

# **Evaluación microbiológica de un lodo crudo proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de El Retiro y del mismo lodo aclimatado a condiciones anaerobias**

*Fernando Naranjo P. \*, María Elena González D. \*\*  
y Francisco Molina P. \*\*\**

## **Resumen**

El presente trabajo versa sobre la aclimatación de un lodo crudo (lodo activado) proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) del municipio de El Retiro llevándolo de condiciones aerobias a condiciones anaerobias, aplicando como sustrato azúcar morena por alimentación por tandas, con concentraciones de DQO variables desde 280 mg/l hasta 2.000 mg/l. En dicho proceso de aclimatación se evaluaron los grupos tróficos involucrados en la digestión anaerobia, tanto en el lodo crudo como en el lodo aclimatado, por la técnica de número más probable (NMP) y recuento por sensibilidad al oxígeno; además se determinaron los contenidos de sólidos suspendidos volátiles (SSV) y la actividad metanogénica utilizando acetato y formiato como sustratos.

El contenido de SSV se identificó como buen parámetro para evaluar la biomasa activa en los lodos estudiados. La actividad metanogénica resultante muestra aumento importante en el lodo aclimatado con el sustrato fórmico, lo cual es corroborado por el aumento de las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas.

Por último el lodo activado proveniente de una PTAR de lodos activados, se identificó como un inóculo potencial para procesos anaerobios al encontrarse las poblaciones de bacterias metanogénicas en cantidades detectables.

----- *Palabras clave:* aclimatación, reactores UASB, metanogénesis, digestión anaerobia.

---

\* Estudiante de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Universidad de Antioquia. ferdonar@mailcity.com. Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Grupo de Ingeniería y Gestión Ambiental (GIGA), Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia.

\*\* Profesora Ingeniería Sanitaria Universidad de Antioquia. megonzal@udea.edu.co. Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Grupo de Ingeniería y Gestión Ambiental (GIGA), Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia.

\*\*\* Profesor Universidad de Antioquia. corpamb@quimbaya.udea.edu.co. Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Grupo de Ingeniería y Gestión Ambiental (GIGA), Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia.

### **Abstract**

The subject of this study is the acclimatization of aerobic sludge (activated sludge) up to anaerobic sludge conditions, the activated sludge from a domestic sewage treatment plant; which is located in El Retiro town, east of Antioquia.

Load potential of brown sugar was applied in the batch reactor 280-2.000 mg COD/l. In the acclimatization process, both sludges were assessed the groups of bacteria involved in the anaerobic digestion as total MPN count and oxygen sensibility as two methods; furthermore, and also Volatile Suspend Solids (VSS), methanogenic specific activity where acetic and formic as substrates were used.

The content of VSS was recognize as a good parameter to assess both activated sludge; besides, as a result of methanogenic, specific activity show an important increase in the acclimated sludge with formic; which is corroborated with an increase in the group of hydrogenophilic methanogenic bacteria.

At the end, the activated sludge from activated treatment plant, was identified as a potential inocula in anaerobic process, because there are some quantities of methanogenic bacteria.

----- *Key words:* acclimation, UASB reactor, metanogenesis, anaerobic digestion.

## Introducción

El uso de la tecnología anaerobia ha sido de gran interés en los últimos años en países en vía de desarrollo, debido fundamentalmente a la baja producción de lodo, a la módica inversión en infraestructura para el tratamiento, a la disminución en gasto energético y a la recuperación del biogás [1], es de anotar que este tipo de tratamiento necesita de un inóculo con buenas características fisicoquímicas y microbiológicas para el arranque de reactores UASB.

Los lodos activados son una buena alternativa como inóculos potenciales, pues mediante el adecuado procedimiento de aclimatación a condiciones anaerobias se logra enriquecer la población microbiana para la fase de arranque del reactor.

