

**Resumen**

La composición y estructura de la microbiota que forma parte del fango activo, su evolución temporal, así como el análisis de las características macroscópicas y microscópicas del mismo, son una fuente de información de gran ayuda en la toma de decisiones para el operador de planta. La falta de formación y acceso a información específica, unido a la inexistente estandarización de los procesos de análisis, dificultan la realización e interpretación de los mismos. Mediante una herramienta multimedia en soporte DVD, Facsa ha desarrollado Biofac, una aplicación en la que se documentan e ilustran los aspectos más relevantes que permitirán al usuario llevar a cabo el análisis del fango activo.

**Palabras clave:**

Bioindicador, microbiota, microfauna, fango activo, microorganismos filamentosos.

**Abstract**

*Biofac, a microbiological multimedia tool to perform the analysis of activated sludge*

The composition and structure of the microbiota that is part of the active sludge, its temporal evolution, and the analysis of the macroscopic and microscopic characteristics of it are a source of information of great help in making decisions for plant operators. Lack of training and access to specific information linked to the missing standardization of analysis processes hinder the implementation and interpretation of them. Using a multimedia tool in DVD, Facsa has developed the Biofac, an application in which it is documented and illustrated the most relevant aspects that allow the user to perform the analysis of activated sludge.

**Keywords:**

Bioindicator, microbiota, microbial population, activated sludge, filamentous microorganism.

# Biofac, una herramienta de autoformación microbiológica para el análisis del fango activo

Por: **Carlos Ferrer Torregrosa**, responsable del Departamento de I+D+i; **Juan Antonio Llopis Nicolau**, director del Área de Saneamiento y Depuración; **José Claramonte Santarrufina**, subdirector del Área de Saneamiento y Depuración; **Sergio Alonso Hernández**, jefe del Departamento de Explotaciones

**Facsa**

C/ Mayor, 82-84 (Complejo San Agustín)  
12001 Castellón  
Tel.: 964 221 008  
Fax: 964 727 150  
E-mail: cferrer@facsa.com  
www.facsa.com

**1. Introducción**

Es posible considerar las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) con tratamiento biológico como un modelo experimental útil de un ecosistema artificial en condiciones extremas (Madoni y Ghetti, 1981). En el ecosistema artificial creado en el reactor biológico se puede distinguir un biotopo o conjunto de características ambientales propias de la instalación (oxígeno disuelto, grado de homogeneización, características del agua residual bruta...) y una biocenosis o comunidad de seres vivos. Dentro de la biocenosis cabe diferenciar entre organismos descomponedores, entre los que se encuentran las bacterias, los hongos y los flagelados, y organismos consumidores, entre los que se encuentran ciliados, flagelados, micrometazoos y rizópodos (los protozoos son el 5% del peso seco del licor mezcla según Curds 1973) y entre los que se establecen relaciones de competencia por el alimento y depredación.

Las EDAR enmarcadas dentro del campo de la biotecnología medioambiental conllevan una complejidad intrínseca al proceso biológico en el que se basan. Los notables avances que el campo de la ingeniería ha experimentado dentro de la depuración de aguas residuales no se han visto acompañados por un desarrollo equivalente del conocimiento de la faceta biológica del proceso. Muy lentamente se va dando luz a la 'caja negra' que el proceso biológico suponía en el sistema de depuración, pero queda mucho por desvelar al respecto y muchas las ramas de la biología implicadas (ecología, microbiología, biología molecular, etc.).

La microfauna sintetiza todos los aspectos ambientales y de operación que influyen en el tratamiento de las aguas residuales por los procesos de fangos activados. Las características y composición del agua tienen un efecto sobre la cantidad y composición de las comunidades microbianas y éstas, a su vez, influyen sobre la composición y abundancia

de las comunidades que de ellas se alimentan.

El análisis microbiológico aporta una gran información al controlador de proceso de una EDAR. La información obtenida en el análisis microscópico del fango activo no puede reemplazar a la obtenida de los análisis fisicoquímicos o cálculo de parámetros operacionales, sino que complementa la aportada por éstos. Sin embargo, la información obtenida de las observaciones microscópicas es difícil de interpretar y, en muchas ocasiones, no se dispone de la metodología y de la formación que permita extraerla. En contraposición, con la necesidad e inquietud del personal técnico por formarse en este campo, encontramos que esta actividad exige un importante esfuerzo autodidacta y que la información disponible es escasa, muy específica, y en general, tiene un nivel científico excesivamente alto para los neófitos.

