

Identificación de Bacterias Filamentosas en EDAR Industriales

E. Rodríguez¹, L. Isac¹, N. Fernández¹, Zornoza, A¹⁻², Mas, M³.

¹ Grupo Bioindicación Sevilla (GBS), EDAR La Ranilla. Bda San José de Palmete s/n. Sevilla 41006. Dirección Postal: Apartado postal 7279. Sevilla 41080. Tel./Fax: 955020847. gbs@asociaciongbs.com

² EDAR Quart-Benager (Valencia). AVSA-EGEVASA-EPSAR. E-mail: Azetazeta@hotmail.com

³ Hydrolab Microbiologica. c/ Blanco. Barcelona. 3808028. meritxellmas@hydrolabmicrobiologica.com

Abstract

In industrial wastewater treatment plants (IWTP), the use of microorganisms (bacteria, protists or metazoan) as indicators of effluent quality is a practical control system that is getting increasingly popular in recent years.

If an IWTP performance is good, its effluent can be re-used or released into the natural ecosystems without running environmental risks. The capability of microorganisms population as indicators of effluent quality has often been described in the literature.

The different types of industrial wastewaters require different strategies to remove the contaminants. It is known that industrial wastewaters from agriculture or food industry have different characteristics than municipal wastewaters. On the ground, industrial wastewaters are biodegradable and nontoxic, but they have higher concentrations of biochemical oxygen demand (BOD) and suspended solids (SS).

The microscopic observation and identification of filamentous bacteria, as well as its distribution and quantification in industrial activated sludge, provide the plant operator with useful information. In fact, most IWTPs which suffer from *Bulking* have operational disorders that can severely disrupt solid separation.

The results shown are based on a comparative study carried out by GBS in several Spanish IWTPs. It has been established that the filamentous bacteria populations in industrial activated sludge differ from those in urban wastewater treatment plants significantly.

Author Keywords: Filamentous microorganisms; industrial wastewater treatment plant; *Bulking* sludge; industrial wastewater; microscopic analysis; types of contaminants.

INTRODUCCIÓN

Los residuos industriales líquidos (RILES) son aguas de desecho generadas en la industria (pérdidas de producto, aguas de lavado, etc.). Estos vertidos plantean, por sus particulares características, una grave problemática para su incorporación a redes urbanas o su vertido directo: alta carga orgánica, presencia de tóxicos, compuestos recalcitrantes, etc., que para ser desechados necesitan ser tratados previamente. El conseguir los niveles de depuración exigibles para las aguas residuales de cualquier comunidad, pasa necesariamente por exigir los mecanismos correspondientes de depuración a las estaciones depuradoras de aguas residuales industriales (EDARI) de la zona, responsables en gran medida de la contaminación existente en las aguas residuales urbanas (Marín *et al.*, 2005), representando éste un problema económico importante de la mayoría de las industrias (Ikuko, *et al.*, 1987).

Desgraciadamente, este problema afecta a muchas industrias, debido a que muchas aguas industriales muestran resistencia al tratamiento convencional de depuración (Burgues *et al.* ⁽²⁾, 1999). Además, en las EDARI se produce, especialmente, *foaming* y *Bulking* así como otros fenómenos biológicos que generan problemas en el proceso de explotación (Ikuko *et al.*, 1987), estimándose que el 40 % de las EDARI presentan mal funcionamiento causado por *Bulking* (Schleengleim, 2002).

Las aguas residuales de origen industrial son tratadas usualmente a través de Fangos Activos (Ikuko *et al.*, 1987; Burgues *et al.* ⁽¹⁾, 1999), en cuyo tratamiento se combina la actividad biológica de diversos microorganismos

(Ikuko *et al.*, 1987). Sin embargo, a diferencia con las aguas residuales urbanas, estas aguas se caracterizan por presentar un ratio bajo de nutrientes frente a la DQO (De Lucas *et al.*, 2007).

Si en el sector de la depuración de las aguas residuales urbanas se particulariza hasta expresiones del tipo " cada estación depuradora es un mundo", en las EDARI este axioma se confirma con mayor intensidad. No existe similitud alguna entre los vertidos de distintas actividades industriales (Hernández *et al.*, 1996), por lo que conocer bien el sistema con el que se va a trabajar es esencial (petroquímica, agroalimentaria, farmacéutica, etc.), así como la fisiología y ecología de los microorganismos implicados. La mayoría de los cultivos de ciertos tipos de microorganismos aportan información importante sobre la forma de evitar que proliferen de forma indebida (Sanz y Kochling, 2007).

La generación de aguas residuales y su carga contaminante, depende del tipo de producción industrial. En general, las empresas del sector agroalimentario pueden ser tratadas, aunque con ciertas limitaciones, con tratamientos convencionales. Los sectores como el farmacéutico o petroquímico, pueden necesitar tratamientos preliminares, para acondicionar el vertido a la depuración biológica. La alimentación artificial, mejora la depuración de las aguas industriales (Ikuko *et al.*, 1997), mientras que la adición de compuestos como las sales de hierro, disminuyen el Índice volumétrico de fangos (IVF) de sistemas biológicos asediados por el *Bulking* (Agridiotis *et al.*, 2007). En este sentido, nuevas tecnologías como los reactores SBR, pueden controlar los fenómenos de *Bulking* (Tsang *et al.*, 2007).

