

II-132 - ESTUDIO SOBRE LA REACTIVACIÓN Y RECRECIMIENTO DE COLIFORMES FECAL Y *SALMONELLA* SPP. EN UN LODO DE PURGA PRE-TRATADO MEDIANTE DISTINTAS CONDICIONES DE CALENTAMIENTO Y ENFRIAMIENTO

Sergio Mauricio Magos Navarro

Instituto de Ingeniería, UNAM, México. Estudiante de Maestría en Ciencias Bioquímicas, UNAM. Químico en Alimentos por la UNAM.

Daniel de los Cobos Vasconcelos

Doctor en Ciencias Químico-biológicas por el Instituto Politécnico Nacional, México. Profesor de Asignatura “B” Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México. Posdoctorante DGAPA-UNAM en el Grupo de Investigación en Procesos Anaerobios en el área de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Margarita Elizabeth Cisneros Ortíz

Maestra en Ciencias Bioquímicas por la Facultad de Química de la UNAM. Técnica Académica en el área de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Niltze Citlali Hernández Díaz

Estudiante de licenciatura en Ingeniería Química, Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Adalberto Noyola⁽¹⁾

Doctor en Ingeniería de Tratamiento de Aguas Residuales por el Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas (INSA), Toulouse, Francia. Investigador Titular en el área de Ingeniería Ambiental en el Instituto de Ingeniería. Investigador Nacional Nivel III.

Dirección⁽¹⁾: Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Escolar sin número Edificio 5, Cubículo 310. Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, CP 04510, México, D.F. Tel (++) (52) 56 23 36 01, e-mail: DDelosCobosV@iingen.unam.mx ó novola@pumas.iingen.unam.mx

RESUMEN

El tratamiento biológico de aguas residuales municipales es un método ampliamente usado en las plantas de tratamiento en México, especialmente por vía aerobia, sin embargo una desventaja es la generación excesiva de lodos residuales los cuales están compuestos principalmente por materia orgánica y microorganismos (bacterias, virus, protozoarios, hongos). De acuerdo con la norma oficial mexicana [3] éstas corrientes de lodos tienen que ser tratadas (reducción o eliminación de patógenos y sólidos) previo a su posterior disposición o reúso.

La presente investigación gira en torno a la estabilización de lodos residuales de purga mediante Digestión Anaerobia Mesófila (DAM) acoplada a un pre-tratamiento térmico, para la producción de biosólidos clase A. El pre-tratamiento contribuye a la remoción de coliformes fecales y *Salmonella* spp hasta niveles inferiores a los máximos indicados por la NOM-004-SEMARNAT-2002 para biosólidos clase A y favorece la hidrólisis del lodo, mejorando la DAM. Las temperaturas de pre-tratamiento estudiadas fueron 70°C y 80°C [8].

Con base en la operación de digestores anaerobios mesófilos inoculados y alimentados con lodos pasteurizados (pre-tratados y enfriados), se demostró que los coliformes fecales y *Salmonella* spp se reactivaron y recrecieron en menos de 24 horas. Se enfocó la investigación a confirmar si la temperatura de calentamiento y la rapidez de enfriamiento durante la pasteurización, dan lugar a la reactivación y/o recrecimiento de coliformes fecales y/o *Salmonella* spp.

PALABRAS CLAVE: Pasteurización, lodo residual, patógenos, coliformes fecales, *Salmonella*.

INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales y su tratamiento son una problemática que toda ciudad tiene que enfrentar; el tratamiento de estos efluentes líquidos se hace necesario para no provocar daños al ambiente o para recuperar el agua tratada para otros usos. Para la selección y diseño del proceso, se debe considerar también el adecuado manejo de los residuos generados durante el tratamiento. Tal es el caso del lodo generado por la sedimentación primaria (tratamiento primario) y el lodo producido dentro de los reactores de lodos activados (tratamiento secundario).

El *lodo residual* producido mediante el tratamiento de aguas residuales está compuesto por materia orgánica e inorgánica suspendida y disuelta en el agua residual cruda (lodo primario) y por biomasa producida durante el tratamiento secundario (lodo secundario). Por su naturaleza, el lodo residual es susceptible a descomposición.

