesto que los microorganismos que realizan la depuración solamente son capaces de actuar sobre materia orgánica disuelta. Este proceso de hidrólisis es realizado por enzimas extracelulares y, en ocasiones, puede resultar demasiado lento. En estos casos, esta etapa resulta limitante y, por ende, controla la velocidad del proceso, por lo que se puede recurrir a tratamientos previos del sustrato (químicos o mecánicos).

Etapa Acidogénica o fermentativa (Lazo, 1998)

En la acidogénesis o fermentación, los compuestos más simples generados en la etapa anterior son utilizados como sustrato por organismos fermentadores (azúcares y aminoácidos) y por oxidadores anaerobios (Ac. Grasos superiores). Los productos de esta degradación son ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, valérico y butírico), algunos orgánicos (lactato, succinato), alcoholes (etanol) en la fase líquida, H_2 y CO_2 en fase gaseosa.

Este segundo grupo de microorganismos descrito como “no metanogénico”, está formado por bacterias anaeróbicas facultativas y obligadas que en la literatura frecuentemente se identifican como *acidogénicos* o *formadores de ácidos* (Tchobanoglous, 1994).

El hecho de que las bacterias involucradas en esta etapa sean facultativas, es de vital importancia, ya que además de producir los nutrientes para las bacterias productoras de metano, también remueven cualquier traza de oxígeno disuelto que quede en el material orgánico.

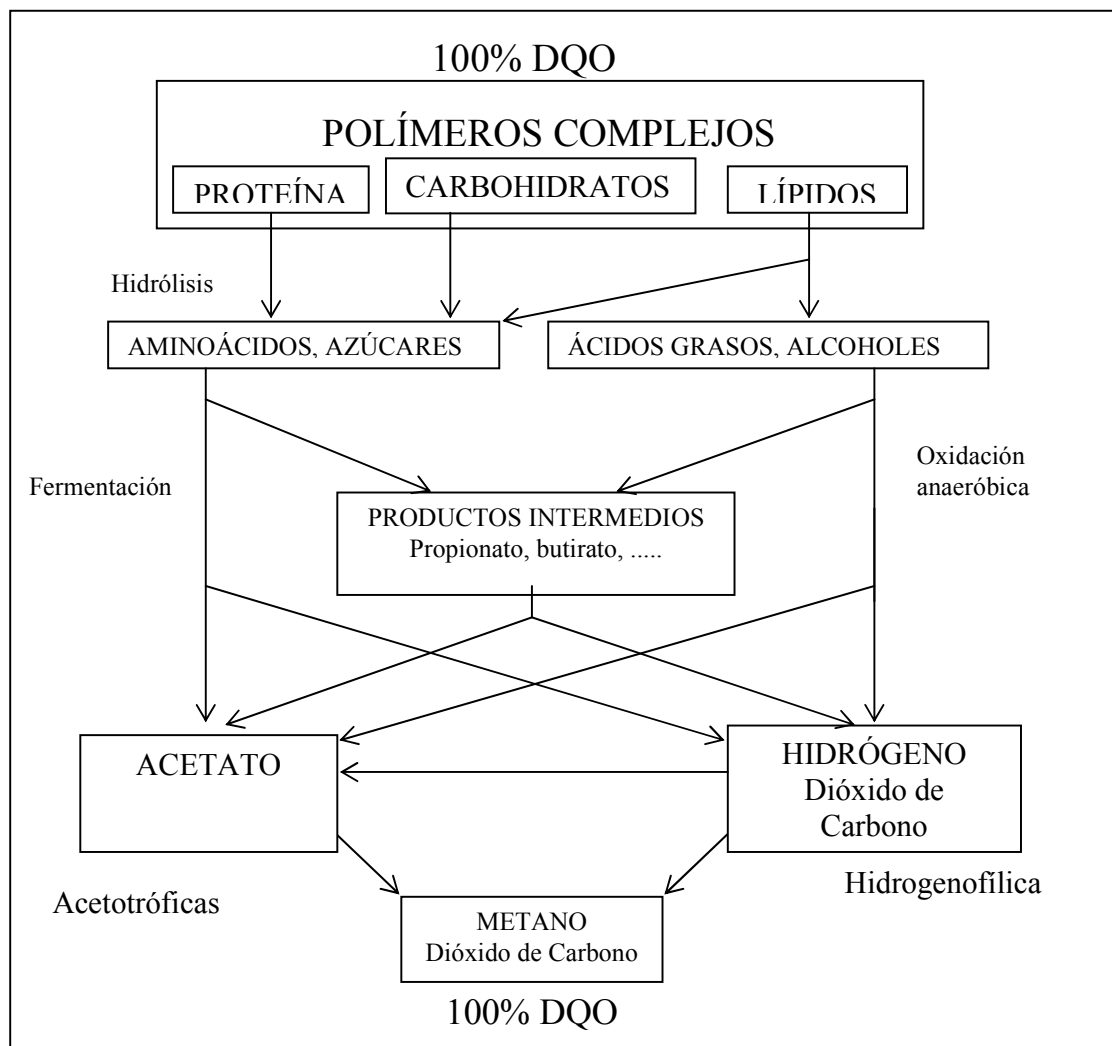


Figura 1.5: Esquema simplificado de la digestión anaeróbica (Aravena, 1999).

Si se comparan los dos procesos que en esta etapa ocurren, por un lado la fermentación ácida de los azúcares y aminoácidos (resulta ser un proceso rápido que no causa ningún tipo de limitación); y por otro lado la oxidación anaerobia que sufren los ácidos grasos de cadena larga. Este último proceso puede llegar a ser problemático debido al carácter tóxico de los ácidos grasos de cadena larga y media.

1.4.1.2 Etapa Acetogénica (Lazo, 1998): Durante esta etapa actúan dos tipos diferentes de microorganismos capaces de producir acetato: las bacterias homoacetogénicas y las bacterias acetogénicas. Las bacterias homoacetogénicas se caracterizan porque forman acetato como único metabolito a partir tanto de la

fermentación de azúcares, como de compuestos monocarbonados como el formato o la mezcla gaseosa $H_2 + CO_2$.

Las bacterias acetogénicas son capaces de metabolizar los productos terminales de la etapa acidogénica, es decir, alcoholes, ac. grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos que son convertidos en acetato, CO_2 e H_2 . Generalmente, se denominan como *acetogénicas productoras obligadas de H_2 o sintróficas obligadas*.

La formación de acetato es desfavorable desde el punto de vista termodinámico en condiciones normales, pero si la presión parcial de H_2 se mantiene baja en el medio, las reacciones serán termodinámicamente posibles y su variación de energía libre es suficiente para permitir la síntesis de ATP (adenosin trifosfato) y el crecimiento bacteriano.

Así, el metabolismo acetogénico se caracteriza por una absoluta dependencia de la eliminación de H_2 , por lo que es necesaria una asociación con las bacterias metanogénicas o las sulfatorreductoras en presencia de sulfato. En los ecosistemas metanogénicos, son las bacterias metanogénicas las encargadas de mantener concentraciones de H_2 reducidas, de manera tal de permitir la ocurrencia de las reacciones de acetogénesis. De esta forma, la degradación completa de un compuesto como el etanol requiere combinada de la actividad de diferentes grupos bacterianos, acetogénicos y metanogénicos (Jeison, 1999).

Cuando se encuentra presente S inorgánico, la bacteria reductora *Desulfovibrio* usa el sulfato o sulfito como receptores de electrones, produciendo H_2S y CO_2 . La presencia de SO_4^{2-} y SO_3^{2-} limita la eficiencia del sistema, ya que las bacterias reductoras de S y las metanogénicas compiten por el mismo tipo de fuente energética (ácido acético). La producción de metano se puede reducir en $0,7 \text{ m}^3$ por cada kg de S reducido.

1.4.1.3 Etapa Metanogénica (Lazo, 1998): Esta etapa es la única estrictamente anaerobia. En ella, las bacterias metanogénicas son las responsables de la formación de metano, a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de

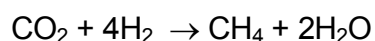
carbono unidos por un enlace covalente: acetato, $\text{H}_2\text{-CO}_2$, formato, metanol y algunas metilaminas.

Este proceso es lento, por lo que constituye la etapa limitante del proceso de degradación anaerobio en caso de sustratos fácilmente hidrolizables, ya que tanto la cinética del proceso como la velocidad de formación de nuevas bacterias son lentas.

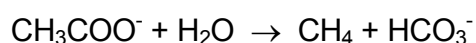
Las bacterias metanogénicas son microorganismos anaerobios estrictos. En general, se encuentran en un gran número donde el valor del potencial redox presenta valores inferiores a los -300 mV .

Las bacterias metanogénicas se dividen en dos grupos según el sustrato que ellas ocupen para la producción de metano. Estas son las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas y las bacterias metanogénicas acetoclásticas.

Las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas son aquellas que utilizan el H_2 producido para reducir el CO_2 en metano según la siguiente reacción:



Las bacterias metanogénicas acetoclásticas son aquellas que transforman el acetato en metano. Esta transformación contribuye con el 70% de la producción de metano en los digestores. La transformación ocurre según la siguiente reacción:



1.4.2 Otras bacterias que intervienen en el proceso de la Digestión Anaerobia.

Otras bacterias que se encuentran en un digestor anaerobio son las bacterias sulfatorreductoras y las desnitrificantes.

Las bacterias sulfatorreductoras actúan transformando los sulfatos en sulfuros. En general, utilizan como sustrato a todos los productos del metabolismo de las bacterias fermentadoras. En la mayoría de los casos se genera ATP por fosforilación a nivel de sustrato durante la degradación de ácidos o alcoholes, pero la disposición final de los equivalentes de reducción se hace a través de una cadena respiratoria, con sulfato como aceptor final de electrones.

Las bacterias sulfatorreductoras se dividen en dos grupos: las oxidadoras completas que producen CO_2 , agua y sulfuro; y las oxidadoras incompletas, cuyos productos son el acetato, el anhídrido carbónico y el sulfuro en el caso de ácidos orgánicos de número impar de carbonos y de algunos alcoholes.

Desde el punto de vista de versatilidad en la utilización de sustratos, las oxidadoras completas son las únicas capaces de biodegradar ácidos orgánicos de hasta 18 átomos de carbono.

Aunque, en general, las sulfatorreductoras consumen ácidos lácticos y pirúvico para su desarrollo, pueden utilizar también ácido acético y así competir con las acetoclásticas. De estas dos reacciones, es termodinámicamente más favorable la sulfatorreducción. Por otro lado, también pueden reducir los sulfatos, utilizando el H_2 producido por las acidogénicas, por lo que entonces el H_2 no podrá ser usado por las metanobacterias hidrogenofílicas. Esta reacción está favorecida termodinámicamente por las sulfatorreductoras. Por todo esto, si se tiene una elevada concentración de sulfatos presente, la metanogénesis puede ser desplazada (Lazo, 1998).

En la mayoría de los casos, el tratamiento anaeróbico, se aplica a líneas de residuo segregadas, con alta concentración de DBO. En muchos casos, se ha usado como una primera etapa de tratamiento, antes de un procesamiento final aeróbico. La temperatura es muy importante: los organismos anaeróbicos más eficientes son mesofílicos o termofílicos. El rango $32\text{-}36^\circ\text{C}$ es el más común industrialmente. Las necesidades energéticas se pueden suplir con parte del CH_4 generado.

Los requerimientos de N y P son mucho menores que en el proceso aeróbico (en algunos casos, los efluentes no contienen suficiente N y P y se necesita agregarlos). El pH óptimo para maximizar el CH₄ es 7-7,5. Bajo pH 6 y sobre 8,5 la producción de CH₄ cesa (Metcalf & Eddy, 1996).

1.4.3 Formación de gránulos (Chamy, 2003)

Respecto de los mecanismos de formación de gránulos en Reactores UASB, existen diversas interpretaciones. A pesar de ello, en general es posible distinguir 4 pasos importantes en la formación de estas estructuras:

1. Transporte de la células hacia el sustrato de inmovilización, que en este caso son otras células.
2. Adsorción reversible sobre este sustrato debido a fuerzas fisicoquímicas.
3. Adhesión irreversible, debido a la interacción bacteriana.
4. Multiplicación de las células y desarrollo de los gránulos.

El transporte de las células (paso 1) es el resultado de diversos mecanismos, como transporte browniano, flujos convectivos, flotación, sedimentación. La adhesión inicial, producto de interacciones fisicoquímicas, puede ser descrita en forma simplificada por la teoría DLVO (la teoría DLVO, por sus autores Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek, explica la tendencia de los coloides a aglomerarse o permanecer separados. Ver ANEXO I). En el paso 3, la secreción de polímeros extracelulares jugaría un rol significativo.

La importancia de la secreción de polímeros extracelulares (PEC) ha sido ampliamente investigada. Los microorganismos que forman los gránulos anaeróbicos se encuentran rodeados por ellos, debido a lo cual entre 1 y 20% de los SSV de los gránulos corresponde a PEC. Estos contienen polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El hecho que la adición al agua residual de polímeros de composición similar acelera el proceso de granulación mostraría que juegan un papel importante en él.

Por otro lado, la presencia de *Methanosaeta*, una bacteria metanogénica aceticlástica de carácter filamentoso, generaría una red que beneficiaría la agregación. Ésta es abundante en gránulos que tratan aguas residuales de baja carga, y en el interior de los gránulos donde las concentraciones son menores.

Algunos autores han propuesto un mecanismo fisicoquímico para la granulación. Tal interpretación está basada en las distintas hidrofobicidades que los diferentes microorganismos poseen: bacterias acidogénicas presentan superficies hidrofílicas y las bacterias acetogénicas y metanogénicas presentan superficies hidrofóbicas. De esta forma, la tensión superficial del agua residual influiría sobre el proceso de agregación al variar la energía libre de adhesión.

Diversos autores han señalado la importancia de varios elementos para fomentar el proceso de la fermentación. En este sentido el hierro es usualmente suplementado durante el proceso de puesta en marcha de los reactores granulares. No existe evidencia de que el calcio induzca la granulación del lodo floculento. Además los precipitados de CaCO_3 no servirían como núcleos para iniciar un proceso de nucleación.

La granulación es sin duda un fenómeno complejo y lo más factible es que sea el producto de la acción conjunta de los diversos mecanismos ya señalados.

Respecto de la distribución de las poblaciones microbianas en el gránulo anaerobio, durante el tratamiento de ciertos tipos de agua residual se ha observado la formación de una estructura estratificada: en las porciones externas predominan las bacterias hidrolíticas y acidogénicas, seguidas por las poblaciones de asociación sintrófica (acetogénicas y metanogénicas consumidoras de hidrógeno), para terminar con la presencia de *Methanosaeta* hacia el interior. Tal organización beneficiaría la óptima degradación de los sustratos intermediarios, al proporcionar condiciones favorables para el desarrollo de cada una de las poblaciones involucradas.