Los medios materiales en las EDAR, especialmente en microscopía, en la mayoría de casos son sólo básicos y no se dispone de la tecnología existente en los centros tecnológicos y universidades. El material gráfico que documenta la mayoría de trabajos en este campo se aleja de la realidad de la observación microscópica a pie de planta, incrementando con ello la confusión y el desaliento del observador novel.

La optimización del proceso depurador no puede prescindir de esta información, que a diferencia del resto de parámetros operacionales analizados permite, con ciertas garantías, prever la tendencia del sistema y, por tanto, adelantarnos a posibles problemas. Hechos puntuales que pueden pasar inadvertidos inicialmente en la calidad del efluente son reflejados por cambios en la estructura poblacional de la microfauna. Vertidos tóxicos nocturnos, daños en la red de saneamiento (infiltración de aguas blancas), avería de ciertos equipos, etc., producen alteraciones en las condiciones ambientales del proceso que pueden

ser imperceptibles para el operador de planta, pero que sí son reflejadas en las modificaciones que sufre la estructura poblacional del sistema (abundancias y biodiversidad), dando la alarma y permitiendo tomar las medidas para minimizar el deterioro de la calidad del efluente.

El análisis microscópico del fango activo precisa de personal altamente cualificado, capaz de obtener toda la información que la observación aporta y que, al mismo tiempo, sepa integrar ésta con el resto de información (fisicoquímica, parámetros de proceso, etc.) e interpretar su conjunto, dando lugar así a una correcta toma de decisiones.

*El análisis  
microscópico  
del fango activo  
precisa de personal  
muy cualificado  
para una correcta  
toma de decisiones*

Cada instalación tiene una dinámica poblacional propia, fruto de la conjunción de factores bióticos y abióticos del sistema. En ninguna instalación se conjugan los mismos factores, dando lugar por tanto a ecosistemas distintos. Por ello, comparar las poblaciones entre EDAR distintas debe interpretarse con cierto escepticismo. El análisis microscópico de una instalación y el estudio de la evolución de la población y característica macro y microscópicas del fango activo revelan un gran volumen de información de relevante significatividad. Existen pautas generales o interpretaciones de la evolución de la población microfaunística aplicables a todas la instalaciones, pero en el seno de cada sistema esta generalización tendrá un mayor o menor valor específico. El análisis microscópico

continuado de una instalación es el que ponderará el peso específico de estas generalizaciones recogidas en la bibliografía.

Debe tenerse presente que el máximo partido de la información obtenida del análisis microbiológico se obtiene cuando éste no es un hecho aislado, sino un proceso rutinario. La integración del análisis microbiológico en una dinámica de trabajo habitual de control en la explotación de la instalación y el manejo de la información aportada en la toma de decisiones permite maximizar las ventajas de este análisis.

## 2. Objetivos

Al efectuar el análisis microscópico del fango activo, el personal técnico se enfrenta a dificultades tales como la falta de formación específica (en ocasiones básica en materia de biología), a la inaccesibilidad del material científico específico, a material gráfico poco representativo (para los medios disponibles en las EDAR), a que casi todo el material hallado estaba dirigido a personal científico o investigador y, por último, a que existía un gran desconocimiento de las metodologías de análisis e interpretación de los resultados.

El objeto de este trabajo es definir una herramienta que facilite el acceso a la información y formación específica en materia de análisis y control microbiológico de los sistemas de fangos activos, dirigida a todo el personal técnico cuya actividad profesional esté relacionada con el mundo de la depuración, para que entonces pueda acometer con mayor efectividad y seguridad el reto de optimizar el funcionamiento de la EDAR, tanto en el rendimiento de la depuración como el ahorro energético.

El primer fruto del estudio en materia de bioindicación efectuado por Facsa se materializa en el desarrollo de una herramienta de autoformación, presentada en un DVD interactivo capaz de afrontar y dar solución a los problemas más habi-



Figura 1. Pantalla con vídeo ilustrativo.

tuales y que pone las bases para la ejecución de un análisis estandarizado.

### 3. Materiales y métodos

El DVD interactivo se ha elaborado a partir de las filmaciones microscópicas de más de 500 muestras en 53 EDAR distintas.

