

Aprendiendo metabolismo microbiano en una EDAR (Estación Depuradora de Aguas Residuales)

S. Díaz. M.T. García. A. Martín-González.

Departamento de Microbiología III. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. c/ José Antonio Novais 12. 28040 Madrid.

silviadi@bio.ucm.es mgesteban@bio.ucm.es anamarti@bio.ucm.es

Resumen: La enseñanza de la Microbiología basada en experiencias reales es una herramienta muy útil y didáctica que facilita el aprendizaje de los contenidos del programa de la asignatura. En el presente trabajo, se pretende ilustrar cómo es posible estudiar algunos de los principales procesos catabólicos microbianos, en especial aquellos llevados a cabo por microorganismos quimioorganotrofos, desde un punto de vista práctico y real. El objetivo principal es que los alumnos comprendan e identifiquen estos procesos metabólicos, así como su importancia, en un contexto biotecnológico y ambiental, utilizando como modelo para desarrollar su aprendizaje, una Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR).

Palabras clave: Catabolismo. EDAR. Metanogénesis. Desnitrificación. Bacterias Quimioorganotrofas.

INTRODUCCIÓN A LA DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

Las **aguas residuales** (AR) se definen como aquellas que provienen del sistema de abastecimiento de agua de una población, después de haber sido modificadas por diversos usos. Según su origen, pueden clasificarse en aguas domésticas o urbanas, industriales, de uso ganadero o agrícola, pluviales, y por último, aquellas de origen incontrolado (vertidos ilegales, infiltraciones). Las AR están compuestas fundamentalmente por toda una gama de compuestos orgánicos biodegradables además de materia inorgánica, principalmente fosfatos y nitrógeno amoniacal, también, pueden presentar pequeñas cantidades de surfactantes, compuestos xenobióticos y otras sustancias de origen antropogénico. En AR urbanas, la materia orgánica está constituida principalmente por proteínas (40-60%), carbohidratos (25-40%) y grasas o lípidos (10%). La mayoría de estos compuestos pueden ser utilizados como fuente de carbono y energía por microorganismos quimioorganotrofos aerobios o anaerobios facultativos. Además, las AR contienen una elevada carga microbiana, mayoritariamente formada por bacterias quimioorganotrofas, de origen fecal. Estas AR no pueden ser vertidas directamente a un cauce natural de agua (río, mar) antes de ser depuradas, ya que provocarían una alteración en el equilibrio fisicoquímico y biológico

del ecosistema natural. Por otra parte, la carga microbiana del agua debe ser reducida, para que su vertido no cause problemas sanitarios. Para que puedan ser vertidas a los cauces de agua, las aguas tratadas deben de cumplir una serie de características físico-químicas, biológicas y microbiológicas, que están legisladas (En España: Real decreto 509/1996, 15 marzo de 1996). Dichas características son mucho más restrictivas (BOE 294, 8 diciembre de 2007), si el agua tratada se pretende reutilizar con diversos fines; riego de parques y jardines, extinción de incendios, lavado industrial de vehículos, etc.

Un sistema de depuración es el conjunto de procesos de naturaleza física, química y biológica que se aplican a las aguas residuales, fundamentalmente urbanas, con cuatro objetivos principales: 1) Eliminación de elementos sólidos, grasas y arenas, que son perjudiciales para su tratamiento biológico y posterior reutilización, si procede, 2) Degradación o mineralización de la materia orgánica, 3) Reducción o eliminación de nutrientes inorgánicos, principalmente nitratos y fosfatos y por último, 4) Eliminación de microorganismos patógenos y parásitos, principalmente de origen fecal. Estos procesos se llevan a cabo a gran escala en las estaciones **depuradoras** de aguas residuales (EDAR) o estaciones **regeneradoras** de aguas residuales (ERAR), si además, incluyen tratamientos terciarios de regeneración de aguas. En España, la mayoría de las aguas residuales de origen urbano, se tratan en estaciones depuradoras de aguas residuales por **lodos** o **fangos activos**. En la figura 1 se ilustra un esquema general de las diferentes etapas y procesos, de una EDAR por fangos activos. Este sistema de tratamiento presenta dos características principales; en primer lugar, hay degradación aerobia de la materia orgánica. En segundo lugar, las poblaciones microbianas heterótrofas se encuentran en suspensión, formando complejos heterogéneos, denominados **flóculos**. El conjunto de flóculos presentes en los reactores biológicos, son los lodos o fangos activos. Básicamente, el agua residual urbana llega a la planta de tratamiento por uno o más colectores, donde es sometida a tres etapas o procesos principales: pretratamiento, tratamiento primario y tratamiento secundario o biológico.

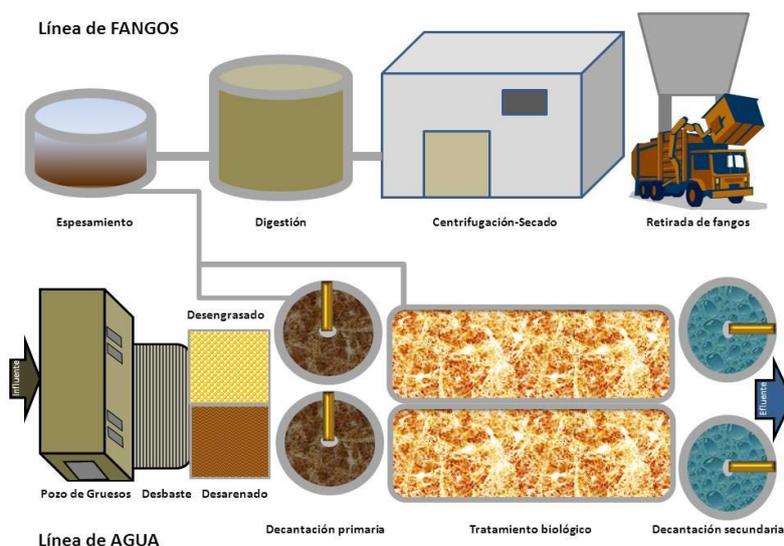


Figura 1. Esquema de una EDAR (Estación Depuradora de Aguas Residuales).