Como factor potenciador de la necesidad de estudio de estos RILES está el alto contenido en materia orgánica coloidal y disuelta de bajo peso molecular, muy fácilmente biodegradable (Carceller, 2005), que predispone al *Bulking*. De hecho, la mayoría de plantas del sector agroalimentario han sufrido episodios de *Bulking* (Scheleenglein, 2002; Carceller, 2005). Por otra parte, la legislación vigente cada vez más exigente y restrictiva, obliga a conocer profundamente los organismos y sus necesidades metabólicas, a fin de comprender los mecanismos implicados en estos sistemas. Tal es el caso de las emisiones de nitrógeno a los medios receptores, cuyo aumento en los cauces ha dado como resultado una regulación mucho más restrictiva para poder resolver este problema (Lucas *et al.*, 2005). Teniendo en cuenta que el flóculo es la unidad funcional que debe depurar y decantar eficazmente y que una de las causas asociadas al *Bulking* es la naturaleza del agua residual (Carceller, 2005), debemos conocer estos componentes y las variaciones de los mismos.

Por lo tanto, desde el punto de vista operacional de una planta, es esencial conocer volúmenes diarios, variaciones de caudales, tipo de fabricación, periodicidad, biodegradabilidad, tóxicos, condiciones físicas inapropiadas, baja viabilidad celular y producción de metabolitos tóxicos (Burguess *et al.*, 1999). Según estudios de laboratorio, los parámetros operacionales que más afectan a la depuración de los RILES son la carga másica (CM) y los niveles de oxígeno disuelto (Scrugss *et al.*, 1998).

Dentro de las bacterias filamentosas, las Alphaproteobacterias, son las más representadas en el sector seleccionado. Datos de un estudio realizado en 86 plantas industriales de cuatro países europeos, constataron la presencia de éstas en el 65 % de las muestras estudiadas, generando *Bulking* en el 25,5 % de ellas (Levantesi, *et al.*, 2004).

De las veintisiete muestras analizadas, en el presente estudio, se constata la presencia de *bulking* en 17 de ellas. Se han determinado como dominantes, 17 morfotipos distintos, entre los que destacan por su orden de aparición: *TO21N*, *Thiotrix* y *Haliscomenobacter hydrossis*. Del resto de plantas analizadas, el 18 % presentaba problemas de desfloculación y un 4 % presentaba fenómenos de viscosidad.

MATERIAL Y METODOS

Se han estudiado las poblaciones de bacterias filamentosas y las estructuras floculares de 27 EDARI, repartidas por toda España y de distintos sectores industriales, con predominancia del sector agroalimentario, tal como puede observarse en la Tabla 1.

Tabla 1: Nº de EDAR industriales estudiadas, asignadas a cada sector del tejido empresarial.

SECTOR	Nº EDARS ESTUDIADAS
LACTEA	5
TERPENOS	1
PAPELERAS	2
CERVECERAS	3
GRASAS	1
METALURGIA	1
VINÍCOLA	4
CÍTRICOS	1
ALIMENTACIÓN-SNACKS	1
CONSERVAS VEGETALES	1
HARINERAS	3
ZUMOS	1
TENERIAS	3
TOTAL	27

Las muestras de licor mezcla se tomaron justo a la salida del reactor biológico, previo a la decantación secundaria. El tratamiento preliminar de las muestras del reactor para la observación microscópica y su conservación se realizaron según el protocolo establecido en Rodríguez *et al.* (2004). La identificación de bacterias filamentosas se hizo en base a los manuales de Jenkins *et al.* (1996, 2004) y Seviour y Blackall (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 27 muestras analizadas, predominan aquellas que proceden del sector alimentario (85 %) que, de forma general, tras distintos pretratamientos previos, se asimilan en su tratamiento a aguas residuales urbanas.

Las industrias de carácter químico, que se encuentran representadas en este estudio por tenerías y metalurgia (15 %), presentan elementos tóxicos que dificultan la degradación biológica.

El primer control realizado a las muestras estudiadas fue la valoración de las estructuras floculares generadas para cada RILE. Si se comparan flóculos de dos procesos biológicos típicos (fango activo de edad media y fango activo de oxidación total) con flóculos de procesos industriales, se puede observar que las diferencias en cuanto a agregación son palpables (Figura 1).

Frente a flóculos muy cohesionados en el fango de oxidación total, o flóculos de cohesión media típicos de EDAR con edades de fango entre 3-7 días, nos encontramos con flóculos abiertos, poco cohesionados, típicos de las EDAR industriales, con baja capacidad de separación de fases y mala decantación, que puede observarse en la decantación de la V30 de la figura 2.



