

UNIVERSIDAD ESTATAL A DISTANCIA
VICERRECTORÍA ACADÉMICA
ESCUELA DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
MAESTRÍA ACADÉMICA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
CON ÉNFASIS EN GESTIÓN AMBIENTAL

Eficiencia del Índice Biológico de Lodos para la evaluación de dos sistemas de
tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica

Tesis presentada al Tribunal Examinador del Programa de Maestría Académica
en Manejo de Recursos Naturales de la Escuela de Ciencias Exactas y
Naturales para optar por el grado de Magister Scientiae con énfasis en Gestión
Ambiental

Margarita Loría Naranjo

Director de tesis: Wilson Beita Sandí, Wilson.beita@ucr.ac.cr
Lector de tesis: Jeffrey Sibaja Cordero, jeffrey.sibaja@ucr.ac.cr
Lector de tesis: Roger Valverde Jiménez, ingmappmp@gmail.com

Sabanilla, Montes de Oca, Costa Rica

MARZO, 2024

TRIBUNAL EXAMINADOR

Esta tesis ha sido aceptada y aprobada en su forma presente por el Tribunal Examinador del Programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales de la Escuela de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Estatal a Distancia, como requisito parcial para optar por el grado de Magister Scientiae en Manejo y Protección de los Recursos Naturales con énfasis en Gestión Ambiental

XXXXXXXX, Título.
Representante
Director del Sistema de Estudios de Postgrado

XXXXXX, Título.
Representante
Director de la Escuela de Ciencias Exactas y Naturales

XXXXX, Título.
Representante
Profesores de la Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales

Zaidett Barrientos Llosa, Ph.D.
Coordinadora
Programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales

Wilson Beita Sandí, PhD.
Director de Tesis

Jeffrey Sibaja Cordero, PhD.
Lector de tesis

Roger Valverde Jiménez, PhD
Lector de tesis

Sabanilla, Costa Rica, (16, marzo, 2024)

TABLA DE CONTENIDO

TRIBUNAL EXAMINADOR	II
TABLA DE CONTENIDO	III
Eficiencia del Índice Biológico de Lodos para la evaluación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica	1
RESUMEN GENERAL	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
REFERENCIAS DE LA INTRODUCCIÓN GENERAL.....	6
CAPÍTULO I	8
Índice Biológico de Lodos como bioindicador de la operación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica	8
RESUMEN.....	8
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
MATERIALES Y MÉTODOS	11
RESULTADOS	16
Prueba U Mann Whitney o T-Student	17
DISCUSIÓN.....	21
AGRADECIMIENTOS	25
ÉTICA, CONFLICTO DE INTERESES Y DECLARACIÓN DE FINANCIAMIENTO....	25
REFERENCIAS	26
CAPÍTULO II	30
Protozoos y metazoos presentes en dos sistemas de tratamiento de agua residual y su relación con el Índice Biológico de Lodos	30
ABSTRACT	30
RESUMEN.....	30
INTRODUCCIÓN	31
MATERIALES Y MÉTODOS	32
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN.....	40
AGRADECIMIENTOS	43
DECLARACIÓN DE ÉTICA.....	43
REFERENCIAS	44
CAPÍTULO III	47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47

CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES	48
ANEXOS	49
Anexo 1: Cesión de Derechos	49
Anexo 2: Carta de recepción de la revista científica	50
APÉNDICES	51
Apéndice 1: Cantidad, densidad de organismos y matrices de IBL	51
Apéndice 2: Resultados de los supuestos de ANCOVA.	59

Eficiencia del Índice Biológico de Lodos para la evaluación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica

Margarita Loría Naranjo

Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales, UNED.
maggie.loria@gmail.com.

RESUMEN GENERAL

Introducción: La implementación de un monitoreo biológico en los sistemas de tratamiento de aguas residuales por lodos activados ofrece resultados de manera integral, siendo una herramienta complementaria de análisis para la toma de decisiones de control operacional. El Índice Biológico de Lodos (IBL) es un índice que permite obtener un valor numérico asociado a la calidad del lodo activado a través de la determinación de los grupos predominantes de protozoos y metazoos, así como su densidad y diversidad. **Objetivo:** Evaluar el funcionamiento del IBL como herramienta de bioindicación de la calidad del agua tratada en los sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria y su relación con la cantidad de protozoos y metazoos. **Métodos:** Realicé esta investigación con las aguas residuales generadas por el Hospital San Vicente de Paul durante los meses de febrero, marzo y abril del 2022. Analicé parámetros fisicoquímicos, ambientales, operacionales y biológicos en un total de 36 muestras de un sistema de tratamiento por lodos activados Convencional y de un Biorreactor de Membrana (MBR). **Resultados:** La eficiencia de remoción del DBO y DQO fue mayor en el MBR en comparación con el sistema Convencional, sin embargo, en ambos casos estas eficiencias muestran ser altas (mayores al 85%), y esto se relaciona con los altos valores de IBL obtenidos. A pesar de que el MBR fue diseñado para la remoción de nitrógeno en el agua residual, en promedio, la eficiencia de remoción de este parámetro no superó el 50%. Ningún parámetro ambiental tuvo correlación con los valores de IBL, pero la edad del lodo, como parámetro operacional, demostró tener un efecto sobre el valor de IBL. El valor del IBL ejerció un efecto importante en la cantidad de microorganismos. **Recomendaciones:** Para progresar en este campo de investigación, es necesario llevar a cabo la identificación de los organismos con una visión integrada que considere otros parámetros fisicoquímicos, ambientales y estructurales; además, el análisis de la microfauna debe realizarse tomando en consideración los requerimientos específicos de cada especie. Existe entonces la necesidad de adaptar el desarrollo del IBL para que sea más preciso.

Palabras clave: protozoos, metazoos, bioindicación, lodos activados, MBR, ciliados, flagelados, rotíferos, nemátodos.

ABSTRACT

Introduction: Implementation of biological monitoring in activated sludge wastewater treatment systems offers comprehensive results, being a complementary analysis tool for operational control decision making. Sludge Biotic Index (SBI) is an index that allows obtaining a numerical value associated with the quality of the activated sludge through the determination of the predominant groups of protozoa and metazoa, as well as their density and diversity. **Objective:** To evaluate the functioning of the SBI as a bioindication tool for the quality of treated water in hospital wastewater treatment systems and its relationship with the quantity of protozoa and metazoa. **Methods:** This research was carried out on the wastewater generated by the San Vicente de Paul Hospital during the months of February, March and April 2022. Physicochemical, environmental, operational and biological parameters were analyzed in a total of 36 samples from an activated sludge Conventional wastewater system and a Membrane Bioreactor (MBR). **Results:** The BOD and COD removal efficiency was higher in the MBR compared to the Conventional system, however, in both cases these efficiencies show to be high (greater than 85%), and this is related to the high SBI values obtained. Although the MBR was designed for the removal of nitrogen in wastewater, on average, the removal efficiency of this parameter did not exceed 50%. No environmental parameter was correlated with SBI values, but sludge age, as an operational parameter, was shown to have an effect on the SBI value. The SBI value had an important effect on the number of organisms. **Recommendations:** To progress in this field of research, it is necessary to carry out the identification of organisms with an integrated vision that considers other physicochemical, environmental and structural parameters; in addition, the microfauna analysis must be carried out taking into consideration the specific requirements of each species. There is then a need to adapt the development of the SBI to make it more precise.

Keywords: protozoa, metazoa, bioindication, activated sludge, MBR, ciliates, flagellates, rotifers, nematodes

INTRODUCCIÓN GENERAL

El agua residual se define como toda agua que ha sido consumida o utilizada y a la cual se le ha modificado su calidad por la introducción de uno o más agentes contaminantes (Reglamento de Reuso y Vertido de Aguas Residuales, 2007; Reglamento para el manejo y disposición final de lodos y biosólidos, 2015). Por otro lado, el concepto de saneamiento de las aguas residuales consiste en brindar el tratamiento adecuado a estas aguas residuales para asegurar su inocuidad y calidad, con el fin de proteger la vida en general. Los servicios de saneamiento básico son: el abastecimiento de agua potable, el manejo y disposición final de las aguas residuales. Estos servicios se integran en una cadena de acciones necesarias tales como la recolección, el transporte, el tratamiento, el reuso y la disposición final (OMS y UNICEF, 2017).

El tratamiento de las aguas residuales es uno de los pilares fundamentales en la implementación del saneamiento. Los sistemas de tratamiento de aguas residuales pueden ser considerados ecosistemas artificiales en donde se desarrollan comunidades biológicas específicas que se encuentran sometidas a condiciones operacionales controladas y a choques de cargas contaminantes (Rodríguez et al., 2019).

Los sistemas de tratamiento de aguas residuales se pueden componer de diversas fases cuyo objetivo primordial es disminuir los impactos negativos de una actividad humana sobre el medio ambiente y los cuerpos de agua (Salazar, 2007). Estos sistemas pueden contar con una o varias de las siguientes fases: tratamiento primario, tratamiento secundario, tratamiento terciario y tratamiento avanzado. Dependiendo de las características del agua residual a tratar, puede ser necesario que la fase de tratamiento secundario sea biológica (si el agua cuenta con un nivel de degradabilidad importante) o química (si el agua cuenta con un alto contenido de metales pesados o contaminantes no biodegradables) (Hernández et al., 2004).

Uno de los principales objetivos de los sistemas de tratamiento de agua residuales es la remoción o atenuación de los contaminantes presentes. Usualmente, para medir el rendimiento de cualquier sistema de tratamiento se realizan estimaciones de eficiencia de remoción de contaminantes mediante la Ecuación 1 (Von Sperling, 2007):

Ecuación 1:

$$E = \frac{(C_o - C_e) \times 100}{C_o}$$

Donde

E = Eficiencia de remoción (%)

C_o = concentración del contaminante en el afluente (agua cruda) (mg/L)

C_e: concentración del contaminante en el efluente (agua tratada) (mg/L)

Así, por ejemplo, para sistemas de tratamiento de lodos activados con aireación extendida que tratan aguas de origen municipal, es posible alcanzar una eficiencia de remoción de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de entre 90% y 97%, y de sólidos suspendidos totales (SST) de entre 87% y 93% (Von Sperling, 2007).

Las plantas de tratamiento de aguas residuales con procesos de lodos activados son los sistemas de tratamiento más extendidos en el mundo (Zornoza et al., 2010; Zornoza, 2015; Rodríguez et al., 2019). En general, el tratamiento de las aguas

residuales por lodos activados se basa en procesos biológicos, los cuales, a través de niveles de oxígeno disuelto óptimos, dan paso a la sucesión de comunidades de microorganismos capaces de formar flóculos en el reactor o tanque de aireación para degradar la materia orgánica. Al conjunto de estos flóculos se le llama lodo activado (Madoni, 2011; Marín y Osés, 2013).

Las dos unidades básicas que componen un sistema de tratamiento de aguas residuales por lodos activados son el tanque de aireación y el sedimentador (Fig. 1). En el tanque de aireación se concentra el lodo activado en agitación; mientras que en el sedimentador secundario el lodo activado se sedimenta y el agua tratada sale del sistema. Es importante mencionar que la sedimentabilidad del lodo en el tanque sedimentador es un parámetro trascendental para que la separación del lodo y el agua tratada sea exitosa. Por otro lado, el lodo sedimentado en el fondo del sedimentador secundario puede ser eliminado del sistema (purga de lodo) o recirculado de regreso al tanque de aireación.

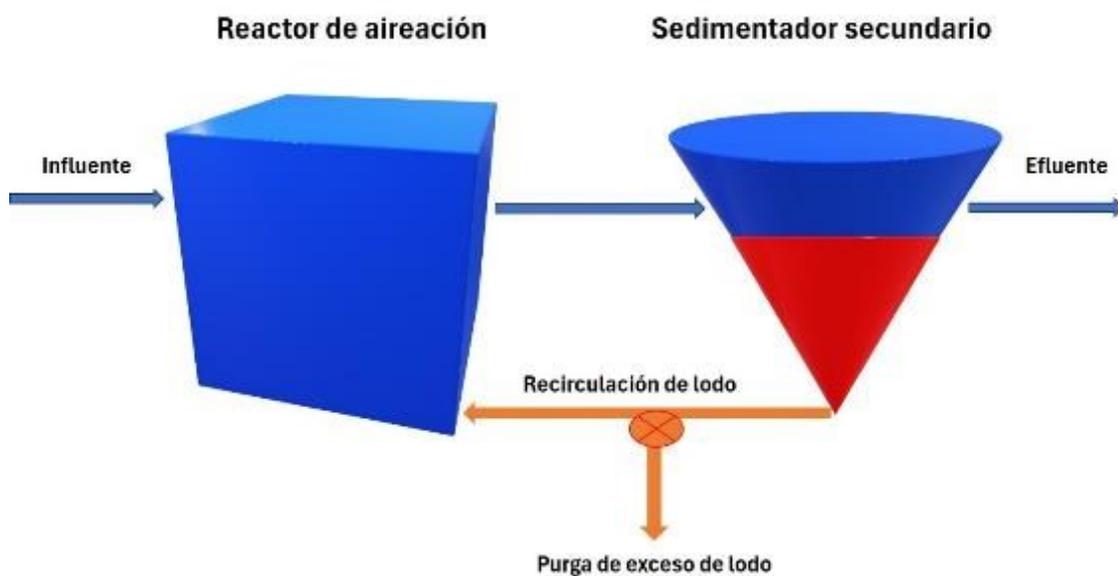


Figura 1. Unidades básicas de tratamiento en los sistemas de tratamiento de aguas residuales por lodos activados

Por otra parte, un proceso modificado del tratamiento con lodos activados, y que a su vez utiliza una tecnología más avanzada, es el biorreactor de membrana (MBR). En un MBR el lodo activado crece en suspensión, pero se utilizan membranas con microporos que generan una separación entre la interfaz líquida y sólida, prescindiendo del uso de sedimentadores secundarios. Según el tamaño de los microporos contenidos en las membranas, los MBR pueden llevar a cabo procesos de microfiltración, ultrafiltración o nanofiltración (Radjenović et al., 2008; Marín y Osés, 2013). Existen dos configuraciones posibles de la membrana en el sistema MBR: externa o interna (Fig. 2).

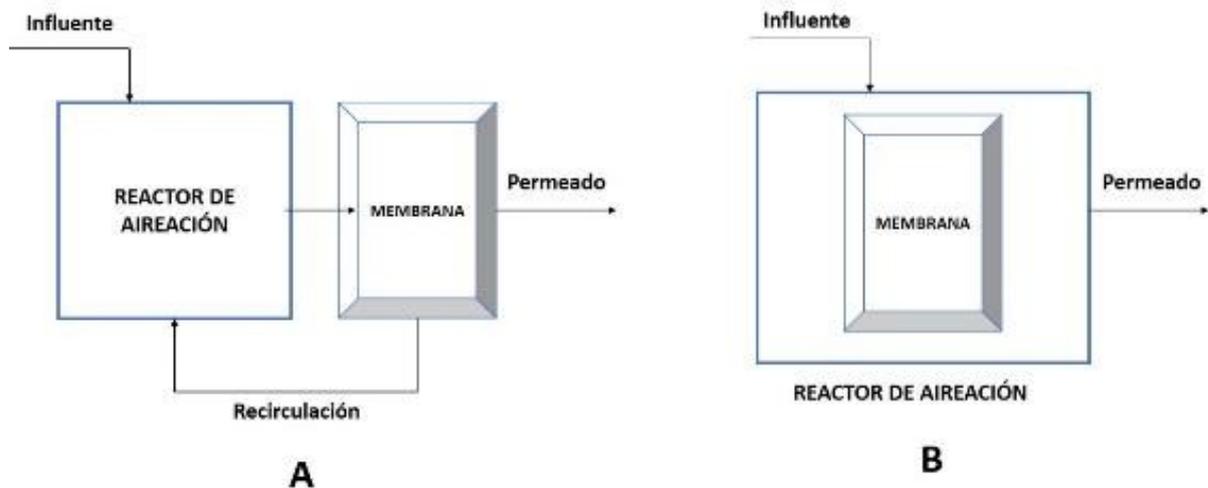


Figura 2. Configuraciones del sistema de biorreactor de membrana (MBR) para el tratamiento de aguas residuales. A. Colocación externa de la membrana. B. Colocación interna (sumergida) de la membrana

La masa microbiana involucrada en la formación del lodo activado es conformada principalmente por bacterias y protozoos (Bento et al., 2005; Von Sperling, 2007; Madoni, 2011). Al igual que en los ecosistemas naturales, los protozoos son depredadores importantes de las bacterias que se encuentran presentes en el lodo activado (Bitton, 2005; Rodríguez et al., 2019), y su presencia se hace relevante al considerar que la proliferación de bacterias filamentosas puede llegar a provocar desequilibrios y problemas operacionales serios para los sistemas de tratamiento (Sowinska et al., 2017; Rodríguez et al., 2019). Por lo tanto, los protozoos juegan un rol trascendental en el flujo de energía y ciclado de nutrientes (Rodríguez et al., 2019), así como en el control y estabilización de la cadena trófica que se desarrolla en los tanques de aireación (Nicolau et al., 2001).

REFERENCIAS DE LA INTRODUCCIÓN GENERAL

- Bento, A. P., Sezerino, P. H., Philippi, L. S., Reginatto, V. y Lapolli, F. R. (2005). Microfauna characterization in activated sludge wastewater treatment plant: an instrument of assessment and control of process. *Enghenaria Sanitaria Ambiental* 10(4): 329-338.
- Bitton, G. (2005). Wastewater microbiology. Estados Unidos: Wiley & Sons publishing. ISBN 0-471-65071-4.
- EPA (2013). Emerging Technologies for Wastewater Treatment and In-Plant Wet Weather Management. Office of Wastewater Management U.S. Environmental Protection Agency Washington, D.C. EPA 832-R-12-011. Tetra Tech, Inc. Fairfax, Virginia. 188 pp.
- Hernández, A., Hernández, A. y Galán, P. (2004). Manual de depuración uralita. 3 Ed. Thomson-Paraninfo: España, pp 7-110.
- Liu, F., Ouedraogo, A., Manghee, S. y Danilenko, A. (2012). Introducción a la Eficiencia Energética en Empresas Municipales de Agua y Saneamiento Urbano. Washington DC, EEUU: Energy Sector Management Assistance Program (ESMAP).
- Madoni (2011). Protozoa in wastewater treatment processes: a minireview. *Italian journal of zoology*. 78 (1), doi: 10.1080/11250000903373797
- Marín, A. y Osés, M. (2013) Operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas residuales con el proceso de lodos activados. Tomo 1. Comisión Estatal del Agua de Jalisco: México. 256 pp.
- Nicolau, A., Dias, M., Mota, M. y Lima, N. (2001). Trends in the use of protozoa in the assessment of wastewater treatment. *Research in Microbiology*. 152: 621-630
- Organización Mundial de la Salud (OMS) y Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) (2017). Progresos en materia de agua potable, saneamiento e higiene: informe de actualización de 2017 y línea de base de los ODS.
- Radjenović, J., Matošić, M., Mijatović, I., Petrović, M., y Barceló, D. (2008). Membrane Bioreactor (MBR) as an Advanced Wastewater Treatment Technology. En D. Barceló & M. Petrovic (Eds.), *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste: Vol. 5S/2* (pp. 37-101). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/698_5_093
- Reglamento de Reuso y Vertido de Aguas Residuales N°33601-MINAE-S. La Gaceta 55, alcance 8. lunes 19 de marzo del 2007. Ministerio Nacional de Ambiente y Energía (MINAE) y Ministerio de Salud (MS). Recuperado de: www.pgrweb.go.cr
- Reglamento para el manejo y disposición final de lodos y biosólidos N°3936-S. La Gaceta 234, alcance 106. Miércoles 2 de diciembre del 2015. Ministerio de Salud (MS). Recuperado de: www.pgrweb.go.cr
- Rodríguez, E., L. Isac, N. Fernández y M.D. Salas (2019). Manual de trabajo para análisis biológicos en fangos activados. Grupo Bioindicación Sevilla. ISBN. 608-0189-6
- Salazar, M. (2007). Diseño de una planta de tratamiento de desechos para aguas residuales en un hotel. Tesis (Licenciatura en Ingeniería Química). San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.

- Sowinska, A.; Pawlak, M.; Mazurkiewicz, J. y Pacholska, M. (2017). Comparison of the Results from Microscopic Tests Concerning the Quality of Activated Sludge and Effluent. *Water* 9(12).
- Von Sperling (2007). Basic principles of wastewater treatment. Londres: IWA Publishing. 208 pp.
- Zornosa, A., Alonso, J.L., Serrano, S., Fajardo, V., Zorrilla, F., Bernácer, I. y Morenilla, J.J. (2010). Estudio integrado del proceso de fangos activados I. Análisis descriptivo de factores fisicoquímicos y biológicos implicados en su dinámica. VII Jornadas de transferencia tecnológica sobre microbiología del Fango Activado. Sevilla, España. Asociación Científica Grupo Bioindicación de Sevilla. Recuperado de : https://www.researchgate.net/publication/234154599_Estudio_integrado_del_proceso_de_fangos_activos_I_Analisis_descriptivo_de_factores_fisico-quimicos_y_biologicos_implicados_en_su_dinamica
- Zornoza, A. (2015). Metodología para la búsqueda de microorganismos bioindicadores en fangos activos: la desesperación en la búsqueda del modelo. Curso teórico-práctico "El papel de los protistas en los procesos de depuración de las aguas residuales. Sevilla. 9-10 septiembre de 2015. ISBN 13-978-84-608-2139-7

CAPÍTULO I

Índice Biológico de Lodos como bioindicador de la operación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica

Margarita Loría Naranjo

Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales, UNED.
maggie.loria@gmail.com

(Este trabajo fue sometido a la revista Cuadernos de Investigación UNED para su publicación formal. Debe buscarse como: Loría-Naranjo, Margarita. Índice Biológico de Lodos como bioindicador de la operación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica. Anexo 2)

RESUMEN

Introducción: La implementación de un monitoreo biológico en los sistemas de tratamiento de aguas residuales por lodos activados ofrece resultados de manera integral, siendo una herramienta complementaria de análisis para la toma de decisiones de control operacional. El Índice Biológico de Lodos (IBL) es un índice que permite obtener un valor numérico asociado a la calidad del lodo activado a través de la determinación del número total de protozoos, así como su densidad y diversidad.