En todo caso, la formación de una estructura estratificada está determinada por la composición del agua residual. Sustratos complejos presentan una organización como la descrita, mientras que sustratos simples como acetato o etanol no la presentan. Por otro lado, también se plantea que la existencia de estratificación depende de la relación entre las cinéticas de degradación de los diferentes sustratos. Para aquellos sustratos que presentan una velocidad de biodegradación mayor a la de los intermediarios formados, como es el caso de carbohidratos, los gránulos desarrollan estructuras estratificadas. La FIGURA 1.6 muestra un esquema de la distribución de poblaciones que se genera en el caso de gránulos anaerobios con glucosa como sustrato.

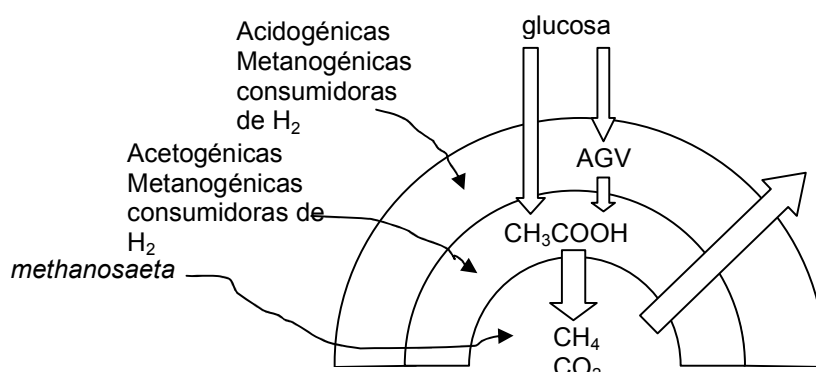


Figura 1.6: Esquema del modelo estratificado para gránulos anaerobios con glucosa como sustrato (Chamy *et al*, 2003).

La estratificación de las poblaciones microbianas además genera un efecto de protección sobre las bacterias metanogénicas. Las poblaciones acidogénicas, muchas de las cuales son facultativas, consumen rápidamente el oxígeno que pueda ingresar al reactor, evitando que éste llegue a las bacterias metanogénicas.

1.4.4 Estabilidad de gránulos anaerobios

Naturalmente la estabilidad de los gránulos en un reactor granular es fundamental para su correcta operación. La pérdida de la granulosidad del lodo puede ocasionar una disminución considerable de la concentración de microorganismos,

disminuyendo la capacidad del reactor. La calidad del agua residual es fundamental en este sentido. Diversas investigaciones han mostrado la incapacidad de formar gránulos anaerobios con cierto tipo de aguas residuales (Chamy, 2003).

1.4.5 Flotación del lodo granular.

La flotación de los gránulos anaerobios puede constituir un problema operacional importante, en la medida en que produce un lavado continuo del lodo granular, disminuyendo su concentración. En general se distinguen dos fenómenos que conducen a la flotación del lodo en reactores granulares: la adhesión de las burbujas de biogás a los gránulos, y el entrapamiento de ellas al interior de los mismos.

La adhesión de burbujas de biogás estaría determinada por el grado de hidrofobicidad de la superficie de los gránulos. Es así como superficies más hidrofóbicas, que presentan ángulos de contacto mayores, serían más propicias para la adhesión de burbujas de biogás.

Una mayor hidrofobicidad, implica una menor tensión superficial biofilm-fase gaseosa (γ_{BG}), lo que se traduce para el sistema biofilm-burbuja en un mayor trabajo de adhesión. Las bacterias acidogénicas en general forman biofilm de carácter hidrofílico (ángulo de contacto menor a 45°), a diferencia de las metanogénicas y acetogénicas que presentan superficies más hidrofóbicas (ángulo de contacto mayor a 45°). Es por esto que los gránulos anaerobios de estructuras estratificadas, con las bacterias acidificantes al exterior, presentarían un menor grado de flotación. Dado que el nivel de estratificación está determinado por la calidad del agua residual y los sustratos que ésta contiene, existen en la práctica pocas opciones, económicamente plausibles, para evitar este tipo de flotación. La adición de materia orgánica no acidificada u otros aditivos que beneficien la estratificación de los gránulos implica costos que en la mayoría de los casos son prohibitivos. La forma más efectiva de limitar los efectos que este

fenómeno acarrea, es el diseño de un sistema de separación SLG efectivo, que evite el lavado del lodo flotante. La flotación por adhesión de burbujas es fácilmente reversible, bastando sólo un poco de agitación para desprenderlas.

Respecto del entrapamiento de burbujas al interior de los gránulos, este fenómeno ocurre en gránulos de gran tamaño, y/o durante el tratamiento de aguas residuales de bajas cargas. En tales condiciones se generan espacios vacíos en el centro de los gránulos, debido al decaimiento y lisis celular, originado por la ausencia de sustrato, dado que éste es consumido en la porción exterior sin alcanzar a difundir hacia el centro. Estos espacios son ocupados por el biogás producido por los microorganismos, lo que disminuye la densidad aparente de estos gránulos generando su flotación, dado que el crecimiento de los gránulos es un proceso continuo, eventualmente todos los gránulos de un reactor podrían llegar a presentar acumulación de biogás en su interior y mostrar tendencia a flotar, al alcanzar tamaños tales que no permitan el suministro de sustrato hacia el interior. Autores presentan dos alternativas para solucionar el problema de la flotación. La primera de ellas es la adición del ión Fe^{+2} , el que supuestamente aumenta la firmeza del gránulo, evitando la formación de cavidades. La segunda es la instalación de un sistema que recolecte los gránulos flotantes del reactor, los fraccione y los retorne a él, de manera que sirvan de núcleos para la formación de nuevos gránulos (Chamy, 2003).

1.4.6 Almacenamiento y reactivación de gránulos anaerobios.

Una de las características valiosas que poseen los gránulos es su capacidad para mantener parte importante de su viabilidad por periodos prolongados de tiempo (varios meses, incluso años), pudiendo recobrar su actividad original en períodos reducidos de tiempo. Tal característica convierte a los reactores anaerobios granulares en una alternativa interesante para el tratamiento de las aguas residuales originadas en industrias que poseen una producción estacionaria o intermitente, cuya generación de residuos líquidos en muchas ocasiones se circunscribe a períodos del año determinados (por ejemplo la agroindustria). Esta propiedad del lodo anaerobio nace de la notoria disminución que experimenta la

velocidad de decaimiento endógeno en condiciones de ausencia de sustrato. Esto se traduce en una especie de hibernación, que permite la mantención de su viabilidad. Prueba de esto es que es posible almacenar muestras de lodo anaerobio por períodos prolongados (varios meses), con pérdidas de actividad moderadas. De esta forma, es factible efectuar re-arranques en tiempos reducidos de reactores anaerobios que han permanecido sin operar por períodos prolongados (Chamy, 2003).

ANEXO II

NORMATIVA NACIONAL APLICABLE**NCh-ISO17025.Of2001 ISO 17025:****REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO Y CALIBRACIÓN**

Esta norma especifica los requisitos generales para establecer la competencia para efectuar ensayos y/o calibraciones, incluyendo muestreo. Comprende los ensayos y calibraciones efectuados usando métodos normalizados, métodos no normalizados y métodos desarrollados por el laboratorio.

Esta norma se aplica a todas las organizaciones que efectúan ensayos y/o calibraciones. Estos incluyen, por ejemplo, laboratorios de primera parte, segunda parte y tercera parte y laboratorios en donde los ensayos y la calibración forman parte de la inspección y la certificación de productos.

Esta norma se aplica a todos los laboratorios independientemente de la cantidad de personal o la extensión del alcance de las actividades de ensayo y/o calibración.

Esta norma es para el uso de los laboratorios en el desarrollo de sus sistemas de calidad, administrativos y técnicos que rigen sus operaciones. También, puede ser usada por los clientes del laboratorio, las autoridades reguladoras y los organismos de acreditación para confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios.

El cumplimiento con requisitos reglamentarios o de seguridad en la operación de los laboratorios no está comprendido en esta norma.

Los laboratorios de ensayo y calibración que cumplen con los requisitos de esta norma, operan un sistema de calidad para sus actividades de ensayo y calibración que también cumple con los requisitos de NCh-ISO 9001, cuando efectúan el diseño/desarrollo de nuevos métodos y/o desarrollan programas de ensayo

combinando métodos normalizados y no normalizados; y con NCh-ISO 9002 cuando usan sólo métodos normalizados. El Anexo A entrega referencias cruzadas nominales entre esta norma y NCh-ISO 9001 y NCh-ISO 9002. La norma NCh-ISO/IEC 17025 cubre varios requisitos de competencia técnica que no están comprendidos en NCh-ISO 9001 y NCh-ISO 9002.

NCh2725.Of2002:

DIRECTRICES PARA LA APLICACIÓN DE NCH-ISO 17025 EN LOS LABORATORIOS QUE REALIZAN ENSAYOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS

Esta norma establece una guía para los laboratorios que realizan ensayos y análisis químicos, acerca de las mejores prácticas para las operaciones analíticas que efectúan, ya sea para análisis cualitativo y cuantitativo, rutinarios o no rutinarios.

Esta norma está orientada a ayudar a quienes están implementando el aseguramiento de la calidad en sus laboratorios, a los organismos de acreditación, certificación u otros en el cumplimiento de requisitos particulares y para explicar el significado de éstos.

Esta norma proporciona, además, una guía detallada para la interpretación de NCh-ISO 17025 para aquellos laboratorios que realizan análisis cuantitativos y cualitativos de la composición, naturaleza y propiedades de materiales, productos y sustancias.

Esta norma se aplica a laboratorios que realizan mediciones objetivas, desde análisis rutinarios hasta estudios específicos e investigación y desarrollo.

NCh2726.Of2002:

DIRECTRICES PARA LA APLICACIÓN DE NCH-ISO 17025 EN LOS LABORATORIOS QUE REALIZAN ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

Esta norma proporciona una guía específica para la acreditación de los laboratorios que ejecutan ensayos microbiológicos, para los evaluadores y los laboratorios que se preparan para la acreditación, siendo un complemento de NCh-ISO 17025.

Esta norma proporciona, además, una guía detallada para la interpretación de la norma NCh-ISO 17025 para aquellos laboratorios que estén emprendiendo ensayos de materiales, productos y sustancias. Esta guía se aplica a la ejecución de todas las mediciones objetivas, ya sean de rutina o no, y/o como parte de investigación y desarrollo.

Esta norma se aplica a laboratorios que realizan mediciones objetivas, desde análisis rutinarios hasta estudios específicos e investigación y desarrollo.

Los ensayos microbiológicos incluyen ensayos de esterilidad, detección, aislamiento, enumeración e identificación de microorganismos (virus, bacterias, micoplasma, fitoplasma, hongos, levaduras y protozoos) y sus metabolitos en diferentes materiales y productos o cualquier clase de ensayos que usen microorganismos como parte del sistema de detección, como también, el uso de microorganismos en ensayos ecológicos. De ahí que algunas de las guías de esta norma, por ejemplo, sobre esterilidad del medioambiente del laboratorio, necesitarán ser interpretadas en conformidad. Esta norma puede, también, proveer guías para laboratorios que usen técnicas en áreas relacionadas con la microbiología, tales como bioquímica, biología molecular y cultivos celulares. Sin embargo, ellos pueden tener también requisitos adicionales para los laboratorios en áreas no cubiertas por esta norma.

ANEXO III

LA TEORIA DLVO

El Balance de Repulsión y Atracción

La Teoría DLVO (llamada así por Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek) es la clásica explicación de los coloides en suspensión. Esta se basa en el equilibrio entre las fuerzas opuestas de repulsión y atracción electrostática y atracción tipo van der Waals, y explica por qué algunos coloides se aglomeran mientras que otros no lo hacen.

La repulsión electrostática llega a ser importante cuando los coloides se aproximan y la doble capa comienza a interferir. Se requiere energía para sobrepasar esta repulsión y forzar la unión entre las partículas. Esta energía aumenta fuertemente cuando las partículas se acercan. Se usa una curva de repulsión electrostática para indicar la energía que hay que vencer para que las partículas puedan ser forzadas a juntarse.

Esta energía llega a un valor máximo cuando las partículas están casi juntas y disminuye a cero fuera de la doble capa (Ver Figura i). Su valor máximo está relacionado con el potencial de la superficie.

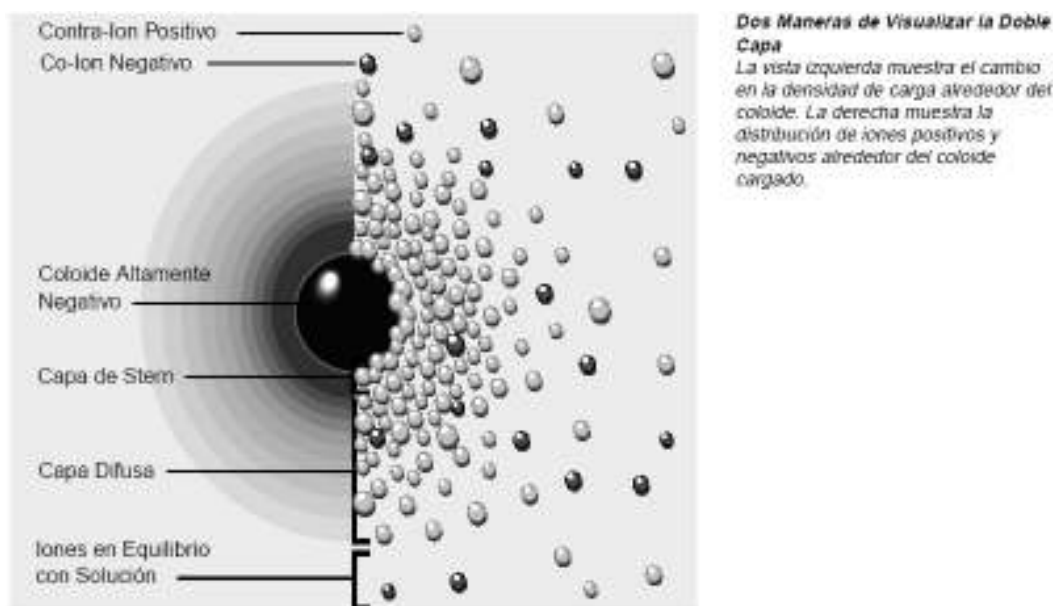
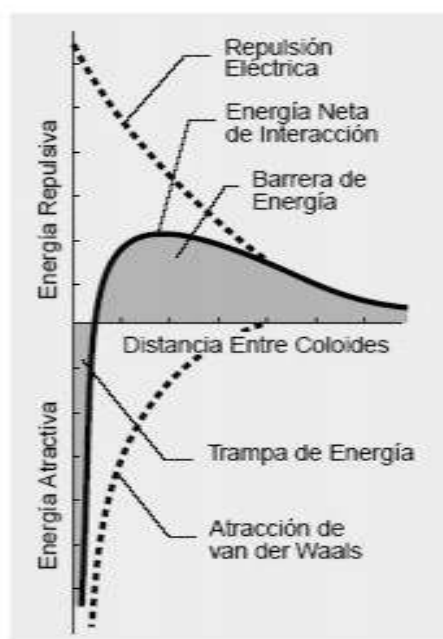


Figura i: Esquema de doble capa en coloides (Zeta-Meter, 2003)

La atracción de van der Waals entre los coloides es ciertamente el resultado de las fuerzas entre las moléculas individuales de cada coloide. El efecto es aditivo; o sea, una molécula del primer coloide experimenta la atracción de van der Waals de cada molécula del segundo coloide. Esto se repite para cada molécula del primer coloide y la fuerza total corresponde a la suma de todas ellas. Se usa una curva de energía de atracción para indicar las variaciones en las fuerzas de van der Waals con la distribución entre las partículas.

