



MÁSTER EN GESTIÓN Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL  
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

**TRABAJO FIN DE MASTER**

BIOINDICACION MICROSCOPICA COMO  
HERRAMIENTA PARA EL TRATAMIENTO DE  
AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA  
AZUCARERA

Vidal Gómez Rojo  
Septiembre, 2014



Pedro A. García Encina, profesor/a del Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente de la Universidad de Valladolid.

INFORMA:

Que D. Vidal Gómez Rojo ha realizado bajo mi dirección el Trabajo Fin de Master titulado: Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.

Valladolid, 11 de Septiembre de 2014

Fdo. Pedro A. García Encina



Reunido el Tribunal designado por el Comité Académico del Master en Ingeniería Ambiental, para la evaluación de Trabajos Fin de Master, y después de estudiar la memoria y atender a la defensa del trabajo “Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera”, presentado por el alumno D. Vidal Gómez Rojo, decidió otorgarle la calificación de \_\_\_.

Valladolid, 11 de Septiembre de 2014

El Presidente

El Secretario

Fdo.:

Fdo.:

Vocal

Fdo.:

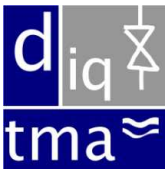


## INDICE

RESUMEN.....	1
1. Introducción .....	3
2. Objetivos.....	5
3. Metodología.....	6
3.1. Toma de muestras.....	6
3.2. Identificación y recuento de protozoos y metazoos.....	6
3.3. Identificación y recuento de bacterias filamentosas .....	7
3.4. Análisis macroscópico de la V30 .....	7
3.5. Variables operacionales.....	8
4. Resultados y Discusión.....	9
4.1. Identificación de Microfauna .....	9
4.2. Parámetros macroscópicos .....	9
4.3. Evolución de la Microfauna.....	10
4.4. Microfauna vs Parámetros de operación.....	16
5. Conclusiones .....	27
6. Referencias .....	29
ANEXO A.....	33





	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 1</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

## **RESUMEN**

Los bioindicadores en la actualidad siguen promoviéndose como una valiosa herramienta para el tratamiento de aguas residuales y control de la calidad de vertido del agua. Su uso simplifica en gran medida las actividades de laboratorio, ya que su aplicación solo requiere la identificación y cuantificación de los microorganismos.

En este trabajo se llevó a cabo el seguimiento de una estación de tratamiento de aguas residuales procedentes de una azucarera (ACOR, Olmedo) evaluándose la biodiversidad de la microfauna como herramienta de bioindicación para el tratamiento de aguas residuales de estas características.

Las principales especies identificadas a lo largo de la campaña, mediante su función bioindicadora, permiten descubrir posibles problemas de operación, mostrando el estado de la depuración. De la comparación con los parámetros físico-químicos de los bioreactores, es posible trazar una relación entre la abundancia de ciertos microorganismos y el funcionamiento de la EDAR, haciendo que sea una herramienta útil de predicción.







	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 3</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

## 1. Introducción

Las poblaciones de protozoos juegan un papel muy importante en las cadenas tróficas microbianas procedentes del tratamiento biológico en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs). Como sus principales presas son las bacterias, la actividad depredadora de los protozoos ha estado profundamente relacionada con la calidad del efluente (Salvadó et al., 1995; Lee et al., 2004).

Sin embargo, estas actividades depredadoras también podrían influenciar en la formación de la distribución y composición bacteriana en diferentes medios acuáticos, como ha sido descrito (Simek et al., 1997; Jürgens et al., 1999; Hahn and Höfle, 2001).

Funcionalmente, los protozoos de los sistemas acuáticos son productores primarios, consumidores de bacterias, pequeñas algas, otros protozoos y ciertos metazoos, y son presa de otros organismos (Gifford, 1991). Por otro lado, los protozoos actúan como intermediarios en la remineralización y en el reciclaje de los nutrientes esenciales (Sherr, 1984). También son capaces de bioasimilar y transformar diferentes sustancias, entre ellas, determinados contaminantes (Salvadó et al., 1995). La abundancia de los protozoos presenta variaciones según la disponibilidad de nutrientes, las relaciones de depredación y los cambios físico-químicos.

La temperatura, salinidad, incidencia de la luz, las corrientes y el valor del pH son los factores esenciales que determinan el habitat para cada especie. Sobre las poblaciones de protozoos tiene además especial influencia el grado de pureza del agua, como medida de la contaminación producida por sustancias orgánicas que conducen a la degradación bacteriana y que influyen en el contenido en oxígeno del agua, entre otros factores (Sherr, 1984).

Igualmente, los protistas tienen un impacto indirecto sobre la clarificación de efluentes a través de sus efectos en los procesos de floculación:

- (i) Aumentando las actividades bacterianas y contribuyendo directamente a la secreción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS)
- (ii) Juegan un importante papel en el desarrollo de la estructura del flóculo debido a sus actividades biológicas (Arregui et al., 2007, 2008; Wilén et al., 2008). Todas estas actividades son, por tanto, muy relevantes para la generación de efluentes limpios y mejorar la calidad de los vertidos.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 4</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Estas características indican que las condiciones ambientales que se tienen en los reactores biológicos son cruciales, ya que las especies de protistas deben ser capaces de sobrevivir (Liu et al., 2008). Por este motivo las poblaciones, especies de protistas y sus abundancias han sido escogidas como indicadores de las propiedades de operación, de la calidad del efluente y del rendimiento de las plantas de tratamiento. (Madoni, 1991; Madoni et al., 1993; Luna-Pabello et al., 1990; Esteban et al., 1990; Al-Shahwani and Horan, 1991; Salvadó, 1994; Martín-Cereceda et al., 1996, Lee et al., 2004)

La mayoría de los estudios realizados han sido llevados a cabo en sistemas convencionales sin eliminación biológica de nitrógeno, sin embargo, estos sistemas muestran características biológicas muy diferentes a los sistemas considerados como nuevas tecnologías tales como los tratamientos avanzados para eliminación de nutrientes o los bioreactores de membrana. (Pérez-Uz et al., 2007, 2009; Serrano et al., 2008b; Liu et al., 2008; Arévalo et al., 2009).

Los sistemas avanzados de eliminación de nutrientes combinan etapas aeróbicas, anóxicas y anaeróbicas con diferentes estrategias de recirculación de fango. Estas singularidades en el tratamiento son las responsables de dar forma a la microfauna implicada en el proceso de depuración. Por lo tanto, los protozoos presentes en estos reactores biológicos son también diferentes a los observados en otros sistemas de operación investigados por diferentes autores (Liu et al, 2008. Pérez-Uz et al, 2009. Arévalo et al., 2009) por lo que los resultados de estudios anteriores sobre diferentes tipos de plantas de lodos activados no pueden ser directamente extrapolados a otros tipos de EDAR de distinta complejidad.

En este contexto, se ha evaluado durante una campaña de producción el sistema de tratamiento de aguas residuales de una azucarera que incluyen sistemas de eliminación de nitrógeno (nitrificación/ desnitrificación) mediante lodos activados. Esta evaluación se llevó a cabo en la EDAR que posee la azucarera ACOR en su planta de Olmedo (Valladolid). Este estudio fue posible gracias a la colaboración existente entre la universidad de Valladolid y la Azucarera ACOR S.A.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 5</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

## 2. Objetivos

El objetivo global y principal de este estudio consiste en realizar un seguimiento y control de la planta de depuración de las aguas residuales producidas en la azucarera ACOR S.A., Valladolid. Este objetivo se centra en los procesos biológicos, por lo que se pretende evaluar e identificar la microfauna que poseen los fangos activos, para así, poder elaborar una herramienta basada en la bioindicación que sea útil para mejorar el tratamiento de dichas aguas residuales, y por tanto mejorar el rendimiento de operación (mejor calidad de efluente de vertido). De este objetivo global se pueden desarrollar los siguientes objetivos parciales:

1. Realizar un análisis microbiológico del fango mediante un seguimiento periódico de observación microscópica. Identificación y cuantificación de la microfauna (protozoos, metazoos, etc.) que se encuentra habitualmente en este tratamiento de agua residual de la industria azucarera y por tanto examinar el valor de los grupos o especies halladas como indicadores del rendimiento del proceso de depuración. La caracterización de las comunidades biológicas se evalúa mediante la identificación y cuantía del número de los tres principales grupos de protistas que se presentan en las EDARs (ciliados, flagelados y amebas). El estudio se centra tanto en la eliminación de nitrógeno como en la eliminación de materia orgánica.
  
2. Caracterización del estado y consistencia del fango. (Tamaño y estado de los flóculos, tipos y abundancias de bacterias filamentosas, presencia de bacterias libres, presencia de pequeños flagelados...).
  
3. Recopilar los datos de operación registrados (caudales de tratamiento, cargas orgánicas, nutrientes...) durante la campaña.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 6</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

4. Por último contrastar la evolución de la microfauna con el histórico de los datos de operación de forma a determinar una relación entre ambos. El objetivo final consiste en revelar las posibles asociaciones que haya entre la biodiversidad presente y los rendimientos operacionales manifestados por los parámetros físico-químicos y biológicos registrados que permitirían sugerir o detectar posibles bioindicadores. Este paso es necesario para proporcionar un marco para el futuro desarrollo de un índice. El diseño de una herramienta de predicción biológica o modificar / adaptar otras ya existentes, para este tipo de tratamiento de aguas residuales.

### **3. Metodología**

#### **3.1. Toma de muestras**

Se ha realizado el muestreo en la EDAR que tiene la azucarera ACOR S.A. para el tratamiento del vertido de aguas residuales que producen. Esta planta de tratamiento está localizada en Olmedo (Valladolid). La planta de tratamiento únicamente está diseñada para el tratamiento de aguas de tipo industrial.

Se ha llevado a cabo el muestreo durante la campaña con una frecuencia semanal desde diciembre hasta junio. Todas las muestras fueron extraídas del licor mezcla de la recirculación interna del reactor aerobio y además estas muestras fueron de tipo puntual.

#### **3.2. Identificación y recuento de protozoos y metazoos**

El análisis microscópico de las muestras se realizó en un intervalo de tiempo máximo de 24 horas después de la toma de muestras, utilizando un microscopio de contraste de fases Leica (modelo DM 4000B) con objetivos de 10x, 20x y 40x aumentos, equipado con una cámara y un software LEICA APPLICATION SUITE para la captura de imágenes.

Para la estimación de la densidad de protistas ciliados y metazoos se llevó a cabo por recuento directo utilizando el objetivo de 10x aumentos. Mediante alícuotas de 20 µl se realizaron los recuentos correspondientes según Madoni, 1989.



