

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LODOS GENERADOS EN LAGUNAS ANAEROBIAS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES COOPAGUAS R.L.

MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SLUDGE GENERATED IN ANAEROBIC LAGOONS IN THE TREATMENT OF WASTEWATER COOPAGUAS R.L

ALANIS EREÑOZAGA, E.

RESUMEN

La Cooperativa de Servicios públicos COOPAGUAS R.L. es una entidad de servicios de Agua Potable y Alcantarillado (EPSA), responsable de la dotación de agua potable y tratamiento de las aguas residuales domiciliarias generadas a unos 95000 habitantes. La planta de tratamiento de aguas residuales tiene una superficie de 36,6 Ha, de las cuales 32 hectáreas están ocupadas por 6 lagunas anaeróbicas, 3 facultativas y 5 de maduración, y otras 3,6 hectáreas de áreas verdes. La descarga final va por un curso de agua natural desembocando en el Río Grande. La Carga Bacteriana total se determinó mediante el método de Recuento (2215-C). Los Coliformes Totales se determinaron mediante el método de Filtro de Membrana (9922-B). El Recuento Total de Hongos se realizó mediante el método Recuento en Placa (9610 B, C). La carga microbiana total de protozoarios y huevos de helmintos por gramo de lodo seco se realizó por el método de microscopía. Las bacterias se identificaron mediante análisis macroscópico de las colonias, microscópico de su estructura y tinción de Gram. La identificación de hongos se realizó mediante los análisis macroscópicos de las colonias y la observación de su estructura microscópica. La identificación de protozoarios y huevos de helmintos se ejecutó utilizando la técnica de concentración de Ritchie y examen microscópico. La carga microbiana total del lodo residual fue de $1,5 \times 10^8$ UFC/g, siendo el Sólido Total de bacterias, $1,0 \times 10^3$ UFC/g y el resto de Sólido Total de hongos. La carga total de coliformes totales fue de $1,0 \times 10^6$ UFC/g. El número total de protozoarios y huevos de helmintos, dieron como resultado $1,7 \times 10^5$ H/g de Sólido Total. Se identificó la presencia de bacterias tales como *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus spp.*, *Enterococcus* y *Escherichia coli*. Se evidenció la presencia de hongos descomponedores. Y se encontraron 6 especies de helmintos y 1 especie de protozoario.

PALABRAS CLAVE

Aguas residuales, residuales lodos, Carga bacterial.

ABSTRACT

The Cooperative of Public Services COOPAGUAS R.L. is an entity of Potable Water and Sewerage services (EPSA), responsible for the provision of drinking water and treatment of domestic wastewater generated to about 95,000 inhabitants. The wastewater treatment plant has an area of 36.6 Ha, of which 32 hectares are occupied by 6 anaerobic lagoons, 3 facultative and 5 maturing; and another 3.6 hectares of green areas. The final discharge goes through a natural water course ending in the Río Grande. The total Bacterial Load was determined by the Count method (2215-C). Total, Coliforms was determined using the Membrane Filter method (9922-B). The Total Mushroom Count was performed using the Plate Count method (9610 B, C). The total microbial load of protozoa and helminth eggs per gram of dry sludge was obtained by microscopy. Bacteria were identified by macroscopic analysis of the colonies, microscopic analysis of their structure, and Gram stain. The identification of fungi was carried out by macroscopic analysis of the colonies and the observation of their microscopic structure. The identification of protozoa and helminth eggs was carried out using the Ritchie concentration technique and microscopic examination. The total microbial load of the residual sludge was 1.5×10^8 CFU/g, the Total Solid of bacteria, 1.0×10^3 CFU/g, the Total Solid of fungi. The total load of total coliforms was 1.0×10^6 CFU/g. The total number of protozoa and helminth eggs resulted in 1.7×10^5 H/g of Total Solid. The presence of bacteria such as *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus spp.*, *Enterococcus* and *Escherichia coli* was identified. The presence of decomposing fungi was evidenced. And 6 species of helminths and 1 species of protozoan were found.

KEYWORDS

Sewage, sewage sludge, bacterial load.

INTRODUCCIÓN

La Cooperativa de Servicios públicos COOPAGUAS R.L. es una entidad de servicios de Agua Potable y Alcantarillado (EPSA). Sin embargo, para efectos de Licenciamiento Ambiental, se establece como alcance sustantivo entre las actividades relacionadas a la recolección, transporte, y el tratamiento de las aguas residuales domiciliarias generadas en el área de servicio de la Cooperativa.

