



PRACTICA DE LABORATORIO: PLANTA PILOTO DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES

**CASTELLAR RODRIGUEZ, MARIA ROSARIO; ALACID CARCELES,
MERCEDES; OBÓN DE CASTRO, JOSE MARIA**
**Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería Química y
Ambiental**

RESUMEN

En la enseñanza de las Ciencias, tanto a nivel Universitario como en Secundaria, el medio ambiente es un tema de gran importancia que siempre despierta un gran interés por parte de los alumnos. En nuestra Región de Murcia, donde el agua cobra una especial relevancia, el tratamiento de las aguas residuales y su posible reutilización permite ofrecer un gran número de actividades de enseñanza-aprendizaje a los alumnos con gran variedad de contenidos transversales.

En este sentido presentamos una práctica de laboratorio sencilla en la que los alumnos van a comprender los fundamentos de un sistema biológico de depuración de aguas residuales en el que se basan las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR). La práctica consiste en trabajar con una planta piloto de tratamiento biológico de efluentes. Un esquema del sistema biológico de depuración de aguas residuales se presenta en la Figura 1, y consiste en un reactor biológico alimentado de forma continua con un agua residual procedente de vertidos urbanos o industriales, que se inocula con un fango activo, y está sometido a aireado continuo. Los fangos sedimentan y se recirculan al reactor biológico de forma que el agua sale depurada. Esta práctica es útil para comprender el proceso de degradación biológica de la

materia orgánica, la microbiología de los fangos activos, y los fundamentos del funcionamiento de los reactores biológicos.

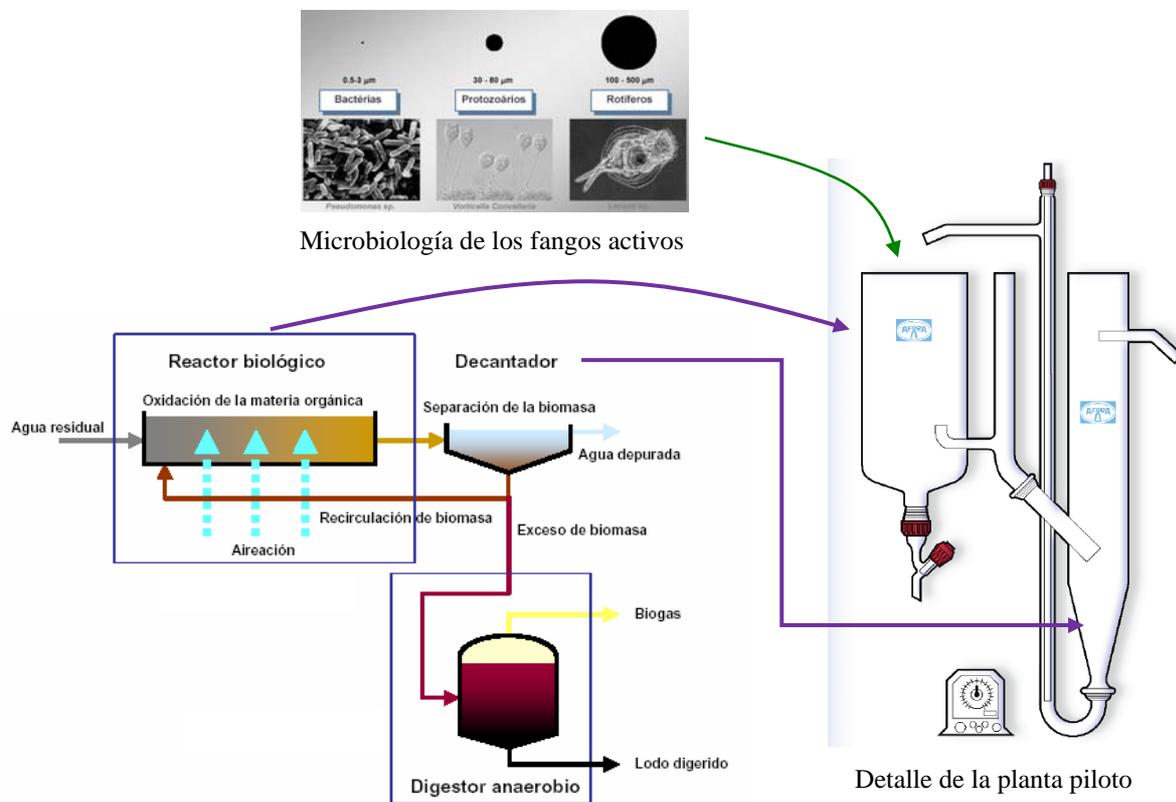


Figura 1. Sistema biológico de depuración de aguas residuales

La práctica se está realizando con éxito desde el curso 2003/2004 en la asignatura de “Tratamiento del agua en la Industria Agroalimentaria” impartida en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, de la Universidad Politécnica de Cartagena. Se organizan grupos de trabajo de 10 alumnos para el desarrollo de la práctica

1. Innovando en la actividad docente: la práctica de laboratorio

Las prácticas de laboratorio ofrecen al profesor una gran variedad de opciones para realizar un proceso de enseñanza-aprendizaje completo.

enumerando y describiendo las nuevas metodologías docentes enmarcadas en el EEES y su implementación en las asignaturas específicas reformulando las clases teóricas, las prácticas de laboratorio, , la nueva dimensión de la tutoría universitaria, el empleo de las tecnologías de la información y la comunicación y que redunden en una mejora de la docencia.

