

Control enzimático de la estabilidad de biosólidos en sistemas de digestión aerobia

J. Barragán Sánchez, M.D. Coello Oviedo, J.M. Quiroga Alonso

Dpto. de Ingeniería Química, Tec. de Alimentos y Tecnología del Medio Ambiente

Univ. de Cádiz

Summary

At the moment, more than 6.5 million tons of dry sludge are produced every year in Europe and it is anticipated that this volume increases faster and faster in the next years.

The management of water purifier sludge costs more than 1 million of kECU/year, 150 million ECU/year for the works of control and operation of the digestion of sludge and an amount still unknown, but similar, for industrial sludge.

Introducción

El tratamiento integral de las aguas residuales lleva implícito la gestión y el tratamiento del lodo producido, lo que representa más del 50% de los costos de construcción y explotación de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Actualmente en Europa se producen más de 6,5 millones de toneladas de lodo seco por año y se prevé que este volumen aumente de forma más rápida en los próximos años. Más de 1 millón de kECU/año cuesta la gestión de los lodos de depuradora, 150 millones de ECU/año para los trabajos de control y explotación de la digestión del lodo y una cantidad aún desconocida, pero similar, para los lodos de origen industrial. Con la implantación definitiva de la Directiva Europea 91/271, la construcción de plantas de tratamiento de aguas residuales se espera que aumente, y debido a que estas estaciones serán en su mayoría de mediano tamaño, los sistemas de digestión de lodos que se van a desarrollar serán principalmente sistemas de digestión aeróbica. La gran demanda de este recurso una vez estabilizado para distintos fines, entre ellos la agricultura, obliga a tener un mejor conocimiento de sus propiedades y del grado de estabilidad alcanzado.

Todo esto implica una mejora en los procesos de tratamiento junto con un mayor conocimiento del grado de estabilidad y de los parámetros que

se deben utilizar para medirlo. Sin embargo, no existe un consenso para determinar qué test o qué criterios pueden o deben ser usados como índices de estabilidad para el lodo en los distintos tratamientos a que estos se someten.

En este trabajo se comparan tres grupos de parámetros, dos de ellos, los físico-químicos y los microbiológicos, usados tradicionalmente; el tercero lo constituyen las medidas de actividad, las cuales están empezando a ser usadas en el control de este tipo de procesos. De la comparación de estos tres tipos de parámetros se pueden obtener conclusiones acerca de cuál aporta una información más real y precisa de la variación de la estabilidad durante la digestión aerobia de un lodo mixto.

Material y métodos

Los ensayos de estabilización se realizaron en un reactor de 100 litros de capacidad a escala "bench" y que trabajó en modo "batch" durante un periodo de 135 días. Un esquema de la planta experimental se representa en la Figura 1. El lodo mixto, mezcla de lodo primario y biológico, procedía de los decantadores primarios de la EDAR "El Torno" en Chiclana de la Frontera (Cádiz). Para el control del sistema se estableció una periodicidad de 4 análisis semanales en las 2 primeras semanas, 3 análisis semanales durante las 3 siguientes y dos análisis semanales para el resto del tiempo que duró el ensayo. El caudal