Figura 1: Estructuras floculares generadas en una EDAR convencional sin influencia industrial (A), EDAR de oxidación total (B) y EDAR industrial del sector lácteo(C). *In vivo*. 200X.

Tanto la deficiencia nutricional típica de la industria agroalimentaria (Agridiotis, *et al.*, 2007), en las que el Nitrógeno y el Fósforo pueden limitar la degradación de la materia orgánica, como los efluentes químicos cargados de agentes tóxicos, produjeron floculaciones muy pobres, lo que afecta a las bacterias formadoras de flóculo, tanto a su respiración como su metabolismo.

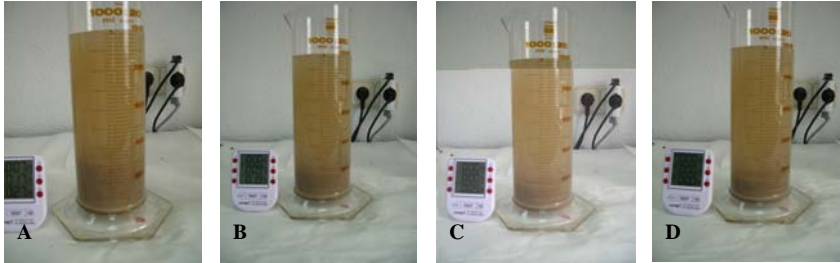


Figura 2: Evolución de la decantación en probeta de una muestra de fangos activos industriales para tiempos sucesivos de 3 (A), 10 (B), 20 (C) y 30 minutos (D).

Los resultados del estudio de floculación se muestran en la Tabla 2, dominando el crecimiento disperso en los espacios interfloculares de la mayoría de las muestras, tal como muestra la figura 3.

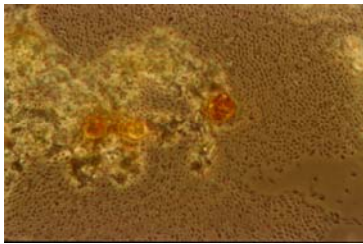


Figura 3: Crecimiento disperso observado en uno de los RILES analizados, pertenecientes al sector lácteo). *In vivo*, 400X.

Los resultados obtenidos indican que la totalidad de las muestras analizadas, en mayor o menor medida, presentaron problemas de desfloculación asociados a los tóxicos o a deficiencias nutricionales, los cuales desembocaron en fenómenos de *Bulking* filamentoso (63 % de las muestras estudiadas), *Bulking* viscoso (4 % de las muestras estudiadas) y *Pin-point flocc* o flóculo en punta de alfiler (27 % de las muestras estudiadas), como queda ilustrado en la figura 4.

Los sectores afectados de *Bulking* filamentoso fueron: lácteo (especialmente propenso al *Bulking* o pobre sedimentación [Thompson *et al.*, 2003]), terpenos, cervecero, grasas, vinícola, cítricos, conservero (vegetales), harinera, tenería y zumos. En general, los RILES del sector agroalimentario presentan tendencia natural a la acidificación, rápida fermentación y baja presencia de nutrientes, lo que favorece este crecimiento desmedido de bacterias filamentosas que dificultan la decantación.

Tabla 2: Valoración microscópica de la estructura del flóculo en las muestras estudiadas.

SECTOR	ESTRUCTURAS FLOCULARES	Nº MUESTRAS OBSERVADAS
LACTEA	TOTALMENTE DESESTRUCTURADO, FLÓCULO EN ALFILER, FLÓCULO ABIERTO Y FLÓCULO GRANDE.	5
TERPENOS	DESFLOCULACIÓN Y PEQUEÑOS FLÓCULOS EN ALFILER	1
PAPELERAS	NO FLOCULACIÓN Y FLÓCULO GRANDE EN MALLA	2
CERVECERA	FLÓCULO ABIERTO Y FLÓCULO GRANDE EN MALLA.	3
GRASAS	FLÓCULO GRANDE EN MALLA.	1
METALURGIA	FLÓCULO EN PUNTA DE ALFILER Y AUSENCIA DE DEPURACIÓN	1
VINÍCOLA	FLÓCULOS GRANDES O MEDIOS, CON ESTRUCTURA ABIERTA O DISGREGADA. BULKING VISCOSO	4
CÍTRICOS	FLÓCULO EN MAYA DE TAMAÑO MEDIO	1
ALIMENTACIÓN-SNACKS	UN FLÓCULO EN PUNTA DE ALFILER	1
CONSERVAS VEGETALES	FLÓCULO DE TAMAÑO MEDIO CON ESTRUCTURA ABIERTA	1
HARINERA	FLÓCULO CON ESTRUCTURA ABIERTA, DISGREGADA O COMPACTA, CON TAMAÑO PREDOMINANTE PEQUEÑO	3
TENERÍA	FLÓCULO DESESTRUCTURADOS O MODERADAMENTE COMPACTOS	3
ZUMOS	UN FLÓCULO DE TAMAÑO GRANDE EN MALLA	1