El pretratamiento consta de una serie de procesos físicos o físico-químicos que tienen como objetivo eliminar del agua residual, toda una gama de materiales y objetos de diverso calibre y naturaleza química (ramas, papeles, trapos, arenas, grasas, etc.), cuya presencia en los reactores biológicos podría alterar la viabilidad y/o capacidad degradativa microbianas. Los colectores de aguas residuales brutas convergen en un pozo de gruesos, arqueta de notable profundidad (3-4 m), donde los elementos de mayor peso van a sedimentar por gravedad. Estos elementos son retirados por una cuchara bivalva, depositándose en contenedores, que son transportados posteriormente a un vertedero controlado. A continuación, el agua residual atraviesa una serie de rejillas o peines, con distinta separación decreciente entre ellas (2 a 0,5 cm), que retienen partículas u objetos de distinto calibre. Finalmente, se eliminan del agua residual la mayor parte de arenas y grasas que contiene, en unos tanques rectangulares abiertos, con fondo tronco-cónico, donde se insufla aire a presión y posteriormente, el agua se deja en reposo. Esta inyección de aire produce una desemeulsión de las grasas, que ascienden a la superficie y la sedimentación de las arenas, que se depositan en el fondo. Este proceso recibe el nombre de **desarenado-desengrasado**. Ambos tipos de componentes, arenas y grasas, se extraen, compactan y depositan en contenedores, que son llevados a vertederos controlados de residuos sólidos.

Después del pretratamiento, el agua se deja decantar o sedimentar en una serie de decantadores, generalmente cilíndricos con fondo cónico, proceso conocido como tratamiento primario. Estos fangos y otros procedentes de etapas posteriores del proceso de depuración, son recogidos constituyendo la denominada **línea de fangos**. A continuación, el efluente primario entra en los reactores biológicos o de tratamiento secundario, donde se va a producir una degradación aerobia de la materia orgánica. La utilización de estos nutrientes, conducirá a un incremento notable de las poblaciones microbianas en suspensión, generándose cantidades importantes de lodos activos. Por tanto, en este sistema **aerobio** de depuración de aguas residuales, la materia orgánica coloidal y disuelta es utilizada por las bacterias **quimioorganotrofas** para su crecimiento, convirtiéndose, por tanto, en materia particulada. Los lodos activos, generados en los reactores biológicos, son separados del agua residual, ya depurada, en los decantadores secundarios o clarificadores. Una parte de los lodos sedimentados es recirculada nuevamente a los reactores biológicos, con lo cual se consigue que en ellos existan elevadas poblaciones microbianas, capaces de degradar la materia orgánica en poco tiempo. El resto de los lodos son recogidos por la línea de fangos, para su posterior tratamiento. En algunas EDAR, el efluente secundario o agua residual tratada es vertido directamente a un cauce de agua superficial. Sin embargo, en la mayoría de las EDAR, el efluente es sometido a un tratamiento avanzado, cuyo objetivo es eliminar del agua, compuestos nitrogenados y con fósforo, principalmente nitratos y fosfatos y/o disminuir la cantidad de microorganismos patógenos o potencialmente patógenos. Los fosfatos y nitratos pueden ser utilizados por los microorganismos presentes en el cauce receptor, como nutrientes inorgánicos. Esto podría ocasionar a largo plazo, problemas de eutrofización o inducir la aparición de afloramientos de microorganismos fotosintéticos, como cianobacterias o diatomeas. En la mayor parte

de las ocasiones, por falta de espacio en las instalaciones de la planta, en los reactores de tratamiento secundario se ponen las condiciones ambientales idóneas para forzar la eliminación o reducción de los nutrientes inorgánicos presentes en el agua. En otras ocasiones, el efluente secundario es sometido a una etapa terciaria en la depuración, para eliminar nutrientes inorgánicos. En las ERAR, para cumplir las exigencias de la normativa vigente, el efluente secundario se somete a diversos procesos, destinados fundamentalmente a causar una reducción drástica de patógenos y/o parásitos presentes en el agua, eliminando riesgos sanitarios potenciales para la población. Aunque estos procesos presentan variaciones específicas en cada ERAR, suelen incluir etapas de **ultrafiltración**, aplicación de **radiación ultravioleta** y finalmente, **desinfección** por cloración.

Los fangos activos procedentes del tratamiento primario y la decantación secundaria son recogidos y pretratados. Este pretratamiento consiste básicamente en producir su espesamiento, eliminando una parte notable del agua, mediante diversos sistemas (espesamiento por gravedad, espesamiento por flotación, centrifugación, prensado por filtros banda, etc.). Una vez espesados, los fangos son sometidos a un proceso biológico de digestión anaerobia o biometanización, generándose biogás. Este proceso será explicado con más detalle, posteriormente.

CONOCER EL CATABOLISMO MICROBIANO ES ÚTIL EN BIOTECNOLOGÍA

Las EDAR/ERAR son un buen ejemplo real, que pone de manifiesto la importancia de aprender, en detalle, el catabolismo microbiano, en determinados contextos y sus consecuencias. En este caso, un buen conocimiento de ciertos procesos catabólicos (respiración aerobia y anaerobia, fermentaciones) implicados en la degradación, aerobia o anaerobia, de la materia orgánica, así como las condiciones fisicoquímicas apropiadas para su desarrollo óptimo, pueden proporcionar información muy valiosa para el diseño, tecnológico y de protocolos operativos, de estas plantas de tratamiento. El diseño y funcionamiento más apropiados de estas instalaciones, teniendo en cuenta las necesidades metabólicas de las poblaciones microbianas que nos interesan potenciar, van a incrementar de manera notable los rendimientos, tanto en la depuración del agua residual, como en el resto de los objetivos que se persiguen en estas plantas. Por tanto, en este contexto concreto, los conocimientos fisiológicos básicos de los microorganismos, pueden tener importantes repercusiones biotecnológicas, sanitarias, económicas y ambientales.

