

INFLUENCIA DEL TENSIOACTIVO ANIÓNICO (LAS) SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA MICROBIOTA DE LOS LODOS ACTIVOS

M^a D. Coello Oviedo, D. Sales Márquez, y J.M^a Quiroga Alonso¹

RESUMEN: En el presente trabajo se estudia la influencia que ejerce el tensioactivo aniónico lineal alquil benceno sulfonato sódico, L.A.S., sobre la microbiota que existe en una unidad de lodos activos a escala de laboratorio de una Estación Depuradora de Aguas Residuales. Para ello, se han utilizado tanto los procedimientos tradicionales de control de dichas unidades (medida de sólidos volátiles en suspensión y demanda química de oxígeno) como técnicas específicas de medida de la actividad bacteriana (actividad deshidrogenasa y tasa de respiración específica) estableciéndose una comparación entre ellas. Los resultados obtenidos revelan que la medida de la tasa de respiración específica es el parámetro más sencillo y rápido para el control rutinario de la actividad de lodos activos, aunque para un control exhaustivo de los mismos, es sin embargo más adecuada la medida de la actividad deshidrogenasa.

INTRODUCCIÓN

Con el fin de poner freno al progresivo deterioro que han experimentado los cauces naturales de aguas, se ha tendido en los últimos años a la instalación masiva de plantas de tratamiento de aguas residuales. Dichas plantas reciben, principalmente, vertidos de alta carga orgánica por lo que los tratamientos más adecuados son los biológicos, y entre ellos los conocidos como "lodos activos", de forma que la calidad del efluente de la planta va a estar condicionada por la buena marcha de esta unidad.

El funcionamiento adecuado de dicho sistema implica, además del control de las variables que pueden influir en el desarrollo de los microorganismos (pH, oxígeno disuelto, nutrientes, etc...), el conocimiento de la actividad de los lodos activos, para evitar los problemas operacionales que puedan surgir, como puede ser el fenómeno "bulking" o esponjamiento de lodos.

En la actualidad, cuando se produce algunos de estos problemas, las soluciones adoptadas suelen consistir en la parada temporal de la planta, hasta la consecución de una biomasa nuevamente activa, o mantener el funcionamiento deficiente de la misma. Cualquiera de las soluciones que se adopte, implica una pérdida de la capacidad operativa de la planta y por tanto, un mal resultado en el proceso de depuración.

Los sistemas de depuración biológica que implican poblaciones microbianas complejas, pueden quedar inactivadas por distintos mecanismos como puede ser la llegada de sustancias inhibitoras.

Entre los compuestos orgánicos presentes habitualmente en las aguas residuales, y que pueden tener efecto inhi-

bidor sobre la microbiota de los sistemas de lodos activos, se encuentran los tensioactivos, componentes fundamentales de los detergentes, y entre ellos el tensioactivo aniónico, alquil benceno lineal sulfonato sódico (LAS), el cual puede llegar a alcanzar concentraciones de hasta 20 ppm (Matthijs y De Heneau, 1987; Berna y col., 1992).

El lineal alquil benceno sulfonato sódico es el tensioactivo más utilizado a nivel mundial, llegando en el año 1995 a consumirse $1493 \cdot 10^6$ toneladas (Granados, 1996), lo que representa más del 18 % de la producción mundial de tensioactivos, siendo ésta probablemente una de las sustancias sintéticas que más han sido objeto de estudio en los últimos años por los investigadores (Di-Corcia y col., 1994; Cavalli y col., 1996) en diferentes aspectos: toxicidad (Vives-Rego y col., 1994; Romero y Ventura, 1993), niveles ambientales (Raimundo y Preston, 1992; McAvoy y Giger, 1986; Rapaport y col., 1987), biodegradación (Quiroga y Sales, 1991), etc.

En el presente trabajo, se ha estudiado el efecto que ejercen diferentes concentraciones de LAS sobre la microbiota que existe en una unidad de lodos activos a escala de laboratorio, al objeto de poder establecer cual es el método más adecuado para el control rutinario de la planta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción y puesta en marcha del reactor de inoculación

Previamente al inicio de los ensayos fue necesario la adaptación de la flora microbiana a las condiciones de laboratorio y al medio en el que posteriormente se reali-

¹ Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnología del Medio Ambiente. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz. Polígono Río San Pedro s/n. 11510 Puerto Real.(Cádiz).

Artículo publicado en *Ingeniería del Agua*. Vol.5 Num.4 (diciembre 1998), páginas 13-20, recibido el 20 de enero de 1998 y aceptado para su publicación el 29 de julio de 1997. Pueden ser remitidas discusiones sobre el artículo hasta seis meses después de la publicación del mismo. En el caso de ser aceptadas, las discusiones serán publicadas conjuntamente con la respuesta de los autores en el primer número de la revista que aparezca una vez transcurrido el plazo indicado.

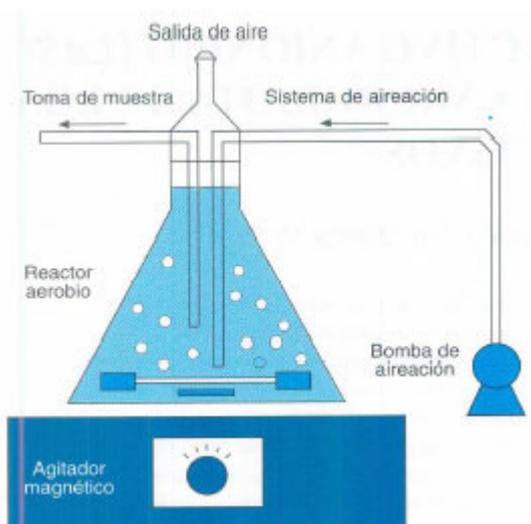


Figura 1. Reactor de inoculación

zaron las diferentes experiencias. Para ello, se utilizó un reactor de 2000 ml de capacidad con un volumen útil de 1800 mL (Figura 1).