A diferencia de lo que es habitual den las prácticas de laboratorio en las que se suele dedicar una sesión a una o más práctica, la práctica que aquí se propone implica trabajar en varias sesiones sucesivas, en las que se realiza la puesta en marcha, control y seguimiento del reactor biológico. Así, la innovación en la práctica de laboratorio supone un nuevo reenfoque la forma de realizar la práctica, fomentando el empleo de técnicas cooperativas y de nuevas estrategias evaluativas. Vamos a presentar una alternativa frente al enfoque de un profesor que explica en la pizarra del aula laboratorio la práctica a realizar, indica los pasos que el alumno debe realizar, y a continuación deja que los alumnos desarrollen el protocolo experimental, esperando hasta el final de la sesión de practicas para que realicen las actividades prácticas propuestas.

Proponemos un nuevo enfoque del aula laboratorio en el que el alumno interviene en le montaje y puesta en funcionamiento de la práctica, se motiva y se implica en su aprendizaje participando de forma activa. Además el hecho de tener que hacer el seguimiento del desarrollo de la práctica durante varios días, en los que el reactor debe estar funcionando de modo continuo, tanto en el suministro de agua residual como en el flujo de aire, lo hace responsable del control del proceso durante un tiempo largo, a la vez que lo obliga a resolver los posibles problemas o imprevistos que puedan surgir durante la operación. Así, el profesor queda con una labor de tutor, colaborando con las necesidades de los alumnos, y como supervisor del correcto uso y funcionamiento del laboratorio, así como de la seguridad del

mismo. Los alumnos aprenden a trabajar en equipo de forma colaborativa, por turnos, incentivando el aprendizaje entre iguales y la responsabilidad. Finalmente, deben recopilar los datos, presentarlos correctamente y sacar conclusiones de los resultados obtenidos de forma conjunta, lo que les exige una labor de coordinación, y puesta en común de los resultados, como actividad final de la práctica realizada.

Este enfoque implica que las prácticas planteadas deben ser sencillas y realizables, motivadoras, que abordan temas transversales, y cumplan con todas las condiciones de seguridad necesarias.

2. La práctica de laboratorio: El tratamiento biológico de efluentes

2.1. Actividades previas de motivación

El profesor planteará en el aula clase la práctica que se propone, la cual se centra en plantear la importancia y la necesidad de agua para el desarrollo de todas las actividades humanas: domésticas (consumo humano, ocio, etc.), agrícolas e industriales. Por otra parte, e íntimamente ligado a estas actividades humanas, aparece el problema de la contaminación del agua y la importancia del cuidado del medio ambiente que posibilite un desarrollo sostenible. Una de las acciones para conseguir la sostenibilidad medio ambiental es el obligatorio tratamiento de las aguas residuales: urbanas o industriales. Este proceso va a permitir disponer de caudales de agua depurada que podrán tener gran interés para su uso en la agricultura, riego de jardines, etc.

2.2. Objeto de la práctica

Conocer como tiene lugar el proceso de depuración de un agua residual mediante un proceso biológico aerobio (con fangos activos) y ser capaz de entender cómo funciona una planta de tratamiento de aguas residuales de funcionamiento continuo.

Este funcionamiento en continuo hace necesario que esta práctica tenga que realizarse durante un periodo largo de tiempo (mínimo dos semanas), por tratarse de un sistema biológico, debe estar bajo unas condiciones que permitan el crecimiento de los microorganismos responsables de la depuración; de manera que de la misma manera que se cuida a un ser vivo (una mascota o una planta) con alimento y cariño, se tiene que “cuidar” la planta biológica de tratamiento de efluentes con su efluente y controlando las condiciones de operación.

Los objetivos que se plantean en esta práctica son:

- Montaje y puesta en marcha de un reactor biológico de tratamiento de agua residual.
- Caracterización de un fango activo por observación con microscopio óptico.
- Seguimiento y control del proceso de depuración biológica de un agua residual.
- Elaboración de un informe que recoja el desarrollo del proceso y las conclusiones.