Objetivo: Evaluar el funcionamiento del IBL como herramienta de bioindicación de la calidad del agua tratada en los sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria.

Métodos: Realicé esta investigación en las aguas residuales generadas por el Hospital San Vicente de Paul durante los meses de febrero, marzo y abril del 2022. Analicé parámetros fisicoquímicos, ambientales, operacionales y biológicos en un total de 36 muestras de un sistema de tratamiento por lodos activados Convencional y de un Biorreactor de Membrana (MBR). **Resultados:** La eficiencia de remoción del DBO y DQO fue mayor en el MBR en comparación con el sistema Convencional, sin embargo, en ambos casos estas eficiencias muestran ser altas (mayores al 85%), y esto se relaciona con los altos valores de IBL obtenidos. A pesar de que el MBR fue diseñado para la remoción de nitrógeno en el agua residual, en promedio, la eficiencia de remoción de este parámetro no superó el 50%. Ningún parámetro ambiental tuvo correlación con los valores de IBL, pero la edad del lodo, como parámetro operacional, demostró tener un efecto sobre el valor de IBL. **Recomendaciones:** Para progresar en este campo de investigación, es necesario llevar a cabo la identificación de los organismos con una visión integrada que considere otros parámetros fisicoquímicos, ambientales y estructurales; además, el análisis de la microfauna debe de realizarse tomando en consideración los requerimientos específicos de cada especie.

Palabras clave: protozoos, metazoos, bioindicación, lodos activados, MBR, ciliados, flagelados.

ABSTRACT

Introduction: The implementation of biological monitoring in activated sludge wastewater treatment systems offers results in a comprehensive manner, being a complementary analysis tool for operational control decision-making. The Sludge Biotic Index (SBI) is an index that allows to obtain a numerical value associated with the quality of activated sludge in wastewater treatment plants by determining the total number of protozoa, as well as their density and diversity. **Objective:** Evaluate the role of the SBI as a bioindication tool for the quality of treated water in hospital wastewater treatment systems. **Methods:** This research was carried out on the wastewater generated by San Vicente de Paul Hospital during the months of February, March and April 2022.

Physicochemical, environmental, operational and biological parameters were analyzed in 36 samples from a Conventional activated sludge wastewater system and a Membrane Bioreactor (MBR). **Results:** BOD and COD removal efficiency was higher in MBR compared to Conventional treatment system; however, in both cases these efficiencies show to be relatively high (greater than 85%), and this is related to high SBI values obtained. Although MBR was designed for removing nitrogen, mean removal efficiency for this parameter did not surpass 50%. No environmental parameter was related with the SBI values, but sludge age, as an operational parameter, has an important effect on SBI. **Recommendations:** To advance in this field, it is necessary to carry out the identification of the organisms with an integrated vision that considers other physicochemical, environmental and structural parameters; in addition, the analysis of the microfauna must be carried out taking into account the specific requirements for each species.

Key words: protozoa, metazoa, bioindication, activated sludge, MBR, ciliates, flagellates.

INTRODUCCIÓN

Las plantas de tratamiento de aguas residuales con procesos de lodos activados son los sistemas más extendidos en el mundo (Zornoza et al., 2010; Leal et al., 2013; Zornoza, 2015; Rodríguez et al., 2019). Dentro del proceso de tratamiento por lodos activados existen múltiples variaciones, y entre las más importantes se pueden mencionar a la aireación convencional y la extendida. La principal diferencia entre ambas variaciones radica en los valores operacionales que se espera obtener a través del cálculo de la relación Alimento / Microorganismo (A/M) y la edad de lodo (Von Sperling, 2007).

La masa microbiana involucrada en la formación del lodo activado es conformada principalmente por bacterias y protozoos (Bento et al., 2005; Von Sperling, 2007; Madoni, 2011). Los protozoos son organismos eucariotas que comprenden un tamaño de entre 2 a 2000 μm (Sowinska et al., 2017). En los lodos activados se han registrado un total de 228 especies de protozoos (Curds, 1975), de los cuales 160 pertenecen al filo Ciliophora (Madoni, 2011). Aunque en menor medida, además de los protozoos, existen metazoos como los rotíferos, gastrotricos y nematodos que llegan a colonizar el lodo activado (Madoni, 1994; Arregui et al., 2013; Sowinska et al., 2017).

Como cualquier comunidad biológica, la comunidad de protozoos y metazoos presentes en los lodos activados puede verse limitada por distintos factores ambientales y operacionales de los sistemas de tratamiento. Los factores que más suelen limitar la abundancia y composición de estas comunidades son la falta de aireación, la temperatura, el exceso del lodo, la edad del lodo, y la presencia de sustancias tóxicas o choques de cargas contaminantes (Zornoza et al., 2010; Madoni, 2011).

Conocer la abundancia, diversidad y estructura de la comunidad de microorganismos que habitan los lodos activados sirve como guía para evaluar el nivel de funcionamiento del sistema y la calidad del efluente que genera (Rodríguez et al., 2019). Existen tres índices biológicos utilizados para identificar y cuantificar la microfauna que se encuentra en el lodo activado de las plantas de tratamiento de aguas residuales: el Índice de Shannon (H), el Índice de lodos (IL) y el Índice biológico de lodos (IBL) (Arregui et al., 2013).

La desventaja del Índice de Shannon (H) radica en que se trata de un índice que no es específico para lodos activados; sin embargo, se apoya en fundamentos ecológicos universales (Arregui et al., 2013; Rodríguez et al., 2019). Por otra parte, el IL fue desarrollado por Jiménez et al. (2001) y consiste en una evaluación integral preliminar del lodo activado utilizando parámetros macroscópicos, tales como la turbiedad, suspensión y olor; así como parámetros microscópicos como la morfología del flóculo, la estructura del flóculo, la cantidad de bacterias filamentosas y la diversidad

de especies protistas. Por último, el IBL, desarrollado por Madoni (1994), se enfoca en el componente biológico del lodo y se dedica a la cuantificación y distribución de los principales grupos de protistas encontrados en el lodo activado. Este índice hace posible obtener un valor numérico asociado a la calidad del lodo a través de la determinación del número total de protozoos y metazoos, así como su dominancia y diversidad (Madoni, 1994; Arregui et al., 2013; Rodríguez et al., 2019).

Tanto el IL como el IBL han resultado ser idóneos para la evaluación del desempeño de plantas de tratamiento por lodos activados (Pedrazzani et al., 2016). Para Costa Rica, únicamente se ha aplicado el IL en la caracterización de dos plantas de tratamiento de agua municipal (Alfaro-Arrieta, 2020).

El IBL será el índice que utilizaré en esta investigación. Este índice es uno de los más usados en el control biológico de plantas de tratamiento (Zornoza et al., 2010; Foissner, 2016); además, ha demostrado ser un índice robusto en el control y la bioindicación del lodo activado debido a la baja variabilidad de sus resultados entre distintos laboratorios (Arregui et al., 2012). Con el IBL, Madoni (1994, 2011) propone un índice objetivo para el análisis de la calidad biológica de los lodos activados, el cual se basa en dos postulados fundamentales:

- a) La presencia y dominancia de algunos grupos de microfauna se relaciona con ciertas características fisicoquímicas y operacionales presentes en los sistemas de tratamiento.
- b) El número de especies de microfauna se reduce conforme el desempeño del sistema de tratamiento empeora.

Algunos de los factores particulares que se han relacionado directamente con los postulados del IBL, y, por lo tanto, han constatado la funcionalidad de este índice, son: los patrones de aireación en el sistema de tratamiento y la concentración de los lodos en el tanque de aireación (derivando a la edad del lodo) (Sowinska et al., 2017).

A través del uso del IBL en la evaluación de sistemas de tratamiento de lodos activados, se ha podido comprobar la existencia de una relación entre la abundancia de flagelados y la baja calidad del agua tratada obtenida. Al mismo tiempo, esa alta abundancia y densidad de flagelados se encuentra relacionada con una sobrecarga orgánica entrante al sistema, así como una baja sedimentabilidad del lodo (Jordão et al., 1997; Bento et al., 2005). Por otro lado, también se ha corroborado que ciertas especies de ciliados son los mejores indicadores de la calidad del efluente tratado (Colorado et al., 2012). Los cambios en las condiciones operacionales pueden llegar a alterar la composición de las comunidades de microfauna, así como la red trófica que éstas sostienen en los lodos activados; por lo tanto, una estructura determinada de la comunidad de protozoos y metazoos es indicadora de las condiciones de funcionamiento de la planta de tratamiento de aguas residuales (Nicolau et al., 2001; Zhou et al., 2006; Rodríguez et al., 2019).

El control del proceso de tratamiento de las aguas residuales se da a través de la estimación de múltiples parámetros operacionales. Entre los más importantes y ampliamente utilizados en un proceso de tratamiento por lodos activados podemos mencionar a la relación Alimento / Microorganismos (A/M) que se utiliza para expresar la carga de materia orgánica presente en el reactor de aireación por unidad de biomasa (Von Sperling, 2007; Marín y Osés, 2013) y la edad del lodo. La edad del lodo es un parámetro fundamental, no solo para las condiciones operativas, sino también para el diseño de cualquier sistema de tratamiento en general (Von Sperling, 2007).

La relación A/M y la edad del lodo resultan ser parámetros particularmente importantes para las comunidades de protozoos y metazoos, ya que determinan la cantidad de alimento o materia orgánica disponible y el tiempo con el que cuentan estos microorganismos para reproducirse. Adicionalmente, ambos se relacionan con la abundancia de protozoos y metazoos en los lodos activados (Al-Shahwani y Horan, 1991; Marín y Osés, 2013).

Además, ciertas condiciones ambientales que se dan en el reactor de aireación, como la concentración de oxígeno disuelto, el pH y la temperatura, resultan

determinantes en la abundancia y diversidad de especies de protozoos y metazoos que colonizan los lodos activados (Parada-Albarracín et al., 2010; Babko et al., 2014). Sin embargo, también se ha identificado que la concentración de nitrógeno, fósforo, DQO y DBO en el agua cruda que ingresa a las plantas de tratamiento son parámetros para considerar como influyentes en la estructura de los flóculos y las relaciones tróficas que pueden desarrollarse en el reactor de aireación.

La implementación de un monitoreo biológico de rutina que permita obtener un valor de IBL, ofrece resultados de manera inmediata e integral, siendo una herramienta complementaria de análisis para la toma de decisiones de control operacional en los sistemas de tratamiento por lodos activados. Por lo tanto, en esta investigación busco evaluar el funcionamiento del Índice Biológico de Lodos (IBL) como herramienta de bioindicación para reflejar la calidad del agua tratada que generan los sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria. Al mismo tiempo, analizo las relaciones existentes entre el IBL y los parámetros fisicoquímicos, ambientales y operacionales en estos sistemas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo:

Para esta investigación evalué dos sistemas de tratamiento de aguas residuales: una planta de tratamiento de aguas residuales de lodos activados convencional (Convencional) y un sistema de tratamiento piloto de Biorreactor de Membrana (MBR). Ambos sistemas se alimentan de la misma agua residual cruda que genera el Hospital San Vicente de Paul (HSVP) de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS), un hospital regional del cantón central de la provincia de Heredia, Costa Rica.

El Hospital San Vicente de Paul (9°59'30.6" N, 84°07'19.5" W) brinda servicios médicos en todas las especialidades, además de consulta externa, hospitalización y atención de emergencias durante 24 horas, los siete días de la semana. La población adscrita a este hospital es de aproximadamente 560 000 personas (Caja Costarricense del Seguro Social {CCSS}, 2021).

El sistema Convencional del hospital opera desde el año 2010 con un caudal de diseño de 300 m³/día que trabaja de manera estable. Este sistema cuenta con dos módulos de tratamiento secundario, y se compone de las siguientes unidades de tratamiento: rejillas, desarenador, tanque de homogenización, dos tanques de aireación, dos sedimentadores secundarios, digestor de lodos, prensa deshidratadora del lodo, tanque de contacto con cloro y vertedero de salida (Fig. 1).

El sistema piloto MBR se instaló durante el año 2021 e inició su puesta en marcha y ejecución durante el mes de febrero del 2022. El sistema piloto de MBR está diseñado para recibir un caudal diario de 15 m³/día. La membrana se da con disposición sumergida, con un tamaño de poro que permite la ultrafiltración (Fig. 1).



Figura 1. Imágenes del sitio de muestreo: A. Sistema de tratamiento de aguas residuales de lodos activados convencional (Convencional) y B. Sistema piloto de tratamiento de Biorreactor de Membrana (MBR).

Muestras: Llevé a cabo muestreos en cada uno de los sistemas (Convencional y MBR) dos veces a la semana durante dos meses, para un total de 36 muestreos. Las fechas de los muestreos fueron: 15, 17, 22 y 24 de febrero, 8, 10, 15, 17, 22, 24, 29, 31 de marzo y 5, 7, 19 y 21 de abril del 2022.

Paralelamente, en estos muestreos tomé datos de los parámetros fisicoquímicos, los parámetros ambientales y las muestras biológicas para el análisis de los protozoos y metazoos presentes en el lodo activado. La toma y análisis de las muestras biológicas me permitió realizar el cálculo del IBL a través del tiempo para ambos sistemas, según Madoni (1994).

Toma de muestras y análisis de los parámetros fisicoquímicos: Un laboratorio acreditado y especializado en aguas residuales tomó muestras compuestas de los parámetros fisicoquímicos en: a) el agua cruda que ingresa (afluente) y, b) el agua tratada que sale del sistema (efluente); esto con el fin de evaluar la calidad del agua cruda que ingresa, así como la eficiencia de remoción de los parámetros analizados en cada uno de los sistemas bajo estudio. La fórmula mediante la cual estimé el porcentaje de remoción para cada parámetro fisicoquímico analizado, es la siguiente:

Ecuación 1:

$$E = \frac{(C_o - C_e) \times 100}{C_o}$$

Donde

E = Eficiencia de remoción (%)

C_o = concentración del contaminante en el afluente (agua cruda) (mg/L)

C_e: concentración del contaminante en el efluente (agua tratada) (mg/L)

El punto a) fue el mismo para ambos sistemas (Convencional y MBR), ya que el origen del agua residual con que se alimentan es el mismo; mientras que existen dos puntos b), uno para el sistema Convencional y otro para el MBR. Los parámetros

fisicoquímicos que muestreé en ambos puntos fueron: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Suspendidos Totales (SST), Nitrógeno (N) y Fósforo (P).

El muestreo fue compuesto de seis horas, y basado en los métodos de referencia del manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Baird, et al., 2017). Un laboratorio acreditado tomó una submuestra por hora con un volumen de 1 400 mL cada una, y posteriormente se mezclan estas seis submuestras para formar una muestra cada día por parámetro. El análisis de estos parámetros fue llevado a cabo por un laboratorio acreditado.

Una vez con los resultados para cada parámetro, pude calcular el porcentaje de remoción (%) de cada uno de los parámetros (DBO, DQO, SST, Nitrógeno y Fósforo), lo cual me permitió comparar los resultados, y por lo tanto el desempeño, entre sistemas de tratamiento.

Toma de muestras de los parámetros ambientales: En el reactor de aireación de cada uno de los sistemas de tratamiento llevé a cabo el análisis de los siguientes parámetros ambientales: pH, temperatura y oxígeno disuelto. Los datos los obtuve mediante el uso de un medidor de pH HI 9813-6 marca Hanna (pH y temperatura), mientras que para obtener la concentración de oxígeno disuelto en el tanque de aireación utilicé un medidor portátil HI 9146 marca Hanna. La toma de los parámetros ambientales la realicé dos veces a la semana, los mismos días de la toma de las muestras fisicoquímicas y biológicas.

Toma de muestras y cálculo de los parámetros operacionales: En este estudio consideré los siguientes parámetros operacionales: relación Alimento/Microorganismos (A/M) y edad del lodo. Para poder calcular el valor del A/M y edad del lodo, es necesario contar con el dato de la concentración de Sólidos Suspendidos en el Licor de Mezcla (SSLM) y de Sólidos Suspendidos Volátiles en el Licor de Mezcla (SSVLM) en cada tanque de aireación.

Para esto, el mismo laboratorio acreditado que realizó los muestreos de parámetros fisicoquímicos tomó una muestra compuesta en cada tanque de aireación, con el fin de determinar la concentración de SSLM y SSVLM. Esto significa que se tomó una muestra compuesta de seis horas dos veces a la semana. El muestreo y análisis de estos parámetros se realizó utilizando como referencia el manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (Baird, et al., 2017).

Determiné los valores de la relación A/M y de la edad del lodo mediante las siguientes ecuaciones:

Ecuación 2:

$$\frac{A}{M} = \frac{(Qa) \times (kgDBO)}{(Vr) \times (SSVLM)}$$

Donde,

Qa = Caudal de ingreso del agua cruda al sistema (afluente).

Vr = Volumen del reactor de aireación.

SSVLM = Sólidos Suspendidos Volátiles en Lodo Activado.

Ecuación 3:

$$\theta_c = \frac{(V_r) \times (SSVLM)}{(SSVLd) \times (Q_d) + (SSVe) \times (Q_e)}$$

Donde,

θ_c = Tiempo medio de retención celular (edad del lodo)

V_r = Volumen del reactor de aireación.

SSVLM = Sólidos Suspendidos Volátiles en Lodo Activado

SSVLd = Sólidos Suspendidos Volátiles del lodo de purga.

SSVe = Sólidos Suspendidos Volátiles en el efluente.

Q_d = Caudal de purga.

Q_e = Caudal del agua tratada (efluente).

Toma de muestras biológicas: El protocolo para la toma de muestras biológicas, así como su transporte y análisis, lo realicé según Rodríguez et al. (2019). La toma de muestras para el análisis biológico la llevé a cabo en el tanque de aireación (lodo activado) de cada sistema de tratamiento, mediante el uso de un muestreador con vara larga. La toma de estas muestras la realicé los mismos días que los muestreos fisicoquímicos, dos veces a la semana.

Durante cada muestreo, recolecté en botellas plásticas de un litro una muestra compuesta por dos puntos distintos de cada tanque de aireación, en donde la agitación era homogénea. Transporté las muestras hasta el laboratorio en hielera con oxigenación mediante un motor de pecera que transmite el oxígeno por una manguera hasta una piedra porosa. Durante el transporte procuré la mayor estabilidad de la muestra, evitando la refrigeración y la agitación excesiva. Es ideal que la observación de la muestra al microscopio las realice en las próximas cinco horas después de su recolecta. Sin embargo, es aceptable el análisis de una muestra bajo aireación incluso 48 horas después de que ha sido recolectada. Utilicé un microscopio de contraste a 40x y 100x para observar tres réplicas de 25 μ L. Para el conteo de flagelados, observé tres réplicas de 3.5 μ L de cada muestra utilizando una placa Neubauer mejorada.

A partir del análisis de cada muestra analicé los siguientes aspectos: grupo dominante, densidad total de organismos, número de taxones identificados y recuento de flagelados (Madoni, 1994, Rodríguez et al., 2019).

Índice Biológico de Lodos (IBL): Calculé el índice Biológico de Lodos (IBL) para cada muestra biológica en el tanque de aireación basada en el procedimiento establecido por Madoni (1994). Estimar la abundancia de la microfauna (protozoos y metazoos), tal y como se describe en la sección anterior (Toma de muestras biológicas), me permite asignarle un valor del 1 al 10 al IBL calculado, y a su vez clasificar este valor en Clases del I al IV. Estas Clases se asocian al desempeño del sistema de tratamiento.

La interpretación del IBL la obtuve a partir de dos matrices elaboradas por Madoni (1994) y que se presentan en el Cuadro 1 y Cuadro 2.