El reactor de vidrio se llenó con una mezcla compuesta al 50 % de inóculo procedente de la unidad de lodos activos de la EDAR del municipio de Puerto Real (Cádiz, España) y 50 % de medio sintético que contenía todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos presentes en la unidad de lodos activos. La alimentación sintética suministrada contenía glucosa como fuente de carbono (500 mg DQO/l) y una disolución nutriente mineral cuya composición aparece recogida en la Tabla 1.

Compuesto	Concentración (mg/l)
Peptona	160
Urea	30
Extracto de carne	110
NaCl	7
Ca C12-H2O	4
MgSO4-7H2O	2
K2HPO4	28

Tabla 1. Composición del medio nutriente sintético

El reactor de inoculación operó a temperatura ambiente, manteniéndose en todo momento la homogeneización del medio gracias al agitador magnético sobre el que estaba montado. La agitación del sistema facilitaba la transferencia del oxígeno al medio y aseguró la homogeneización de éste. El régimen elegido fue semi-continuo, procediéndose antes de la alimentación, a la extracción de la cantidad correspondiente y al análisis de la muestra extraída. Cuando los microorganismos estaban adaptados al nuevo ambiente, lo que se comprobó por los valores constantes de porcentaje de reducción de la materia orgánica, se procedió a realizar los estudios a escala de planta de laboratorio.

Reactor a escala de planta piloto de laboratorio

Para estudiar el efecto del tensioactivo aniónico sobre la microbiota presente en la unidad de lodos activos, se utilizó un biorreactor especialmente diseñado para tal fin, el cual seguía las especificaciones del ensayo de simulación de lodos activos del O.C.D.E. (BOE nº 260, pag. 34266) para la determinación de la biodegradabilidad de detergentes aniónicos (Figura 2).

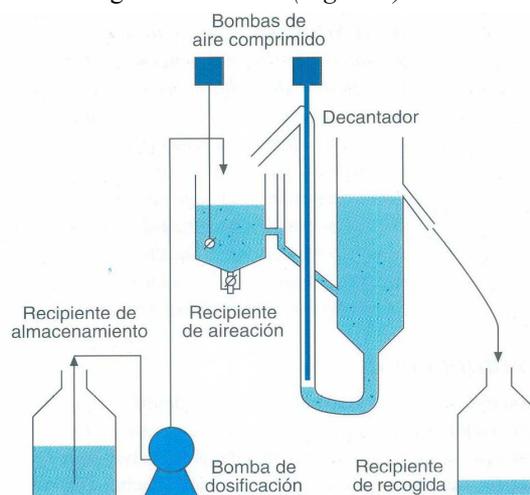


Figura 2. Planta piloto a escala de laboratorio utilizada en la reacción de las experiencias

La alimentación del reactor se hizo en continuo y con un medio nutriente sintético cuya fuente de carbono era glucosa. La composición del medio nutriente es la misma que aparece recogida en la Tabla 1.

Paralelamente a la alimentación sintética, se adicionaron diferentes concentraciones de LAS, con el fin de conocer el posible efecto de este tensioactivo sobre la actividad de la microbiota existente en el reactor. Las concentraciones ensayadas fueron 20, 50 y 100 ppm.

El alquil benceno lineal sulfonato sódico (LAS) fue suministrado por PETRESA, S.A. (Compañía del grupo CEPESA), y presentaba las características que se muestran en la Tabla 2.

Referencia	P-475
Actividad	30%
Peso molecular medio	337.8
Composición	
<C ₁₀ -LAS	0.9%
C ₁₀ -LAS	14%
C ₁₁ -LAS	51.6%
C ₁₂ -LAS	31.8%
C ₁₃ -LAS	1.5%
C ₁₄ -LAS	0%

Tabla 2. Características y composición de la sustancia utilizada (LAS) en los distintos experimentos

Técnicas Analíticas

Las técnicas analíticas estuvieron encaminadas por un lado, a la caracterización microbiológica del sistema y por otro a la determinación de la actividad de los microorganismos y al control del funcionamiento de la planta piloto.

Para la caracterización microbiana se siguió la técnica de identificación por "kits" (API, Productos de Laboratorio API), que consiste en añadir suspensiones de organismos a los huecos dispuestos en las bandejas de plástico e incubar durante 24 horas. Algunas pruebas requieren la adición de reactivos específicos. Los resultados se leen en códigos y en un Registro de Perfil suministrado por la casa comercial.

Para seguir el funcionamiento de la planta piloto se hicieron periódicamente determinaciones de sólidos volátiles en suspensión (SVS) y de la DQO del efluente, las cuales se realizaron de acuerdo a los Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, AWWA y WPCF, 1989).

La actividad de los microorganismos se realizó mediante *medidas de la actividad deshidrogenasa* (DHA) además de la *tasa de respiración específica* (SOUR).