Entre los distintos procesos con participación biológica que suceden en una EDAR urbana por fangos activos, vamos a destacar tres de ellos, donde el papel de los microorganismos es fundamental. La eficacia del sistema de depuración de las AR y su sostenibilidad energética, va a depender, directamente, del rendimiento metabólico de determinadas poblaciones microbianas, principalmente de microorganismos procariotas, de su interacción con otros grupos fisiológicos distintos, así como, del

control del crecimiento que ejercen unas sobre otras. Estos tres procesos fundamentales, llevados a cabo por [microorganismos procariotas](#), que vamos a considerar con mayor detalle, son los siguientes:

1. **Mineralización aerobia de la materia orgánica:** Tiene lugar durante el tratamiento secundario o biológico. En el efluente primario, que entra en los reactores, hay una elevada cantidad de materia orgánica coloidal y disuelta, que es utilizada por un conjunto de bacterias quimioorganotrofas, como fuente de carbono y energía, para su crecimiento. Gran parte de estas bacterias son [copiotrofas](#).
2. **Eliminación de nutrientes inorgánicos:** Como hemos señalado anteriormente, la eliminación de compuestos inorgánicos con fósforo o nitrógeno, metabólicamente utilizables por los microorganismos, suele tener lugar en los reactores de tratamiento secundario. En cada caso, intervienen grupos específicos de microorganismos procariotas (la mayoría del dominio *Bacteria* y algunas especies del dominio *Archaea*).
3. **Digestión anaerobia de los fangos. Biometanización:** En las EDAR/ERAR por fangos activos, que tratan las aguas de una gran ciudad, como por ejemplo Madrid o Barcelona, se generan diariamente centenares de toneladas de fangos. Estos subproductos, considerados como contaminantes, van a ser reciclados mediante un proceso de digestión anaerobia. Este proceso de recuperación y [valorización de residuos](#) nos va a permitir aprender y diferenciar entre diferentes procesos catabólicos microbianos, poniendo de manifiesto la importancia que tienen las interacciones microbianas, especialmente en aquellos ambientes carentes de oxígeno.

EL TRATAMIENTO BIOLÓGICO (O SECUNDARIO)

El tratamiento secundario o biológico en una EDAR por fangos activos se va a llevar a cabo en una serie de reactores o tanques abiertos de gran volumen. A veces, si se dispone de espacio físico suficiente en la depuradora, el tratamiento secundario se realiza en varias etapas sucesivas. Cada etapa se desarrolla en varios reactores biológicos, dispuestos en paralelo, que operan en condiciones ambientales diferentes, especialmente en lo que se refiere a la cantidad de oxígeno disponible. La concentración de oxígeno es un factor ambiental crucial, ya que va a seleccionar, además de otros factores, los grupos fisiológicos microbianos que van a crecer y metabolizar distintos componentes del efluente primario. Según esta característica, los reactores biológicos pueden funcionar bajo tres condiciones operativas diferentes: [aerobias](#) (en presencia de oxígeno disuelto), [anóxicas](#) (baja concentración de oxígeno y concentración elevada de nitratos) y [anaerobias](#) (en ausencia de oxígeno disuelto).

En los reactores biológicos se van a desarrollar una gran variedad de microorganismos procariontes y, en menor medida, eucariotes, así como, diversos virus, principalmente de origen fecal. Además, existen menores concentraciones de pequeños metazoos, principalmente algunas especies de rotíferos y nemátodos (CLOETE y MUYIMA, 1997). Es posible considerar a estos reactores, como un modelo experimental útil de un ecosistema artificial (MADONI y GHETTI, 1981) que debe encontrarse en un equilibrio perfecto. En estos ecosistemas, se representa a la perfección una cadena trófica, en donde una parte de las poblaciones de microorganismos procariontes, que mineralizan los compuestos orgánicos y captan o transforman los inorgánicos del AR, son consumidas por los protozoos que a su vez, se encuentran en la base de la alimentación de los rotíferos y nematodos.

Para aumentar u optimizar el rendimiento de depuración en los reactores biológicos, además de condiciones ambientales óptimas para cada proceso metabólico, se requiere alcanzar una elevada concentración de microorganismos. Las ERAR/ERAR por lodos activos son plantas de tratamiento en las que, por su diseño y características operacionales, se va a favorecer el crecimiento de los microorganismos en suspensión. Gran parte de estos microorganismos, principalmente procariontes, van a formar estructuras complejas y sedimentables, denominadas flóculos. El resto de las células microbianas crece en suspensión en el agua residual, parcialmente tratada, que contienen los reactores secundarios. En conjunto, el contenido de los reactores biológicos recibe el nombre de licor de mezcla.

Composición biótica de los fangos activados

Los flóculos suelen presentar un tamaño medio que oscila entre 50-500 micras y presentan dos niveles estructurales de organización: macroestructura y microestructura. La **macroestructura** está formada por bacterias filamentosas que se entrecruzan, formando una especie de enrejado muy irregular, que constituye la estructura inicial de anclaje para otros microorganismos, lo que permite formar flóculos de mayor tamaño consiguiéndose una buena sedimentación de los mismos y, por lo tanto, un efluente con una baja turbidez. Sin embargo, el crecimiento excesivo de estas bacterias filamentosas aerobias puede tener efectos desfavorables en la sedimentación secundaria de los flóculos y ocasiona el fenómeno conocido como **bulking o esponjamiento** de los fangos. Los flóculos son grandes, poco compactados y no pueden sedimentar. Este hecho impide la recirculación de una parte de los fangos al reactor biológico, y por tanto, la concentración microbiana del mismo, va disminuyendo paulatinamente. Entre las bacterias filamentosas más frecuentes, se encuentran diversas especies de algunos géneros, como *Sphaerotilus*, *Leptothrix*, *Thiothrix* o *Haliscomenobacter*. La **microestructura** está constituida por bacterias heterótrofas, generalmente Gram-negativas, que forman exopolímeros de naturaleza polisacárida, siendo el género *Zooglea*, el más representativo. A estas masas mucilaginosas se van a adherir de manera dinámica, toda una serie de bacterias de grupos fisiológicos distintos. Además, algunos protozoos, principalmente ciliados y pequeños nematodos pueden formar parte o estar asociados a los flóculos. Con

respecto al componente no biológico de los flóculos, éste incluye, además de los exopolisacáridos ya mencionados; partículas orgánicas e inorgánicas, así como detritus de origen celular.