Cuadro 1
Matriz para la determinación del Índice Biológico de Lodos (IBL)

Grupo dominante y densidad de la microfauna que define la línea horizontal de entrada en tabla	Densidad	Número de unidades taxonómicas totales que constituyen la microfauna presente en el lodo activado, y número de flagelados (F) contados en la cámara Fuchs-Rosenthal							
		>10		8-10		5-7		<5	
		F < 10	10 < F < 100	F < 10	10 < F < 100	F < 10	10 < F < 100	F < 10	10 < F < 100
Ciliados y/o amebas testáceas (rastreras + sésiles) *	≥ 106	10	8	9	7	8	6	7	5
	< 106	9	7	8	6	7	5	6	4
Ciliados sésiles (>80%) *	≥ 106	9	7	8	6	7	5	6	4
	< 106	8	6	7	5	6	4	5	3
Opercularia spp.	≥ 106	7	5	6	4	5	3	4	2
	< 106	6	4	5	3	4	2	3	1
Vorticella microstoma	≥ 106	6	4	5	3	4	2	3	1
	< 106	5	3	4	2	3	1	2	0
Ciliados bacterívoros nadadores	≥ 106	5	3	4	2	3	1	2	0
	< 106	4	2	3	1	2	0	1	0
Flagelados nadadores pequeños +	≥ 106	4		3		2		1	
	< 106	3		2		1		0	

*Opercularia y Vorticella no son abundantes

+En la placa Fuchs-Rosenthal

Cuadro 2
Conversión de los valores obtenidos para el Índice Biológico de Lodos (IBL) a clases de calidad, así como el criterio respectivo

Valor del IBL	Clase	Criterio
8-10	I	Lodo estable y muy bien colonizado, excelente actividad biológica. Muy buen desempeño
6-7	II	Lodo estable y bien colonizado, actividad biológica decaída. Buen desempeño
4-5	III	Depuración biológica insuficiente en el tanque de aireación. Desempeño mediocre.
0-3	IV	Depuración biológica pobre en el tanque de aireación. Bajo desempeño.

Para el resultado obtenido del IBL debí de considerar únicamente los organismos cuya frecuencia relativa de aparición en las muestras biológicas sea superior a 20% (Zornoza, 2015).

Análisis de datos: El programa estadístico que utilicé para el análisis de los resultados fue Rstudio en su versión 4.2.3.

Utilicé la prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos obtenidos. En caso de que los datos no se ajustaran a la normalidad, procedí a llevar a cabo las transformaciones necesarias para evaluar si es posible que los datos presenten un comportamiento normal.

Con pruebas T Student (t) comprobé si existían diferencias significativas entre los valores promedio obtenidos de un parámetro particular entre sistemas de tratamiento. En caso de que los datos no cumplieran el supuesto de normalidad, los analicé mediante la prueba U de Mann Whitney (W) para comparación de medianas.

El análisis estadístico para verificar las correlaciones entre el IBL y los parámetros (físicoquímicos, ambientales y operacionales) lo hice mediante un ANCOVA. De esta forma, me fue posible determinar si existe una interacción entre cada parámetro y los dos sistemas de tratamiento respecto a su respuesta como valor de IBL. O bien, si se da una relación similar del IBL con el parámetro en ambos sistemas. Es importante mencionar que el IBL funciona como una variable respuesta ante los parámetros ambientales y operacionales. Además, realicé otras pruebas de ANCOVA donde los parámetros físicoquímicos (eficiencias de remoción de DBO, DQO, SST, Nitrógeno y Fósforo) serían variables respuesta ante el valor del IBL obtenido respecto a los dos sistemas de tratamiento.

Para los valores IBL no me fue posible obtener la normalidad de los datos. Debido a la no normalidad de los datos de IBL, y a que el IBL representa la variable respuesta para los parámetros ambientales y operacionales, procedí con la conversión de los datos a rangos, para así poder realizar análisis de ANCOVA adecuados con estos parámetros. El análisis de la ANCOVA en rangos es un método para producir resultados robustos a pesar de que no se cumplan las asunciones para la aplicación de esta prueba (Quinn y Keough, 2002).

Con el programa estadístico R comprobé los supuestos de la ANCOVA mediante las siguientes pruebas: la prueba Breuch-Pagan para el análisis de la homocedasticidad de las varianzas de la regresión, la prueba Jarque-Bera para el análisis de la normalidad de la regresión, la prueba Barlet para el análisis de la homogeneidad de las varianzas entre los tratamientos, y la prueba de Shapiro Wilk para el análisis de los residuos entre los tratamientos. El resumen de los resultados de estas pruebas se encuentra en el Anexo 2.

RESULTADOS

Parámetros físicoquímicos: El sistema de tratamiento Convencional fue un 10.45% más eficiente en la remoción de los Sólidos Suspendidos Totales (SST), un 68.37% más eficiente en la remoción del fósforo (P) y un 10.88% más eficiente en la remoción de nitrógeno (N), en comparación con el sistema MBR. Mientras que el MBR fue más eficiente en la remoción de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) (12.46%) y de Demanda Química de Oxígeno (DQO) (4.24%) que el sistema de tratamiento Convencional (Cuadro 3).

Cuadro 3

Valores promedio, desviación estándar y mediana, del porcentaje de remoción para cada parámetro fisicoquímico analizado en los tanques de aireación de cada sistema de tratamiento (Convencional y MBR)

Parámetro fisicoquímico	Sistema de tratamiento Convencional		Sistema de tratamiento por MBR (%)		Prueba U Mann Whitney o T-Student
	Promedio (% remoción) (\pm D.E.)	Mediana (% remoción)	Promedio (% remoción) (\pm D.E.)	Mediana (% remoción)	
DBO	85.36 (\pm 12.72)	86.55	98.45 (\pm 1.56)	98.82	W=12, $p \leq 0.001$
DQO	88.10 (\pm 9.88)	92.24	94.57 (\pm 4.28)	96.47	W=54, $p = 0.004$
SST	79.78 (\pm 18.32)	87.67	97.70 (\pm 1.65)	98.12	W=7, $p \leq 0.001$
Nitrógeno	61.43 (\pm 15.97)	58.91	50.55 (\pm 15.41)	53.91	$t = 1.96$ $p = 0.059$
Fósforo	49.69 (\pm 39.65)	57.50	-12.21 (\pm 50.74)	-10.87	W=217, $p \leq 0.001$

Parámetros ambientales: Con el análisis de los datos ambientales encontré que, en promedio, el sistema de tratamiento de MBR es levemente más ácido y con mucho más oxígeno disuelto disponible, que el sistema de tratamiento Convencional. Por otro lado, la temperatura es más alta en el sistema de tratamiento Convencional en comparación con el MBR (Cuadro 4).

Cuadro 4

Valores promedio, desviación estándar y mediana de los parámetros ambientales medidos en los tanques de aireación de cada sistema de tratamiento (Convencional y MBR)

Parámetro ambiental	Sistema de tratamiento Convencional		Sistema de tratamiento por MBR		Prueba U Mann Whitney o T Student
	Promedio (\pm D.E.)	Mediana	Promedio (\pm D.E.)	Mediana	
pH	7.09 (\pm 0.29)	7.10	6.38 (\pm 0.49)	6.36	$t = 5.02$, $p \leq 0.001$
Temperatura ($^{\circ}$ C)	27.91 (\pm 0.84)	28.02	25.55 (\pm 1.53)	25.40	$t = 5.38$, $p \leq 0.001$
Oxígeno disuelto (ppm)	0.30 (\pm 0.25)	0.25	2.31 (\pm 1.70)	1.93	W=6.5, $p \leq 0.001$

Parámetros operacionales: El sistema de tratamiento Convencional presentó un promedio de edad del lodo mucho mayor que el MBR. Mientras que el MBR obtuvo un promedio de relación A/M mayor en comparación con el sistema Convencional (Cuadro 5).

Cuadro 5
Valores promedio, desviación estándar y mediana de los parámetros operacionales calculados para cada sistema de tratamiento (Convencional y MBR)

Parámetro operacional	Sistema de tratamiento Convencional		Sistema de tratamiento por MBR		Prueba U Mann Whitney o T Student
	Promedio (\pm D.E.)	Mediana	Promedio (\pm D.E.)	Mediana	
Relación A/M	0.43 (\pm 0.87)	0.18	1.04(\pm 1.09)	0.61	W=60, p=0.011
Edad del lodo (días)	2329.56 (\pm 153.89)	2336.14	86.73 (\pm 157.44)	29.60	t=-4.87, p<0.001

Índice Biológico de Lodos (IBL): La cantidad promedio de taxones presente en las muestras del sistema de tratamiento Convencional fue de 8.4 taxones, mientras que para el MBR fue de 11.7 taxones (Cuadro 6).

Cuadro 6
Cantidad total de protozoos encontrados durante el muestreo biológico según la clasificación de grupos funcionales del IBL para cada uno de los sistemas de tratamiento de aguas residuales estudiado.

Grupo funcional de protozoos	Sistema Convencional	Sistema MBR
Ciliados reptantes y/o amebas testáceas	2 975	14 491
Ciliados sésiles	85	110
Vorticella sp.	967	389
Ciliados nadadores	3	46
Flagelados pequeños	319	252
Total	4 349	15 288

Según el Cuadro 7, y la matriz presentada en el Cuadro 2, el sistema de tratamiento Convencional por lodos activados se encuentra clasificado entre Clase I y Clase II, presentando un buen desempeño y una buena actividad biológica en su tanque de aireación. Mientras que el sistema de tratamiento MBR se clasifica como Clase I, es decir, es un sistema con un desempeño muy bueno y con una actividad biológica excelente y saludable. Además, comprobé que los valores de mediana para el IBL obtenidos para cada uno de los tratamientos resultaron similares ($W=93$, $p= 0.166$, Cuadro 6), esto quiere decir que ambos sistemas pueden considerarse de Clase I según el IBL. En el Anexo 1 presento el desglose realizado para alcanzar la determinación de este valor.

Cuadro 7
 Promedio del Índice Biológico de Lodos (IBL) obtenido para cada muestreo
 realizado según el sistema de tratamiento (Convencional y MBR)

Muestreo	Promedio del IBL para el sistema de tratamiento Convencional	Promedio del IBL para el sistema de tratamiento MBR
1	8	10
2	9	10
3	9	10
4	8	8
5	10	7
6	9	8
7	8	8
8	7	8
9	8	8
10	7	10
11	7	8
12	7	8
13	7	8
14	7	8
15	10	8
16	1	8
PROMEDIO	7.62	8.44
MEDIANA	8.00	8.00

Encontré que se asocian al valor IBL, tanto el porcentaje de remoción del DBO ($p=0.031$) como el del DQO ($p=0.005$). Y a su vez, ambos porcentajes de remoción cambian su valor según el sistema de tratamiento ($p \leq 0.001$). Además, para el porcentaje de remoción del DQO, encontré una relación entre los tratamientos y el valor de IBL obtenido ($p=0.010$). Con respecto al porcentaje de remoción del nitrógeno, pude comprobar que su valor depende del IBL ($p=0.03$) (Fig. 2).

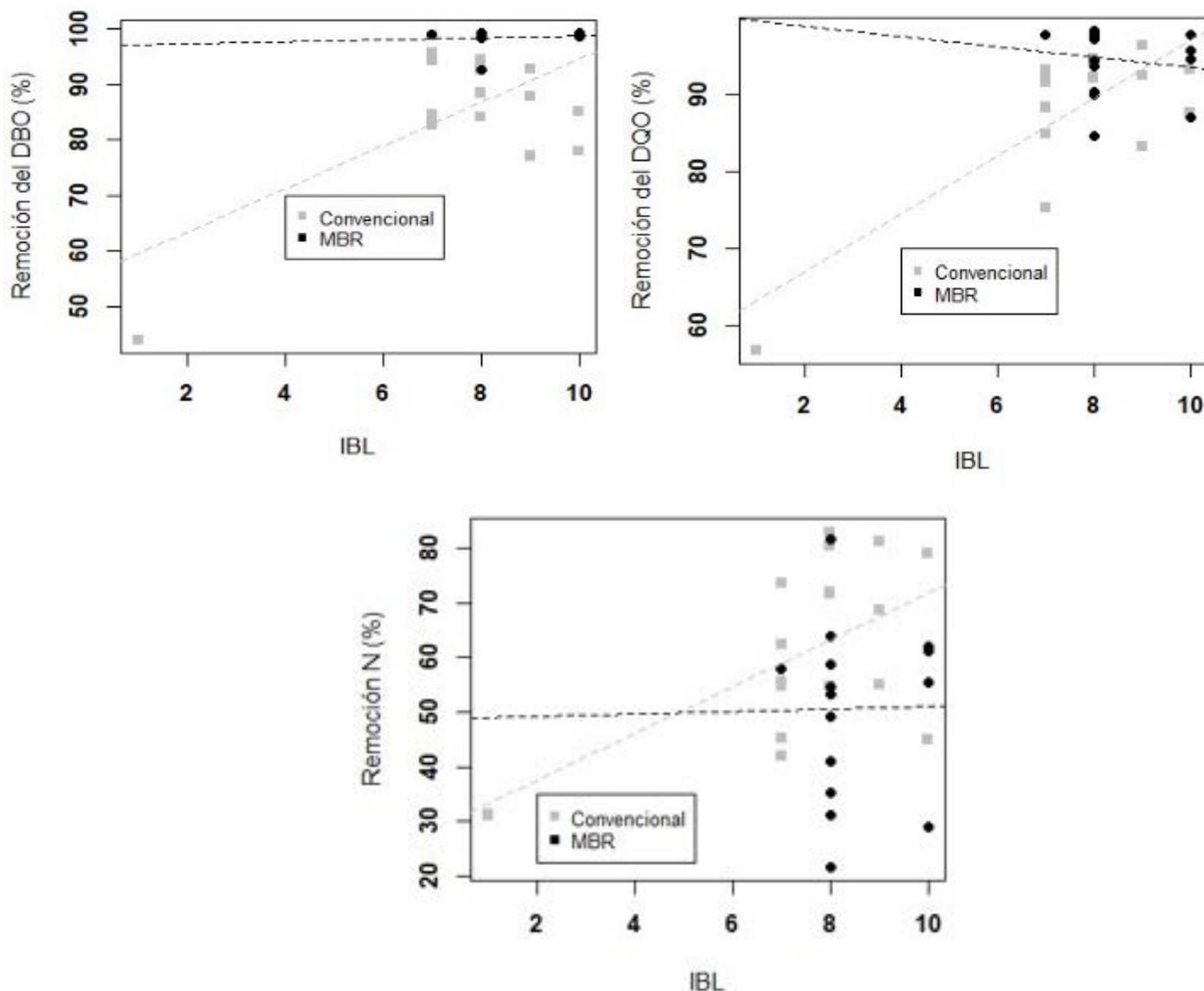


Figura 2. Gráfico de ANCOVA para el porcentaje de remoción del DBO, DQO y Nitrógeno en el sistema de tratamiento Convencional y en el Biorreactor de Membrana (MBR)

Para evaluar el efecto que pueden tener los parámetros ambientales (pH, temperatura y oxígeno disuelto) sobre los valores de IBL obtenidos, también apliqué análisis de ANCOVA. Sin embargo, no hubo ninguna relación entre los tratamientos ($p > 0.05$), ni tampoco con el IBL ($p > 0.05$).

Utilicé análisis ANCOVA para evaluar el efecto de los parámetros operacionales sobre el resultado del IBL. Para el caso de la relación A/M no encontré ninguna asociación ($p>0.05$), mientras que para la edad del lodo sí; una tendencia a una relación entre el IBL y el tipo de sistema de tratamiento ($p=0.052$). Así como una relación que evidencia cómo los valores de IBL obtenidos dependen de parámetro edad del lodo ($p=0.013$) (Fig. 3).

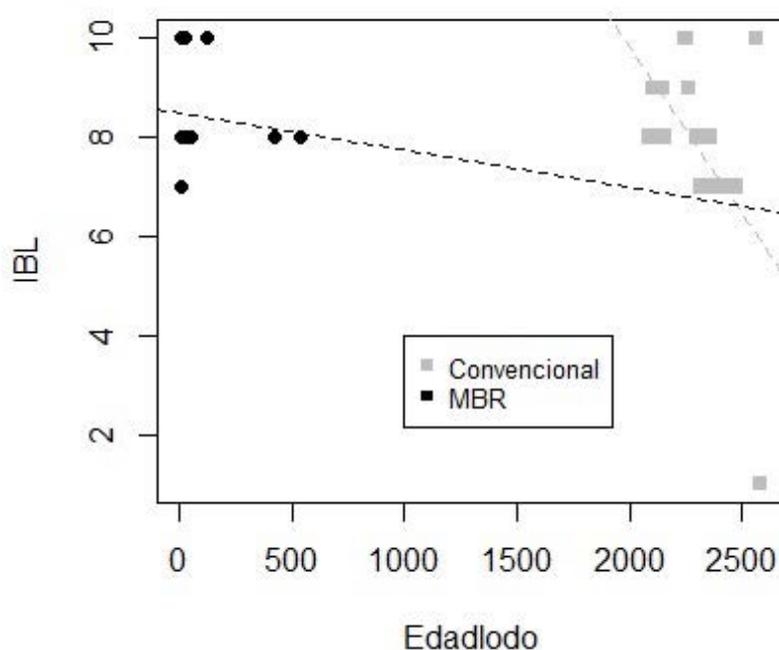


Figura 3. Gráfico de ANCOVA para IBL y su relación con el parámetro operacional Edad del Lodo (días) en el sistema de tratamiento Convencional y en el MBR

DISCUSIÓN

Parámetros fisicoquímicos Hay que recordar que el Índice Biológico de Lodos (IBL) es un índice que se basa en la clasificación de los grupos dominantes de la microfauna y sus densidades; y, por lo tanto, asume que, a mayor cantidad y densidad de microorganismos, de mayor calidad será el agua tratada obtenida (Madoni, 1994; Arregui et al., 2013). De hecho, otros investigadores han asociado una mayor eficiencia de remoción de parámetros como la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO), con una mayor densidad de protozoos en el lodo activado de los sistemas de tratamiento de agua residual (Martín-Cerceda et al., 1996; Bento et al., 2005). Esto es congruente con los resultados de esta investigación, en donde observé que el porcentaje de remoción del DBO y del DQO se asocia con los valores del IBL.

Por otro lado, se ha observado que sucede lo contrario con la eficiencia de remoción de los Sólidos Suspendidos Totales (SST), ya que, al existir una mayor densidad de microorganismos, sobre todo de microflagelados, se incrementa la turbidez de la muestra del efluente (Madoni, 1994; Salvadó et al., 1995; Bento et al., 2005). En este estudio no observé asociación entre el porcentaje de remoción de los SST y el valor

del IBL. Sin embargo, encontré un valor de remoción de SST 10,45% menor en el sistema de tratamiento Convencional en comparación con el MBR; debido probablemente a la naturaleza semipermeable de los sistemas de membrana, que a la vez permiten retener todos los sólidos suspendidos con tamaño mayor al tamaño de su poro (Radjenović et al., 2008).

Además, en contraposición a lo que reporta Wen et al. (2004), el porcentaje de remoción de nitrógeno en el biorreactor de membrana (MBR) no fue eficiente, al no superar el 50,55% en promedio, y siendo un valor incluso menor al promedio del porcentaje de remoción promedio obtenido por el sistema Convencional (61,43%). Más bien, estos resultados muestran estar acorde a otras investigaciones científicas que han indicado que las eficiencias de remoción del nitrógeno amoniacal son similares entre ambos tipos de tratamiento (Yin y Xagorarakí, 2014). Esto a pesar de que en este estudio el MBR cuenta con un sistema de nitrificación, ya que presenta un mecanismo para propiciar la remoción de nitrógeno mediante la recirculación del lodo activado hacia un tanque contactor anóxico ubicado al inicio del sistema.

Otras investigaciones afirman que la composición de la comunidad de protozoos (cantidad y diversidad) presente en sistemas de tratamiento avanzado para la eliminación de nitrógeno es distinta a la de otros sistemas de tratamiento de agua residual (Pérez-Uz et al., 2010; Arregui et al., 2013). Estos estudios asocian una buena eficiencia de nitrificación, con alta presencia de amebas y flagelados como *Bodo saltans*. Sin embargo, para el sistema de tratamiento de MBR en este estudio, al igual que para el sistema de tratamiento Convencional, el grupo dominante según el IBL fueron los ciliados reptantes y/o amebas testáceas, y no los flagelados pequeños. La dominancia de algunas especies de ciliados reptantes como *Aspidisca* sp. indican que los procesos de nitrificación se dan en el tanque de aireación (Bento et al., 2005). Por otro lado, Radjenović et al. (2008) comenta que para que existan niveles satisfactorios de nitrificación en los sistemas de tratamiento de MBR, es necesario que el oxígeno disuelto sea suficiente, sin disminuir sus niveles óptimos, dado que muchas de las bacterias que participan en el proceso de nitrificación como *Nitrosomas* sp., necesitan condiciones aerobias para desarrollarse.

Otro nutriente presente en los sistemas de tratamiento de aguas residuales es el fósforo. La eliminación del fósforo en aguas residuales se da hasta cierto punto de forma natural en los lodos activados debido no solo a la presencia de bacterias acumuladoras de fosfato, sino también gracias a los polímeros extracelulares que componen los flóculos (Abzazou et al., 2017; Rodríguez et al., 2019). Así mismo, la eliminación del fósforo en las aguas residuales se potencia mediante condiciones anaerobias y aerobias alternas (Abzazou et al., 2017). Los dos sistemas que estudié no contemplaban unidades ni condiciones de tratamiento específicas para la remoción de fósforo, y esto se evidencia con porcentajes de remoción del fósforo bajos o incluso negativos para el caso del MBR. Adicionalmente, no obtuve ninguna relación entre el porcentaje de remoción del fósforo y el IBL. Esto concuerda con investigaciones previas que han hecho los mismos análisis entre este parámetro y el IBL (Kepec et al., 2020).