Para la medida de la *actividad deshidrogenasa* se siguió el método de Awong y cols. (1985), que consiste en preparar una disolución 3.95 mM de INT (cloruro de 2-(p-nitrofenil)-5-feniltetrazolium), tomar por duplicado 3 ml de esta disolución y mezclarlos con 4 ml de tampón tris-CIH y 5 ml de muestra. Tras 60 minutos de incubación en oscuridad, la reacción se interrumpió mediante la adición de 100 µl de ácido sulfúrico concentrado.

A continuación, las muestras se centrifugaron a 1500 g durante 10 minutos. El "pellets" formado se extrajo mediante sucesivos lavados con etanol y en oscuridad, midiéndose posteriormente la absorbancia a 480 nm. La actividad deshidrogenasa se calculó en equivalentes de oxígeno (O₂^{*}) usando la siguiente ecuación propuesta por Awong y cols. (1985):

$$DHA = \frac{1024 D_{480} v}{V C t F}$$

Donde:

DHA: Actividad INT-deshidrogenasa (mg O₂^{*} g⁻¹ SVS día⁻¹; O₂^{*}, unidades de oxígeno equivalente)

1024: Factor de conversión (López y cols, 1985)

D₄₈₀: Absorbancia a una longitud de onda de 480 nm.

v: Volumen final de disolvente usado para la extracción de formazán (ml).

V: Volumen de reactivo utilizado y muestra tratada (ml)

C: Concentración de sólidos volátiles en la muestra (mg/l).

t: Tiempo de incubación (min)

F: Factor de dilución.

Para la determinación de la tasa de respiración específica se tomó un volumen aproximado de 50 ml de muestra del tanque de aireación en un frasco de la misma capacidad, que contenga un agitador magnético. Posteriormente se introdujo en ella un electrodo de oxígeno (Mod CRISON OXI92), protegiendo el contenido de la botella de la

atmósfera, de forma que se evitara la transferencia de oxígeno hacia la muestra, por medio de un tapón de rosca sellado con silicona. Los valores de oxígeno disuelto se registraron desde que se estabilizó la lectura hasta que éste alcanzó un valor de 1 mg/l.

Para el cálculo de la tasa de consumo de oxígeno se representó el tiempo frente a las lecturas de oxígeno disuelto (mg/l), y se determinó la pendiente de la recta de ajuste óptimo. Ésta representa la tasa de consumo de oxígeno en miligramos por litro y minuto.

La tasa de respiración específica se calculó por la expresión de Awong y cols (1984), la cual tiene la forma:

$$SOUR = \frac{1440 \cdot R}{C}$$

Donde :

SOUR: Tasa específica de consumo de oxígeno (mgO₂·g⁻¹ SVS·día⁻¹).

1440: Coeficiente que convierte los minutos a días

R: Tasa consumo de oxígeno (mg O₂/l·min).

C: Concentración de biomasa de la muestra (g SVS/l).

Método analítico empleado para el análisis del LAS

Para el análisis del LAS se empleó la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), por ser más específica que los métodos colorimétricos y por precisar de menor acondicionamiento de la muestra que la cromatografía gaseosa (Nakae et al, 1981).

El método empleado está basado en el descrito por Nakae (1981), y las condiciones de trabajo empleadas fueron las que aparecen a continuación:

Columna: Lichrosorb C18, 5 µm., 250 x 4.6 (d.i.) mm.

- Eluyente: Acetonitrilo/Agua (45:55) 0.1 M Perclorato sódico
- Flujo: 1 ml/min.
- Régimen: Isocrático
- Vol. inyección: 100 µl
- Detector: Fluorescencia (□. emisión: 290 nm. □, excitación: 232 nm.)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características e identificación de los microorganismos

Previamente a estudiar el efecto que tiene el tensioactivo aniónico (LAS) sobre los microorganismos presentes en la unidad de lodos activos, se procedió a una identificación y clasificación de los mismos. La identificación se realizó a través de microscopía óptica, pudiéndose distinguir los siguientes grupos:

Bacterias (*Cocos*, *Bacterias filamentosas*, *Vibrios*, etc.), Hongos, Protozoos (*Amebas*, *Ciliados sésiles*, *libres nadadores* y *arrastreros*), Rotíferos y Nematodos.

Posteriormente se realizó un estudio de la población bacteriana existente en el reactor mediante siembra en placa. A las diferentes colonias bacterianas que proliferaron se le sometieron a tinción Gram y se clasificaron según su aspecto, siguiendo las normas establecidas por Harrigan y McCance (1975) de la forma siguiente:

- Colonias tipo A • Colonias tipo B • Colonias tipo C
- Colonias tipo D • Colonias tipo E • Colonias tipo F

Por último, se procedió a su separación y aislamiento, para lo cual se realizaron siembras sucesivas hasta conseguir cepas puras de las mismas, pasando a continuación a la identificación a nivel de especie, haciendo uso de la técnica API.