	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 7</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

La abundancia de los microorganismos se expresa en individuos/ml y también, viene expresada en porcentaje, indicando la fracción que representa una especie concreta dentro del número total de individuos hallados en una muestra.

### **3.3. Identificación y recuento de bacterias filamentosas**

El análisis de morfotipos filamentosos se realizó antes de las 24 horas posteriores a la toma de muestras, siguiendo las recomendaciones para su correcta manipulación y conservación de Rodríguez et al., (2005). Para su identificación se han seguido las indicaciones de Jenkins (“Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming”, (2004)), que permiten identificar las bacterias filamentosas en base a sus características morfológicas (morfotipos) mediante el examen microscópico a 40x y con óptica de contraste de fases.

En cuanto a la cuantificación de bacterias filamentosas se utilizó la técnica desarrollada por Salvadó (1990). Esta consiste en observar de 20 a 30 campos con el microscopio en contraste de fases a 40x contando las filamentosas que entran y salen de esos campos, para de esta manera poder obtener una media fiable.

Debido a la dificultad que en determinadas condiciones plantea la identificación y la estimación de la densidad, estructura flocular abierta y elevada población de filamentos, se procedió a identificar y a estimar la densidad de bacterias filamentosas sobre muestras en vivo y fijadas en tinciones Gram y Neisser, utilizando para ello microscopía de contraste de fases y campo claro.

### **3.4. Análisis macroscópico y V30**

La V30 es un ensayo empleado para obtener una aproximación del comportamiento del fango en cuanto a sus propiedades de decantación y compactación y se define como el volumen que ocupa el sedimento correspondiente a un litro de líquido mezcla tras 30 minutos de decantación en probeta de 1000 ml.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 8</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Procedimiento operativo:

Se agitó con suavidad la muestra, en el mismo bote de toma-muestras, con el fin de garantizar una suspensión lo más homogénea posible, pero sin que se altere la estructura microflocular del fango activo.

Inmediatamente, se vierte con cuidado 1L de la muestra en una probeta de 1000 ml de volumen, haciendo resbalar la suspensión por las paredes de la probeta.

Posteriormente se deja en reposo durante 30 minutos y se anota el volumen en ml que ocupa el fango sedimentado a los tiempos de 5, 20 y 30 min, para de esta manera evaluar la calidad de la sedimentación.

Además durante este ensayo de la V30 se procedió a realizar un análisis macroscópico cualitativo de los aspectos relacionados con la sedimentabilidad del fango activo. Se ha realizado una escala arbitraria para poder cuantificar estas variables macroscópicas (tabla 1).

**Tabla 1. Parámetros macroscópicos.**

<b>Aspecto</b>	<b>Valor</b>	<b>Explicación</b>
V30 Sedimentabilidad	1, 2, 3	1= baja, 2= media, 3= alta
Flóculos Adheridos	0, 1	0= ausencia, 1= presencia
Flóculos Suspendidos	1, 2, 3	1= bajo, 2= medio, 3= alto
Capa Cérea	0, 1	0= ausencia, 1= presencia
Espuma Blanca	0, 1	0= ausencia, 1= presencia
Decantación en bloque	0, 1	0= ausencia, 1= presencia
Color	-	Color del fango
Color Rojo	0, 1	0= ausencia, 1= presencia
Turbidez	1, 2, 3	1= bajo, 2= medio, 3= alto
Macroflóculo	1, 2	1= <0,5cm; 2= >0,5cm

### **3.5. Variables operacionales**

Se solicitó a la depuradora de ACOR S.A. los datos relativos a los días de muestreo de los parámetros operacionales de los reactores biológico.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 9</b>
	Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.	Vidal Gómez Rojo

## 4. Resultados y Discusión

### 4.1. Identificación de Microfauna

Durante la observación de las distintas muestras fue posible identificar las siguientes variedades de microorganismos: *suctor sp*, *vorticella sp*, *chilodonella sp*, *euplotes sp*, *uronema sp*, *acineria sp*, *rotífero sp*, *arcella sp*, *vaginicola sp*, *opercularia sp*, y bacterias filamentosas como: *Nostocoida limícola*, tipo 0041, tipo 021N y *Haliscomenobacter hydrossis*.

Para la identificación de dichos microorganismos se utilizó el manual práctico para el estudio de grupos bioindicadores en fangos activos publicado por el GBS. Los principales microorganismos observados al microscopio se muestran en las imágenes del Anexo A. Estas imágenes se captaron con la cámara disponible en el microscopio con aumentos de 10x, 20x y 40x.

### 4.2. Parámetros macroscópicos

En la tabla 2 se resumen los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros macroscópicos de las muestras de fango. Los resultados fueron idénticos para los muestreos realizados en el periodo de tiempo considerado en este estudio, con excepción de las muestras recogidas al final de la campaña donde la turbidez presentaba un valor 3 y la sedimentabilidad (V30) valores entre 2 y 1 (ver tabla 2, columna 2)

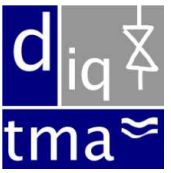
	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 10</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Tabla 2. Resultados parámetros macroscópicos.

Aspecto	Valor	
	09-11 al 07-04	14-04 al 11-06
V30 Sedimentabilidad	3 - 2	2 - 1
Flóculos Adheridos	0	0
Flóculos Suspendidos	1	1
Capa Cérea	0	0
Espuma Blanca	0	0
Decantación en bloque	0	0
Color	Marrón	Marrón
Color Rojo	0	0
Turbidez	1 - 2	3
Macroflóculo	1	1

### 4.3. Parámetros Microscópicos

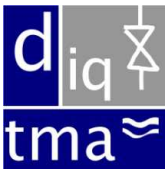
A continuación se muestran los resultados obtenidos para la planta de tratamiento de aguas de Olmedo. Los resultados obtenidos se presentan resumidos y divididos en distintos períodos en función de los microorganismos presentes y de las tendencias que estos muestran durante el proceso de depuración de las aguas (ver ilustración 1).

#### 1º Período (09-11 a 18-12)

Estructura flocular: En el primer día, el fango presenta una estructura flocular agregada y estructurada, además los flóculos son de gran tamaño y compactos. Posteriormente el fango se va disgregando con una estructura flocular muy abierta y desestructurada. Los flóculos terminan siendo de aspecto muy débil y de pequeño tamaño.

Microfauna: Los ciliados sésiles (*vorticellas sp* y *vaginicolas sp*) son los microorganismos mayoritarios en este período. Ambos crecen mucho al principio (día 21: 29-11) y disminuyen casi hasta prácticamente desaparecer al final del período.

Filamentosas: Empiezan con un valor de  $\approx 75$  m/ml disminuyendo hasta desaparecer.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 11</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

### 2º Período (18-12 a 22-01)

Estructura flocular: El fango sigue presentando una estructura flocular muy disgregada y desestructurada, pero los flóculos son más compactos, no obstante aún poseen un aspecto bastante débil y sin existencia de puentes interfoculares.

Microfauna: Las *vorticellas sp* son el microorganismo mayoritario. Aumentan su número muchísimo hasta el día 50 (12250 ind/ml) para después disminuir al final de esta fase (425 ind/ml).

Filamentosas: No aparecen en este tramo de operación.

#### Cambio 1:

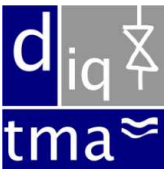
El cambio se da cuando los ciliados sésiles casi desaparecen al final del primer periodo y posteriormente aumentan en el segundo periodo. Además desaparecen las bacterias filamentosas. Tenemos un primer período de buenos rendimientos de operación, con baja-media carga orgánica, altos tiempos de retención celular en el reactor, buena oxigenación y estados de nitrificación (presencia de *vaginicolas sp*, *vorticella sp* y bacterias filamentosas). Pasamos a un segundo estado en el que tenemos condiciones medias de depuración (*vorticella sp*), como se observa en los flóculos al perder consistencia y tamaño.

### 3º Período (22-01 a 03-03)

Estructura flocular: Al inicio el fango presenta una estructura flocular muy disgregada y desestructurada, los flóculos son pequeños y débiles. Después los flóculos van ganando en consistencia y tamaño, convirtiéndose al final del período en flóculos de mediano-pequeño tamaño.

Microfauna: Las *vorticellas sp* son el microorganismo mayoritario. Van aumentando en abundancia hasta alcanzar al final  $\approx$  10000 ind/ml. A mitad del período empiezan a crecer *amebas testáceas*, estando muy por debajo en número comparándolas con las *vorticellas sp*.

Filamentosas: Crecen progresivamente en este período, hasta alcanzar 60 m/ml.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 12</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

### **Cambio 2:**

Se produce porque empiezan a aumentar las *vorticellas sp* y las bacterias filamentosas; implica que tenemos condiciones medias de depuración y baja carga orgánica en el reactor biológico. Además en la mitad del tercer período aparecen amebas testáceas que indican buenos rendimientos de operación. Unido a esto el flóculo es cada vez más grande y consistente, teniendo al final flóculos de tamaño mediano.

### **4º Período (03-03 a 07-04)**

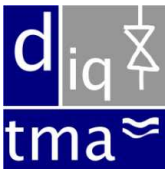
Estructura flocular: El fango presenta una estructura flocular abierta y completamente disgregada. Los flóculos son de tamaño mediano y débil. En este período aumentan un poco en consistencia.

Microfauna: Al principio de esta fase las amebas testáceas son el microorganismo mayoritario hasta el día 133: 21-03, en el que desaparecen. Este día vuelven a aparecer muchísimas *vorticellas sp*, disminuyendo posteriormente al terminar el período. Hay que destacar que al final del período comienzan a aumentar ciliados reptantes (*chilodonella sp*) y metazoos (*rotíferos sp*)

Filamentosas: disminuyen pasando de 60 m/ml a 20 m/ml.

### **Cambio 3:**

En este cambio las amebas testáceas son el microorganismo mayoritario lo que implica buenos rendimientos de operación y baja carga orgánica con condiciones de nitrificación, a partir de aquí vuelven a reinar las *vorticellas sp* indicando que tenemos condiciones medias de depuración y baja carga orgánica por la presencia de filamentos. Por lo que el flóculo se presenta débil cuando se da el cambio y mejora su consistencia en el cuarto período.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 13</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

### **5º Período (07-04 a 12-05)**

Estructura flocular: El fango presenta una estructura flocular abierta y disgregada. Los flóculos son de tamaño mediano y un poco más consistentes que en el periodo anterior.