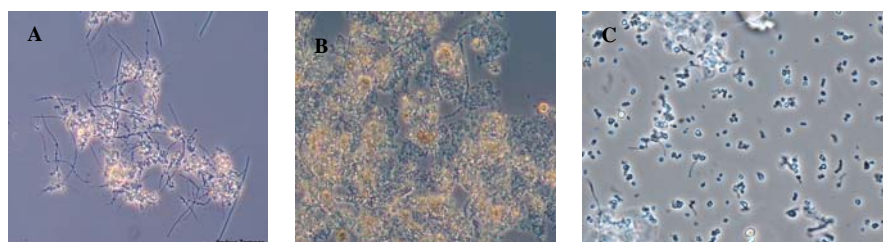
Los sectores que presentaron problemas de floculación fueron: lácteo, papelera, metalurgia, alimentación-snacks y harinera. El efecto de los metales pesados presentes en la industria del sector metalúrgico fue patente con el desarrollo de flóculos de muy pequeño tamaño y con muy poca capacidad depuradora.

Por otra parte, las empresas del sector lácteo y papelerero presentaron dichos problemas asociados a niveles altos de temperatura, así como la aparición de espumas. La temperatura afecta enormemente a la formación flocular en este tipo de RILES. A mayor temperatura, las bacterias necesitan más energía para su mantenimiento celular y dedican menos esfuerzo a la producción de exopolisacáridos, lo que dificulta la agregación (Lopetegui, 2000). Por lo tanto, consideramos que la temperatura es un factor crítico en este tipo de plantas, para conseguir buenos rendimientos depuradores.

Solamente se detectó un proceso de *Bulking* viscoso en una de las 4 muestras analizadas del sector vinícola. Como es sabido, la agregación de las bacterias formadoras de flóculo depende en gran medida de los polímeros extracelulares, los cuales median en la cohesión y adhesión de las células y desempeñan un papel esencial en mantener la integridad de las células inmovilizadas (Liu y Tay, 2004). Sin embargo, el estrés generado por los factores ya comentados (tóxicos, desequilibrios nutricionales, condiciones físicas inapropiadas, baja viabilidad celular, producción de metabolitos tóxicos, etc.), generó bajas eficiencias depuradoras asociadas a los fenómenos de alteración de la sedimentabilidad, anteriormente comentados. Normalmente, el *Bulking* viscoso ocurre en aguas residuales ricas en compuestos orgánicos fácilmente degradables y bajo condiciones de deficiencia nutricional, cuando estos no pueden producir material celular formado por compuestos del nitrógeno o del fósforo debido a que estos son escasos en el medio (Jenkins *et al.*, 2004). También ha sido asociado a estados de toxicidad (Tandoi *et al.*, 2006), pues el material exocelular producido es el resultado de un metabolismo o de un desarrollo desequilibrado por parte de los microorganismos del fango activo (bacterias filamentosas y bacterias de crecimiento floculento), lo cual puede acontecer claramente ante un episodio de toxicidad.

Figura 4: Distintos procesos de alteración de la floculación aparecidos en los RILES analizados.

Bulking filamentososo en cervecera (A), *Bulking* viscoso en industria vinícola (B) y Flóculo en alfiler en industria de terpenos. *In vivo*, 1000X.



Por otra parte, la alta biodegradabilidad de la mayoría de los influentes, prácticamente todas las muestras salvo las pertenecientes al sector de la metalurgia y las tenerías, generó una situación de estrés nutricional que favoreció el crecimiento de bacterias filamentosas en una proporción tal que la floculación fue claramente perjudicada, tal como puede apreciarse en el desarrollo de la capa limosa, típica de *T 0041*, en condiciones de estrés nutricional. Esta formación externa al filamento se ha detectado en las muestras de cerveceras y cítricos analizadas.

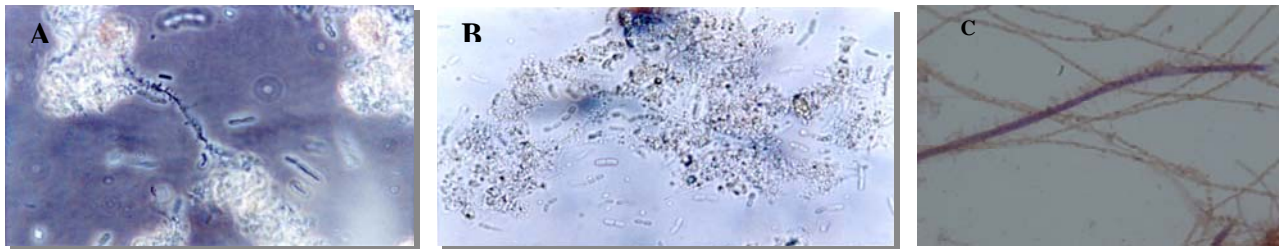


Figura 5: (A) Test de tinta India en el que se observa el filamento Tipo 0041, asociado a deficiencias nutricionales (N/P); contraste de fases, 400x. (B) Abundantes formas bacilares dispersas y próximas a la estructura del flóculo, retenidas por abundante material extracelular; campo claro, 1000x. (C) Aparición del filamento *T 0041* (ocasionalmente con capa limosa Neisser positivo), indicativo de procesos de deficiencia nutricional. Muestra cítricos. Tinción de Neisser. 1000X.