A partir de los resultados obtenidos por la técnica API aplicada sobre las colonias aisladas se lograron identificar las siguientes especies bacterianas:

- *Pseudomonas fluorescens* • *Pseudomonas aeruginosa*
- *Proteus vulgaris* • *Enterobacter cloacae*
- *Serratia rubidaea* • *Aerobacter hydrophila*
- *Escherichia coli* • *Salmonella typhi*
- *Moraxella spp.* • *Flavobacterium indologenes*
- *Vibrio parahaemolyticus* • *Vibrio alginolyticus*

Influencia de diferentes concentraciones de LAS

20 ppm de LAS

En la *Figura 3a*. se representa la evolución de los sólidos volátiles en suspensión del sistema para una concentración de 20 ppm de LAS. Se observa como el nivel de éstos experimenta una cierta disminución en los primeros días de contacto, siendo a partir del tercer y cuarto día cuando se produce la adaptación de la flora microbiana. A partir de este momento, el valor de los SVS se

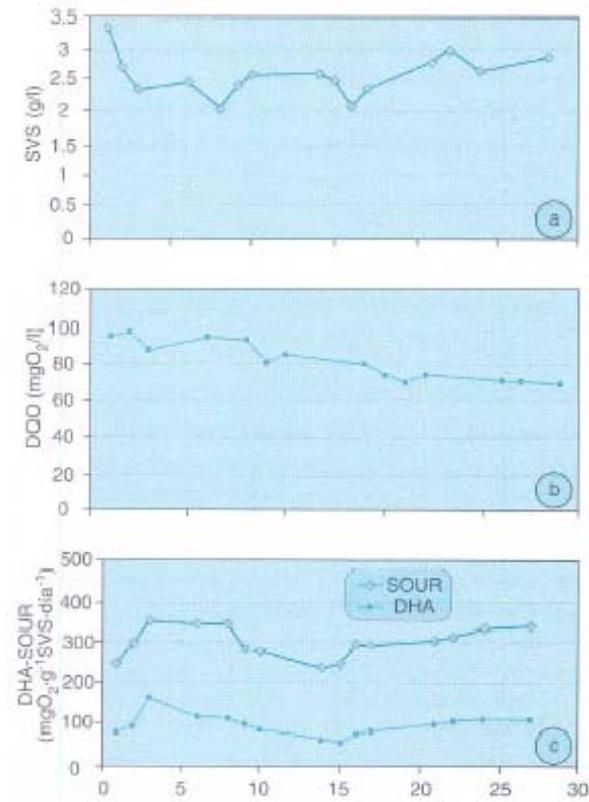


Figura 3. Evolución de: a. Sólidos en suspensión ; b. DQO del efluente final; c. Tasa de respiración específica y actividad deshidrogenasa ante la presencia de 20 ppm de LAS

muestran prácticamente constantes durante el tiempo que dura el ensayo. La disminución de los SVS que se produce se corresponde con el descenso de los microorganismos superiores, el cual fue seguido por microscopía óptica, lo que permite confirmar que son estas especies las más sensibles a la presencia del tensioactivo.

Por lo que respecta a los valores de DQO del efluente, éstos experimentan un aumento en los primeros días debido a la eliminación de parte de la microbiota, experimentando posteriormente un descenso que coincide con el de los sólidos volátiles en suspensión. Esto implica una menor DQO en el efluente, y por tanto una mayor eliminación de ésta (*Figura 4a*). Este comportamiento es fácilmente explicable ya que la disminución de los microorganismos superiores ha hecho que las bacterias, principales microorganismos responsables de la eliminación de la materia orgánica, se puedan desarrollar en mejores condiciones, originando una población más numerosa y activa que puede mejorar la calidad del efluente. Sin embargo, el funcionamiento de la planta no es el adecuado, ya que no se produce una buena decantación, por falta de los microorganismos superiores, dando lugar a la pérdida de biomasa por el efluente. Superado este período, la eficacia de la depuración vuelve a valores normales, revelándose en este punto una cierta adaptación de los microorganismos presentes en el reactor a la presencia del tensioactivo.

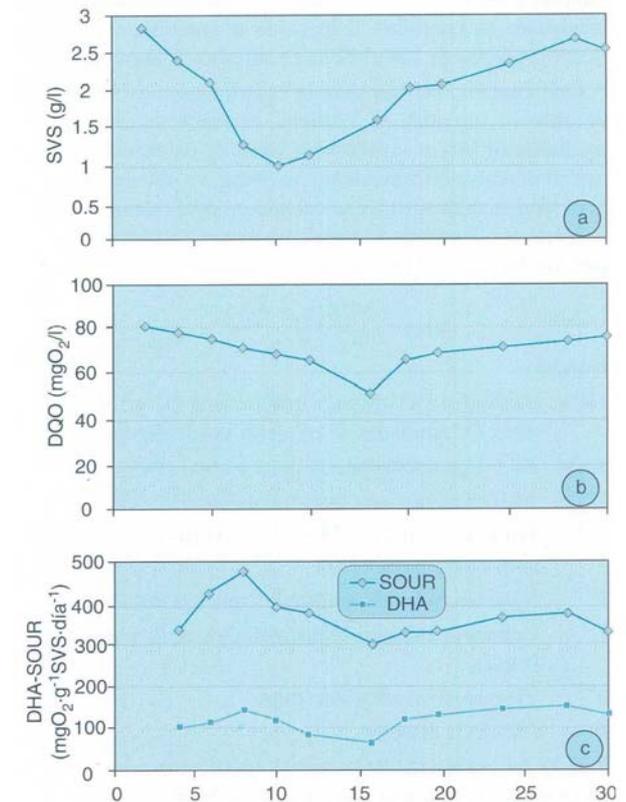


Figura 4. Evolución de: a. Sólidos en suspensión ; b. DQO del efluente final; c. Tasa de respiración específica y actividad deshidrogenasa ante la presencia de 50 ppm de LAS