En conclusión, los microorganismos procariotas son fundamentales en el proceso de depuración de AR. Por una parte, son los principales elementos biológicos componentes de los flóculos. Además, son los microorganismos responsables de la hidrólisis y degradación de materia orgánica y eliminación y/o biotransformación de compuestos inorgánicos.

Los protozoos, principalmente los ciliados, también desempeñan algunas funciones importantes, aunque secundarias, en el proceso de depuración de AR, que consiste en la depredación de la comunidad bacteriana, manteniendo controlado su crecimiento, lo que es especialmente importante en el caso de las bacterias patógenas o fisiológicamente inactivas. Además, los protozoos, sobre todo los coloniales, contribuyen a la floculación y sedimentación de los fangos y son considerados microorganismos bioindicadores del proceso de depuración.

Eliminación o mineralización de la materia orgánica

La composición del agua residual urbana es variable y contiene una fracción particulada, con sólidos de distinto calibre, materia coloidal, microorganismos en suspensión y toda una gama de sustancias disueltas. Una parte importante de estos componentes está formada por materia orgánica de distinta naturaleza (carbohidratos, lípidos, proteínas, urea, etc.), fácilmente biodegradable. En el licor de mezcla que se encuentra en el reactor o reactores de tratamiento secundario hay una gran diversidad de microorganismos procariotas, mayoritariamente bacterias quimioorganotrofas que van a degradar estos compuestos. En las ERAR/EDAR de fangos activos se fuerza que este proceso sea aerobio, insuflando aire a presión por medio de un conjunto de difusores, turbinas u otros sistemas, que generalmente, están dispuestos, con una distribución uniforme, en el fondo de los biorreactores. Aunque este proceso de aireación, supone un gasto energético notable para la planta de tratamiento, proporciona ventajas muy notables para la depuración. En primer lugar, produce una homogeneización continua del licor de mezcla. En segundo lugar, la aireación selecciona el metabolismo y crecimiento de las bacterias quimioorganotrofas aerobias, que van a degradar la materia orgánica por respiración aerobia. Independientemente de las rutas degradativas y sus variaciones, utilizadas por estas bacterias quimioorganotrofas, el proceso catabólico empleado es el de [respiración aerobia](#). En la respiración aerobia, los compuestos orgánicos van a ser oxidados, generándose electrones que son transportados hasta el aceptor final de electrones, en este caso el oxígeno molecular, que se reduce hasta agua. Este proceso catabólico es el que mayor cantidad de energía produce por unidad de sustrato oxidado y como es bien conocido, en este caso el ATP se genera por dos mecanismos diferentes; fosforilación a nivel de sustrato y fosforilación oxidativa. Además, hay que tener en cuenta, que algunos procesos bacterianos (transporte iónico, movimiento flagelar, etc.) que requieren

energía, no emplean ATP sino que, son dependientes directamente de la fuerza protón-motriz. Otro aspecto importante, es que en la respiración, se produce una degradación completa, hasta CO_2 y H_2O , de los compuestos orgánicos. El empleo de la respiración aerobia, hace que la tasa metabólica de degradación y el crecimiento microbiano sean muy elevados. Por tanto, esta estrategia catabólica aerobia, va a asegurar un rendimiento óptimo en la degradación o mineralización de la materia orgánica presente en el licor de mezcla y en último término, en la depuración del agua. El método de determinación de la materia orgánica mediante su oxidación biológica, se denomina **demanda bioquímica de oxígeno** (DBO). La DBO, se puede definir como la cantidad relativa de oxígeno disuelto consumido por los microorganismos, para oxidar por completo toda la materia, fundamentalmente orgánica, en una muestra de agua. Para calcular la DBO es necesario medir la concentración del oxígeno inicial y al cabo de cinco días de incubación, a 20°C. El agua se introduce en unos frascos herméticos, de color topacio. La disminución de la concentración de oxígeno (expresada en mg/L), después de ese periodo, correspondería al valor de la DBO_5 . Aunque la DBO es un parámetro indicativo de la carga orgánica de un agua, también se emplea legalmente para valorar que el proceso de depuración del agua residual ha sido correcto. Para ello, se mide la DBO del influente (agua residual bruta o de entrada). Además, se valora la DBO del efluente secundario, una vez que ha salido de los biorreactores y se ha producido la decantación secundaria. La disminución del valor de DBO en el efluente secundario, es una medida del rendimiento en la mineralización de la materia orgánica en la planta y entre otros parámetros, se utiliza para determinar la eficacia del proceso de depuración del agua residual. En la legislación española, el agua residual tratada debe tener un valor máximo de 25 mg/L, para que pueda ser vertida a un cauce de agua natural.

El vertido directo de un agua residual no tratada a un cauce de agua, con un elevado contenido en materia orgánica y una gran cantidad de enterobacterias, causaría grandes problemas de contaminación sanitaria y una drástica disminución, o incluso agotamiento, de la concentración de oxígeno. Este tipo de vertidos de alta carga no pueden ser eliminados o mineralizados mediante los procesos normales de autodepuración ya que requieren de procesos biotecnológicos optimizados.

Eliminación de fósforo y nitrógeno

Las aguas residuales también contienen una elevada proporción en compuestos orgánicos e inorgánicos nitrogenados y fosfatos, que deben eliminarse para prevenir procesos de eutrofización o excesivo crecimiento microbiano, incluyendo el de microorganismos fotosintéticos (afloramientos).

En las aguas residuales urbanas los compuestos nitrogenados proceden, fundamentalmente, de las excretas animales (heces y orina). El nitrógeno se encuentra en forma orgánica (proteínas, ácidos nucleicos y urea) e inorgánica, en su mayor parte como amonio o amoniaco, aunque también presenta ciertas cantidades de nitritos y nitratos. El nitrógeno amoniacal se puede eliminar del agua residual por métodos

físico-químicos, añadiendo al agua pretratada ciertos agentes floculantes, como la cal apagada. Sin embargo, en la mayoría de las EDAR/ERAR por fangos activos, los compuestos nitrogenados se eliminan de forma biológica. Para ello, se van a forzar u optimizar determinadas etapas del ciclo biogeoquímico del nitrógeno, poniendo en los reactores biológicos las condiciones ambientales idóneas para el metabolismo catabólico de los principales microorganismos procariontas implicados en ellas. Estas etapas son las de nitrificación y desnitrificación.