En la última década se ha estudiado el comportamiento de los microorganismos involucrados en el tratamiento anaerobio; son grandes los avances, especialmente en la fase de arranque de los reactores UASB, pues se ha logrado aclimatar los lodos para degradar diferentes residuos, buscando condiciones óptimas y capacidad de resistencia a procesos de inhibición [1].

En el presente trabajo se comparó la población microbiana de lodo proveniente de un tratamiento aerobio (lodo crudo), el cual se sometió a proceso de aclimatación a condiciones anaerobias, realizando la evaluación microbiológica por grupos tróficos, sensibilidad al oxígeno y actividad metanogénica específica.

## Materiales y métodos

### Materiales

- **Inóculo.** El inóculo procede de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, de lodos activados, localizada en el municipio de El Retiro; el lodo se tomó del sedimentador secundario y fue sometido a un proceso de aclimatación a condiciones anaerobias utilizando azúcar morena como sustrato.

Se realizó la caracterización microbiológica por grupos tróficos, sensibilidad al oxígeno y acti-

vidad metanogénica específica, además se cuantificaron los SST y SSV.

Se tomaron dos muestras de lodo crudo (lodo crudo 1 y lodo crudo 2) el tiempo transcurrido entre la toma de muestra y la caracterización del lodo crudo 2 fue menor que en el lodo crudo 1.

- **Sustrato.** Se utilizó como sustrato una solución de azúcar morena más nutrientes y bicarbonato para neutralizar la acidificación del sustrato.

### Métodos

- **Proceso de aclimatación del lodo.** El procedimiento de aclimatación consistió en agregar alimento (sustrato) al lodo crudo durante 20 días, retirando diariamente un volumen de sobrenadante similar al volumen del alimento agregado. La aplicación de la carga tipo batch o por tandas se hizo en concentraciones variables desde 280 mg/l hasta 2.000 mg/l expresada como DQO. Para la solución de azúcar morena se prepararon concentraciones desde 600 mg/l hasta 800 mg/l de DQO, significando que durante el proceso de aclimatación se tuvo en cuenta un balance de masa donde se involucró la DQO de la muestra más la DQO aplicada (sustrato) dando como resultado una DQO final [2].

### Caracterización microbiológica

Para el recuento por sensibilidad al oxígeno se empleó la técnica de recuento estándar en placa por siembra en superficie para los siguientes grupos:

- Bacterias aerobias y anaerobias facultativas (BAAF)
- Bacterias anaerobias en medio sólido (BAs)
- Hongos y levaduras (H y L)

Las BAAF se incubaron en condiciones aerobias a 35 °C durante dos días, las BAs se incubaron a 35 °C durante ocho días en jarra de anaerobiosis

con una atmósfera de  $H_2/CO_2$ , los H y L se incubaron en condiciones aerobias a temperatura ambiente durante ocho días.

Para recuento relacionado con el metabolismo bacterial se empleó la técnica de número mas probable (NMP) para los siguientes grupos tróficos:

- Bacterias fermentativas de glucosa y lactato (BFG y BFL)
- Bacterias sulfatorreductoras de lactato y acetato (BSRL y BSRA)
- Bacterias sintróficas del propionato y butirato (BSP y BSB)
- Bacterias metanogénicas acetoclásticas e hidrogenofílicas (BMA y BMH)

Los períodos de incubación a 35 °C variaron según el grupo trófico:

BFG y BFL 8 días, BSRL y BSRA 15 días, BSP y BSB 60 días, BMA 60 días y BMH 45 días.

Para la actividad metanogénica específica (AME) se empleó formiato y acetato como sustratos para los grupos BMH y BMA respectivamente utilizando botellas serológicas de 60 ml. La producción de metano se evaluó por cromatografía de gases en un cromatógrafo HP 6890.

Las metodologías empleadas se fundamentaron en trabajos realizados por autores como Hulshoff

[3], entre otros; las cuales se encuentran recopiladas en el manual de Microbiología de la Digestión Anaerobia y Caracterización de Lodos Anaerobios [4].