2.3. Fundamentos

Entre las técnicas empleadas para reducir la concentración de materia orgánica de las aguas residuales son especialmente importantes los tratamientos de oxidación biológica [1,2]. El fundamento de estos tratamientos consiste en la asimilación aerobia de la materia orgánica degradable biológicamente (Demanda Biológica de Oxígeno: DBO) por microorganismos, en presencia de oxígeno y nutrientes, a través de procesos biológicos de oxidación, síntesis y endogénesis (Figura 2). Los productos finales del metabolismo son CO_2 y H_2O , produciéndose un incremento de la biomasa de microorganismos a expensas de parte de la materia orgánica consumida. Cabe decir que en función de los parámetros de operación, mediante los sistemas de fangos activos es posible también la transformación del nitrógeno amoniacal en nitratos (nitrificación).



Figura 2. Metabolización de materia orgánica: (1) Oxidación, (2) Síntesis y (3) Endogénesis

Uno de los procesos de oxidación biológica más empleados es el denominado “fangos activos”, la Figura 3 recoge un esquema del proceso. El sistema consiste en desarrollar un cultivo bacteriano disperso en forma de flóculo en un reactor biológico, aireado y alimentado de forma continua con el agua a tratar.

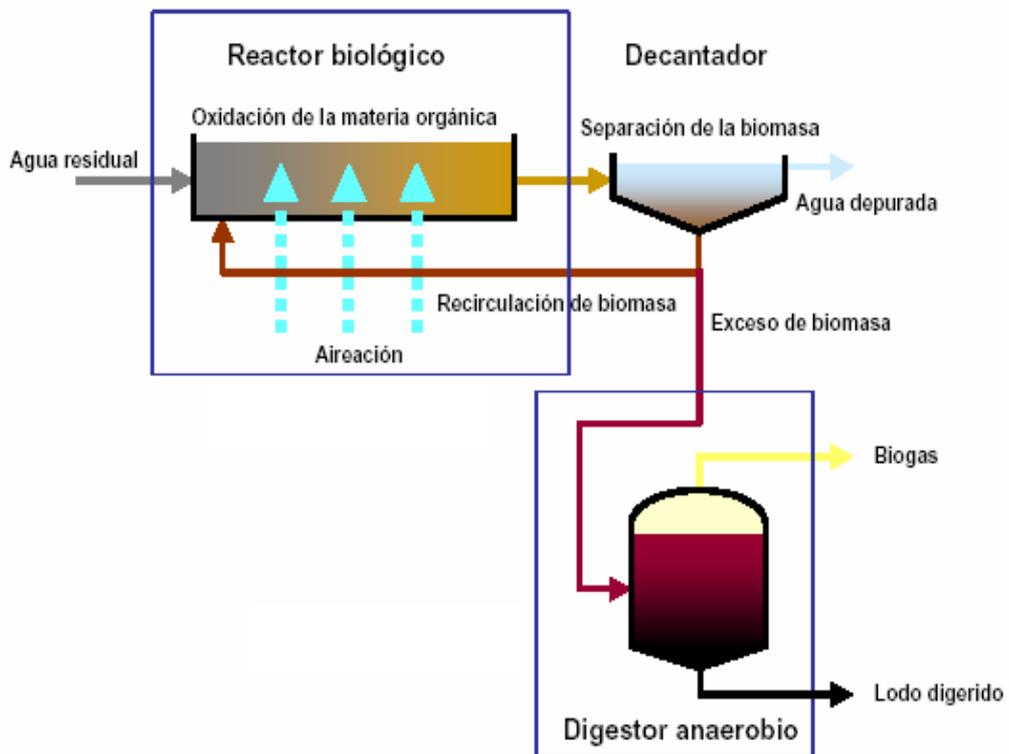


Figura 3. Sistema biológico de depuración de aguas residuales

La aireación tiene por finalidad suministrar al cultivo el oxígeno necesario para el desarrollo de los procesos bioquímicos aerobios. En la oxidación biológica con fangos activos se establece un tiempo de contacto suficiente entre el agua residual y los microorganismos, de manera que éstos degraden la materia orgánica; y mezcla se envía a un clarificador donde se separa por sedimentación la biomasa, constituida por los fangos activos, del agua. Una determinada fracción de esta biomasa separada es generalmente recirculada al reactor para mantener la adecuada concentración de microorganismos, que permita continuar con el proceso de depuración, mientras que el exceso es extraído del sistema para un tratamiento posterior. El fango activo, que está constituido básicamente por material celular (Figura 4), será sometido a un proceso de estabilización a fin de reducir su capacidad de fermentación.



Figura 4. Composición de un fango activo

El nivel o población al cual se debe mantener la masa biológica depende de la eficiencia deseada del tratamiento y de la materia orgánica en el agua residual. Dependiendo de los niveles de materia orgánica de un agua residual los procesos metabólicos que tienen lugar en el fango activo serán diferentes, como se muestra en la Figura 5. Normalmente, la población de biomasa utilizada en el proceso es aquella que conlleva que en unos tiempos reducidos tenga lugar la eliminación de cantidades importantes de materia orgánica.