La naturaleza de las actividades que se llevan a cabo en los centros médicos u hospitales implica que las aguas residuales de estos establecimientos contienen cantidades importantes de sustancias químicas, farmacológicas y patogénicas. Estas sustancias son clasificadas como contaminantes emergentes, y muchas de ellas, incluso después del proceso de tratamiento, continúan presentes en el agua tratada (Jirova et al., 2016). Debido a que el sistema de tratamiento Convencional no tiene la capacidad de eliminar este tipo de contaminantes, no evalué la eficiencia de los sistemas de tratamiento en términos de remoción de contaminantes emergentes. Al comparar el desempeño del MBR frente a sistemas de tratamiento lodos activados para depurar aguas residuales hospitalarias, Yin y Xagorarakí (2014) han señalado que el MBR funciona mejor para la remoción de patógenos.

Parámetros ambientales: Todos los parámetros ambientales que analicé (pH, temperatura y oxígeno disuelto) fueron distintos entre sistemas de tratamiento, pero

ninguno de estos parámetros mostró tener efecto sobre los valores de IBL obtenidos. Esto no coincide con la afirmación de Drzewicki y Kulikowska (2011) y Foissner (2016), quienes señalan que la dominancia de ciertos grupos tróficos en el lodo activado depende de la concentración de oxígeno. El nivel de oxígeno disuelto pudo haber influido en la diferencia del IBL obtenido entre tratamientos, ya que el promedio del oxígeno disuelto en el tanque de aireación del sistema de tratamiento Convencional fue notoriamente inferior (0.30 ppm) al promedio en el MBR (2.31 ppm), presentando valores incluso por debajo del valor recomendado para que este tipo de sistemas operen de forma adecuada (Von Sperling, 2007).

Por su parte, Zornoza et al. (2010), indican que la estructura de la comunidad y la densidad de protozoos y metazoos en el lodo activado se ve influenciada por la temperatura, debido a que este parámetro potencia muchas de las reacciones en el agua. Bento et al. (2005) y Babko et al. (2014), durante la aplicación del IBL en distintos sistemas de tratamiento por lodos activados, lograron determinar que, en general, valores de pH altos, así como altas temperaturas, afectan a las comunidades de ciliados reptantes y zooflagelados.

Parámetros operacionales: Se ha demostrado que la relación Alimento/Microorganismos (Relación A/M) influye sobre la comunidad de protozoos en el lodo activado ya que determina la cantidad de alimento disponible para ellos (Al-Shahwani y Horan; 1991). En reactores donde la relación A/M es equilibrada, se espera encontrar una mayor diversidad de taxones dominantes (Marín y Osés, 2013). Para el caso de este estudio, la relación A/M no se relacionó de forma clara con los valores de IBL obtenidos. La tendencia de relación entre el IBL y la edad de lodo fue más clara al analizar los parámetros operacionales por rangos.

La edad del lodo fue en promedio mucho más alta en el sistema de tratamiento Convencional (2329.56 días) que en el MBR (86.73 días). Es de esperar que el MBR, al ser un sistema piloto pequeño y mucho más reciente de operar, maneje valores de edad del lodo menores. De todas formas, la edad del lodo fue relativamente alta para ambos sistemas, lo que puede explicar la baja densidad relativa de flagelados pequeños en las muestras, ya que este grupo de protozoos se espera encontrar de forma abundante en lodos jóvenes (Salvadó 1994; López-Arias et al., 2012). Al igual que en esta investigación, Salvadó (1994) procedió a hacer el análisis de la correlación entre la edad del lodo y la composición de la microfauna a través de rangos. Con los resultados de este estudio confirmo lo indicado por investigaciones anteriores, las cuales afirman que la edad del lodo es uno de los parámetros que influye sobre la densidad y la estructura de la comunidad de los microorganismos presentes en el lodo activado (Al-Shahwani y Horan 1991; Martín-Cerceda et al., 1996; Montusiewicz et al., 2010; Zornoza et al., 2010)

Para el control rutinario de un sistema de tratamiento de aguas residuales existen y se utilizan otros parámetros operacionales. Uno de los más utilizados, y que se ha demostrado que puede estar asociado con la comunidad de protozoos (Martín-Cerceda et al., 1996), pero que no consideré en este estudio, es el Índice Volumétrico del Lodo (IVL). El criterio en el que me basé para no utilizarlo es que se ha demostrado un sesgo en su uso debido a que, dependiendo de la concentración de sólidos suspendidos totales (SST) en el tanque de aireación, sería necesaria la dilución de la muestra para que el índice sea viable (Zornoza et al., 2010). Mientras que el valor óptimo de SST en licor de mezcla de un sistema de tratamiento de lodos activados Convencional es entre 1.5 y 5 mg/L; en el sistema de tratamiento MBR se manejan concentraciones óptimas de entre 10 y hasta 25 mg/L (Radjenović et al., 2008), lo cual los hace sistemas no comparables en el análisis de este parámetro.

Índice Biológico de lodos: Existen estudios que aseguran que cuando la carga orgánica que ingresa a un sistema de tratamiento es muy alta o muy baja, la diversidad de los microorganismos es baja; obteniendo la mayor diversidad con cargas orgánicas intermedias (Al-Shahwani y Horan, 1991; Jenkins et al., 2004; Łagód et al., 2016; Puigagut et al., 2007). Y al respecto, dado que tanto el sistema de tratamiento Convencional como el de MBR se alimentan de la misma agua cruda, este factor no

debería ser limitante para la diferencia entre la diversidad de la comunidad de protozoos y metazoos encontrados en el lodo activado de cada uno de los sistemas de tratamiento. Aun así, a pesar de que el promedio del IBL entre tratamientos fue similar, el promedio de la cantidad de taxones encontrada en las muestras del sistema de tratamiento Convencional fue menor que la encontrada para el sistema de tratamiento por MBR. Durante el conteo biológico que llevé a cabo en el laboratorio observé una cantidad y densidad mucho mayor de microorganismos en el sistema de tratamiento de biorreactor de membrana (MBR) que en el sistema de tratamiento Convencional. Las densidades promedio que contabilicé se asemejan a las obtenidas en otros estudios similares (Bento et al., 2005; Leal et al., 2013).

El grupo dominante en el sistema de tratamiento Convencional y en el MBR, según la clasificación del IBL, fueron los ciliados reptantes y/o las amebas testáceas. Esta relación tiene que ver con el hecho de que la dominancia de amebas testáceas (como las de los géneros *Euglypha* y *Arcella*) en el lodo activado evidencia una buena oxigenación, así como un buen desempeño del sistema de tratamiento y procesos de nitrificación (Madoni, 1994; Bento et al., 2005; Arregui et al., 2012; Rodríguez et al., 2019). A su vez, la dominancia de amebas testáceas puede indicar altas edades del lodo (Chen et al., 2004; Bento et al., 2005).

En general, los ciliados juegan un papel importante en la mineralización de materia orgánica, y en sistemas de tratamiento por lodo activado contribuyen además en la formación de flóculos (Martín-Cerceda et al., 1996; Pérez-Uz et al., 2010; López-Arias et al., 2012; Sobczyk et al. 2020). Cuando los grupos dominantes de protozoos en un lodo activado resultan de una combinación entre ciliados sésiles y reptantes, hay un indicativo de que el sistema de tratamiento de aguas residuales cuenta con un buen desempeño de depuración (Madoni, 1994); esto debido a que normalmente los ciliados sésiles se correlacionan negativamente con las cargas de DBO (Martín-Cerceda et al., 1996; Bento et al., 2005; Arregui et al., 2013). Por otro lado, cuando en el tanque de aireación dominan los ciliados nadadores, se trata de un lodo activado recién colonizado y un sistema de tratamiento con baja eficiencia (Martín-Cerceda et al., 1996; Arregui et al., 2013).

En los sistemas de tratamiento se da una sucesión de los grupos de ciliados que dominan en el lodo activado conforme aumenta la edad del lodo (Salvadó, 1994; Bento et al., 2005). Así, en lodos con edad intermedia, el grupo de ciliados dominante son los pertenecientes al grupo Hipotricos, donde se ubican géneros como *Aspidisca* y *Euplotes*; mientras que, en lodos con edades del lodo más avanzadas, el grupo dominante son los Peritricos, siendo uno de sus representantes los ciliados sésiles del género *Vorticella* (Salvadó, 1994).

Los metazoos, aunque en densidades muy bajas, también se encuentran en muestras de lodo activado; y, de este grupo, lo más común es encontrar rotíferos y nemátodos, pero también suelen encontrarse anélidos, gastrotricos y tardígrados (Arregui et al., 2013). Debe de tenerse en consideración que los grupos de metazoos que encontré en este estudio no fueron contemplados para el cálculo del IBL, ya que el mismo no los incluye como un grupo de microorganismos funcional (Madoni, 1994).

En general, con los resultados de esta investigación he demostrado, a través del cálculo del IBL y su relación con parámetros fisicoquímicos, ambientales y operacionales, que la predominancia de amebas testáceas y ciliados reptantes indica un lodo activado estable y maduro, obteniendo una alta calidad de agua tratada. Esto sobre todo para la evaluación del sistema en la eficiencia de remoción del DBO y del DQO. La literatura científica ha afirmado que el IBL resulta ideal para la evaluación de sistemas de tratamiento por lodos activados (Rodríguez et al., 2019); sin embargo, sus resultados no siempre funcionan del mismo modo para sistemas de Biorreactores de Membrana (MBR) (Parada-Albarracín et al., 2010). Esto debido a que la estructura de la comunidad microbiana es distinta entre ambos sistemas de tratamiento (Pérez-Uz et al., 2010; Yin y Xagorarakí, 2014).

Para hacer uso del IBL como parte de un monitoreo rutinario existen limitaciones respecto a la identificación al microscopio de los microorganismos, ya que pueden existir especies con características morfológicas muy similares, y, además, no todos los investigadores utilizan las mismas técnicas de tinción para las muestras (Arregui et al., 2013). El IBL también ha sido criticado por su falta de sensibilidad (Drzewicki y Kulikowska, 2011), y por la posibilidad de que exista codominancia entre distintos grupos de microorganismos en la misma muestra (Arregui et al., 2013).

A pesar de sus vacíos, el IBL es uno de los índices biológicos más utilizados en el control rutinario de un sistema de tratamiento de aguas residuales (Zornoza et al., 2010), debido a que puede llegar a ser un método de monitoreo poco costoso y rápido de implementar (Montusiewicz et al., 2010; Łagód et al., 2016). Esto está relacionado con el hecho de que la estructura de la comunidad de protozoos en el lodo activado presenta una respuesta bastante rápida a los cambios operativos; fungiendo el papel de bioindicadores en el funcionamiento de un sistema de tratamiento de aguas residuales (Martín-González et al., 2006). Por lo que, caracterizar la estructura de la comunidad de microorganismos que habitan el lodo activado permite determinar el proceso específico que está ocurriendo en el sistema de tratamiento en un momento dado (Montusiewicz et al., 2010; Colorado et al., 2012).

Para progresar en este campo de investigación, es necesario llevar a cabo la identificación de los microorganismos con una visión integrada que considere otros parámetros fisicoquímicos, ambientales y estructurales que ocurren en el tanque de aireación estudiado. Además, el análisis de la microfauna debe de realizarse según sus grupos funcionales, pero también tomando en consideración los requerimientos específicos de cada especie (Leal et al., 2013; Foissner, 2016; Kepec et al., 2020).

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al personal administrativo y de mantenimiento del hospital San Vicente de Paúl, así como a la Dirección de Administración de Proyectos Especiales (DAPE) de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS) por hacer posible los muestreos para el desarrollo de esta investigación. También al Centro de Investigación en Ciencias del Mar (CIMAR) de la Universidad de Costa Rica (UCR), y a su director el doctor Álvaro Morales por la facilitación de un espacio de laboratorio para realizar los análisis de microfauna. Mi comité de tesis ha sido clave para el desarrollo exitoso de este estudio.

Este trabajo es parte de los requisitos de graduación del programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales de la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica.

ÉTICA, CONFLICTO DE INTERESES Y DECLARACIÓN DE FINANCIAMIENTO

Declaro haber cumplido con todos los requisitos éticos y legales pertinentes, tanto durante el estudio como en la preparación de este documento; que no hay conflictos de interés de ningún tipo, y que todas las fuentes financieras se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos.

REFERENCIAS

- Abzazou, T., Salvadó, H., Cárdenas-Youngs, Y., Becerril-Rodríguez, A., Cebirán, E. M. C., Huguet, A. y Araujo, R. M. (2018). Characterization of nutrient-removing microbial communities in two full-scale WWTP systems using a new qPCR approach. *Science of The Total Environment*, 618, 858-865. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.241>
- Alfaro-Arrieta, E. (2020). Caracterización de lodos activados en varias plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) aeróbicas de Costa Rica. Departamento de Aguas Residuales, Laboratorio Nacional de Aguas AyA.
- Al-Shahwani, S. M. y Horan, N. J. (1991). The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. *Water Research*, 25(6), 633-638. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(91\)90038-R](https://doi.org/10.1016/0043-1354(91)90038-R).
- Arregui, L., Liébana, R., Calvo, P., Pérez-Uz, B., Salvadó, H. y Serrano, S. (2013). Bioindication in activated sludge wastewater treatment plants. En Cesaro J., Valdez J. & Maradona, E. (Eds), *Handbook of Wastewater Treatment: Biological Methods, Technology and Environmental Impact*. Estados Unidos: Nova Science Publishers.
- Arregui, L., Liébana, R., Rodríguez, E., Murciano, A., Conejero, F., Pérez-Uz, C. y Serrano, S. (2012). Analysis of the usefulness of biological parameters for the control of activated sludge wastewater treatment plants in an interlaboratory study context. *Journal of Environmental Monitoring*, 14, 1444-1452.
- Babko, R., Kuzmina, T., Łagód, G. y Jaromin-Gleń, K. (2014). Changes in the Structure of Activated Sludge Protozoa Community at the Different Oxygen Condition / Zmiany W Strukturze Zbiorowiska Pierwotniaków Osadu Czynnego W Zróżnicowanych Warunkach Tlenowych. *Chemistry-Didactics-Ecology-Metrology*, 19(1-2), 87-95. <https://doi.org/10.1515/cdem-2014-0008>
- Baird, R.B., Eaton, A.D., Rice, E.W., Eds. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. (23 ed). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bento, A. P., Sezerino, P. H., Philippi, L. S., Reginatto, V. y Lapolli, F. R. (2005). Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: Um instrumento de avaliação e controle do processo. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 10(4), 329-338. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522005000400009>
- Caja Costarricense del Seguro Social (2021). Estudio integral sobre la gestión de las aguas residuales y lodos en la CCSS con visión innovadora. San José, Costa Rica. 128 pp.
- Chen, S., Xu, M., Cao, H., Zhu, J., Zhou, K., Xu, J., Yang, X., Gan, Y., Liu, W., Zhai, J. y Shao, Y. (2004). The activated-sludge fauna and performance of five sewage treatment plants in Beijing, China. *European Journal of Protistology*, 40, 147-152.
- Colorado, S.L., Leal, M.T., Castillo, E. y González, A. (2012). Análisis microbiológico en el arranque de una planta de lodos activados. XXII Congreso Nacional de Hidráulica. Acapulco, Guerrero, México.
- Curds, C.R. (1975). Protozoa. En: C.R. Curds y H.A. Hawkes (Eds). *Ecological aspects of used-water treatment* (pp. 203–268). Academic Press.
- Drzewicki, A. y Kulikowska, D. (2011). Limitation of sludge biotic index application for control of a wastewater treatment plant working with shock organic and

- ammonium loadings. *European Journal of Protistology*, 47(4), 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2011.06.001>
- Foissner, W. (2016). Protists as bioindicators in activated sludge: Identification, ecology and future needs. *European Journal of Protistology*, 55, 75-94. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2016.02.004>
- Jenkins, D., Richard, M.G. y Daigger, G.T. (2004). Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking, Foaming, and Other Solids Separation Problems (3 ed). IWA Publishing.
- Jiménez, C., Fernández, N., Rodríguez, E., Isac, L., Salas, M.D. y Gómez, E. (2001). Sistema rápido de estimación de los rendimientos en depuración de una EDAR en función de las características macroscópicas y microscópicas del fango activado. *Tecnología del Agua*, 216, 40-44.
- Jirova, G., Wittlingerova, Z., Zimova, M., Vlkova, A., Wittlerova, M., Dvorakova, M. y Jirova, D. (2016). Bioindicators of wastewater ecotoxicity.
- Jordão, E.P., Villas Bôas, D.M.F., Conceição, J.R., Silva, T.C.R. y Além Sobrinho, P. (1997) Controle microbiológico na operação de um sistema de lodos ativados: estudo em escala piloto. *Trabalhos técnicos*.
- Kepec, M., Matoničkin Kepčija, R., Vlaičević, B., Kepec, S. y Gulin, V. (2020). The applicability of the Sludge Biotic Index in a facility treating sugar refinery effluents and municipal wastewater. *Water Environment Research*, 93(7), 1087-1096. <https://doi.org/10.1002/wer.1500>
- Leal, A. L., Dalzochio, M. S., Flores, T. S., De Alves, A. S., Macedo, J. C. y Valiati, V. H. (2013). Implementation of the sludge biotic index in a petrochemical WWTP in Brazil: Improving operational control with traditional methods. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40(12), 1415-1422. <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1354-7>
- López-Arias, T., Moretuzzo, C., Ahrens, M. y Ude, R. (2012). Identificación de organismos bioindicadores presente en lodos activos de plantas de tratamiento de aguas residuales. *Investigaciones y Estudios de la UNA*.
- Łagód, G., Babko, R., Jaromin-Gleń, K., Kuzmina, T. y Bieganowski, A. (2016). Biofilm Communities in Successive Stages of Municipal Wastewater Treatment. *Environmental Engineering Science*, 33(5), 306-316. <https://doi.org/10.1089/ees.2014.0511>
- 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*, 28(1), 67-75. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90120-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90120-1)
- Madoni, P. (2011). Protozoa in wastewater treatment processes: a minireview. *Italian Journal of Zoology*. doi: 10.1080/11250000903373797
- Marín, A. y Osés, M. (2013) Operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas residuales con el proceso de lodos activados. Tomo 1. Comisión Estatal del Agua de Jalisco.
- Martín-Cerceda, M., Serrano, S. y Guinea, A. (1996). A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 21(4), 267-276. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00123.x>
- Martín-González, A., Díaz, S., Borniquel, S., Gallego, A. y Gutiérrez, J. C. (2006). Cytotoxicity and bioaccumulation of heavy metals by ciliated protozoa isolated from urban wastewater treatment plants. *Research in Microbiology*, 157(2), 108-118. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.06.005>

- Montusiewicz, A., Chomczynska, M., Malicki, J., y Łagód, G. (2010). Biofilm sampling for bioindication of municipal wastewater treatment. 10.1201/b10566-78.
- Nicolau, A., Dias, M., Mota, M. y Lima, N. (2001). Trends in the use of protozoa in the assessment of wastewater treatment. *Research in Microbiology*. 152, 621-630
- Parada-Albarracín, J.A., Arévalo, J., Ruiz, L.M., Moreno, B., Pérez, J. y Gómez, J. (2010). Microbiología en la puesta en marcha de un biorreactor de membranas (MBR) para la depuración de aguas residuales urbanas. Universidad de Granada. *Tecnología del Agua*. 319, 2-8.
- Pedrazzani, R., Menoni, L., Nembrini, S., Manili, L. y Bertanza, G. (2016). Suitability of Sludge Biotic Index (SBI), Sludge Index (SI) and filamentous bacteria analysis for assessing activated sludge process performance: The case of piggery slaughterhouse wastewater. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43(7), 953-964. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1767-1>
- Pérez-Uz, B., Arregui, L., Calvo, P., Salvadó, H., Fernández, N., Rodríguez, E., Zornoza, A. y Serrano, S. (2010). Assessment of plausible bioindicators for plant performance in advanced wastewater treatment systems. *Water Research*, 44(17), 5059-5069. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.024>
- Puigagut, J., Salvadó, H., García, D., Granes, F. y García, J. (2007). Comparison of microfauna communities in full scale subsurface flow constructed wetlands used as secondary and tertiary treatment. *Water Research*, 41(8), 1645-1652. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.036>
- Quinn, G. P. y Keough, M. J. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511806384
- Radjenović, J., Matošić, M., Mijatović, I., Petrović, M., y Barceló, D. (2008). Membrane Bioreactor (MBR) as an Advanced Wastewater Treatment Technology. En D. Barceló y M. Petrovic (Eds.), *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste*, (pp.37-101). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/698_5_093
- Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N. y Salas, M.D. (2019). *Manual de trabajo para análisis biológicos en fangos activados*. Grupo Bioindicación Sevilla. ISBN. 608-0189-6
- Salvadó, H. (1994). Effect of mean cellular retention time on ciliated protozoan populations in urban wastewater treatment plants based on a proposed model. *Water Research*, 28(6), 1315-1321. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90296-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90296-8).
- Salvadó, H., Gracia, M. P. y Amigó, J. M. (1995). Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. *Water Research*, 29 (4), 1041-1050. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00258-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00258-9)
- Sobczyk, M., Pajdak-Stós, A., Fiałkowska, E. y Fyda, J. (2020). The influence of *Aspidisca cicada* on nitrifying bacteria and the morphology of flocs in activated sludge. *Water and Environment Journal*, 34(S1), 699-709. <https://doi.org/10.1111/wej.12571>
- Sowinska, A.; Pawlak, M.; Mazurkiewicz, J. y Pacholska, M. (2017). Comparison of the Results from Microscopic Tests Concerning the Quality of Activated Sludge and Effluent. *Water* 9(12).
- Von Sperling (2007). *Basic principles of wastewater treatment*. IWA Publishing.
- Von Sperling (2007). *Activated Sludge and Aerobic film reactors*. IWA Publishing.