La Teoría DLVO explica la tendencia de los coloides a aglomerarse o permanecer separados al combinar la atracción de van der Waals y la curva de repulsión electrostática: la curva combinada es llamada la *energía neta de interacción* (ver Figura ii). A cada distancia, el pequeño valor se resta del mayor valor para dar la energía neta. El valor neto se representa entonces arriba si es repulsivo o abajo si es atractivo, y así se forma la curva. La curva de interacción neta cambia siempre de atracción a repulsión y nuevamente a atracción. Si existe una zona repulsiva, entonces el punto máximo de energía de repulsión se llama la *barrera de energía*. La altura de esta barrera indica cuan estable es el sistema. Para aglomerar 2 partículas que van a chocar, éstas deben tener suficiente energía cinética debido a su velocidad y masa, como para pasar sobre dicha barrera. Si la barrera desaparece, entonces la interacción neta es totalmente atractiva y consecuentemente las partículas se aglomeran. Esta región interna es referida como la *trampa de energía*, pues los coloides pueden considerarse como sistemas unidos por fuerzas de van der Waals.



Interacción

La curva de energía neta de interacción se forma al substraer la curva de atracción de la curva de repulsión.

Figura ii: Curva de energía neta de interacción (Zeta-Meter, 2003)

Dependiendo de nuestros propósitos, es posible alterar el entrono del coloide para aumentar o disminuir la barrera energética. Varios métodos pueden ser usados para este propósito, tales como cambios en la atmósfera iónica, el pH o agregando compuestos activos para afectar directamente la carga del coloide. En cada caso, la medida del potencial zeta indicará el efecto de la alteración, principalmente en su estabilidad (Zeta-Meter, 2003)

ANEXO IV

METODOLOGÍAS ANALÍTICAS

Las siguientes metodologías van de acuerdo con el "Standard methods for the examination of water and wastewater", 18th Edition, de 1992, usado a nivel nacional e internacional.

- *Determinación de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅)*

La determinación de la demanda bioquímica de oxígeno es un test empírico que consiste en determinar el oxígeno consumido por microorganismos, cuando se incuba una muestra en la oscuridad a 20°C, durante 5 días, determinándose el oxígeno con el método de Winckler Azida modificada.

Para la determinación de DBO₅ la técnica implementada necesita una incubación a 20°C por cinco días y el uso de la volumetría.

Se requieren los equipos y aparatos descritos a continuación:

Botella de incubación

De capacidad 250 a 300 ml, con tapa de vidrio esmerilado. Se deben lavar las botellas con detergente y enjuagar a fondo antes de usar. Como precaución, para evitar que entre aire dentro de la botella de dilución durante la incubación, emplear un sello de agua. Esto se logra, ya sea agregando agua a la boca ensanchada de la botella de incubación, o bien sumergiendo la botella en el baño de agua, de ser este último el utilizado.

Incubador de aire o baño de agua

Con control de temperatura a 20 ± 1°C. Excluir toda fuente de luz para prevenir la posibilidad de producción de oxígeno por fotosíntesis.

Para la determinación también se utilizarán reactivos y soluciones.

Reactivos

Potasio Dihidrógeno Fosfato, KH₂PO₄ p.a.

Dipotasio Hidrógeno Fosfato, K₂HPO₄ p.a.

Disodio Hidrógeno Fosfato Heptahidrato, Na₂HPO₄ x 7H₂O, p.a.

Cloruro de Amonio, NH₄Cl, p.a.

Sulfato de Magnesio Heptahidratado, MgSO₄ x 7H₂O, p.a.

Cloruro de Calcio, CaCl₂, p.a.

Cloruro Férrico Hexahidratado, FeCl₃ x 6H₂O, p.a.

Ácido Sulfúrico, H₂SO₄, 95-97%, p.a.

Sulfito de Sodio, Na₂SO₃, p.a.

2-Cloro-6-tricloro metil piridina, C₆H₃NCl₄, p.a.

Glucosa, $C_6H_{12}O_6$, p.a.
Ácido Glutámico, $C_5H_9NO_4$, p.a.
Hidróxido de Sodio, NaOH, p.a.
Sulfato de Manganeso Tetrahidrato, $MnSO_4 \times 4H_2O$, p.a.
Ioduro de Potasio, KI, p.a.
Azida de Sodio, NaN_3 , p.a.
Almidón, p.a.

Soluciones

- Solución buffer de fosfato

Disolver 8,5 g de KH_2PO_4 , 21,75 g de K_2HPO_4 , 33,4 g $Na_2HPO_4 \times 7H_2O$ y 1,7 g NH_4Cl en alrededor de 500 ml de agua destilada y diluir a un litro. El pH debe ser 7,2 sin proceder a un mayor ajuste. Se debe descartar la solución o cualquiera de las soluciones siguientes si se observan signos de crecimiento biológico.

- Solución de Sulfato de Magnesio

Disolver 22,5 g de $MgSO_4 \times 7H_2O$ en agua destilada y diluir a un litro.

- Solución de Cloruro de Calcio

Disolver 27,5 g de $CaCl_2$ en agua destilada y diluir a un litro.

- Solución de Cloruro Férrico

Disolver 0,25 g de $FeCl_3 \times 6H_2O$ en agua destilada y diluir a un litro.

- Ácido Sulfúrico 1N

Añadir cuidadosamente 28 ml de H_2SO_4 95-97% a un volumen de agua destilada y diluir a un litro.

- Hidróxido de Sodio 1N

Disolver 40 g de NaOH en agua destilada y diluir a un litro.

- Solución de Sulfito de Sodio

Disolver 1,575 g de Na_2SO_3 en 1000 ml de agua destilada. Esta solución no es estable, preparar diariamente.

- Solución glucosa - Ácido Glutámico

Secar los reactivos a $103^\circ C$ en estufa de secado por una hora. Disolver 150 mg de glucosa y 150 mg de Ácido Glutámico en agua destilada y diluir a un litro. Preparar inmediatamente antes de usar.

- Solución de Cloruro de Amonio

Disolver 1,15 g de NH_4Cl en alrededor de 500 ml de agua destilada, ajustar el pH a 7,2 con solución de NaOH y diluir a un litro. Preparar inmediatamente antes de usar. Esta solución contiene 0,3 mg N/ml.

- Solución de Sulfato de Manganeso

Disolver 480 mg de $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$ (ó 400 de MnSO_4 ó 364 g de $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) en agua destilada, filtrar y diluir a un litro. Esta solución no debe dar color en presencia de almidón, al añadir una solución de KI en medio ácido.

- Reactivo Alkali - Yoduro - Azida

Disolver 500 g de NaOH (o 700 g de KOH) y 135 g de NaI (o 150 de KI) en agua destilada y diluir a un litro. Añadir 10 g de NaN_3 disueltos en 40 ml de agua destilada. Este reactivo no debe dar color alguno, en presencia de almidón, al añadir una solución de KI en medio ácido.

- Solución de Almidón al 2%

Preparar una solución acuosa de Almidón disolviendo 2 g de Almidón soluble en 100 ml de agua destilada caliente.

- Solución patrón de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,025 N

Disolver 6,205 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada. Añadir 1,5 ml de NaOH ó 0,4 g de NaOH en pellet y diluir a 1000 ml. Estandarizar con solución de Dicromato de Potasio.

El procedimiento para la determinación debe contemplar los siguientes pasos:

Preparación de Agua de Dilución

Colocar un volumen apropiado de agua en un recipiente limpio.

Añadir por cada litro de agua, un ml de las soluciones de buffer Fosfato, Sulfato de Magnesio, Cloruro de Calcio y Cloruro Férrico.

Llevar a la temperatura de 20°C, la solución, previo a la dilución de las muestras.

Saturar con oxígeno disuelto la solución por agitación o por aireación con aire filtrado, libre sustancias orgánicas.

Revisión de Agua de Dilución

Usar este procedimiento para un chequeo rápido.

Incubar, una botella de DBO_5 con agua de dilución cinco días a 20°C.

Determinar oxígeno inicial y final.

El oxígeno consumido no debe ser mayor a 0.2 mg/l y preferentemente no mayor que 0,1 mg/l.

Revisión de Ácido Glutámico – Glucosa

Dado que el test de DBO_5 es un bioensayo, sus resultados pueden verse fuertemente influenciados por la presencia de tóxicos o por el uso de soluciones pobres en inóculo. El agua destilada frecuentemente esta contaminada con cobre, algunos inóculos son relativamente inactivos y por lo tanto los resultados obtenidos son más bajos. Es conveniente revisar periódicamente la calidad del agua de dilución, la efectividad del inóculo y la técnica analítica, haciendo mediciones de DBO en compuestos orgánicos puros y muestras con adiciones conocidas.

Determinar el DBO_5 de una dilución al 2% de la solución estándar de 300 mg/l del estándar mixto de Glucosa - Ácido Glutámico 1:1 usando la técnica indicada en el ítem "Dilución en Botella de DBO ". El DBO_5 promedio para este estándar, debe ser de 198 mg/l, con una desviación estándar de 30,5 mg/l, conforme a lo señalado en el "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17th Edition".

Inóculos

Es Necesario tener una población de microorganismos capaz de oxidar la materia orgánica de la muestra. El inóculo adecuado es un efluente de un sistema de tratamiento biológico que procesa un residuo líquido. Cuando este inóculo no está disponible, usar el sobrenadante de un desecho doméstico luego de dejarlo decantar a temperatura ambiente a lo menos 1 hora y no más de 36 horas. Alternativamente usar un inóculo comercial para obtener la población de microorganismos necesaria. Determinar el DBO del inóculo tal como para una muestra, constituyendo esto el control del inóculo. Del valor obtenido en el control y conociendo la dilución del inóculo en el agua de dilución, determinar el consumo de oxígeno por parte del inóculo. Para obtener el consumo de oxígeno de la muestra restar el oxígeno disuelto total al oxígeno correspondiente al inóculo.

Pretratamiento de la Muestra

- Muestras con Alcalinidad o Acidez. Neutralizar las muestras a pH 6,5; 7,5 con H_2SO_4 1N o NaOH 1N según corresponda. Procurar no diluir la muestra más de 0,5%.
- Muestras que Contienen Cloro Residual. En lo posible evitar muestras que contengan cloro residual, muestreando antes del proceso de cloración. Si la muestra ha sido clorada pero no se detecta cloro residual, es conveniente usar agua de dilución con inóculo. Destruir el cloro residual agregando la solución de Na_2SO_3 necesario para descomponer el cloro presente en la muestra neutralizada agregando 10 ml de ácido acético (1:1) o ácido sulfúrico (1:50), 10 ml de solución de yoduro de potasio 10% y titular con Na_2SO_3 0,025N hasta viaje del indicador almidón.
Agregar a la muestra neutralizada el volumen de sulfito y mezclar, luego de 10 a 20 minutos la muestra debe dar negativa al test de cloro residual.
- Muestras que Contienen Otras Sustancias Tóxicas. Algunos residuos industriales contienen metales tóxicos, en tal caso se requiere de un tratamiento y estudio especial.
- Muestras Sobresaturadas con Oxígeno Disuelto. En muestras que contengan más de 9 mg/l de oxígeno disuelto a 20°C es necesario llevar a la saturación a 20°C por agitación vigorosa o por aislación con aire comprimido limpio.
- Ajuste de Temperatura. Ajustar la temperatura de las muestras a 20°C $\pm$ 1 antes de hacer las diluciones.
- Inhibición de la Nitrificación. Si se desea inhibir la nitrificación añadir 3 mg de 2 - cloro - 6 (tricloro-metil) piridina a cada botella de 300 ml. El uso del inhibidor de nitrificación debe reportarse en los resultados.

Técnicas de Dilución

Las diluciones que producen los resultados más confiables son aquellas donde el oxígeno residual después de cinco días de incubación a 20°C es al menos 1 mg/l y el consumo de oxígeno de 2 mg/l.

Hacer varias diluciones de una técnica es recomendable para obtener estos rangos de mediciones. En ausencia de mayores antecedentes emplear el siguiente criterio para la dilución:

0,0% a	1,0% :	Residuos Industriales Concentrados.
1,0% a	5,0% :	Agua de Desechos, Cruda y Decantada.
5,0% a	25,0% :	Efluentes Tratados Biológicamente.
25,0% a	100,0% :	Agua de Ríos Contaminada.

Dilución en Botella de DBO

Usando una pipeta de punta ancha agregar el volumen de muestras a botellas de DBO de capacidad conocida.

Llenar las botellas con suficiente agua de dilución, con inóculo si es necesario, de tal modo que la inserción del tapón desplace todo el aire, sin dejar burbujas.

En el caso de diluciones mayores que 1:100, realizar una dilución de la muestra al matraz volumétrico, previo a tomar la muestra para la dilución en la botella.

Para la medición en oxígeno disuelto, es necesario preparar dos botellas de cada dilución.

Determinar el oxígeno disuelto de una botella, tapar la segunda botella, sellar con agua e incubar cinco días a 20°C.

Determinar el oxígeno disuelto en la botella, rellenar la botella con agua de dilución, y tapar, sellar con agua e incubar cinco días a 20°C.

Determinación de Oxígeno Inicial

Por Volumetría, Método Yodométrico Modificación de Azida.

A la botella que contiene la muestra añadir sucesivamente 1 ml de la solución MnSO_4 y 1 ml de solución Alkali- Ioduro - Azida.

Tapar cuidadosamente, excluir las burbujas de aire y mezclar por inversión varias veces.

Cuando el precipitado a sedimentado, añadir 1,0 ml de H_2SO_4 concentrado.

Volver a tapar y mezclar por inversión varias veces hasta que la disolución sea completa.

Titular un volumen de 200 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ x 0,025N hasta un color amarillo pálido, añadir algunas gotas de solución de almidón y continuar, la titulación hasta desaparición del color azul.

Al titular 200 ml de muestra, 1 ml de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ x 0,025N equivale a 1 mg de oxígeno disuelto/litro.

Blanco de Agua de Dilución

Utilizar un blanco de agua de dilución sin inóculo, como una estimación de la calidad del agua y el grado de limpieza de las botellas de incubación. Junto a cada

lote de muestras incubar una botella de agua de dilución. Determinar el oxígeno disuelto inicial y final de acuerdo al ítem “Determinación de Oxígeno Inicial”.

El consumo de oxígeno no debe ser mayor que 0,2 mg/l y en lo posible no menor a 0,1 mg/l.

Incubación

Incubara 20°C +- 1°C por 5 días las botellas DBO que contienen:

Diluciones de la muestra.

Control inóculo.

Blanco de agua de dilución.

Chequeo Glucosa - Ácido Glutámico.