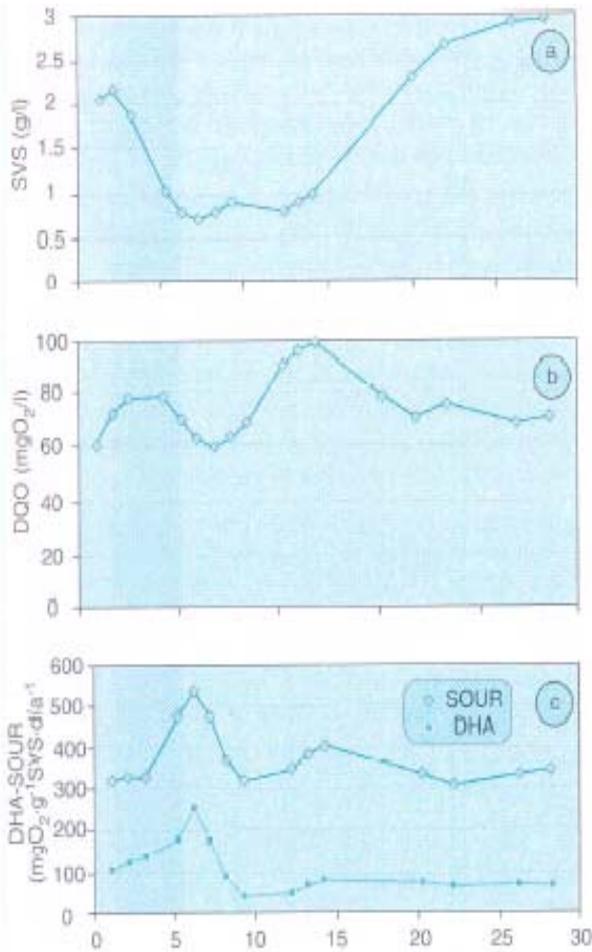


Figura 5. Evolución de: a. Sólidos en suspensión ; b. DQO del efluente final; c. Tasa de respiración específica y actividad deshidrogenasa ante la presencia de 100 ppm de LAS

En la Figura 5a. se representan las tendencias de la actividad deshidrogenasa y la tasa de respiración específica ante las condiciones anteriormente descritas. En los primeros días de la exposición de la flora al tóxico, y hasta el tercer día, aumenta la actividad microbiana de manera considerable. Este efecto ha sido ya descrito por otros autores (Edwards & Sherrard, 1982) y posteriormente se produce un descenso del valor de la actividad debida a la inhibición que se produce como consecuencia de la exposición de la microbiota al presunto compuesto tóxico.

A partir del octavo día de estar suministrando el compuesto es cuando la actividad microbiana parece acusar el efecto de éste, produciéndose un descenso en la misma provocado por la disminución de toda la población de los microorganismos que existen en el reactor (coincide con el segundo mínimo de los valores de SVS). A medida que pasa el tiempo, parece que la flora microbiana se adapta al tensioactivo vuelven a alcanzarse los valores de actividad que tenía el sistema antes de la llegada de éste.

Si se comparan las Figuras 3a. y 4a. se observan cómo los mínimos que en ellas producen los días 9 y 15, coinciden con el inicio y fin de la fase menos activa de la microbiota.

50 ppm de LAS

Al aumentar la concentración de tensioactivo a 50 ppm se observa una gran disminución de la biomasa del sistema, produciéndose una reducción de los sólidos volátiles en suspensión del 75 % (Figura 3b.). Este descenso es mucho más acusado que el que se produce con 20 ppm de LAS. Apartir de este mínimo, el sistema se recupera y en tan sólo 5 días los valores de sólidos volátiles en suspensión vuelven a ser normales (alrededor de 2.5 g/l).

En lo que se refiere a la eficacia de la depuración, es decir, a los valores de DQO, se observa en la Figura 4b. que no existe descenso importante de la misma, ya que los valores de DQO a la salida del efluente, aunque un poco mayores que antes de la adición de LAS, no son excesivamente altos. Esto puede ser debido a que se ha producido una adaptación al compuesto por parte de los microorganismos debido a la exposición a 20 ppm que ha tenido lugar anteriormente, por los que los valores de esta variable no parece que se encuentran afectados por el aumento de la concentración del tensioactivo.

Respecto a la actividad microbiana, se observa en la Figura 5b. que ésta también aumenta ante el primer contacto con la mayor concentración de tensioactivo, produciéndose un descenso alrededor del día octavo.

100 ppm de LAS

Aunque estas concentraciones de LAS no se alcanzan en ninguna unidad de lodos activos, estas experiencias se han realizado para poner de manifiesto si altas concentraciones de tensioactivos (100 ppm) son letales para la microbiota del sistema.

Así, en la Figura 3c. se observa como la biomasa presente en la unidad en los primeros días de contacto con el compuesto, experimenta un descenso considerable, pasando de valores de 2 g/l a 0.6 g/l, en tan sólo 7 días. Los valores que se registran de sólidos son mucho menores que los alcanzados en los ensayos anteriores, además de ser más largo el tiempo en el cual la flora se encuentra inhibida. Los efectos sobre la microbiota son mayores, sobretudo en los microorganismos superiores que desaparecen tal y como se pudo observar por microscopía óptica. Esta desaparición produce una pérdida de los niveles de floculación lo que se traduce en pérdida de la biomasa por el efluente (las concentraciones de sólidos en suspensión en el efluente llegan a ser en ocasiones de hasta 250 mg/l). Después de este largo periodo de inhibición la flora comienza a recuperarse lentamente, alcanzándose entre los días 18-20 valores normales de sólidos en suspensión (2.5-3 g/l). Esta evolución favorable llega incluso a superar los valores de biomasa de los que se partieron.