Es la responsable de la dotación de agua potable, brindando una cobertura a unos 95000 habitantes a través de una planta de tratamiento de aguas residuales. También cuentan con un laboratorio de agua potable y residual debidamente acreditado ante IBMETRO, con su propio registro, lo cual acredita sus análisis que son enviados tanto a la AAPS como al Ministerio de Medio Ambiente. Como actividad principal de la empresa está la captación, depuración y distribución de agua.

La planta de tratamiento de aguas residuales COOPAGUAS R.L. se encuentra ubicada en la UV-283, en el Municipio de Santa Cruz de la Sierra, Provincia Andrés Báñez. Con una superficie de 36,6 Ha, de las cuales 32 hectáreas están ocupadas por 6 lagunas anaeróbicas, 3 facultativas y 5 de maduración, y otras 3,6 hectáreas de áreas verdes.

El tratamiento de las Aguas Residuales es un sistema biológico conocido como laguna de estabilización, que es una estructura para embalsar aguas residuales con el objeto de mejorar sus características sanitarias, conocido como autodepuración o estabilización natural, en el que ocurren fenómenos de tipo físico, químico y biológico.

Este proceso se lleva a cabo en casi todas las aguas con alto contenido de materia orgánica putrescible o biodegradable.

Los parámetros más utilizados para evaluar el comportamiento de las lagunas de estabilización de aguas residuales y la calidad de sus efluentes son la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), que caracteriza la carga orgánica; y el número más probable de coliformes fecales (NMP/CF/100ml.), que caracteriza la contaminación microbiológica.

También tienen importancia los sólidos totales sedimentables, en suspensión y disueltos. Los caudales de diseño que se consideraron fueron de 343 l/s, 1234 m³/hora. Actualmente la PTAR recibe 152 l/s, es decir el 55% de su capacidad de diseño.

Recientemente se ha ampliado el sistema de alcantarillado para una población de 34000 habitantes que generará un incremento de 100 l/s.

El incremento del caudal no representará un aumento de las concentraciones finales.

Una vez que el efluente cumple el tiempo de retención hidráulico de la batería de las lagunas de maduración, este efluente pasa a ser descargado al cuerpo receptor, siendo el canal Guapilo, el cual desemboca al Río Grande.

La descarga del efluente va a un canal revestido con hormigón. La distancia son 4000 metros lineales. El vertido de agua tratada sigue su curso por debajo del puente de la carretera principal a la ciudad de Cotoca, el mismo es descargado a una quebrada natural, que va directamente por un curso de agua natural desembocando en el Río Grande.

MÉTODOS Y MATERIALES

MATERIALES

REACTIVOS

250 ml aceite de inmersión, 10 litros de agua destilada, 5 litros de etanol 96, 50 ml éter de petróleo, 700 ml formol 40%, kit de tinción de Gram, 700 ml lugol (solución de yodo en yoduro de potasio), solución fisiológica. Agar Nutritivo, Agar Sabouraud, Agar MacConkey.

MATERIAL

Tubo de centrifuga, Cubre Objetos, Porta Objetos, Pipeta Pasteur, Vaso de precipitado, Espátula, Capsula de Porcelana, Pinza de Capsula Matraces Erlenmeyer Espátula de Drigalsky Cajas Petri Asa de siembra Vasos de Precipitado Gradilla.

EQUIPOS

Balanza Digital, Horno de Esterilización, Microscopio, Autoclave, Estufa de Incubación.

INSUMOS

Papel Madera, Algodón, Papel Aluminio, Papel film.

MÉTODOS

La muestra se recolecta de las Lagunas Anaeróbicas 2 y 4 de la Planta de Tratamiento, por encontrarse las mismas en etapa de limpieza. La muestra se recolecta de acuerdo a lo especificado en la Normativa Mexicana SEMARNAT-NOM 004/2002, mediante el mecanismo de toma de muestra múltiple, utilizando el método del cuarteo, tomando en cuenta 4 puntos aleatorios de los lodos encontrados en cada laguna.

Se recolectan 8 bolsas de polietileno de 1,10 x 0,90 m, se llena cada una con el material de cada punto de muestreo y se trasladan a un área plana horizontal de aproximadamente 4 x 4 m, de cemento bajo techo, y se deposita su contenido en montículo. Se remueve el material con pala para obtener una mezcla homogénea.