Como demuestra el estudio de Liu y Tay (2004) fango activo alimentado con una fuente de carbono artificial (glucosa) presenta flóculos de forma irregular y alto crecimiento de bacterias filamentosas. En este estudio hemos constatado que aquellas muestras de sistemas con influentes más biodegradables tendían a presentar estructuras floculares como las citadas anteriormente.

Por otra parte, la comunidad protozoaria presente en las muestras estudiadas, que se ve afectada en gran medida por la formación flocular, ha sido variable, presentando mayoritariamente una diversidad de especies baja, asociado en estas ocasiones a flóculos pequeños y abiertos que solo permiten el desarrollo de algunos ciliados nadadores e impidiendo el desarrollo de grupos como el de los reptantes y sésiles.

Se han valorado muestras con una diversidad que osciló entre cero y ocho taxones. Teniendo en cuenta que un organismo particular en un hábitat es a menudo usado como indicador de su importancia ecológica (Curds y Cockburn, 1970), los resultados indican que existen algunas muestras donde el entorno es bastante estresante para los ciliados en general, como ocurre en las muestras del sector lácteo o de papeleras donde predominantemente aparecieron quistes de protozoos y, en menor medida, en harineras y vinícolas.

Cabe destacar la muestra del sector metalúrgico, donde la población protozoaria fue nula. Los metales pesados son tóxicos para la mayoría de organismos a ciertas concentraciones (Madoni, 2000). Los protozoos son excelentes indicadores de la contaminación. Un descenso de la diversidad en cada uno de los grupos de ciliados, un desequilibrio en la diversidad global, o un descenso en la densidad total, son circunstancias que indican condiciones limitantes tales como la presencia de sustancias tóxicas en el influente, fluctuaciones en la carga orgánica o en la extracción de fangos, problemas en la oxigenación, etc, como los que ocurren en las muestras analizadas.

La densidad ha presentado un comportamiento similar a la diversidad, con oscilaciones muy amplias, entre 0 y 190.000 individuos por mL, destacando la presencia del grupo de los pequeños flagelados y pequeños nadadores bacterívoros como *Cyclidium*. La presencia de pequeños flagelados ya ha sido recogida en la bibliografía (Curds y Cockburn, 1970), asociada a RILES.

Algunos de los protozoos encontrados se muestran en la Figura 6, de los cuales han sido típicos la aparición de *Drepanomonas revoluta* en muestras de la industria láctea y papelera, asociado a niveles altos de temperatura superiores a 30°C y *Cyclidium sp.*, que ha aparecido en muestras de cítricos, vinícola, láctea, terpenos y harineras.

Las formas de resistencia protozoarias han aparecido en la mayoría de las muestras.

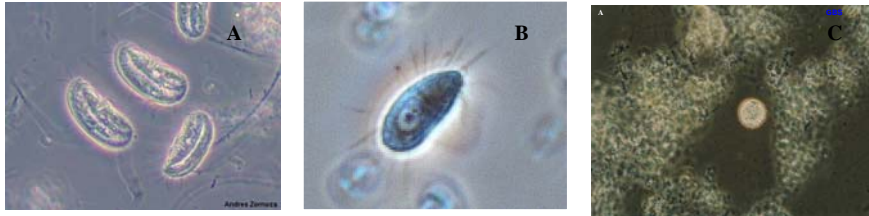


Figura 6: Organismos protozoarios encontrados en algunas muestras analizadas: *Drepanomonas revoluta* (A), *Cyclidium sp.* (B) y formas de resistencia. (C). *In vivo*, 400X.

La diversidad de protozoos medida como índice de Shannon (H), ha sido también muy variable, oscilando entre 0 y 2,81 bit.

La identificación de los morfotipos filamentosos dominantes y secundarios ha sido el punto clave de este estudio, ya que por una parte se ha constatado que son frecuentes en estas EDARI y, por otra parte, que es necesario conocer al organismo implicado en los problemas de floculación y decantación para solventarlos con medidas operacionales, o mediante el suplemento de nutrientes (nitrógeno y fósforo) o micronutrientes.

Los resultados obtenidos quedan desarrollados en la tabla 3.

Tabla 3: Relación de morfotipos filamentosos dominantes y secundarios, así como la categoría numérica asociada, encontrados en las muestras analizadas.

