



INFORME DEL ENSAYO INTERLABORATORIO PARA FANGOS ACTIVOS.

10 de Marzo de 2009



GRUPO AGUAS DE VALENCIA

SURCIS S.L.



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



Universidad
Complutense
Madrid



UNIVERSITAT DE BARCELONA



EMASESA

metropolitana

IZASA

Tecnología y servicio



agua y gestión

**TECNOLOGÍA DEL
AGUA**

ASOCIACIÓN GRUPO BIOINDICACIÓN SEVILLA.

Agente Andaluz del Conocimiento y miembro de la red RAITEC

Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa.

(Junta de Andalucía-ACOI27ACTA 28 Marzo 2008).

Con la Colaboración de: IZASA, SURCIS, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA Y UNIVERSIDAD DE BARCELONA.

Con el Patrocinio de: EMASESA, COSELA, DAM , AGUA Y GESTIÓN, GRUPO AGUAS DE VALENCIA Y TECNOLOGÍA DEL AGUA.

Han aportado documentos a este informe: Emilio Serrano (Anexo II), José Luís Alonso (Fotografías del Anexo III), Lucía Arregui, Raquel Liébana, Susana Serrano y Blanca Pérez-Uz (Anexo V) y Humbert Salvado (Anexo VI).

ÍNDICE

1. Introducción

2. Participantes

3. Resultados

4. Análisis de datos

- **Caracterización macroscópica y microscópica del fango activado (IF)**
- **Identificación y cuantificación de bacterias filamentosas**
- **Caracterización de la microfauna**
- **Otros parámetros de interés**

5. Conclusiones

- **Generales**
- **Valoración de la muestra**

6. Consideraciones para los próximos ejercicios interlaboratorios

7. Agradecimientos

8. Bibliografía

Anexo I: Reportaje fotográfico: Macroscopía y Microscopía - Bacterias filamentosas - Protistas y Metazoos.

Anexo II: Estudio respirométrico de la muestra.

Anexo III: Viabilidad celular.

Anexo IV: Microscopía electrónica

Anexo V: Estudio biológico

Anexo VI: Valoración ecológica de la muestra

1. INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de unificar criterios en los análisis de tipo microbiológico de fangos activos ("evaluación del fango: características macro- y microscópicas", "evaluación de la población de bacterias filamentosas" y "evaluación de la microfauna"), GBS organiza ejercicios interlaboratorios con muestras de distintas características y procedencias. Estos ensayos ofrecen la oportunidad al laboratorio participante de comparar sus resultados con aquellos aportados por otros analistas, posibilitándole conocer su desempeño técnico y detectar posibles errores sistemáticos.

El ejercicio del día 10 de Marzo de 2009 se realizó sobre una muestra puntual de Fango Activo, cuya toma se efectuó el día 9 de Marzo a las 7 a.m. Su distribución se hizo desde la EDAR Copero. Previamente se habían enviado por correo electrónico los formatos de remisión de resultados, junto con el procedimiento de conservación y el de conteo de bacterias filamentosas elaborado por el profesor Salvado (Universidad de Barcelona).

Dicho procedimiento sustituía al utilizado hasta ahora, de recuento con la cámara de Neubauer.

Esta misma muestra ha sido estudiada mediante un completo análisis respirométrico realizado por la empresa Surcis, S.L., cuyo informe adjuntamos en anexo aparte (Anexo II). Como se podrá comprobar, algunos de los aspectos recogidos en este informe son complementados y en ocasiones confirmados por los resultados extraídos con este método indirecto de evaluación de la biomasa. El presente informe ha sido elaborado sin conocimiento de los datos técnicos y resultados de dicho informe respirométrico, en igualdad de condiciones que el resto de participantes.

Como complemento y gracias a la colaboración de distintas Universidades y entidades, se han realizado los siguientes análisis:

- Viabilidad celular: Fotografías realizadas por el profesor D. José Luís Alonso. Universidad Politécnica de Valencia.

- Microscopía electrónica.

- Estudio Biológico. Realizado por D^a Lucía Arregui, D^a Raquel Liébana, D^a Blanca Pérez-Uz y D^a Susana Serrano, Universidad Complutense de Madrid.

- Valoración ecológica de la muestra. Realizado por el profesor D. Humbert Salvado. Universidad de Barcelona



Todos los expertos que han colaborado mediante los distintos anexos o fotografías no están vinculadas a las valoraciones y opiniones expresadas en este texto, que son responsabilidad exclusiva de GBS.

Además de la suspensión de fango activo de EDAR convencional, se adjuntó un volumen aproximado de 15 mL de una muestra puntual de fango activo de procedencia industrial. En este caso, el análisis a realizar estaba simplificado y se refirió sólo a la identificación de bacterias filamentosas y a la valoración de la microestructura del fango.

2. PARTICIPANTES

Durante este ejercicio, el total de participantes ha sido de 22, de los cuales el 14%, aproximadamente, trabajaba por primera vez con esta metodología de análisis. El resto había trabajado con anterioridad con las hojas de trabajo, conociendo el uso de la metodología aplicada.

En este ejercicio se ha utilizado las nuevas hojas de trabajo, con cálculos automáticos, a fin de facilitar a los participantes el procesado de los cálculos. A los participantes menos expertos les recordamos que pueden aclarar con nosotros aquellos aspectos metodológicos de las hojas de trabajo que no comprendan, a fin de que estos queden solucionados antes del próximo ejercicio.

En la Tabla 1 se recogen los plazos de tiempo transcurridos entre la toma de muestras y el análisis en el caso de cada participante. Durante este ejercicio no se ha producido ningún retraso en el traslado de las muestras a los laboratorios participantes. Tampoco los participantes han comunicado ninguna incidencia en el tiempo de realización de la analítica, efectuando el análisis en el tiempo previsto.

No ha entregado resultados el participante 8 (por problemas de personal). Los participantes 19 y 20 han aportado datos parciales.

Es importante insistir sobre el control que deben realizar los participantes, sobre los servicios de mensajería enviados, para evitar deterioros en las muestras.

Tabla 1. Días transcurridos en el análisis de la muestra desde su toma.

P1	P2	P3	P4	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15
1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1
P16	P17	P18	P19	P20	P22								
1	1	1	1	1	1								

Por último se ruega al participante 3, que utilice las nuevas hojas de trabajo enviadas, ya que le facilitaran la obtención de resultados finales, al no tener que realizarlos de forma manual y reducen errores de cálculo.

3. RESULTADOS

Los resultados más relevantes del análisis microscópico de la muestra, para cada uno de los participantes, se recogen en la Tabla 2.

Se advierte a los participantes que los cuadros-resúmenes aquí recogidos presentan modificaciones respecto a los adelantados por correo electrónico. En algunos casos, los participantes ratificaron o aportaron la información ausente que se solicitó, en otros casos los datos han debido de quedar como ausentes por falta de respuesta.

Tabla 2 (I). Resultados aportados por los participantes 1-6.

PARTICIPANTE	1	2	3	4	5	6
MACROSCOPIA	30	21	30	25,5	21	21
MICROSCOPIA	43	36	40	34	50	40
INDICE DE FANGOS	73	57	70	59,5	71	61
CATEGORIA DE FILAMENTOS	5	5	5	5	4	5
FILAMENTO DOMINANTE	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA	N. LIMICOLA	THIOTHRIX SP	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA
FILAMENTO SECUNDARIO	T1701	T1701/ h. HYDROSSIS	M. PARVICELLA		T1701	T1701, H HYDROSSIS
EFFECTO FLOCULO	DISGREGACIÓN FLOCULAR	DISGREGACIÓN FLOCULAR	ESPONJAMIENTO MODERADO	DISGREGACIÓN FLOCULAR	PUENTES INTERFLOCLARES	DISGREGACIÓN FLOCULAR Y PUENTES INTERFLOCLARES
OTROS FILAMENTOS	H. HYDROSSIS, N. LIMICOLA, T1702 Y T 0092	N.LIMICOLA, Y T1851	T0211	T0914	T021N, T1851 Y T 0092	T021N, T0411, T0092
NUMERO DE INTERCECCIONES	7,63	7,03		19,47	10,43	10,5
m/ml FILAMENTOS	191,67	176,72		489,16	262,02	263,82
DENSIDAD (org/l)	4 X 10 ⁶	4,22 X 10 ⁶	10 X 10 ⁷	4,34 X 10 ⁶	2,26 X 10 ⁶	2,78 X 10 ⁶
INDICE DE SHANON	2,71	2,48	2,03	2,53	3,45	2,69
INDICE DE MADONI	8	8	8	6	9	8
CLASE MADONI	I	I	I	II	I	II
NUMERO DE ESPECIES	10	9	10	10	15	9
GRUPO DOMINANTE	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles

*Grupo Bioindicación Sevilla
Agente del Conocimiento
Acreditado de Andalucía*



Tabla 2 (II). Resultados aportados por los participantes 7-12.

PARTICIPANTE	7	8	9	10	11	12
MACROSCOPIA	30		25,5	16,5	21	25
MICROSCOPIA	43		39	34	50	34
INDICE DE FANGOS	73		64,5	50,5	71	59
CATEGORIA DE FILAMENTOS	5		5	4	5	4
FILAMENTO DOMINANTE	M. PARVICELLA		NOSTOCOIDA LIMICOLA	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA
FILAMENTO SECUNDARIO	T021N Y T0092		H. HYDROSSIS	T0041	T0041	H. HYDROSSIS
EFFECTO FLOCULO	DISGREGACIÓN FLOCULAR			FLOCULAR Y PUENTES INTERFLOCULARES	DISGREGACIÓN FLOCULAR	PUENTES INTERFLOCULARES
OTROS FILAMENTOS	H. HYDROSSIS Y T0675		T 021N Y T01851	T021N, THIOTHRIX SP, H. HYDROSSIS, N. LIMICOLA	T1701, H. HYDROSSIS, N.LIMICOLA, T 0092	
NUMERO DE INTERCECCIONES	8,97					5,31
m/ml FILAMENTOS	225,52					133,43
DENSIDAD (org/l)	3,76 X 10 ⁶		1,40 X 10 ⁶	4,18 X 10 ⁶	2,56 X 10 ⁶	8,8 X 10 ⁵
INDICE DE SHANON	3,18		1,49	2,93	3,09	2,44
INDICE DE MADONI	9		7	8	10	6
CLASE MADONI	I		II	II	I	II
NUMERO DE ESPECIES	15		5	12	15	9
GRUPO DOMINANTE	Bact. Sésiles		Bact. Reptantes	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles

Agente del Conocimiento
Acreditado de Andalucía

Tabla 2 (III). Resultados aportados por los participantes 13-18.

PARTICIPANTE	13	14	15	16	17	18
MACROSCOPIA	25,5	30	30	21	25,5	25,5
MICROSCOPIA	28	50	45	50	50	28
INDICE DE FANGOS	53,5	80	75	71	75,5	53,5
CATEGORIA DE FILAMENTOS	4	5	5	5	5	5
FILAMENTO DOMINANTE	THIOTHRIX SP	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA
FILAMENTO SECUNDARIO	T1701	THIOTHRIX SP	T021N	T021N	T 1701 y H. HYDROSSIS	T 1701 y H. HYDROSSIS
EFEECTO FLOCULO	DISGREGACIÓN FLOCULAR	DISGREGACIÓN FLOCULAR Y PUENTES INTERFLOCLARES	DISGREGACIÓN FLOCULAR Y PUENTES INTERFLOCLARES	DISGREGACIÓN FLOCULAR Y PUENTES INTERFLOCLARES	DISGREGACIÓN FLOCULAR Y PUENTES INTERFLOCLARES	PUENTES INTERFLOCLARES
OTROS FILAMENTOS	GALO, T021N	T1701, T021N, T1863, T0041, H. HYDROSSIS, BEGGIATO, T0675, T1851,	H. HYDROSSIS		THIOTHRIX SP., N. LIMICOLA	T021N, T0041, T0092, T1851
NUMERO DE INTERCECCIONES	7,48		7,4			12,13
m/ml FILAMENTOS	188,06		186			304,86
DENSIDAD (org/l)	$7,12 \times 10^6$	$3,39 \times 10^6$	$5,44 \times 10^6$	$3,66 \times 10^6$	$3,64 \times 10^6$	$3,78 \times 10^6$
INDICE DE SHANON	2,02	2,85	2,51	2,86	2,77	3,25
INDICE DE MADONI	9	7	8	8	9	10
CLASE MADONI	I	II	I	1	I	I
NUMERO DE ESPECIES	8	13	8	11	10	18
GRUPO DOMINANTE	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles y Amebas	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles

Tabla 2 (IV). Resultados aportados por los participantes 19-22.

PARTICIPANTE	19	20	21	22
MACROSCOPIA	13,5	30	21	30
MICROSCOPIA	49,5	50	47	31
INDICE DE FANGOS	63	80	68	61
CATEGORIA DE FILAMENTOS		5	5	4
FILAMENTO DOMINANTE		M. PARVICELLA	M. parvicella	M. PARVICELLA
FILAMENTO SECUNDARIO				H.HYDROSSIS
EFFECTO FLOCULO				
OTROS FILAMENTOS				GALO; 1701, T021N, T0041, N. LIMICOLA
NUMERO DE INTERCECCIONES				5,75
m/ml FILAMENTOS				144,47
DENSIDAD (org/l)	$4,96 \times 10^6$		$3,94 \times 10^6$	$3,04 \times 10^6$
INDICE DE SHANON	1,96			3,22
INDICE DE MADONI	4		9	9
CLASE MADONI			I	I
NUMERO DE ESPECIES	8		11	13
GRUPO DOMINANTE	Bact. Sésiles	Bact Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles

4. ANÁLISIS DE DATOS

En este apartado se realizará un análisis estadístico de los valores obtenidos en cada uno de los puntos en los que está dividido el análisis de fangos activos. Los parámetros estadísticos seleccionados son:

El cálculo de la *media* nos informa sobre el valor más probable de la variable a estudiar. Es afectada fuertemente por los valores extremos de la población.