Por otro lado, del mismo modo que es importante que los microorganismos asimilen la materia orgánica tan rápidamente como sea posible, también lo es que formen un flóculo

adecuado, puesto que ello es un requisito previo para la separación de los sólidos biológicos en la instalación de sedimentación.

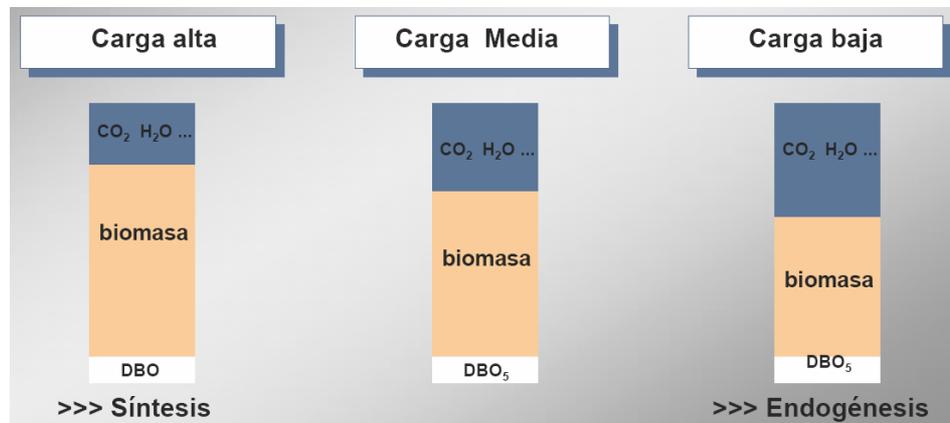


Figura 5. Procesos metabólicos predominantes en función de la carga de materia orgánica en el agua residual

Las experiencias de crecimiento de microorganismos muestran que la velocidad de crecimiento varía con el tiempo y está influenciada por muchos factores ambientales físico-químicos y biológicos como: concentración de sustrato (S), concentración de biomasa (X), concentración de productos (P), pH, temperatura (T), concentración de oxígeno disuelto (S_O), intensidad luminosa y varios inhibidores del crecimiento microbiano.

Los principales organismos presentes en un proceso aerobio de fangos activos son [3]:

- **Bacterias:** Constituyen el 95% de la biomasa (formadoras de flóculos, filamentosas, nitrificantes, etc.) Son los microorganismos que realmente degradan el residuo orgánico del influente.
- **Hongos:** Son poco comunes en los sistemas de tratamientos de aguas residuales urbanas. Su presencia en abundancia se asocia, por lo general, a condiciones de pH demasiado bajas. Pueden ser usuales en procesos industriales.
- **Protozoos:** Son eucariotas unicelulares heterótrofos. Consumen las bacterias dispersas que no han floculado. Distinguimos entre: Flagelados, Rizópodos (Amebas) y Ciliados (pedunculados, libre nadadores, libres reptantes, suctores, etc.).

- **Algas:** Su importancia estriba, no tanto por su capacidad de depuración sino por su capacidad fotosintética, aportando oxígeno. Por ser autótrofas permiten el aumento de la materia orgánica consumiendo el carbono mineral.
- **Metazoos:** Son animales pluricelulares, muy abundantes en los sistemas de depuración que emplean soporte fijo. Se alimentan de sustrato y consumen cualquier partícula biológica pequeña que no haya sedimentado (Rotíferos, Nematodos, Oligoquetos, etc.).

La Figura 6 muestra imágenes y tamaños de estos organismos. Entre ellos se establece una cadena trófica como se muestra en la Figura 7

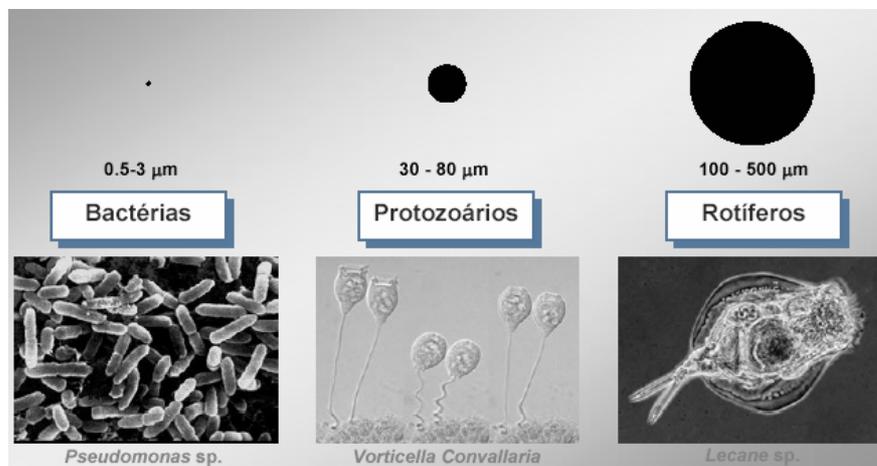


Figura 6. Fotografías y tamaños relativos de los componentes de los fangos activos