Microfauna: Solo al inicio del período los ciliados reptantes (*chilodonella sp*) y metazoos (rotíferos sp) son los microorganismos mayoritarios disminuyendo hasta desaparecer al final del período mientras que *vorticellas sp* aumentan a lo largo de este.

Filamentosas: Aumentan mucho al principio del período alcanzando 110 m/ml, posteriormente disminuyen en torno a 30m/ml.

#### **Cambio 4:**

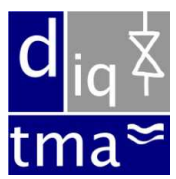
Crecen los ciliados reptantes (*chilodonella sp*) asociados a la alta proliferación de bacterias filamentosas e implica sistemas no nitrificantes. También crecen metazoos (*rotíferos sp*) que indican edad de fango alta y carga débil. Siendo estos dos tipos los microorganismos mayoritarios al inicio del 5º período. Después disminuyen y dominan las *vorticellas sp* mostrando que tenemos condiciones medias de depuración. La alta presencia de filamentos indica baja carga orgánica.

### **6º Período (12-05 a 11-06)**

Estructura flocular: El fango presenta una estructura flocular abierta y disgregada. Los flóculos son de tamaño pequeño y de aspecto débil.

Microfauna: Las *vorticellas sp* son el microorganismo mayoritario y van disminuyendo hasta el final del período.

Filamentosas: Empiezan el período con  $\approx$  45 m/ml, aumentando progresivamente hasta 136,5 m/ml.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 14</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

### **Cambio 5:**

Dominan las *vorticellas sp* mostrando que hay condiciones medias de depuración. Posteriormente estas disminuyen mientras que las bacterias filamentosas aumentan muchísimo indicando baja carga orgánica.

### **7º Período (11-06 a 30-06)**

Estructura flocular: El fango presenta una estructura flocular abierta y disgregada. Los flóculos son de tamaño pequeño y de aspecto débil.

Microfauna: Las *vorticellas sp* son el microorganismo mayoritario y van aumentando y disminuyendo sin tendencia observable. Además en este período aparecen multitud de ciliados nadadores (del tipo *uronema sp*) que dominan el fango el día 224: 20-06 con 5175 ind/ml, este tipo de microorganismo está asociado a fenómenos transitorios con sobrecarga orgánica. Al final del ciclo aparece otro tipo de ciliado sésil (*opercularia sp*), este suele estar presente en fangos de calidades mediocres.

Filamentosas: Disminuye a lo largo de esta última fase, terminando con 66 m/ml.

### **Cambio 6:**

Disminuyen las bacterias filamentosas a la mitad, aunque la abundancia de esta sigue indicando baja carga orgánica. La presencia o aparición de *vorticellas sp*, *opercularias sp* y de *uronema sp* implica que hay fenómenos transitorios mostrando variación en la carga orgánica con sobrecarga y baja carga orgánica y se tienen condiciones medias de depuración.



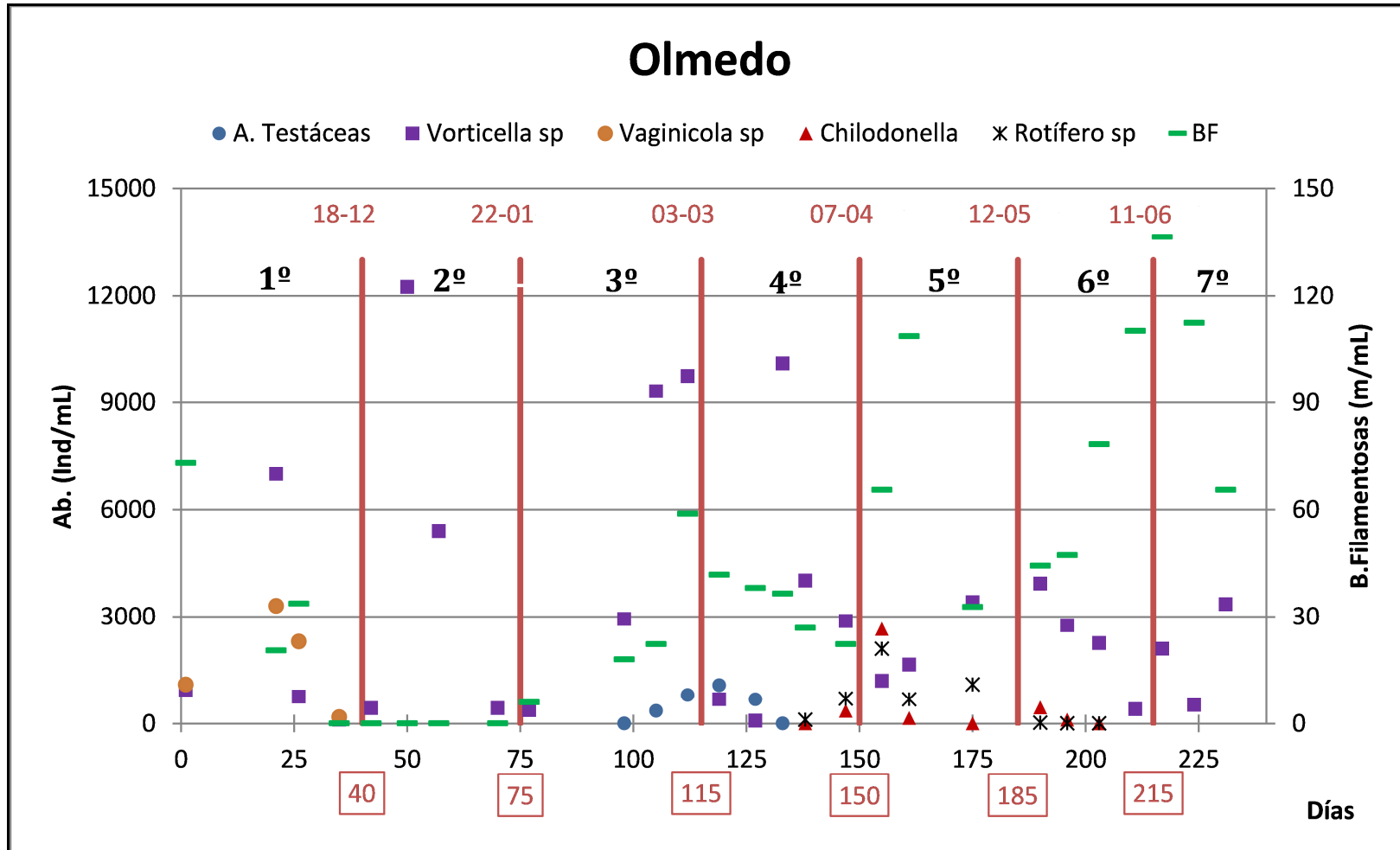
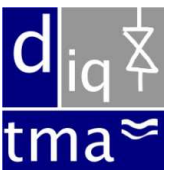


Ilustración 1. Evolución de la Microfauna y Bacterias filamentosas.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 16</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

#### 4.4. Microfauna vs Parámetros de operación

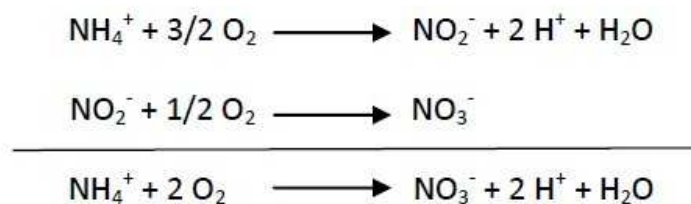
Una vez finalizada la campaña, se ha procedido a estudiar el histórico de datos de operación recibidos de la campaña de la planta azucarera de Olmedo.

El objetivo de este estudio se centra en establecer una correlación entre el histórico de datos y el análisis de la microfauna que se realizó periódicamente durante la campaña, de forma que permita establecer pautas de comportamiento en las instalaciones de tratamiento de aguas.

De esta manera se pretende establecer una relación entre los parámetros de operación y los microorganismos de forma que se puedan prever posibles problemas de depuración, mediante un sencillo seguimiento microscópico y por tanto mejorar el rendimiento y el funcionamiento de las EDARs de las plantas azucareras.

##### 1º) Problemas asociados a la ausencia de Nitrificación

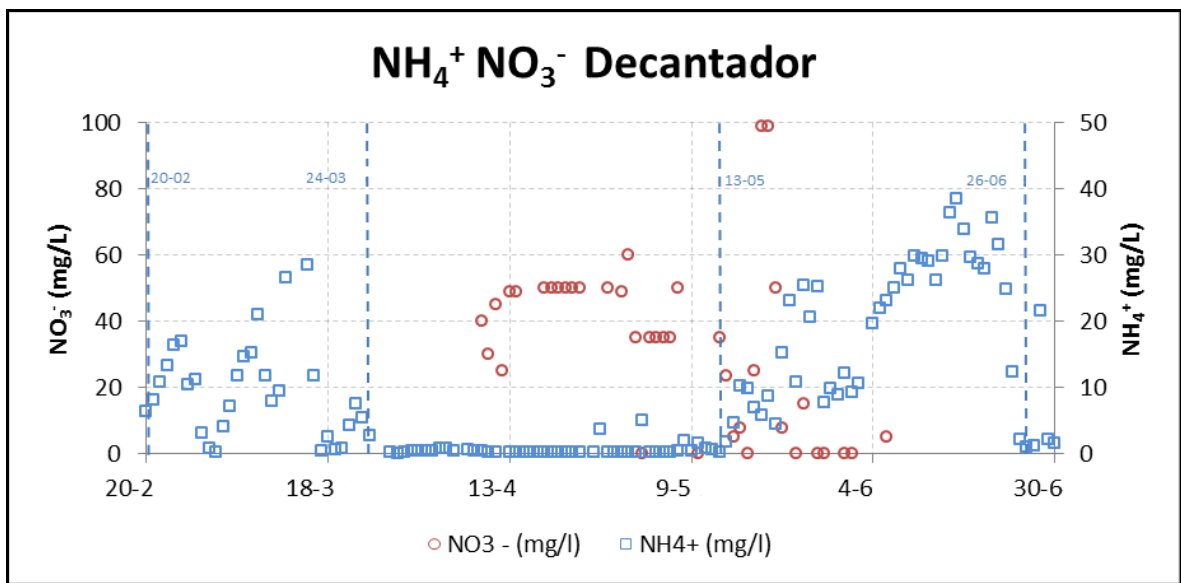
Los problemas asociados a la falta de nitrificación, tienen lugar cuando la concentración de iones amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) aumenta en la corriente de salida del decantador. Esto es debido a que las reacciones de nitrificación no tienen lugar en la zona aerobia del sistema de tratamiento, ya que no se observa desaparición del ión  $\text{NH}_4^+$ .