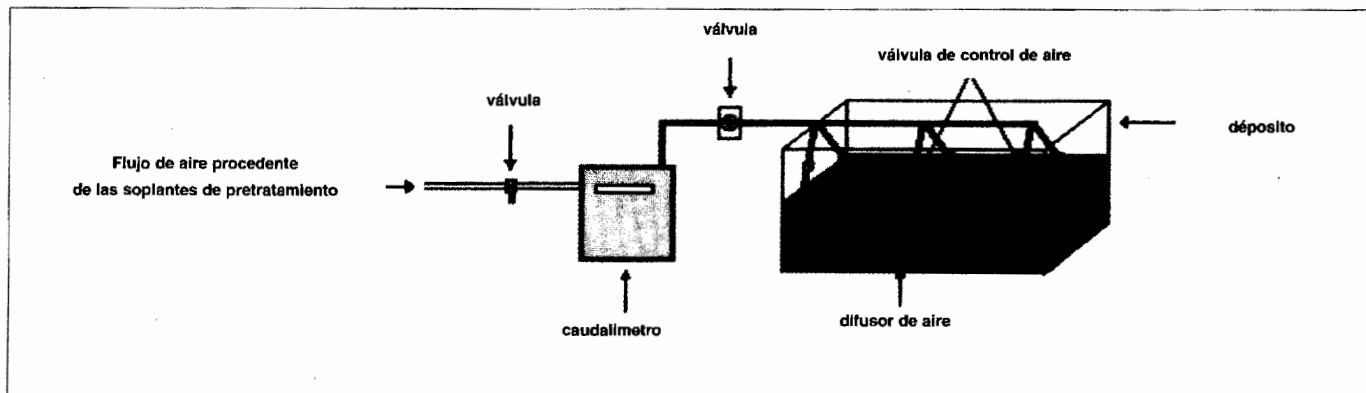


Fig. 1. Esquema del sistema Batch utilizado en la experimentación

T ^o C	pH	ST gr/L	SV gr/L	DQO mgO ₂ /L	SH ₂ ppm	O ₂ mg/L	CF NMP/gr ST	EC NMP/gr ST	CTC/DAPI	SOUR mgO ₂ /grST	DHA mgO ₂ ·g ⁻¹ SV·día ⁻¹	EA μmoles FDA·min ⁻¹ ·g ⁻¹ SV	DHA/EA Mol O ₂ /μmol FDA
20	6,1	60,4	59,98	77388,6	100	0,05	9000	579,2	0,08	3,08	31,6	14,5	49,6

Tabla 1. Características iniciales del lodo mixto

En este trabajo se comparan tres grupos de parámetros, dos de ellos, los físico-químicos y los microbiológicos, usados tradicionalmente; el tercero lo constituyen las medidas de actividad, las cuales están empezando a ser usadas en el control de este tipo de procesos

de aire era aportado por un grupo de compresores que dotaban al sistema con un flujo de 0.05 m³/h, lo cual permitía mantener una concentración de oxígeno en el reactor entre 0,2-0,4 mgO₂/L

Parámetros físico-químicos

Para la determinación del pH se utilizó un medidor pH/mV de la casa CRISON modelo "Portable 506", provisto de un electrodo de la misma casa y referencia Cat. N° 52-00.

Las medidas de oxígeno y temperatura se llevaron a cabo usando un oxímetro de membrana de la casa WTW mod. OXI 92, con precisión de 0.1 mg/L de oxígeno, y provisto de un sensor de temperatura.

día	0	2	4	7	16	26	30	38	46	53	60	78	106	135
pH	6,1	6,52	6,83	6,71	6,67	7,29	7,38	6,93	6,95	7,31	7,5	7,81	7,73	7,85
%SV	60	63,9	61,8	62	58,8	59,5	58,8	58,2	55,8	55,2	52,4	48,9	43	39,7
DQO (mg O ₂ /L)	77388	69656	69534	71665	67861	78838	71337	55490	55981	50601	48795	43116	38404	37315
H ₂ S (ppm)	100	100	100	90	50	30	--	35	--	40	24	12	3	0

Tabla 2. Evolución del pH, Sólidos Volátiles y producción de sulfhídrico a lo largo del ensayo

Para la determinación de sulfhídrico se usó un método basado en el mismo principio que el propuesto por Hartman (1979). Se tomaron 5 ml de lodo que se incubaron durante 24 horas en tubos de rosca de 12 mL de capacidad, a una temperatura de 20 °C. El sulfhídrico producido se midió con un equipo perteneciente a la casa Dräger, modelo PacIII y provisto de un sensor catalítico de sulfhídrico.

Las determinaciones de la demanda química de oxígeno (DQO) se realizaron por dicromatometría sobre las muestras de digestión y de los fangos de alimentación del digestor, de acuerdo con el Método Normalizado 5220C de la APHA-AWWA-WPCF. Este método es válido para la determinación de muestras con DQO inferiores a 2.500 mgO₂/L.

Para la determinación de los sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) se empleó el método recomendado por los Métodos Normalizados (APHA-AWWA-WPCF, 1989).

Parámetros microbiológicos

Para la determinación de los Coli-

formes Fecales y Escherichia Coli se ha seguido el procedimiento recomendado por los Métodos Normalizados (APHA-AWWA-WPCF, 1992). El método está basado en un recuento estadístico mediante la técnica del número más probable (NMP), usando para ello 3 series de 5 tubos. El medio de cultivo utilizado ha sido el A-1 Medium, de la casa DIFCO.