- Wen, X., Ding, H., Huang, X. y Liu, R. (2004). Treatment of hospital wastewater using a submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 39(11), 1427-1431. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00277-2](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00277-2)
- Yin, Z., y Xagorarakis, I. (2014). Membrane Bioreactors (MBRs) for Water Reuse in the USA. En: D. Fatta-Kassinos, D. D. Dionysiou y K. Kümmerer (Eds.), *Advanced Treatment Technologies for Urban Wastewater Reuse* (pp. 223-245). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/698_2014_324
- Zhou, K., Xu, M., Dai, J. y Cao, H. (2006). The microfauna communities and operational monitoring of an activated sludge plant in China. *European Journal of Protistology*, 42(4), 291-295. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2006.07.005>
- Zornoza, A., Alonso, J.L., Serrano, S., Fajardo, V., Zorrilla, F., Bernácer, I. y Morenilla, J.J. (2010). Estudio integrado del proceso de fangos activados I. Análisis descriptivo de factores fisicoquímicos y biológicos implicados en su dinámica. VII Jornadas de transferencia tecnológica sobre microbiología del Fango Activado. Sevilla, España. Asociación Científica Grupo Bioindicación de Sevilla.
- Zornoza, A. (2015). Metodología para la búsqueda de microorganismos bioindicadores en fangos activos: la desesperación en la búsqueda del modelo. Curso teórico-práctico "El papel de los protistas en los procesos de depuración de las aguas residuales. Sevilla. 9-10 septiembre de 2015. ISBN 13-978-84-608-2139-7

CAPÍTULO II

Protozoos y metazoos presentes en dos sistemas de tratamiento de agua residual y su relación con el Índice Biológico de Lodos

Margarita Loría Naranjo¹, <https://orcid.org/0000-0003-4396-7388>

¹Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales, UNED. maggie.loria@gmail.com

(Este trabajo fue sometido a la revista Revista Biología Tropical. Debe buscarse como: Loría-Naranjo, Margarita. Protozoos y metazoos presentes en dos sistemas de tratamiento de agua residual y su relación con el Índice Biológico de Lodos. Anexo 2)

ABSTRACT

Introduction: Sludge Biotic Index (SBI) is one of the most used indices for the characterization of the community of microorganisms present in the activated sludge of wastewater treatment systems. However, this index takes into consideration only the density of the predominant functional groups of protozoa that inhabit this sludge. **Objective:** Evaluate whether the SBI value can be directly related to the number of protozoa and metazoa species found in the activated sludge of two wastewater treatment systems. **Methods:** This research was carried out on the wastewater generated by the San Vicente de Paul Hospital during the months of February, March and April 2022. Physicochemical, environmental, operational and biological parameters were analyzed in a total of 36 samples from a wastewater system. Conventional activated sludge treatment and a Membrane Bioreactor (MBR). **Results:** All the parameters evaluated are related to the abundance of microorganisms in the analyzed samples. The SBI value had an important effect on the number of organisms, and can be related to the performance of the treatment system in terms of the percentage of BOD and COD removal, especially for the MBR system. **Conclusions:** To progress in this field of research, it is necessary to carry out an analysis of the microfauna taking into consideration the abundance, behavior and specific requirements of each species. The IBL can be adapted to consider the presence of not only protozoa, but also metazoa.

Key words: flocs, activated sludge, ciliates, amoebas, rotifers, nematodes

RESUMEN

Introducción: El Índice Biológico de lodos (IBL) es uno de los índices más utilizados para la caracterización de la comunidad de microorganismos presentes en el lodo activado de los sistemas de tratamiento de agua residual. Sin embargo, este índice toma en consideración únicamente la densidad de los grupos funcionales de protozoos predominantes que habitan este lodo. **Objetivo:** Evaluar si el valor del IBL puede relacionarse directamente con la cantidad de las especies de protozoos y metazoos encontradas en el lodo activado de dos sistemas de tratamiento de aguas residuales. **Métodos:** Realicé esta investigación en las aguas residuales generadas por el Hospital San Vicente de Paul durante los meses de febrero, marzo y abril del 2022. Analicé parámetros fisicoquímicos, ambientales, operacionales y biológicos en un total de 36 muestras de un sistema de tratamiento por lodos activados Convencional y de un Biorreactor de Membrana (MBR). **Resultados:** Todos los parámetros fisicoquímicos, ambientales y operacionales evaluados se encuentran relacionados con la abundancia de microorganismos en las muestras analizadas. El valor del IBL ejerció un efecto importante en la cantidad de organismos, y puede relacionarse con el desempeño del sistema de tratamiento en cuanto al porcentaje de remoción del DBO y DQO, sobre todo

para el sistema MBR. **Conclusiones:** Para progresar en este campo de investigación, es necesario llevar a cabo un análisis de la microfauna tomando en consideración la abundancia, comportamiento y requerimientos específicos de cada especie. El IBL puede adaptarse para considerar la presencia no solo de protozoos, sino también de metazoos.

Palabras clave: flóculos, lodo activado, ciliados, amebas, rotíferos, nemátodos

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos que se comportan como bioindicadores son aquellos cuya existencia, reacciones o características estructurales de sus poblaciones dependen del medio en el que se desarrollan, y cambian al modificarse las condiciones ambientales en las que habitan (López-Arias et al., 2012). Es por esto por lo que las poblaciones de microorganismos en los lodos activados de los sistemas de tratamientos de aguas residuales pueden reflejar, de una manera integral, el nivel en que parámetros fisicoquímicos y operacionales influyen sobre el proceso de tratamiento del agua residual (Montusiewicz et al., 2010); orientando hacia posibles soluciones para mejorar las condiciones del sistema.

El Índice Biológico de lodos (IBL) desarrollado por Madoni (1994) es uno de los índices más utilizados para la caracterización de la comunidad de microorganismos presentes en el lodo activado de los sistemas de tratamiento de agua residual (Foissner, 2016; Kepec et al., 2020; Zornoza et al., 2010). Sin embargo, el IBL toma en consideración únicamente a los grupos funcionales de protozoos que habitan este lodo; dejando de lado otros grupos de microorganismos como pueden ser los metazoos. Aunque el IBL es una herramienta útil para evaluar el estado del lodo activado, es recomendable que se utilice en conjunto con la consideración de parámetros adicionales de operación y de un análisis más específico de cada especie (Kepec et al., 2020), de forma que se pueda afinar su utilidad como herramienta de bioindicación para la calidad del lodo activado y del efluente (Foissner, 2016, Martín-Cerceda et al., 1996).

En general, los protozoos son organismos comunes en ecosistemas acuáticos (Román et al., 2022); conforman entre el 4% y 2% de la biomasa presente en el lodo activado (Foissner, 2016). Estos protozoos, especialmente los ciliados, resultan ser bioindicadores importantes debido a su asociación con ciertas características fisicoquímicas y operacionales de los sistemas de tratamiento. Además, estos microorganismos, mediante la depredación de bacterias, influyen en la formación de flóculos y en el mejoramiento de la calidad del efluente generado (Martín-Cerceda et al., 1996; Román et al., 2022).

A diferencia de los protozoos, los metazoos son organismos pluricelulares que generalmente se presentan con baja frecuencia en los lodos activados (Arregui et al., 2013). Metazoos como los nemátodos también pueden ejercer un efecto sobre la forma y densidad de los flóculos (Derlon et al., 2013). Por otro lado, los rotíferos son metazoos aerobios estrictos, condición que los hace sensibles a parámetros operacionales como el nivel de oxígeno disuelto en el reactor. Adicionalmente, los rotíferos son más sensibles a los compuestos tóxicos que las bacterias (Marín y Osés, 2013).

Se ha demostrado que ciertas especies de rotíferos son eficientes en la remoción de la bacteria filamentosa 021N, lo que puede considerarlos un grupo de control biológico para evitar la proliferación descontrolada de esta bacteria (Kocerba-Soroka et al., 2013). A pesar de esta ventaja, un exceso de rotíferos en las muestras de lodos activados puede evidenciar condiciones de sobre oxigenación y edades de lodo altas (Bento et al., 2005; Colorado et al., 2012; López-Arias et al., 2012; Marín y Osés, 2013; Rodríguez et al., 2019).

Gusanos como los anélidos y nemátodos forman parte de los grupos de metazoos que pueden encontrarse en los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

La presencia de anélidos, colabora con la reducción del lodo activado producido, potenciando su mineralización (Rensink y Rulkens, 1997); mientras que se ha confirmado que los nemátodos tienen influencia sobre la eficiencia de sistemas de tratamiento de aguas que utilizan membranas y filtración (Derlon et al., 2013). Sin embargo, debe de considerarse que la sobre mineralización del lodo colabora con el aumento en las concentraciones de nitrato y fosfato en el agua residual (Rensink y Rulkens, 1997).

Se debe de tener presente que la composición de la comunidad de protozoos y metazoos no necesariamente es la misma en las distintas tecnologías de tratamiento de aguas residuales existentes (Arregui et al., 2013; Pérez-Uz et al., 2010). Investigadores como Sobczyk et al. (2021) afirman que la composición de la comunidad de protozoos y metazoos del lodo activado depende principalmente de la configuración del reactor estudiado (tipo de tecnología, volumen, etc).

El objetivo de esta investigación es evaluar si el valor del Índice Biológico de Lodos (IBL) puede relacionarse directamente con la cantidad las especies de protozoos y metazoos encontradas, más allá de considerar únicamente la predominancia de ciertos grupos funcionales de protozoos en el lodo activado. Además, busco evaluar la influencia que pueden tener ciertos parámetros ambientales, fisicoquímicos y operacionales de los reactores, en la abundancia de protozoos y metazoos presentes en el lodo activado en dos sistemas de tratamiento de aguas residuales

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo: El sitio de muestreo fue el Hospital San Vicente de Paul (9°59'30.6" N, 84°07'19.5" W), el cual brinda servicios médicos en todas las especialidades para una población adscrita de aproximadamente 560 000 personas (Caja Costarricense del Seguro Social {CCSS}, 2021).

En este hospital funciona regularmente una planta de tratamiento de aguas residuales de lodo activado con aireación extendida (Convencional), y con un caudal de diseño de 300 m³/día. Además, de enero a abril del año 2022 funcionó un sistema de tratamiento de aguas residuales de Biorreactor de Membrana (MBR), con un caudal de diseño de 15 m³/día. La membrana se da con disposición sumergida, con un tamaño de poro que permite la ultrafiltración.

Muestreos: Llevé a cabo muestreos dos veces por semana entre el 15 de febrero y el 21 de abril, para un total de 36 muestreos en cada uno de los sistemas de tratamiento (Convencional y MBR).

Toma de muestras y análisis de los parámetros fisicoquímicos: Un laboratorio acreditado tomó muestras compuestas de los parámetros fisicoquímicos en el agua cruda que ingresa (afluente) y en el agua tratada que sale del sistema (efluente); esto con el fin de evaluar la eficiencia de remoción de los parámetros analizados en cada uno de los sistemas bajo estudio. La fórmula mediante la cual estimé el porcentaje de remoción para cada parámetro fisicoquímico analizado, es la siguiente:

Ecuación 1:

$$E = \frac{(C_o - C_e) \times 100}{C_o}$$

Donde,

E = Eficiencia de remoción (%)

C_o = concentración del contaminante en el afluente (agua cruda) (mg/L)

Ce: concentración del contaminante en el efluente (agua tratada) (mg/L)

El afluente fue el mismo para ambos sistemas de tratamiento, ya que el origen del agua residual con que se alimentan es el mismo; mientras que existen dos efluentes, uno para el sistema Convencional y otro para el MBR. Los parámetros fisicoquímicos que muestreé en ambos puntos fueron: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Suspendidos Totales (SST), Nitrógeno (N) y Fósforo (P).

El muestreo fue compuesto de seis horas, y basado en los métodos de referencia del manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Baird, et al., 2017). Un laboratorio acreditado tomó una submuestra por hora con un volumen de 1 400 mL cada una, y posteriormente mezcló estas seis submuestras para formar una muestra cada día por parámetro. El análisis de estos parámetros fue llevado a cabo por un laboratorio acreditado.

Una vez con los resultados para cada parámetro, pude calcular el porcentaje de remoción (%) de cada uno de los parámetros (DBO, DQO, SST, Nitrógeno y Fósforo), y con esto comparé el desempeño de cada sistema de tratamiento.

Toma de muestras de los parámetros ambientales: En el reactor de aireación de cada uno de los sistemas de tratamiento llevé a cabo el análisis de los siguientes parámetros ambientales: pH, temperatura y oxígeno disuelto. La toma de los parámetros ambientales la realicé dos veces a la semana.

Toma de muestras y cálculo de los parámetros operacionales: Calculé los siguientes parámetros operacionales: relación Alimento/Microorganismos (A/M) y edad del lodo. Para poder calcular el valor del A/M y edad del lodo, es necesario contar con el dato de la concentración de Sólidos Suspendidos en el Licor de Mezcla (SSLM) y de Sólidos Suspendidos Volátiles en el Licor de Mezcla (SSVLM) en cada tanque de aireación. Por lo tanto, el laboratorio acreditado que realizó los muestreos de parámetros fisicoquímicos, tomó una muestra compuesta en cada tanque de aireación con el fin de determinar la concentración de SSLM y SSVLM. El muestreo y análisis de estos parámetros se realizó utilizando como referencia el manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (Baird, et al., 2017).

Los valores de la relación A/M y de la edad del lodo los determiné mediante las siguientes ecuaciones:

Ecuación 2:

$$\frac{A}{M} = \frac{(Qa) \times (kgDBO)}{(Vr) \times (SSVLM)}$$

Donde,

Qa = Caudal de ingreso del agua cruda al sistema (afluente).

Vr = Volumen del reactor de aireación.

SSVLM = Sólidos Suspendidos Volátiles en Lodo Activado.

Ecuación 3:

$$\theta_c = \frac{(Vr) \times (SSVLM)}{(SSVLD) \times (Qd) + (SSVe) \times (Qe)}$$

Donde,

Θ_c = Tiempo medio de retención celular (edad del lodo)

V_r = Volumen del reactor de aireación.

SSVLM = Sólidos Suspendidos Volátiles en Lodo Activado

SSVLd = Sólidos Suspendidos Volátiles del lodo de purga.

SSVe = Sólidos Suspendidos Volátiles en el efluente.

Q_d = Caudal de purga.

Q_e = Caudal del agua tratada (efluente).

Toma de muestras biológicas: El protocolo para la toma de muestras, así como su transporte y análisis, lo realicé según Rodríguez et al. (2019). Tomé las muestras en el reactor de aireación (lodo activado) de cada sistema de tratamiento, mediante el uso de un muestreador con vara larga. La toma de estas muestras la realicé los mismos días que los muestreos fisicoquímicos, dos veces a la semana.

Durante cada muestreo, recolecté en botellas plásticas de un litro una muestra compuesta, en donde la agitación del reactor de aireación era homogénea. Transporté las muestras hasta el laboratorio en hielera con oxigenación mediante un motor de pecera que transmite el oxígeno por una manguera hasta una piedra porosa. Es aceptable el análisis de una muestra bajo aireación incluso hasta 48 horas después de que ha sido recolectada. Utilicé un microscopio de contraste para observar tres réplicas de 25 μ L. Para el conteo de flagelados, observé tres réplicas de 3.5 μ L de cada muestra utilizando una placa Neubauer mejorada.

Analicé los siguientes aspectos: cantidad de organismos, grupo dominante, densidad total de organismos, número de taxones identificados y recuento de flagelados (Madoni, 1994, Rodríguez et al., 2019). Además, identifiqué a nivel de género las especies de protozoos con la utilización de guías ilustradas (Berger y Foissner, 2004; Isac et al., 2004; Rodríguez et al., 2019); para el caso de los metazoos, se diferencié entre rotíferos y gusanos nemátodos o anélidos.

Índice Biológico de Lodos (IBL): Calculé el índice Biológico de Lodos (IBL) basada en el procedimiento establecido por Madoni (1994). Para entonces asignarle un valor del 1 al 10 al IBL calculado, y a su vez clasificar este valor en clases. Estas clases se asocian al desempeño del sistema de tratamiento.

La interpretación del IBL la obtuve a partir de dos matrices elaboradas por Madoni (1994) en su publicación *A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis*

Para el resultado obtenido del IBL debo de considerar únicamente los organismos cuya frecuencia relativa de aparición en las muestras biológicas sea superior a 20% (Zornoza, 2015).

Análisis de datos: Llevé a cabo un análisis de redundancia (RDA) para establecer el efecto que las variables respuesta (parámetros fisicoquímicos, parámetros ambientales y parámetros operacionales), así como del IBL, tienen sobre la composición de la cantidad de organismos encontrados (matriz de la abundancia de las especies por muestra) en cada sistema de tratamiento. Con el criterio de colinealidad entre los parámetros predictores, descarté aquellos parámetros evaluados que no aporten al modelo de RDA realizado. Esto por medio del índice de inflación de la varianza (VIF), el cual debe ser menor a 10. De esta manera, con el análisis constreñido del RDA, puedo obtener un valor de Inercia, el cual cuantifica la proporción de la varianza de la matriz biológica que es explicada por el modelo que contiene las variables predictoras (Quinn y Keough, 2002).

Relacionar el IBL con la cantidad de organismos encontrados durante los muestreos me permite evaluar la funcionalidad de este índice incluyendo tanto a los protozoos como a los metazoos presentes. La significancia de los parámetros evaluados sobre la cantidad de organismos la obtuve al aplicar un análisis de ANOVA al RDA según cada tipo de parámetro y al RDA completo (Quinn y Keough, 2002).

Para todos estos análisis de datos y la interpretación de resultados usé Rstudio 4.2.3 con el paquete “vegan”.

RESULTADOS

Parámetros fisicoquímicos: En promedio, los porcentajes de remoción del DBO, DQO y SST fueron mayores al 85% en ambos tipos de tratamiento. Los promedios de la remoción de nitrógeno y fósforo no fueron igual de altos que los parámetros anteriores, siendo incluso negativo para el caso del fósforo en el MBR (-12.21%) (Fig. 1).

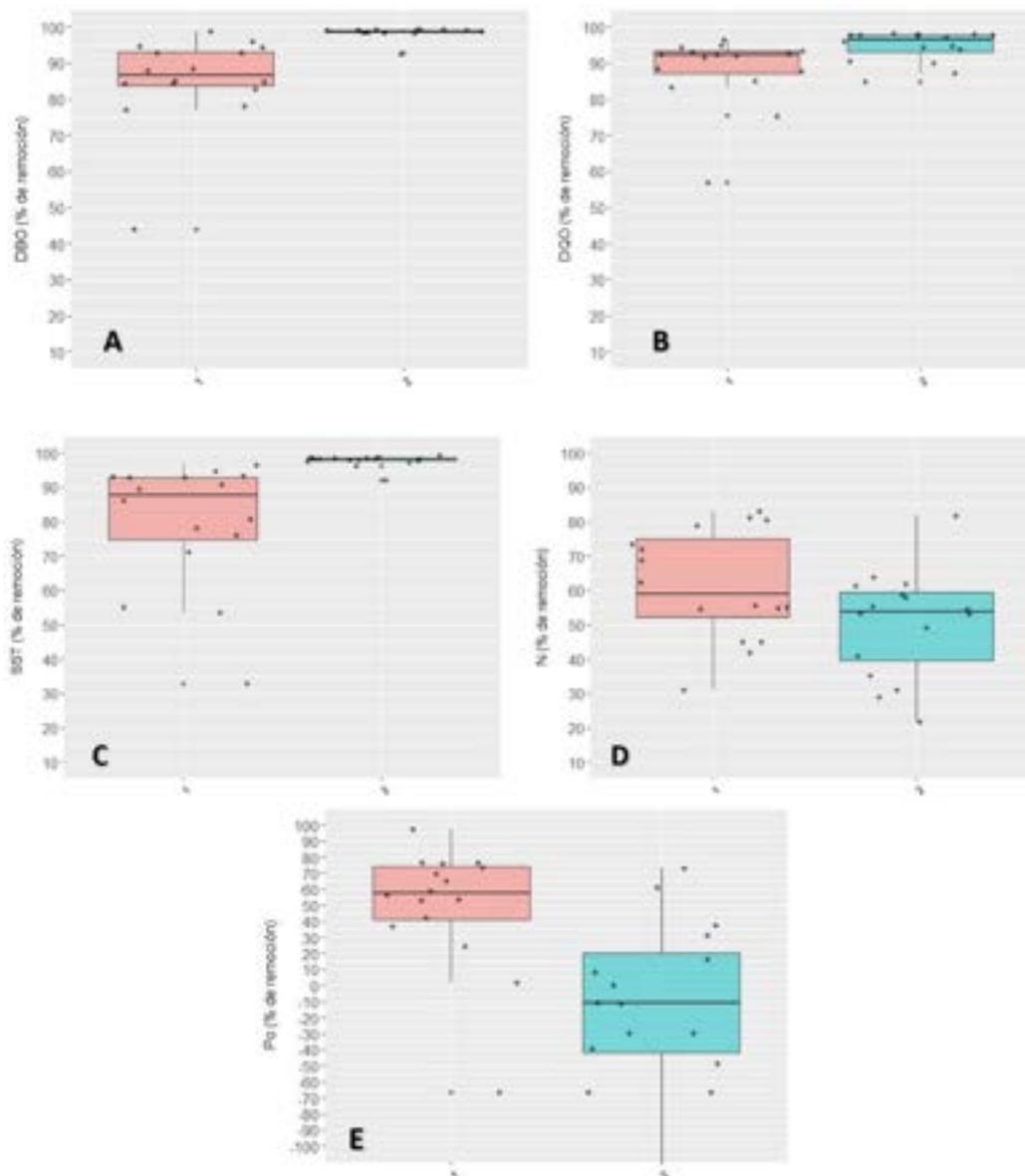


Fig. 1 Gráficos boxplot de distribución de datos para A. Porcentajes de remoción del DBO. B. Porcentajes de remoción del DQO. C. Porcentajes de remoción del SST. D. Porcentajes de remoción del nitrógeno. E. Porcentajes de remoción del fósforo. 1= Tratamiento de lodos activado convencional, 2= MBR. / **Fig. 2** Boxplot graphs, data distribution for A. BOD removal percentages, B. COD removal percentages, C. SST removal porcentaje, D. Nitrogen removal percentages, E. Phosphorus removal percentages. 1=Conventional treatment system. 2= MBR

Parámetros ambientales: Para el sistema de tratamiento de aguas residuales Convencional, el promedio del pH fue de 7.09 (± 0.29), mientras que en el MBR fue ligeramente más ácido (6.38 ± 0.49). Por otro lado, el promedio de la temperatura en el sistema Convencional fue de $27.91 (\pm 0.84) ^\circ\text{C}$ y en el MBR de $25.55 (\pm 1.53) ^\circ\text{C}$. Por último, el valor promedio del oxígeno disuelto fue mucho menor en el sistema Convencional ($0.30 \pm 0.25 \text{ mg/l}$) en comparación con el MBR ($2.31 \pm 1.70 \text{ mg/l}$) (Fig. 2). Además, confirmé que los parámetros ambientales estudiados ejercieron un efecto sobre la composición de la cantidad de organismos (RDA, ANOVA, $p=0.045$).