Para estudiar este fenómeno, en la ilustración 2 se presentan los datos de concentraciones de nitrato y amonio a la salida del decantador a partir de Febrero (20-02 al 30-06) Se observa en esta ilustración (puntos cuadrados azules) que tenemos un periodo donde la concentración de  $\text{NH}_4^+$  es muy baja, presentando valores en torno a 0.5 mg/l, y dos períodos de tiempo en que la concentración de  $\text{NH}_4^+$  aumenta.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 17</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

El primer periodo se extiende desde el día 20-02 al 24-03, alcanza valores elevados comprendidos entre 25 y 30 mg/l. Finalmente decrece volviendo a valores bajos mencionados anteriormente. El segundo problema de nitrificación es más pronunciado que el anterior. Este tiene lugar entre el 13-05 y el 26-06, durante el que se alcanzan concentraciones máximas comprendidas entre 35 y 40 mg/l de  $\text{NH}_4^+$ .



**Ilustración 2. Concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  a la salida del decantador. Problema de nitrificación.**

En estos periodos en que se supone que hay problemas de nitrificación (porque aumenta mucho la concentración de  $\text{NH}_4^+$ ), se atiende a la microfauna hallada en el reactor biológico, como se observa en la ilustración 3.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 18</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

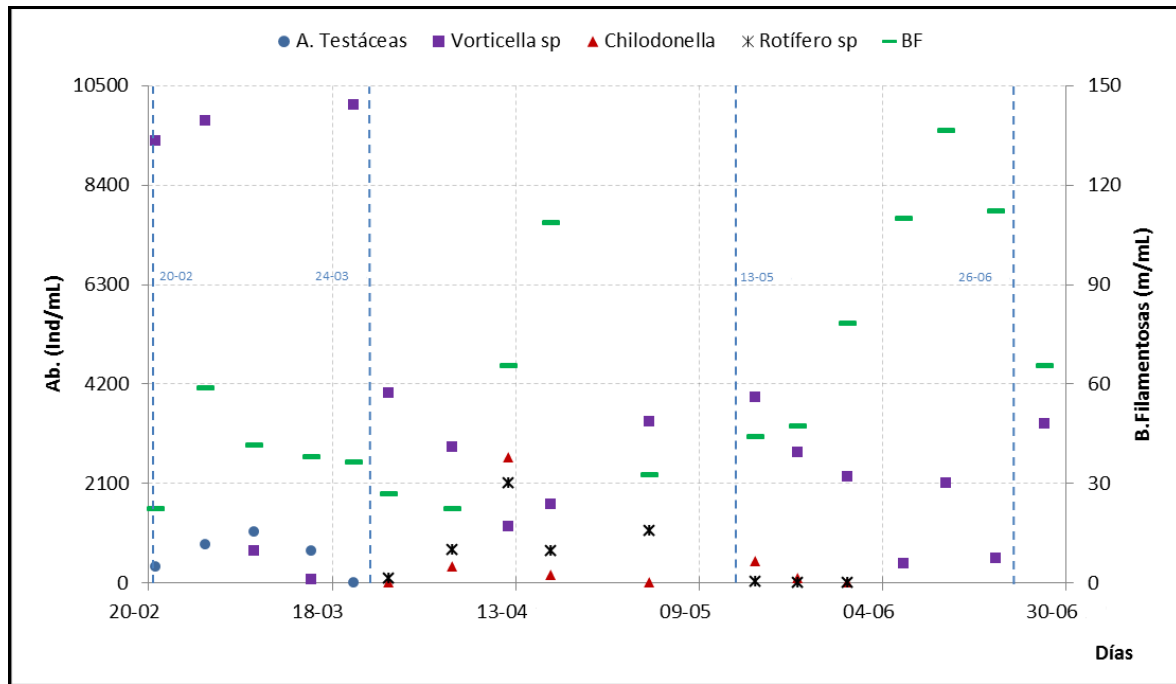


Ilustración 3. Abundancia de la microfauna. Problemas de nitrificación.

**Durante el primer período (20-02 a 24-03)** se observa un fuerte crecimiento de ciliados sésiles y la aparición de amebas testáceas. También se observa una ligera disminución en el número de bacterias filamentosas.

- **Amebas testáceas (*Arcella sp*):** Habitualmente estos organismos en general, son indicadores de buenos rendimientos de depuración. A elevadas concentraciones indican baja carga orgánica, buena oxigenación y buenas condiciones de nitrificación.

Este microorganismo es un buen bioindicador ya que revela información sobre el proceso de nitrificación. Cuando aparece en grandes abundancias muestra que el proceso de nitrificación se está produciendo con buenos rendimientos, mientras que cuando aparece en baja cantidad no significa que no haya nitrificación.

No había presencia de este microorganismo al inicio del periodo, aparece y comienza a crecer hasta ser el microorganismo mayoritario con 1075 ind/ml (día 07-03, Ilustración 3) y posteriormente disminuye y desaparece al final del período.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 19</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

En este caso cabría pensar que no habría problema de nitrificación puesto que como vemos en la Ilustración 3, aparecen amebas testáceas, llegando a ser este microorganismo el predominante en la muestra, aunque haya poca abundancia. Pero por otra parte se observa en la Ilustración 2 que se tienen elevadas concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  en este período a la salida del decantador. Este hecho hace pensar todo lo contrario, es decir, que sí que haya problema de nitrificación.

Esta contradicción se resuelve porque tenemos un aporte extra de aguas amoniacaes al reactor biológico durante este periodo. Esta corriente posee altas concentraciones de  $\text{NH}_4^+$ , haciendo que la alimentación del reactor aerobio sea distinta.

**Tabla 3. Concentración de  $\text{NH}_4^+$  en aguas amoniacaes a la entrada del Reactor Aerobio.**

Fecha	20/02	21/02	22/02	23/02	24/02	25/02	26/02	27/02	28/02	01/03	02/03	03/03	04/03	05/03
Q (m <sup>3</sup> /h)	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	25,0	20,0	13,4	13,4
$\text{NH}_4^+$ (mg/L)	26,9	28,1	27,9	23,9	33,1	33,5	41,4	40,3	42,2	41,2	46,9	37,8	38,5	16,8

Se observa en ese período que se ha introducido una alimentación con una concentración elevada de  $\text{NH}_4^+$ , superior a 40 mg/l a la mitad del período (Tabla 3), haciendo que aparezcan las amebas testáceas (Ilustración 3 → día 07-03 se alcanza el máximo: 1075 ind/ml.), demostrando por tanto, una buena nitrificación. Al haber una buena nitrificación no se debería encontrar altos valores de  $\text{NH}_4^+$  a la salida del decantador. Lo que ocurre es que a las bacterias nitrificantes no les da tiempo a transformar todo este nuevo aporte de aguas amoniacaes en la alimentación (Tabla 3) y por eso se observan esas altas concentraciones a la salida del decantador (Ilustración 2).

Posteriormente se observa que se va reduciendo la concentración a la salida de  $\text{NH}_4^+$  hasta valores próximos a 2 mg/L (día: 24-03), y por tanto la abundancia de amebas va disminuyendo y desaparece totalmente después de ese día), ya que se consigue nitrificar ese aporte extra de  $\text{NH}_4^+$ .

**- Ciliados sésiles: (*vorticella sp*):** Estos microorganismos en función del tipo que sea (especie) estarán asociados a unas condiciones específicas, y dan una visión de las calidades del efluente y rendimiento de operación. Durante este periodo se ha identificado que aparecen sobre todo *vorticella convallaria* y *vorticella aquadulcis*.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 20</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

- *Vorticella convallaria*: cuando aparece de forma dominante está asociado a condiciones de buena aireación y funcionamiento estable del reactor. Si aparece con baja densidad poblacional se asocia a condiciones transitorias. Indicador de ausencia de nitrificación en el reactor biológico.

- *Vorticella aquadulcis*: indica condiciones medias de depuración.

Al principio del período, justo cuando se inicia el aporte de aguas amoniacales, se observa una gran abundancia de *vorticella sp* (microorganismo mayoritario con  $\approx 10000$  ind/ml). Esto indica que hay un buen rendimiento de depuración y ausencia de nitrificación. Según se avanza en el período vemos como se reduce rápidamente la cantidad de *vorticella sp* (día 07-03 hay 675 ind/ml, Ilustración 3) esto implica que se va nitrificando y hay condiciones poco estables ya que va desapareciendo este microorganismo. (75 ind/ml día: 15-03; Ilustración 3).

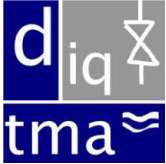
Al final cuando se ha nitrificado totalmente el aporte de  $\text{NH}_4^+$ , este microorganismo vuelve a aumentar indicando que hay un buen rendimiento y condiciones estables de depuración. Indicando la ausencia de nitrificación.

- **Bacterias filamentosas**: Son bacterias que se presentan unidas formando cadenas o filamentos en el fango. Estas bacterias pueden ser de diferentes tipos (en función de la especie a la que pertenezca). En función del tipo que aparezca indicará o dará información distinta del proceso de depuración. En el periodo considerado aparecen los siguientes morfotipos:

\* **Tipo 0041**: Asociado a altas edades de fango y bajas cargas másicas. Deficiencia de nutrientes (N y P) favorecen su crecimiento.

\* **Tipo 021N**: Indica bajas cargas másicas, acompañados de sustratos fácilmente degradables. Influentes deficientes en nutrientes (N). Aguas residuales que contienen azúcares o ácidos orgánicos fácilmente utilizables.

Por tanto la aparición de estos filamentos en general sobre todo indicara que están asociados a baja carga másica e influentes deficitarios en nutrientes (N, P).

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 21</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

En el período considerado empieza con un número moderado de bacterias filamentosas, 60 m/ml. Disminuyendo al final del período a 30 m/ml. Por lo que se considera que el reactor está bien en cuanto a cantidad de filamentos ya que no superan los 30 m/ml que es un valor aconsejable en la depuración biológica. La baja presencia de bacterias filamentosas al final del periodo, indica que se está operando con una buena carga másica.