La *desviación estándar* muestra como de agrupados o dispersos se encuentran los valores. Si la *varianza* tiende a cero, quiere decir que la dispersión de los datos es muy baja y se encuentran concentrados en torno a la media.

Dada la dispersión natural de los datos biológicos, y más aún de este tipo de análisis que no presentan capacidad de contraste con un patrón, hemos definido intervalos de confianza en aquellos valores que presentaron mayor dispersión, representados por desviaciones de la media del 20%, como complemento a la Q de Dixon.

Se señalan en amarillo aquellos participantes descartados y en naranja aquellos que han necesitado una revisión de los cálculos.

CARACTERIZACIÓN MACRO- Y MICROSCÓPICA DEL FANGO ACTIVO

En los resultados que se muestran a continuación se resaltan en color amarillo aquellos datos que se alejaron de la tendencia extraída del total de datos.

- MACROSCOPIA

Al revisar los valores parciales de macroscopía se ha detectado un error, entre varios participantes, al aplicar la decantabilidad. Esto nos ha llevado a recalcular varios IF. En la tabla 3 (II), se detallan las revisiones realizadas, así como la explicación pertinente.

En la siguiente tabla se recogen los valores aportados por los participantes que, según el criterio estadístico aplicado, rechazó al participante número 6 y 19.

MACROSCOPIA	
1	30
2	25,5
3	30
4	25,5
5	25,5
6	16,5
7	30
8	
9	25,5
10	25,5
11	30
12	25,5
13	30
14	30
15	30
16	21
17	21
18	25,5
19	13,5
20	30
21	21
22	25,5
MEDIA	25,6
VARIANZA	22,4
MEDIA CORREGIDA	26,7
VARIANZA CORREGIDA	10,9

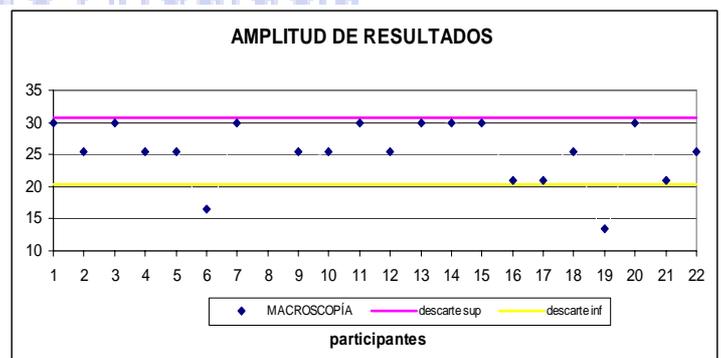
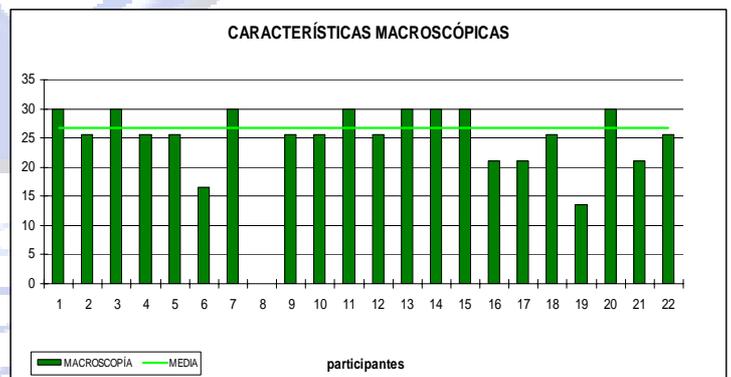


Figura 1. Características macroscópicas de la muestra ("totales" Σ [turbidez, flóculos en suspensión, sedimentabilidad y olor]) para cada uno de los participantes, así como la media y varianza calculadas. Descartado los participantes número 6 y 19.

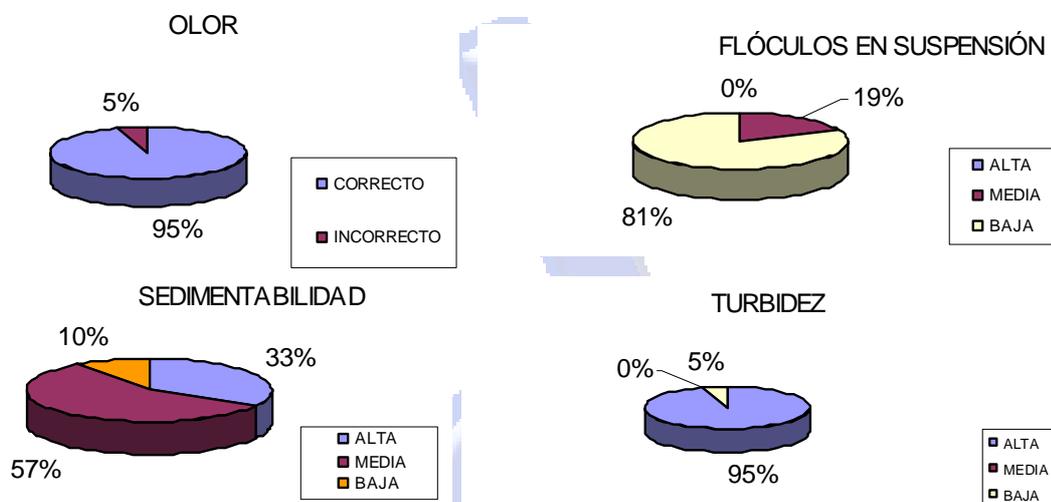
En la Tabla 3-I se detallan las categorías de los parámetros macroscópicos valorados por cada participante, resaltándose aquellas que fueron seleccionadas por los participantes con menor frecuencia en color amarillo y en naranja aquellas que han sido revisadas. El participante 21, no ha entregado curva de decantación, por lo que no se ha podido revisar este valor. El participante 11 comunica que su curva de decantación es errónea, habiéndola realizado sobre la V30 diluida.

Por último, se representan gráficamente los porcentajes de reparto para cada categoría.

PARTICIPANTE	TURBIDEZ	FLÓCULOS EN SUSPENSIÓN	SEDIMENTABILIDAD	OLOR
MUESTRA FRESCA	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
1	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
2	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
3	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
4	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
5	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
6	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
7	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
8				
9	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
10	BAJA	MEDIA	ALTA	CORRECTO
11	BAJA	BAJA	BAJA	CORRECTO
12	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
13	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
14	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
15	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
16	BAJA	MEDIA	MEDIA	CORRECTO
17	BAJA	MEDIA	MEDIA	CORRECTO
18	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO
19	MEDIA	MEDIA	MEDIA	INCORRECTO
20	BAJA	BAJA	ALTA	CORRECTO
21	BAJA	BAJA	BAJA	CORRECTO
22	BAJA	BAJA	MEDIA	CORRECTO

Tabla 3-I. Características macroscópicas de la muestra para cada uno de los participantes. Se resaltan en amarillo las categorías menos frecuentes.

REPARTO PORCENTUAL DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS



El análisis de la muestra realizada por GBS el mismo día de la toma de muestra (9/3/09), indica que los parámetros macroscópicos, han presentado valores estables hasta el día de análisis programado para el interlaboratorio (10/3/09), si bien se detecta un ligero aumento de microflóculos en suspensión, lo que puede explicar el 19 % de disparidad en este parámetro.

Respecto al parámetro decantabilidad, más del 50 % de los participantes, no ha tenido en cuenta la relación V10, V20 y V30, solicitada en las hojas de cálculos para asignar esta categoría.

Los datos aportados por los participantes quedan especificados en la tabla 3-II, donde se le asignan los distintos índices de decantabilidad calculados. Aquel índice superior a 0,5 en primera opción es el que define la asignación del parámetro decantabilidad.

DEANTACION	PARTICIPANTE 1	PARTICIPANTE 2	PARTICIPANTE 4	PARTICIPANTE 5	PARTICIPANTE 6	PARTICIPANTE 8	PARTICIPANTE 9	PARTICIPANTE 10	PARTICIPANTE 11	PARTICIPANTE 12	PARTICIPANTE 13	PARTICIPANTE 14	PARTICIPANTE 15	PARTICIPANTE 17	PARTICIPANTE 22
0	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
5	810		900	940	870			840	980	980	900		500	910	890
10	710	840	840	870	840	630	850	690	250	950	600	620	360	810	770
15	630		760	810	750		730	580	230	910	400		300	740	660
20	560	700	690	760	660	560	670	510	200	880	300	480	270	680	580
25	510		630	710	620		620	460	190	850	250		250	640	530
30	480	610	570	670	560	465	570	410	180	800	230	380	240	600	490
45			440	560	450		470	340	160	700			200		400
60			360	460	400			300	150	610			190		350
RELACIÓN 0-10 MINUTOS	0,56	0,41	0,37	0,39	0,36	0,69	0,35	0,53		0,25	0,52	0,61	0,84	0,48	0,45
RELACIÓN 0-20 MINUTOS	0,846154	0,769231	0,72093	0,727273	0,772727	0,82243	0,767442	0,830508		0,6	0,909091	0,83871	0,960526	0,8	0,8235294
RELACIÓN 0-30 MINUTOS	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1

Tabla 3-II. Características macroscópicas de la muestra para cada uno de los participantes. Se resaltan en amarillo las categorías menos frecuentes.

- MICROSCOPIA

En la siguiente tabla se representan los valores de la caracterización microscópica de la muestra. Al igual que ha ocurrido en la macroscopía se han debido revisar los ajustes de categoría numérica de filamentos, según la asignación realizada al filamento dominante. Dichas modificaciones han quedado reflejadas en la tabla 4, señaladas en naranja. Se recuerda a los participantes, que tras la valoración microscópica de la muestra, es necesario realizar una revisión al asignar las categorías cualitativas de filamentos y el conteo de protistas y ajustar el valor final.

Se insta a todos los participantes a incidir en este tema para sucesivos interlaboratorios.

Tras aplicar los criterios estadísticos han quedado descartados los participantes 5, 13, 18 y 19.

MICROSCOPIA	
1	43
2	36
3	44
4	34
5	50
6	33
7	43
8	
9	32
10	41
11	43
12	41
13	28
14	43
15	39
16	43
17	43
18	28
19	49,5
20	43
21	47
22	38
MEDIA	40,1
VARIANZA	38,9
MEDIA CORREGIDA	40,4
VARIANZA CORREGIDO	18,6

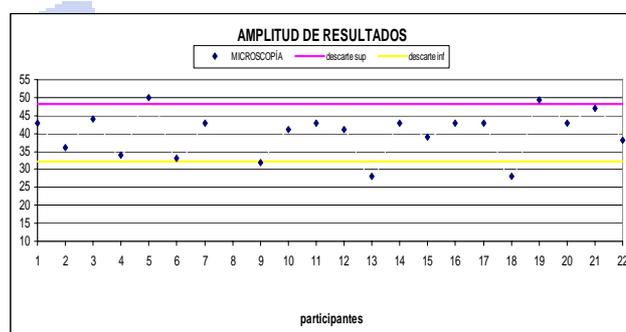
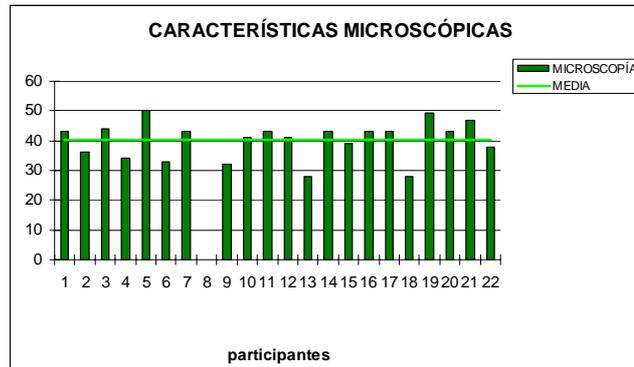


Figura 2 (I). Características microscópicas de la muestra (totales) para cada uno de los participantes, así como la media y varianza calculadas. Descartado participantes 5, 13, 18 y 19 (señalados en amarillo).

La tabla de características microscópicas se ha completado con los valores corregidos.

Asignaciones realizadas por los participantes descartados, que discrepan considerablemente de los valores medios:

Descarte superior:

- Participante 5: <de 5 filamentos/flóculo
- Participante 19: Forma regular. Estructura compacta. Cobertura > 50% y Textura débil.

Descarte inferior:

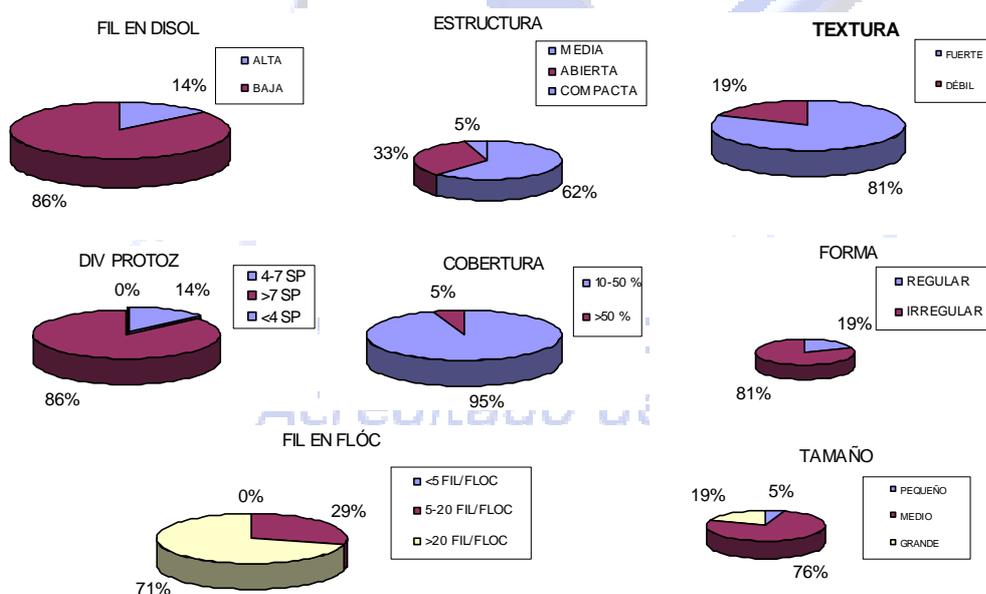
- Participante 13: No asigna tamaño flocular.