Figura 7: cadena trófica que se establece en los fangos activos

En la evolución temporal de un reactor con fangos activos la sucesión de microorganismos ocurre de la siguiente manera:

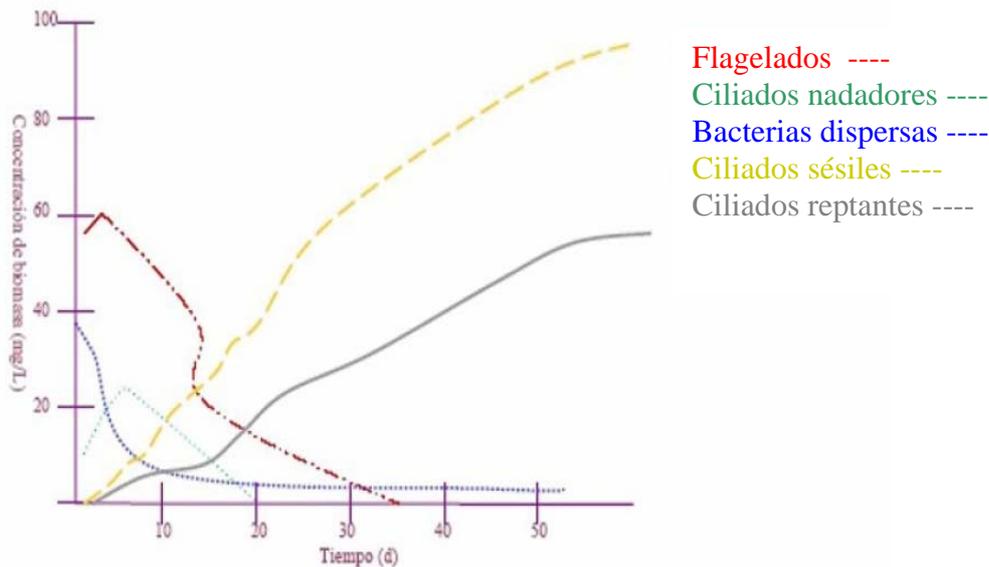


Figura 8. Evolución de microorganismos en el crecimiento del fango activo

Así, el estado de la depuradora se puede determinar en función del tipo de organismos que se encuentre:

- Los protozoos **flagelados** son organismos poco frecuentes en sistema de depuración maduros bajo condiciones estables de funcionamiento. Suelen observarse en las fases de puesta marcha del proceso en compañía de rizópodos (protozoos), para seguidamente ser reemplazados por los ciliados (protozoos). Una población de flagelados abundante indica la presencia de algún tipo de “alteración” en el sistema.
- Los protozoos **rizópodos**, al igual que los flagelados, son poco frecuentes en sistemas de depuración maduros. Pueden aparecer durante las fases de arranque junto con los flagelados, siendo sustituidos posteriormente por los ciliados. Sin embargo, las amebas testáceas pueden aparecer de forma estable junto con algunos ciliados en sistemas que funcionan a elevados tiempos de retención celular (TRC) y en los que las condiciones de

oxigenación son favorables. Con frecuencia, las amebas testáceas están asociadas a estados de nitrificación en el reactor.

- Los **ciliados nadadores** (protozoos) son más abundantes en las fases de puesta en marcha que en fangos maduros. En las fases maduras de colonización, la presencia del flóculo de fango activo, sustrato de los ciliados sésiles, asegura la presencia de éstos, claros competidores con los nadadores por las bacterias en disolución.
- Los **ciliados reptantes** y **sésiles** (protozoos) dominan de forma conjunta la microfauna de un fango activo maduro bajo condiciones estables de funcionamiento. Esta situación se debe a la dependencia de ambos grupos por la presencia de flóculos de fango activo y a la falta de competencia por el alimento. La relación entre ambas poblaciones está en dependencia con ciertas condiciones ambientales como la concentración de carga orgánica.

Normalmente, un fango activo en un sistema estable presenta estas 3 características:

- La población de protozoos se presenta en una densidad superior a 10^6 individuos L^{-1}
- La microfauna se compone principalmente de ciliados reptantes y sésiles, sin apenas presencia de flagelados
- Las especies y grupos de ciliados están muy diversificadas, de manera que ningún grupo supera numéricamente a otro con un factor superior a 10

En el caso de que estas premisas no se cumplan, la identificación del grupo dominante permitirá obtener información sobre la situación particular del sistema (ver Tabla 1). Así se puede determinar el estado del sistema con la simple observación microscópica.