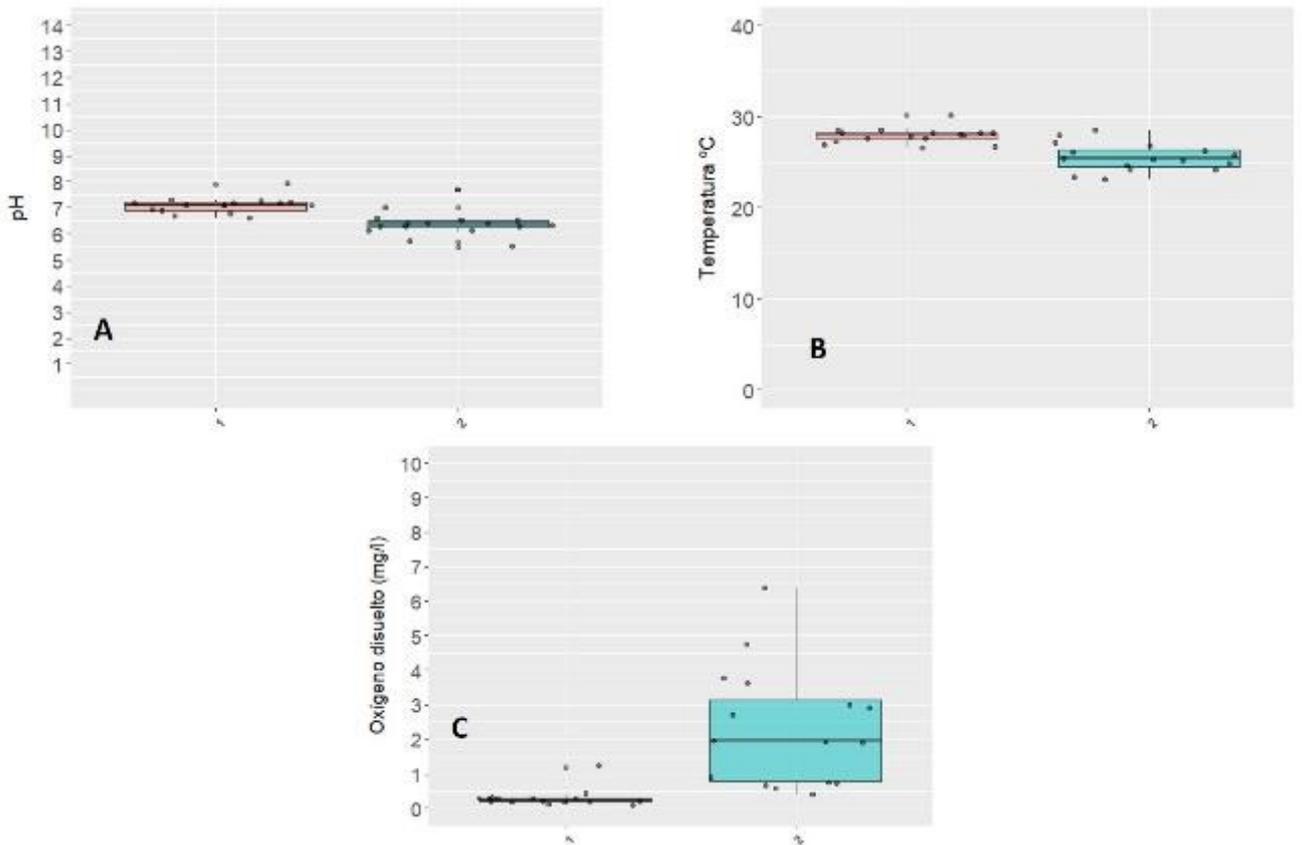


Fig. 2 Gráficos boxplot de distribución de datos para A. pH. B. Temperatura ($^\circ\text{C}$). C. Oxígeno disuelto (mg/l). 1= Tratamiento de lodos activado convencional, 2= MBR. / **Fig. 2** Boxplot graphs, data distribution for A. pH, B. Temperature and C. Dissolved oxygen values. 1=Conventional treatment system. 2= MBR

Parámetros operacionales: La relación A/M obtuvo un valor promedio de 0.43 (± 0.87) en el sistema de tratamiento de aguas residuales Convencional, mientras que en el MBR este valor fue de 1.04 (± 1.09). Además, la edad del lodo fue mucho mayor

en el sistema Convencional ($2\,329.56 \pm 153.89$ días) en comparación con el MBR (86.73 ± 157.44 días) (Fig. 3). Por otro lado, los parámetros operacionales si tuvieron un efecto sobre la composición de la cantidad de organismos (RDA, ANOVA, $p=0.003$).

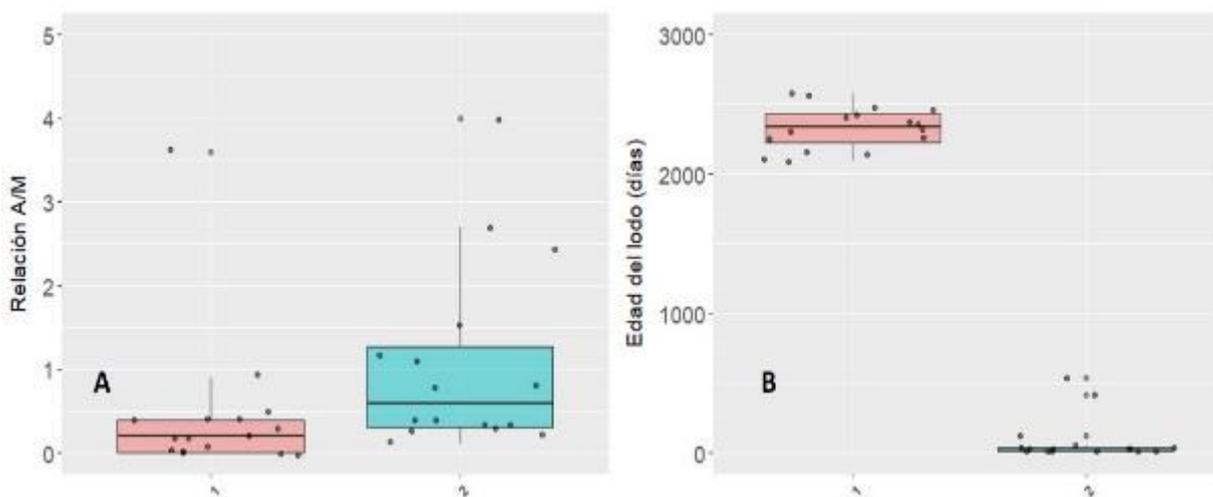


Fig. 3 Gráficos boxplot de distribución de datos para A. Relación A/M. B. Edad del lodo (días). 1= Tratamiento de lodos activado convencional, 2= MBR. / **Fig. 3** Boxplot graphs, data distribution for F/M relationship and Sludge Age values. 1=Conventional treatment system. 2= MBR

Muestras biológicas e Índice Biológico de Lodos (IBL): Durante el muestreo biológico en el sistema de tratamiento Convencional, conté un total de 4 349 microorganismos, mientras que en el sistema de tratamiento por biorreactor de membrana (MBR) conté un total de 15 288 microorganismos. El número de taxones en el sistema Convencional fue de 21, mientras que en el MBR 22. Los organismos que presentaron la mayor abundancia total en alguno de los dos sistemas de tratamiento se presentan en el siguiente cuadro.

Tabla 1

Cantidad de los microorganismos encontrados en el lodo activado de cada sistema de tratamiento, que presentaron la mayor abundancia total en alguno de los dos sistemas de tratamiento / **Table 1** Amount of microorganisms found in the activated sludge of each treatment system, which presented the highest total abundance in any of the system.

Organismo	Cantidad total de individuos	
	Sistema Convencional	MBR
<i>Euglypha</i> sp.	540	1 947
<i>Entosiphon</i> sp.	60	376
<i>Arcella</i> sp.	127	2 744
<i>Centropyxis</i> sp.	612	3 483
<i>Pyxidicula</i> sp.	58	902
<i>Euplotes</i> sp.	1 334	553

<i>Aspidisca</i> sp.	319	4 772
<i>Vorticella</i> sp.	967	389
<i>Rotifera</i>	9	1 336

En cuanto al grupo de metazoos, además de rotíferos, en las muestras encontré nemátodos, pero en muy baja frecuencia. Durante todos los muestreos, el número total de nemátodos que contabilicé en el sistema de tratamiento Convencional fue de 22, mientras que en el MBR fue de 19.

El valor promedio del IBL que obtuve para el sistema de tratamiento Convencional fue de 7.62, mientras que en el MBR fue de 8.44. El valor más bajo de IBL se presentó durante el último muestreo en el sistema de tratamiento Convencional (Fig. 4). Además, confirmé que los valores de IBL obtenidos sí ejercieron un efecto sobre la composición de la cantidad de organismos (RDA, ANOVA, $p=0.008$).

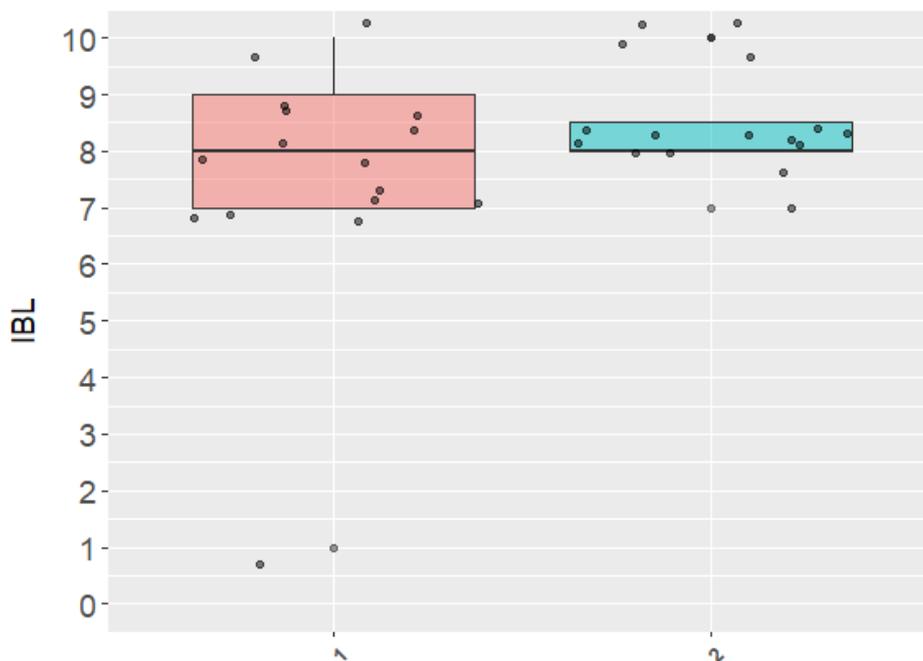


Fig. 4. Gráficos boxplot de distribución de datos para los valores de Índice Biológico de Lodos (IBL) obtenidos. 1= Tratamiento de aguas residuales Convencional, 2= MBR. / **Fig. 4.** Boxplot graphs, data distribution for Sludge Biological Index values (SBI) values. 1=Conventional treatment system. 2= MBR.

Composición de organismos respecto a condiciones de las plantas: Los porcentajes de remoción no tuvieron una relación con la cantidad de organismos (RDA, ANOVA, $p=0.083$). El porcentaje de remoción de los sólidos sedimentables (SST), así como la Edad del lodo fueron dos parámetros que no aportaron al modelo de análisis de redundancia (RDA) que elaboré (valor de VIF mayor a 10).

La edad del lodo es un reflejo del estado del sistema de tratamiento, y al eliminar la edad del lodo y los sólidos suspendidos totales del análisis, e incluir el resto de parámetros estudiados, determiné que el análisis de RDA (fig. 6) logra explicar el 68% de los microorganismos que cuantifiqué a lo largo de esta investigación. Al eliminar el

parámetro SST, observé que las remociones si actúan sobre la composición de la cantidad de organismos encontrados ($p=0.019$).

Existió una separación clara entre los sistemas de tratamiento y los porcentajes de remoción de los parámetros fisicoquímicos considerados. Parámetros ambientales como la temperatura y el pH se encuentran muy relacionados entre sí, con valores mayores en la planta de tratamiento Convencional en comparación con el MBR. *Aspidisca* y los rotíferos encontrados se vieron favorecidos en su abundancia por el nivel de oxígeno presente en el sistema MBR. Por otro lado, *Euplotes* sp. y *Vorticella* sp. tendieron a ser más abundantes en el sistema de tratamiento Convencional. *Euplotes* sp. estuvo más relacionada a la remoción del fósforo, mientras que *Vorticella* sp. a la temperatura y al pH. *Centropyxis* sp. se encontró sumamente asociada al parámetro operacional de la relación A/M (Fig. 5 y Fig 6)

A pesar de no considerar a los metazoos en su cálculo, el valor del IBL ejerció un efecto importante en la cantidad de microorganismos, y puede relacionarse con el desempeño del sistema de tratamiento en cuanto al porcentaje de remoción del DBO y DQO, sobre todo para el sistema MBR (fig 6). Microorganismos como *Euglypha* sp., *Aspidisca* sp. y *Euplotes* sp. ser asocian a esta tendencia (Fig. 6).

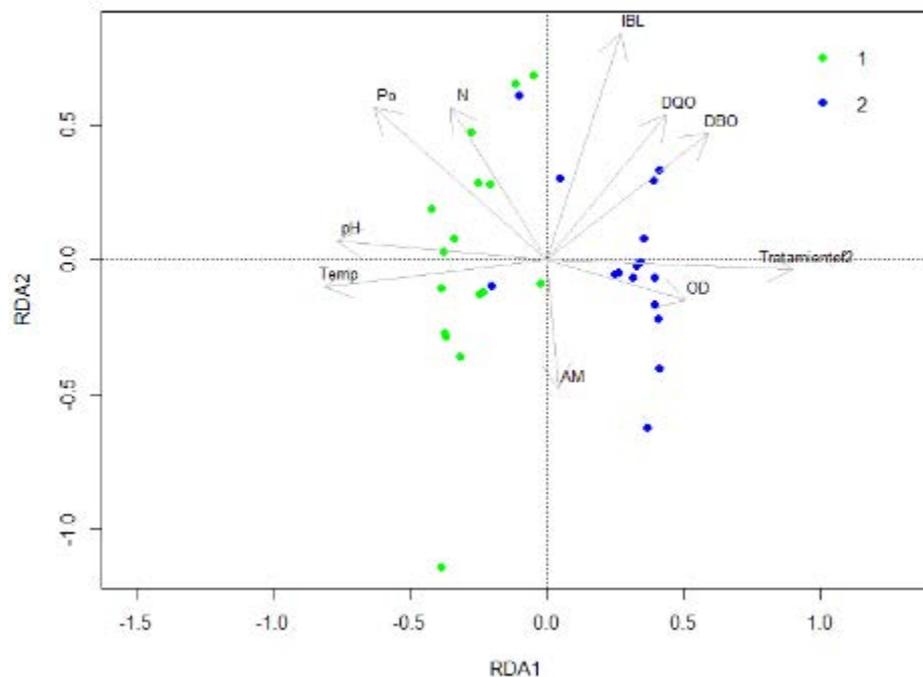


Fig.5. Gráfico del análisis de redundancia (RDA) según el tipo de sistema de tratamiento. 1= Tratamiento de aguas residuales Convencional, 2=MBR. / **Fig. 5.** Redundancy Analysis graph, per treatment system type. 1= Conventional treatment system. 2= MBR.

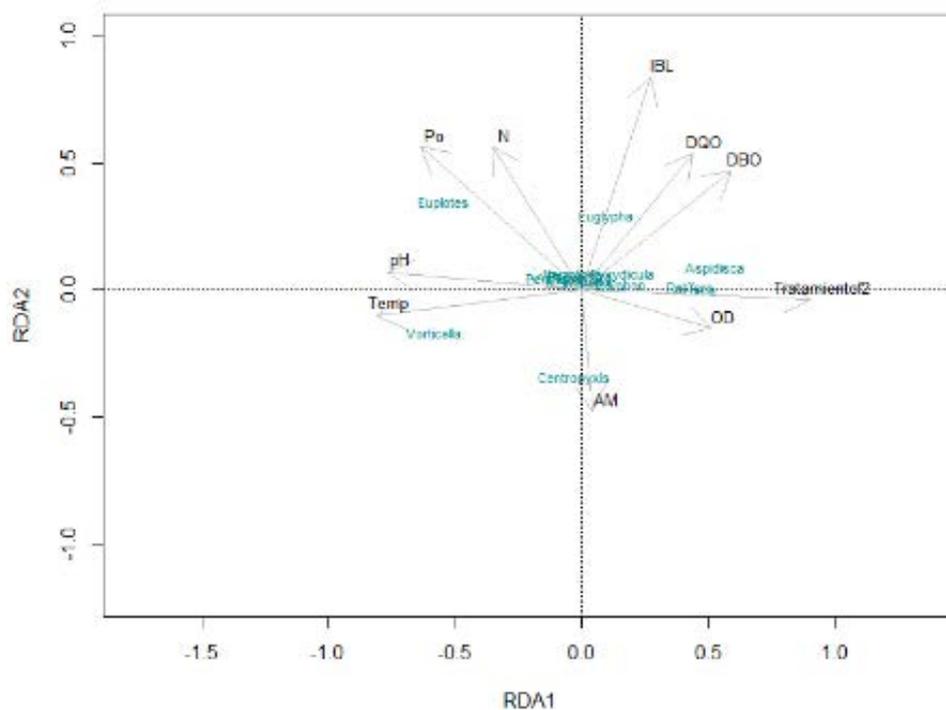


Fig. 6. Gráfico del análisis de redundancia (RDA) por microorganismo / **Fig. 6.** Redundancy Analysis graph per microorganism.

DISCUSIÓN

En general, se ha encontrado que las tasas de reducción de DBO, DQO y Nitrógeno se asocian a la comunidad de protozoos y metazoos (Bento et al., 2005; Sobczyk, et al., 2021). Sobczyk et al. (2021) encuentran que la abundancia de amebas testáceas como *Arcella* sp. y de ciliados como *Aspidisca cicada* está directamente relacionada con la tasa de reducción del DBO. Dichas afirmaciones coinciden con esta investigación, sobre todo tratándose de *Aspidisca* sp., que fue el ciliado más abundante en las muestras del MBR, y es uno de los ciliados más comúnmente asociado a sistemas de tratamiento de aguas residuales con buen desempeño y eficientes en la remoción del DBO y el DQO (Arregui et al 2013; Martín-Cerceda et al. 1996; Román et al., 2022). Sin embargo, existen investigaciones que afirman que *Aspidisca* cuenta con un alto nivel de resiliencia, al lograr sobrevivir a lo largo de variaciones que puedan ocurrir en los sistemas de tratamiento (Leal et al., 2013; Siqueira-Castro et al., 2016).

Otros ciliados presentes en las muestras estudiadas también pueden ser indicadores de buen desempeño del sistema de tratamiento de aguas residuales, como lo es *Euplotes* sp. (Isac et al., 2004; López-Arias et al., 2012). Sin embargo, la abundancia de la especie *Euplotes aediculatus* ha sido relacionada con contaminación de níquel en las aguas residuales (Arregui et al., 2013). En esta investigación, si bien los porcentajes de remoción de nitrógeno no superaron el 80%, en el análisis de redundancia que realicé se logra apreciar que organismos como el ciliado reptante, *Euplotes* sp., se encuentra muy cercano a los porcentajes de remoción de fósforo y nitrógeno.