- Participante 18: Estructura abierta. Alta concentración de filamentos en disolución

PARTICIPANTE	FORMA	TAMAÑO	ESTRUCTURA	TEXTURA	COBERTURA	FIL EN FLOC	FIL EN DIS	DIV PROTOZ
MUESTRA FRESCA	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
1	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
2	IRREGULAR	PEQUEÑO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
3	REGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	ALTA	ALTA
4	IRREGULAR	MEDIO	ABIERTA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
5	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	5-20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
6	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	DEBIL	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	MEDIA
7	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
8								
9	REGULAR	MEDIO	ABIERTA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	MEDIA
10	IRREGULAR	MEDIO	ABIERTA	FUERTE	10-50 %	5-20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
11	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
12	REGULAR	MEDIO	ABIERTA	DEBIL	10-50 %	5-20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
13	IRREGULAR	MEDIO	ABIERTA	FUERTE	10-50 %	5-20 FIL/FLOC	BAJA	MEDIA
14	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
15	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	DEBIL	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
16	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
17	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
18	IRREGULAR	GRANDE	ABIERTA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	ALTA	ALTA
19	REGULAR	GRANDE	COMPACTA	DEBIL	>50 %	5-20 FIL/FLOC	ALTA	ALTA
20	IRREGULAR	MEDIO	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
21	IRREGULAR	GRANDE	MEDIA	FUERTE	10-50 %	>20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA
22	IRREGULAR	GRANDE	ABIERTA	FUERTE	10-50 %	5-20 FIL/FLOC	BAJA	ALTA

Tabla 4. Características microscópicas de la muestra (forma, tamaño, estructura, textura y cobertura flocular, filamentos en flóculos y en disolución, diversidad de especies) para cada uno de los participantes. Se resaltan en amarillo las categorías menos frecuentes y en naranja los índices revisados por asignaciones erróneas de los filamentos por flóculo.

REPARTO PORCENTUAL DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS



- ÍNDICE DE FANGO

En la siguiente tabla se recogen los valores del IF estimados, cuya categoría se ha valorado predominantemente como "bueno". Recordamos que ha sido necesario revisar los cálculos del 80 % de los participantes por lo que el IF, ha debido ser igualmente modificado. Han quedado señaladas en naranja las categorías de IF modificadas.

Se ruega de forma insistente, que se revise este apartado antes de enviar los resultados.

Ha quedado descartado el participante 6 tras aplicar el test estadístico al IF, si bien se encuentra muy cercano al límite inferior.

IF		CATEGORÍA IF
1	73	BUENO
2	62	BUENO
3	74	BUENO
4	60	BUENO
5	76	BUENO
6	50	REGULAR
7	73	BUENO
8		
9	58	REGULAR
10	67	BUENO
11	71	BUENO
12	67	BUENO
13	58	REGULAR
14	73	BUENO
15	69	BUENO
16	64	BUENO
17	64	BUENO
18	54	REGULAR
19	63	BUENO
20	73	BUENO
21	61	BUENO
22	64	BUENO
MEDIA		65,2
VARIANZA		52,4
MEDIA CORREGIDA		66,0
VARIANZA CORREGIDA		41,5

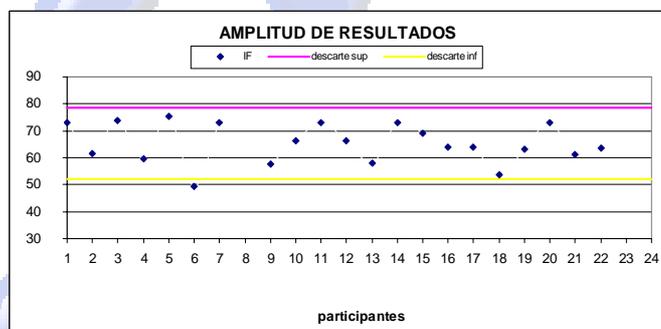
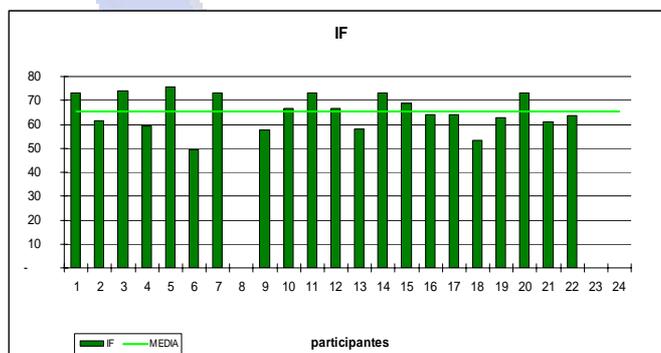


Figura 3. IF (sumatorio de las características macro- y microscópicas) para cada uno de los participantes, así como la media y varianza calculadas. Descartado el participante 6.

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS FILAMENTOSAS

- ABUNDANCIA DE BACTERIAS FILAMENTOSAS IDENTIFICADAS: CATEGORÍA NUMÉRICA Y OTROS MÉTODOS PROPUESTOS.

En la tabla siguiente se recoge la presencia de bacterias filamentosas en función a la técnica "cualitativa", la cual permite establecer un criterio subjetivo de abundancia para la densidad total de microorganismos filamentosos.

Si hubiera calificaciones de categorías intermedias, se traducirían a valores decimales, para poder realizar los cálculos estadísticos necesarios.

Ningún participante descartado.

CATEGORÍA BACTERIANA	
1	5
2	5
3	5
4	5
5	4
6	5
7	5
8	
9	5
10	4
11	5
12	4
13	4
14	5
15	5
16	5
17	5
18	5
19	
20	5
21	5
22	4
MEDIA	5
VARIANZA	0,2

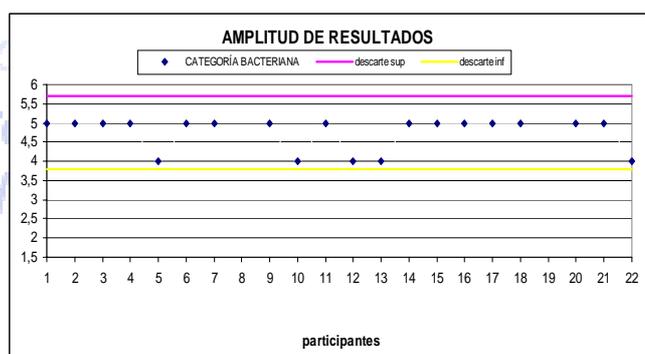
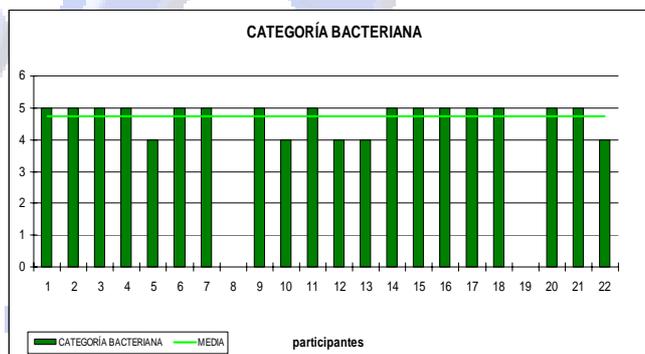


Figura 4. Abundancia de bacterias filamentosas (categoría numérica) para cada uno de los participantes, así como la media y varianza calculadas. Ningún participante descartado.

A continuación, en las Tablas 5 y 6, se recogen los resultados referentes a "otros procedimientos de cuantificación de organismos filamentosos".

Debido a las divergencias de resultados en esta técnica, durante este ejercicio, se ha enviado el procedimiento de conteo elaborado por el profesor Humbert Salvado, de la Universidad de Barcelona, expuesto durante las V Jornadas de Transferencia de Tecnología sobre el Fango Activo, realizada en Sevilla en Octubre de 2008.

Procedimiento simplificado de la técnica:

*Volumen: 25 microlitros cubiertos por cubreobjetos 20*20*

Objetivo: se cuentan los cortes de filamentos con el ocular de 400x

Nº réplicas: 2-4 veces

Durante el ejercicio se ha detectado un error en las hojas de trabajo, en las que se indicaba que el volumen de conteo para m/mL de filamentos era 50 microL. Este error quedo subsanado con un correo informativo con fecha 12/3/09 a todos los participantes, indicando el error detectado y aclarando que el volumen de conteo es de 25 microL.

Los participantes 3, 5 y 11, han realizado el conteo mediante la técnica de la cámara de Neubauer.

CUANTIFICACIÓN DE FILAMENTOS: Neubauer	
3	34874
5	353
7	344
Valor GBS	385
MEDIA	8989,0
VARIANZA	297792854,0
MEDIA CORREGIDA	361,0
VARIANZA CORREGIDA	464,0

Tabla 5 (I). Cuantificación de los filamentos de la muestra mediante la técnica de Neubauer. Descartado el participante 3

El dato del participante 3 se ha descartado por ser excesivamente alto. El valor medio obtenido por el resto de los participantes es de 361 m/mL

El 52% de los participantes empleó ambas técnicas propuestas. La técnica basada en el cálculo de los "m/mL filamentos" basada en cortes en el ocular de 400x y la técnica de "cortes con la diagonal".

El 41 % de los participantes no aportó ningún resultado en este apartado.



No se ha descartado ningún resultado al tratarse de técnicas, en estudio, aunque se han señalado en amarillo, aquellos resultados que difieren del 20 % de la media.

CUANTIFICACIÓN DE FILAMENTOS: INTERCECCIONES	
1	7,63
2	7,03
3	
4	19,47
5	10,43
6	10,5
7	8,97
8	
9	
10	
11	
12	5,31
13	7,48
14	
15	7,4
16	
17	
18	12,13
19	
20	
21	
22	5,75
MEDIA	9,3
VARIANZA	15,8

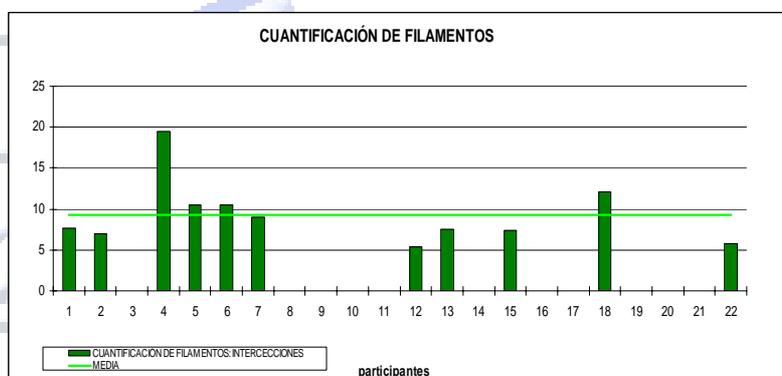


Tabla 5. Cuantificación de los filamentos de la muestra como "cortes con la diagonal".

Técnica de recuento mediante cortes en el ocular de 400x. El profesor Humbert Salvado, ha colaborado en este ejercicio, aportando, entre otros parámetros, un valor de referencia de m/mL de filamentos (Anexo VI), que para esta muestra ha sido de 269 m/mL.

No se ha descartado ningún resultado al tratarse de técnicas, en estudio, aunque se han señalado en amarillo, aquellos resultados que difieren del 20 % de la media.

CUANTIFICACIÓN DE FILAMENTOS	
1	191,67
2	176,72
3	
4	489,16
5	262,02
6	263,82
7	225,52
8	
9	
10	
11	344
12	133,43
13	188,06
14	
15	186
16	
17	
18	304,86
19	
20	
21	
22	144,47
H. salvado	269
MEDIA	244,5
VARIANZA	10066,3

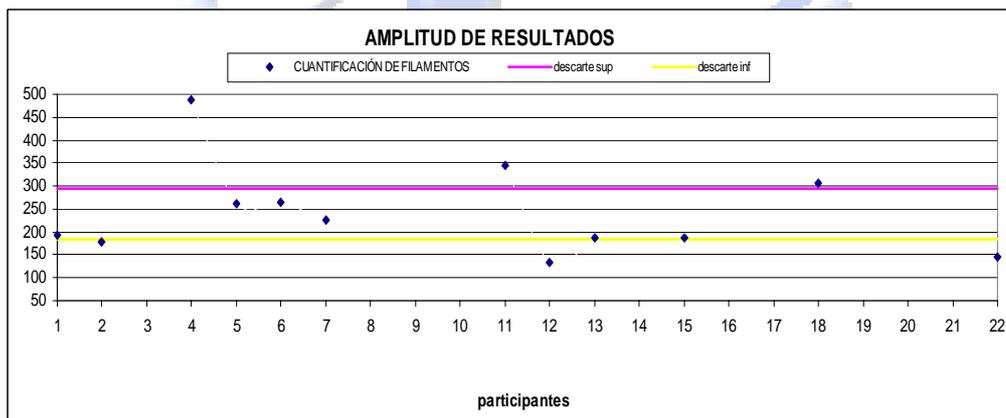
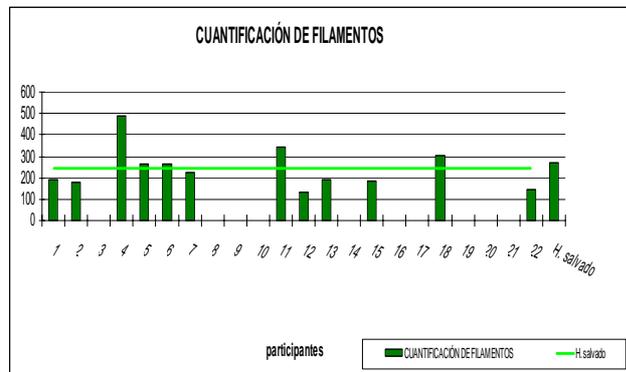


Tabla 6. Cuantificación de los filamentos de la muestra como "m/mL filamentos".