El amonio presente en las aguas residuales brutas o en el efluente de distintas etapas del tratamiento de depuración, se genera por degradación de los compuestos orgánicos nitrogenados, en un proceso inespecifico denominado **amonificación** que ocurre tanto en condiciones aerobias como anaerobias. Muchos microorganismos, procariontas y eucariotas, pueden llevar a cabo dicho proceso, por lo cual, su concentración suele ser bastante elevada en el efluente secundario. La eliminación biológica de amonio presente en el efluente primario, suele tener lugar, durante el tratamiento secundario. Este proceso, requiere de la cooperación entre dos grupos fisiológicos muy diferentes de bacterias desnitrificantes (que necesitan condiciones anóxicas: bajo contenido en oxígeno y elevado en nitratos) y nitrificantes (quimiolitotrofas y aerobias estrictas). Incrementando la concentración de oxígeno del agua, mediante aireación forzada, podemos crear las condiciones necesarias para el desarrollo óptimo de la nitrificación. Por el contrario, si no introducimos aire a presión y hay elevados niveles de nitratos en el agua, las condiciones serán anóxicas y por tanto, óptimas para el proceso de **desnitrificación**. Adicionalmente, cuando se aumenta la profundidad del reactor y no se aplica aireación forzada, podrán desarrollarse condiciones anaerobias, bajo las cuales, se produce degradación anaerobia de la materia orgánica, más lenta que la aerobia, y una reducción mayor de microorganismos patógenos.

En la práctica, cada EDAR/ERAR tiene un diseño determinado y operativo diferente (sistemas bajo patente), que aplica una serie ordenada de condiciones óxicas, anóxicas y anaerobias, bien, en reactores separados o, en reactores de gran extensión, que presentan una zonación ambiental diferencial.

La **nitrificación**, consta de dos etapas diferentes; cada etapa es llevada a cabo por un grupo de microorganismos procariontas, fundamentalmente bacterias, taxonómica y fisiológicamente distintos. Ambos grupos comprenden procariontas quimiolitotrofos, con metabolismo respiratorio y aerobios estrictos. La primera etapa es la nitrosación y consiste en la oxidación de amonio a nitritos, proceso comprendido por dos reacciones enzimáticas, formándose hidroxilamina, como intermediario (Fig. 2).



Figura 2. Oxidación de amonio a nitritos. AMO = Amonio Monooxigenasa. HAO = Hidroxilamina Monooxigenasa.

A los procariotas capaces de llevar a cabo este proceso se les denomina nitrosas. La mayoría son bacterias y entre los géneros más conocidos se encuentran *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* y la arqueas del género *Nitrosopumilus* aunque sólo algunas especies del primer género se han encontrado en aguas residuales (Hatzenpichler, 2012).

La segunda etapa es la de nitratación u oxidación de nitritos hasta nitratos, según la reacción (Fig. 3).

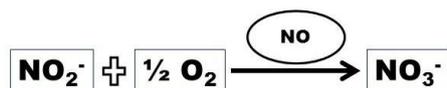


Figura 3. Oxidación de nitritos a nitratos. NO = Nitrito Oxidorreductasa

Los procariotas nitratantes incluyen géneros muy conocidos como *Nitrococcus*, *Nitrospira* y *Nitrobacter*, único género detectado, hasta ahora, en aguas dulces.

El conjunto de ambos procesos, nitrosación y nitratación, constituye la nitrificación. Desde el punto de vista metabólico se trata de procesos de **respiración aerobia**, es decir, los electrones derivados de estas oxidaciones son captados por el oxígeno, que actúa como aceptor final. Además, estas transformaciones o reacciones incluyen la incorporación de oxígeno. Por tanto, para que la nitrificación se lleve a cabo en condiciones óptimas, es necesario que exista oxígeno en abundancia. Esto se consigue introduciendo sistemas de aireación forzada en los reactores biológicos. Otro factor ambiental que debe controlarse es el pH, debido a que los microorganismos nitrificantes son muy sensibles a valores de pH ácido.

Los nitratos generados por nitrificación, van a ser reducidos hasta nitrógeno molecular o dinitrógeno, mediante una serie de reacciones sucesivas, que constituyen el denominado proceso de desnitrificación (Fig. 4).



Figura 4. Etapas de la desnitrificación.

La desnitrificación es una **respiración anaerobia**, en la cual, los nitratos son los aceptores finales de electrones. Requiere de condiciones anóxicas, es decir, elevada concentración de nitratos y bajo contenido en oxígeno. Es un proceso muy sensible a las condiciones de pH. Cuando el pH del agua es inferior a 5,5 el proceso se detiene en la formación de óxido nitroso, que es un gas con doble efecto contaminante. Por una parte, es una molécula con efecto invernadero, que contribuye al Calentamiento

Global del planeta. Además, en los niveles altos de la Atmósfera se fotooxida, generando óxido nítrico, que es capaz de interactuar con el ozono. Este es uno de los múltiples mecanismos implicados en la destrucción de la capa de ozono (WUNDERLIN *et al.*, 2012). Para favorecer el proceso de desnitrificación, el pH del agua debe estar cercano a la neutralidad, además, no se debe aplicar aireación forzada y hay que asegurarse que la cantidad de nitratos presente en el efluente primario sea elevada.

Existe una gran diversidad de bacterias desnitrificantes, que son fisiológica y taxonómicamente muy diversas. La mayoría de ellas tiene otro mecanismo principal de obtención de energía. Entre las bacterias desnitrificantes se encuentran *Paracoccus denitrificans* y varias especies de *Pseudomonas* y *Bacillus* (quimioorganotrofas), *Thiobacillus denitrificans* (quimiolitotrofa) y varias especies de *Rhodospseudomonas* (fotótrofa).