Determinación de Oxígeno Disuelto Final

Después del quinto día de incubación determinar el oxígeno disuelto de todas las botellas incubadas de acuerdo al ítem “Determinación de Oxígeno Inicial”

Cálculos

Muestras con Agua de Dilución no Inoculada.

$$\text{DBO}_5, \text{ mg/l} = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

Siendo:

D₁ = Oxígeno disuelto de la muestra diluida inmediatamente después de la preparación, mg/l.

D₂ = Oxígeno disuelto de la muestra diluida después de 5 días de incubación a 20°C, mg/l.

P = Fracción volumétrica decimal de la muestra.

Muestras con Agua de Dilución Inoculadas

$$\text{DBO}_5, \text{ mg/l} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2) f}{P}$$

Siendo:

D₁ = Oxígeno disuelto de la muestra diluida inmediatamente después de la preparación, mg/l.

D₂ = Oxígeno disuelto de la muestra diluida después de 5 días de incubación a 20°C, mg/l.

B₁ = Oxígeno disuelto del control inóculo antes de la incubación, mg/l.

B₂ = Oxígeno disuelto del control inóculo después de la incubación, mg/l.

f = Proporción entre inóculo en la muestra diluida e inóculo en el control inóculo. (%de inóculo de la muestra diluida / % de inóculo en el control inóculo).

P = Fracción volumétrica decimal en la muestra:

Si el inóculo es añadido directamente a la muestra o a las botellas del control de inóculo entonces:

$$f = \frac{(\text{Volumen de inóculo en muestra diluida})}{(\text{Volumen de inóculo en el control inóculo})}$$

Reportar los resultados como DBO_5 si se emplea el reactivo inhibidor de la nitrificación.

No se deben hacer correcciones por el consumo de oxígeno disuelto por el blanco de agua de dilución. Esta corrección es innecesaria si el agua de dilución cumple el criterio estipulado para el blanco (Item "Blanco de Agua de Dilución"). Si el agua de dilución no cumple con este criterio es muy difícil hacer algún tipo de corrección y los resultados se tornan dudosos.

Interferencias

Si se toma en consideración el pretratamiento adecuado para la muestra, es posible reducir las interferencias debidas a pH de la muestra fuera del rango 6,5 a 7,5; presencia de cloro residual, presencia de sustancias tóxicas, y sobresaturación de oxígeno.

Finalmente la precisión del método se verifica conforme al "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th Edition 1992". En una serie de estudios interlaboratorios incluyendo desde 2 a 112 laboratorios (con varios analistas y diferentes fuentes de inóculo), se realizaron mediciones de DBO_5 días en muestras de agua que contenían una mezcla 1:1 de glucosa y ácido glutámico en el rango de 3,3 a 231 mg/l. La ecuación de regresión para el valor medio X y desviación estándar, S , fueron:

$$\begin{aligned} X &= 0,658 (\text{Nivel agregado, mg/l}) + 0,280 \text{ mg/l.} \\ S &= 0,100 (\text{Nivel agregado, mg/l}) + 0,547 \text{ mg/l.} \end{aligned}$$

Para una mezcla de estándar primario de 300 mg/l el promedio del DBO_5 días fue 198 mg/l con una desviación estándar de 30,5 mg/l.

- *Determinación de Sólidos Sedimentables.*

El método consiste en determinar la fracción de sólidos de una muestra que sedimenta durante un período preestablecido en un cono Imhoff.

El residuo sedimentable esta formado por material en suspensión de mayor tamaño y de densidad mayor a la del agua, y que se deposita cuando el sistema está en reposo.

La técnica a utilizar involucra métodos volumétricos.

Se deberán utilizar:

- Un cono Imhoff
- Una varilla de vidrio de 30 a 40 cm.

Para la determinación se procede de la siguiente manera:

1. Llenar un cono Imhoff hasta la marca de un litro con la muestra bien homogeneizada.
2. Sedimentar por 45 minutos y agitar suavemente los bordes del cono con una varilla.
3. Sedimentar 15 minutos más y registrar el volumen (V) de sólidos sedimentados en el cono como ml/l.
4. Si se observa bolsas de líquido entre las partículas sedimentadas mayores, estimar este volumen y sustraerlo del volumen total registrado en Item 3.
5. El método no incluye el material flotante que pueda separarse durante la sedimentación.

El informe de resultados finales es entregado en ml/l luego de una hora y corresponde al valor entregado por el Item 3 (V). Este volumen corresponde a los sólidos sedimentables de la muestra.

En la determinación de sólidos sedimentables por método volumétrico no se presentan interferencias, y la precisión esta determinada conforme al "Standard methods for the examination of water and wastewater", 18th Edition. No existen datos disponibles de precisión y sesgo.

- *Determinación de Sólidos Suspendidos Totales.*

La determinación de sólidos suspendidos totales secados a 103 - 105°C a través de técnicas de gravimetría, es aplicable al análisis de muestras de residuos industriales líquidos y aguas servidas domesticas.

Una muestra bien homogeneizada es filtrada a través de un filtro tarado, de fibra de vidrio estándar. El residuo retenido es secado hasta peso constante a 103 - 105°C. El aumento de peso del filtro representa los sólidos suspendidos totales.

Para la determinación de sólidos se requiere la utilización de los siguientes aparatos o equipos:

Estufa de secado para operar a $104 \pm 1^\circ\text{C}$.

Aparato para filtración por membrana

Filtros de fibra de vidrio Whatman 934 AH ó Millipore AP40 ó equivalentes.

Balanza analítica capaz de pesar al 0,1 mg.

Desecador

Plancha de aluminio o acero inoxidable de 65 mm de diámetro.

El procedimiento se llevará a cabo una vez reunidos los aparatos y se iniciará con:

1.- La preparación del disco de fibra de vidrio

1.1.- Colocar el disco en el aparato de filtración, aplicar vacío y lavar con tres porciones sucesivas de 20 ml de agua destilada.

1.2.- Continuar la succión para remover totalmente el agua, y descartar el agua de lavado.

1.3.- Sacar el filtro del aparato de filtración y colocarlo sobre una plancha de aluminio o acero inoxidable que servirá como soporte. Secar en estufa a $103 - 105^\circ\text{C}$.

1.4.- Enfriar en desecador y secar. (B)

Se obtendrá el dato de peso "B", luego:

2.- La selección del filtro y tamaño de muestra

2.1.- El volumen de muestra debe ser tal, que el residuo seco obtenido sea, entre 2,5 y 200 mg.

2.2.- Si el tiempo utilizado en la filtración es mayor que 10 minutos, es necesario aumentar el diámetro del filtro o disminuir el volumen de muestra a tomar.

Para terminar el procedimiento:

3.- El procedimiento de análisis

3.1.- Colocar el filtro preparado de acuerdo a Item 1 en aparato de filtración y aplicar vacío. Humedecer el filtro con una pequeña porción de agua destilada.

3.2.- Filtrar un volumen medido de muestra (V) homogeneizada a través del filtro de fibra de vidrio.

3.3.- Lavar con tres porciones sucesivas de 10 ml de agua destilada y continuar la succión por aproximadamente tres minutos después que la filtración se ha completado.

3.4.- Remover el filtro del aparato de filtración y colocarlo sobre la plancha de aluminio o acero inoxidable.

3.5.- Secar el filtro por una hora a 103 - 105°C.

3.6.- Enfriar en desecador y pesar. (A)

3.7.- Repetir el procedimiento de los Items 3.5 y 3.6 hasta obtener peso constante.

En el procedimiento de análisis se obtienen los últimos datos para poder realizar los cálculos de sólidos suspendidos correspondientes al procedimiento.

Estos serían entonces:

$$\text{SST (mg/l)} = \frac{(A-B) \times 1000}{V}$$

Siendo:

SST = Sólidos Suspendidos Totales en (mg/l)

A = Peso del filtro + Residuo seco, en mg [3.6]

B = Peso del filtro, en mg [1.4]

V = Volumen de muestra, ml [3.2]

Se pueden encontrar dentro de la determinación de sólidos algunas interferencias, para evitarlas se deben excluir las partículas grandes o aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos de la muestra; en el caso de que la muestra tenga alto contenido de sólidos disueltos, se debe lavar a fondo el filtro para asegurar la remoción de todo el material disuelto. Por ultimo se debe tener cuidado con los tiempos prolongados de filtración, ya que esto puede provocar que el filtro utilizado se tape debido al exceso de sólidos capturados.

Finalmente la precisión para la determinación es establecida conforme al "Standard Methods for the examination of water and wastewater", 18th edition.

En el TABLA N°1, se indica la desviación estándar y el coeficiente de variación encontrado al analizar dos operadores, diez veces cuatro grupos de muestra de igual concentración.

TABLA N°1

Concentración	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación %
15 mg/l	5,2 mg/l	33
242 mg/l	24,0 mg/l	10
1707 mg/l	13,0 mg/l	0,76

- *Determinación de Sólidos Totales*

El método se basa en que una muestra de mezcla completa es evaporada en un plato pesado y seco a peso constante en un horno a 103 – 105°C. El aumento del peso del plato anteriormente vacío representa a los sólidos totales. Los resultados pueden no representar a los sólidos disueltos y suspendidos actuales en muestras de aguas residuales.

Aparatos:

Platos de evaporación (capacidad 100 mL, hechos de porcelana, platino o silicio)
 Horno mufla para operar a $500 \pm 50^{\circ}\text{C}$
 Baño de vapor
 Desecador (que contenga un desecador con indicador de color para concentración de humedad o un instrumento indicador)
 Horno de secado, para operar a 103 – 105°C
 Balanza analítica, capaz de pesar hasta 0,1 mg
 Agitador magnético con barra mezcladora
 Pipetas aforadas

Procedimiento:

Análisis de la muestra: Elija un volumen de muestra que deje un residuo de entre 10 a 200 mg. Cuando son muy bajos los sólidos suspendidos encontrados (menos de 10 mg/L), menos residuo puede ser recolectado; compense usando una balanza de alta sensibilidad (0,002 mg.). Vierta con la pipeta un volumen medido de la muestra homogeneizada al plato pre-pesado y evapore al máximo en un baño de vapor o en un horno de secado. Mezcle la muestra con un mezclador magnético durante el proceso. Si es necesario, agregue sucesivas porciones de muestra al mismo plato luego de la evaporación. Cuando se realice la evaporación en un horno de secado, mantener la temperatura aproximadamente 2°C bajo el punto de ebullición para evitar que se desparrame la muestra con la ebullición. Seque la muestra evaporada durante al menos durante 1 hr. a 103 – 105°C, luego coloque el residuo en una muestra en un plato frío, y éste en el desecador para estabilizar la temperatura y el peso. Repita el ciclo de secado, enfriado, desecado y pesado hasta que el peso varíe menos de un 4% de pesadas anteriores o 5 mg, cualquiera de ellos. Durante el pesaje de la muestra seca, esté alerta con cambios de peso por la exposición al aire y/o la degradación de la muestra. Duplicar estas determinaciones debería coincidir en un 5% en promedio en los resultados finales.

Cálculos de los resultados:

$$\text{ST (mg/l)} = \frac{(A-B) \times 1000}{V}$$

Siendo:

ST = Sólidos Totales en (mg/l)

A = Peso del plato + Residuo seco, en mg

B = Peso del plato, en mg
V = Volumen de muestra, ml

- *Determinación de pH.*

Determinar el grado de acidez o alcalinidad en muestras de Aguas, Riles y soluciones acuosas, por un método potenciométrico.

Equipos e instrumentos

pHmetro, con electrodo combinado de vidrio y sensor de temperatura.

Materiales

Vaso de precipitado o frasco de 100 mL
Piseta
Papel suave

Reactivos

Muestra
Agua destilada

Actividades

Tomar muestra en un vaso de precipitado alto.
Ajustar la temperatura a 25°C.

Introducir cuidadosamente el electrodo de vidrio y sensor de temperatura limpios en la muestra y esperar que se produzca la ambientación térmica del electrodo y estabilización del instrumento, aumentar esta con suave agitación (no utilizar agitador magnético). Registrar el valor de pH cuando el instrumento entregue una lectura constante a $25^{\circ}\text{C} \pm 0,5$.

Resultados

Lectura directa. Se debe anotar la lectura de pH y la temperatura de medición. Aun si la calibración ha sido ejecutada con alta eficiencia una medida de pH no podrá ser más precisa que la del valor pH de los buffer estándar.

- *Determinación de la Alcalinidad*

La alcalinidad es la capacidad del agua de neutralizar ácidos. Es la suma de todas las bases titulables. Los valores pueden variar importantemente con el punto final de pH usado. La alcalinidad es la medida de la cantidad de propiedades agregadas del agua y puede interpretarse en términos de sustancias específicas sólo cuando la composición química de la muestra es conocida.

La alcalinidad es importante en variados usos y tratamientos de aguas naturales y aguas residuales. Como la alcalinidad de muchas aguas superficiales es principalmente una función de los contenidos de carbonato, bicarbonato e hidróxidos, ésta es tomada como un indicador de las concentraciones de estos constituyentes. Los valores medidos también pueden incluir contribuciones de boratos, fosfatos, silicatos u otras bases que estén presentes. La alcalinidad en exceso proveniente de concentraciones de metales alcalinos presentes en la tierra es significativa para la determinación de la idoneidad de aguas para irrigación. Las mediciones de alcalinidad son usadas también en la interpretación y control de procesos de tratamientos de aguas y aguas residuales. Las aguas residuales domésticas sin tratamiento poseen una alcalinidad menores que, o sólo ligeramente mayores que el agua de suministro. Operaciones adecuadas de digestores anaeróbicos típicos poseen alcalinidades en el rango de 2000 a 4000 mg de carbonato de calcio (CaCO_3)/L.

Método de titulación:

Aparatos:

pHmetro (capaz de leer hasta 0.05 unidades de pH)

Recipientes de valoración (125 a 250 mL app.)

Agitador magnético

Pipetas volumétricas

Matraces volumétricos (100 a 1000 mL)

Buretas (de vidrio borosilicatado, 10 a 50 mL)

Botella de poliolefinas 1 Lt.

Reactivos:

Carbonato de Sodio, Na_2CO_3 p.a.

Sal de sodio verde bromocresol p.a.

Sal de sodio rojo metil p.a.

Morado metacresol

Fenolftaleína

Tiosulfato de sodio pentahidratado $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ p.a.

Soluciones:

Solución de Carbonato de Sodio, aproximadamente 0.05 N: Secar 3 a 5 g de Na_2CO_3 primario estándar a 250°C por 4 hrs y enfriar en desecador. Pesar 2.5 ± 0.2 g, transferir a un frasco de 1 Lt. y aforar con agua destilada, revolver y disolver. No mantener más de 1 semana.

Acido hidroclicóricu o ácidu sulfúricu estándar 0.1 N: Estandarice cerca de 40 mL de solución de Na_2CO_3 0.05 N con 60 mL de agua, en un vaso grande por titulación potenciométrica hasta pH alrededor de 5. Retire los electrodos, enjuagelos dentro de el mismo vaso grande y hierva por 3 a 5 min con el frasco tapado por un vidrio reloj. Enfríe a temperatura ambiente, enjuague el vidrio reloj en el vaso, y termine valorando hasta el punto de inflexión del pH. Calculando la normalidad:

$$\text{Normalidad}, N = \frac{A \times B}{53.00 \times C}$$

donde:

A = g de Na_2CO_3 contenido en 1 Lt.