SECTOR	FILAMENTO DOMINANTE	FIL SECUNDARIO	CAT NUMÉRICA
LACTEA 1	T021N, T0675 Y T1702		5
LACTEA 2	T0961		4
LACTEA 3	T0675, T021N Y HALISCOMENOBACTER		4
LACTEA 4	THIOTRIX Y T 1863	NOSTOCOIDA	5
LACTEA 5	THIOTRIX, T 0803 Y T 0211	T 1963, NOSTOCOIDA Y T 021N	4
TERPENOS	GALO	MICROTHRIX, T1863, T021N, NOSTOCOIDA	5
PAPELERA 1	FIBRAS/ DESFLOCULACIÓN		-
PAPELERA 2	FIBRAS		-
CERVECERA 1	T021N		3
CERVECERA 2	T021N Y T0041	HALISCOMENOBACTER Y T0211	4
CERVECERA 3	T0211, HALISCOMENOBACTER Y T0041		3
GRASAS	GALO		4
METALURGIA	DESFLOCULACION		-
VINÍCOLA 1	T 021N Y THIOTRIX	NOSTOCOIDA Y HASLICOMENOBACTER	3
VINÍCOLA 2	T 021N	THIOTRIX Y HALISCOMENOBACTER	4
VINÍCOLA 3	BULKING GELATINOSO		-
VINÍCOLA 4	THIOTRIX	T021N, NOSTOCOIDA LIMÍCOLA	4
CÍTRICOS	T021N	HALISCOMENOBACTER, T 0041, T 1701, NOSTOCOIDA, THIOTRIX Y GALO	5
ALIMENTACIÓN-SNACKS	DESFLOCULACION		-
CONSERVAS VEGETALES	T021N	NOSTOCOIDA, THIOTRIX Y GALO	5
HARINERA 1	HALISCOMENOBACTER Y T021N	THIOTRIX	5
HARINERA 2	T 021N	THIOTRIX, HALISCOMENOBACTER Y T 0411	4
HARINERA 3	THIOTRIX Y T0041	T021N Y HALISCOMENOBACTER	4
TENERIA 1	GALO	THIOTRIX, T021N,, Y T 0041	3
TENERIA 2	T 021N	GALO, THIOTRIX, Y NOSTOCOIDA	2
TENERIA 3	THIOTRIX, HASLICOMENOBACTER,	NOSTOCOIDA	4
ZUMOS	HONGOS		5

Como filamento dominante se han determinado 13 morfotipos en las 27 muestras analizadas. En numerosas ocasiones ha sido particularmente difícil discriminar la dominancia, debido a la alta diversidad bacteriana presente en las muestras (lácteas y cerveceras). En otras ocasiones la dominancia ha sido clara (Terpenos, grasas, cervecera, vinícola, cítricos, conservas vegetales, harineras, tenerías y zumos).

Evidentemente, la composición química compleja y la variabilidad tanto de volúmenes, como de carga orgánica, explican estas diferencias, que permiten el establecimiento de rutas metabólicas alternativas en las muestras más diversas, para degradar los compuestos existentes. Ninguna de las especies individuales en estos microecosistemas son capaces de degradar este agua (Liu y Tay, 2004), por lo que se necesitan, en algunas ocasiones, asociaciones de bacterias con distintas capacidades degradativas.

El morfotipo que ha aparecido como dominante en mayor número de ocasiones ha sido el *Tipo 021N*, con dominancia en el 31 % de las muestras tal como puede apreciarse en la tabla 4, seguido de *Thiothrix* con un 17 %. El cálculo de abundancia se ha realizado teniendo en cuenta el número de veces que se determina el filamento, frente al total de filamentos detectados en todas las muestras.

La aparición de este último, puede achacarse a la tendencia natural de los RILES del sector agralimentario a su acidificación y rápida fermentación lo que favorece el crecimiento de este filamento.

Si tenemos en cuenta que Eikelboom (2006), recoge un morfotipo renombrado del *morfotipo 021N* como *Thiothrix-021N* y que Levantesi *et al.*, (2004) indican que se han detectado morfologías similares al *Tipo 021N* que hibridan con sondas específicas para *Thiotrix* en estudios de FISH, podríamos definir un grupo dominante *Tipo 021N – Thiothrix* (debido a su dificultad para diferenciarlos con técnicas convencionales), que representaría una dominancia del 46 % de las muestras.

Los sectores industriales en los que ha aparecido el *Tipo 021N* como dominante fueron el lácteo, cervecero, vinícola, cítrico, conservas vegetales, harineras y tenerías. En la muestra de terpenos apareció como filamento secundario, tal como cita la bibliografía, asociada al sector agroalimentario. (Wanner *et al.*, 1995; Thompson *et al.*, 2003, Levantesi *et al.*, 2004, Jenkins *et al.*, 2004 y Eikelboom, 2006).

FILAMENTO DOMINANTE	% APARICIÓN
T021N	31
T0675	6
T1702	3
T0961	3
H. HYDROSSIS	11
THIOTRIX	17
T1863	3
T0803	2
T0211	6
GALO	8
T0041	8
HONGOS	2
	100

Tabla 4: reparto porcentual de los morfotipos filamentosos identificados como dominantes en las distintas muestras..

Si analizamos el porcentaje de dominancia de este filamento por sectores industriales, éste ha aparecido en el 58 % de los sectores estudiados, sin presencia en papeleras, grasas, siderurgia, snacks-alimentación y zumos.