De los participantes que han quedado señalados por diferir en un 20 % de la media, podemos apreciar, que solo el participante 4, se encuentra visiblemente desviado tanto de los valores medios de los participantes, como del valor aportado por el profesor Salvado. Los participantes 11, 12, 18 y 22, se encuentran muy cercanos a los valores límites, como puede apreciarse en el gráfico de amplitud de resultados.

Instamos a todos los participantes a entregar resultados en el próximo ejercicio, ya que esta técnica parece presentar unas características prometedoras, para ser una técnica de conteo fiable y repetitiva, independiente del operador.



Se ha incluido en la hoja de cálculo una página Web, desde donde se puede descargar un programa de tratamiento de imágenes, para cuantificar MOF. Dicha información la aportó el Sr. Luís Borrás en las Jornadas de 2007 (se adjunta texto y presentación para aquellos participantes que estén interesados en profundizar en este aspecto). En ese sentido GBS ha solicitado un proyecto de I+D, para aplicar este tipo de programas a la valoración de bacterias filamentosas, a fin de disponer de una herramienta válida, de fácil uso y repetitiva, que nos permita detectar cambios sutiles en las poblaciones de bacterias filamentosas, presentes en nuestras EDAR y controlar con mayor eficacia los problemas de bulking.

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS FILAMENTOSAS

En las tablas siguientes se recogen las identificaciones realizadas por los participantes en cuanto a la población de bacterias filamentosas. También se detalla el número de especies identificadas por cada participante.

Se ha re-identificado el filamento dominante, para el participante 21, ya que las tinciones que han adjudicado al filamento dominante, se corresponden con *M. parvicella*.

PARTICIPANTE	FILAMENTO DOMINANTE	FILAMENTO SECUNDARIO	OTROS FILAMENTOS
1	M. PARVICELLA	T1701	H.HYDROSSIS, N. LIMICOLA, T1702 Y T0092
2	M. PARVICELLA	T1701, H. HYDROSSIS	N. LIMICOLA, T 1851
3	N. LIMICOLA	M. PARVICELLA	T0211
4	THIOTHRIX		T0914
5	M. PARVICELLA	T1701	T021N, T1851 Y T0092
6	M. PARVICELLA	T1701, H. HYDROSSIS	T021N, T0411, T0092
7	M. PARVICELLA	T021N, T0092	H. HYDROSSIS Y T 0675
8			
9	N. LIMICOLA	H. HYDROSSIS	T021N Y T1851
10	M. PARVICELLA	T0041	T021N, THIOTRIX, T0041, H. HYDROSSIS, N. LIMICOLA
11	M. PARVICELLA	T0042	T1701, H. HYDROSSIS, N. LIMICOLA, T 0092
12	M. PARVICELLA	H. HYDROSSIS	
13	THIOTHRIX	T1701	GALO, T021N
14	M. PARVICELLA	THIOTHRIX	T1701, T021N, T1863, T0041, H. HYDROSSIS, BEGGIATOIA, T0675, T1851, HONGOS, CIANOFICEA
15	M. PARVICELLA	T021N	H. HYDROSSIS Y T 0675
16	M. PARVICELLA	T021N	
17	M. PARVICELLA	T1701, H. HYDROSSIS	THIOTHRIX, N. LIMICOLA
18	M. PARVICELLA	T1701, H. HYDROSSIS	T021N, T0041, T0092, T1851, HONGOS
19	M. PARVICELLA	T1701, H. HYDROSSIS	T0041, T021N, T1851, T0914, T0092
20	M. PARVICELLA		
21	M. PARVICELLA	T1851	THIOTRIX, T0092, T1863
22	M. PARVICELLA	H. HYDROSSIS	GALO, T1701, T021N, T0041, N. LIMICOLA, HONGOS

Tabla 7. Filamentos dominante, secundario y "otros filamentos". Especies totales identificadas por cada participante. Se ha señalado en naranja el filamento dominante asignado por el participante 21, al modificar la identificación realizada, en función de las tinciones aportadas.

Nº TOTAL DE SP DETERMINADAS	
1	6
2	5
3	3
4	2
5	5
6	6
7	5
8	
9	4
10	7
11	6
12	2
13	4
14	12
15	4
16	2
17	5
18	8
19	8
20	1
21	5
22	8
MEDIA	5
VARIANZA	6,6

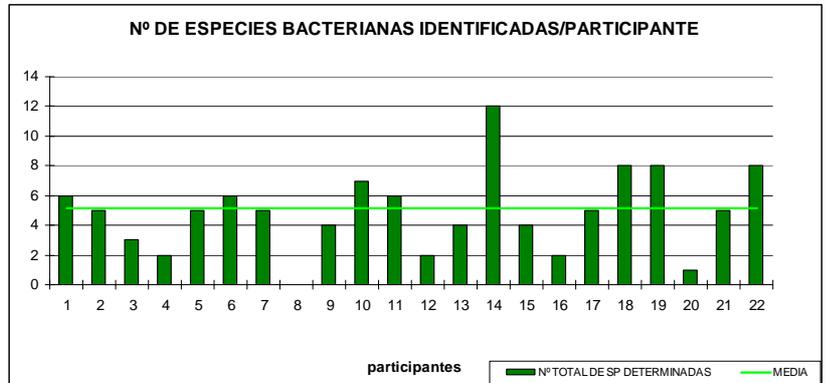


Tabla 8. Especies totales identificadas por cada participante. No se ha aplicado test de invalidación.

De la información recogida en la Tabla 7 se extrae que el filamento determinado mayoritariamente como dominante es *Microthrix parvicella*.

Dentro de los MOF determinados como secundarios han sido, en orden de mayor a menor frecuencia: *T1701* y *Haliscomenobacter hydrossis*.

En cuanto a los morfotipos pertenecientes a la categoría "otros filamentos", destacan: *T0041*, *T021N*, *T0092*, *T1851* y *T0914*

En el Anexo I están ilustrados los microorganismos recogidos en los partes de resultados de los distintos laboratorios.

Respecto al principal efecto del crecimiento filamentosos sobre la estructura flocular, las observaciones han indicado tanto "disgregación del flóculo" como "puentes interfloculares", así como esponjamiento moderado.

Como se expuso anteriormente, la categoría media de filamentos ha sido la 5, es decir, "más de 20 filamentos por flóculo".

El número medio de morfotipos determinados por los participantes ha sido de 5, con un máximo de 12 y un mínimo de 1 filamento identificado.

En la tabla 8 se representa la valoración de los filamentos en disolución. El filamento principalmente determinado ha sido *Microthrix parvicella*, definido por algún participante como madejas esporádicas, con categorías asociadas medias de 1-2 (Nivel medio de abundancia).

Otros organismos descritos en los espacios interfloculares son *Nostocoida limicola*, *Beggiatoa*, *T1701*, *Thiothrix*, *T021N* y *T0041*.

FILAMENTOS EN DISOLUCION		
	FILAMENTOS	CATEGORÍA NUMÉRICA
1	MICROTHRIX PARVICELLA	1
2		
3	NOSTOCOIDA LIMICOLA II	2
4	BEGGIATOA	1
5	T1701, MICROTHRIX PARVICELLA	0
6		
7	MICROTHRIX PARVICELLA	0
8		
9		
10		
11	MICROTHRIX PARVICELLA	0
12		
13	THIOTHRIX, T021N	2
14	MICROTHRIX PARVICELLA, BEGGIATOA, T0041	2
15	MICROTHRIX PARVICELLA	1
16		
17		
18	MICROTHRIX PARVICELLA	1
19		
20		
21		
22		0
MEDIA		0,9
VARIANZA		0,7

Tabla 8. Densidad de filamentos en disolución.

CARACTERIZACIÓN DE LA MICROFAUNA

- DENSIDAD TOTAL (PROTOZOOS Y METAZOOS)

El valor de densidad total, se obtiene a partir de las fichas de trabajo e incluyen grandes flagelados, amebas desnudas y testáceas, ciliados y metazoos, por lo que podemos hablar de la densidad total de la muestra.

En la figura siguiente se recogen los valores de densidad de microfauna estimados por los participantes. Han quedado descartados 4 participantes (3, 9, 12 y 13).

Ha sido necesario rehacer el dato de densidad aportado por el participante 3, ya que presentaba un error de cálculo. Se ruega la utilización de los archivos de Excel enviados, para facilitar los cálculos a todos los participantes y reducir errores por cálculos manuales.

DENSIDAD TOTAL (10 Exp6)	
1	4
2	4,22
3	8,08
4	4,34
5	2,26
6	2,78
7	3,76
8	
9	1,4
10	4,18
11	2,56
12	0,88
13	7,12
14	3,39
15	5,44
16	3,66
17	3,64
18	3,78
19	4,96
20	
21	3,12
22	3,04
MEDIA	3,8
VARIANZA	2,9
MEDIA CORREGIDA	3,7
VARIANZA CORREGIDA	0,7

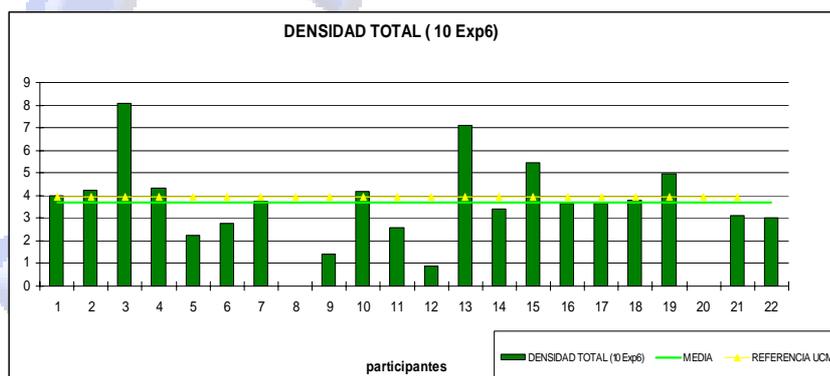


Figura 5. Densidad de microorganismos (protozoos y metazoos) para cada uno de los participantes. Descartado el participante 3, 9, 12 y 13.

La densidad media de la muestra asciende a $3,7 \text{ exp}^6 \text{ org/L}$. La densidad aportada por el grupo de la UCM es de $3,94 \text{ exp}^6 \text{ org/L}$. Ambos valores se encuentran en un intervalo muy cercano, tal como puede observarse en la figura 5. El 80 % de los participantes han aportado valores en este entorno.



ÍNDICE DE SHANNON (H)

El valor de Shannon, se obtiene a partir de las fichas de trabajo e incluyen grandes flagelados, amebas desnudas y testáceas, ciliados y metazoos, por lo que podemos hablar de la Índice de biodiversidad (H) total de la muestra.

En la Figura 6 se recogen los datos referidos al Índice de Shannon, el cual presentó un valor medio de 2,7 bits, lo que representa una muestra con biodiversidad media, con cierta homogeneidad en el reparto por densidades y estabilidad ambiental, que permite flujos adecuados de energía en el sistema.

El 90 % obtuvieron un H por encima de 2 bits, frente al 10 % que obtuvo una calificación inferior a este valor.

Los resultados aportados por el profesor Salvado indican un valor de diversidad de ciliados de 1,59 bits. Para poder comparar sus datos con los trabajados en este interlaboratorio, se ha incluido su parte de resultados (Anexo VI) en las hojas de trabajo, obteniendo un valor final de 2,62 Bits totales, para los protistas y metazoos incluidos en las hojas de trabajo estandarizadas. Dicho valor se presenta una gran similitud con el valor medio obtenido, tal como se aprecia en la figura 6.