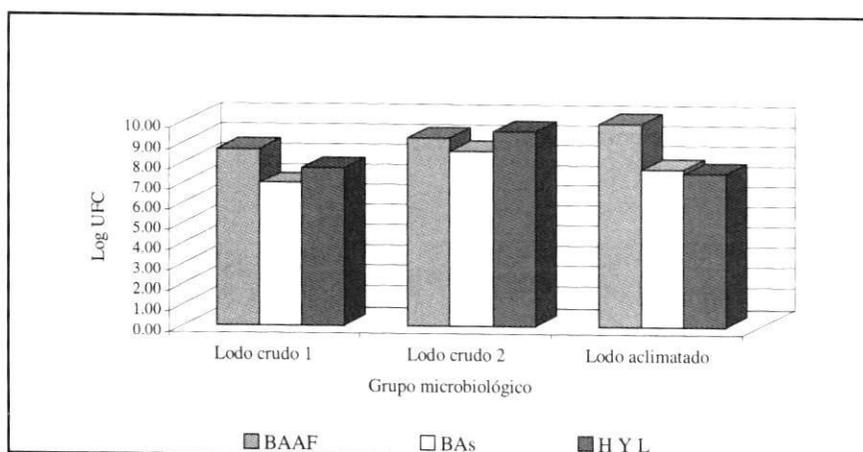
## Análisis de resultados

### Características microbiológicas

En la tabla 1 y en la figura 1 aparecen los resultados de los recuentos relacionados con la sensibilidad al oxígeno para el lodo crudo 1, el lodo crudo 2 y el lodo aclimatado, los cuales indican que hay alta proporción de las BAAF, tanto en los lodos crudos como en el lodo aclimatado sin presentar cambios radicales en este tipo de recuento; este grupo esta conformado por bacterias anaerobias facultativas como las enterobacterias que intervienen en la fase de la hidrólisis y fermentación y pueden contribuir a generar un ambiente anaerobio estricto [5].

**Tabla 1** Recuento por sensibilidad al oxígeno para lodo crudo 1, lodo crudo 2 y lodo aclimatado, expresado en UFC/g SSV de lodo

Grupo microbiano	Lodo crudo 1	Lodo crudo 2	Lodo aclimatado
Bacterias aerobias y anaerobias facultativas (BAAF)	$4,8 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^9$	$9,3 \cdot 10^9$
Bacterias anaerobias en medio sólido (BAAs)	$9,1 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^8$	$5,2 \cdot 10^7$
Hongos y levaduras (H y L)	$5,4 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^9$	$3,2 \cdot 10^7$