Los *lodos* son peligrosos debido a la alta concentración de microorganismos patógenos provenientes de la materia fecal y la enorme cantidad de desechos biológico-infecciosos que se envían al drenaje mediante las diversas actividades humanas. Entre los agentes biológicos asociados a estos lodos se pueden mencionar: bacterias, protozoarios, hongos y virus. Además, en algunos casos y por las razones anteriormente expuestas, los lodos pueden contener metales pesados y compuestos químicos tóxicos para el ser humano y la vida en general.

Existen diferentes métodos para estabilizar los lodos residuales: digestión anaerobia, digestión aerobia, composteo y estabilización alcalina. En lo concerniente a este proyecto se estudió la digestión anaerobia, cuya esencia es la transformación de la materia orgánica en metano, dióxido de carbono y agua en ausencia de oxígeno. Comparado con otros procesos de estabilización, la digestión anaerobia presenta las siguientes ventajas [11]:

1. Reducción de la masa y el volumen de la porción orgánica del lodo, mediante su conversión a metano, dióxido de carbono y agua. Esta reducción se encuentra entre el 25 y el 45% de los sólidos totales (materia seca), lo que implica menores costos en su transporte y disposición final.
2. El biogás producido (CH_4 y CO_2) es un gas combustible que convierte a la digestión anaerobia en un proceso productor neto de energía (45 - 65 % de metano).
3. Los lodos digeridos, por su estabilidad y características fisicoquímicas, pueden ser aprovechados como mejoradores de suelos.

Es importante enfatizar que la energía obtenida mediante la combustión del biogás puede utilizarse para mantener la temperatura necesaria de los digestores anaerobios. El exceso de biogás puede emplearse para la producción de la energía eléctrica que se suministra a la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) mediante el proceso denominado *cogeneración* (en algunos casos hasta el 60% de la energía eléctrica que impulsa los aireadores del sistema de lodos activados [11]).

El proceso de digestión anaerobia puede llevarse a cabo en intervalos mesófilos (20°C - 40°C) o termófilos (50°C - 60°C); por lo general el más común es el mesófilo, porque requiere menor cantidad de energía para conservar la temperatura de operación y ofrece mayor estabilidad del proceso [6]. Es importante señalar que se han puesto en práctica técnicas de digestión anaerobia avanzada [14], entre las que se puede mencionar: (1) digestión mediante separación de procesos (hidrólisis-acidogénesis, metanogénesis), (2) digestión termófila, (3) digestión por separación de fases de temperatura (termofilia/mesofilia).

Los dos últimos tratamientos tienen como base el incremento de la temperatura de operación. Este parámetro se encuentra íntimamente ligado a la inactivación de microorganismos que no intervienen en la digestión anaerobia –ciertos indicadores y algunos patógenos- porque el calor los afecta directamente aumentando o disminuyendo su metabolismo. Lo anterior favorece la obtención de biosólidos de mejor calidad microbiológica que los obtenidos mediante tratamientos mesófilos [12].

Dependiendo de la temperatura, la aplicación de un tratamiento térmico previo a la digestión anaerobia (pre-tratamiento) se disminuye o elimina la presencia de microorganismos patógenos. El tratamiento térmico es reportado como la mejor opción para inactivar huevos de helmintos en lodos [15].

En términos metabólicos, durante la digestión anaerobia, la etapa *hidrolítica* es considerada como el paso limitante [4,8]. Por tal motivo, se presta especial atención a esta etapa para mejorar la eficiencia de hidrólisis. Luego del tratamiento secundario de las aguas residuales, la mayor parte de la materia orgánica en los lodos queda contenida en las células microbianas, por lo que se reduce la disponibilidad de estos nutrientes para los microorganismos anaerobios. Es por eso que se ha estudiado ampliamente la manera de solubilizar el lodo mediante tratamientos previos a la digestión anaerobia (pre-tratamientos).