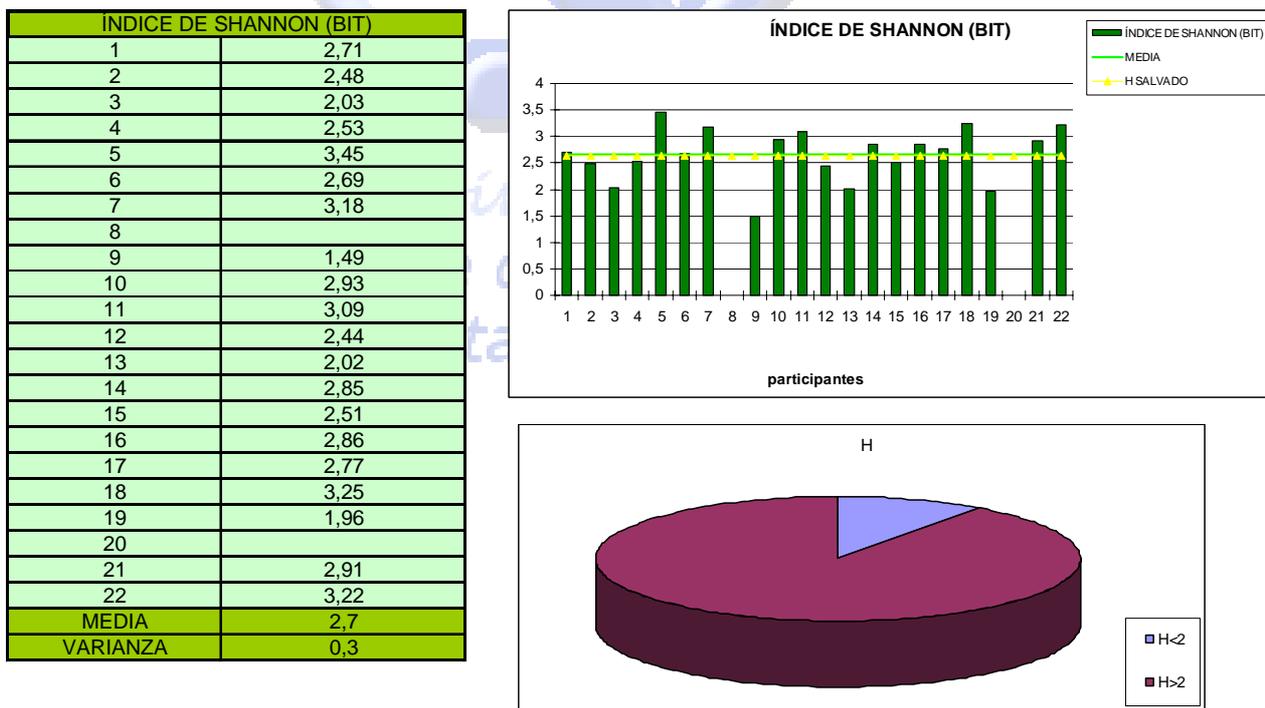


Figura 6. Índice de Shannon para cada uno de los participantes, así como la media y varianza calculadas.

ÍNDICE DE MADONI

En la figura siguiente se recogen las categorías numéricas definidas por el total de participantes, así como la clase asociada a cada una de ellas. El Test de invalidación descarta al participante 19.

Si se toma el valor medio numérico extraído del total de participantes, es decir un SBI de 8, la clase asociada sería: **Clase I.**

I Fango estable, bien colonizado y excelente actividad biológica. Muy buen funcionamiento.

Es necesario revisar la asignación realizada por los participantes 15 y 18. En la siguiente tabla queda subsanado.

Como se observa en la Figura 8, los SBI determinados se repartieron principalmente entre las Clase I y II, con valores comprendidos entre 10 y 6.

El análisis de esta situación se hará posteriormente, en el apartado de microfauna.

INDICE BIÓTICO: SBI		
	SBI	CLASE
1	8	1
2	8	1
3	8	1
4	6	2
5	9	1
6	8	2
7	9	1
8		
9	7	2
10	8	2
11	10	1
12	6	2
13	9	1
14	7	2
15	8	1
16	8	1
17	9	1
18	10	1
19	4	3
20		
21	9	1
22	9	1
MEDIA	8	1
VARIANZA	2,1	0,4
MEDIA CORREGIDA	8	1
VARIANZA CORREGIDA	1,3	0,2

Figura 7. Índice de Madoni (1-10) para cada uno de los participantes, así como la media y varianza calculadas. Descartado participante 19.

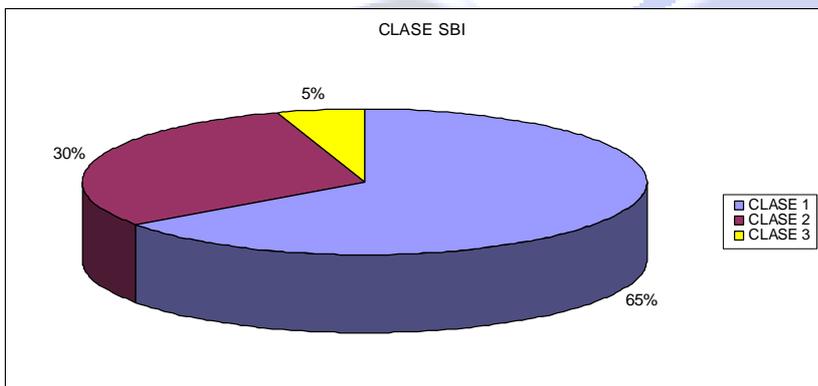
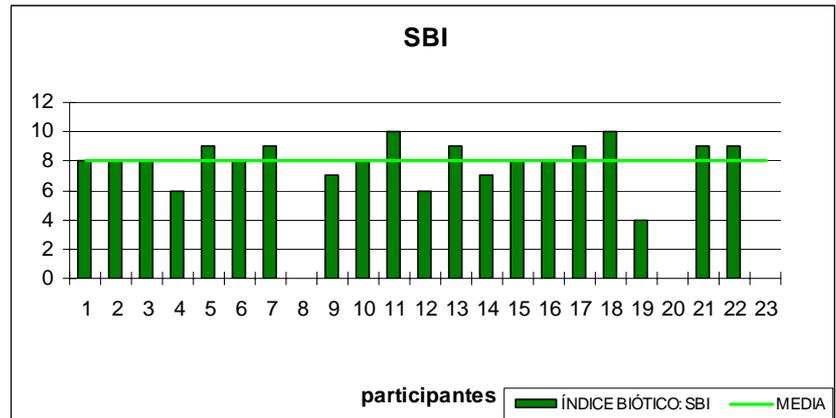


Figura 8. Clase Madoni (I-IV) definida por el total de participantes.

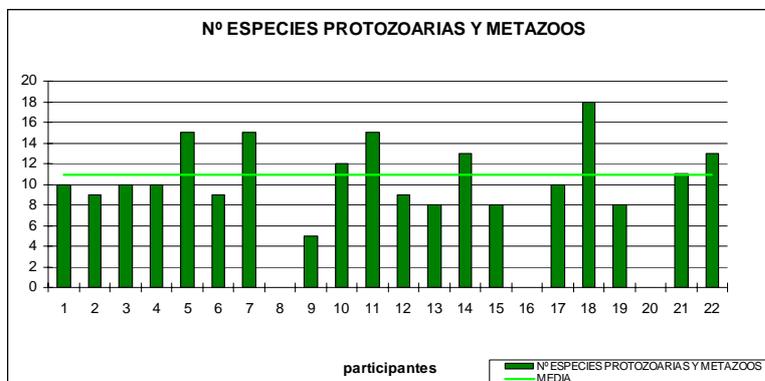
- N° ESPECIES DE PROTISTAS Y METAZOOS

La diversidad de especies presenta una media de 11 especies, que coincide exactamente con las especies observadas por el grupo de la UCM. El rango de diversidad de especies oscila entre 5 y 15 especies.

Si bien este parámetro depende de la experiencia del operador, se recuerda todos los participantes que aquellas valoraciones por debajo de nueve especies, se encuentran fuera de los límites mínimos.

Nº ESPECIES PROTOZOARIAS Y METAZOOS	
1	10
2	9
3	10
4	10
5	15
6	9
7	15
8	
9	5
10	12
11	15
12	9
13	8
14	13
15	8
16	
17	10
18	18
19	8
20	
21	11
22	13
MEDIA	11
VARIANZA	10,3

Figura 9. Número de especies de protistas y metazoos identificadas por cada uno de los participantes.



- GRUPO FUNCIONAL DOMINANTE (PROTOZOOS)

Como se puede observar en la Tabla 9, las densidades de población máximas se obtuvieron para los grupos de los *bacterívoros sésiles*.

Esta situación se analizará en apartados posteriores, sobre todo en cuanto a su implicación en la determinación de la estructura del ecosistema.

El participante 14, presenta como grupo dominante, los *bacterívoros sésiles* y las amebas desnudas. De cara a la aplicación del SBI, se ha mantenido el grupo funcional en *B. sésiles*.

GRUPO DOMINANTE	
1	BACT. SÉSILES
2	BACT. SÉSILES
3	BACT. SÉSILES
4	BACT. SÉSILES
5	BACT. SÉSILES
6	BACT. SÉSILES
7	BACT. SÉSILES
8	
9	BACT. REPTANTES
10	BACT. SÉSILES
11	BACT. SÉSILES
12	BACT. SÉSILES
13	BACT. SÉSILES
14	BACT. SÉSILES
15	BACT. SÉSILES
16	BACT. SÉSILES
17	BACT. SÉSILES
18	BACT. SÉSILES
19	BACT. SÉSILES
20	BACT. SÉSILES
21	BACT. SÉSILES
22	BACT. SÉSILES

Tabla 9. Grupo funcional dominante para cada uno de los participantes. Ajustado el participante 14, para su aplicación del SBI



- LISTADO DE ESPECIES DE PROTOZOOS Y METAZOOS

En la Tabla 10 se recogen, por grupos funcionales, las especies de protozoos y los grupos de metazoos observados por la totalidad de participantes.

Como se observa en la Tabla 10, se trata de una muestra de diversidad media en su conjunto (protistas y metazoos) (Figura 6), con un mínimo de 5 especies observadas y un máximo de 15 para los participantes más expertos (Figura 9), si bien las densidades parciales de muchas de ellas son considerablemente bajas.

El Profesor H. Salvado, puntualiza que dentro del grupo de protozoos ciliados, la diversidad debe considerarse como baja.

ESPECIES DE PROTOZOOS Y GRUPOS DE METAZOOS	
PEQUEÑOS FLAGELADOS	
GRANDES FLAGELADOS	ENTOSIPHON, PERANEMA
AMEBAS DESNUDAS	GIMNAMEBAS < 20 , GIMNAMEBAS 20 - 50, GRANDES AMEBAS
AMEBAS TESTACEAS	ARCELLA
HELIOZOOS	ACTINOPHRYS
CARNÍVOROS NADADORES	COLEP SP., LITONOTUS SP
CARNÍVOROS SUCTORES	TOKOPHRYA SP., ACINETA SP., PODOPHRYA SP.
BACTERÍVOROS NADADORES	GLAUCOMA, URONEMA, COLPODA SP, DEXIOTRICHIA
BACTERÍVOROS REPTANTES	ASPIDISCA, EUPLOTES, CHILODONELLA UNCINATA
BACTERÍVOROS SÉSILES	EPISTYLIS, COMPLEJO V. CONVALLARIA, COMPLEJO V. AQUADULCIS, THURICOLA, V. FROMENTELI, COMPLEJO V. MICROSTOMA, OPERCULARIA SP., COMPLEJO V. INFUSIONUM, ZOOTHAMNIUM SP., VORTICELLA SP.
METAZOOS	ROTIFEROS, NEMATODOS, ANELIDOS, GASTROTICOS

Tabla 10. Protozoos y grupos de metazoos observados por el total de participantes.

Como complemento, en la Tabla 11 se recoge el total de especies observado por cada uno de los participantes.

En el Anexo I se incluyen ilustraciones de algunos de los microorganismos presentes en la muestra.

ESPECIES OBSERVADAS	
1	<i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Thuricola</i> sp, <i>V. fromentelli</i> , <i>V</i> infusioinum, rotífero
2	<i>Coleps</i> sp, <i>Tokophrya</i> sp., <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Thuricola</i> sp, rotífero
3	<i>Coleps</i> sp, <i>Acineta</i> sp., <i>Aspidisca</i> sp, <i>Opercularia</i> sp., <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Thuricola</i> sp, nematodo, anélido
4	<i>Coleps</i> sp, nadador no identificado, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V. microstoma</i> , <i>Bac</i> sesil sp1, <i>Bac</i> sesil sp2, rotífero
5	<i>Entosiphon</i> , grandes amebas, <i>Arcella</i> sp., <i>Actinophrys</i> sp., <i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Euplotes</i> sp., <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> aquadulcis, <i>V. fromentelli</i> , <i>V</i> infusioinum, <i>V. microstoma</i> , rotífero, nematodo
6	<i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>Zoothamnium</i> , <i>V. convallaria</i> , <i>V</i> aquadulcis, sesil lorigado, <i>V. microstoma</i> , rotífero, nematodo
7	<i>Coleps</i> sp, <i>Podophrya</i> sp, <i>Colpoda</i> sp, <i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Reptante</i> no identificado, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, sésil sp1, sésil sp2, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum, rotífer, gastotrico
8	
9	<i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, rotífero, anélido
10	<i>Coleps</i> sp, <i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, Sésil sp1, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum, nematodo
11	Amebas de pequeño tamaño, <i>Arcella</i> sp, <i>Litonotus</i> sp, <i>Tokophrya</i> sp, Ciliado nadador no identificado, <i>Dexiotrichia</i> sp, <i>Aspidisca</i> , <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Thuricola</i> sp, <i>V. fromentelli</i> , <i>V</i> sp, rotífero
12	<i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Euplotes</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>TV. Campanula</i> , Sésil sp, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum
13	<i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Reptante</i> no identificado, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> sp1, <i>V</i> microstoma, rotífero, nematodo
14	Amebas de pequeño y mediano tamaño, <i>Litonotus</i> , <i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>V. campanula</i> , <i>V</i> sp, <i>V</i> infusioinum, rotífero, nematodo
15	Amebas de tamaño medio, <i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, rotífero, nematodo
16	<i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Acineta</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Vaginicola</i> sp, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum, rotífero, nematodo
17	<i>Arcella</i> sp, <i>Coleps</i> sp, <i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>Vaginicola</i> sp, <i>Thuricola</i> sp, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum
18	<i>Peranema</i> sp, Amebas de pequeño tamaño, <i>Coleps</i> sp, Ciliado nadador no identificado, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> sp1, <i>V</i> sp2, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>V</i> sp3, <i>Vaginicola</i> sp, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum, rotífero, nematodo
19	<i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Vaginicola</i> sp, <i>V. microstoma</i> , <i>V</i> infusioinum
20	
21	Grandes amebas, <i>Coleps</i> sp, <i>Uronema</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> aquadulcis, <i>Thuricola</i> sp, <i>V. fmicrostoma</i> , rotífer, anélido
22	<i>Coleps</i> sp, <i>Aspidisca</i> sp, <i>Epistylis</i> sp, <i>Vaginicola</i> sp, <i>V</i> convallaria, <i>V</i> sp1, <i>V</i> sp2, <i>V</i> sp3, <i>Vsp4</i> , <i>Vsp5</i> , <i>V</i> microstoma, <i>V</i> infusioinum, gastotrico, nematodo

Tabla 11. Especies observadas por cada uno de los participantes.