En conclusión se tiene que este aporte de aguas amoniacales aumenta mucho la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en la alimentación. Este aporte hace que se reduzcan mucho el número de *vorticella sp* (indicadoras de buenos rendimientos de operación y ausencia de nitrificación), y que aparezcan las amebas testáceas (*arcella sp*) mostrando que se produce una buena nitrificación. Al final se recupera la abundancia de *vorticella sp* que indica que se ha eliminado esa elevada cantidad de  $\text{NH}_4^+$  introducida en el reactor como aguas amoniacales. Durante este periodo se funciona con una buena carga másica.

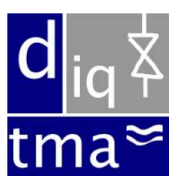
**Durante el segundo período (13-05 a 26-06)** se observa un fuerte disminución de ciliados sésiles (*vorticella sp*) y también se observa un intenso crecimiento en el número de bacterias filamentosas.

- **Ciliados sésiles: (*vorticella sp*):** Estos microorganismos en función del tipo que sea (especie) estarán asociados a unas condiciones específicas, y dan una visión de las calidades del efluente y rendimiento de operación. Durante este periodo se ha identificado que aparecen sobre todo *vorticella convallaria* y *vorticella aquadulcis*.

- *Vorticella convallaria*: cuando aparece de forma dominante está asociado a condiciones de buena aireación y funcionamiento estable del reactor. Si aparece con baja densidad poblacional se asocia a condiciones transitorias. Indicador de ausencia de nitrificación en el reactor biológico.

- *Vorticella aquadulcis*: indica condiciones medias de depuración.

Al principio del período, se observa una gran abundancia de *vorticella sp* (microorganismo mayoritario con  $\approx 4000$  ind/ml). Esto indica que hay un buen rendimiento de depuración y ausencia de nitrificación.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 22</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Según se avanza en el período se observa que se va reduciendo paulatinamente la cantidad de *vorticella sp* hasta el final del período (día 26-06 hay 525 ind/ml, Ilustración 3) esto implica que ya no hay ausencia de nitrificación al desaparecer muy lentamente este microorganismo y que hay condiciones poco estables de depuración.

Al final cuando desaparece el  $\text{NH}_4^+$  a la salida del decantador, este microorganismo vuelve a aumentar indicando que vuelve a darse un buen rendimiento y unas condiciones estables de depuración.

- **Bacterias filamentosas:** Son bacterias que se presentan unidas formando cadenas o filamentos en el fango. Estas bacterias pueden ser de diferentes tipos (en función de la especie a la que pertenezca). En función del tipo que aparezca indicará o dará información distinta del proceso de depuración. En el periodo considerado aparecen los siguientes morfotipos:

\* **Tipo 0041:** Asociado a altas edades de fango y bajas cargas másicas. Deficiencia de nutrientes (N y P) favorecen su crecimiento.

\* **Tipo 021N:** Indica bajas cargas másicas, acompañados de sustratos fácilmente degradables. Influentes deficientes en nutrientes (N). Aguas residuales que contienen azúcares o ácidos orgánicos fácilmente utilizables.

\* **Nostocoida limicola:** Asociado a baja carga másica. Niveles bajos de oxígeno Disuelto.

Por tanto la aparición de estos filamentos en general, sobre todo indicara que están asociados a baja carga másica e influentes deficitarios en nutrientes (N, P)

En el período considerado hay un gran crecimiento de bacterias filamentosas. Aumentan desde los 45m/ml a 120 m/ml. Por lo que se considera que las muestras tienen muchísimos filamentos ya que superan ampliamente los 30 m/ml que es un valor aconsejable en la depuración biológica. La presencia de bacterias filamentosas es muy importante ya que indica que se está operando con una carga másica muy baja, además se distingue claramente que aparece en grandes cantidades en este periodo.

En conclusión se tiene un problema de nitrificación, ya que se observa el aumento de  $\text{NH}_4^+$  a la salida del decantador. Esto se correlaciona con la reducción del número de *vorticella sp* (indicadoras de buenos rendimientos de operación y ausencia de nitrificación), mostrando que se está produciendo una escasa nitrificación.



	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 23</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Al final se recupera la abundancia de *vorticella sp* que indica que se ha eliminado esa elevada cantidad de  $\text{NH}_4^+$ . La aparición de filamentosas indica que durante este periodo se funciona con una baja carga másica.

## 2º) Problemas asociados a la ausencia de Desnitrificación

Estos problemas se presentan cuando la concentración del ion nitrato  $\text{NO}_3^-$  aumenta en la corriente de salida del decantador. Ya que la reacción de desnitrificación no tiene lugar en la zona anóxica puesto que los iones  $\text{NO}_3^-$  no desaparece en forma de  $\text{N}_2$ .



Se observa en la Ilustración 4 que tenemos un período bastante extenso donde varía la concentración de  $\text{NO}_3^-$  (puntos redondos rojos), lo que lleva a pensar que hay problemas con la desnitrificación.

En este período (del día 09-04 al 21-05) la concentración pasa de valores estables de 50 mg/l  $\text{NO}_3^-$  bajando hasta 7,6 mg/l  $\text{NO}_3^-$  (día 21-05). A partir de aquí disminuye a valores próximos a 0,1 mg/L de  $\text{NO}_3^-$ .

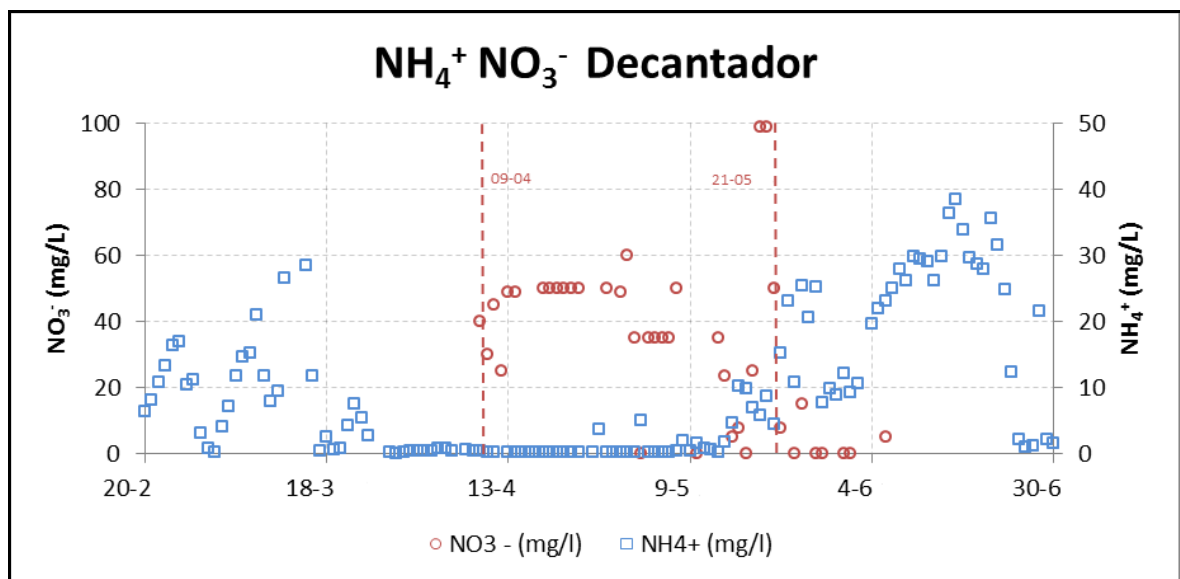
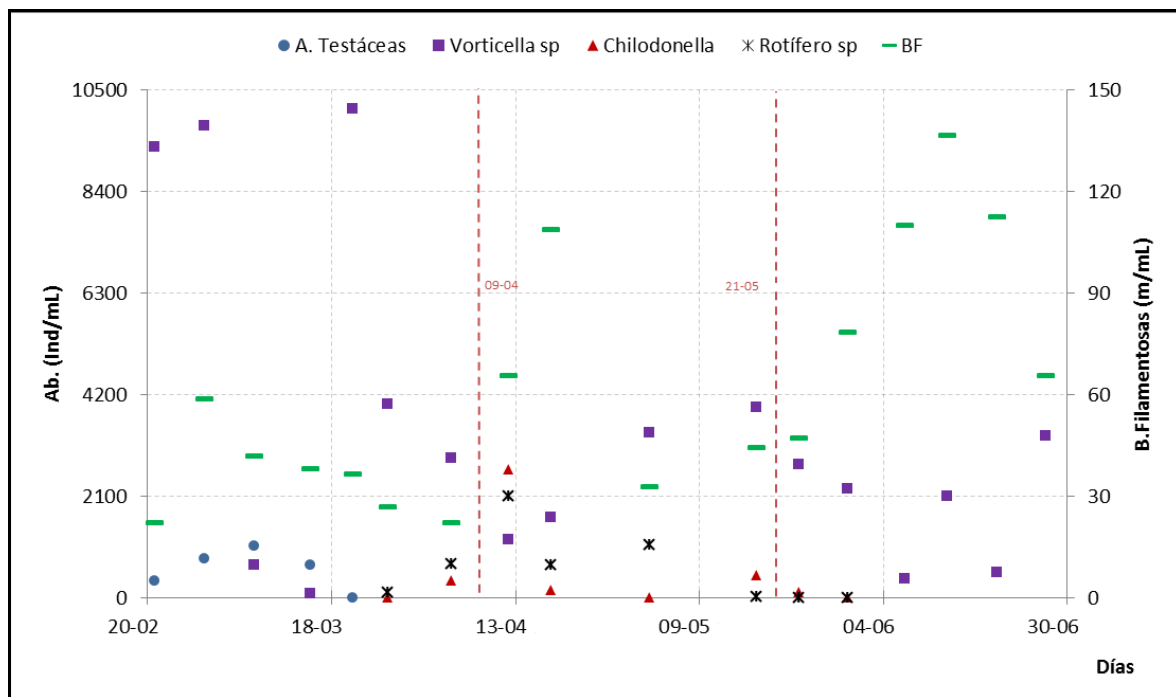


Ilustración 4. Concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  a la salida del decantador. Problemas de desnitrificación.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 24</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Para estudiar este fenómeno se atiende a la microfauna hallada en el reactor biológico, por tanto se puede observar lo que sucede en ese período de crecimiento. (Ilustración 5):



**Ilustración 5. Abundancia de la microfauna. Problemas de desnitrificación.**

- **Reptantes bacterívoros (*Chilodonella sp*):** Este microorganismo está asociado a la proliferación de bacterias filamentosas, al alimentarse de ellas. Presente en sistemas no nitrificantes.

Se observa la disminución de este microorganismo. Pasaron de 2650 ind/ml (Ilustración 5: triángulos rojos) a 100 ind/ml.