Los pre-tratamientos tienen por objetivo cambiar la estructura de los flocos (agregados microbianos característicos del lodo activado) y mejorar la solubilidad de la materia orgánica contenida en los lodos. Así, los componentes disueltos pueden ser usados para mejorar la eficiencia de los tratamientos biológicos posteriores o para la recuperación de componentes útiles como nitrógeno y fósforo. En la digestión anaerobia, el impacto positivo de los pre-tratamientos consiste en acelerar la digestión, incrementar la producción de biogás y aumentar la reducción de la masa total de los lodos. Algunos beneficios adicionales para las plantas de tratamiento son: mejoramiento de las propiedades reológicas, facilitar la posterior deshidratación del lodo, la eliminación de la espuma y muy especialmente *la inactivación/destrucción de microorganismos patógenos* [9]. Se ha estudiado el efecto de diversos pre-tratamientos, reportando tanto las ventajas como las desventajas de los mismos [2, 4, 7, 8, 9, 17, 18].

Debido a lo antes expuesto, resulta de gran importancia establecer cuáles son las condiciones que permitan la reducción efectiva y sin lugar a reactivación de coliformes fecales y *Salmonella* spp hasta niveles permitidos por la NOM-004-SEMARNAT-2002 para la producción de biosólidos de Clase A.

OBJETIVO

Determinar las condiciones de calentamiento y enfriamiento del pre-tratamiento aplicado a lodos residuales de purga, con el fin de obtener la mayor remoción de los microorganismos patógenos (coliformes fecales y *Salmonella* spp), sin posibilidad de reactivación o recrecimiento durante la fase de digestión anaerobia mesófila para la obtención de biosólidos clase A.

MATERIALES Y MÉTODOS

Acondicionamiento del lodo de alimentación

Se utilizó lodo primario y secundario provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de los edificios 12 y 18 del Instituto de Ingeniería de la UNAM en Ciudad Universitaria, México.

Por un lado, el lodo primario se obtuvo de una fosa séptica, mientras que el lodo secundario se obtuvo a partir de la purga de los reactores de lodos activados aerobios. Una vez sedimentado, el lodo se decantó y se almacenó a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta su manipulación.

Para obtener una mezcla final de lodos primario y secundario que simulara la misma corriente de lodos de purga en una PTAR municipal se determinó el contenido de sólidos totales, sólidos totales volátiles y sólidos totales fijos [8, 13]. Los lodos primario y secundario se mezclaron en una proporción 60%-40% (w/w), respectivamente.

Pre-tratamiento térmico (pasteurización)

Se utilizó un reactor (termohidrolizador de lodos, figura 1.) de temperatura programable, con agitación mecánica permanente y volumen útil de 1 litro. Con este dispositivo se logró el calentamiento paulatino del lodo hasta una temperatura constante de 70 u 80°C, dependiendo del tratamiento a evaluar. Esta temperatura máxima se mantuvo durante un período de operación de 60 minutos. Posteriormente el lodo se enfrió utilizando tres métodos diferentes. El primer método consistió en el enfriamiento del lodo mediante una corriente de aire

proporcionada por el termohidrolizador hasta 25°C, en el segundo método, el reactor se sumergió en un baño de hielo hasta alcanzar de igual manera 25°C. En el tercer método, el reactor se introdujo en un baño de hielo-NaCl (10% w/w) hasta alcanzar temperaturas de 20, 10 y 0°C. Figura 1.



Figura 1. Reactor de pre-tratamiento (Termohidrolizador de lodos)

Digestión Anaerobia Mesófila (DAM)

Se usaron tres digestores con forma oval (Figura 2) completamente mezclados con capacidad de 9 litros y volumen útil de 5 litros. La temperatura de operación fue de 35°C \pm 1°C; bajo el régimen de operación de 13 días de Tiempo de Retención Hidráulica (TRH) con una carga orgánica de 2.4 gSV/m³ d. Figura 2.

Los lodos pasteurizados se utilizaron como inóculo para arrancar y alimentar posteriormente, los digestores D-I (70°C) y D-III (80°C). El digestor D-II se inoculó con lodo anaerobio mesófilo [10,11] proveniente de un reactor UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor*, por sus siglas en inglés), el cual se alimentó con lodo pasteurizado a 70°C. En todo momento se cuidó que la alimentación estuviera libre de patógenos para asegurar que el recrecimiento se llevaba a cabo por la condiciones de los digestores y no por la alimentación.