Grupo Bioindicación Sevilla
 Agente del Conocimiento
 Acreditado de Andalucía

- RELACIÓN DE PORCENTAJES DE PROTOZOOS

En la Tabla 12 se recoge la abundancia relativa de cada grupo funcional en el análisis de microfauna de cada participante.

Se han señalado en amarillo aquellos datos considerados anómalos, ya que divergen de los valores medios.

PORCENTAJES DE GRUPOS FUNCIONALES									
PARTICIPANTES	G FLAG (%)	AMEBAS (%)	A. TESTACEAS (%)	C. NADAD (%)	C. SUCTOR (%)	B. NADAD (%)	B. REPT (%)	B. SÉSIL(%)	METAZOOS (%)
1	0	0	0	2	1	0	14	82	1
2	0	0	0	5	2	0	26	65	2
3	0	0	0	1	0	0	11	87	1
4	0	8	0	8	0	0	10	74	0
5	3	3	9	0	0	5	17	58	5
6	0	0	0	0	0	0	13	84	3
7	6	0	0	8	1	10	7	65	3
8									
9	0	0	0	15	0	0	63	17	5
10	0	26	0	6	0	0	11	57	0
11	0	2	2	1	1	9	21	60	4
12	0	0	0	0	0	4	30	66	0
13	0	0	0	0	0	2	12	85	1
14	0	37	0	8	0	0	16	37	2
15	0	12	0	6	0	0	13	67	2
16	0	0	0	11	0	0	24	63	2
17	0	0	1	9	0	2	14	74	0
18	3	1	0	11	0	2	13	69	1
19	0	0	0	9	0	0	7	84	0
20									
21	0	1	0	2	0	1	11	84	1
22	0	0	0	5	0	0	15	77	3

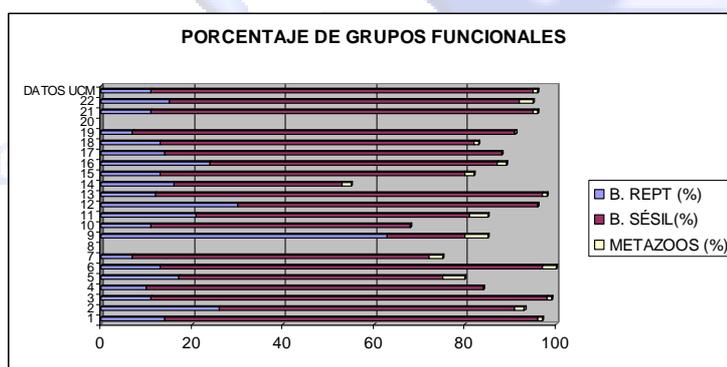
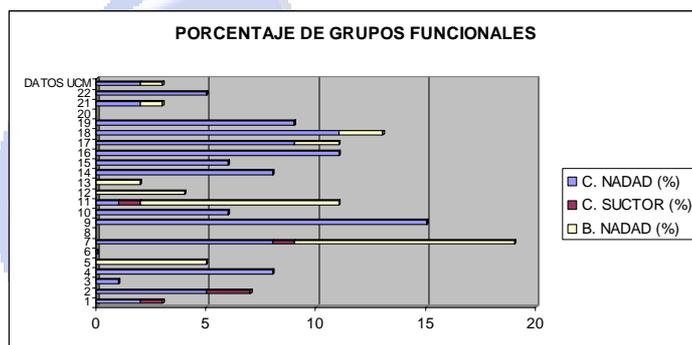
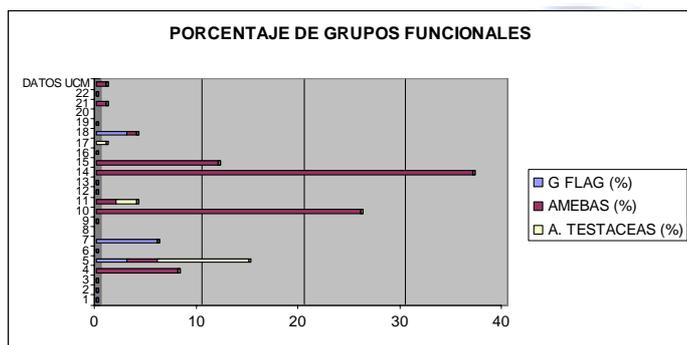


Tabla 12. Porcentajes de abundancia de los distintos grupos funcionales obtenidos por cada uno de los participantes. G. FLAG: grandes flagelados; AMEBAS: amebas desnudas; C. NADAD: carnívoros nadadores; C. SUCTOR: carnívoros suctores; B. NADAD: bacterívoros nadadores; B.REP: bacterívoros reptantes; B. SÉSIL: bacterívoros sésiles; METAZOOS: metazoos. Señalado en amarillo aquellos valores considerados anómalos

EVALUACIÓN FINAL DEL FANGO ACTIVADO

En los siguientes gráficos de sectores (figura 10) se ofrece un resumen de las categorías seleccionadas por los participantes en cuanto a las tres principales características que evalúan la *calidad de un sistema de depuración*. Es decir, la valoración de la calidad del fango, del agua de salida y de la estabilidad del sistema.

En resumen, las categorías medias extraídas son:

Parámetro	Categoría más frecuentemente seleccionada
Valoración calidad del fango	Situación intermedia. Bueno 61 %-Regular 39%
Valoración calidad del agua de salida	Buena 89%
Valoración estabilidad del sistema	Situación intermedia. Regular 53 %- Regular 47%

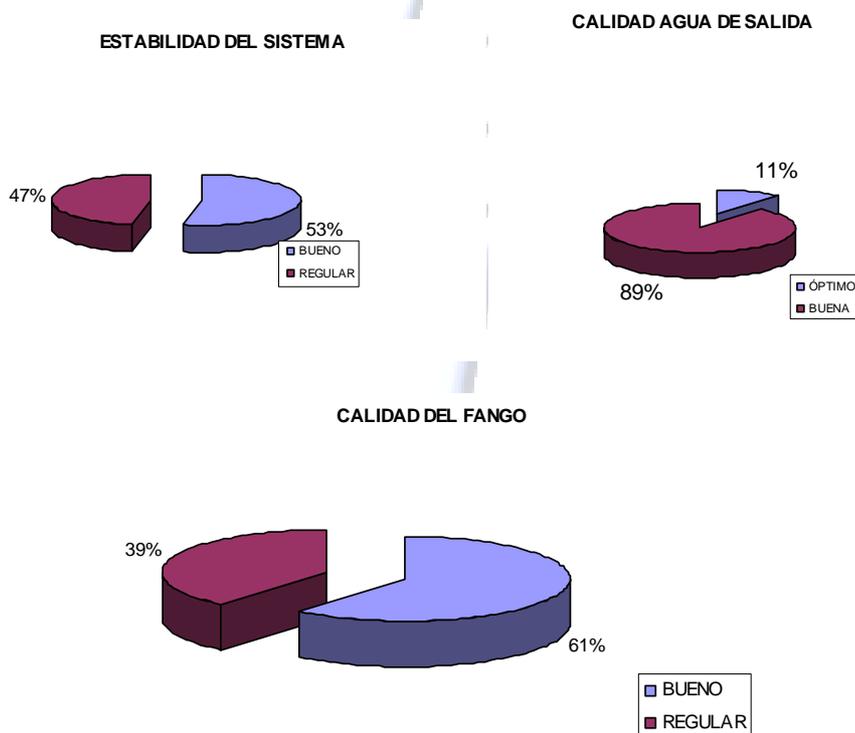


Figura 10. Reparto de categorías medias, para valorar la estabilidad del sistema, calidad del agua de salida y calidad del fango.

OTROS PARÁMETROS DE INTERÉS

En la Figura 11 (I y II) se recogen los resultados referentes al ensayo de sedimentabilidad en probeta (V_{30}), la concentración de sólidos en suspensión del licor mixto (SSLM), porcentaje de sólidos en suspensión volátiles (SSVLM) e índice volumétrico de fangos (IVF).

Tras aplicar el test de invalidación de datos se han descartado los siguientes participantes:

Ensayo de la V_{30} : descartado participante 13 y 15

MLSS: descartados participantes 15

% Materia Volátil: descartados participantes 3 y 13

IVF: Descartado participantes 10, 13 y 15.

PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	V_{30} (mL/L)	SSLM(mg/L)	% SSVLM	IVF (mL/g)
1	480	2196	61,9	218,58
2	610	2260	67	269,91
3	500	2420	95	206,6
4	570	2220	68	256,76
5	670	2126		315,15
6	560	2888	65	193,91
7	465	2427	60	191,59
8				
9	570	2080	61,54	274,04
10	360	2335	62,2	154,18
11	740	2600	62,5	284,62
12	800	2392	67,8	334,45
13	230	2720	94,1	84,56
14	380	1855	54	204,85
15	250	1670	65	149,7
16				
17	600	2580	60	232,56
18	640	2620	70	244,27
19				
20				
21				
22	490	2800		175
MEDIA	524,4	2364,1	67,6	223,0
VARIANZA	24537,1	106613,7	135,6	4076,8
MEDIA CORREGIDA	562,0	2407,0	63,5	243,0
VARIANZA CORREGIDA	14932,0	79600,0	18,5	2334,0

Figura 11 (I). V_{30} , IVF, SSLM y %SSVLM. Participantes descartados: 13 y 15 para el cálculo de la V_{30} , participante 15 para MLSS, participantes 3 y 13 para % de materia volátil y participantes 10, 13 y 15 para IVF

Los resultados medios de los datos aportados son:

Parámetro	Resultado
MLSS (mg/L)	2364
Porcentaje de Materia Volátil	68%
V30 (mL)	524
IVF (mL/g)	223

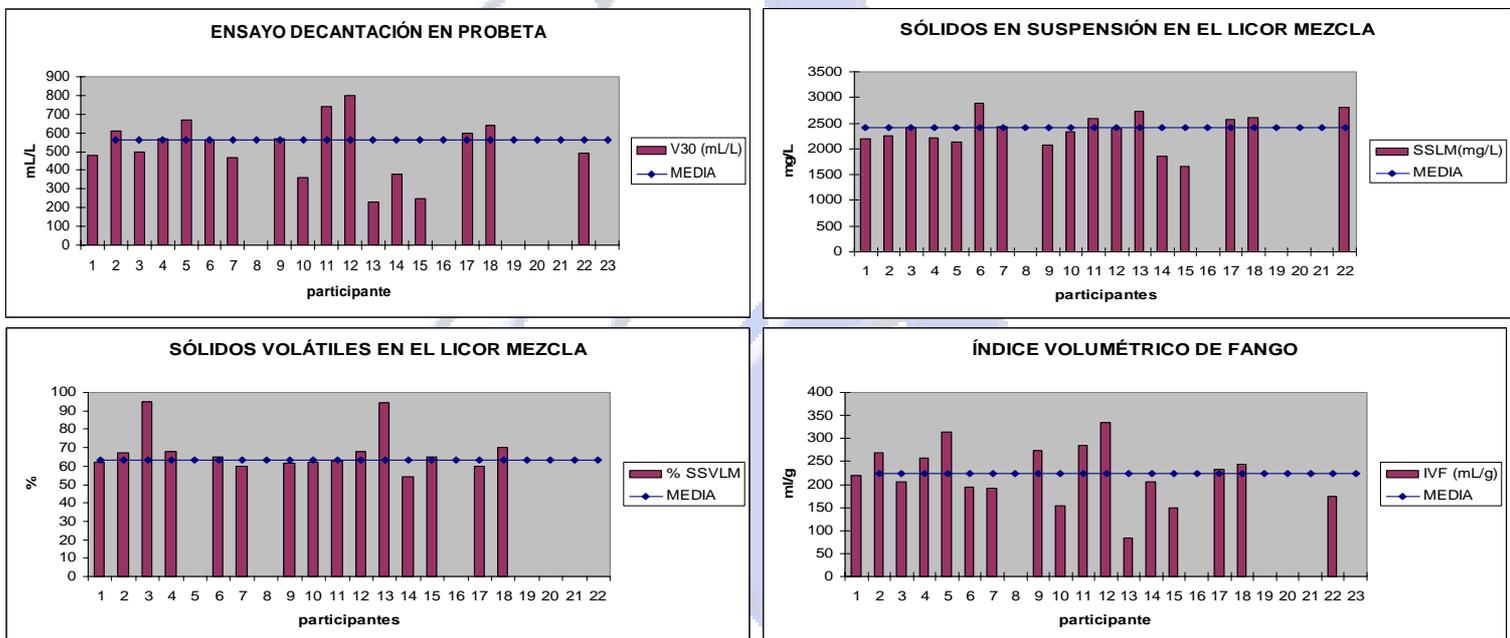


Figura 11 (II). V30, IVF, SSSLM y %SSVLM .