B = mL de solución de Na_2CO_3 usada en la titulación, y

C = mL de ácido usado.

Use la normalidad medida en cálculos de ajuste a 0.1000 N; 1 mL de solución al 0.1000 N = 5.00 mg CaCO_3 .

Acido hidroclicóricu o ácidu sulfúricu estándar, 0.02 N: Diluya 200 mL de ácido estándar 0.1000 N a 1000 mL con agua destilada o desionizada. Estandarice por titulación potenciométrica de 15 mL de Na_2CO_3 0.05 N, de acuerdo con el procedimiento anterior; 1 mL = 1 mg de CaCO_3 .

Solución indicadora verde bromocresol, indicador de pH 4,5: Disuelva 100 mg de sal de sodio bromocresol verde en 100 mL de agua destilada.

Solución indicadora mezcla de verde bromocresol – rojo metil: Puede usarse cualquiera de las dos soluciones, la acuosa o la alcohólica:

- 1) Disolver 100 mg de sal de sodio verde bromocresol y 20 mg de sal de sodio rojo metil en 100 mL de agua destilada.
- 2) Disolver 100 mg de verde bromocresol y 20 mg de rojo metil en 100 mL de alcohol etílico 95% o alcohol isopropil.

Solución indicadora morada metacresol, indicadora de pH 8,3: Disolver 100 mg de morado metacresol en 100 mL de agua.

Solución de fenolftaleína alcohólica indicadora de pH 8,3.

Tiosulfato de sodio, 0,1 M: Disolver 25 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y diluya a 1000 mL con agua destilada.

Procedimiento

a.- *Cambio de color:* Seleccionar el tamaño de la muestra y la normalidad del titulante de acuerdo con el siguiente criterio:

- Muestras con acidez menor a 1000 mg de CaCO_3 : Volumen con acidez equivalente a 50 mg de CaCO_3 .
- Muestras con acidez mayor a 1000 mg de CaCO_3 : Volumen con acidez equivalente a 250 mg de CaCO_3 .

Luego, ajuste la muestra a temperatura ambiente, si fuese necesario, y con una pipeta vierta la muestra en un matraz de erlenmeyer, manteniendo la punta de la pipeta cerca del fondo del matraz. Si se presenta residuo clórico libre, agregar 0,05 mL (1 gota) de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 M, o destrúyalos con radiación ultravioleta. Agregue 0.2 mL (5 gotas) de solución indicadora y titule sobre una superficie blanca hasta que cambie a un color persistente en el punto de equivalencia. Soluciones indicadoras comerciales o sólidos designados para el rango apropiado (3,7 o 8,3) pueden ser usados. Revise el color en el punto final agregando la misma concentración de indicador usado con muestra en una solución buffer al pH designado.

b.- *Curva de Titulación potenciométrica:* Luego de determinar la acidez (falta), sustituyendo la normalidad adecuada de la solución ácida estándar por el NaOH estándar, y continuar la titulación hasta pH 4,5 o menor. No filtrar, diluir concentrar o alterar al muestra.

c.- *Titulación potenciométrica a pH preseleccionado:* Determinar el punto final de pH apropiado de acuerdo con el procedimiento anterior. Preparar la muestra y el montaje de titulación. Titular hasta el punto final de pH sin anotar pH intermedios y sin retrasos indebidos. Como el punto final es aproximado, realice pequeñas adiciones de ácido y asegure que el pH de equilibrio es alcanzado antes de agregar más titulante.

d.- *Titulación potenciométrica de baja alcalinidad:* Para alcalinidades menores de 20 mg/L, titular de 100 a 200 mL de acuerdo con el procedimiento anterior, usando encima una microbureta de 10 mL y solución ácida estándar 0,2 N. Detener la titulación al alcanzar un pH dentro del rango de pH de 4,3 a 4,7 y anotar el volumen y pH exactos. Cuidadosamente agregar titulante para reducir el pH exactamente 0,3 unidades de pH y anotar nuevamente el volumen.

Cálculos

a.- *Titulación potenciométrica al pH de punto final:*

$$\text{Alcalinidad, mgCaCO}_3 / L = \frac{A \times N \times 50000}{mL_{\text{demuestra}}}$$

donde:

A = mL de ácido estándar usado y

N = normalidad del ácido estándar

o:

$$\text{Alcalinidad, mgCaCO}_3 / L = \frac{A \times t \times 1000}{mL_{\text{demuestra}}}$$

donde:

t = título del ácido estándar, mg de CaCO_3 /mL.

Informe el pH de punto final de la siguiente manera: "La alcalinidad pH ____ = ____ mg de CaCO_3 " e indicar claramente si el pH corresponde a un punto de inflexión de la curva de titulación.

b.- *Titulación potenciométrica de baja alcalinidad:*

$$\text{AlcalinidadTotal, mgCaCO}_3 / L = \frac{(2B - C) \times N \times 50000}{mL_{\text{demuestra}}}$$

donde:

B = mL de titulante al primer pH anotado

C = mL totales de titulante para alcanzar el pH 0,3 unidades más bajo, y

N = normalidad del ácido.

c.- Cálculo de relaciones de alcalinidad

Los resultados obtenidos con la fenolftaleína y las determinaciones de alcalinidad total ofrecen un significado para la clasificación estequiométrica de las tres principales formas de alcalinidad presentes en muchas aguas. La clasificación atribuye la alcalinidad entera al bicarbonato, al carbonato e hidróxidos, y asume la ausencia de otros (levemente) ácidos orgánicos o inorgánicos, tales como el ac. silícico, ac. fosfórico y/o el ac. bórico. Esto promueve el presupuesto de la incompatibilidad de alcalinidades de hidróxidos y bicarbonato. A raíz de que los cálculos están hechos el bases estequiométricas, las concentraciones de iones en el estricto sentido no están representadas en los resultados, lo cual puede diferir significativamente de concentraciones actuales, especialmente a $\text{pH} > 10$. De acuerdo con este esquema:

- 1) La alcalinidad del carbonato (CO_3^{2-}) está presente cuando la alcalinidad de la fenolftaleína no es cero, pero es menor que la alcalinidad total.
- 2) La alcalinidad del hidróxido (OH^-) está presente si la alcalinidad de la fenolftaleína es mayor que la mitad de la alcalinidad total.
- 3) La alcalinidad del bicarbonato (HCO_3^-) está presente si la alcalinidad de la fenolftaleína es menor que la mitad de la alcalinidad total. Estas relaciones pueden ser calculadas siguiendo el siguiente esquema, donde F es la alcalinidad de la fenolftaleína y T es la alcalinidad total (Tabla 1):

Seleccione el valor más pequeño de entre F o $(T - P)$. Entonces, la alcalinidad del carbonato será igual a dos veces el valor menor. Cuando el valor menor es F, la ecuación $(T - 2F)$ es bicarbonato. Cuando el valor menor es $(T - F)$, la ecuación $(2F - T)$ es hidróxido. Todos los resultados son representados como CaCO_3 . La conversión matemática de los resultados se muestra en la Tabla 2. (Una modificación de la Tabla 2: es más precisa cuando $F \cong \frac{1}{2}T$, como alternativa).

Las relaciones de alcalinidad también pueden ser calculadas mediante el método gráfico. Mediciones de precisión de pH, el cálculo de la concentración de OH^- como miligramos de CaCO_3 por litro, y cálculos de concentración de CO_3^{2-} y HCO_3^- como miligramos de CaCO_3 por litro de la concentración de OH^- , y la I alcalinidades de la fenolftaleína y total por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{CO}_3^{2-} = 2F - 2[\text{OH}^-]$$

$$\text{HCO}_2^- = T - 2F + [\text{OH}^-]$$

Similarmente, si resulta difícil calcular el punto final en la fenolftaleína, o si se desea revisar la titulación de la fenolftaleína, calcular la alcalinidad de la fenolftaleína como CaCO_3 desde el método gráfico de las concentraciones de los iones carbonato y hidróxido:

$$F = \frac{1}{2}[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{OH}^-]$$

TABLA N°2: Valores de pH de punto final

Condición de la prueba	pH de Punto Final	
	Alcalinidad Total	Alcalinidad de La Fenolftaleína
Alcalinidad, mg de CaCO_3/L :		
30	4,9	8,3
150	4,6	8,3
500	4,3	8,3

Silicatos, fosfatos conocidos o supuestos	4,5	8,3
Análisis automatizados o de rutina	4,5	8,3
Residuos Industriales o sistemas complejos	4,5	8,3

TABLA N°3: Relaciones de Alcalinidad

Resultado de la titulación	Alcalinidad del Hidróxido como CaCO_3	Alcalinidad del Carbonato como CaCO_3	Concentración de Bicarbonato como CaCO_3
$F = 0$	0	0	T
$F < \frac{1}{2}T$	0	2F	$T - 2F$
$F = \frac{1}{2}T$	0	2F	0
$F > \frac{1}{2}T$	$2F - T$	$2(T - F)$	0
$F = T$	T	0	0

F = alcalinidad de la fenolftaleína; T = alcalinidad total.

- *Determinación de la Demanda Química de Oxígeno DQO.* (Reflujo cerrado, Método de Titulación).

La mayor parte de la materia orgánica es oxidada por una mezcla hirviente de ácidos crómicos y sulfúricos. Una muestra es refluída en una solución de ácido fuerte con un exceso conocido de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Luego de la digestión, el $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ residual que queda sin reducir es titulado con sulfato de hierro amonio para determinar la cantidad de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ consumido y la materia orgánica oxidable es calculada en términos del oxígeno equivalente. Se mantienen las proporciones de pesos de los reactivos, volúmenes y las constantes de fuerza cuando el volumen de la muestra excepto 50 mL sean usados. El tiempo de reflujo estándar de 2 a 4 hr. puede ser reducido si se ha demostrado que en un período más corto se consiguen los mismos resultados.

Aparatos

Recipientes de digestión (tubos de cultivo de borosilicato, 16 x 100 mm, 20 x 150 mm o 25 x 150 mm) con tapa rosca. Alternativamente, pueden ser usadas ampollas de borosilicato, 10 mL de volumen, 19 a 20 mm diam.

Digestor – calefactor de DQO que posea espacios de 45 a 50 mm de profundidad para que los tubos de digestión puedan ser colocados de forma ajustada.

Calefactor de bloque u horno para operar a $150 \pm 2^\circ\text{C}$.
Sistema para sellar los tubos de incubación (Parafilm o tapas)

Reactivos y soluciones

Solución digestora de dicromato de potasio estándar, 0,0167 M: Agregue cerca de 500 mL de agua destilada a 4,913 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ p.a., previamente secado a 103°C por 2 hrs., 167 mL de H_2SO_4 concentrado y 33,3 g de HgSO_4 p.a. Disolver, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000 mL.

Reactivo ácido sulfúrico: Agregue reactivo Ag_2SO_4 p.a., cristales o polvo, para concentrar el H_2SO_4 hasta alcanzar la proporción de 5,5 g $\text{Ag}_2\text{SO}_4/\text{kg}$ H_2SO_4 . Dejar estar de 1 a 2 días para disolver el Ag_2SO_4 .

Solución indicadora de ferroína: Disolver 1,485 g de 1,10 – fenantrolina monohidratada y 695 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y diluir a 100 mL. Esta solución indicadora también puede comprarse en el mercado ya preparada.

Solución titulante sulfato de amonio férrico (FAS), aproximadamente 0,10 M:
Disolver 39,2 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada. Agregar 20 mL de H_2SO_4 , enfriar y diluir a 1000 mL. Estandarizar la solución periódicamente usando la solución digestora $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ de la siguiente manera:

Agregue los reactivos de acuerdo a la Tabla N°1 a un tubo de cultivo que contenga el volumen correcto de agua destilada sustituyendo a la muestra. Enfríe el tubo hasta temperatura ambiente y agregue de 0,05 a 0,1 mL (1 a 2 gotas) de indicador ferroína y titule con titulante FAS.

$$\text{Molaridad de la solución FAS} = \frac{\text{Volumen sol. digestora usada, mL}}{\text{vol. FAS usada en titulación, mL}} \times 0,10$$

Solución de ftalato potasio hidrógeno estándar (KHP): Muela ligeramente y luego seque ftalato de potasio hidrógeno ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) hasta obtener peso constante a 120°C . Disuelva 425 g en agua destilada y diluya a 1000 mL. KHP es la DQO teórica de 1,176 mg O_2/mg y es una DQO teórica de 500 μg O_2/mL . Esta solución es estable cuando es refrigerada por sobre 3 meses en ausencia de crecimiento biológico visible.

Procedimiento

Lavar los tubos de cultivo y sellar con H_2SO_4 20% antes del primer uso para prevenir contaminaciones. Refiérase a la Tabla N°1 para preparar la muestra y los volúmenes de los reactivos. Introduzca la muestra en el tubo de cultivo y agregue la solución digestora. Vierta cuidadosamente ácido sulfúrico dentro del recipiente para que así se forme una fase de ácido bajo la fase de la solución digestora con la muestra. Selle firmemente los tubos e inviertalos cada cierto tiempo para mezclar completamente. PRECAUCIÓN: Cubra el rostro y proteja manos del calentamiento producido cuando se mezcle. Mezcle vigorosamente antes de

aplicar calor para evitar calentamientos locales en el fondo de los recipientes y posibles reacciones explosivas.

Ubique los tubos en el bloque digestor u horno precalentado a 150°C y refluya por 2 hrs. Enfríe a temperatura ambiente y retire las tapas de los tubos de cultivo, y vierta su contenido en un matraz de erlenmeyer y agregue a éste una barra de agitación y de 1 a 2 gotas de indicador ferroína. Ubique el matraz sobre un agitador magnético y agite durante la titulación. Titule con solución FAS hasta el viraje de verde azulado hasta café rojizo. El verde azulado puede reaparecer luego de algunos minutos. Refluya y titule de la misma manera agua destilada (blanco) en igual volumen que la muestra, y conteniendo los mismos reactivos.

Cálculos

$$DQO_como_mgO_2/Lt = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{mL_{demuestra}}$$

donde

A = mL de FAS usados para el blanco
 B = mL de FAS usados para la muestra, y
 M = molaridad de FAS

Tubos de digestión	Muestra mL	Solución Digestora mL	Reactivo Acido sulfúrico mL	Volumen Total en los tubos mL
Tubos de cultivo:				
16 x 100 mm	2,5	1,5	3,5	7,5
20 x 150 mm	5,0	3,0	7,0	15,0
25 x 150 mm	10,0	6,0	14,0	30,0

TABLA N°4: Volúmenes de muestra y reactivos para varios tamaños de tubos de digestión.

- *Determinación de Nitrógeno*

En presencia de ácido sulfúrico, sulfato de potasio y sulfato de mercurio como catalizador, el nitrógeno amino de varias sustancias orgánicas es convertido a sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. El amoníaco libre y el nitrógeno amoniacal también son convertidos a $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Durante la digestión se forma un complejo amonio - mercurio, el cual es descompuesto por adición de tiosulfato de sodio. Después de la descomposición, el amoniaco es destilado desde un medio alcalino y absorbido en una solución de ácido bórico. El amoníaco es determinado espectrofotométricamente por el método de Nessler o por volumetría empleando un ácido mineral estándar.