Tabla 1. Estado del nivel de depuración atendiendo a la observación microbiología

Grupo Dominante	Nivel de Depuración	Posibles Causas
Pequeños flagelados	Bajo	Oxigenación insuficiente, sobrecarga orgánica, sustancias en fermentación
Pequeños nadadores (ciliados)	Mediocre	Fango con aireación insuficiente
Grandes nadadores (ciliados)	Mediocre	Sobrecarga orgánica; fango pobremente aireado
Ciliados reptantes	Bueno	
Ciliados sesiles y reptantes	Bueno	
Ciliados sésiles	En descenso	Transitoriedad en la carga orgánica, extracción de fangos reciente, etc
Amebas desnudas y flagelados	Pobre	Carga orgánica muy alta poco degradable
Amebas testáceas	Bueno	

2.4. Actividades previas: preparación del material

Material

- Microscopio óptico (portaobjetos y cubreobjetos)
- Material de laboratorio: bidón de 25 l, vaso de precipitado de 2 l, probeta de 2 l, pipetas y propipetas, espátula, frasco lavador, tubos de ensayo, tubos eppendorff, gradilla
- Balanza granatario, pH metro, conductivímetro
- Centrífuga, espectrofotómetro, estufa
- Reactor biológico para el tratamiento de aguas residuales (3 litros)

El profesor en presencia de los alumnos monta el reactor biológico utilizando el esquema de la Figura 9. Las condiciones aerobias necesarias para el desarrollo del tratamiento se mantienen mediante suministro de aire a través de un difusor.

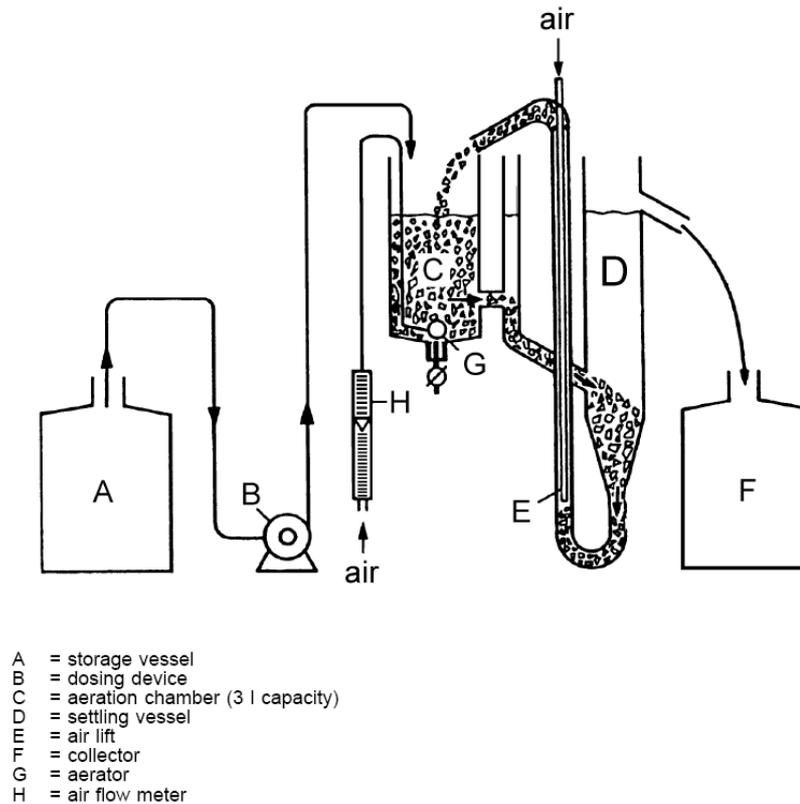


Figura 9. Planta piloto de estudio de tratamiento biológico de efluentes

Reactivos

- Fango activo fresco
- Agua residual simulada: peptona de carne, urea, NaCl, CaCl₂ 2H₂O, K₂HPO₄, MgSO₄ 7H₂O
- Colorantes para tinción de protozoos

Colorantes vitales:

- Azul de metileno (1: 10000 = 0,01g en 100 ml de agua destilada)
- Rojo neutro (1: 1000 = 100 ml de agua destilada + 0,01g de colorante o 1: 3 000 = 0,03g de colorante en 100 ml de agua destilada)

Colorantes no vitales:

- Verde de metilo pironina: El reactivo se prepara con verde de metilo al 1% a partir de una solución de ácido acético al 1%.
- Líquido de Noland: Fenol saturado en agua (80 ml), formol al 40% (20 ml), glicerina (4 ml), violeta de genciana (20 mg).
- Tinción de Fernández-Galiano: El procedimiento a seguir es el siguiente: mezclar 1 gota de formol y 1,7 ml de cultivo y agitar durante 2 minutos. Después, adicionar 3 gotas de piridina, 0,7 ml de carbonato de plata amoniacal, 6 gotas de peptona al 4%, 5 ml de agua destilada. Se pone todo a calentar hasta que la mezcla alcance los 60 °C y vire de color blanco lechoso a color coñac. Entonces, añadir rápidamente 5 ml de hiposulfito o de tiosulfato de sodio al 2,5%. Preparación del carbonato de plata amoniacal: 50 ml de nitrato de plata al 10%, 150 ml de carbonato sódico al 5%, se forma un precipitado de color blanco que se agita y al que se le va añadiendo amoniaco gota a gota hasta la dilución para posteriormente añadir 550 mL de agua destilada. Se guarda en una botella oscura.