- **Metazoos (*Rotíferos sp*):** Suelen ser indicativos de edades del fango y tiempos de retención elevados, así como de cargas débiles. Fundamentalmente tienen que ver con la edad del fango. Elevadas abundancias indican edades de fango superiores a 5 días.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 25</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Se observa la disminución de este microorganismo. Pasaron de unos 2100 ind/ml (Ilustración 5: cruces negras) a tan solo 25 ind/ml.

- **Ciliados sésiles: (*vorticella sp*):** Estos microorganismos en función del tipo que sea (especie) estarán asociados a unas condiciones específicas, y dan una visión de las calidades del efluente y rendimiento de operación. Durante este periodo se ha identificado que aparecen sobre todo *vorticella convallaria* y *vorticella aquadulcis*.

- *Vorticella convallaria*: cuando aparece de forma dominante está asociado a condiciones de buena aireación y funcionamiento estable del reactor. Si aparece con baja densidad poblacional se asocia a condiciones transitorias. Indicador de ausencia de nitrificación en el reactor biológico.

- *Vorticella aquadulcis*: indica condiciones medias de depuración.

*Vorticella sp* aumenta en este periodo. Pasan de 1200 ind/ml a 3925 ind/ml. Esto indica que hay un buen rendimiento de depuración y ausencia de nitrificación.

- **Bacterias filamentosas:** Son bacterias que se presentan unidas formando cadenas o filamentos en el fango. Estas bacterias pueden ser de diferentes tipos (en función de la especie a la que pertenezca). En función del tipo que aparezca indicará o dará información distinta del proceso de depuración. En el periodo considerado aparecen los siguientes morfotipos:

\* **Tipo 0041:** Asociado a altas edades de fango y bajas cargas másicas. Deficiencia de nutrientes (N y P) favorecen su crecimiento.

\* **Tipo 021N:** Indica bajas cargas másicas, acompañados de sustratos fácilmente degradables. Influentes deficientes en nutrientes (N). Aguas residuales que contienen azúcares o ácidos orgánicos fácilmente utilizables.

\* ***Nostocoida limicola*:** Asociado a baja carga másica. Niveles bajos de oxígeno Disuelto.

Por tanto la aparición de estos filamentos en general sobre todo indicara que están asociados a baja carga másica e influentes deficitarios en nutrientes (N, P)

En el período considerado hay un gran número de bacterias filamentosas. Se detectan variaciones entre los 110 - 40 m/ml. Por lo que se considera que las muestras tienen muchos filamentos ya que superan los 30 m/ml que es un valor aconsejable en la depuración biológica.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 26</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	Vidal Gómez Rojo

La presencia de bacterias filamentosas es muy importante ya que indica que se está operando con una carga másica baja, además se distingue claramente que aparece en grandes cantidades en este periodo.

En este periodo, al inicio se observa un fango envejecido (*rotíferos sp*), además tenemos un sistema no nitrificante (*chilodonella sp* y *vorticella sp*). Esto evoluciona, desapareciendo *rotífero sp* y *chilodonella sp* y aumentando *vorticella sp*, lo que significa que se tiene un buen rendimiento de depuración y nitrificación. Además la gran cantidad de filamentos indica que se está operando con una carga másica baja. Por tanto desaparece por completo el  $\text{NO}_3^-$ , eliminándose el problema de desnitrificación.

Asimismo estos resultados los podemos fundamentar también en la evolución que presenta la eliminación de materia orgánica (DQO) y de nitrógeno total (no se tienen datos de  $\text{N}_i$ ) en el sistema de nitrificación-desnitrificación.

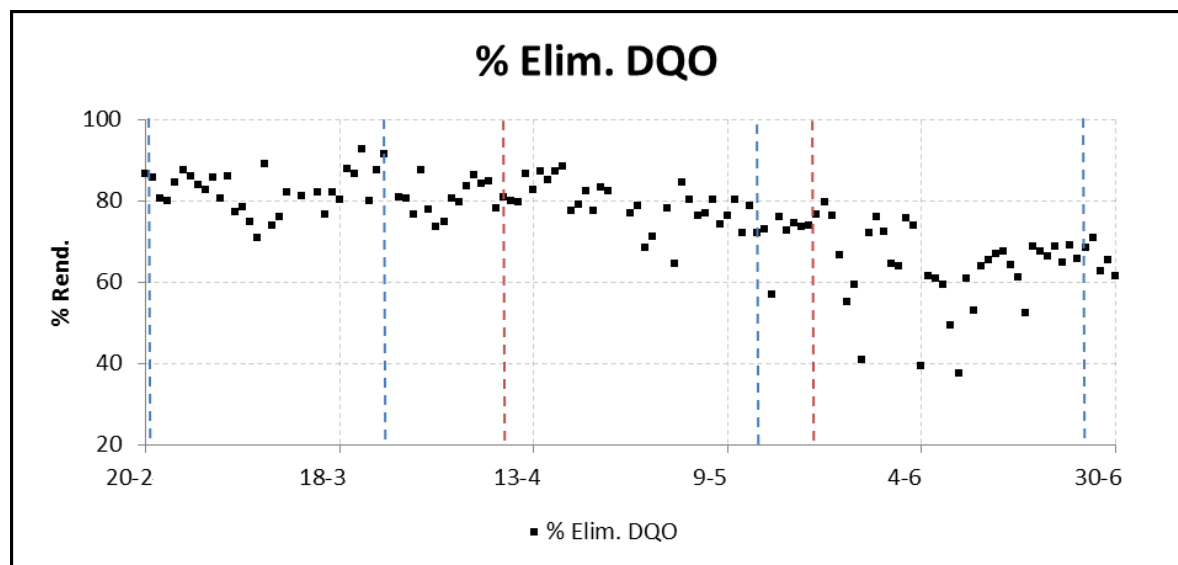


Ilustración 6. Porcentaje eliminación de DQO y  $\text{N}_{\text{tot}}$  en sistema N/DN

Se observa en la Ilustración. 6 que los porcentajes de eliminación de DQO disminuye por debajo del 60% en la segunda zona de ausencia de nitrificación (zona azul), solapada con la zona de ausencia de desnitrificación (zona roja), esto ocurre al haber poca materia orgánica (mostrado por el gran aumento de bacterias filamentosas) haciendo que se elimine menos DQO, obteniendo rendimientos muy bajos.

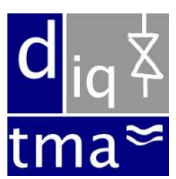
	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 27</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

## 5. Conclusiones

En este trabajo se ha realizado un seguimiento y control del tratamiento de aguas residuales procedentes de una industria azucarera. Se ha evaluado, identificado y cuantificado la microfauna existente en diferentes muestras pertenecientes a distintos periodos y se estableció una relación entre los microorganismos hallados y su abundancia, y los problemas de operación en la eliminación de nutrientes en la planta.

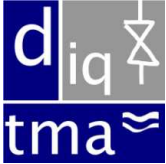
Las principales conclusiones obtenidas, para cada una de las etapas son:

1. Fue posible identificar y cuantificar la Microfauna existente en todas las muestras analizadas. Los principales grupos hallados fueron:
  - a. Amebas: Con testa como por ej. *Arcella sp.* Sin testa como por ej Amebas desnudas.
  - b. Ciliados Nadadores, por ej.: *Uronema sp*, *Paramecio sp* y *Acineria sp.*
  - c. Ciliados Reptantes, por ej.: *Euplotes sp*, *Chilodonella sp*, y *Aspidisca sp.*
  - d. Ciliados sésiles, por ej.: *Vorticella sp*, *Opercularia sp*, *Vaginicola sp.*
  - e. Ciliados suctores, por ej: *Tokophrya sp*
  - f. Metazoos, por ej: Rotíferos y Gastrótricos.
  
2. También fue posible identificar y cuantificar las bacterias filamentosas. Las principales especies halladas fueron: *Tipo 021N*, *tipo 0041*, *Haliscomenobacter Hydrossis* y *Nostocoida Limicola*.
  
3. Fue posible observar la evolución de la estructura y tamaño flóculo desde una estructura flocular agregada y estructurada de gran tamaño y compacta al inicio de la campaña a una estructura flocular disgregada y abierta con flóculos débiles y de pequeño tamaño durante gran parte de la campaña.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 28</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

4. Fue posible contrastar la evolución de la microfauna con el histórico de los datos de operación obteniendo relaciones entre ambos. Finalmente se consiguió trazar dos asociaciones entre la biodiversidad y los rendimientos operacionales:
  - a. Se puede asociar una fuerte disminución de ciliados sésiles (*vorticella sp*) y un pronunciado crecimiento en el número de bacterias filamentosas cuando operacionalmente se observa el aumento de  $\text{NH}_4^+$  a la salida del decantador, es decir, cuando hay una ausencia total o parcial del proceso de nitrificación. Esto se correlaciona con la reducción del número de *vorticella sp* ya que con bajas abundancias indican condiciones transitorias y ausencia de nitrificación. También se demuestra con el gran aumento de bacterias filamentosas que con altas cantidades indican baja orgánica y por tanto una escasa nitrificación. Al final se recupera la abundancia de *vorticella sp* y disminuyen los filamentos observándose que la concentración de  $\text{NH}_4^+$  disminuye indicando que la nitrificación vuelve a tener lugar.
  - b. Se puede asociar la aparición de *rotífero sp* y *chilodonella sp* cuando operacionalmente se observa el aumento de  $\text{NO}_3^-$  a la salida del decantador, es decir, cuando hay ausencia parcial o total del proceso de desnitrificación. También se correlaciona con la gran presencia de bacterias filamentosas que indican baja carga orgánica y por tanto esto ocasiona una mala desnitrificación. Al ir evolucionando, desaparece *chilodonella sp* y *rotífero sp* y disminuyen los filamentos observándose que la concentración de  $\text{NO}_3^-$  desaparece, produciéndose una buena desnitrificación.

El uso generalizado de este tipo de análisis en las estaciones depuradoras con tratamiento biológico, permitirá una optimización de los procesos, así como un mejor control del vertido, lo cual repercutirá en la mejora del medio ambiente, tanto a nivel de ahorro energético, como de mejora sustancial de la calidad del agua tratada en las estaciones de tratamiento de aguas residuales.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 29</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

## 6. Referencias

Al-Shahwani, S.M., Horan, N.J., 1991. The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. *Water Research* 25, 633-638.

Arévalo, J., Moreno, B., Pérez, J., Gómez, M.A., 2009. Applicability of the sludge biotic index (SBI) for MBR activated sludge control. *Journal of Hazardous Materials* 167, 784-789.