De entre más de 8.000 vídeos y 12.000 fotografías obtenidas de estas observaciones, el DVD interactivo recoge las más representativas y de mayor calidad. Las observaciones se han efectuado con microscopios de gama media, empleando técnicas de campo claro y contraste de fases. El objetivo de emplear este equipamiento fue que la calidad del mismo fuese similar al material que pueden obtener la mayor parte de los usuarios del DVD con los medios habitualmente disponibles en las EDAR.

La toma, transporte y conservación de muestras se realizó siguiendo un metódico protocolo establecido con el fin de garantizar tanto la representatividad de las mismas como la idónea conservación de estas hasta su procesado.

La identificación de especies de protozoos se realizó basándose en las siguientes obras de referencia general: Foissner *et al.* (1991, 1992, 1994), Curds (1969), Curds (1986), Corliss (1979). La identificación de rotíferos se realizó empleando las obras de Donner (1965) y Koste (1978). La identificación de microorganismos filamentosos se ha efectuado de acuerdo al manual de Eikelboom revisado y actualizado

posteriormente por Jenkins, Richard y Daiger.

### 4. Contenidos

Las áreas en las que está dividido el DVD son cuatro: análisis del fango activo, atlas interactivo de microbiota, atlas interactivo de microorganismos filamentosos y una guía interactiva para el cálculo de índices bióticos y formularios de identificación de microorganismos filamentosos.

El DVD interactivo contiene más de 1.000 fotografías y cerca de 900 vídeos editados digitalmente que muestran de forma clara orgánulos celulares y características diferenciales de cada uno de los microorganismos descritos. Mediante un menú sencillo se accede a diferentes áreas de conocimiento relacionadas con el control y análisis de los procesos de fangos activos y la microbiota en ellos presente.

#### 4.1. Análisis del fango activo

En este apartado se desarrolla y explica pormenorizadamente el procedimiento a seguir para la toma y conservación de muestras, así como la metodología para caracterizar tanto macroscópica como microscópicamente el fango activo. Los análisis macroscópico y microscópico del fango activo aportan información de gran valor para un adecuado control y optimización del proceso de depuración (Figura 1).

La suma de la información obtenida mediante técnicas microscópicas y la obtenida de la observación *de visu* de la muestra tienen un efecto sinérgico, siendo fundamental abordar ambos aspectos para evitar sesgos de información y efectuar un correcto diagnóstico. Consideraremos variables macroscópicas a todas aquellas características del proceso que podemos describir sin emplear un microscopio. En este apartado también se abordan y documentan alteraciones en el reactor biológico y decantador secundario que de una manera u otra afectan

a la calidad de la explotación (generación de olores, proliferación de insectos), e incluso a la calidad del agua depurada. Estas 'patologías' (bulking, foaming, pin point floc, etc.) pueden tener su origen en múltiples causas. Aquí se describen las principales alteraciones que pueden observarse, cómo identificarlas correctamente, cuáles son las principales causas que las originan y algunas medidas correctoras.

La información obtenida de la observación macroscópica del fango activo debe completarse con la obtenida de la información microscópica del mismo. Son muchas las variables microscópicas a analizar (Eikelboom *et al.*, 1981; GBS, 2005), por lo que en este apartado se desglosan pormenorizadamente los detalles a observar y valorar a fin de obtener un análisis del fango activo completo. Las características cualitativas y cuantitativas que definen el análisis microscópico del fango activo se dividen en tres grandes grupos: caracterización estructural del flóculo, análisis cualitativo/cuantitativo de la microfauna y análisis cualitativo/cuantitativo de microorganismos filamentosos. En este apartado se describen e ilustran pormenorizadamente las técnicas habitualmente empleadas. Por último, también se documentan e ilustran las partes y el funcionamiento de un microscopio óptico con contraste de fases.

#### 4.2. Atlas de microfauna

En este apartado se documenta gráficamente la microfauna que habitualmente se encuentra en los sistemas de fangos activos. El material gráfico se ha obtenido con medios existentes habitualmente en una EDAR, huyendo de sistemas de microscopía limitados a centros de investigación y de técnicas en las que la inversión en tiempo no se ve compensada con el valor de la información obtenida para un análisis rutinario del fango activo. La interactividad de este apartado facilitará al usuario el reconocimiento de



**Figura 2.** Algunas pantallas de la sección de microfauna: textos emergentes con comentarios en cada ficha de protozoos acerca de la ecología y taxonomía de los mismos (izquierda) y galería de fotografías comentadas (derecha).

estructuras características de cada individuo y, por tanto, la correcta identificación de éstos (Figura 2).