Los tres digestores se operaron bajo distintas condiciones para evaluar la influencia del inóculo y la temperatura de tratamiento del lodo de alimentación sobre la concentración de coliformes fecales y *Salmonella* spp. La caracterización fisicoquímica de los digestores consistió en el seguimiento del pH, temperatura, alcalinidad parcial y total, la relación de alcalinidades (α) volumen de biogás producido, composición del biogás y los sólidos totales totales, sólidos totales volátiles y sólidos totales fijos [8,13].



Figura 2. Digestor anaerobio de geometría oval.

Cinéticas de reactivación/recrecimiento

Se emplearon dos temperaturas de calentamiento (70°C y 80°C) durante 60 minutos y en ambos casos, las tres condiciones de enfriamiento previamente expuestas. Para evaluar las cinéticas de recrecimiento los lodos obtenidos se incubaron a 35±1°C con agitación mecánica continua durante un período de 36 a 72 horas.

Métodos Microbiológicos

La cuantificación de coliformes fecales y *Salmonella* spp. se realizó conforme con las metodologías señaladas por la NOM-004-SEMARNAT-2002, que a su vez se fundamentan en los métodos estándar [1], utilizando la técnica de número más probable (NMP) en tubos múltiples en series de tres [5]. La prueba directa para coliformes fecales se realizó en tubos con medio de cultivo A-1 provistos de campanas de fermentación, en este caso, se realizó una preincubación a 37°C durante 3 horas y una incubación a 44.5°C durante 24 horas. Para *Salmonella* spp. se realizó un enriquecimiento en caldo tetrationato a 37°C durante 22 ± 2 horas. Posteriormente se realizó una resiembra en tubos con caldo selenito-cistina que se incubaron a 41°C durante 24 horas para después resembrar en medios diferenciales.

RESULTADOS

Pasteurización

En la Figura 3 se observa el cambio de temperatura con respecto al tiempo para los tres diferentes métodos de enfriamiento evaluados a una temperatura de 80°C, se observa claramente que utilizando el método de baño de hielo-NaCl se obtiene una mayor rapidez de enfriamiento por lo que se recomienda este método para aumentar la eficiencia del proceso de pasteurización de los lodos. Los tres métodos de enfriamiento probados (por corriente de aire, baño de hielo y baño de hielo con cloruro de sodio) mostraron respectivamente una velocidad de enfriamiento creciente (**Figura 3**)

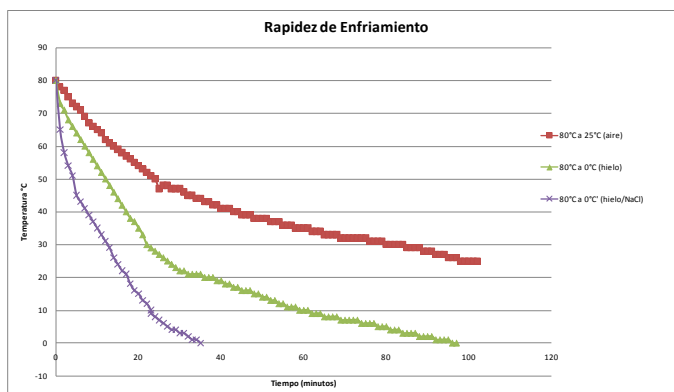


Figura 3. Rapidez de enfriamiento de lodos pasteurizados a 80°C durante 60 minutos

Digestión Anaerobia Mesófila

El proceso de digestión anaerobia se estudió durante 60 días para los digestores D-I y D-III, y 90 días para el digestor D-II. Estos períodos de operación se definieron con base en los resultados fisicoquímicos y microbiológicos previamente obtenidos.