A continuación, se divide en cuatro partes aproximadamente iguales, A, B, C y D. Se eliminan las partes opuestas A y C o B y D. Se repite esta operación hasta que se deja 2 kg aproximadamente de lodo o biosólido, que se recolecta en dos bolsas de polietileno estériles de cierre hermético de 1 kg cada una, para ser trasladada a laboratorio.

Una muestra es para la determinación de la carga microbiana

total de bacterias y hongos y la otra para la determinación de protozoarios y huevos de helmintos.

Durante su traslado las muestras se mantienen refrigeradas y protegidas del sol; además se tiene el mayor cuidado en el manejo de la bolsa que contiene la muestra para que no sufra ninguna ruptura. El tiempo de transporte de la muestra a los laboratorios, es de 1 hora aproximadamente.

Se procede a realizar la segunda toma de muestra 30 días después de realizar la primera toma. Se realiza de la misma manera, siguiendo las especificaciones de la SEMARNAT NOM-004/2002, realizando el cuarteo entre otros detalles ya especificados anteriormente.

La determinación de la Carga Bacteriana total se determina mediante el método de Recuento (2215-C). La determinación de Coliformes Totales se determina mediante el método de Filtro de Membrana (9922-B). El Recuento Total de Hongos se determina mediante el método Recuento en Placa (9610 B, C).

La determinación de la carga microbiana total de protozoarios y huevos de helmintos por gramo de lodo seco se realiza por el método de microscopia.

La identificación de bacterias se realiza mediante análisis macroscópico de las colonias, microscópico de su estructura y tinción de Gram. La identificación de hongos se realiza mediante los análisis macroscópicos de las colonias y la observación de su estructura microscópica. La identificación de protozoarios y huevos de helmintos se realiza utilizando la técnica de concentración de Ritchie y examen microscópico.

En un matraz Erlenmeyer estéril se pesan 10 gr. de lodo residual y posteriormente se le adiciona 90ml. de Solución Fisiológica Estéril (SOLFIS), considerándose la misma como solución Madre.

Después se procede a homogenizar con agitación manual durante 20 minutos.

A partir de la Solución Madre, se realizan 6 diluciones desde 10⁻¹ hasta 10⁻⁶. Se siembra en Agar Nutritivo para observar el crecimiento de bacterias y en Agar Sabouraud para observar el crecimiento de hongos.

De cada dilución se siembran 100 ml. en los medios de cultivo respectivos. Se realizan 3 repeticiones por cada dilución. Se incuban a temperatura ambiente durante 5 días en el horno esterilizado.

Pasado los 5 días, se observa el crecimiento de las colonias tanto de bacterias como de hongos.

Para la identificación de los huevos de helmintos se aplica la Técnica de Ritchie.

RESULTADOS

Se obtuvieron 3 colonias fúngicas:

1) *Aspergillus niger*, *Penicillium spp.* y Levaduras (Figura 1)



Figura 1. Colonia *Penicillium spp.* desarrollada

2) Se encontraron 4 colonias diferentes Gram positivas en el cultivo primario de bacterias:



Figura 2. Colonia *Enterococcus* obtenida

Streptococcus agalactiae, *Bacillus spp.*, *Enterococcus* y *Escherichia coli*. (Figura 2)

3) Después de la realización del Método de Concentración de Ritchie se obtuvieron las siguientes especies identificadas: *Clonorchis sinensis*, *Trichuris trichura*, *Ancylostoma duodenales*, *Entamoeba histolitica*, *Ascaris lumbricoides* y *Alga pinnularia alpina*. (Figura 3)

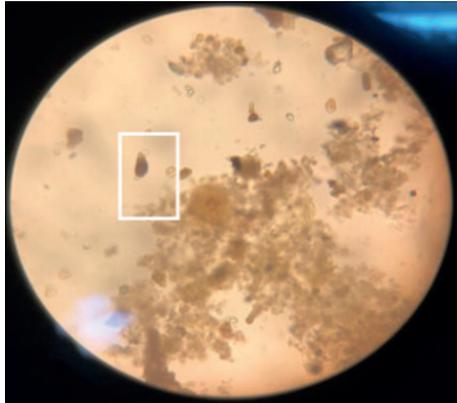


Figura 3. Huevos de *Trichuris trichura* identificados

DISCUSIÓN

Debido a la ausencia de una Normativa Boliviana que regule la calidad físico-química y microbiológica de estos lodos, se compararon los resultados obtenidos con los parámetros establecidos en la Normativa Mexicana SEMARNAT NOM-004,2002 para determinar su calidad, aprovechamiento y disposición final.