Ha sido muy llamativa la aparición de este filamento en una de las muestras de cerveceras, con una morfología totalmente atípica respecto a la que presenta en aguas urbanas, con unos diámetros celulares considerablemente superiores a 1,5 µm como se muestra en la Figura 7. Se ha podido comprobar, tal como señalan Levantesi *et al.* (2004) en su estudio, tanto los diámetros celulares anormales, como la acumulación de granos lipídicos en condiciones de desequilibrio nutricional.

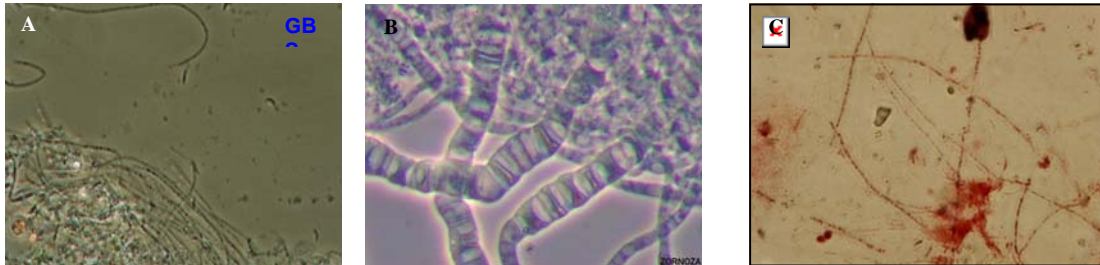


Figura 7: Aparición del *morfotipo 021N* en las distintas muestras analizadas. *T021N* en industria Láctea (A), *T 021N* en industria cervecera, con mayor diámetro celular (B) y Presencia de granos de reserva en muestra de cervecera (C). A y B *In vivo*. 400X v 1000X. C Tinción PHB. 1000X

La aparición de *Haliscomenobacter hydrossis* con un 11 % como dominante, es característico de los niveles deficientes de oxigenación que mantienen muchas de estas EDARI, ocasionados en numerosas ocasiones por sobrecargas, entre otros factores, entre los que no se puede descartar, la deficiencia nutricional.

Hemos podido constatar, la asociación directa del grupo de las GALO, asociado a la muestra de industria de tratamiento de grasas, con un porcentaje total de aparición del 8 %. Muchos de estos organismos tienen capacidad de degradar hidrocarburos y tóxicos (Arenskotler *et al.*, 2004). Las grasas al reducir la solubilidad del oxígeno, benefician el crecimiento micelial de este tipo de bacterias, que las hace más competitiva, al crear un microambiente independiente y separado del resto de sistema.

También ha aparecido como dominante en sectores como los terpenos, con morfología atípica (pequeñas ramificaciones y filamentos fraccionados, tal como puede apreciarse en la figura 8) y en tenerías.

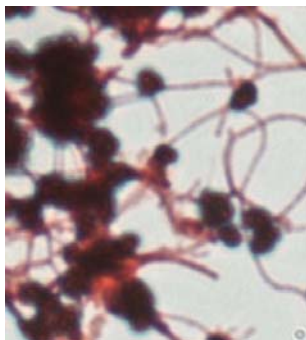


Figura 8: Aparición de *GALO* en la muestra analizada de terpenos. Tinción Gram. 1000X

Los niveles de pH bajos (5,3) han favorecido en la muestra de zumos el crecimiento dominante de hongos, tal como indica Jenkins *et al.*, (2004). Igualmente en el 14 % de las ocasiones han aparecido los *morfotipos 0675* y *0041*, típicos de la industria alimentaria (sector lácteo, cervecero y harinero).

CONCLUSIONES

Si bien la depuración de las aguas residuales industriales es un factor primordial en el mantenimiento de los cauces receptores, continúa siendo una asignatura pendiente en el caso de muchos explotadores.

Tal como hemos podido comprobar los fenómenos de alteración de la floculación son prácticamente generalizados, por lo tanto son necesarios profesionales formados en técnicas de control microbiológico, a fin de solventar estos problemas. Los tratamientos de cloración, ozonización, etc. pueden ayudar a controlar los problemas de *Bulking* asociados a estos RILES, si bien es necesario conocer los factores operacionales que afectan al cultivo depurador, así como las posibles limitaciones en nutrientes y micronutrientes.

La adición de elementos (nutrientes y micronutrientes) deficitarios es, a menudo, efectivo para mejorar la biodegradación y decantación de nuestros RILES y evitar la proliferación de bacterias filamentosas, junto con el seguimiento microscópico de la estructura del fango activo para actuar y rectificar aquellas condiciones que están afectando el estado estructural del sistema o están favoreciendo el crecimiento desmedido de los filamentos.

En este sentido, los estudios microbiológicos en las estaciones depuradoras industriales, con determinaciones basadas en las clásicas claves de identificación que tienen en cuenta las características bacterianas observables bajo microscopía óptica, compaginadas con las nuevas técnicas de identificación, ayudarán a los profesionales del sector a determinar correctamente el organismo presente en su reactor.