En la Figura 4, se muestran las cinéticas de crecimiento de coliformes fecales y de *Salmonella* spp en los tres digestores estudiados. Se observa que en todos los sistemas se presentó la reactivación y/o el recrecimiento de coliformes fecales y de *Salmonella* spp., así como un drástico incremento de éstos durante las primeras 24 horas de operación. Este incremento fue de 3 y 4 unidades logarítmicas para coliformes fecales y entre 2 y 4 para *Salmonella* spp., aunque se observaron fluctuaciones en el crecimiento durante toda la operación de los digestores el Número Más Probable (NMP) se mantuvo constante. La operación de los digestores se dio por finalizada a los 88 (D-II) y 58 (D-I y D-III) días, en vista de que la concentración de microorganismos

patógenos continuó en valores superiores a los establecidos por la NOM-004-SEMARNAT-2002 para *biosólidos de clase A*; no obstante, los parámetros fisicoquímicos indicaron estabilidad dentro del reactor ($\alpha \geq 0.4$ y producción de biogás).

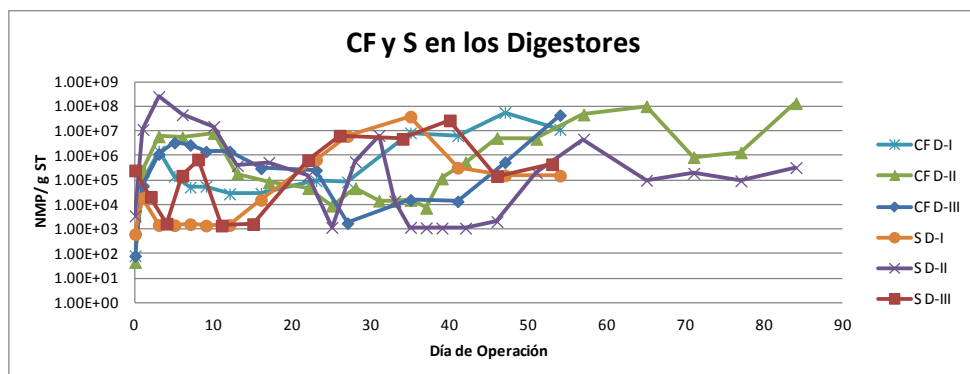


Figura 4. Concentración de coliformes fecales y *Salmonella* spp en los tres digestores anaerobios con respecto a los días de operación (CF: coliformes fecales, S: *Salmonella* spp).

Cinéticas de reactivación/recrecimiento

Se observó que en muestras de lodo pre-tratado tanto a 70 como a 80°C, obtenidas justo después del pre-tratamiento se obtuvo una reducción de entre 6 y 7 unidades logarítmicas para coliformes fecales y entre 7 y 8 unidades logarítmicas para *Salmonella* spp., cabe mencionar que no se encontraron diferencias significativas entre los resultados de remoción de bacterias entre estos dos pre-tratamientos.

Con respecto a los resultados del proceso de pasteurización, en las figuras 5 y 6 se muestran las cinéticas de recrecimiento de coliformes fecales y de *Salmonella* spp para lodos enfriados con aire y con baño de hielo. En ambos casos se observa el recrecimiento de las bacterias durante las primeras 24 horas de incubación. Cuando el enfriamiento fue realizado en un baño de hielo-NaCl se observa una disminución de tanto de coliformes como de *Salmonella* spp, lo cual se evidencia en las figuras 7 y 8.

La efectividad del proceso de pasteurización depende de la rapidez con la que se obtiene un “choque térmico” en la célula, por ello, enfriamientos paulatinos y lentos como el uso de corrientes de aire y de baños de hielo favorecen la recuperación de las células relativamente dañadas por el pre-tratamiento térmico. El enfriamiento rápido que se obtiene en un baño de hielo-NaCl aumenta significativamente la inactivación de patógenos como coliformes fecales y *Salmonella* spp.