Arregui, L., Serrano, S., Linares, M., Pérez-Uz, B., Guinea, A., 2007. Ciliate contributions to bioaggregation: laboratory assays with axenic cultures of *Tetrahymena thermophila*. *International Microbiology* 10, 91-96.

Arregui, L., Linares, M., Pérez-Uz, B., Guinea, A., Serrano, S., 2008. Involvement of crawling and attached ciliates in the aggregation of particles in wastewater treatment plants. *Air, Soil and Water Research* 1, 13-19.

Esteban, G., Téllez, C., Bautista, L.M., 1990. Effects of hábitat quality on ciliated protozoa communities in sewage treatment plants. *Environmental Technology* 12, 381-386.

Gifford, D. J., 1991. The protozoan-metazoan trophic link in pelagic ecosystems. *J. Protozool.* 38: 81-86.

Hahn, M.W., Höfle, M.G., 2001. Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 35, 113-121.

Jenkins, D., Richard, M.G., Daigger, G.T., 2004. *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming*. 3th Ed.. Lewis publishers. New York.

Jürgens, K., Pernthaler, J., Schalla, S., Amann, R., 1999. Morphological and compositional changes in planktonic bacterial community in response to enhanced protozoan grazing. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 1241-1250.

Lee, S., Basu, S., Tyler, C.W., Wei, I.W., 2004. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Island treatment plant. *Advances in Environmental Research* 8, 371-378.

Liu, J., Yang, M., Qi, R., An, W., Zhou, J., 2008. Comparative study of protozoan communities in full-scale MWTPs in Beijing related to treatment processes. *Water Research* 42, 1907-1918.

Luna-Pabello, V.M., Mayén, R., Olivera-Viascan, V., Saavedra, J., Durán de Bazúa, C., 1990. Ciliated protozoa as indicators of a wastewater treatment system performance. *Biological Wastes* 32, 81-90.

Madoni, P. 1989: Community structure of microzoobenthos in Lake Suviana (Tusco-Emilian Apennines). *Boll. Zoo.*, 56:159-165.

	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 30</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Madoni, P., 1991. Role of protozoans and their indicator value in the activated sludge process. *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives*, 21-27 (Perugia).

Madoni, P., Davoli, D., Chierici, E., 1993. Comparative analysis of the activated sludge microfauna in several sewage treatment works. *Water Research* 27 (9), 1485-1491.

Martín-Cereceda, M., Serrano, S., Guinea, A., 1996. A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *FEMS Microbiology Ecology* 21, 267-276.

Pérez-Uz, B., Arregui, L., Salvadó, H., Zornoza, A., Rodríguez, E., Fernández, N., Calvo, P., Serrano, S., 2007. Estructura de las comunidades de ciliados en la zona de nitrificación en depuradoras con sistemas avanzados de eliminación de nitrógeno. In: XXI Congreso Nacional de Microbiología. Sevilla, 17-20 Septiembre 2007.

Pérez-Uz, B., Arregui, L., Calvo, P., Salvadó, H., Fernández, N., Rodríguez, E., Zornoza, A., Serrano, S., 2009. Efficiency of nitrogen removal and protist communities: the potential for introduction of novel biological index. *Proceedings of the International Workshop on Integrated Vision of Urban and Agro-industrial Wastewater Treatment, Monitoring and Reclamation: Key Role Played by the Waste Water Treatment Plant*. ISIRIM/LIFE, 1-9.

Rodríguez, E., Isac, L., Álvarez, M., Zornoza, A., Fernández, N., 2005. Tratamiento y conservación de muestras para análisis microbiológicos de fangos activos. *Tecnología del Agua* 265, 60-70.

Salvadó, H., 1990. Método rápido para el control del bulking, técnica simple y rápida de conteo de microorganismos filamentosos. *Tecn. Agua* 67 (1990), pp. 60-63.

Salvadó, H., 1994. Effect of mean cellular retention time on ciliated protozoan populations in urban wastewater plants based on a proposed model. *Water Research* 28, 1315-1321.

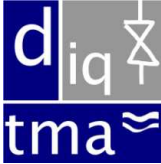
Salvadó, H., Gracia, M.P., Amigó, J.M., 1995. Capability of ciliated Protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. *Water Research* 29, 1041-1050.

Serrano S., Arregui, L., Calvo, P., Salvadó, H., Zornoza, A., Fernández, N., Rodríguez, E., Pérez-Uz, B., 2008b. Comunidades de protistas asociados a plantas con eliminación de nitrógeno. V Jornadas Técnicas de Transferencia de Tecnología sobre Microbiología del Fango Activo. Sevilla (España). 30-31 Octubre, 2008.

Sherr, B.F. and Sherr, E.B., 1984. Role of heterotrophic protozoa in carbon and energy flow in aquatic ecosystems. In: *Current perspectives in microbial ecology* (Klyg, M.J. & Reddy, C.A.1>. American Society of Microbiology. Washington, 412-423.

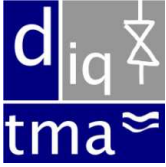
Simek, K., Vrba, J., Pernthaler, J., Posch, T., Hartman, P., Nedoma, J., Psenner, R., 1997. Morphological and compositional shifts in an experimental bacterial community influenced by protists with contrasting feeding modes. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 587-595.



	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 31</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

Wilén, B.-M., Lumley, D., Mattsson, A., Mino, T., 2008. Relationship between floc composition and flocculation and settling properties studied at a full scale activated sludge plant. Water Research 42, 4404-4418.



	TRABAJO FIN DE MASTER	Pág. 33
	Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.	Vidal Gómez Rojo

## ANEXO A

Imágenes de los microorganismos presentes en las muestras.

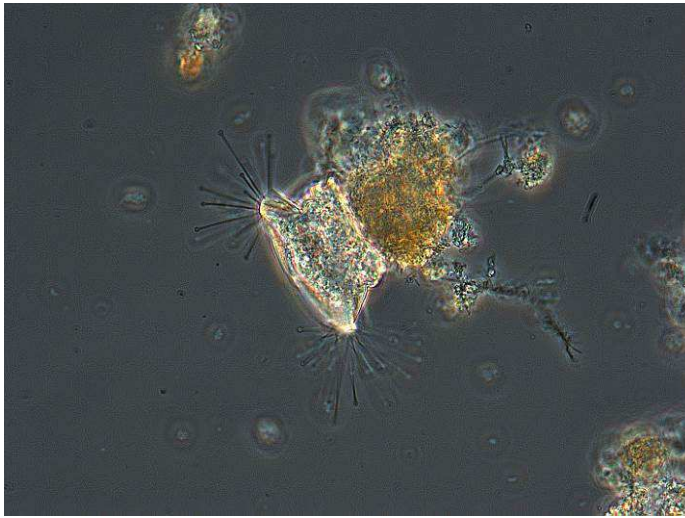


Figura 1. *Suctor sp.* 40x



Figura 2. *Vorticella sp.* 40x



Figura 3. *Chilodonella* sp. 40x

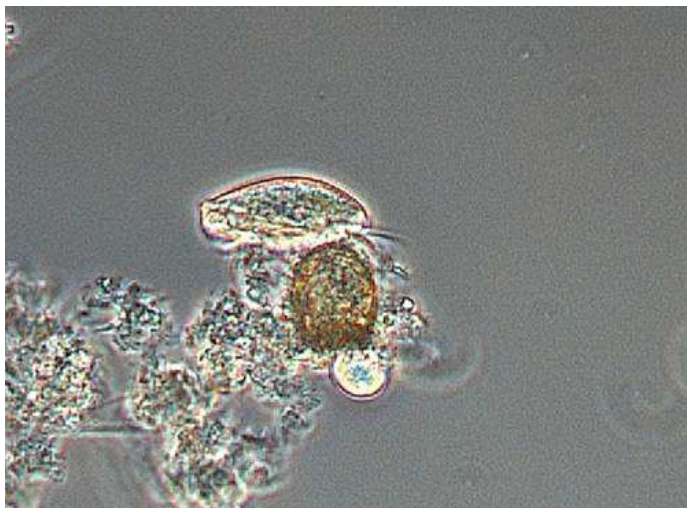


Figura 4. *Euplotes* sp. 40x



Figura 5. *Uronema* sp. 40x

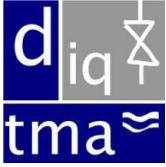
	TRABAJO FIN DE MASTER	Pág. 35
	Biindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.	Vidal Gómez Rojo