La inhibición que se produce por el aumento de la concentración del LAS tiene efecto sobre la eficacia de depuración, como se puede ver en la Figura 4c. Se observa como el máximo en la DQO en el efluente se produce más tarde que en los ensayos a 50 ppm (aproximadamente entre el día 13 y el día 20 debido probablemente a la adaptación al tóxico). Estos valores de la DQO del efluente son los más altos registrados en todas las expe-

riencias, lo que es lógico dada la mayor concentración de tensioactivo utilizado que parece afectar también a la población bacteriana. Posteriormente, tiene lugar una recuperación del sistema, llegándose de nuevo a una eficacia de depuración del 80-90 %.

En la *Figura 5c* aparecen la evolución de la actividad deshidrogenasa junto con la tasa de respiración específica. El primer efecto que se produce en la actividad microbiana ante la concentración de 100 ppm de LAS es un aumento de ésta (efecto producido también con las concentraciones anteriores). Después de este aumento de la actividad, se produce un descenso producido por la muerte y evacuación que está teniendo lugar de microorganismos. Este período de inhibición se extiende durante aproximadamente 7 días, tras los cuales, el sistema se recupera volviendo a valores normales.

Relación entre la concentración de LAS residual y actividad de los microorganismos

Para confirmar los resultados obtenidos con las medidas de actividades de los microorganismos, se ha seguido la evolución del consumo de sustrato en el medio por parte de la microbiota.

La relación que se ha observado entre el porcentaje de eliminación de tensioactivo y la actividad de los microorganismos es similar en las tres concentraciones de LAS que han sido ensayadas. A modo de ejemplo en la *figura 6* se representa la evolución de la tasa de respiración específica (SOUR) con el porcentaje de biodegradación del sustrato (LAS) a la salida del reactor para el ensayo con 100 ppm.

En la *Figura 6*, se observa cómo al inicio de la experiencia, y ante la entrada a la planta piloto de 100 ppm de LAS, la microbiota responde con un aumento de actividad, (valores iniciales de tasa de respiración de 325,7 aumentan hasta 531,7 $\text{mgO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{SVS} \cdot \text{día}^{-1}$) este aumento con el máximo de biodegradación de LAS (el día 6 se produce un 82 % de biodegradación de LAS). A continuación se produce una inhibición en la microbiota existente en el reactor, observándose un descenso de la tasa de respiración específica (los valores de SOUR en esta situación son de 366.4 $\text{mgO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{SVS} \cdot \text{día}^{-1}$) a la vez que se produce una menor biodegradación del sustrato (LAS) ya que se produce un aumento de la concentración de LAS en el efluente.



Figura 6. Evolución del porcentaje de biodegradación y de la actividad microbiana (SOUR)

Tras esta situación de inhibición se produce una recuperación y restablecimiento de la microbiota, lo cual es seguido por el aumento de la tasa de respiración específica que se produce, acompañado de la disminución de la concentración de LAS residual que tiene lugar.

Respecto a la evolución de los homólogos e isómeros del LAS, en la *Tabla 3* se dan los porcentajes de biodegradación de ambos en el ensayo con 100 ppm.

Se observa un aumento del porcentaje de biodegradación del tensioactivo al aumentar la duración del ensayo, (como consecuencia de una mayor adaptación de la microbiota), excepto el día 3 debido al impacto que causa el tensioactivo y el día octavo que es cuando se produce un descenso de la actividad microbiana.

Días	% LAS biodegradado	% C10 biodegradado	% C11 biodegradado	% C12 biodegradado
3	82.1	49.69	81.06	96.75
6	92.1	77.4	93.32	96.34
8	83.3	72.14	84.31	84.34
13	89.7	74.68	89.74	95.65
15	90.9	81.51	91.21	93.87
20	94.5	88.09	94.69	97.12
29	99.6	99.32	100	100

Tabla 3. Porcentaje de biodegradación de LAS y sus distintos homólogos

También se observa que los homólogos de mayor longitud de cadena se degradan más rápidamente que los de cadena más corta, lo que está de acuerdo con el principio distancia de Swisher (1963).

En la *Figura 7* se muestran algunos de los cromatogramas obtenidos durante los días que duró el ensayo con 100 ppm de LAS. Se observa cómo dentro de cada homólogo, los isómeros más externos ($2\phi C_x$) son los más fácilmente biodegradados aumentando la facilidad de biodegradación con el aumento de la longitud de la cadena (el homólogo $2\phi C_{12}$ se degrada más fácilmente que el homólogo $2\phi C_{10}$). Todo ello de acuerdo con el principio anterior.

A medida que desaparece el LAS, van apareciendo los productos intermedios de su biodegradación, conocidos como ácido sulfofenilcarboxílicos (SPC). Aparecen diferentes picos correspondientes a los ácidos carboxílicos formados.

El primer máximo de actividad, el cual implica un máximo de degradación de LAS, conlleva a la aparición de un máximo de la concentración de SPC.

A partir del día trece se produce un aumento de la intensidad del pico número 1 a partir de los restantes, los cuales desaparecen casi por completo después del día 29, debido a que a continuación de este momento la microbiota presente en el reactor se encuentra completamente adaptada al LAS, y al eliminarse éste muy rápidamente, comienzan a ser degradados los SPC.