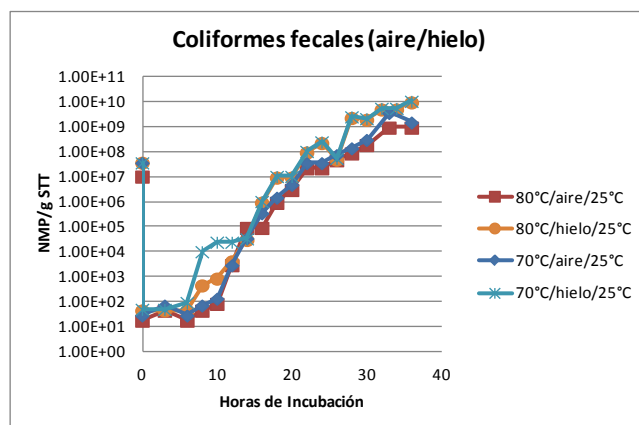


Figura 5. Reactivación/recrecimiento de coliformes fecales después del tratamiento térmico utilizando como método de enfriamiento aire ó baño de hielo.

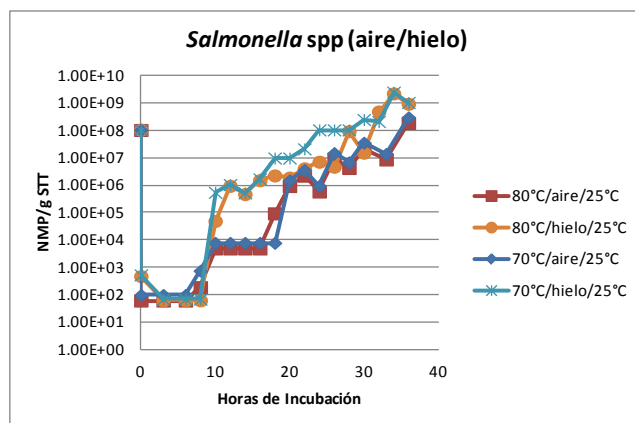


Figura 6. Reactivación/recrecimiento de *Samonella* spp después del térmico utilizando como método de enfriamiento aire ó baño de hielo.

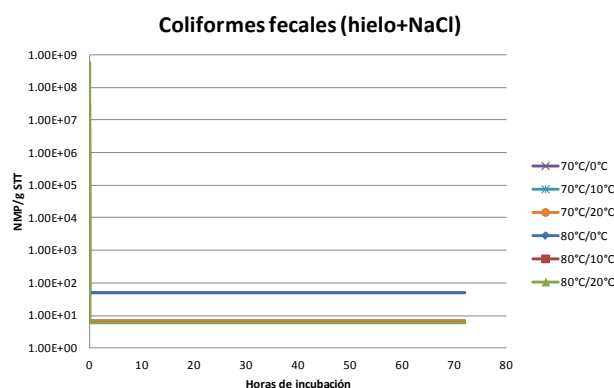


Figura 7. Inhibición de la reactivación de coliformes fecales después del térmico utilizando como método de enfriamiento baño de hielo-NaCl.

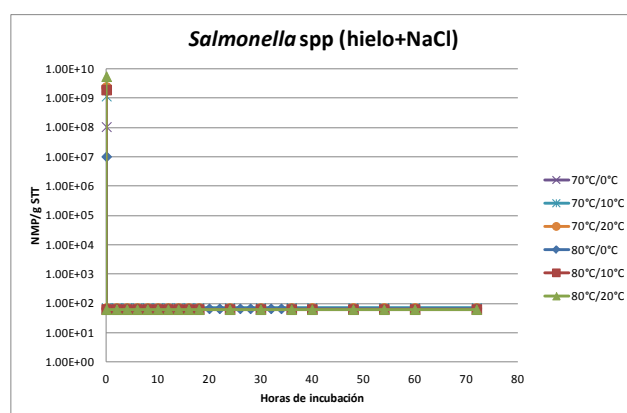


Figura 8. Inhibición de la reactivación de *Salmonella* spp después del térmico utilizando como método de enfriamiento baño de hielo-NaCl.