En este apartado, mediante abundante material gráfico, también se definen e ilustran los principales orgánulos y estructuras, tanto de protozoos como de micrometazoos, que ayudarán al observador en la identificación de la microbiota. En ocasiones, el contraste que el material biológico ofrece es insuficiente para apreciar ciertos detalles de los microorganismos, por lo que se han desarrollado técnicas que permiten teñir de forma diferencial determinadas estructuras de éstos.

Así, se pueden distinguir entre tinciones vitales y tinciones sobre muestra fijadas. Las tinciones vitales permiten teñir ciertas estructuras del microorganismo *in vivo* (se observa al microorganismo vivo). Las tinciones sobre muestras fijadas destacan estructuras del organismo muerto. Mediante vídeos se ilustra el protocolo de ejecución las principales técnicas. La capacidad bioindicadora de algunas de las especies presentes en el licor mezcla hacen necesario identificarlos correctamente para obtener un diagnóstico fiable y representativo del estado y de la tendencia del proceso. La identificación de la microfauna es una de las tareas más complicadas en el proceso de análisis del fango activo. Exige del observador un elevado grado de formación y experiencia.

### 4.3. Atlas de microorganismos filamentosos

Los microorganismos filamentosos juegan un papel fundamental en el complejo ecosistema existente en el reactor biológico. El flóculo, unidad estructural y funcional del fango activo, precisa de la concentración adecuada de microorganismos filamentosos para incrementar su tamaño y adquirir la correcta resistencia a los esfuerzos mecánicos inherentes a la agitación y oxigenación del reactor.

*El atlas de esta herramienta detalla las características morfológicas y la reacción a tinciones diferenciales que definen cada microorganismo*

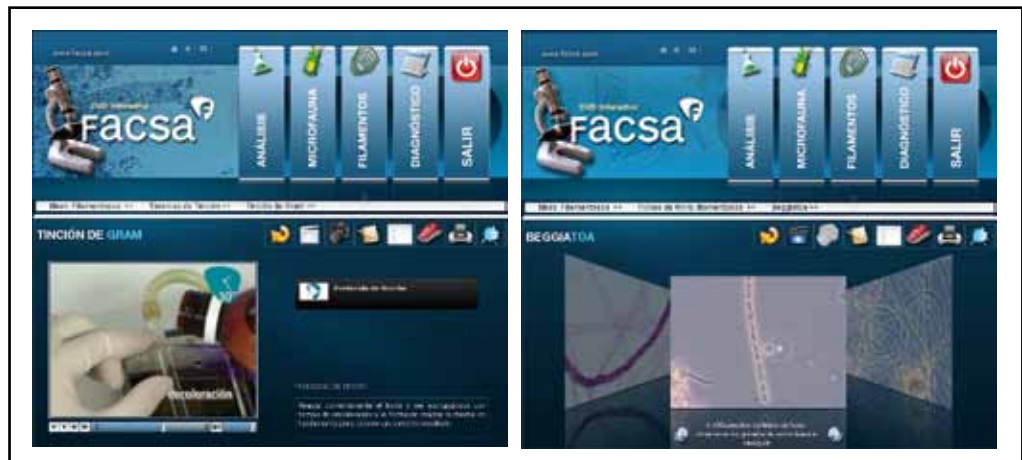
Un exceso o defecto de concentración de microorganismos filamentosos conlleva problemas operacionales que afectan directamente al correcto funcionamiento del proceso de separación sólido/líquido de la EDAR. La identificación de bacterias filamentosas es fundamental

para el adecuado control de su población. Actualmente, se conocen las condiciones ambientales que son óptimas para el desarrollo de uno u otro organismo filamentosos. Conociendo qué se desarrolla con mayor facilidad en nuestro reactor, sabremos qué condiciones ambientales se dan en él y, por tanto, qué modificar para controlar su proliferación.

El aislamiento e identificación de bacterias filamentosas por métodos clásicos (pruebas fenotípicas, quimiotaxonómicas y genéticas) es inviable con los medios disponibles en las EDAR. Las técnicas moleculares de clasificación permiten efectuar identificaciones más precisa con una metodología relativamente menos compleja, si bien, la accesibilidad a los medios materiales necesarios para su ejecución no es ni técnica ni económicamente viable en la actualidad para los operadores de EDAR.