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Reactivos:

Oxido mercúrico, HgO p.a.
 Acido sulfúrico, H_2SO_4 95 - 97% p.a.
 Sulfato de potasio, K_2SO_4 p.a.
 Hidróxido de sodio, NaOH p.a.
 Tiosulfato de sodio Pentahidratado, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ p.a.
 Rojo de metilo, p.a.
 Azul de metileno, p.a.
 Etanol, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ p.a.
 Acido bórico, H_3BO_3 , p.a.
 Ioduro mercúrico, HgI_2 p.a.
 Ioduro de potasio, KI p.a.
 Cloruro de amonio, NH_4Cl p.a.

Soluciones:

Solución de Sulfato mercúrico: Disolver 8 g de Mercurio (II) HgO en 100 ml de H_2SO_4 6 N.

Acido sulfúrico 6N: Medir 167 ml de H_2SO_4 95 - 97% $d = 1.848$ g/ml y agregarlos lentamente a un matraz que contenga agua, enfriar y diluir a un litro.

Reactivo de digestión: Disolver 134 g de K_2SO_4 en 650 ml de agua y 200 ml de H_2SO_4 concentrado. Añadir con agitación, 25 ml de la solución de sulfato mercúrico. Diluir la solución combinada a 1 L con agua. Almacenar a 20°C para prevenir la cristalización.

Reactivo Hidróxido de sodio - Tiosulfato de sodio: Disolver 500 g de NaOH y 25 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua y diluir a un litro.

Solución Indicadora Mixta: Disolver 200 mg de rojo de metilo en 100

ml de etanol al 95%. Disolver 100 mg de azul de metileno en 50 ml de etanol al 95%. Combinar las soluciones, preparar mensualmente.

Acido bórico 2% con indicador: Disolver 20 g de H_3BO_3 en agua destilada y diluir a un litro. Preparar mensualmente.

Acido sulfúrico 0.02 N estandarizado: Agregar 2.8 ml de H_2SO_4 95 - 97% $d = 1.848$ g/ml a un volumen de agua y diluir a 1000 ml. Diluir 100 ml a 500 ml con agua destilada y estandarizar con Na_2CO_3 a la solución de H_3BO_3 con indicador para reproducir las condiciones de titulación de la muestra.

Reactivo de Nessler: Disolver 100 g de HgI_2 y 70 de KI en una pequeña cantidad de agua y añadir esta mezcla lentamente con agitación a una solución fría de 160 g de NaOH disueltos en 500 ml de agua. Diluir a un litro. Almacenar en frasco de vidrio borosilicato con tapón de goma y lejos de la luz del sol para mantener la estabilidad del reactivo hasta un año en condiciones normales de laboratorio.

Solución patrón de Amonio 1000 mg N/L: disolver 3.819 g de NH_4Cl secado a 100°C , en agua y diluir a 1000 ml. 1.00 ml = 1.00 mg N = 1.22 mg NH_3 .

Solución de trabajo de amonio 10 μg N/ml: Diluir 10.00 ml de la solución patrón de amonio 1000 mg N/L a 1000 ml con agua destilada.

APARATOS Y EQUIPOS

Aparato de digestión:

Balones Kjeldahl con una capacidad total de 800 ml dan mejores resultados. Digerir sobre un calefactor ajustado de tal modo que 250 ml de agua a una temperatura inicial de 25°C , hierva en aproximadamente 5 minutos. Para realizar este ensayo, precalentar los calefactores 10 minutos si son a gas o 30 minutos si son eléctricos. Un sistema de calefacción que cumpla el ensayo, debería proveer un rango de temperatura de 365 a 370°C para una digestión efectiva.

Aparato de destilación:

Instalar un matraz de vidrio de 800 a 2000 ml de capacidad a un condensador vertical de tal manera que la punta de salida pueda sumergirse hasta al menos 2 cm bajo la superficie de la solución ácida receptora. Utilizar un aparato enteramente de vidrio borosilicato o uno con unidades condensadoras construido de un block de estaño o tubos de aluminio.

Aparatos para determinación de Amonio por Nesslerización:

Equipo colorimétrico: uno de los siguientes es requerido:

- a) Espectrofotómetro, para ser utilizado de 400 a 500 nm y provisto de un paso de luz de 1 cm o más.
- b) Fotómetro de Filtro, provisto de un paso de luz de 1 cm o mayor y equipado con un filtro violeta con un máximo de transmitancia entre 400 y 425 nm. Puede utilizarse un filtro azul para concentraciones más altas de $\text{NH}_3\text{-N}$.

Campana extractora.

PROCEDIMIENTO

Selección del volumen de muestras.

Colocar un volumen medido de muestra (D) en un matraz Kjeldahl de 800 ml. Seleccionar el tamaño de muestra de acuerdo a la siguiente tabla. Si es necesario, diluir la muestra a 300 ml, neutralizar a $\text{pH} = 7$ y decolorar la muestra.

NITROGENO mg/L	TAMAÑO MUESTRA ml
0 - 1	500
1 - 10	250
10 - 20	100
20 - 50	50.0
50 - 100	25.0

TABLA N°5

Digestión.

Agregar cuidadosamente, al matraz Kjeldahl que contiene la muestra, 50 ml de reactivo de digestión (o 10 ml de H_2SO_4 concentrado, 6.7 g de K_2SO_4 y 1.25 ml de solución de HgSO_4).

Añadir algunas esferas de vidrio y mezclar.

Calentar bajo campana o utilizar un sistema especial para retirar los vapores ácidos.

Hervir vigorosamente hasta disminuir el volumen a 25 – 50 ml, y se observen abundantes humos blancos copiosos (los vapores pueden ser oscuros para muestras con altos contenidos de materia orgánica).

Continuar la digestión por 30 minutos adicionales. Mientras la digestión continúa, las muestras coloreadas o turbias deben ir aclarándose o tomar un color amarillo claro.

Después de la digestión, dejar enfriar el matraz y sus contenidos, diluir a 300 ml con agua y mezclar.

Inclinarse el matraz y agregar cuidadosamente 50 ml del reactivo hidróxido – tiosulfato para formar una capa alcalina al fondo del matraz.

Conectar al matraz al aparato de destilación y agitar para asegurar una mezcla completa.

Un precipitado negro de HgS se formará y el pH de la solución debe ser mayor que 11.0.

Destilación.

Destilar y recolectar 200 ml de destilado bajo la superficie de 50 ml de solución absorbente de ácido bórico. (Utilizar ácido bórico sin indicador cuando se emplea el método de Nessler en la medición final y con indicador si se utiliza el método volumétrico).

La punta del condensador debe estar bastante bajo el nivel de la solución absorbente y el condensador no debe alcanzar temperaturas superiores a 29°C.

Secar punta del condensador de la solución absorbente y continuar la destilación durante 1 a 2 minutos para limpiar el condensador.

Medición de amonio.

Utilizar uno de los siguientes métodos:

Método de Nessler.

- a) Diluir el destilado obtenido en “Destilación” a 500 ml (B) en un matraz volumétrico con agua destilada.
- b) Neutralizar una alícuota de 50 ml (C) de la solución absorbente que contiene el amoníaco destilado, con 2 ml de reactivo de Nessler o alternativamente neutralizar con NaOH y adicionar 1 ml de reactivo de Nessler.
- c) Mezclar la muestra tapando los tubos Nessler con tapones de goma limpios e invertir los tubos a lo menos seis veces.
- d) Mantener las condiciones de temperatura y tiempo de reacción igual para la muestra, blanco y estándar.
- e) Dejar que la reacción ocurra por lo menos 10 minutos después de agregar el reactivo de Nessler. Si el $\text{NH}_3\text{-N}$ es muy bajo, emplear 30 minutos de tiempo de reacción para la muestra, blanco y estándar.
- f) Determinar la absorbancia o transmitancia en un espectrofotómetro o fotómetro de filtro. Preparar la curva de calibración a la misma temperatura y tiempo de reacción utilizado para la muestra. Medir la absorbancia contra un blanco de reactivos y hacer revisiones frecuentemente contra los estándar en el rango de nitrógeno de las muestras. Para encontrar los microgramos de nitrógeno de la muestra (A), interpolar el valor de absorbancia encontrado para la muestra, en la curva estándar. Determinar la curva de calibración completa para cada nuevo set de reactivos Nessler.
- g) Preparar la curva estándar bajo las mismas condiciones que la muestra, destilar el blanco y estándar apropiados diluyendo el destilado a 500 ml y tomando 50 ml para la Nesslerización.
- h) Los colores amarillos graduados hasta café producidos por la Nessler – Amonio absorben fuertemente sobre un amplio rango de longitud de onda. El color amarillo característico para bajas concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ (0.4 a 5 mg/L) puede medirse con una sensibilidad aceptada en el rango de longitud de onda de 400 a 425 nm con un paso de luz de 1 cm. Un paso de luz de 5 cm amplía las mediciones a un rango de concentración de nitrógeno de 5 a 60 $\mu\text{g/L}$. Los matices café rojizos típicos de niveles de amoniaco cercanos a 10 mg/L

pueden medirse en el rango de onda de 450 a 500 nm.

Una selección criteriosa en el paso de luz y en la longitud de onda permiten la determinación fotométrica de solución de NH_3N en un rango amplio de concentración.

Método Volumétrico

- a) Titular el destilado obtenido en "Destilación" con solución de H_2SO_4 0.02 N estandarizada, hasta el viraje del indicador.
- b) Llevar un blanco en paralelo para todos los pasos del procedimiento y aplicar la corrección necesaria a los resultados.

CÁLCULOS

Método de Nessler

$$\text{Nitrógeno Kjeldahl, mg/L} = \frac{(A * B)}{(C * D)}$$

- A= microgramo de nitrógeno de la muestra a partir de la curva de calibración ("Método de Nessler", f))
- B= volumen total de aforo, ml ("Método de Nessler", a))
- C= volumen tomado para la Nesslerización, ml ("Método de Nessler b))
- D= volumen de muestra original, ml ("Selección de volumen de muestras")

Método Volumétrico

$$\text{Nitrógeno Kjeldahl, mg/L} = \frac{(E - F) * N * 14000}{D}$$

- E = Volumen de H_2SO_4 utilizado en la titulación de la muestra, ml ("Cálculos-Método volumétrico")
- F = Volumen de H_2SO_4 utilizado en la titulación del blanco, ml ("Cálculos-Método volumétrico")
- N = Normalidad de H_2SO_4
- D = Volumen de muestra, ml ("Selección de volumen de muestras")

INTERFERENCIAS

Nitrato.

Durante la digestión, nitrato sobre 10 mg/L puede oxidar el amonio proveniente de

la digestión del nitrógeno orgánico, produciendo N_2O , resultando una interferencia negativa. Cuando existe suficiente materia orgánica en estado de oxidación bajo, el nitrato presente puede reducirse a amonio, resultando una interferencia positiva.

Sales Inorgánicas y Sólidos.

Los contenidos de ácido y sal del reactivo de digestión proporcionan una temperatura de digestión entre 360 a 370°C. si la muestra contiene una mayor cantidad de sales o sólidos inorgánicos que se disuelven durante la digestión, la temperatura puede elevarse sobre los 400°C, alcanzando el punto pirolítico de pérdida de nitrógeno. Para prevenir una elevada temperatura de digestión, añadir más H_2SO_4 para mantener el balance ácido - sal. No todas las sales causan la misma alza de temperatura, pero añadiendo 1 ml H_2SO_4 /g de sal en la muestra, se obtienen resultados razonables. Añadir el ácido extra y reactivo de digestión, tanto a muestra como blanco. Por otra parte, un exceso de ácido proporcionaría temperatura de digestión bajo 360°C resultando una digestión y recuperación incompleta. Si es necesario, añadir más reactivo hidróxido - tiosulfato antes de la etapa final de destilación para sales o sólidos producen estallidos durante la destilación. Si esto ocurre, agregar más agua de destilación a la muestra después de la destilación.

Materia orgánica.

Durante la digestión, el H_2SO_4 oxida la materia orgánica a CO_2 y H_2O . Si una gran cantidad de materia orgánica está presente, también una gran cantidad de ácido será consumido, la relación sal a ácido aumentará y también la temperatura de digestión, alcanzando los 400°C y produciéndose una pérdida pirolítica de Nitrógeno. Para prevenir esto, añadir al matraz de digestión 10 ml H_2SO_4 /3g de DQO (Para la mayoría de las sustancias orgánicas, 3g DQO equivalen aproximadamente a 1g de materia orgánica).

Alternativamente, añadir 500 ml más del reactivo de digestión por gramo de DQO. Adicionalmente puede ser necesario aumentar la cantidad de reactivo tiosulfato - hidróxido para elevar el pH en la etapa de destilación.

Debido a que algunos reactivos pueden contener trazas de amonio, llevar un blanco en paralelo con las muestras.

- *Determinación de Fósforo Total*

La determinación de fósforo incluye dos pasos principales, conversión de las diferentes formas de fósforo a ortofosfato disuelto y detección colorimétrica. El presente método incluye tres métodos de digestión alternativos y la determinación colorimétrica en la cual el ortofosfato reacciona con molibdato de amonio bajo condiciones ácidas para formar el ácido molibdofosfórico que en presencia de vanadio genera el ácido vanadiomolibatofosfórico. La intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de fósforo.

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Reactivos:

Acido nítrico, HNO_3 65% p.a.
 Acido perclórico, HClO_4 70 - 72% p.a.
 Acido sulfúrico, H_2SO_4 95 - 97% p.a.
 Hidróxido de sodio, NaOH p.a.
 Anaranjado de metilo, p.a.
 Fenolftaleína sal disódica, p.a.
 Persulfato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, p.a.
 Persulfato de potasio, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ p.a.
 Molibdato de amonio, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ p.a.
 Metavanadato de amonio, NH_4VO_3 p.a.
 Dihidrógeno fosfato de potasio, KH_2PO_4 p.a.
 Agua reactiva grado 2, según NCh426/2.

Soluciones:

Hidróxido de sodio 6 N: Disolver 240 g de NaOH p.a. en pellet, en agua reactiva y diluir a 1 L.

Hidróxido de sodio 1 N: Disolver 40 g de NaOH p.a. en pellet en agua reactiva y diluir a 1 L.

Reactivo vanadato molibdato:

Solución A: Disolver 25 g de molibdato de amonio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ p.a. en 300 ml de agua reactiva.

Solución B: Disolver 1.25 g de metavanadato de amonio, NH_4VO_3 por calentamiento a ebullición en 300 ml de agua reactiva. Enfriar la solución a temperatura ambiente.

Solución final: Vaciar solución A sobre la solución B, mezclar y diluir a 1L.

Solución patrón de fósforo 50.0 mg P/L: Disolver en agua reactiva 219.5 mg de KH_2PO_4 anhidro y diluir a 1L.

Acido sulfúrico 30% v/v: Añadir cuidadosamente 300 ml de ácido sulfúrico (95 - 97% d = 1.848 g/ml), a aproximadamente 600 ml de agua reactiva, enfriar y diluir a 1L con agua reactiva.