Pérez-Uz et al. (2010), afirman que la actividad de las bacterias nitrificantes aumenta con la presencia de las poblaciones de protozoos. *Centropyxis* sp., *Euglypha* sp. son géneros de amebas testáceas, que, junto con *Aspidisca* sp., se asocian a procesos de nitrificación y subsecuente desnitrificación en el lodo activado (Achmadulina et al., 2017; Siqueira-Castro et al., 2016). Durante los análisis de redundancia realizados, no se encontraron amebas testáceas asociadas a la remoción de nitrógeno.

La temperatura es uno de los parámetros que ejerce una variación sobre la estructura de la comunidad de protozoos y metazoos (Zornoza et al., 2010), la abundancia total de metazoos como los rotíferos tiende a ser mayor a altas temperaturas y la de ciliados sésiles a bajas temperaturas (Sobczyk et al., 2021). Esto coincide con los resultados de mi investigación, en donde se observa a la temperatura muy asociada al eje 2 del análisis de RDA realizado, y al ciliado sésil *Vorticella* sp. cercano a esta. *Vorticella* sp. es, después de *Euplotes* sp., el organismo más abundante en las muestras del sistema de tratamiento Convencional.

Por otro lado, la predominancia de metazoos como ciertos anélidos puede reflejar un exceso de oxígeno disuelto (Bento et al., 2005). Sin embargo, durante ninguno de los muestreos que realicé fue posible determinar un exceso de oxígeno disuelto en los tanques de aireación, lo cual coincide con la no predominancia de anélidos en ninguna de las muestras biológicas. Por el contrario, la predominancia de amebas testáceas como *Arcella* sp. y *Euglypha* sp. sí es un reflejo de condiciones de oxigenación favorables (Bento et al., 2005). La presencia del ciliado *Aspidisca* sp. también resulta ser indicativo de buena oxigenación en los tanques de aireación (Bento et al., 2005; Román et al., 2022).

Para el caso de *Vorticella* spp., Román et al. (2022), afirman que, al ser un género con poca tolerancia a condiciones de bajo nivel de oxígeno, resulta ser un buen indicador del nivel de oxígeno disuelto en los tanques de aireación. A pesar de esto, la alta presencia de algunas especies de *Vorticella* en específico, como *Vorticella microstomata*, se encuentra asociada a lodos activados biológicamente empobrecidos o afectados por sustancia tóxicas (Arregui et al., 2013; Kepec et al., 2020; López-Arias et al., 2012; Salvadó et al., 1995).

En este estudio determiné las amebas libres y los microflagelados o flagelados no se ubican entre los grupos más abundantes. Esto puede tener que ver con la estabilidad del lodo y de los sistemas de tratamiento en general, ya que la predominancia de los flagelados tiene que ver con flóculos livianos y dispersos (Román et al., 2022), que son el tipo de flóculo típico en los inicios de puesta en marcha de los sistemas de tratamiento.

La ocurrencia de *Arcella* sp., *Euglypha* sp. y *Aspidisca* sp. en altas frecuencias indican un alto grado de estabilidad biológica del sistema y alta edad del lodo (Román et al., 2022). Dado que los metazoos cuentan con un ciclo de vida mayor en comparación con los protozoos, la alta concentración de rotíferos en el lodo activado evidencia sistemas de tratamiento que cuentan con un tiempo de retención celular alto y lodo activado estable (Colorado et al., 2012; Aidan Al-Hussieny, 2018; Román et al., 2022).

A pesar de que el promedio de la relación A/M para el sistema Convencional estuvo dentro de los valores aceptados (Von Sperling et al., 2007), para el caso del MBR esta relación fue mayor a 1; lo que implica que existen una mayor cantidad de carga orgánica, que la que los microorganismos pueden consumir. Es decir, a pesar de que, en comparación con el sistema Convencional, el MBR tiene la mayor cantidad de microorganismos, este tipo de tratamiento tendría la capacidad de contener aún más biomasa (microorganismos) (Von Sperling, 2007; Hai, 2014).

Euplotes sp. y *Vorticella* sp. fueron los únicos dos organismos más abundantes en el sistema de tratamiento Convencional en comparación con el MBR, mientras que *Aspidisca* sp. fue el organismo más abundante en el MBR, seguido de *Centropyxis* sp. A pesar de que la cantidad de taxones encontrada en ambos sistemas de tratamiento fue similar, la cantidad de organismos encontrados en el MBR fue mucho mayor que en

el sistema Convencional. *Euplotes* sp. es un ciliado reptante bacterívoro que cuenta con un cuerpo aplanado dorsoventralmente (Isac et al., 2004). *Vorticella* sp. también es bacterívoro, pero es un ciliado sésil que cuenta con un pedúnculo para fijarse en el sustrato, con la capacidad de estirarse y contraerse por medio de una vacuola. Para alimentarse utiliza cilios orales que crean corrientes (Isac et al., 2004; Siqueira-Castro et al., 2016).

Aspidisca sp. es un ciliado reptante de cuerpo redondo y con cirros en el lado ventral, con un tamaño de entre 25 y 40 μm (Isac et al., 2004; Walczyńska et al., 2018). Es característico de condiciones de estabilidad en los sistemas de tratamiento y por tanto son reflejo de buena eficiencia de depuración (Achmadulina et al., 2017; Arregui et al., 2013, Isac et al., 2004). Por otro lado, *Centropyxis* sp. son amebas testáceas circulares u ovoides, que pueden alimentarse de algas, flagelados y ciliados presentes en sistemas que reciben aguas poco cargadas (Isac et al., 2004).

En cuanto a los metazoos, tal y como observé con esta investigación, los rotíferos resultan ser los organismos más abundantes en los lodos activados para sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas (Román et al., 2022). Entre los géneros de rotíferos posibles de encontrar en muestras de lodo activado se encuentran *Lecane*, *Monostyla*, *Philodania* y *Rotaria* (Zornoza et al., 2010; Kocerba-Soroka et al., 2013; Aida Al-Hussieny, 2018; Walczyńska et al., 2018). Los rotíferos, según la estructura de su corona y del mastax (órganos orales), pueden alimentarse de muchas formas distintas, pero por lo general son depredadores consumen detritos y organismos menores (Isac et al., 2004).

Walczyńska et al. (2018) demuestran una relación y sucesión estrecha entre las poblaciones de *Aspidisca cicada* y el rotífero *Lecane inermis*. En donde *A. cicada* puede estar actuando como una especie que potencia la abundancia de *L. inermis* al moldear a los macroagregados de bacterias que forman los flóculos en el lodo activado, formando flóculos más grandes y densos en donde pueden habitar estos rotíferos.

Es importante considerar no sólo el género, sino también la especie de microorganismos presente en el lodo activado, ya que los requerimientos, hábitos y comportamientos pueden variar entre especies distintas de un mismo género (Salvadó et al., 1995; Arregui et al., 2013; Leal et al., 2013; Siqueira-Castro et al., 2016; Kepec et al., 2020). Y esto puede llegar a tener una implicación directa en el desempeño de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Además, saber más sobre la ecología y comportamiento de estas especies, es un insumo que brinda material adicional para conocer la dinámica de la comunidad de microorganismos que moldean los flóculos y el lodo activado que se forma en los tanques de aireación.

Los grupos de protozoos y metazoos predominantes pueden variar según el tipo de sistema de tratamiento empleado (Pérez Uz et al., 2010; Aida Al-Hussieny, 2018). Por ejemplo, Puigagut et al. (2007) encontraron un mayor porcentaje de nemátodos en Humedales artificiales, que los que se encuentran en otro tipo de sistemas de tratamiento de aguas residuales, como los Contactores Biológicos Reactivos. En el análisis del RDA según el sistema de tratamiento, encontré una clara separación entre el sistema Convencional y el MBR.

Al observar el análisis del RDA por especie, efectivamente pude apreciar que *Aspidisca* sp. y los rotíferos están estrechamente unidos en el MBR, y justamente estas especies son muy abundantes en este tipo de sistema de tratamiento. Lo cual es consistente con lo planteado por Walczyńska et al. (2018), presentando una relación cercana entre las poblaciones de *Aspidisca cicada* y el rotífero *Lecane inermis*. Por otro lado, al igual que ha sido demostrado por Sobczyk et al. (2021); el eje del RDA de este estudio que se encuentra relacionado principalmente con la temperatura demuestra que *Vorticella* sp. se asocia negativamente con este parámetro, mientras que los rotíferos y otros metazoos pueden verse favorecidos en abundancia conforme aumentan los valores de temperatura.

El sistema MBR presenta una comunidad de microorganismos más diversa que en la planta de tratamiento Convencional, donde la cantidad de organismos está

dominada por *Euplotes* sp. y *Vorticella* sp., principalmente. El sistema MBR tiene mayor abundancia total y un mejor reparto de esa abundancia entre los organismos que finalmente contribuyen con la degradación de la materia orgánica presente.

El IBL es un parámetro muy presente en el análisis de RDA y cercano a los parámetros de remoción del DBO y el DQO, lo que confirma su potencial como herramienta de bioindicación para la valoración del desempeño de los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Martín-Cerceda et al., 1996; Bento et al., 2005). Su predominancia en el modelo de análisis, implicaría su potencial de ser afinado para la inclusión de microorganismos a nivel de género o especie, y para ser adecuado de manera tal que considere también a los metazoos, según el tipo de sistema de tratamiento bajo estudio.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las personas trabajadoras de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS), especialmente al personal de la Dirección de Proyectos Especiales (DAPE) y del Hospital San Vicente de Paul por hacer posible la realización y desarrollo de esta investigación de tesis. Además, agradezco al Centro de Investigación en Ciencias del Mar (CIMAR) por la colaboración con el espacio físico y los insumos de laboratorio que permitieron analizar las muestras de microorganismos.

Este trabajo es parte de los requisitos de graduación del programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales de la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

Declaro haber cumplido con todos los requisitos éticos y legales pertinentes, tanto durante el estudio como en la preparación de este documento; que no hay conflictos de interés de ningún tipo, y que todas las fuentes financieras se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos.

REFERENCIAS

- Achmadulina, F. Y., Zakirov, R. K., Balymova, E. S., Denisova, V., Brovdiová, T., Trögl, J., y Neruda, M. (2017). Comparison of bioindicator eukaryotes of activated sludge biocenoses on two water-treatment plants: A case study. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 16(1), 54-60. <https://doi.org/10.1515/nbec-2017-0008>
- Aidan Al-Hussieny, A. (2018). Study of Sludge and comparison for Various Wastewater Treatment. *International Journal of Advanced Research*, 2 (6), 1056-1060. ISSN 2320-5407
- Arregui, L., Liébana, R., Calvo, P., Pérez-Uz, B., Salvadó, H. y Serrano, S. (2013). Bioindication in activated sludge wastewater treatment plants. En Cesaro J., Valdez J. y Maradona, E. (Eds), *Handbook of Wastewater Treatment: Biological Methods, Technology and Environmental Impact*. Estados Unidos: Nova Science Publishers.
- Baird, R.B., Eaton, A.D., Rice, E.W., Eds. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. (23 ed). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bento, A. P., Sezerino, P. H., Philippi, L. S., Reginatto, V. y Lapolli, F. R. (2005). Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: Um instrumento de avaliação e controle do processo. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 10(4), 329-338. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522005000400009>
- Berger, H. y Foissner, W. (2004). Illustrated guide and ecological notes to ciliate indicator species (Protozoa, Ciliophora) in running waters, lakes, and sewage plants. En W. Calmano, M. Hupfer, H. Fischer, y H. Klapper (Eds.), *Handbuch Angewandte Limnologie: Grundlagen—Gewässerbelastung—Restaurierung—Aquatische Ökotoxikologie—Bewertung—Gewässerschutz* (pp. 1-160). Wiley-VCH Verlag GmbH y Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527678488.hbal2003005>
- Caja Costarricense del Seguro Social (2021). Estudio integral sobre la gestión de las aguas residuales y lodos en la CCSS con visión innovadora. San José, Costa Rica. 128 pp
- Colorado, S.L., Leal, M.T., Castillo, E. y González, A. (2012). Análisis microbiológico en el arranque de una planta de lodos activados. XXII Congreso Nacional de Hidráulica. Acapulco, Guerrero, México
- Derlon, N., Koch, N., Eugster, B., Posch, T., Pernthaler, J., Pronk, W. y Morgenroth, E. (2013). Activity of metazoa governs biofilm structure formation and enhances permeate flux during Gravity-Driven Membrane (GDM) filtration. *Water Research*, 47(6), 2085-2095. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.033>
- Foissner, W. (2016). Protists as bioindicators in activated sludge: Identification, ecology and future needs. *European Journal of Protistology*, 55, 75-94. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2016.02.004>
- Hai, F. I. (Ed.). (2014). *Membrane biological reactors: Theory, modeling, design, management and applications to wastewater reuse*. IWA Publication.
- Isac, L., Rodríguez E., Salas M.D. y Fernández N (2004). *Protozoos en el fango activo*. Grupo de Bioindicación Sevilla (GBS).
- Kepec, M., Matoničkin Kepčija, R., Vlaičević, B., Kepec, S. y Gulín, V. (2020). The applicability of the Sludge Biotic Index in a facility treating sugar refinery effluents

- and municipal wastewater. *Water Environment Research*, 93(7), 1087-1096. <https://doi.org/10.1002/wer.1500>
- Kocerba-Soroka, W., Fiałkowska, E., Pajdak-Stós, A., Klimek, B., Kowalska, E., Drzewicki, A., Salvadó, H. y Fyda, J. (2013). The use of rotifers for limiting filamentous bacteria Type 021N, a bacteria causing activated sludge bulking. *Water Science and Technology*, 67(7), 1557-1563. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.028>
- Leal, A. L., Dalzochio, M. S., Flores, T. S., De Alves, A. S., Macedo, J. C. y Valiati, V. H. (2013). Implementation of the sludge biotic index in a petrochemical WWTP in Brazil: Improving operational control with traditional methods. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40(12), 1415-1422. <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1354-7>
- López-Arias, T., Moretuzzo, C., Ahrens, M. y Ude, R. (2012). Identificación de organismos bioindicadores presente en lodos activos de plantas de tratamiento de aguas residuales. *Investigaciones y Estudios de la UNA*.
- 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*, 28(1), 67-75. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90120-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90120-1)
- Marín, A. y Osés, M. (2013) Operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas residuales con el proceso de lodos activados. Tomo 1. Comisión Estatal del Agua de Jalisco.
- Martín-Cerceda, M., Serrano, S. y Guinea, A. (1996). A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 21(4), 267-276. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00123.x>
- Montusiewicz, A., Chomczynska, M., Malicki, J., y Łagód, G. (2010). Biofilm sampling for bioindication of municipal wastewater treatment. 10.1201/b10566-78
- Puigagut, J., Salvadó, H., García, D., Granes, F. y García, J. (2007). Comparison of microfauna communities in full scale subsurface flow constructed wetlands used as secondary and tertiary treatment. *Water Research*, 41(8), 1645-1652. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.036>
- Pérez-Uz, B., Arregui, L., Calvo, P., Salvadó, H., Fernández, N., Rodríguez, E., Zornoza, A. y Serrano, S. (2010). Assessment of plausible bioindicators for plant performance in advanced wastewater treatment systems. *Water Research*, 44(17), 5059-5069. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.024>
- Quinn, G. P. y Keough, M. J. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511806384
- Rensink, J. H. y Rulkens, W.H. (1997). Using metazoa to reduce sludge production. *Water Science Technology*, 36 (11): 171-179
- Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N. y Salas, M.D. (2019). Manual de trabajo para análisis biológicos en fangos activados. Grupo Bioindicación Sevilla. ISBN. 608-0189-6
- Roman, M.-D., Sava, C., Iluțiu-Varvara, D.-A., Mare, R., Pruteanu, L.-L., Pică, E. M. y Jäntschi, L. (2022). Biological Activated Sludge from Wastewater Treatment Plant before and during the COVID-19 Pandemic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(18), 11323. <https://doi.org/10.3390/ijerph191811323>

- Salvadó, H., Gracia, M. P. y Amigó, J. M. (1995). Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. *Water Research*, 29 (4), 1041-1050. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00258-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00258-9)
- Siqueira-Castro, I. C. V., Greinert-Goulart, J. A., Rossetto, R., Guimarães, J. R., y Franco, R. M. B. (2016). Ciliated protozoa community of a combined UASB–activated sludge system in southeastern Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(23), 23804-23814. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7591-3>
- Sobczyk, M., Pajdak-Stós, A., Fiałkowska, E., Sobczyk, Ł., y Fyda, J. (2021). Multivariate analysis of activated sludge community in full-scale wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(3), 3579-3589. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10684-5>
- Von Sperling (2007). Activated Sludge and Aerobic film reactors. IWA Publishing.
- Walczyńska, A., Sobczyk, M., Fiałkowska, E., Pajdak-Stós, A., Fyda, J., y Wiąckowski, K. (2018). Interaction Between a Bacterivorous Ciliate *Aspidisca cicada* and a Rotifer *Lecane inermis*: Doozers and Fraggles in Aquatic Flocs. *Microbial Ecology*, 75(3), 569-581. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1036-5>
- Zornoza, A., Alonso, J.L., Serrano, S., Fajardo, V., Zorrilla, F., Bernácer, I. y Morenilla, J.J. (2010). Estudio integrado del proceso de fangos activados I. Análisis descriptivo de factores fisicoquímicos y biológicos implicados en su dinámica. VII Jornadas de transferencia tecnológica sobre microbiología del Fango Activado. Sevilla, España. Asociación Científica Grupo Bioindicación de Sevilla
- Zornoza, A. (2015). Metodología para la búsqueda de microorganismos bioindicadores en fangos activos: la desesperación en la búsqueda del modelo. Curso teórico-práctico “El papel de los protistas en los procesos de depuración de las aguas residuales. Sevilla. 9-10 septiembre de 2015. ISBN 13-978-84-608-2139-7

CAPÍTULO III

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

En general, tanto en el sistema de tratamiento Convencional, como en el MBR, el índice Biológico del lodo (IBL) reflejan un muy buen desempeño de los sistemas bajo estudio, con un lodo activado estable y bien colonizado. Esto además se relaciona con los altos porcentajes de remoción del DBO y DQO en ambos sistemas de tratamiento. A pesar de que el porcentaje de remoción de SST en ambos sistemas también fue alto, éste no se relacionó con los valores de IBL obtenidos. La eficiencia de remoción de nutrientes no fue tan buena como estimaba, especialmente para el nitrógeno en el MBR.

Contrario a lo que esperaba, y a lo reportado por la literatura, ninguno de los parámetros ambientales considerados en este estudio (pH, temperatura y oxígeno disuelto) tuvieron una influencia significativa sobre los valores del IBL.

La edad del lodo es el parámetro operacional que tuvo una relación significativa clara con los valores del IBL. Este parámetro a la vez determina la carga orgánica presente en el sistema y la calidad del lodo activado que se genera en el mismo. Además, otros estudios han demostrado que existe una sucesión de microfauna que va colonizando el lodo activado según la edad del lodo en el sistema.

La baja presencia de flagelados en comparación con otros grupos de protozoos en el lodo activado puede estar relacionada con la baja eficiencia de remoción de nutrientes y con las altas edades de lodo presentadas.

A su vez, los resultados de esta investigación han demostrado, a través del cálculo del IBL y su relación con los parámetros estudiados, que la dominación de amebas testáceas y ciliados reptantes en la comunidad de protozoos que colonizan el lodo activado es indicativo de un sistema estable y maduro, obteniendo una alta calidad de agua tratada.

Es importante considerar no sólo el género, sino también la especie de microorganismos presente en el lodo activado, ya que los requerimientos, hábitos y comportamientos pueden variar entre especies distintas de un mismo género. Además, saber más sobre la ecología y comportamiento de estas especies, es un insumo que brinda material adicional para conocer la dinámica de la comunidad de microorganismos que moldean los flóculos y el lodo activado que se forma en los tanques de aireación.

El IBL se encuentra asociado no solo a la densidad de grupos funcionales de protozoos predominantes en el lodo activo, sino también a la abundancia de protozoos y metazoos a un nivel más específico de identificación taxonómica, como lo es el género y la especie de los microorganismos.

Esta es la primera investigación en Costa Rica que contempla el uso sistemático del IBL para la bioindicación en sistemas de tratamiento de aguas residuales hospitalarias.

RECOMENDACIONES

Para progresar en este campo de investigación, es necesario llevar a cabo la identificación de los microorganismos con una visión integrada que considere otros parámetros fisicoquímicos, ambientales y estructurales que ocurren en el tanque de aireación estudiado. Además, el análisis de la microfauna debe realizarse según sus grupos funcionales, pero también tomando en consideración los requerimientos específicos de cada especie. Una actualización del IBL mediante la inclusión de más grupos funcionales como los metazoos, o la diferenciación más específica de los grupos dominantes, puede afinar los resultados obtenidos.

En Costa Rica son necesarias más investigaciones que realicen un acercamiento en la utilización de IBL como herramienta de bioindicación en sistemas de tratamiento por lodo activado. De manera que los resultados de este estudio se robustecen y que a su vez se pueda generar evidencia cada vez más sólida de su funcionalidad como indicador de los procesos que ocurren en el lodo activado. El uso de este índice también puede servir como una guía de las acciones operativas que pueden llevarse a cabo para mejorar el desempeño de este tipo de sistemas de tratamiento.