La carga microbiana total del lodo residual analizado en las lagunas anaerobias dio como resultado $1,5 \times 10^8$ UFC/g Sólido Total de bacterias, $1,0 \times 10^3$ UFC/g Sólido Total de hongos. Ambos parámetros no están especificados por la normativa mexicana, de igual forma, ambos parámetros están ausentes en otras normativas internacionales que controlan la calidad de lodo de países como Argentina, Chile, Colombia, España y Estados Unidos.

La carga total de coliformes totales proporcionó como resultado $1,0 \times 10^6$ UFC/g de Sólido Total, valor que se encuentra dentro

del rango especificado en la Normativa Mexicana como categoría "C", calificándolo como lodo de tipo excelente o bueno para usos forestales, mejoramiento de suelos y uso agrícola.

La determinación del número total de protozoarios y huevos de helmintos, dieron como resultado $1,7 \times 10^5$ H/g de Sólido Total, valor que se encuentra muy por encima del permitido por la Normativa Mexicana SEMARNAT NOM-004,2002, siendo 35 H/g de Sólido Total el valor máximo admisible, por lo que se concluye que puede traer serias complicaciones para la salud humana y ambiental.

Después de haber realizado los estudios y pruebas específicas, se identificó la presencia de bacterias tales como *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus spp.*, *Enterococcus* y *Escherichia coli*.

Determinando de esta manera, que estas especies bacterianas no son patógenas, es decir, son microorganismos saprófitos. Sin embargo, en altas concentraciones, pueden causar enfermedades e infecciones o actuar como microorganismos oportunistas.

Se evidenciaron especies de hongos descomponedores, los cuales son *Aspergillus niger*, *Penicillium spp.* y Levaduras.

De igual forma, son considerados microorganismos saprófitos, pero de igual manera, en altas concentraciones pueden causar enfermedades micóticas.

Se reconocieron 6 especies de helmintos y 1 especie de protozoario, considerados microorganismos patógenos, por constituirse una gran amenaza para la salud del ser humano, ya que causan enfermedades como parasitosis, al ingerir tan sólo 1 unidad de huevo de helminto.

Dichas enfermedades pueden ser mortales, Estas especies patógenas encontradas fueron huevos de: *Clonochis sinensis*, *Diphyllobotrium latum*, *Trichuris trichura*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma duodenales*, *Entamoeba histolítica* y *Ascaris lumbricoides*.

REFERENCIAS

- Amador-Díaz, A., Veliz-Lorenzo, E., & Bataller, M. (2015). Tratamiento de lodos, generalidades y aplicaciones. Revista CENIC Ciencias Químicas, 10.
- Barbosa, L. (marzo de 2016). Normas Oficiales Mexicanas (NOM). Obtenido de <https://www.lopezbarbosa.net/cursos/legislacion/C3%B3n-ambiental/>
- Guapisaca, M. N. (abril de 2016). Tratamiento de lodos residuales procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales mediante procesos electroquímicos para la disminución de la concentración de huevos helmintos. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12048/1/UPS-CT005871.pdf>
- LEY-1333. (27 de abril de 1992). Ley de Medio Ambiente. Obtenido de INFOLEYES: <https://bolivia.infoleyes.com/norma/2173/ley-de-medioambiente-1333>
- LEY-2066. (11 de abril de 2000). Ley de Prestación y utilización de Servicios de Agua Potable y Alcantarillado Sanitario. Obtenido de http://sea.gob.bo/digesto/CompendioI/O/160_L_2066.pdf
- López, F. A., González, A. R., & Guzmán, J. M. (2017). Comparación de la reglamentación para el manejo de lodos provenientes de agua residual en Argentina, Chile y Colombia. Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 237. Obtenido de 119 file:///C:/Users/hp/Desktop/ARTICULOS%20PREVIOS%20CARACTERIZACION%20MICROBIOLOGICA%20DE%20LODOS/DialnetComparacionDeLaReglamentacionParaElManejoDeLodosPr6285722%20(1).pdf
- Ramalho, R. S. (2003). Tratamiento de Aguas Residuales. Barcelona: Reverté, S.A.
- Tavares, R. (21 de noviembre de 2011). Las aguas residuales no tratadas contienen virus desconocidos hasta la fecha. Obtenido de Madrid Blogs: <https://www.madrimasd.org/blogs/remtavares/2011/11/21/131691>
- Yabid, A. E., Ramos, Navarro, Z., Zumaqué, O., & Violeth, B. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de Trichoderma sp. Colombia Biotecnología, 23-34

CITA