Eikelboom desarrolló en 1975 una nomenclatura para organismos filamentosos basada en la observación microscópica de éstos. A partir de características morfológicas y reacción a tinciones diferenciales, describió varios tipos de filamentos cuya frecuencia de aparición en el fango activo era notable. Esta nomenclatura fue revisada y actualizada posteriormente por Jenkins, Richard y Daiger, siendo sus manuales una referencia actual en el campo de la identificación de filamentos en EDAR a nivel mundial.

**Figura 3.** Algunas pantallas de la sección de microorganismos filamentosos: galería de videos con los procedimientos de tinción de microorganismos filamentosos (izquierda) y galería de fotos de cada microorganismo filamentosos (derecha).



En este apartado se detallan las características morfológicas y la reacción a tinciones diferenciales que definen cada uno de los tipos descritos, qué valor bioindicador puede asociárseles (determinado a partir de su fisiología), así como las alteraciones que pueden llegar a generar en el fango activo. En una extensa galería fotográfica se recogen detalles de cada uno de estos microorganismos observados, tanto en fresco como tras realizar diversas tinciones. También se recoge, con abundante material multimedia, los protocolos de tinción más habituales en el proceso de identificación de microorganismos filamentosos (Figura 3).

#### 4.4. Ayudas: formularios interactivos

En este apartado se recogen diversos formularios y herramientas interactivas que ayudarán al usuario en la realización del análisis del fango activo. Se encontrarán formularios interactivos que permitan, de forma sencilla e intuitiva, calcular el Índice Biótico del Fango y el Índice de Shannon-Weaver. El primero fue desarrollado por Madoni en 1994. Se trata de un índice numérico obtenido a partir de las correlaciones entre las principales variables de proceso y las poblaciones de protozoos halladas. El segundo, desarrollado en 1947, mide la biodiversidad del ecosistema. La unidad de medida empleada es la unidad

de información, el bit. Dicho índice mide la complejidad del sistema y de las relaciones tróficas que en él se establecen. Dicha información permite valorar la resistencia del sistema a cambios ambientales.

En este apartado también se encuentra un buscador de microorganismos filamentosos, a partir de ciertas características listadas. Cuantas más características se definan, más acotaremos la lista de posibles microorganismos. Por último, en este apartado se encuentra un test interactivo de autoevalua-

entre parámetros fisicoquímicos, variables de proceso y variables microbiológicas es la gran variabilidad asociada a la falta de estandarización en los datos microbiológicos. La reducción del error asociado al empleo de distintas técnicas y protocolos de toma, transporte y conservación de muestras, así como los debidos al análisis cuantitativo y cualitativo de la microbiota y microorganismos filamentosos, es fundamental para la obtención de datos comparables entre sí y, por tanto, para efectuar un análisis estadístico riguroso.

El presente trabajo da solución a este problema al reunir abundante bibliografía en materia de bioindicación con el fin de aproximar y estandarizar el análisis microbiológico del fango activo entre los operadores de EDAR de fangos activos. Las nuevas tecnologías nos permiten documentar con medios multimedia, protocolos y técnicas descritas en dicha bibliografía, aproximando al usuario el mundo de la microbiología de los procesos de depuración biológica de una forma accesible e intuitiva.

El desarrollo de la presente herramienta de autoformación ha permitido estandarizar entre el personal técnico de Facsa los procedimientos a seguir para efectuar dichos análisis. Dicha mejora ha posibilitado la ejecución de estudios y proyectos de investigación y desarrollo en materia de bioindicación con tamaños

*Los formularios interactivos permiten calcular, de forma intuitiva, el Índice Biótico del Fango y el Índice de Shannon-Weaver*

ción que permitirá valorar el grado de conocimiento que en materia de clasificación de microorganismos filamentosos y microbiota tenemos.

#### 5. Conclusiones

El principal problema ante el que nos enfrentamos al efectuar un análisis estadístico de las relaciones

## ARTÍCULOS TÉCNICOS

muestrales mayores, sin que ello suponga un incremento del error asociado a la metodología de trabajo particular de cada participante.