Figura 6: *Acineria* sp. 40x

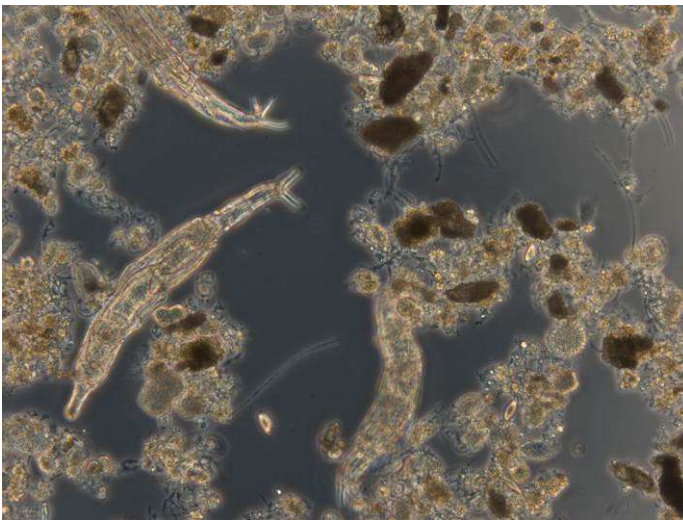


Figura 7. *Rotífero* sp. 10x

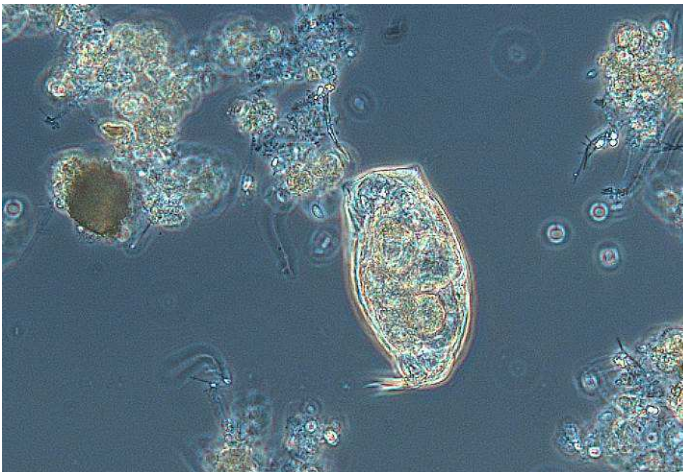


Figura 8: *Rotífero* sp. 20x

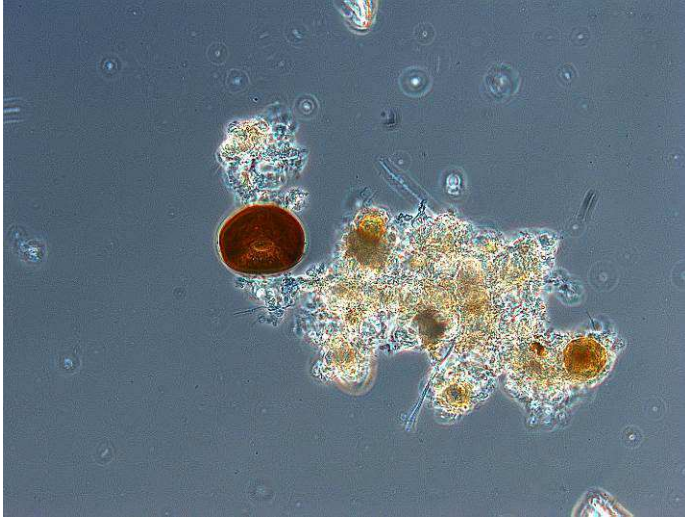


Figura 9: *Arcella* sp. 20x

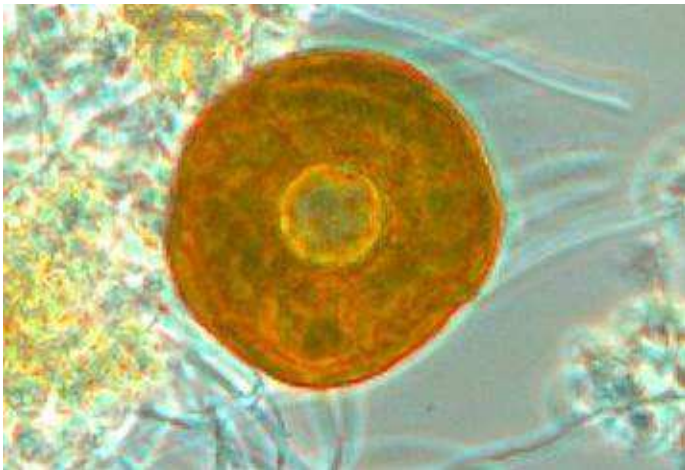
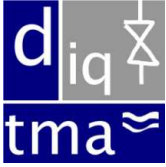


Figura 10: *Arcella* sp. 40x



Figura 11. *Vaginicola* sp 10x

	TRABAJO FIN DE MASTER	Pág. 37
	Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.	Vidal Gómez Rojo

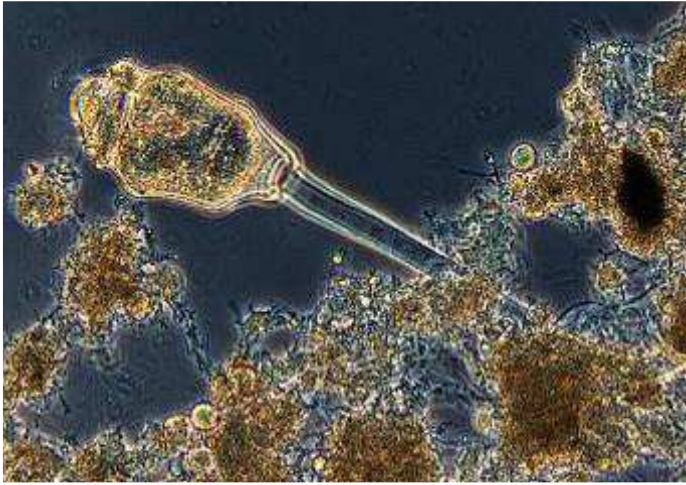


Figura 12: *Opercularia* sp. 40x



Figura 13: *Opercularia* sp. 20x

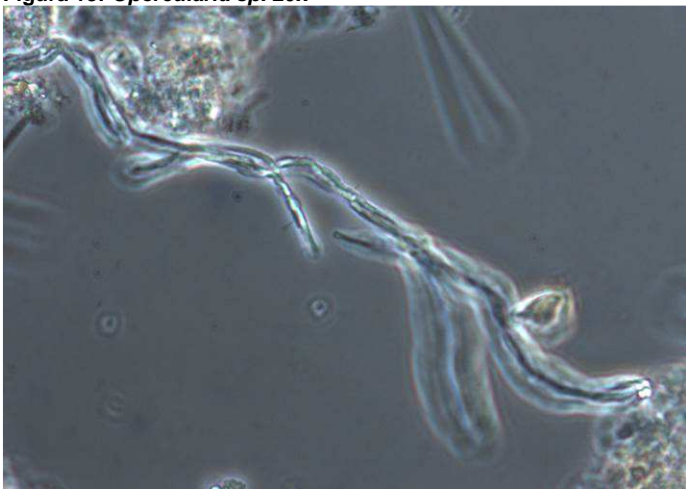


Figura 14. *Nostocoida limicola*. 40x

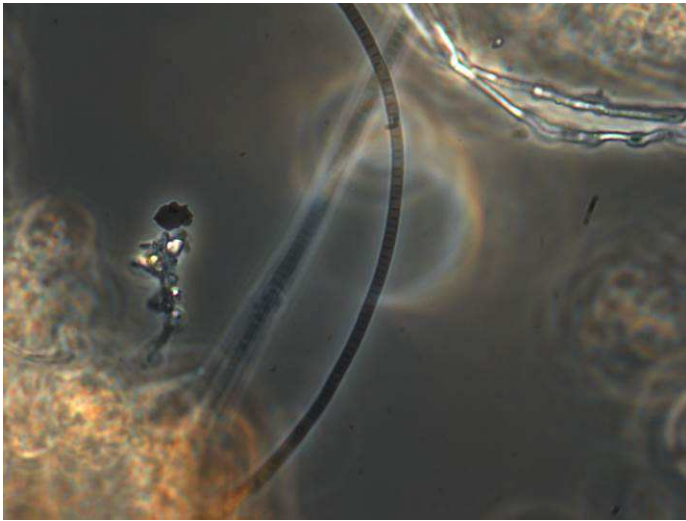


Figura 15. Bacteria filamentosa *tipo 021N*. 40x

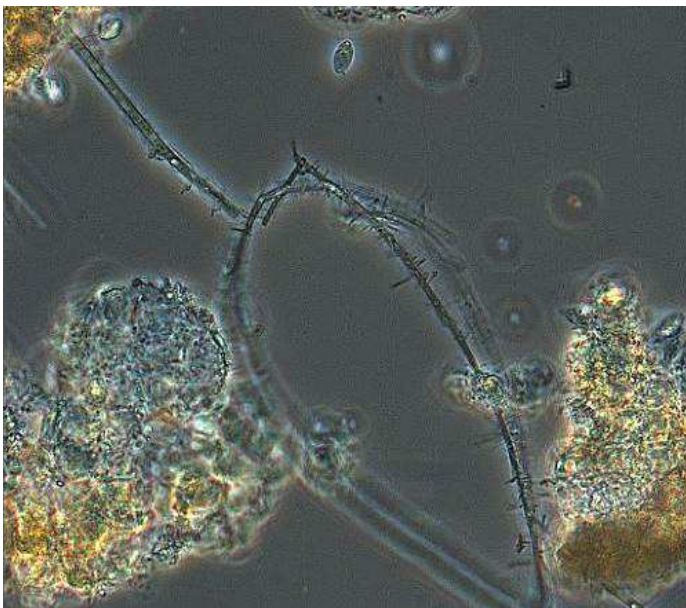
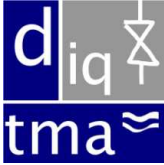


Figura 16. Bacteria filamentosa *tipo 0041*. 40x



	<b>TRABAJO FIN DE MASTER</b>	<b>Pág. 39</b>
	<b>Bioindicación microscópica como herramienta para el tratamiento de aguas residuales de la industria azucarera.</b>	<b>Vidal Gómez Rojo</b>

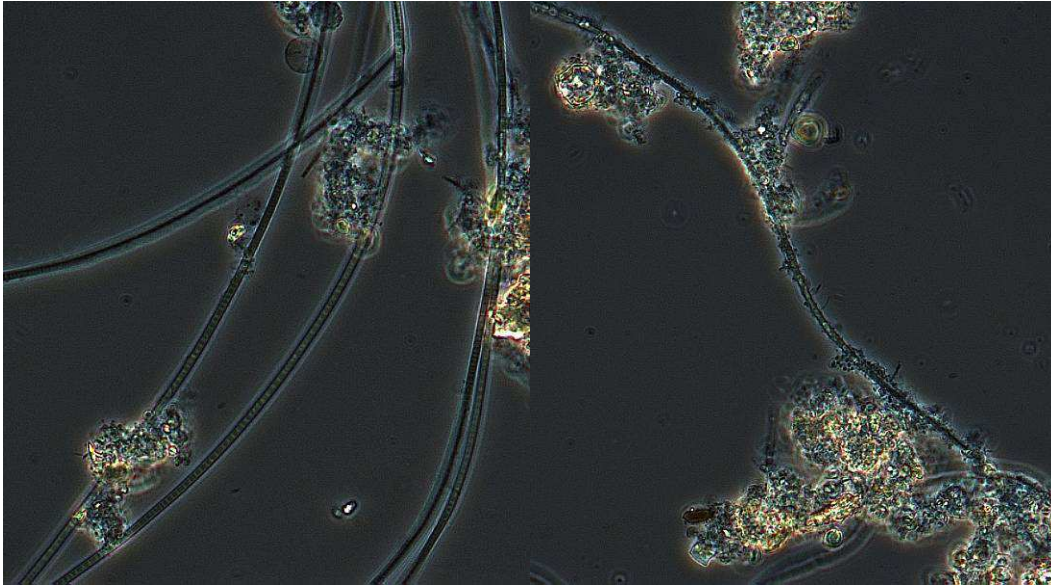


Figura 17. BF tipo 021N 40x

Figura 18. BF tipo 004140x



Figura 19. A. Tipo 021N. B. Tipo 0041. C. *Haliscomenobacter hydrossis*. (40x)