Los morfotipos predominantes han sido *T 021N* y *Thiotrix*, seguidos de *Haliscomenobacter hydrossis*, *Galo* y *T0041*, reforzando los problemas usuales en estas EDAR de deficiencia nutricional y falta de oxígeno.

A fin de mejorar los rendimientos de depuración es conveniente dotar a las EDAR industriales de una buena capacidad de decantación, de forma que se pueda optimizar la velocidad de clarificación, que permita que los típicos flóculos de estos RILES, no muy cohesionados, decanten.

La incorporación de selectores previos al aerobio, que reduzcan el material fácilmente biodegradable, la mayor comprensión de los requerimientos medioambientales de estos microorganismos, la generación de cepas específicas, etc. parecen ser las nuevas tendencias del futuro.

Por último es imprescindible seguir profundizando en la biota típica de estos RILES a fin de optimizar los procesos depuradores al menor coste.

AGRADECIMIENTOS

Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a cada una de las empresas y centros a los que pertenecemos, especialmente a EMASESA, por su apoyo y respaldo a nuestro trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agriodiotis, V, Forster, C.F. y Cartiell-Marquet, C. (2007). Addition of Al and Fe salts during treatment of paper mill effluents to improve activated sludge settlements characteristics. *Bioresource Technology*, 98, 15, 2926-2934.
- Arenskotler, M., Broker, M. y Steinbuchel, A. (2004). Biology of the metabolically diverse genus *Gordonia*. *Applied and Environmental Microbiology*, 3195-3204.
- Burgess, J. E., Quarmby, J. y Stephenson, T. (1999)¹. Role of micronutrients in activated sludge-bases biotreatment of industrial effluents. *Biotechnology Advances*, 17, 49-70.

- Burgess, J., Quarmby, J. Y Stephenson, T. (1999)². Micronutrient supplements for optimisation of the treatment of industrial wastewater using activated sludge. *Water Research* 33, 18, 3707-3714.
- Curds, C.R. y Cockburn, A. (1970). Protozoa in biological sewage-treatment processes-I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and Activated sludge plants. *Water Research* 4, 225-236.
- De Lucas, A., Rodríguez, L., Villaseñor, J. y Fernández, F.J. (2007). Influence of industrial discharges on the performance and population of a biological nutrient removal process. *Biochemical Engineering Journal*, 34, 51-61.
- Eikelboom, D. (2006). Identification and Control of Filamentous Micro-organisms in Industrial Wastewater Treatment Plants. *Multi-Media Training CD*. IWA Publisingh. ISBN: 1843390965.
- Jenkins, D., Richard, m. G. y Daigger, G. T. (2004). *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming*. Lewis Publishers (Michigan).
- Jenkins, D., Richard, M. G. y Daigger, G.T. (1996). Manual on the causes and control of activated sludge *Bulking* and foaming. 2nd Edition. Lewis publishers (Michigan).
- Levantesi, C. Beimfohr, C., Geurkinski, B., Rossetti, S., Thelen, K., Krooneman, J. y Tandoi, V. (2004). Filamentous Alphaproteobacteria associated with *Bulking* in industrial wastewater treatment plants. *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 716-727.
- Liu, Y. y Tay J-H. (2004). State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, 22, 533-563.
- Lopetegui, J. y Sancho, L. (2000). Tratamiento biológico de efluente UASB de papelera a alta temperatura. *Tecnología del Agua*, 205, 70-78.
- Lucas De, A., Rodríguez, L., Villaseñor, J., y Fernández, F. J., (2005). Denitrification potential of industrial wastewaters. *Water Research*, 39, 3715-3726.
- Madoni, P. (2000). The acute toxicity of nickel to freshwater ciliates. *Environmental Pollution*. 109. 53-59.
- Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N. y Salas, M.D. (2004). Manual de Trabajo para Análisis Biológicos en Fangos Activados. Jornada de Transferencia de Tecnología sobre "Ejercicios interlaboratorios en fangos activos como sistema de control de calidad en la EDAR" (Sevilla, Octubre de 2004). Edita Grupo Bioindicación Sevilla. I.S.B.N. 608-0189-6.
- Sanz, J.L. y Kochling, T. (2007). Molecular biology techniques used in wastewater treatment. An overview. *Process Biochemistry*, 42, 119-133.
- Tandoi, V., Jenkins, D. y Wanner, J. (2006). Activated sludge separation problems. Theory, Control Measures, Practical Experience. IWA Specialist Group on Activated Sludge Population Dynamics. Scientific and Technical Report No. 16. IWA, London.
- Thompson, G. y Forster, C. (2003). *Bulking* in activated sludge plants treating paper mill waste waters. *Water Research* 37, 2636-2644.
- Tsang, Y. F., Hva, F.L., Chva, H., Sin, S. N., y Wang, Y. J. (2007). Optimization of biological treatment of paper mill effluent in a sequencing batch reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 34, 3, 193-199.
- Wanner (1995). *Activated Sludge Bulking and foaming control*. Technomic Publishing Co. inc. Lancaster, Basel.