*Grupo Bioindicación Sevilla
Agente del Conocimiento
Acreditado de Andalucía*

Han aportado resultados de curvas de decantación 15 participantes. Se ha eliminado los resultados entregados por el participante 11, al realizar la curva de decantación sobre la V30 diluida al 50 %. Los participantes 13 y 15 habían sido previamente descartados en el estudio estadístico de la V30, sin embargo se han mantenido en la figura 11 (III), donde puede apreciarse la diferencia con el conjunto de curvas mayoritarias.

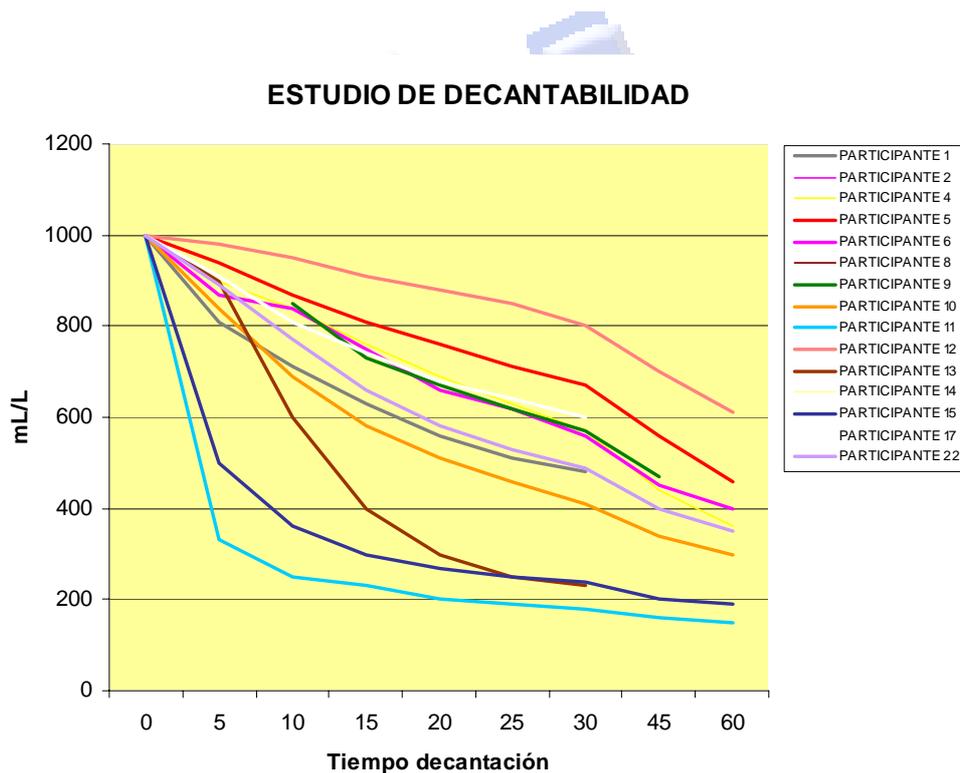


Figura 11 (III). Curva de decantación aportada por 15 participantes. Descartado el participante 11

El ensayo de V30 guarda relación con el volumen que ocupa 1 gramo de sólidos en un tiempo definido y se emplea en las EDAR, para disponer de una aproximación de las capacidades del fango, tanto de separación de fases, como de compactación. En condiciones de esponjamiento agudo no es posible visualizar la tendencia del sistema, mediante la V30 convencional. Para conseguir ver esta evolución es necesario aplicar el test de decantación con diluciones.

Teniendo en cuenta el alto nivel de V30 (524 mL), podríamos considerar conveniente realizar el test de V30 diluido. Por otra parte, teniendo en cuenta el nivel de MLSS de 2364 mg/L, junto con la categoría 5 de filamentos asociada, es previsible que no se produzca sedimentación en bloque, confirmándose un proceso de *bulking filamentoso*, tal como parece indicar el valor medio de IVF de 223 unidades.

Seis participantes han realizado el test de IVF diluido:

IVF DILUIDO						
PARTICIPANTES	V30 DE REFERENCIA	V30	DILUCIÓN 1:2	DILUCIÓN 1:3	DILUCIÓN 1:4	DILUCIÓN 1:5
2	610	160				
4	570	160	110	100		
5	670		180			
6	560	140	100	60	50	30
10	360		180			
12	800				200	
GBS	500	180	110			

Figura 11 (IV). Cálculo de las V30 diluidas. Señalados en naranja los valores de V30 cercanos y menores de 200 mL

Según Jenkins, D., Richard, M. y Daigger, G. (1993). *Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming*. 2ª Edición. Lewis Publishers. Michigan. **PROCEDIMIENTO PARA CALCULAR EL ÍNDICE VOLUMÉTRICO DEL FANGO DILUIDO** es necesario realizar diluciones, hasta conseguir una V30 cercana y menor de 200 mL. Salvo el participante 12, que ha utilizado una dilución 1:4 para conseguir un valor de V30 de 200, los participantes 5 y 10 han necesitado una dilución 1:2 y el resto de participantes (2, 4 y 6) han conseguido valores cercanos a 200 con una dilución 1:1, es decir al 50 %.

Calculando el IVF diluido según la formula:

$$I.V.F.D.ml / g = \frac{V_{30}ml / l \times 2^n}{S.S.g / l}$$

Siendo n el número de diluciones al 50% necesarias para obtener un V₃₀ menor de 200 mL., y S.S. la concentración de sólidos suspendidos en el fango activado sin diluir.

PARTICIPANTES	V30 DE REFERENCIA	V30 DILUIDA	IVF DE REFERENCIA	IVF DILUIDO
2	610	160 (1:1)	270	142
4	570	161 (1:1)	257	144
5	670	180 (1:2)	315	339
6	560	140 (1:1)	194	96
10	360	180 (1:2)	154	308
12	800	200 (1:4)	334	1338
GBS	500	180 (1:2)	217	156

Figura 11 (V). Cálculo de los IVF diluidos. Señalados en amarillo los participantes descartados

La Figura 11 (VI), muestra el proceso de decantación del fango diluido y sin diluir realizado por GBS.

DEANTACION	curva diluido
0	1000
5	750
10	640
15	530
20	420
25	280
30	180
45	160
60	160
RELACIÓN 0-10 MINUTOS	0,44
RELACIÓN 0-20 MINUTOS	0,70731707
RELACIÓN 0-30 MINUTOS	2

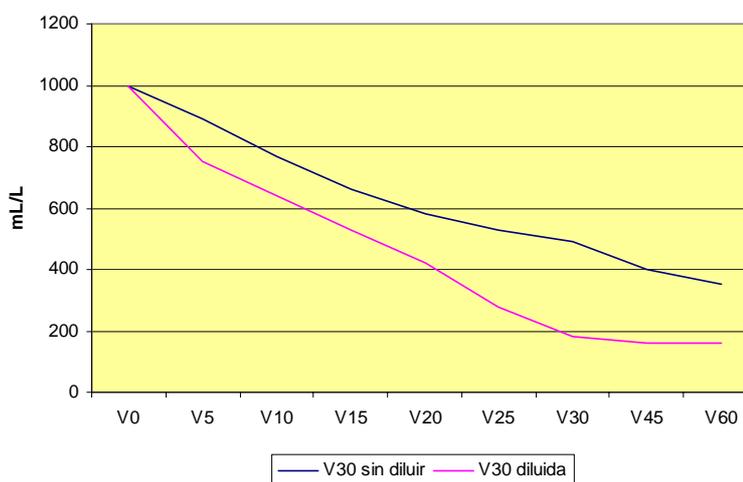


Figura 11 (VI). Curva de decantación de la V30, diluida y sin diluir. La decantación diluida toma un valor medio según el rango V30/20 mayor de 0,5.

El IVF obtenido tras diluir es de 198 mL./g, frente a los 223 mL./g obtenido sin diluir.

Teniendo en cuenta que Lee et al obtuvieron una correlación estrecha y consistente del IVFD y los parámetros que relacionan la velocidad de decantación del fango, la concentración de MLSS, el nivel de organismos filamentosos presentes en el fango activado, tras analizar los resultados, podemos predecir que parte del problema de decantación de estos fangos se debe a alto nivel de filamentos en el sistema, ya que el IVFD está por encima de 150 mL./g.



5. CONCLUSIONES

■ VALORES MEDIOS ESTIMADOS DE LA MUESTRA ANALIZADA

En la Tabla 13 se recogen los valores "medios" de los principales parámetros que definen la calidad de la muestra estudiada, extraídos entre el total de datos aportados por los participantes.

RESULTADOS MEDIOS ESTIMADOS DE LA MUESTRA	
ÍNDICE DE FANGO	66 (BUENO)
CATEGORÍA BACTERIANA	5
IDENTIFICACIÓN DE FILAMENTOS	<i>M parvicella</i>
CUANTIFICACIÓN FILAMENTOS (m/mL)	245
DENSIDAD TOTAL APROXIMADA (org/L)	3,7 (Exp6)
ÍNDICE DE SHANNON (Bits)	2,7
ÍNDICE DE MADONI	8
CLASE MADONI	CLASE 1: FANGO ESTABLE Y BIEN COLONIZADO
Nº DE ESPECIES ENCONTRADAS	11
GRUPO DOMINANTE	BACTERÍVORO SÉSIL
RENDIMIENTO SEGÚN MADONI	MUY BUEN FUNCIONAMIENTO. EXCELENTE CALIDAD BIOLÓGICA
V30 ESTIMADA (ml/L)	524
SSLM (mg/L)	2364
IVF	223

Tabla 13. Valores medios estimados de la muestra analizada a partir de los resultados obtenidos por el total de participantes.

Grupo Bioindicación Sevilla
Agente del Conocimiento
Acreditado de Andalucía

■ CONCLUSIONES DE CADA APARTADO

ÍNDICE DE FANGO

Nos encontramos ante una muestra bastante estable, en sus características macroscópicas. Los macroflóculos formados son generalmente de gran tamaño, diámetro $> 0,5$ cm, quedando el clarificado a los 30 minutos exento de turbidez y con escasos flóculos en suspensión. Se observa una leve capa cérea en superficie propia de bacterias filamentosas generadoras de espumas.

Los resultados obtenidos en cuanto a características macroscópicas indican:

La *turbidez* se ha calificado, como “Baja” al igual que los flóculos en suspensión, con una coincidencia de valoración por parte de los participantes del 95% y 81 % respectivamente, si bien se detecto ligeras espumas en la superficie de la probeta, valorada por uno de los participantes en 3 mL. La calificación generalizada ha sido de “muy buen clarificado”, con pocas bacterias dispersas.

En cuanto a la *sedimentabilidad*, la categoría “media” se ha asignado por el 57 % de los participantes. Como ya hemos podido comprobar en la tabla 3-II, la relación V10/V20/V30 define un rango de decantabilidad mayoritariamente medio, seguido de un 33 % cuyo índice se asocia a decantabilidad alta. La curva de decantación realizada sobre la muestra diluida y sin diluir (Figura II(VI)), presenta un índice de decantabilidad medio, en ambas ocasiones. Esta situación pone de manifiesto la influencia del crecimiento filamentosos en la decantación, ya que la reducción de MLSS al diluir, no ha modificado sustancialmente la relación V10/V20/V30.

Varios participantes han definido la decantación retardada, debido a la alta concentración de filamentos, sin llegar a generar problemas en el efluente.

El *olor* quedó definido mayoritariamente como “correcto” por el 95% de los participantes, aunque fue matizado con varias apreciaciones relacionadas con: olor a tierra, ligeramente mohoso, tierra mojada... Estas asignaciones pueden relacionarse con el alto grado de mineralización del sistema, visible en el color oscuro del fango y con un nivel de materia volátil en el sistema del 68 %.

El parámetro que ha presentado mayor dispersión ha sido la sedimentabilidad, frente al resto de características macroscópicas que han tenido coincidencias superiores al 80 % entre todos los participantes.

Atendiendo a las características "medias" extraídas de los datos aportados por los participantes, la muestra quedaría definida en cuanto a sus características macroscópicas de la siguiente manera:

Parámetro	Categoría más frecuente
Turbidez	Baja (95%)
Flóculos en suspensión	Baja (81%)
Sedimentabilidad	Media (57%)
Olor	Correcto (95%)

El valor medio obtenido para las características macroscópicas supone el 87 % del máximo valor posible, indicando buenas condiciones macroscópicas.

En cuanto a las características microscópicas, a modo de resumen, se recogen las categorías seleccionadas con mayor frecuencia por los participantes:

Parámetro	Categoría más comunes y frecuencia asociada (%)
Forma	Irregular (81%)
Tamaño	Medio (76%)
Estructura	Abierta (62%)
Textura	Fuerte (81%)
Cobertura	10-50% (95%)
Filamentos en flóculo	>20 filamento/flóculo (71 %)
Filamentos en disolución	Baja (86 %)
Diversidad protozoos	> 7 sp. (86%)

La estructura flocular (características microscópicas), presenta un ligero deterioro desde la toma de muestras hasta la fecha de análisis, visible en la liberación de bacterias a los espacios interfloculares, que se acusa a las 48 horas.

Los parámetros analizados han presentado, de forma general, alto nivel de coincidencia, tal como puede apreciarse en la tabla resumen.

La única característica que ha presentado mayor dispersión ha sido la estructura, calificada como media, por el 62 % de los participantes y abierta por un 33 %. Esta calificación guarda relación directa con el efecto realizado por el crecimiento de bacterias filamentosas sobre el flóculo.

La calificación generalizada del efecto del crecimiento de los filamentos en flóculo ha sido de disgregación, lo cual hace que parte de los flóculos se encuentren en una situación de estructura más abierta que otros. En el sistema coexisten varios tipos floculares, que se encuentran afectados por el crecimiento filamentosos en mayor o menor medida.

Han quedado recogidas algunas observaciones respecto a la formación de puentes interfloculares como potenciadores del enlentecimiento de la decantación.