**Figura 1** Recuento relacionado con la sensibilidad al oxígeno para lodo crudo 1, lodo crudo 2 y lodo aclimatado

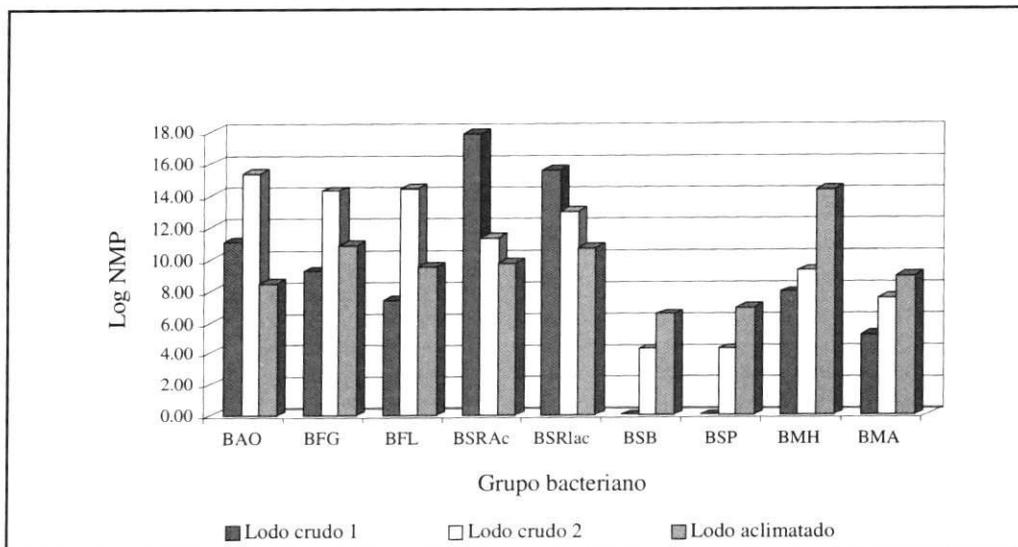
En la población de las bacterias anaerobias no se presentaron diferencias significativas. Los hongos y las levaduras se presentan en igual magnitud tanto en el lodo crudo como en el lodo aclimatado, esto debido a que este tipo de microorganismos se desarrollan en sustratos con concentraciones altas de azúcares [6], esta afirmación corrobora los resultados arrojados en dichos grupos microbianos ya que en el lodo aclimatado el sustrato fue azúcar morena, encontrándose un completo dominio de la población de levaduras ya que no se detectó la presencia de hongos filamentosos.

El recuento relacionado con el metabolismo bacterial aparece en la tabla 2 y en la figura 2.

**Tabla 2** Recuento relacionado con el metabolismo bacterial expresados en NMP/g SSV de lodo

Grupo microbiano	Lodo crudo 1	Lodo crudo 2	Lodo aclimatado
Bacterias anaerobias obligadas (BAO)	$1,1 \cdot 10^{11}$	$2,3 \cdot 10^{15}$	$2,5 \cdot 10^8$
Bacterias fermentativas de glucosa (BFG)	$1,6 \cdot 10^9$	$1,7 \cdot 10^{14}$	$7,1 \cdot 10^{10}$
Bacterias fermentativas del lactato (BFL)	$2,3 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^{14}$	$3,1 \cdot 10^9$
Bacterias sulfatorreductoras del lactato (BSRL)	$3,6 \cdot 10^{15}$	$1,7 \cdot 10^{11}$	$4,5 \cdot 10^{10}$
Bacterias sulfatorreductoras del acetato (BSRA)	$7,3 \cdot 10^{17}$	$9,1 \cdot 10^{12}$	$4,5 \cdot 10^9$
Bacterias sintróficas del propionato (BSP)	ND	$2 \cdot 10^4$	$7,2 \cdot 10^6$
Bacterias sintróficas del butirato (BSB)	ND	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$
Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas (BMH)	$7,3 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^9$	$2,1 \cdot 10^{14}$
Bacterias metanogénicas acetoclásticas (BMA)	$1,4 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^7$	$7,2 \cdot 10^8$

ND negativo en la menor dilución sembrada.



**Figura 2** Cuantificación de grupos bacterianos lodo crudo 1, lodo crudo 2 y lodo aclimatado

En la tabla 2 se observa que en general todos los grupos tróficos, exceptuando las bacterias sulfatorreductoras, presentan mayores poblaciones en el lodo crudo 2 con respecto al lodo crudo 1, esto puede estar relacionado con el tiempo transcurrido entre la toma de muestra del lodo y su caracterización; este período fue mucho menor para el lodo crudo 2.

Las BSR presentaron una disminución al ser comparadas con los lodos crudos. Se han encontrado altas poblaciones de BSR en reactores que tratan aguas residuales ricas en carbohidratos clasificándose como sustratos altamente energéticos [1]. Comparativamente la población de BSR se encuentra en número relativamente alto en el lodo crudo 1, lo cual podría generar una

competencia con las BMH por el hidrógeno [7]. Las BS no fueron detectadas en el lodo crudo 1, en el lodo crudo 2 se detectaron poblaciones importantes de BSB y BSP, en el lodo aclimatado presentaron un incremento del orden de  $10^2$  lo que indica que el proceso de aclimatación proporcionó las condiciones para el crecimiento de este grupo. Las BMH presentaron un crecimiento importante en el lodo aclimatado doblando la población con respecto al lodo crudo. Las BMA presentaron un incremento considerable en el lodo aclimatado con respecto al lodo crudo 1.