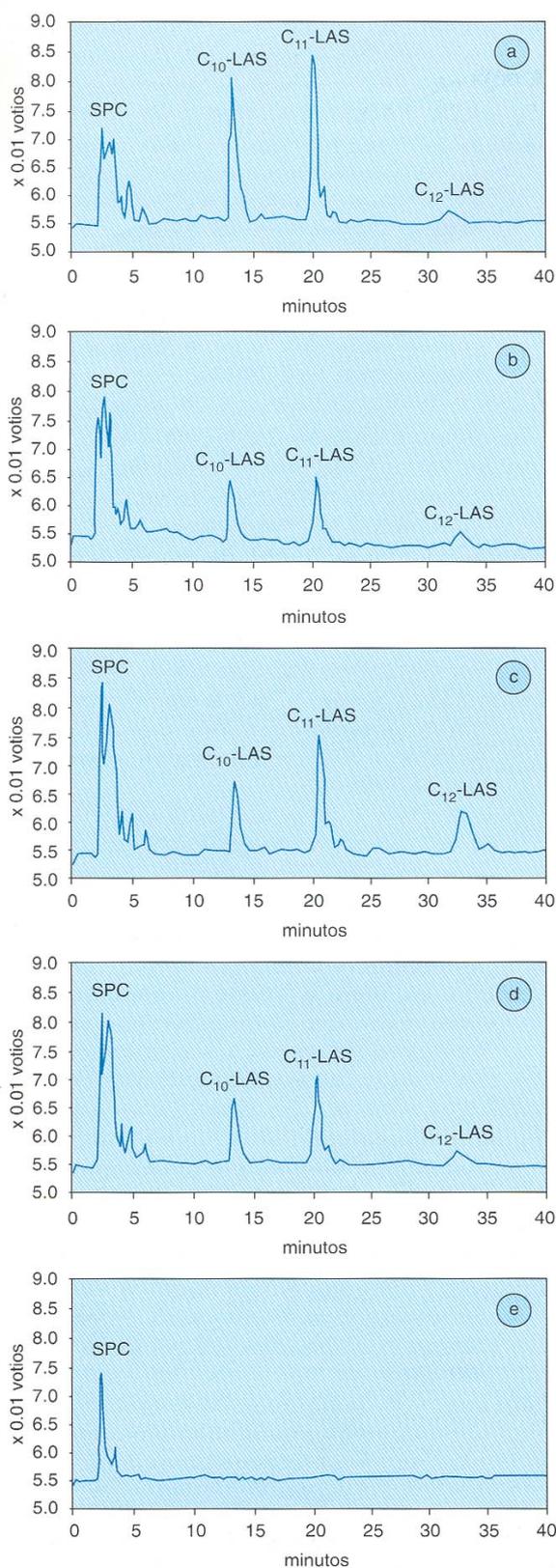


Figura 7. Cromatogramas correspondientes a: a. Día 3; b. Día 6; c. Día 8; d. Día 13; e. Día 29, en los que se desarrolló el ensayo

En resumen, podemos decir que la concentración de LAS residual que se encuentra presente en el efluente de la planta piloto a escala de laboratorio, muestra un comportamiento que está de acuerdo con el estado en el que se encuentra la microbiota presente en el reactor, esto es, los máximos de actividad se corresponden con la máxima eliminación de LAS, y sin embargo, cuando la población se encuentra inhibida, las cantidades de tensoactivo que se encuentran en el efluentes son mucho mayores.

CONCLUSIONES

En lo que se refiere a la selección del método más adecuado para el control de actividad microbiana de la unidad de lodos activos son las medidas de la tasa de respiración específica junto con la actividad deshidrogenasa. Estas medidas siguen fielmente el comportamiento de los microorganismos en el reactor, lo cual se corrobora con el análisis estadístico realizado (Tabla 4)

Concentración de LAS 20 ppm					
	STS (g/l)	SVS (g/l)	SOUR	DHA	DQOe
mínimo	2.23	1.96	229.60	54.18	70.00
máximo	28.43	3.29	353.83	218.30	98.00
Media	3.25	2.50	290.29	91.31	82.69
mediana	2.78	2.53	296.29	91.3	84.00
desviac. estándar	6.40	0.33	37.49	37.59	9.22
Concentración de LAS 50 ppm					
	STS (g/l)	SVS (g/l)	SOUR	DHA	DQOe
mínimo	1.05	0.33	37.49	37.59	9.22
máximo	6.40	2.80	468.00	153.42	80.00
media	2.20	1.62	303.19	99.14	59.07
mediana	2.27	2.01	360.00	108.60	70.00
desviac. estándar	1.30	0.71	98.39	32.58	17.62
Concentración de LAS 100 ppm					
	STS (g/l)	SVS (g/l)	SOUR	DHA	DQOe
Mínimo	0.66	0.58	313.42	34.25	59.00
máximo	3.26	2.94	531.75	250.40	98.00
media	1.39	1.28	379.63	88.33	73.66
mediana	1.07	0.94	377.50	75.50	73.00
desviac. estándar	0.94	0.87	61.32	58.15	11.69

Tabla 4. Estudio estadístico de las variables utilizadas

En los tres ensayos realizados las desviaciones más altas corresponden a las medidas anteriormente mencionadas, lo que hace que éstas nos reflejen de una forma más factible los posibles desequilibrios o inhibiciones que se puedan producir en la población microbiana.