La determinación de la población de bacterias activas se ha realizado siguiendo el método propuesto por Griebe y col, (1995), que utiliza una sal de tetrazolium (5-cyano-2,3-ditylyltetrazolium chloride (CTC)) para distinguir las bacterias metabólicamente activas de las que no lo son mediante microscopía de epifluorescencia. La determinación del número total de bacterias se realizó usando el fluorocromo 4, 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), contabilizándose por microscopía de epifluorescencia según el mismo método de Griebe y col (1995).

Medidas de Actividad Biológica

Para la determinación de la tasa de consumo de oxígeno (Oxygen



Uptake Rate, OUR) el procedimiento seguido fue el recomendado por los Métodos Normalizados (APHA-AWWA-WPCF, 1992). No obstante, y debido a la alta concentración de sólidos presentes en las muestras, se procedió a su dilución previa, usando para ello agua depurada previamente filtrada por 0,45 mm y autoclavada (la utilización de esta agua evita cambios bruscos osmóticos en los microorganismos, y no presenta una demanda de oxígeno suplementaria).

El método usado para la determinación de la actividad esterasa es una modificación del propuesto por D. A. Fontevielle y col. (1992).

Para la determinación de la actividad deshidrogenasa en las muestras de lodos se utilizó el método propuesto por Lopez y col (1985), el cual se basa en la medida del color que se produce al reducirse el sustrato original INT (cloruro de 2-(p-nitrofenil)-5-feniltetrazolium) a INT-formazán por el efecto oxidativo de las enzimas deshidrogenasas.

Resultados y discusión

Se partió de un lodo mixto, procedente de los decantadores primarios, con un marcado carácter anóxico debido al tiempo hidráulico de residencia que permanece en los mismos. Las características iniciales del lodo aparecen reflejadas en la Tabla I.

Parámetros físico-químicos

En la Tabla II se presentan algunos de los valores más representativos de los distintos parámetros físico-químicos estudiados durante el tiempo que duró el ensayo.

Diferentes autores (Anderson y Mavinic, 1984; Al-Ghusain y Hao, 1995) utilizan la medida del pH como parámetro de control de la estabilización que se produce en una unidad de digestión de lodos. En este sentido, un aumento de los valores de pH hasta aproximadamente 7,6-7,8 serían

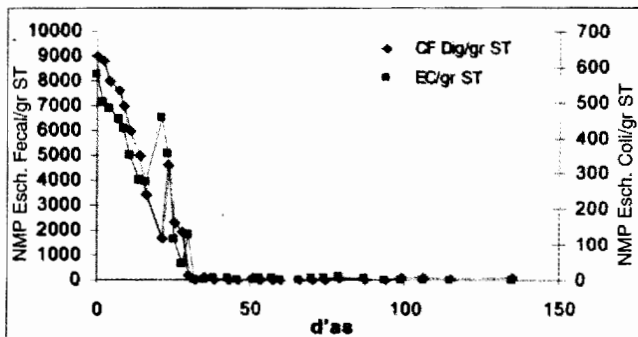


Fig. 2. Evolución de los Coliformes Fecales y "Escherichia Coli"

Se partió de un lodo mixto, procedente de los decantadores primarios, con un marcado carácter anóxico debido al tiempo hidráulico de residencia que permanece en los mismos.

an indicativos de una primera fase en la estabilización de los mismos. Por otro lado, esos mismos autores han descrito que los procesos de nitrificación y la liberación de ácidos de la lisis celular que pueden producirse en el digestor llevan asociado un descenso en los valores de pH.

También en la Tabla II se puede apreciar cómo los sólidos volátiles experimentan una disminución lineal, atribuible al proceso de respiración endógena que está teniendo lugar en el reactor y que provoca una reducción paulatina del porcentaje de sólidos y una estabilización de los lodos. El rendimiento obtenido después de 135 días es de un 33,7%.

El descenso que experimenta la DQO durante el ensayo puede ser debido al proceso degradativo del sistema y a la respiración endógena, pasando de un valor inicial de 77.388 mg/L a 37.315 mg/L al final del ensayo lo que supone un 48,2% de reducción de la DQO. A partir del día 70 de experimentación los valores de DQO

permanecen prácticamente constantes, lo que indica que el sistema es estable y la DQO que permanece sin degradar se debe bien a materia orgánica difícilmente biodegradable o a otros compuestos inorgánicos no degradables biológicamente.