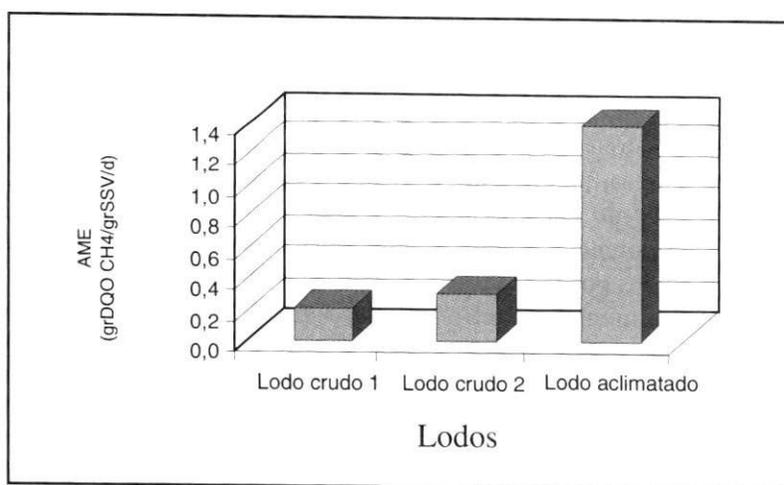
En la tabla 3 se presentan las actividades metanogénicas para fórmico y acético de los lodos crudos y lodo aclimatado, el lodo presentó características dispersas. Según Hulshoff, 1989, la relación entre SSV/SST debe oscilar entre 0,45 y 0,9, los lodos estudiados se encuentran en este rango [3].

La AME reportada corresponde a una AME neta, o sea el valor obtenido en el ensayo menos el valor del control. La figura 3 corresponde a las AME para el fórmico, indicando el aumento de la actividad metanogénica para el lodo aclimatado.

La evolución de la actividad metanogénica en el lodo crudo 1, lodo crudo 2 y lodo aclimatado se presenta en la figura 4; se observa como las BMH utilizan primero el fórmico en el lodo aclimatado para ser metanogenizado con buena eficiencia a partir de las primeras 50 horas hasta las 120 horas, indicando agotamiento del sustrato, procediéndose a una segunda alimentación, mientras que los lodos crudos empiezan a metanogenizar el fórmico con un tiempo de retardo de 150 horas aproximadamente. En los lodos evaluados no se detectó la actividad metanogénica de las BMA que utilizan el acético como sustrato.

**Tabla 3** Características fisicoquímicas y AME del lodo crudo 1, lodo crudo 2 y lodo aclimatado

Muestra	SSV (mg/l)	SSV/SST	g SSV	DQO/g Fórmico		Acético	
				Tr (h)	AME	Tr (h)	AME
Lodo crudo 1	15.950	0,68	2,382	200	0,198	450	0,058
Lodo crudo 2	9.160	0,71	4,148	70	0,306	0	0
L. aclimatado	9.856	0,66	3,856	25	1,390	0	0