En definitiva, el contenido en nitrógeno de las AR es eliminado gracias a la formación de nitrógeno gas que se escapa a la atmósfera, a la vez que se realiza un consumo de carbono orgánico biodegradable (Aranvinthan *et al.*, 2001, Schmidt *et al.*, 2003). Por otra parte, durante los procesos anabólicos o biosintéticos, los microorganismos y otros organismos presentes en el licor de mezcla, captan del agua compuestos de nitrógeno (amonio, nitritos, nitratos) para formar proteínas, así como otras moléculas orgánicas, que contienen nitrógeno.

Para la eliminación de fósforo en las AR, se puede realizar una precipitación química, adicionando sales de aluminio o hierro. A pesar de que este proceso es bien conocido, sencillo y eficaz, la adición de reactivos químicos al agua puede ocasionar dos problemas importantes. En primer lugar, se trata de un proceso costoso económicamente y además, ésta precipitación del fósforo, supone tan solo, una eliminación en el agua residual, pero genera una mayor cantidad de fangos con elevada concentración en fosfatos, lo que puede interferir en la metanogénesis, uno de los procesos metabólicos más sensibles. La eliminación biológica de fosfatos se fundamenta en el comportamiento diferencial de las bacterias, denominadas genéricamente poli-P, o más recientemente PAO (*Polyphosphate Accumulating Organisms*), que forman gránulos de polifosfatos como material de reserva, en condiciones aerobias, con exceso de fosfato y fuente de carbono. El proceso global de eliminación biológica de fosfatos consta de dos fases que tienen lugar en condiciones anaerobias y aerobias de manera consecutiva (Fig. 5):

- En la primera etapa, en condiciones aerobias, las bacterias poli-P (o PAO) crecen a expensas de los compuestos orgánicos y acumulan los ortofosfatos presentes en las AR en forma de polifosfatos. La cantidad de ortofosfatos acumulados en esta fase aeróbica sobrepasa, en mucho, la liberación de los mismos, que tiene lugar durante la etapa anaeróbica.
- En la segunda fase, se requieren condiciones anaerobias y la disponibilidad de compuestos orgánicos de bajo peso molecular (por ejemplo, ácidos grasos

volátiles de cadena corta) que se acumularán en forma de PHAs (Poli- β -hidroxialcanoatos). En esta fase, la energía necesaria para la acumulación de compuestos orgánicos la obtienen mediante la degradación de los polifosfatos, provocando una pequeña liberación de ortofosfatos a las AR, si la comparamos con la cantidad que acumulan estas mismas bacterias durante la etapa aerobia.

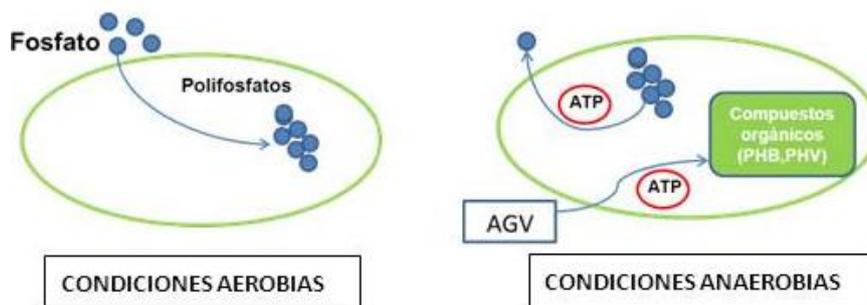


Figura 5. Esquema de la eliminación biológica incrementada de fósforo. PHB = Poli- β -Hidroxialcanoatos, PHV = polihidroxivalerato, AGV = Ácidos Grasos Volátiles.

La sucesión de estas dos etapas, de manera continuada, provoca que las bacterias poli-P sean capaces de ir incrementando la concentración de ortofosfatos que acumulan durante la fase aerobia, con la finalidad de procurarse una reserva que proporcionará ATP necesario para la fase anaerobia. Este fenómeno es conocido como *Enhanced Biological Phosphorous Removal* (eliminación biológica optimizada de fósforo) y está basado en las características fisiológicas de las bacterias poli-P (o PAO). Muchas de las bacterias PAO adaptadas a las condiciones ambientales presentes en las EDAR/ERAR no han sido identificadas y mucho menos cultivadas. En los reactores biológicos, las bacterias PAO están en competición con las bacterias GAO (*Glycogen Accumulating Organisms*). Entre los géneros más frecuentes, identificados por hibridación *in situ*, destacan *Accumulibacter*, *Rhodocyclus*, *Competibacter*, *Malikia* y algunas especies del filo Actinobacteria (OEHMEN *et al.*, 2006; NIELSEN *et al.*, 2012)

LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE LOS FANGOS (ESTABILIZACIÓN)

Las EDAR por fangos activos de un núcleo urbano grande, generan diariamente, toneladas de lodos, que deben ser procesados o biorrecuperados, mediante **digestión anaerobia**. En este proceso, la materia orgánica presente en los fangos es degradada, por un conjunto de microorganismos anaerobios estrictos y facultativos, hasta metano, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de otros gases. Este **biogás** es combustible y puede ser almacenado o bien, transformado en energía calorífica y/o eléctrica, mediante un sistema de cogeneración presente en algunas EDAR, lo que permite un consumo autosuficiente en estas instalaciones. En una EDAR/ERAR por lodos activos se requiere energía fundamentalmente en dos etapas del proceso de depuración. En primer lugar, para obtener las condiciones aerobias en diversas partes de los reactores

secundarios o biológicos. En segundo lugar, durante la digestión de lodos, para mantener las condiciones de temperatura más adecuadas para la generación de metano. La digestión o estabilización se aplica a fangos pretratados, es decir, una vez que han sido espesados o deshidratados parcialmente. Estos fangos pretratados se incorporan a tanques cerrados, normalmente cilíndricos u ovals, de gran tamaño y herméticamente cerrados. Los digestores anaerobios poseen una cúpula móvil, destinada a la recogida de biogás, para su posterior almacenamiento.

Los principales objetivos de la digestión anaerobia de los fangos son:

- La eliminación de patógenos y parásitos.
- La degradación de la materia orgánica para evitar su posterior putrefacción, con la consiguiente generación de malos olores.
- La deshidratación parcial que facilite su posterior secado y transporte a una planta de compostaje.
- La generación de biogás.