### 6. Agradecimientos

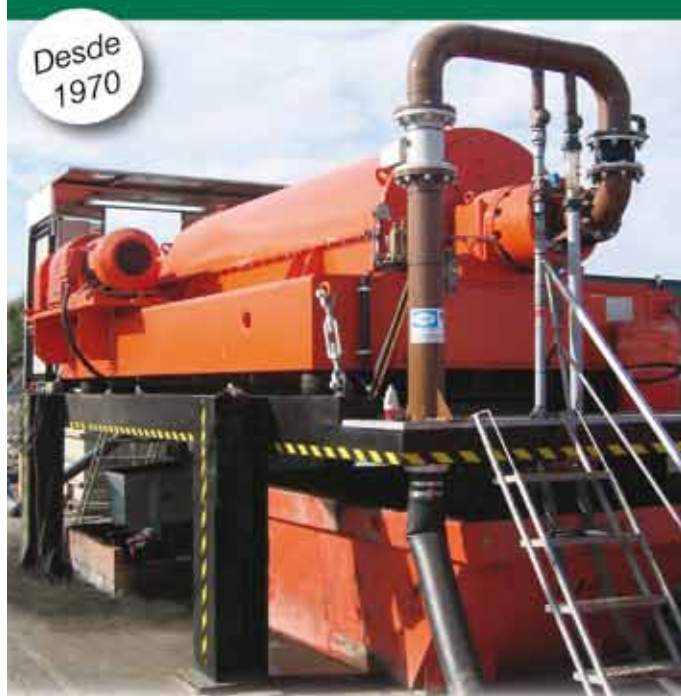
Agradecer la supervisión científica de los contenidos, así como la aportación de material gráfico y textos, a la doctora Laura Isac; a las doctoras Susana Serrano, Lucía Arregui y Blanca Pérez, de la Universidad Complutense de Madrid (Departamento de Microbiología III); al doctor José L. Alonso, del Instituto de Ingeniería del Agua y Medio Ambiente de la Universidad Politécnica de Valencia; al doctor Eloy Bécades, de la Universidad de León (Departamento de Ecología); al doctor Luis Borrás, de la Universitat de Valencia (Departamento de Ingeniería Química); y al Grupo de Bioindicación de Sevilla (GBS). Agradecer al IMPIVA por el apoyo económico para el desarrollo de los trabajos de investigación y desarrollo que han dado como fruto este trabajo. Agradecer a la Diputación de Castellón, a la Entitat Pública de Sanejament d'Aigües Residuals de la Comunitat Valenciana (EPSAR) y al Instituto Aragonés del Agua (IIA) su apoyo y colaboración.

### 7. Bibliografía

- [1] Bécades, E. (1994). 'Biología de una EDAR de fangos activos de doble etapa tratando aguas residuales de la industria farmacéutica'.
- [2] Curds, C.R. (1973). 'A theoretical study of factors influencing the microbial population dynamics of the activated sludge process. I- The effects of diurnal variations of sewage and carnivorous ciliated protozoa'. Wat. Res. 7: 1269-1284.
- [3] Curds, C.R. (1973). 'A theoretical study of factors influencing the microbial populations dynamics of the activated sludge process. II- A computer-simulation study to compare two methods of plant operation'. Wat. Res. 7: 1439-1452.
- [4] Egadi, F.; Madoni, P. (1991). 'Relazione tra efficienza di depurazione e struttura delle comunità di protozoi in un impianto municipale a fanghi attivi: un anno di studio'. En: P.Madoni (ed.) Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. 267-272.
- [5] Foissner, W.; Berger, H. (1996). 'A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologist as bioindicator in ecology'. Freshw. Biol. 35, 375-482.
- [6] GBS (2008). 'Manual práctico para el estudio de grupos bioindicadores en fangos activos'. Reed Business Information-Tecnología del Agua.
- [7] Jenkins, D.; Richards, M.G.; Daiger, G.T. (1993). 'Manual on the causes and control of activated sludge, bulking and foaming'. WRC, Pretoria y USEPA, Cincinnati.

# DESHIDRATACION DE FANGOS

## Alquiler de equipos móviles



### Reduzca sus fangos hasta una sexta parte y limite el coste de su transporte y tratamiento

- Equipos móviles con centrifugas desde 2 m<sup>3</sup>/h hasta 90 m<sup>3</sup>/h
- Equipos móviles para espesamiento de fangos de hasta 70 m<sup>3</sup>/h
- Vaciado de digestores y lagunas
- Trabajos de corta y de larga duración
- Venta y reparación de centrifugas y equipos hidráulicos Viscotherm



Ps. Sant Gervasi, 33-08022 Barcelona  
Telf. 932 112 233 / Fax 934 186 342  
[www.andreuboet.com](http://www.andreuboet.com)

**Andreu Boet Equipaments**