**Figura 3** Actividad metanogénica específica (AME) para fórmico del lodo crudo 1, lodo crudo 2 y lodo aclimatado

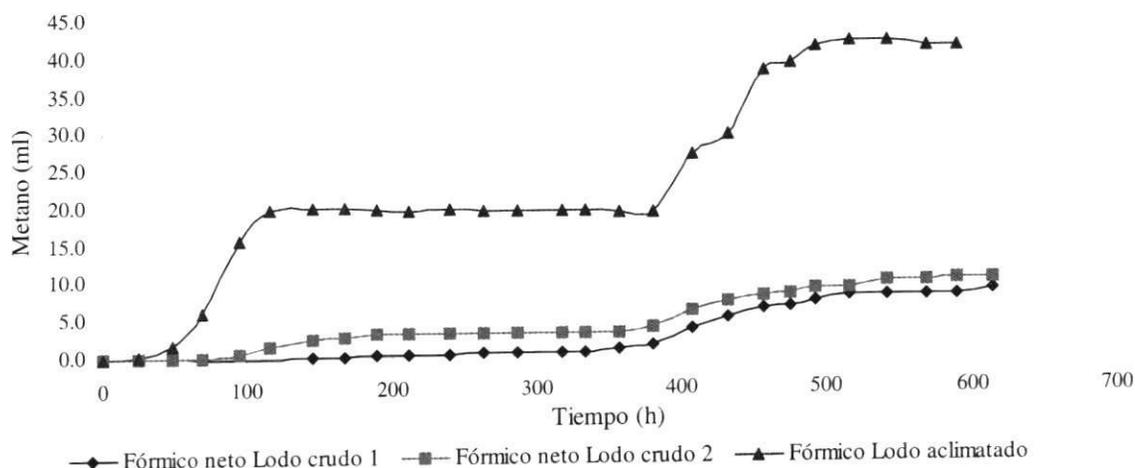


Figura 4 AME fórmico neto, lodo crudo viejo, lodo crudo nuevo y lodo aclimatado

### Conclusiones

Los lodos provenientes de un sistema aerobio de lodos activados presentan poblaciones anaerobias pequeñas pero su presencia permite, a través del proceso de aclimatación, potenciar dichos grupos bacteriales para luego ser utilizados como inóculo en reactores anaerobios.

Los ensayos realizados permitieron identificar la evolución de la estructura bacteriana de un lodo aerobio aclimatado a condiciones anaerobias; en esta experiencia se identificó un aumento importante en la población de bacterias metanogénicas hidrogenofílicas y en menor proporción de bacterias metanogénicas acetoclásticas, paralelo a la reducción de las poblaciones de bacterias sulfatorreductoras, grupo que potencialmente compete por los sustratos utilizados por las bacterias metanogénicas, especialmente por el acetato.

El lodo en estudio durante toda la fase de experimentación se comportó como un lodo disperso.

Proyecto optimización de la etapa de arranque de reactores anaerobios, mediante el mejoramiento de diferentes semillas en condicio-

nes dinámicas de operación. Con el apoyo de Colciencias.

### Referencias

1. Soubes, Matilde. *Microbiología de la Digestión Anaerobia*. En: Tratamiento Anaerobio 3<sup>er</sup> seminario y taller latino americano "Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales". 1994: Montevideo, Uruguay.
2. Gallego, D. y Saldarriaga, J. C. *Aclimatación del lodo crudo para el desarrollo del Proyecto de Investigación "Semillas"*. Trabajo realizado en el laboratorio de Biotecnología Ambiental, Universidad de Antioquia, Medellín. 1999. Sin editar.
3. Hulshoff, Pol L. *et al.* Memorias IV seminario taller latinoamericano sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales. Bucaramanga. 1996.
4. Alazard, D. y Molina, F. *Microbiología de la digestión anaerobia y caracterización de lodos anaerobios*. Universidad de Antioquia, Medellín. 1997.
5. Guyot, J. *et al.* *Anaerobic microbial counts of different potential anaerobic inocula*. Microbiology Biotechnology. Vol. 46. pp. 139-142. 1993.
6. Pelczar, Michel. Jr. *et al.* *Microbiología*. 4<sup>a</sup>. edición, Méjico, McGraw-Hill. pp. 254-260. 1996.
7. Field, J. Medición de Parámetros. En: Curso "Arranque y operación de reactores anaerobios con flujo ascendente y manto de lodos (UASB)". Universidad del Valle. Cali. 1987.