Con respecto a la evolución en la producción de sulfhídrico, esta fue disminuyendo con el aumento del tiempo de retención de lodos en el reactor; esta disminución fue exponencial al principio del ensayo y asintótica al final del mismo. Esto es debido a que el aporte de aire inhibe los procesos anaerobios de producción de H₂S, que son importantes en un lodo que ha estado en condiciones anaerobias previo al comienzo del ensayo; además, conforme avanza el tiempo de retención existen menos recursos susceptibles de ser usados por los microorganismos anaerobios para producir el gas H₂S.

Parámetros microbiológicos

En la Figura 2 se representa la evolución seguida por los Coliformes Fecales y Escherichia Coli. Se observa que después de un descenso exponencial en los 30 primeros días, el número de estos microorganismos permanece constante hasta el final del ensayo. No obstante, y a la vista de los valores de estos parámetros, no se puede concluir que el proceso en este tiempo de residencia llegue a la estabilización, ya que como indica la bibliografía (USEPA, 1992) este tipo de parámetro sólo es indicativo de la dirección hacia donde evoluciona el proceso de estabilización y no de la propia estabilización, ya que pueden producirse posteriores revitalizaciones de los microorganismos patógenos.

La relación del número de células activas y totales medidas a través de los fluorocromos CTC y DAPI aporta una información complementaria del estado de la población activa respecto al total de bacterias existentes. En la Figura 3 se puede apreciar como

en los primeros días de ensayo la cantidad de células activas es relativamente baja, aumentando hasta alcanzar el máximo el día 16, debido a las condiciones favorables de oxigenación y sustrato que estos tienen. Se debe señalar que inicialmente se parte de un lodo anóxico, debido al diseño de la EDAR, y según la bibliografía (Smith y McFeters, 1997), la determinación de células activas usando el fluorocromo CTC es poco apropiada para medir la actividad de los microorganismos cuando estos están en condiciones anaerobias; esto podría explicar los bajos valores obtenidos al principio del ensayo. Alrededor del día 30 se produce ya una clara tendencia descendente, hasta el final del ensayo, coincidiendo con las tendencias observadas en las medidas de actividad y acorde con la dinámica del proceso de estabilización del lodo.

Parámetros de actividad biológica

En la Tabla III se puede apreciar cómo en la primera parte del experimento la tasa específica de respiración (SOUR) presenta valores relativamente bajos en comparación con los valores típicos registrados en las unidades de lodos activos (Coello, 1996), debido a las condiciones anóxicas iniciales del lodo. Conforme avanza el ensayo, y al ir estabilizándose las condiciones de oxigenación y de alimento, los microorganismos evolucionan aumentando la tasa de consumo hasta registrar un máximo el día 46. A partir de ese momento se produce un descenso exponencial en este parámetro, lo que indica una disminución de la actividad respirométrica. La legislación norteamericana establece que para que un lodo estabilizado aeróbicamente sea considerado dentro de la categoría A, debe tener un valor inferior a 1,5 mgO₂/h/gST (USEPA, 1992); estos valores de SOUR se alcanzan a partir del día 110 de ensayo.

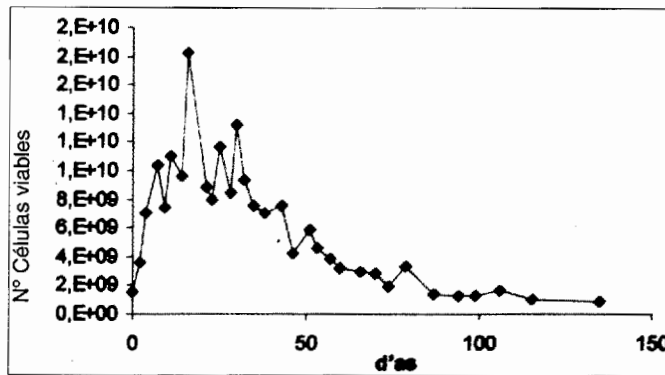


Fig. 3. Relación células activas o viables (CTC)