La digestión anaerobia de los fangos nos permitirá aprender y diferenciar procesos catabólicos microbianos, como diversos tipos de [fermentaciones](#) y [respiración anaerobia](#), poniendo de manifiesto la importancia de las interacciones microbianas, especialmente en aquellos ambientes carentes de oxígeno.

En Ingeniería o Biotecnología Ambiental, se diferencian dos grandes etapas operativas en la digestión anaerobia de los fangos:

- **Acidogénesis:** en esta etapa, un grupo diverso de bacterias, anaerobias facultativas o estrictas, degradan la materia orgánica presente en los sustratos más complejos, como en los lípidos, produciendo ácidos grasos volátiles, ácidos orgánicos, alcoholes, acetato, CO₂ e H₂. Cuando los sustratos orgánicos son muy complejos (polisacáridos, proteínas, etc.), previamente a la fermentación, se realiza una hidrólisis de estas macromoléculas. Este proceso incluye diversos tipos de fermentaciones (ácido-mixta, butilenglicólica, propiónica, butírica, etc.), generándose una gran cantidad de ácidos, que producen una acidificación del medio.
- **Metanogénesis:** los microorganismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio *Archaea* y son anaerobios estrictos. En esta etapa se consumen los productos generados en el proceso anterior. En la metanogénesis se producen gases, principalmente metano y CO₂, que son los principales componentes del biogás. El biogás contiene un alto porcentaje en metano (50-70 % e incluso 90 %) por lo que es posible su aprovechamiento energético en calderas, motores o turbinas que permitan la generación de calor o electricidad.

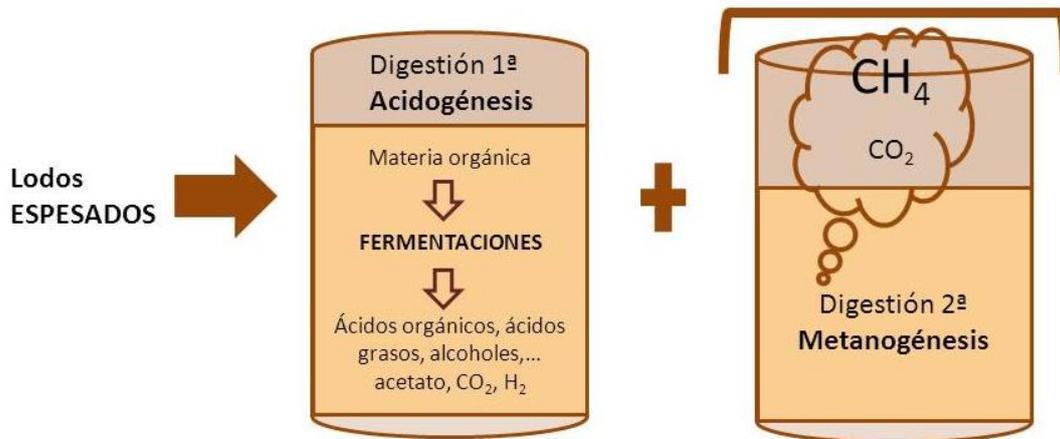


Figura 6. Esquema de la digestión primaria y secundaria de los fangos

Desde el punto de vista bioquímico, la metanogénesis es un tipo de respiración anaerobia (respiración del carbonato). Las arqueas metanogénicas son mayoritariamente quimilolitotrofas y autótrofas; pueden generar metano a partir de tres tipos principales de sustratos (FERRY, 2010), característica según la cual se distinguen tres subgrupos fisiológicos diferentes:

- **Sustratos tipo CO₂ (CO₂, CO, formiato):** Que son reducidos con H₂ (donador de electrones) por las **arqueas metanógenas hidrogenotrofas**. Son las mayoritarias en los digestores anaerobios.
- **Sustratos metilados (metanol, metilaminas):** Las metilaminas también pueden ser utilizadas como fuente de nitrógeno por las **arqueas metanógenas metilotrofas**.
- **Acetato:** las **arqueas metanógenas acetotrofas o acetoclásticas** producen la descarboxilación del acetato, reacción conocida como acetoclástica.

Como la acidificación causa una drástica inhibición de la metanogénesis, en muchas plantas de tratamiento, el proceso de digestión se lleva a cabo en dos fases; una primera, de acidogénesis, que tiene lugar en los reactores primarios y una segunda, de metanogénesis, en los denominados digestores secundarios (Fig. 6). En la transferencia de lodos, parcialmente digeridos, de los reactores primarios a los secundarios se produce una neutralización del pH, mediante productos no inhibidores de la metanogénesis.

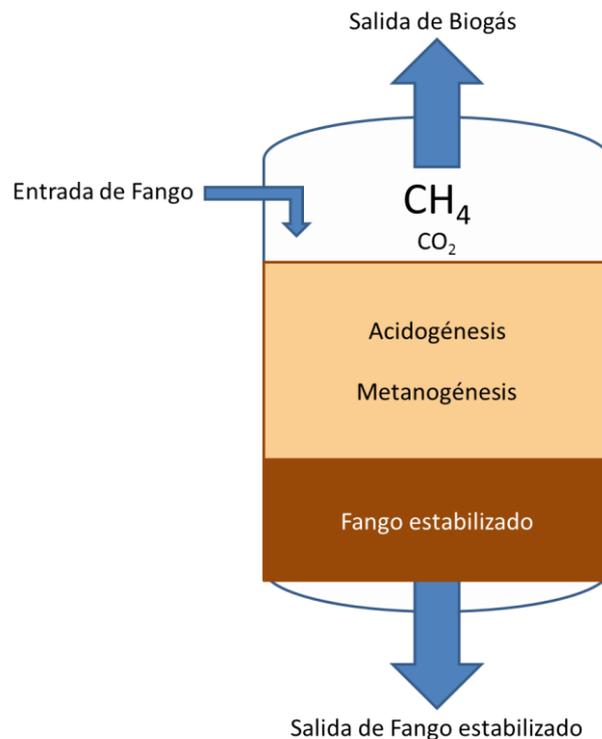


Figura 7. Esquema de los principales procesos de la digestión de fangos.