CONCLUSIONES

- Los tratamientos térmicos del lodo a 70°C y 80°C, seguidos de enfriamiento paulatino, no impiden la reactivación y recrecimiento de coliformes fecales y *Salmonella* spp durante las primeras 24 horas, por lo que no son tratamientos efectivos para estabilización de lodos de purga.
- Con el proceso de pasteurización (70°C y enfriamiento en baño de hielo/cloruro de sodio) se consigue una reducción de entre 6 y 7 unidades logarítmicas para coliformes fecales y entre 7 y 8 unidades logarítmicas para *Salmonella* spp y se favorece la reactivación y recrecimiento en el digestor anaerobio mesófilo.
- Se logró establecer las condiciones de pretratamiento mediante distintas condiciones de calentamiento y enfriamiento.

AGRADECIMIENTOS

El Q. A. Sergio Mauricio Magos Navarro, agradece al CONACyT la beca de maestría otorgada para la realización de sus estudios de Posgrado en Ciencias Bioquímicas – UNAM.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA, AWWA, WEF (1999) Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water 20th Edition. American Public Health Association. Washington, DC.
2. BOUGRIER, C., ALBASI, C., DELGENES, J.P., CARRERE, H., (2006). Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. Chemical Engineering and Processing 45 (2006) p. 711–718
3. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, (2003) Norma Oficial Mexicana NOM-004- SEMARNAT 2002 Protección ambiental.- Lodos y Biosólidos.-especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
4. DONOSO-BRAVO, A., PÉREZ-ELVIRA, S.I., FDZ-POLANCO, F. (2010) Application of simplified models for anaerobic biodegradability tests. Evaluation of pre-treatment processes. Chemical engineering Journal 160 (2010) 607-614.
5. FDA (2006), U.S. Food and Drug Administration “Bacteriological Analytical Manual (BAM) - Appendix 2. Most Probable Number from Serial Dilutions”.
6. GAVALA, H.N., YENAL, U., SKIADAS I.V., WESTERMANN P. AND AHRING B.K. (2003). Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pre-treatment at elevated temperature, Water research. Vol. 37. p 4561-4572
7. JEONGSIK, K., PARK, C., KIM, T., LEE, M., KIM, S., KIM, S AND LEE, J. (2003). Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. Journal of bioscience and bioengineering. Vol 95. p 271-275
8. MARTÍNEZ, E. (2009) “Pretratamiento térmico y digestión anaerobia de lodos residuales para la producción de biosólidos clase A”, UNAM.
9. NEYENS, E., BAEYENS, J., (2003) A review of thermal sludge pre-treatment processes to improve dewaterability. Journal of Hazardous Materials. 5, 375-398.
10. NOYOLA, A. (1994). “Diseño, Inoculación y Arranque de Reactores UASB” Memoria del tercer taller y seminario latinoamericano “Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales”. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. p.331-340.
11. NOYOLA, A. (1998). Digestión anaerobia de lodos. Memorias del curso “Digestión anaerobia de lodos y aguas residuales” Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, A.C. México.
12. ROJAS, M., CABIROL N., ORTEGA, S., ORTIZ, L.P AND NOYOLA, A. (2001). Removal of fecal indicator organisms and parasites (fecal coliforms and helminth eggs) from municipal biologic sludge by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion. Water Science and Technology. Vol 44 .p 97-101.
13. RUBIO, L. (2004). Producción de biosólidos de clase “A” mediante digestión anaerobia en dos fases a partir de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México.
14. SANDINO, J., (2008) CH2M Hill, USA – Secado Térmico de Lodos: Desarrollos Recientes y Tendencias Emergentes. VI Simposio Interamericano de Biosólidos. Río de Janeiro, Brasil.
15. SIDHU, J., TOZE, S. (2009) Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. Environment International 35 (2009) 187-201.

16. VAN LIER, J.B., TILCHE,A., AHRING,B.K., MACARIE,H., MOLETTA,R., DOHANYOS,M., POL,L.W., LENS,P AND VERSTRAETE,W. (2001). New perspectives in anaerobic digestion. Water Science and Technology.Vol 43 .p 1-18 .
17. WANG, Q., NOGUCHI,C., HARA,Y., SHARON,C., KAMIMOTO,K. AND KATO,Y. (1997). Studies on anaerobic digestion mechanism: Influence of pretreatment temperature on biodegradation of waste activated sludge. Environmental Technology. Vol 18. p 999-1008