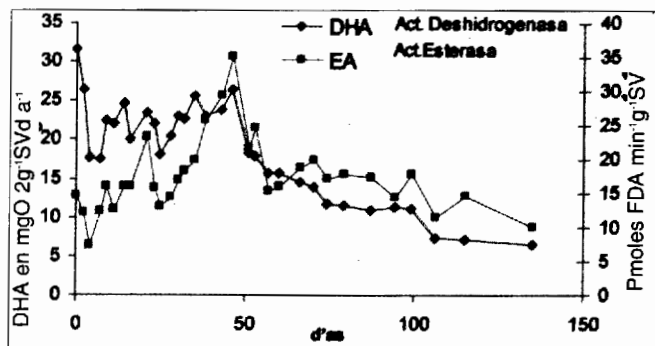


Fig. 4. Evolución seguida por los parámetros enzimáticos DHA y EA

La actividad deshidrogenasa, medida a través de la técnica espectrofotométrica usando el fluorocromo INT, aporta una información clara de la actividad primaria de los microorganismos, ya que está relacionada con los procesos de respiración celular, independientemente de que esta actividad sea aerobia o anaerobia (Maurines- Carbonell y col., 1997). Puede observarse en la Figura 4 como el valor inicial de actividad del fango mixto es de 32 mg O₂·g⁻¹SV día⁻¹, produciéndose un descenso los primeros días debido fundamentalmente a la adaptación de los microorganismos a las nuevas condiciones ambientales; una vez se han aclimatado se produce un ligero aumento de la actividad hasta el día 46, a partir del cual existe una clara disminución de la actividad de los microorganismos.

Con respecto a la medida de la actividad esterasa, determinada a tra-

vés de la técnica espectrofotométrica usando el fluorocromo FDA, hay que indicar que es un parámetro representativo de los procesos metabólicos secundarios, es decir del consumo de reservas energéticas. Si se observa la Figura 4 se puede apreciar como inicialmente se produce un descenso de esta actividad debido probablemente a que al haber recursos suficientes en el medio, no hay necesidad de usar reservas energéticas. Posteriormente, cuando los microorganismos se han aclimatado, se produce un claro ascenso hasta el día 46, donde se alcanza el máximo valor y empieza a descender conforme pasa el tiempo de estabilización. La evolución de este parámetro es parecida a la del SOUR, y coincide con la actividad des-

hidrogenasa. No obstante, y aunque ambas curvas evolucionan de la misma forma, en la primera parte del experimento la actividad esterasa aumenta en mayor medida que la deshidrogenasa, disminuyendo la diferencia entre ambas conforme pasa el tiempo de estabilización. Este efecto puede ser atribuible al hecho de que conforme pasa el tiempo, y los recursos energéticos disponibles en el reactor disminuyen, se entra en fase de endogénesis, consumiéndose las reservas energéticas constituidas fundamentalmente por lípidos; este aumento en el consumo de reservas se ve reflejado en un aumento de la actividad esterasa.

En función de lo anteriormente expuesto, una forma de estudiar la evolución de un lodo hacia la estabilización podría ser el estudio de la relación entre la actividad deshidrogenasa y la esterasa (DHA/EA). En la Figura 5 se representa la evolución de este cociente y la de la relación

día	0	2	4	9	16	25	38	46	53	60	79	106	135
SOUR(mgO ₂ /hgr ST)	3,08	4,24	5,21	6,23	8,19	6,15	8,07	14,5	7,94	6,50	2,87	2,02	1,13

Tabla 3. Valores de SOUR a lo largo de la experimentación

DQO/ST, que puede aportar información de los recursos energéticos por unidad de masa. En ella se aprecia como inicialmente, y cuando los lodos están poco estabilizados y la relación DQO/ST es alta, el valor de la relación DHA/EA es también alto. Conforme avanza el ensayo y el lodo se va estabilizando este cociente se va haciendo cada vez más pequeño, de forma que cuando la

relación llega a un valor de 17 moles de O_2 /mmol de FDA hidrolizado, alrededor del día 46, la evolución de la curva se estabiliza indicando que los procesos metabólicos medidos a través de la actividad esterasa (EA), comienzan a estar más favorecidos que los determinados a través de la actividad deshidrogenasa (DHA), es decir la actividad metabólica secundaria está más favorecida que la primaria, y por tanto el proceso entra en mayor medida en fase de endogénesis.

El coeficiente de correlación observado entre ambas curvas para el periodo de estudio fue de 0,7, lo que implica que la cantidad de recursos disponibles por los microorganismos determina de forma directa el grado de endogénesis alcanzado, y que éste puede ser representado por la relación entre la actividad deshidrogenasa y esterasa.