Como se observa en el esquema correspondiente a la degradación anaerobia de la materia orgánica (Fig. 7), la producción de metano depende directamente de la generación de sustratos y donadores electrónicos necesarios, fundamentalmente dióxido de carbono e hidrógeno y, en menor medida acetato. En los digestores también existen dos grupos fisiológicos principales de bacterias anaerobias estrictas ([sulfatorreductoras](#) y [acetogénicas](#) consumidoras de hidrógeno), que compiten con las arqueas metanógenas, por algunos de los productos derivados de los procesos fermentativos. El desarrollo y metabolismo de las bacterias sulfatorreductoras es especialmente indeseable por dos razones; pueden utilizar hidrógeno, como donador electrónico alternativo y en segundo lugar, generan sulfuro de hidrógeno, gas que ocasiona la biocorrosión anaerobia de las conducciones metálicas del sistema. Además de controlar la presencia de sulfatos, para favorecer y optimizar, en la medida de lo posible, el proceso de metanogénesis en los digestores, se van a controlar el pH y la temperatura, ya que son los factores principales que van a determinar la eficacia de este proceso:

- **Temperatura:** es uno de los principales parámetros a tener en cuenta debido a la influencia que ejerce sobre la velocidad de la digestión. Variaciones bruscas de la temperatura en el digestor suelen provocar la desestabilización del proceso, por este motivo es imprescindible un sistema adecuado de agitación y un controlador de la temperatura. En la actualidad, el proceso [mesófilo](#) (36-38°C) es el más extendido en los digestores, aunque es posible

también realizar una digestión de tipo **termófila** (55-60°C) que favorezca la velocidad de la digestión de los fangos, la producción de biogás y la eliminación de posibles microorganismos patógenos. Sin embargo, la digestión termófila tiene algunos inconvenientes con respecto a la mesófila; ya que suele ser más inestable a cualquier cambio en las condiciones ambientales y es más costosa, en términos energéticos, al necesitar mantener una temperatura más elevada. Algunos estudios recientes han obtenido resultados muy prometedores en la producción de biogás, a bajas temperaturas, proceso denominado metanogénesis **psicrófila** (McKeown et al. 2012).

- **pH:** los diferentes grupos microbianos presentes en el proceso de digestión anaerobia poseen unos niveles de actividad óptimos a valores de pH que se encuentran en torno a la neutralidad (pH 6,5-7,4). Para que el proceso de la digestión se desarrolle satisfactoriamente es necesario controlar que el pH no descienda de 6 o ascienda a valores superiores a 8, ya que generaría un biogás muy pobre en metano.

CONCLUSIÓN

El metabolismo microbiano no es solo una parte ardua del temario de la asignatura de Microbiología, sino que su existencia conlleva importantes consecuencias ambientales, tales como el reciclaje de los elementos biogénicos, lo que posibilita la permanencia de los organismos pluricelulares en la Biosfera. Además, conociendo bien las características fisiológicas microbianas, incluidas las catabólicas, podemos desarrollar y optimizar múltiples procesos biotecnológicos, con el fin de mejorar nuestra vida cotidiana. Analizando estas aplicaciones biotecnológicas, como por ejemplo, la depuración de aguas residuales, podemos comprender mejor las características, limitaciones y rendimientos de ciertas estrategias catabólicas fundamentales que llevan a cabo los microorganismos, principalmente procariotas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aranvinthan, V.; Mino, T.; Takizawa, S.; Satoh, H. y Matsuo, T. 2001. Sludge hydrolysate as a source for denitrification. *Water Science and Technology*, 43 (1): 191-199.
- Cloete, T. E. y Muyima, N. Y. O. 1997. *Microbial community analysis: the key to the design of biological wastewater treatment systems*. Cambridge. University Press, Cambridge.

- Ferry, J. G. 2010. How to Make a Living by Exhaling Methane. *Annual Review of Microbiology*, 64: 453-473.
- Hatzenpichler, R. 2012. Diversity, Physiology, and Niche Differentiation of Ammonia-Oxidizing Archaea. *Applied and Environmental Microbiology*, 78: 7501-7510.
- Madoni, P. y Ghetti, P. F. 1981. The structure of ciliated protozoa communities in biological sewage treatment plant. *Hydrobiologia*, 83: 201-215.
- McKeown, R. M.; Hughes, D.; Collins, G.; Mahony, T. y O'Flaherty, V. 2012. Low-temperature anaerobic digestion for wastewater treatment. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 444-451.
- Nielsen, P. H.; Saunders, A. M.; Hansen, A. A.; Larsen, P. y Nielsen, J. L. 2012. Microbial communities involved in enhanced biological phosphorus removal from wastewater — a model system in environmental biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 452-459.
- Oehmen, A.; Lemos, P.C.; Carvalho, G.; Yuan, Z.; Keller, J.; Blackall, L. L. y Reis, M. A. M. 2006. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Research*, 41: 2271-22300.
- Schmidt, I.; Sliemers, O.; Schmid, M.; Bock, E.; Fuerst, J. ; Kuenen J. G.; , Jetten, M. S. M. y Strous, M. 2003. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. *FEMS Microbiology Reviews*, 27: 481- 492.
- Wunderlin, P.; Mohn, J.; Joss, A.; Emmenegger, L. y Siegrist, H. 2012. Mechanisms of N₂O production in biological wastewater treatment under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*, 46: 1027-1037.

BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

- Britton, G. 2005. *Wastewater Microbiology*. Wiley-Liss. Nueva Jersey.
- Gerardi, M. H. 2006. *Wastewater bacteria*. Wiley-Interscience. Nueva Jersey.
- Jördening H.-J. y Winter, J. 2006. *Environmental biotechnology: concepts and applications*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Kim, B. H. y Gadd, J.G. 2008. *Bacterial physiology and metabolism*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Ward, B. B.; Arp, D. J. y Klotz, M. J. 2011. *Nitrification*. ASM Press. Washington.

White, D.; James Drummond, J. y Fuqua, C. 2011. *The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes*. 4ª edición. Oxford University Press. Oxford.

Recibido: 18 abril 2013.

Aceptado: 16 septiembre 2014.