Solución indicadora de anaranjado de metilo: Disolver 500 mg de anaranjado de metilo en polvo en agua reactiva y diluir a 1L.

Solución indicadora de fenolftaleína: Disolver 5 g sal sódica de fenolftaleína en agua reactiva y diluir a 1L.

APARATOS Y EQUIPOS

Plancha calefactora de superficie de 30 cm x 50 cm es adecuada.

Elementos de seguridad (gafas, guantes, etc.).

Campana de extracción para ácido perclórico.

Matraz erlenmeyer de 125 ml (para digestión con ácido perclórico), lavados con ácido y enjuagados con agua reactiva.

Rack de digestión (para digestión con ácido nítrico). Se recomienda un rack de digestión eléctrico o a gas provisto con salida de vapores; son adecuados los empleados para digestión Kjeldahl.

Matraz micro Kjeldahl.

Autoclave (para digestión con persulfato). Recipiente para operar bajo presión de 98 kPa a 137 137 kPa, puede usarse en lugar de plancha calefactora.

Equipo colorímetro, usar uno de los siguientes:

Espectrofotómetro para ser usado en el rango de 400 nm a 490 nm.

Fotómetro de filtro provisto con un filtro azul o violeta con un máximo tr transmitancia entre 400 y 470 nm.

La longitud de onda a la cual se mide la intensidad del color depende de la sensibilidad deseada. Elegir la longitud de onda de la medición de acuerdo a la concentración esperada de fósforo de la muestra.

P rango, mg/L	Longitud de onda, nm.
1.0 - 5.0	400
2.0 - 10	420
4.0 - 18	470

TABLA N°6

Aparato de filtración, que incluya el papel filtro Whatman N°42 o equivalente.

Material de vidrio convencional: usar material de vidrio lavado con ácido para determinar bajas concentraciones de fósforo. Contaminación por fosfato es común debido a la absorción en la superficie del vidrio. Evitar el uso de detergentes que contienen fosfato. Lavar todo el material de vidrio con HCl diluido, caliente y enjuagar bien con agua reactiva. Preferentemente, reservar material de vidrio sólo para determinación de fósforo.

PROCEDIMIENTO

Digestión con ácido perclórico.

Precaución: La mezcla caliente de HClO_4 con materia orgánica puede explotar violentamente. Evitar este riesgo tomando las siguientes precauciones:

- No agregar HClO_4 a una solución caliente que pueda contener materia orgánica.
- Iniciar siempre la digestión de muestra que contengan materia orgánica con HNO_3 y completarla con mezcla HNO_3 y HClO_4 .

- c) No eliminar vapores de HClO_4 en campanas comunes, utilizar campanas especialmente construidas para este fin.

Tomar un volumen de muestra que contenga la cantidad deseada de fósforo y vaciarlo a un matraz erlenmeyer de 125 ml.

Acidificar con HNO_3 concentrado hasta viraje del anaranjado de metilo.

Añadir 5 ml más de HNO_3 concentrado y evaporar en baño María o plancha calefactora a 15 o 20 ml.

Añadir 10 ml de HNO_3 concentrado y 10 ml de HClO_4 concentrado al matraz de 125 ml enfriando el matraz entre cada adición.

Agregar algunas perlas de vidrio para regular la ebullición y calentar en una plancha calefactora evaporando suavemente hasta que aparezcan vapores blancos densos de HClO_4 .

Si la solución no está clara, tapar el matraz con un vidrio reloj y mantener la ebullición suavemente hasta que aclare. Si es necesario, agregar 10 ml más de HNO_3 para ayudar a la ebullición.

Enfriar la solución y añadir una gota de solución acuosa de fenolftaleína, y neutralizar con NaOH 6 N hasta que la solución se torne de color rosado.

Si es necesario, filtrar y lavar el filtro con agua reactiva.

Aforar a 100 ml con agua reactiva.

Determinar fósforo total de la muestra tratada por el método colorimétrico preparando una serie de estándares que contengan diferentes concentraciones de fósforo y tratados con el proceso de digestión en paralelo con la muestra.

Digestión con ácido sulfúrico - ácido nítrico.

Tomar un volumen de muestra que contenga la cantidad deseada de fósforo a un matraz micro Kjeldahl y agregar 1 ml de H_2SO_4 concentrado y 5 ml de HNO_3 concentrado.

Digerir hasta un volumen de 1 ml y continuar hasta que la solución sea incolora para remover el HNO_3 .

Enfriar y añadir aproximadamente 20 ml de agua reactiva, una gota de indicador de fenolftaleína y tanta solución de NaOH 1 N como se requiera para producir un tinte rosado pálido.

Transferir la solución neutralizada filtrando si es necesario para remover el material particulado o la turbiedad a un matraz volumétrico de 100 ml.

Agregar los lavados del filtro al matraz y aforar a 100 ml con agua reactiva.

Determinar fósforo total de la muestra tratada por el método colorimétrico preparando una serie de estándares que contengan diferentes concentraciones de fósforo y tratados con el proceso de digestión en paralelo con la muestra.

Digestión con persulfato.

Vaciar un volumen de muestra que contenga la cantidad deseada de fósforo y vaciar a un matraz. Agregar una gota de solución indicadora de fenolftaleína, si se desarrolla un color rosado, agregar H_2SO_4 30% v/v gota a gota para descartar el color.

Agregar 1 ml de H_2SO_4 30% v/v y alternativamente 0.4 g de $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ sólido o 0.5 g de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ sólido.

Hervir suavemente sobre una plancha calefactora hasta alcanzar un volumen final de aproximadamente 10 ml. Alternativamente calentar en autoclave 30 min bajo presión de 98 kPa a 137 kPa.

Enfriar y diluir a 30 ml con agua reactiva, agregar una gota de solución indicadora de fenolftaleína y neutralizar a un color rosado pálido con NaOH 1 N.

Aforar a 100 ml con agua reactiva. En esta etapa, en algunas muestras puede formarse un precipitado que no debe filtrarse. Agitar bien en el caso que se requiera tomar una alícuota posterior.

El precipitado posiblemente de fosfato de calcio se redisuelve bajo las condiciones ácidas de la determinación colorimétrica.

Determinar el fósforo total de la muestra tratada por el método colorimétrico preparando una serie de estándares que contengan diferentes concentraciones de fósforo y tratados con el proceso de digestión en paralelo con la muestra.

Método colormétrico vanadomolibdofosfórico.

Desarrollo de color en la muestra:

- a) Colocar un volumen conocido que contenga entre 0.05 mg y 1 mg de fósforo en un matraz aforado de 50 ml. Agregar 10 ml de reactivo vanadato - molibdato y diluir a 50 ml con agua reactiva.
- b) Preparar un blanco en el cual el volumen de muestra se sustituye por agua reactiva.
- c) Después de 10 min o más, medir la absorbancia de la muestra versus el blanco, en el rango de longitud de onda entre 400 y 490 nm dependiendo de la sensibilidad deseada. El color es estable por días y su intensidad no se ve afectada por variaciones de la temperatura ambiente.

Preparación de la curva de calibración:

Preparar una curva de calibración usando diferentes volúmenes de soluciones estándares de fósforo digeridas y proceder como en "Desarrollo de color en la muestra". Graficar una serie de curvas, con soluciones estándares de fósforo para diferentes longitudes de onda (tabla en "APARATOS Y EQUIPOS"). Esto permite disponer de un amplio rango de concentraciones para una serie de determinaciones.

EXPRESION DE RESULTADOS.

De la curva de calibración, leer los mg de P correspondiente a la medida de absorbancia de la muestra obtenida en "Preparación de la curva de calibración".

$$\text{Fósforo, mg/L} = \frac{A}{B} \times 1000$$

En que:

A = mg de fósforo de la curva de calibración
 B = volumen original de muestra, ml.

INTERFERENCIAS

Interferencias positivas, son causadas por silicio y arseniato, sólo si la muestra es calentada.

Interferencias negativas, son causadas por arseniatos, fluoruros, torio, bismuto, sulfuro, tiosulfato, tiocianato, o exceso de molibdato.

Color azul se desarrolla debido a la presencia de ión ferroso, pero no afecta los resultados si la concentración es menor que 100 mg/L.

Iones que interfieren en concentraciones sobre 1000 mg/L son: Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Li^{+} , Na^{+} , K^{+} , NH_4^{+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Ag^{+} , U^{4+} , Zr^{4+} , AsO_3^{-} , Br^{-} , CO_3^{2-} , ClO_4^{-} , CN^{-} , IO_3^{-} , SiO_4^{4-} , NO_3^{-} , NO_2^{-} , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , molibdato, tertaborato, seleniato, benzoato, citrato, oxalato, lactato, tartrato, formiato y salicilato.

- *Determinación de la Actividad Metanogénica*

Dentro de la caracterización de los lodos anaerobios a utilizar para inocular los ensayos se debe determinar la actividad metanogénica que tiene por objetivo determinar la máxima capacidad degradativa de la población metanogénica en condiciones optimas, la etapa de producción de metano es considerada la etapa limitante de los sistemas anaerobios al poseer la menor velocidad de crecimiento de todas las poblaciones involucradas.

Procedimiento:

Los ensayos se realizan en botellas de 150 mL, en las cuales se colocan el lodo, el sustrato (AGV) y los nutrientes necesarios. El parámetro de seguimiento de este ensayo es la producción de metano diariamente.

Como nutrientes se utilizan cuatro soluciones de macronutrientes, una solución de elementos traza. Una de sulfuro de sodio y extracto de levadura. La composición de la disolución de nutrientes utilizada se detalla en la tabla que sigue. El sulfuro de sodio se agrega para mantener la anaerobiosis en el medio.

Los AGV corresponden a ácidos grasos volátiles de cadena corta, formándose normalmente en el proceso anaerobio por la acción de bacterias acidogénicas. Se recomienda una concentración de AGV entre 3.5 y 4.5 gDQO_{AGV}/L. En los ensayos se utiliza ácido propiónico, butírico y acético.

TABLA N°7: Composición de soluciones utilizadas en los ensayos de actividad metanogénica.

Nutriente	Concentración	Cantidad
Solución de Macronutrientes	g/L	mL
NH ₄ Cl	85	0.6
KH ₂ PO ₄	37	0.3
CaCl ₂ •2H ₂ O	8	0.3
MgSO ₄ •4H ₂ O	9	0.3
Solución de elementos trazas	Mg/L	0.3 mL
FeCl ₃ •4H ₂ O	1000	
CoCl ₂ •6H ₂ O	1000	
MnCl ₂ •4H ₂ O	250	
CuCl ₂ •2H ₂ O	15	
ZnCl ₂	25	
H ₃ BO ₃	25	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ •4H ₂ O	45	
Na ₂ SeO ₃ •H ₂ O	50	
NiCl ₂ •6H ₂ O	35	
EDTA	500	
HCl 36%	0.5	
Resazurín	250	
Solución de Sulfuro	--	g
Na ₂ S•H ₂ O	--	0.03
Extracto de Levadura	--	g
	--	0.03

Preparación de la solución de AGV

1. Añadir :

TABLA N°8		
Acido	% riqueza	mL/250mL
Acético	100	15.88
Propiónico	98	4.20
Butírico	99.5	4.35

2. Neutralizar con NaOH hasta pH 7.0

3. Aforar a 250 mL

Metodología de Actividad metanogénica:

- Marcar el nivel de 150 mL con agua destilada
- Dejar 50 mL de agua destilada y añadir las soluciones de nutrientes según se indica en la tabla.
- Colocar 4.5 mL de AGV
- Inocular una cantidad de lodos tal que quede dentro de la botella una concentración de 1.0 – 1.5 gSSV/L.
- Burbujear con nitrógeno para así eliminar el contenido de oxígeno que pudiera quedar dentro de la botella, tapar, sellar y conectar a un tubo Mariotte.

- Poner el matraz Erlenmeyer en un baño a 37 °C .
- Ver la producción de metano por el desplazamiento de la solución de NaOH 30 g/L, la que tiene por objeto solubilizar el CO₂ presente en el biogas y que de esta manera, no interfiera con las mediciones de metano.
- Determinar la concentración de SSV en cada botella.

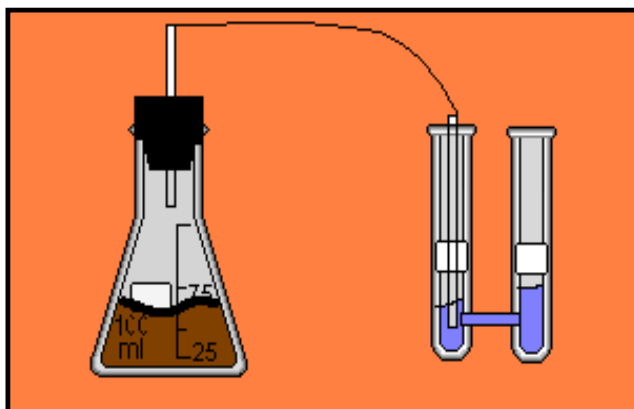


Figura iii: Esquema del sistema utilizado para registrar la producción de Metano

Cálculos:

Se registra diariamente el volumen de metano producido hasta que se haya consumido como mínimo el 80% de los AGV, o hasta que se deje de generar gas. La actividad metanogénica específica corresponde a la máxima pendiente de la curva de producción de metano v/s el tiempo en horas, el calculo se lleva a cabo de la siguiente manera.

$$Actividad = \frac{R \cdot 24}{FC \cdot V \cdot SSV} \left[\frac{gDQO_{CH_4}}{gSSV \cdot d} \right]$$

Donde,

R: velocidad de producción de metano, mL CH₄/h.(pendiente gráfico CH₄ v/s t)

FC: Factor de conversión, en mL CH₄/g DQO.

V: Volumen efectivo de líquido en el digestor, L.

SSV: Concentración de lodo en el diestor, gSSV/L.

24: Factor de Conversión, h/d.

TABLA N°9: Factores de conversión para producción de metano

Temperatura (°C)	CH ₄ Seco	CH ₄ Húmedo
20	376	385
25	382	394
30	388	405

ANEXO V

PRESUPUESTO

El presupuesto se realizó contactando a 5 de los más reconocidos proveedores de equipamiento y reactivos para Laboratorio del país presentes en la zona, y siguiendo las recomendaciones de expertos en la materia con que cuenta la Facultad, fueron cotizadas las siguientes empresas: Merck, Winkler, Sudelab, Mundolab, W. Reichmann & Cía. Ltda., Arquimed y Equilab.

A continuación se presenta el detalle del equipamiento y los totales de los gastos en los que se ha incurrido a la fecha para la completa implementación del Laboratorio de Biotecnología Ambiental.

DETALLE DE GASTOS NECESARIOS

El detalle de los gastos en los que se ha incurrido está separado en 5 ítems:

- **APARATOS:** Aparatos eléctricos y electrónicos, instrumentos de medición de parámetros, piezas para su correcto funcionamiento, etc.
- **REACTIVOS:** Elementos y compuestos químicos.
- **FUNGIBLE:** Material de vidrio (tubos de ensayo, matraces, etc.).
- **EQUIPAMIENTO:** Material de laboratorio que no es de vidrio (gradillas, pizetas, etc.).
- **INSTALACIÓN:** Acondicionamiento del espacio físico a ocupar.