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos en el reactor a escala piloto se pueden destacar las siguientes conclusiones:

- Los parámetros físico-químicos, DQO, Sólidos Totales y Volátiles, aportan información sobre los rendimientos de la estabilización, pero no reflejan la evolución seguida por los microorganismos, en los que se basa el fundamento del tratamiento, ni los factores que les afectan. Además, los Sólidos Volátiles tienen el inconveniente de obtener el dato después de 24 horas.
- Los parámetros microbiológicos se han mostrado como una herra-

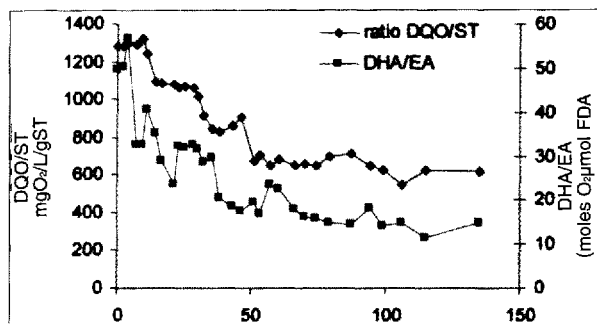


Fig. 5. Evolución seguida por los cocientes DHA/EA y DQO/ST

mienta interesante para conocer la concentración y población bacteriana (Coliformes Fecales y Escherichia Coli) pero no muestran el grado de endogénesis que ocurre en el sistema. La naturaleza del flóculo del lodo, la alta concentración y los cambios de esta, así como la subjetividad del recuento restringen el uso de la técnica de microscopía de epifluorescencia para el control rutinario de la población y actividad de un lodo.

- Las medidas de actividad, y en especial la relación entre la actividad deshidrogenasa y esterasa, puede ser considerada como un parámetro capaz de indicar el estado metabólico en el fango mixto de estabilización. Permitiendo no sólo establecer el rendimiento del sistema, sino el grado de estabilidad alcanzado. Además, este parámetro puede ser usado como una herramienta adecuada para el control rutinario en los digestores aerobios de lodos, debido a que es una medida sencilla, rápida y barata.

- Las medidas de actividad están condicionadas por la concentración de sustrato existente en el sistema asimilable para los microorganismos.

Bibliografía

1. AL-GHUSAIN I. y HAO O. (1995) "Use of pH as Control Parameter for aerobic/anoxic Sludge Digestion" Journal of Environmental Engineering 121 (3): Paper nº7514.
2. APHA; AWWA; WPCF (1989). Métodos Normalizados. Para el análisis de aguas potables y residuales. Editorial Díaz Santos, S.A., Edición en español (1990).
3. AWONG, J., BITTON, G y KOOPMAN B. (1985) "ATP, Oxigen Uptake Rate

and INT-deshidrogenase activity of actinomycete foams". Water Research 7 (19):917-921.

4. COELLO, M.D. (1996) "Determinación de la Actividad de los lodos de una Planta de tratamiento de aguas residuales". Tesis de Licenciatura. Universidad de Cádiz. España.

5. DROSTE R.L. y SANCHEZ W. A.(1983). "Microbial activity in aerobic sludge digestion".

Water.Res. Vol. 17. Nº9. pp 975-983.

6. FONTEVIELLE D. A., OUTAGUE-ROUINE A y THEVENOT D.R. (1992) "Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a measure of microbial activity in aquatic systems: application to activated sludges". Environmental Technology 26 : 531-540.

7. GRIEBE, T., G.,WUERTZ, S. (1995). "Determination of microbial respiratory and redox activity in activated sludge". Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology" 19, 118-122.

8. HARTMAN,R.B., BENNETT, E.R., y LINSTEDT, K.D. (1978) "New procedure determines aerobic sludge stability." Water and Sewage Works 125 (4): 42-44.

9. HERMANN, R.F., y SHANN, J.R. (1993) "Enzyme activities as indicators of municipal solid waste compost maturity". Compost Sciences and Utilization, 1 (4): 54-63.

10. LOPEZ, J.M., KOPMAN, B. y BITTON, G. (1985) "INT-Deshidrogenase test for activated sludge process control". Biotechnology and Bioengineering. 28: 1080-1085.

11. MAURINES-CARBONEILL C., PERNELLE J., MORIN L., SACHON G. y LEBLON G. (1998) "Relevance of the INT Test response as an indicator of ETS activity in monitoring heterotrophic aerobic populations in activated sludges". Water Research 32 (4): 1213-1221.

12. SMITH J. y McFETERS G. A. (1997) "Mechanisms of INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(phenyl) tetrazolium chloride), and CTC (5- cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) reduction in Escherichia coli K-12" Journal of Microbiological Methods 29: 161-175.

13. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). Environmental Regulations and Technology. "Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge" EPA/625/R-92/013. December 1992.