2.5. Instrucciones del profesor a los alumnos: Organización del trabajo en grupo

El profesor explicará en el aula clase brevemente las tareas a realizar en la práctica, instruye sobre las condiciones de seguridad que se deben mantener en el laboratorio, y reparte a los alumnos en grupos de trabajo de 4 o 5. Se enseña a utilizar la libreta de laboratorio, que será común para todos los grupos de trabajo y es la clave en cualquier trabajo o investigación, pues en ella se anotarán todos los resultados y observaciones que se obtengan a lo largo de la práctica. Cada grupo deberá realizar, con la periodicidad que plantee el profesor (1 o 2 días), las siguientes tareas: 1) preparar un nuevo bidón de agua residual, 2) seguimiento de la depuración biológica: tomar muestras del interior y de la salida del reactor biológico, determinar el caudal de salida, comprobar el buen funcionamiento del sistema, etc., 3)

observar y analizar los microorganismos presentes en el reactor biológico 4) procesar, etiquetar y almacenar las muestras para su análisis posterior.

2.6. Realización de la práctica

Preparación del agua residual sintética (25 litros)

Peptona (medio carbonado): 7 g; urea: 0,75 g; NaCl: 0,175 g; CaCl₂ 2 H₂O: 0,1 g; Sulfato magnésico heptahidrato : 0,05 g; K₂HPO₄: 0,7 g.

Funcionamiento y puesta en marcha del reactor biológico

Se sugiere empezar con el grupo de alumnos que han mostrado más interés para realizar la puesta en marcha del sistema, que consiste en última instancia en inocular el reactor biológico con el fango activo. Inicialmente se llena la cuba de aireación C y el decantador D con agua residual sintética (ver Figura 9). El decantador D deberá fijarse a la altura precisa para que el volumen contenido en la cuba de aireación C sea de 3 litros. Seguidamente se pondrá en funcionamiento el dispositivo de aireación G, la bomba de aire comprimido E, y la bomba dosificadora B. El agua residual sintética deberá pasar a través de la cuba de aireación C a razón de 1 litro por hora, lo que equivale a un tiempo medio de retención de 3 horas. La inoculación se hará introduciendo 3 ml de efluente secundario de buena calidad recién extraído de una planta de tratamiento que trabaje con aguas residuales. El efluente debe mantenerse bajo condiciones aerobias. Las condiciones aerobias necesarias para el desarrollo del tratamiento se mantienen mediante suministro de aire a través de un difusor.

Seguimiento de la depuración biológica

Se van tomando muestras del efluente con el tiempo (al menos una cada día, durante el tiempo que dure la práctica). En las muestras de agua residual depurada se analizan los siguientes parámetros: el pH, la conductividad, o la cantidad de fango (peso seco, secando hasta peso constante, o midiendo la absorbancia a 660 nm). La cantidad de fangos en

suspensión debe estar entre 2 y 3 g/l. Los datos finales obtenidos se presentarán en forma de gráficos donde se represente la evolución temporal de cada parámetro medido.

Estudio microbiológico de un fango activo

Consiste en observar microscópicamente que especies habitan en el reactor biológico a estudiar (bacterias, protozoarios, rotíferos). Para ello se recogen muestras de 100 mL y se dejan destapadas para que el oxígeno difunda. Las muestra han de ser observadas al microscopio lo antes posible ya que las condiciones en el bote cambian y con ellas las poblaciones de microorganismos. Las muestras se observan en vivo pues el tipo de movimiento de los organismos te indica bastante sobre el grupo al que pertenecen. Se pone una gota en el portaobjetos y se le pone un cubreobjetos, posteriormente se observan bajo el microscopio óptico de menor a mayor aumento teniendo en cuenta que para utilizar el objetivo de mayor aumento es necesario el aceite de inmersión. También se puede concentrar una pequeña muestra de 1 ml por centrifugación y utilizar el precipitado para la visualización al microscopio. Para la determinación de ciertos organismos es necesario observar sus estructuras internas: núcleo, vacuolas pulsátiles, flagelos, patrones de ciliación, etc. Siendo necesario hacer tinciones. Colorantes vitales: azul de metileno evidencia núcleo y gránulos citoplasmáticos eventualmente vacuolas, rojo neutro se acumula en vacuolas digestivas. Colorantes no vitales: verde de metilo pironina: se utiliza para poner de manifiesto los núcleos de protozoos, líquido de Noland: se utiliza para poner de manifiesto los flagelos en aquellos organismos que son flagelados, tinción de Fernández-Galiano: se utiliza para poner de manifiesto los patrones de ciliación de los organismos ciliados.