Para futuras investigaciones en este tema, puede considerarse la realización de muestreos que abarquen varias épocas del año, de manera que se aborden los efectos de las variaciones ambientales a lo largo del año. Sin embargo, al tratarse de sistemas de tratamiento de aguas residuales con condiciones ambientales y operacionales controladas, no se espera que el desempeño del sistema y los valores del IBL varíen demasiado entre épocas.

Para la realización de este tipo de investigaciones, es importante contar con el capital humano técnico y profesional especializado en esta temática; de manera que se pueda profundizar el aprendizaje tanto en el campo, como en el laboratorio y en el trabajo de escritorio.

Es fundamental contar con capacitación en el uso de instrumentación avanzada que permita realizar una identificación más específica de la microfauna (microscopio, tinciones, análisis moleculares), así como el acceso facilitado a la misma.

El sistema de tratamiento piloto MBR demostró ser un sistema con potencial para mejorar la calidad del agua tratada de aguas hospitalarias. Puede considerarse su utilización a escala real como unidad de tratamiento adicional a la planta de tratamiento de aguas residuales actual, de manera que se pueda afinar la remoción de contaminantes fisicoquímicos, microbiológicos y emergentes de las aguas residuales tratadas. Esto vendría a representar una fase de tratamiento terciaria.

ANEXOS

Anexo 1: Cesión de Derechos

Autorización para digitalización y comunicación pública del Trabajo Final de Graduación (TFG) modalidad Proyecto Profesional de la Maestría en Manejo de Recursos Naturales de la Universidad Estatal a Distancia.

Yo, Margarita Loría Naranjo, con cédula de identidad 1-1308-0942, en mi condición de autor del TFG titulado Eficiencia del Índice Biológico de Lodos para la evaluación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica. Autorizo a la Universidad Estatal a Distancia para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del repositorio institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca la Escuela de Ciencias Exactas y Naturales.

Sí

No

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s). Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que el contenido de mi Trabajo Final de Graduación corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros.

El Trabajo Final de Graduación además cuenta con el visto bueno de mi Director(a) y Lectores de TFG y cumplió con lo establecido en la revisión del formato por parte de la Maestría en Manejo de Recursos Naturales.

Información del estudiante:

Nombre completo: Margarita Loría Naranjo

Número de identificación: 1-1308-0942

Correo electrónico: maggie.loria@gmail.com

Número de teléfono: 8723-8665

Fecha: 16 de marzo 2024

Nombre del o la Director (a) de Tesis o Tutor (a): Wilson Beita Sandí

Firma del estudiante

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal.

Anexo 2: Carta de recepción de la revista científica



Martes 23 de abril del 2024

11-2024

A QUIEN INTERESE

Nos complace informarle que hemos recibido el manuscrito: *“Índice Biológico de Lodos como bioindicador de la operación de dos sistemas de tratamiento de agua residual hospitalaria en Costa Rica”* por Margarita Loria Naranjo, con el fin de ser valorado para su posible publicación en la revista UNED Research Journal.

Atentamente,

J. Monge-Nájera

Editor

Tel (506) 25272000 cuadernosuned@gmail.com
<http://investiga.uned.ac.cr/revistas/index.php/cuadernos>
Universidad Estatal a Distancia Apdo. 474-2050 San José, Costa Rica

APÉNDICES

Apéndice 1: Cantidad, densidad de organismos y matrices de IBL.

Cuadro 1. Cantidad y densidad de organismos según matriz IBL (Madoni, 1994) para el sistema de tratamiento Convencional

Muestreo	Muestra	Ciliados reptantes y/o amebas testáceas	Cantidad organismos / litro	Ciliados sésiles	Cantidad organismos / litro	Vorticella microstoma	Cantidad organismos / litro	Ciliados baterívoros nadadores	Cantidad organismos / litro	Flagelados nadadores pequeños	Flagelados / uL	Flagelados / L	Número de unidades taxonómicas totales
1	1	32	3,05E+06	0	0,00E+00	13	1,24E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	7
	2	6	5,71E+05	0	0,00E+00	4	3,81E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	5
	3	20	1,90E+06	0	0,00E+00	9	8,57E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	6
2	1	33	3,14E+06	1	9,52E+04	15	1,43E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	10
	2	68	6,48E+06	4	3,81E+05	36	3,43E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	10
	3	50	4,76E+06	0	0,00E+00	26	2,48E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	6
3	1	58	5,52E+06	0	0,00E+00	5	4,76E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	8
	2	91	8,67E+06	2	1,90E+05	10	9,52E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	9
	3	97	9,24E+06	2	1,90E+05	5	4,76E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	8
4	1	77	7,33E+06	0	0,00E+00	11	1,05E+06	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	8
	2	116	1,10E+07	7	6,67E+05	22	2,10E+06	1	9,52E+04	9	2,8125	2,81E+06	13

	3	91	8,67E+06		1,05E+06	7	6,67E+05	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	12
				1									
5	1	83	7,90E+06	1	9,52E+04	12	1,14E+06	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	10
	2	83	7,90E+06	1	9,52E+04	12	1,14E+06	0	0,00E+00	4	1,25	1,25E+06	10
	3	83	7,90E+06	1	9,52E+04	12	1,14E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	10
6	1	104	9,90E+06	1	9,52E+04	0	0,00E+00	0	0,00E+00	2	0,625	6,25E+05	8
	2	88	8,38E+06	1	9,52E+04	10	9,52E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	8
	3	84	8,00E+06	1	9,52E+04	2	1,90E+05	0	0,00E+00	0	0	0,00E+00	9
7	1	95	9,05E+06	2	1,90E+05	33	3,14E+06	0	0,00E+00	4	1,25	1,25E+06	11
	2	49	4,67E+06	0	0,00E+00	10	9,52E+05	0	0,00E+00	9	2,8125	2,81E+06	8
	3	50	4,76E+06	0	0,00E+00	27	2,57E+06	1	9,52E+04	1	0,3125	3,13E+05	11
8	1	120	1,14E+07	2	1,90E+05	42	4,00E+06	0	0,00E+00	11	3,4375	3,44E+06	9
	2	33	3,14E+06	1	9,52E+04	38	3,62E+06	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	9
	3	33	3,14E+06	1	9,52E+04	38	3,62E+06	0	0,00E+00	10	3,125	3,13E+06	9
9	1	99	9,43E+06	1	9,52E+04	34	3,24E+06	0	0,00E+00	14	4,375	4,38E+06	12
	2	43	4,10E+06	3	2,86E+05	9	8,57E+05	0	0,00E+00	7	2,1875	2,19E+06	9
	3	50	4,76E+06	1	9,52E+04	15	1,43E+06	0	0,00E+00	6	1,875	1,88E+06	9
10	1	69	6,57E+06	4	3,81E+05	44	4,19E+06	0	0,00E+00	21	6,5625	6,56E+06	9
	2	79	7,52E+06	4	3,81E+05	26	2,48E+06	0	0,00E+00	22	6,875	6,88E+06	8

	3	79	7,52E+06	4	3,81E+05	26	2,48E+06	0	0,00E+00	18	5,625	5,63E+06	8
11	1	65	6,19E+06	2	1,90E+05	43	4,10E+06	0	0,00E+00	19	5,9375	5,94E+06	7
	2	38	3,62E+06	5	4,76E+05	22	2,10E+06	0	0,00E+00	9	2,8125	2,81E+06	8
	3	92	8,76E+06	3	2,86E+05	48	4,57E+06	0	0,00E+00	13	4,0625	4,06E+06	8
12	1	44	4,19E+06	1	9,52E+04	24	2,29E+06	0	0,00E+00	9	2,8125	2,81E+06	9
	2	56	5,33E+06	4	3,81E+05	38	3,62E+06	0	0,00E+00	11	3,4375	3,44E+06	9
	3	33	3,14E+06	2	1,90E+05	27	2,57E+06	0	0,00E+00	10	3,125	3,13E+06	9
13	1	27	2,57E+06	0	0,00E+00	9	8,57E+05	0	0,00E+00	8	2,5	2,50E+06	6
	2	58	5,52E+06	2	1,90E+05	36	3,43E+06	0	0,00E+00	2	0,625	6,25E+05	10
	3	41	3,90E+06	1	9,52E+04	11	1,05E+06	0	0,00E+00	10	3,125	3,13E+06	7
14	1	54	5,14E+06	1	9,52E+04	22	2,10E+06	1	9,52E+04	17	5,3125	5,31E+06	10
	2	84	8,00E+06	1	9,52E+04	34	3,24E+06	0	0,00E+00	9	2,8125	2,81E+06	9
	3	84	8,00E+06	1	9,52E+04	34	3,24E+06	0	0,00E+00	8	2,5	2,50E+06	9
15	1	92	8,76E+06	2	1,90E+05	12	1,14E+06	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	9
		64	6,10E+06	2	1,90E+05	6	5,71E+05	0	0,00E+00	2	0,625	6,25E+05	10
	3	64	6,10E+06	2	1,90E+05	6	5,71E+05	0	0,00E+00	0	0	0,00E+00	10
16	1	2	1,90E+05	0	0,00E+00	2	1,90E+05	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	2
	2	7	6,67E+05	0	0,00E+00	20	1,90E+06	0	0,00E+00	10	3,125	3,13E+06	2
	3	7	6,67E+05	0	0,00E+00	20	1,90E+06	0	0,00E+00	13	4,0625	4,06E+06	2

Cuadro 2. Matriz IBL (Madoni, 1994) para el sistema de tratamiento Convencional

Muestreo	Cantidad de ciliados o amebas testáceas /litro	Cantidad de ciliados sésiles / litro	Cantidad de Vorticella / litro	Cantidad ciliados bacterívoros / litro	Flagelados / litro	Números de unidades taxonómicas	Cantidad de Flagelados	IBL
1	1,84E+06	0,00E+00	8,25E+05	0,00E+00	3,13E+05	6	3	8
2	4,79E+06	1,59E+05	2,44E+06	0,00E+00	3,13E+05	9	3	9
3	7,81E+06	1,27E+05	6,35E+05	0,00E+00	3,13E+05	8	3	9
4	9,02E+06	5,71E+05	1,27E+06	3,17E+04	1,77E+06	11	17	8
5	7,90E+06	9,52E+04	1,14E+06	0,00E+00	8,33E+05	10	8	10
6	8,76E+06	9,52E+04	3,81E+05	0,00E+00	3,13E+05	8	3	9
7	6,16E+06	6,35E+04	2,22E+06	3,17E+04	1,46E+06	10	14	8
8	5,90E+06	1,27E+05	3,75E+06	0,00E+00	2,50E+06	9	24	7
9	6,10E+06	1,59E+05	1,84E+06	0,00E+00	2,81E+06	10	27	8
10	7,21E+06	3,81E+05	3,05E+06	0,00E+00	6,35E+06	8	61	7
11	6,19E+06	3,17E+05	3,59E+06	0,00E+00	4,27E+06	8	41	7
12	4,22E+06	2,22E+05	2,83E+06	0,00E+00	3,13E+06	9	30	7
13	4,00E+06	9,52E+04	1,78E+06	0,00E+00	2,08E+06	8	20	7
14	7,05E+06	9,52E+04	2,86E+06	3,17E+04	3,54E+06	9	34	7

15	6,98E+06	1,90E+05	7,62E+05	0,00E+00	5,21E+05	10	5	10
16	5,08E+05	0,00E+00	1,33E+06	0,00E+00	2,71E+06	2	26	1

*En **negrita** se marca el grupo dominante.

Cuadro 3. Cantidad y densidad de organismos según matriz IBL (Madoni, 1994) para el sistema de tratamiento MBR

Muestreo	Muestra	Ciliados reptantes y/o amebas testáceas	Cantidad organismos /litro	Ciliados sésiles	Cantidad organismos /litro	Vorticella microstoma	Cantidad organismos /litro	Ciliados baterívoros nadadores	Cantidad organismos /litro)	Flagelados nadadores pequeños	Flagelados / uL	Flagelados / L	Número de unidades taxonómicas totales
1	1	64	6,10E+06	1	9,52E+04	12	1,14E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	7
	2	16	1,52E+06	0	0,00E+00	7	6,67E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	11
	3	53	5,05E+06	0	0,00E+00	11	1,05E+06	1	9,52E+04	1	0,3125	3,13E+05	11
2	1	61	5,81E+06	2	1,90E+05	5	4,76E+05	3	2,86E+05	1	0,3125	3,13E+05	12
	2	61	5,81E+06	0	0,00E+00	7	6,67E+05	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	9
	3	67	6,38E+06	2	1,90E+05	11	1,05E+06	0	0,00E+00	1	0,3125	3,13E+05	10
3	1	135	1,29E+07	0	0,00E+00	9	8,57E+05	1	9,52E+04	1	0,3125	3,13E+05	10
	2	205	1,95E+07	2	1,90E+05	5	4,76E+05	1	9,52E+04	1	0,3125	3,13E+05	11
	3	223	2,12E+07	4	3,81E+05	4	3,81E+05	1	9,52E+04	1	0,3125	3,13E+05	13
4	1	35	3,33E+06	2	1,90E+05	5	4,76E+05	2	1,90E+05	6	1,875	1,88E+06	14

	2	322	3,07E+07	3	2,86E+05	11	1,05E+06	1	9,52E+04	6	1,875	1,88E+06	15
	3	219	2,09E+07	3	2,86E+05	9	8,57E+05	1	9,52E+04	11	3,4375	3,44E+06	13
5	1	150	1,43E+07	0	0,00E+00	3	2,86E+05	1	9,52E+04	12	3,75	3,75E+06	8
	2	150	1,43E+07	0	0,00E+00	3	2,86E+05	1	9,52E+04	5	1,5625	1,56E+06	8
	3	150	1,43E+07	0	0,00E+00	3	2,86E+05	1	9,52E+04	11	3,4375	3,44E+06	8
6	1	85	8,10E+06	0	0,00E+00	3	2,86E+05	0	0,00E+00	12	3,75	3,75E+06	10
	2	227	2,16E+07	3	2,86E+05	10	9,52E+05	0	0,00E+00	7	2,1875	2,19E+06	11
	3	195	1,86E+07	1	9,52E+04	2	1,90E+05	0	0,00E+00	6	1,875	1,88E+06	11
7	1	262	2,50E+07	2	1,90E+05	14	1,33E+06	0	0,00E+00	2	0,625	6,25E+05	12
	2	120	1,14E+07	1	9,52E+04	2	1,90E+05	1	9,52E+04	10	3,125	3,13E+06	12
	3	307	2,92E+07	7	6,67E+05	13	1,24E+06	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	14
8	1	258	2,46E+07	1	9,52E+04	16	1,52E+06	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	12
	2	319	3,04E+07	2	1,90E+05	15	1,43E+06	0	0,00E+00	2	0,625	6,25E+05	12
	3	384	3,66E+07	1	9,52E+04	20	1,90E+06	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	13
9	1	273	2,60E+07	1	9,52E+04	8	7,62E+05	0	0,00E+00	4	1,25	1,25E+06	13
	2	491	4,68E+07	0	0,00E+00	4	3,81E+05	2	1,90E+05	5	1,5625	1,56E+06	10
	3	496	4,72E+07	3	2,86E+05	6	5,71E+05	2	1,90E+05	1	0,3125	3,13E+05	13
10	1	249	2,37E+07	1	9,52E+04	4	3,81E+05	0	0,00E+00	4	1,25	1,25E+06	14
	2	342	3,26E+07	2	1,90E+05	17	1,62E+06	2	1,90E+05	0	0	0,00E+00	13

	3	342	3,26E+07	2	1,90E+05	17	1,62E+06	2	1,90E+05	1	0,3125	3,13E+05	13
11	1	372	3,54E+07	2	1,90E+05	9	8,57E+05	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	13
	2	538	5,12E+07	4	3,81E+05	8	7,62E+05	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	11
	3	211	2,01E+07	36	3,43E+06	7	6,67E+05	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	11
12	1	392	3,73E+07	2	1,90E+05	8	7,62E+05	5	4,76E+05	6	1,875	1,88E+06	14
	2	301	2,87E+07	1	9,52E+04	10	9,52E+05	7	6,67E+05	4	1,25	1,25E+06	13
	3	399	3,80E+07	3	2,86E+05	11	1,05E+06	3	2,86E+05	4	1,25	1,25E+06	12
13	1	70	6,67E+06	1	9,52E+04	50	4,76E+06	0	0,00E+00	6	1,875	1,88E+06	14
	2	25	2,38E+06	2	1,90E+05	5	4,76E+05	0	0,00E+00	4	1,25	1,25E+06	9
	3	48	4,57E+06	1	9,52E+04	12	1,14E+06	3	2,86E+05	1	0,3125	3,13E+05	10
14	1	436	4,15E+07	2	1,90E+05	8	7,62E+05	3	2,86E+05	7	2,1875	2,19E+06	17
	2	156	1,49E+07	2	1,90E+05	2	1,90E+05	0	0,00E+00	4	1,25	1,25E+06	14
	3	156	1,49E+07	4	3,81E+05	2	1,90E+05	0	0,00E+00	6	1,875	1,88E+06	15
15	1	501	4,77E+07	0	0,00E+00	0	0,00E+00	0	0,00E+00	18	5,625	5,63E+06	10
	2	461	4,39E+07	0	0,00E+00	0	0,00E+00	0	0,00E+00	17	5,3125	5,31E+06	11
	3	1412	1,34E+08	1	9,52E+04	0	0,00E+00	2	1,90E+05	17	5,3125	5,31E+06	14
16	1	918	8,74E+07	2	1,90E+05	0	0,00E+00	0	0,00E+00	5	1,5625	1,56E+06	10
	2	1381	1,32E+08	1	9,52E+04	1	9,52E+04	0	0,00E+00	8	2,5	2,50E+06	12
	3	453	4,31E+07	0	0,00E+00	0	0,00E+00	0	0,00E+00	3	0,9375	9,38E+05	9

Cuadro 4. Matriz IBL (Madoni, 1994) para el sistema de Tratamiento MBR

Muestreo	Cantidad de ciliados o amebas testáceas /litro	Cantidad de ciliados sésiles / litro	Cantidad de Vorticella / litro	Cantidad ciliados bacterívoros / litro	Flagelados / litro	Número de unidades taxonómicas	MÁXIMO	Cantidad de flagelados	IBL
1	4,22E+06	3,17E+04	9,52E+05	3,17E+04	3,13E+05	10	4,22E+06	3	10
2	6,00E+06	1,27E+05	7,30E+05	9,52E+04	3,13E+05	10	6,00E+06	3	10
3	1,79E+07	1,90E+05	5,71E+05	9,52E+04	3,13E+05	11	1,79E+07	3	10
4	1,83E+07	2,54E+05	7,94E+05	1,27E+05	2,40E+06	14	1,83E+07	23	8
5	1,43E+07	0,00E+00	2,86E+05	9,52E+04	2,92E+06	8	1,43E+07	28	7
6	1,61E+07	1,27E+05	4,76E+05	0,00E+00	2,60E+06	11	1,61E+07	25	8
7	2,19E+07	3,17E+05	9,21E+05	3,17E+04	1,77E+06	13	2,19E+07	17	8
8	3,05E+07	1,27E+05	1,62E+06	0,00E+00	1,25E+06	12	3,05E+07	12	8
9	4,00E+07	1,27E+05	5,71E+05	1,27E+05	1,04E+06	12	4,00E+07	10	8
10	2,96E+07	1,59E+05	1,21E+06	1,27E+05	5,21E+05	13	2,96E+07	5	10
11	3,56E+07	1,33E+06	7,62E+05	0,00E+00	1,35E+06	12	3,56E+07	13	8
12	3,47E+07	1,90E+05	9,21E+05	4,76E+05	1,46E+06	13	3,47E+07	14	8

13	4,54E+06	1,27E+05	2,13E+06	9,52E+04	1,15E+06	11	4,54E+06	11	8
14	2,37E+07	2,54E+05	3,81E+05	9,52E+04	1,77E+06	15	2,37E+07	17	8
15	7,54E+07	3,17E+04	0,00E+00	6,35E+04	5,42E+06	12	7,54E+07	52	8
16	8,74E+07	9,52E+04	3,17E+04	0,00E+00	1,67E+06	10	8,74E+07	16	8

*En rojo se marca el grupo dominante.

Apéndice 2: Resultados de los supuestos de ANCOVA.

Cuadro 1. Resultados de los supuestos para el análisis ANCOVA para el Índice Biológico de Lodos (IBL) como parámetro predictor

Parámetro	Prueba			
	Breuch-Pagan (valor de p)	Jarque-Bera (valor de p)	Bartlett (valor de p)	Shapiro-Wilk (valor de p)
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO)	0.237	0.078	0.00294	0.128
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	0.706	0.415	0.679	0.0169
Sólidos Suspendedos Totales (SST)	0.323	0.074	0.00119	0.262
Nitrógeno (N)	0.373	0.804	0.892	0.678
Fósforo (P)	0.762	0.154	0.303	0.153

Cuadro 2. Resultados de los supuestos para el análisis ANCOVA para el Índice Biológico de Lodos (IBL) como parámetro respuesta (transformado a rangos)

Parámetro	Prueba			
	Breuch-Pagan (valor de p)	Jarque-Bera (valor de p)	Bartlett (valor de p)	Shapiro-Wilk (valor de p)
pH	0.149	0.292	0.173	0.00624
Temperatura	0.161	0.191	0.173	0.00624
Oxígeno disuelto	0.343	0.249	0.173	0.00624
Relación Alimento/Microorganismo	0.415	0.384	0.173	0.00624
Edad del lodo	0.282	0.278	0.173	0.00624