Para los niveles de alquil benceno lineal sulfonato sódico que suelen encontrarse en los colectores de aguas residuales urbanas (inferiores a 20 ppm de LAS), no se aprecian efectos importantes sobre la microbiota existente en las unidades de lodos activos de depuradoras que hagan peligrar el buen funcionamiento de las mismas. No obstante, sí se produce una ligera alteración que puede atribuirse a una simple sucesión de poblaciones.

A concentraciones superiores, 50 y 100 ppm de LAS, se produce un descenso de todas las variables estudiadas, poniéndose de manifiesto que a estas concentraciones la microbiota existente en el reactor sufre la presencia del tensioactivo, siendo los microorganismos superiores los más sensibles a la presencia del tensioactivo, experimentando la población una disminución considerable. Como consecuencia se produce una gran eliminación de biomasa, lo que produce una pérdida de eficacia en la decantación y una mayor cantidad de sólidos en suspensión en el efluente siendo los microorganismos superiores los más sensibles a la presencia del tensioactivo, y experimentando la población de estos una disminución considerable. Además los valores de la DQO del efluente, en las distintas concentraciones de tensioactivos ensayadas apoyan estas conclusiones. Respecto a las medidas de actividad, el primer efecto que se produce es un aumento de la misma, el cual fue ya observado por otros autores. Después del máximo de actividad se produce un período en el que la flora se encuentra inhibida y durante el cual tanto la biomasa como la actividad microbiana y la DQO disminuyen considerablemente. Por último, la microbiota se recupera adaptándose al compuesto y volviendo a niveles normales tanto de actividad como de eficacia depurativa, aunque el período en que ésta se encuentra inhibida es mayor en los experimentos de mayor concentración.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA; AWWA; WPCF (1989) Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Editorial Díaz de Santos S. A. Edición en Español. Madrid
- Awong, J.; Bitton, G. and Koopman, B. (1985) *ATP, Oxygen Uptake Rate and INT-dehydrogenase activity of actinomycete foams*. Water Research 7, 917-921.
- Berna, J., Moreno, A., and Ferrer, J. (1992) *An assesment of the ultimate biodegradation of LAS*. C.E.S.I.O. International Surfactants Congress.
- Cavalli, L., Cassani, G. and Maraschin, C. (1996) *Linear alkylbenzene sulphonate (LAS). Structure elucidation of the biodegradation intermediates*. 4th World Surfactants Congress. Barcelona Vol 4, pp 448-462.
- Dicorcía, A, Marchetti, M, Samperi, R. and Marcomini, A. (1994) *Liquid chromatographic detrrmination of linear alkylbenzene sulphonates in aqueous environmental samples*. Anal. Chein. 63, pp 1179-1182.
- Edwards, G. L.; Sherrad, J.H. (1982) *Measurement and viability of oxigen uptake rate as an activated sludge process control paramete*. J. Water Pollut. Control Fed. 12, 1546-1552.
- García-Lara, J.; Perón, F.J.; González, J. and Vives-Rego, J.; (1991) *Assessment of microbial activity by the INT-dehydrogenase assay during the degradation of linear alkylbenzene sulphonate in sea water and in the OECD screening method*. Biomedical Letters 46: 151-157.
- Granados, J. (1996) *Surfactans raw materials. Constant evolution and a solid future*. 4th World Surfactants Congress. 1, pp 100-123.
- Gray, N. F. (1989) *Biology wastewater treatment*. Oxford Science Publications. Oxford (London)
- Harrigan, W.F. and McCance, M. (1975) Métodos de laboratorio en microbiología de alimentos y productos lácteos. Editorial Academia.
- Kikuchi, M., Tokay, A. and Yoshida, T. (1986) *Determination of trace levels of linear alkylbenzene sulphonate in the marine environment by high performance liquid chromatography*. Water Research 20, 643-650.
- López, J.M., Kopman, B. and Bitton, G. (1985) *INT-Dehydrogenase test for activated sludge process control*. Biotechnology and Bioengineering. 28, 1080-1085.
- Madoni, P. (1994) *A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis*. Water Research 1, 67-75.
- Mathijs, E. and De Henau, H. (1987) *Determination of LAS*. Tenside Surf. Det. 24,193-199.
- Mcavoy, J. and Giger, W. (1986) *Determination of linear alkylbenzene sulphonate in sewage sludge by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry*. Env. Sci. Technol. 20, 376-378.
- Nakae E, A, Tsuji, K., and Yamanaka, M. (1981) *Determination of alkyl chain distribution of alkylbenzenesulphonates by liquid chromatography*. Anal. Chem. 53(12), 1818-1821.
- Quiroga, J. and Sales, D. (1991) *Degradation kinetics of surfactants*. Tenside Surf. Det. 28, 27-30.
- Rappaport, R., Hopping, W. and Echhoff, W. (1987) *Monitoring LAS in the environment*. 8th Annual Meeting of the Soc. Env. Tox. and Chem. Peñascola. Florida.
- Raimundo, C.C. and Presión, M.R. (1992) *The distribution of linear alkylbenzenes in coastal and estuarine sediments of the western north sea*. Marine Pollution Bulletin 24. 138-146.
- Swisher, R. (1981) *The problem of the ultimate biodegradation of LAS: an extension*. Tenside Surf. Det. 19, 298-299.
- Swisher, R (1963) *The chemistry of surfactants benzene rings*. J.Am.Oil Chem. Soc. 40, 648-656.