APARATOS:

CASA COMERCIAL	CANT.	PRODUCTO	VALOR UNITARIO	TOTAL
MUNDOLAB	4	BALANZA ADAM USA 200 G; 0,01 G	99000	396000
	4	BALANZA ADAM USA 600 G; 0,01 G	130000	520000
	1	BALANZA QT 5000 GRS EN 1 GRS	70000	70000
	6	BALANZA ACULAB 300 GRS EN 0,001 GRS	303300	1819800
	2	ESTUFA SECADO C/NATURAL 150 LTS.	617200	1234400
	3	AGITADOR ORBITAL C/PLATAFORMA	615800	1847400
	3	CENTRIFUGA 8X15 VEL. FIJA 3150 RPM	215000	645000
	5	BALANZA ANALITICA ADAM LAB APA120	692493	3462465
W. REICHMANN	2	BOMBA PERISTÁLTICA 2 CAB. 200 RPM	360544	721088
	2	CABEZAL ESTANDAR N°13	57172	114344
	2	CABEZAL ESTANDAR N°14	57172	114344
	2	CABEZAL ESTANDAR N°16	57172	114344
	2	CABEZAL ESTANDAR N°18	57172	114344
	1	JUEGO DE TORNILLOS PARA 2 CABEZALES	15141	15141
	1	MANGUERA EN C-FLEX N°13	15090	15090
	1	MANGUERA EN C-FLEX N°14	18260	18260
	1	MANGUERA EN C-FLEX N°16	21715	21715
	1	MANGUERA EN C-FLEX N°18	30983	30983
	1	PHMETRO MOD. 510DIGITAL DE SOBREMESA	354820	354820
	1	AGITADOR MAGNETICO COLOR SQUID	104586	104586
	1	AGITADOR MAGNETICO RH-KT-C	221087	221087
MERCK	1	BALANZA DE PRECISION COMPETENCE DE SARTORIUS, ALEMANA.	750000	750000
EQUILAB	2	TERMOSTATO C/CIRCULACION MOD. MD RANGO 25-200°C	869166	1738332
ARQUIMED	1	MUFLA INTERIOR CERÁMICA 9 LTS. 200-1100 CELS.ANCHOXALTOXPROF. 23:18:23 CM. NEY	1099710	1099710
	1	DIGESTOR (TERMOBLOCK) P/DETERMINACION DQO, CONTROL TEMP. Y TIEMPO MOD. ECO 16 VELP	574250	574250
	1	ESTUFA/INCUBACION DBO 90 LTS. DIG. TEMP. 20°C/0,5°C P/SISTEMA RESPIROMETRICO FTC 90 VELP	798195	798195
	2	MICROPIPETA VOL. VAR. 20-200 µL RESEARCH EPPENDORF	177015	354030
	2	MICROPIPETA VOL. VAR. 100-1000 µL RESEARCH EPPENDORF	177015	354030
	2	MICROPIPETA VOL. VAR. 0,5-5 ML RESEARCH EPPENDORF	177015	354030
SUDELAB	1	BOMBA VACIO THOMAS MOD. 2522c-02	295000	295000
TOMASELLO Y CIA. LTDA.	1	REACTOR UASB CON SEDIMENTADOR SECUNDARIO Y REACTOR LODO ACTIVO CON SEDIMENTADOR Y SISTEMA DE RETORNO TIPO BOMBA MAMUT	700000	700000

CASA XIMENA	1	REFRIGERADOR SR-L SAMSUNG	399480	399480
TOTAL APARATOS			19372268	

REACTIVOS:

CASA COMERCIAL	CANT.	PRODUCTO	VALOR UNITARIO	TOTAL
MERCK	1	HIERRO (II) SULFATO HEPTAHIDRATO P.A. ACS ISO 1 KG	20223	20223
	1	SODIO AZIDA 100 GR	38472	38472
	4	SODIO HIDROXIDO EN LENTEJAS P.A. ISO 1 KG	8432	33728
	2	AC. SULFURICO 95-97% LABGRADE 2,5 LT.	7660	15320
	1	AC. CLORHIDRICO FUMANTE 37% LABGRADE 2,5 LT.	6420	6420
ARQUIMED	1	SODIO SELENITO P.A. RIEDEL ENV. 25 GRS	80220	80220
	1	POTASIO DICROMATO P.A. RIEDEL ENV. 1 KG	20405	20405
	1	SULFATO FERROSO AMONIACAL 6-HID. P.A. RIEDEL ENV. 1 KG.	31560	31560
	1	SODIO CARBONATO ANHIDRO ALEMAN	7900	7900
	1	MORADO DE METACRESOL RIEDEL ENV. 1 GR.	19800	19800
	1	SODIO SULFITO SECO P.A. RIEDEL ENV. 1 KG	9300	9300
	1	SODIO BICARBONATO TECNICO ENV. 1 KG.	1490	1490
	1	RESAZURINA INDICADOR REDOX RIEDEL ENV. 5 GRS.	47250	47250
	1	EXTRACTO DE LEVADURA BACTERIOLOGICO HIMEDIA ENV. 500 GRS	21750	21750
	1	ACIDO PROPIONICO RIEDEL ENV. 1 LT.	19665	19665
	1	ACIDO BUTIRICO FLUKA ENV. 250 ML.	21745	21745
	1	ALMIDON ENV. 1 KG	1250	1250
	1	FENOLFTALEINA P.A. RIEDEL ENV. 100 GRS.	11000	11000
WINKLER	1	ACIDO GLUTAMICO P.A. ENV. 100 GRS	22000	22000
	1	ZINC CLORURO P.A. ENV. 1 KG.	28000	28000
	1	HIERRO III CLORURO 6-HID. P.A. ENV. 500 GRS.	20000	20000
	2	POTASIO FOSFATO DIBASICO P.A. ENV. 1 KG	24000	40900
	1	SODIO FOSFATO DIBASICO 7-HID P.A. ENV. 1 KG.	24000	24000
	10	ALCOHOL ETILICO PURO ENV. 1 LT.	750	7500
	1	1,10 FENANTROLINA P.A. ENV. 10 GRS.	42000	42000
	1	PLATA SULFATO P.A. ENV. 100 GRS.	95000	95000
	1	ACIDO SULFURICO P.A. ENV. 1 LT.	3500	3500
	1	POTASIO HIDROGENO FTALATO P.A. ENV. 500 GRS.	74500	74500
	1	SODIO TIOSULFATO 5-HID. P.A. ENV. 1 KG.	9800	9800
	2	ALCOHOL ETILICO PURO ENV. 5 LT.	3500	7000

5	ALCOHOL ETILICO P.A. ENV. 1 LT. PLASTICO	2500	12500
5	XIOL PURO 1 LT.	1200	6000
5	XIOL P.A. ENV. 1 LT.	3200	16000
5	FORMALINA PURA 37% ENV. 1 LT.	1200	6000
1	ACIDO BORICO P.A. ENV. 1 KG.	14900	14900
1	AMONIO CLORURO P.A. ENV. 1 KG.	14900	14900
1	ROJO METILO C.I. 13020 ENV. 10 GRS.	6000	6000
1	AZUL METILENO P.A. ENV. 25 GRS.	14900	14900
1	VERDE BROMOCRESOL P.A. ENV. 10 GRS.	38000	38000
1	CALCIO CLORURO 2-HID. P.A. ENV. 1 KG	14900	14900
1	MANGANESO II CLORURO 4-HID. P.A. ENV. 1 KG.	19000	19000
1	COBRE II CLORURO 2-HID. P.A. ENV. 500 GRS.	29000	29000
1	NIQUEL II CLORURO 6-HID. P.A. ENV. 1 KG.	39000	39000
1	EDTA SAL DISODICA 2-HID. P.A. ENV. 1 KG.	36000	36000
2	ACIDO CLORHIDRICO 37% P.A. ENV. 1 LT.	2900	5800
1	SODIO SULFURO ESCAMAS P.A. ENV. 1 KG.	26000	26000
3	ACIDO ACETICO GLACIAL P.A. ENV. 1 LT.	3500	10500
1	SODIO HIDROXIDO LENTEJAS P.A. ENV. 1 KG	4200	4200
1	AMONIO MOLIBDATO 4-HID. P.A. ENV. 1 KG.	48000	48000
2	POTASIO FOSFATO MONOBASICO P.A. ENV. 500 GRS.	8450	16900
1	SODIO FOSFATO DIBASICO P.A. ENV. 1 KG.	22000	22000
1	MAGNESIO SULFATO 7-HID. P.A. ENV. 1 KG	12900	12900
1	HIERRO III CLORURO 6-HID. P.A. ENV. 1 KG.	29000	29000
1	GLUCOSA ANHIDRA P.A. ENV. 1 KG.	14900	14900
1	POTASIO SULFATO P.A. ENV. 1 KG.	14900	14900
1	MERCURIO II OXIDO ROJO P.A. ENV. 100 GRS.	39000	39000
TOTAL REACTIVOS			1292898

FUNGIBLES:

CASA COMERCIAL	CANT.	PRODUCTO	VALOR UNITARIO	TOTAL
MUNDOLAB	2	TUBO CULTIVO AR 18*180 MM T/ROSCA	48000	96000
	10	CAJA 100 TUBOS DE ENSAYO	5290	52900
	4	KITASATO SHOTT 1000 ML	10132,5	40530
	6	PROBETA VIDRIO 50 ML CLASE A	2716,416	16298
EQUILAB	15	CAPSULAS PORCELANA F/CRISOL 25 ML	4750	71466

		45X25 MM		
	20	BOTELLA DBO 300 ML	5027	100540
	4	BURETA SCHELLBACK LL/TEFLON 25/0.1 ML	16173	64692
	4	BURETA SCHELLBACK LL/TEFLON 50/0,1 ML	16595	66380
	3	CAPSULA PORCELANA 75 ML 80 MM (O) INT	4472	13416
	3	ERLENMEYER B/ANGOSTA 1000 ML	2298	6894
	6	ERLENMEYER B/ANGOSTA 2000 ML	4558	27348
	10	ERLENMEYER B/ANGOSTA 250 ML	1021	10210
	10	ERLENMEYER B/ANGOSTA 500 ML	1421	14210
	100	TUBOS ENSAYO T/ROSCA 11 ML 16X100 MM	194	19400
	10	VASO PP F/BAJA GRADUADO 100 ML	974	9740
	10	VASO PP F/BAJA GRADUADO 1000 ML	2349	23490
	10	VASO PP F/BAJA GRADUADO 250 ML	1001	10010
	5	VASO PP F/BAJA GRADUADO 600 ML	1482	7410
	10	ERLENMEYER BASE ANGOSTA 100 ML	983	9830
ARQUIMED	3	MATRAZ AFORADO 500 ML TAPA PLASTICA CLASE A IMPORTADO	7395	22185
	10	PIPETA AFORADA 10 ML ALEMAN	985	9850
	10	PIPETA AFORADA 1 ML ALEMAN	735	7350
	20	PIPETA AFORADA 2 ML ALEMAN	735	14700
	20	PIPETA AFORADA 5 ML ALEMAN	895	17900
	10	PIPETA GRADUADA 10 ML:0,1 ALEMAN	560	5600
	10	PIPETA GRADUADA 1 ML:0,1 ALEMAN	480	4800
	10	PIPETA GRADUADA 2 ML:0,1 ALEMAN	480	4800
	10	PIPETA GRADUADA 5 ML:0,1 ALEMAN	545	5450
	3	PROBETA GRADUADA 100 ML IMPORTADO	1950	5850
	3	PROBETA GRADUADA 1000 ML IMPORTADO	9985	29955
	4	PROBETA GRADUADA 250 ML IMPORTADO	3750	15000
	3	PROBETA GRADUADA 500 ML IMPORTADO	5280	15840
	4	MATRAZ AFORADO 1000 ML TAPA PLASTICA CALSE A IMPORTADO	10240	40960
	6	MATRAZ AFORADO 2000 ML TAPA PLASTICA CLASE A IMPORTADO	14180	85080
SUDELAB	4	MATRAZ AFORADO 100 ML TAPA PLASTICA HIRSCHMANN	3644	14576
	3	MATRAZ AFORADO 250 ML TAPA PLASTICA HIRSCHMANN	5430	16290
TOTAL FUNGIBLES			976950	

EQUIPAMIENTO:

CASA COMERCIAL	CANT.	PRODUCTO	VALOR UNITARIO	TOTAL
MUNDOLAB	2	SET ADAPTADOR JUKO DE 7 PIEZAS	15302	30604
	10	PAPEL FILTRO #2 SIM. W#1 15 CM	5024	50240
	6	PAPEL FILTRO #232 SIM. W#2 15 CM	8800	52800
	4	DESECADOR 27 CM C/LLAVE Y PLATO	49909	199636
	5	GRADILLA P/40 TUBOS DE 18-20 MM	2995,2	14976
EQUILAB	4	FILTRO FIBRA VIDRIO 47 MM 0,5 um (CJX100) W-GF/C	8807	35228
	4	PUNTAS AMARILLAS C/CORONA (PKX1000)	2832	11328
	10	PIZETA P.E.B.D. C/VALVULA VENDEO Y ETIQUETA P/ETANOL 500 ML	2255	22550
	5	PIZETA P.E.B.D. SALIDA SUPERIOR B/ANCHA 500 ML	1077	5385
	6	PROPIPETA UNIVERSAL GOMA ROJA	4014	24084
	4	PUNTAS AZULES C/CORONA	3631	14524
ARQUIMED	3	PARAFILM M ROLLO 4"X125 PIES	10185	30555
	3	ESPATULA ACERO INOX. 10 CM HOJA IMPORTADO	1580	4740
	3	MICROESPATULA PLANA-CUCHARA	2425	7275
	3	MICROESPATULA PALA-CUCHARITA	2070	6210
WINKLER	20	BARRA MAGNETICA TEFLON 30 MM LISA	2100	42000
	20	BARRA MAGNETICA TEFLON 20 MM LISA	1800	36000
	20	BARRA MAGNETICA TEFLON 10 MM LISA	1600	32000
TOTAL EQUIPAMIENTOS				620135

INSTALACIÓN:

CASA COMERCIAL	CANT.	PRODUCTO	VALOR UNITARIO	TOTAL
MADERAS FASCO S.A.	1	CUBIERTA C. RESP. 62 CMS.	359243	359243
COMERCIAL BECKER S.A.	4	LAVACOPA TEKA STYLO	41806,72	167227
	4	MONOMANDO LVPL TEBISA MAR	12600,84	50403
	4	SIFON LOA 11/2 SAL/CURVA STANDARD	1050,42	4202
COMERCIAL NAGUAL	5	CAJONERAS EN MELAMINA BLANCA DE 84 DE ALTO 61 DE FONDO 47 DE FRENTE ZOCALO DE 12 CM	190000	190000
TOTAL INSTALACIONES				771075

RESUMEN:

ITEM	TOTAL
APARATOS	19372268
REACTIVOS	1292898
FUNGIBLES	976950
EQUIPAMIENTO	620135
INSTALACIONES	771075
TOTAL	23033326