Claves simplificadas de protistas:

- FLAGELADOS: un flagelo (euglénidos, crisomonádidos, coanoflagelados), dos flagelos (criptomonádidos, volvócidos, crisomonádidos, euglénidos, kinetoplástidos, cercomonádidos), mas de dos flagelos (vahlkampfiidae, diplomonádidos)

- SARCODINOS: Rizópodos (amebas desnudas, amebas testáceas) y heliozoos
- CILIADOS: nadadores, reptantes o sesiles - heterotricos, espirotricos, oligohimenóforos (peritricos), prostómidos, litostomados, filofaríngeos (suctores)

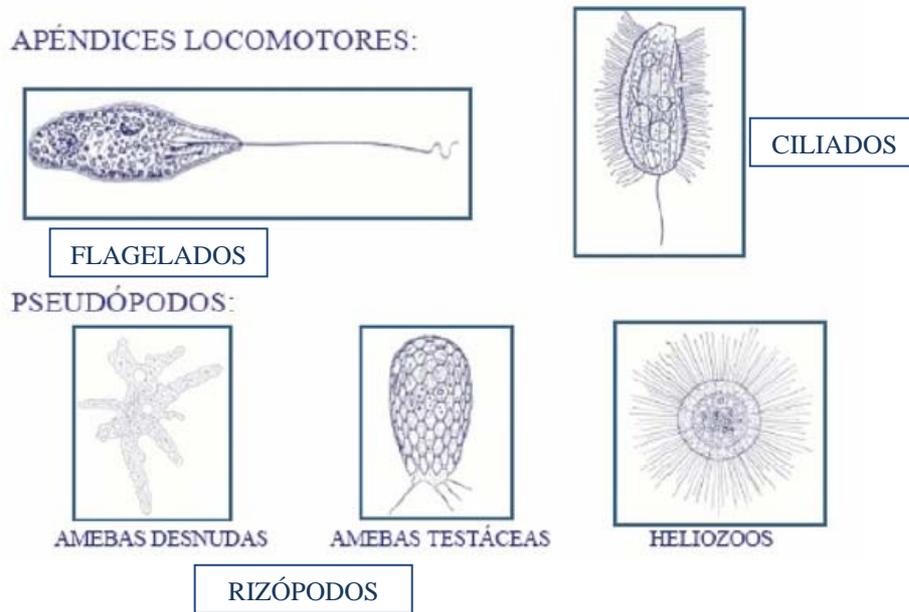


Figura 10. Grupos de protistas en función del tipo de movimiento

En la Figura 11 se puede ver un ejemplo de la diversidad microbiológica que podría observarse en una toma de muestra del interior del reactor biológico.



Figura 11. Microfotografías de fangos activos: se observa un **rotífero** cercano al flóculo principal, y en la inferior un **ciliado** móvil alimentándose de células bacterianas sueltas en la periferia del flóculo.

2.7. Discusión y exposición en el aula clase de los resultados

Una vez que todos los grupos han participado en la realización de la práctica será el momento en el que los alumnos tengan que poner en común los resultados obtenidos. Para ello se deja un tiempo para que realicen y compartan los datos, realizando cálculos y comparando resultados y elaboren un informe para hacer la presentación de los resultados obtenidos. En la sesión de presentación cada responsable de grupo explicará los resultados más relevantes que se han obtenido de la práctica, incluyendo comentarios y discusión de los mismos. Se establece un debate en el que se puede plantear alguna posibilidad de mejora en el desarrollo del experimento y/o manejo de aparatos. Finaliza esta sesión comentando lo que han aprendido.

2.8. Evaluación

En la sesión de presentación de resultados el profesor entregará un cuestionario de evaluación para que sean los propios alumnos los que califiquen el trabajo realizado por sus compañeros. El profesor evaluará a los alumnos de forma global, según el informe final presentado, y también de modo individual, según su grado de participación e implicación en el desarrollo de la práctica. Esta la evaluación de los alumnos, junto con la propia evaluación del profesor, servirán como elementos de calificación.

3. Referencias

- [1] Arias Edison - Lastra Jorge. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos10/tratamie/tratamie.shtml?relacionados> [consulta septiembre de 2008]
- [2] Depuración biológica por fangos activos. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Depuraci%C3%B3n_biol%C3%B3gica_por_fangos_activos [consulta septiembre de 2008]
- [3] VILASECA, M.M. “Observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica”, Boletín Intertex (U.P.C.), 2001, nº119, p.67-72