El resto de categorías microscópicas han presentado niveles de concordancia superiores al 70 %. *Forma* "irregular" un 81% de los participantes, *tamaño* "medio" un 76%, *textura* fuerte para el 81 %, *cobertura* "10-50%" para el 95%, *Filamentos en disolución* bajos para el 71%, *Filamentos en flóculo* alta para el 86% y *diversidad de protozoos*, alta para el 86% de los participantes.

Los núcleos presentan alta densidad (anóxicos), muy mineralizados, asociado por los participantes a sistemas de oxidación total. El flóculo se encuentra formado por uno o varios núcleos de pequeño tamaño, sobre los que se ancla una estructura de filamentos, cubierta de bacterias y materia orgánica variable en su densidad. Se observa de forma común huecos que dan una estructura media al floculo así como una ligera desfloculación. Todos estos aspectos son compatibles con una correcta depuración.

Coexisten flóculos más densos, con estructuras más laxas. Dicha estructura, no afecta de forma importante a la textura, ya que se ha considerado mayoritariamente como fuerte, resistentes a la punción. El tamaño ha sido definido como medio (150-500 micras).

La diversidad de la muestra se ha considerado como alta en su totalidad.

El valor medio obtenido en las características microscópicas representa el 57 %, del valor máximo posible. Este dato pone de manifiesto una problemática a nivel microscópico, que no ha llegado a afectar a las condiciones macroscópicas. Sin embargo este hecho debería ser vigilado por el explotador, ya que manifiesta algún tipo de desequilibrio estructural.

El IF ha resultado con un reparto en categorías como sigue: 81% "Bueno" y 19% "Regular"(Figura 13), con un valor medio de 66 puntos sobre 100, lo que

le sitúa en el tramo medio/bajo de valores de la categoría "Bueno" (60-79 puntos), cercano a la categoría inferior ("Regular")

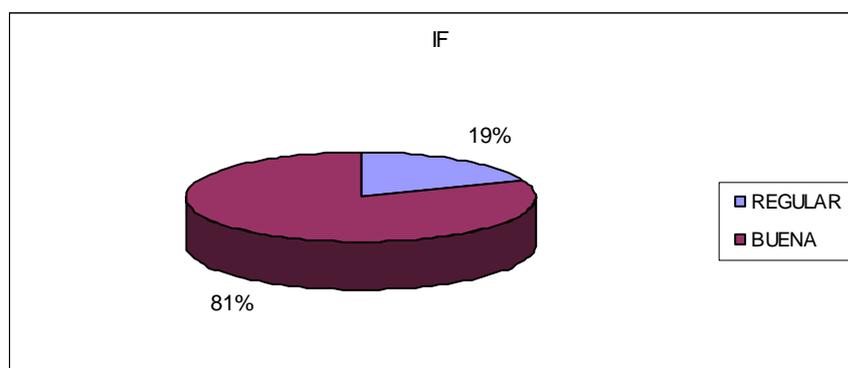


Figura 13. Reparto porcentual para el IF en la muestra

Finalmente, en el apartado "observaciones" incluido en la primera "hoja de trabajo", agradecemos a los participantes su colaboración.

Dichas observaciones han apuntado comúnmente hacia:

- Ausencia de "bacterias helicoidales" (Espirilos y Espiroquetas)
- Presencia/ abundancia de "fibras orgánicas"
- Presencia/Abundancia de "*Zoogloea* sp."
- Presencia de "partículas inorgánicas"
- Ausencia de "burbujas"
- "Color" marrón oscuro/pardo
- Fango esponjado y ligera capa cérea asociada a *Galo*.
- Presencia de algas clorofíceas y diatomeas
- Presencia de *Daphnias*.

Características como la abundancia de fibras orgánicas, partículas inorgánicas y el color, corroboran diversas apreciaciones referidas a la edad avanzada de este fango. Por otra parte la presencia de algas y otros organismos superiores hace suponer niveles de carga baja al reactor en un periodo anterior a la toma de muestra, corroborado por el bajo nivel de volátiles en el sistema.

El test de viscosidad realizado al fango muestra un grado medio/alto de la misma. La presencia de grandes cantidades de material exocelular en el fango

activo puede ser detectada por distintos métodos. De forma rutinaria realizamos la tinción del fango mediante Tinta India que, en el caso de reacción positiva, permite poner de manifiesto áreas del flóculo en las que las partículas de tinta no pueden penetrar, permitiendo visualizar las células rodeadas de material exocelular, rico en polisacáridos y proteínas. En este caso, aunque no nos encontramos ante un episodio de viscosidad en el fango o bulking viscoso, si se detecta una viscosidad moderada, posiblemente asociada a bajas cargas entrantes, combinadas con altas edades de fango, lo que provoca estrés nutricional, desembocando en la liberación de exopolímeros al medio.

DETERMINACIÓN DE FILAMENTOS

Respecto a los morfotipos filamentosos, se sitúan principalmente de forma intraflocular, con una categoría numérica de 5 (Filamentos en todos los flóculos en densidad alta), con una media de 245 m/mL de filamentos (Técnica de cortes en el ocular).

El efecto producido sobre el flóculo es mayoritariamente de disgregación, seguido de formación de puentes.

La muestra presenta una dominancia de *Microthrix parvicella*.

Como ya vimos en otro informe, dentro de las características fisiológicas del grupo “Candidatus *Microthrix parvicella*” se encuentra la posibilidad de usar ácidos grasos de cadena larga conocidos (LCFAs), como los ácidos palmítico y oleico, como fuente de carbono y energía, junto con nitrógeno reducido y compuestos de sulfuro para su crecimiento.

La alternancia de sistemas aerobios/ anóxicos/ anaerobios favorecen su crecimiento, al ser más competitiva que otras bacterias del fango activo.

Otra característica de su metabolismo es ser microaerofila, lo cual le permite crecer en condiciones bajas de oxígeno (< 1 ppm). Su rango de crecimiento óptimo se encuentra a temperaturas altas (25-30 °C). Finalmente, necesita cantidades pequeñas de sustrato para mantenerse y conservar las células vivas en momentos de baja carga influente al reactor.

Toda esta combinación de características fisiológicas favorece que sea más competitiva respecto al resto de bacterias que colonizan el sistema, a la hora de acceder al sustrato. A pesar de todo esto “Candidatus *Microthrix parvicella*” crece lentamente lo que implica que esta bacteria no puede mantenerse cuando se aplica una edad del fango baja.

Por todo lo anteriormente expuesto podemos deducir que el sistema opera con cargas másicas muy bajas (limitación de nutrientes) y altas edades de fangos.

Microthrix parvicella es muy común en sistemas de aireación con

intermitencias o influentes no estables en sus cargas orgánicas, por puntas de sobrecarga.

Aunque exista dominancia de un morfotipo filamentoso, debemos ser conscientes de la alta biodiversidad dentro de este apartado, llegándose a determinar hasta doce filamentos distintos.

Como filamento secundario se ha definido mayoritariamente *T1701* y *Haliscomenobacter hydrossis*.

Esta asociación confirma las condiciones ya citadas: Baja carga másica, deficiencia nutricional, alta edad de fango, que concuerda con la alta mineralización de la muestra y deficiencia de oxígeno.

Otros filamentos detectados (*N. limícola*, *T1702*, *T0092*, *T1851*, *T0211*, *T0041*, *T021N*, *T0914*, *T0675*, *Thiotrix*, *Galo*, *T1863* y *Hongos*), confirman un ambiente con posibilidad de inestabilidad, ya que mantiene ocupado distintos nichos que podrán proliferar según las condiciones imperantes.

En general el crecimiento filamentosos se ha asociado a deficiencia nutricional, baja carga másica, alta edad del fango, deficiencia de oxígeno o reparto deficiente, nitrificación incompleta y la posible presencia de septicidad por reboses. Varios participantes han planteado la posibilidad de influentes poco cargados con entradas puntuales altas.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente dicho (alta densidad y diversidad de bacterias filamentosas), sin embargo, los participantes no han calificado la muestra como “*bulking filamentoso*” al considerar que en el punto actual el sistema está controlado.

DENSIDAD Y DIVERSIDAD DE PROTOZOOS

En líneas generales, la muestra podría definirse como diversa (Se han descrito una media de 11 especies distintas por participante y un total de 34 especies y/o grupos (según la profundidad taxonómica empleada), para el conjunto de todos los participantes.

La diversidad parcial de protistas ciliados se califica como más bien baja. La densidad de población alta ($3,7 \times 10^6$ ind/L) en su conjunto debe matizarse. Existen muchas especies presentes, con densidades de aparición bastante bajas. Las amebas, carnívoros nadador, carnívoro sésil, ciliados nadadores y metazoos, aportan a la densidad total en torno a un 1-5 % cada uno.

En total los grupos funcionales anteriormente citados suponen el 16 % de la densidad total, con un total de 20 especies y/o grupos, frente a un total de 34 especies y/o grupos totales, identificados por el conjunto de los participantes. Esta relación supone que el 59 % de las especies y/o grupos identificados solo



representan el 16 % de la densidad total y el 38 % de las especies y/o grupos restantes, (englobados en los grupos funcionales de ciliados reptantes y sésiles), suponen el 84 % de la densidad total. Podemos hablar de un ambiente sectorizado. Esta apreciación ha sido recogida por los participantes calificando el grupo de los bacterívoros sésiles como dominantes.

El Índice de Shanon presenta valores de biodiversidad intermedios (2,7 bit), es decir, existe una buena biodiversidad, aunque la mayoría de las especies presentan una densidad de población escasa, como ya hemos visto. El 90 % de los participantes han obtenido un Índice de Shanon entre 2-3 bits.

Presumimos que el sistema presenta unas características definitorias con cierta estabilidad previa al muestreo, para permitir un apreciable nivel de biodiversidad (ocupación de numerosos nichos del sistema), aunque los nichos se encuentren ocupados a bajas densidades debido a condiciones limitantes.

El SBI obtenido mediante el grupo de los bacterívoros sésiles, indica fango estable, bien colonizado y excelente actividad biológica. Muy buen funcionamiento. SBI 8, Clase I.

La comparativa de los tres índices indica buenas condiciones, si bien la calificación del IF y de H, con valores medios, frente al SBI con resultados óptimos, indica una muestra con cierto riesgo de deterioro.

Respecto al reparto de grupos funcionales, la muestra se encuentra ampliamente distribuida entre todos los grupos funcionales, destacando el alto porcentaje de ciliados sésiles, frente a la poca variedad y densidad de otros grupos funcionales como puede apreciarse en la figura 14.

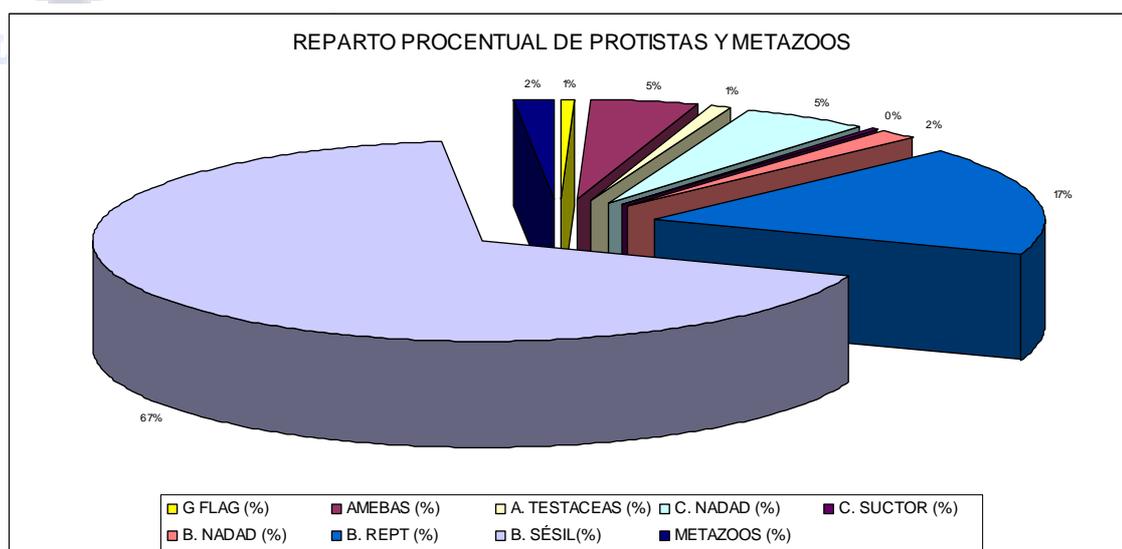


Figura 14. Reparto porcentual para protistas y metazoos en la muestra

Las ideas aportadas por los participantes en función de las especies de microfauna identificada han sido:

- Alta edad del fango
- Baja Carga másica
- Procesos de nitrificación no controlados y/o incompletos
- Coexistencia de distintos estadios de proceso: inestabilidad en los niveles de oxigenación.
- Indicadores puntuales de desestabilización.
- Escasa biodegradabilidad
- Ciclos de actividad variable.

Los principales grupos de organismos observados y notas sobre su morfología quedan descritos en el Anexo V, realizado por el grupo de la UCM.

■ CONCLUSIONES GENERALES

Las presentes conclusiones se han obtenido como compendio de las observaciones realizadas por los distintos participantes.

Se ha solicitado resultados físico-químicos (DQO, DBO, N y P total y soluble, ya que los porcentajes de fracciones solubles son muy importantes para valorar las deficiencias nutricionales) a la EDAR, para poder contrastar con las observaciones biológicas. La tabla completa aportada por la EDAR, pueden consultarlas en el anexo respirométrico.

- *Comparativa de índices biológicos aplicados:*

Índice	Categoría más comunes y frecuencia asociada
IF	Bueno (65)
Categoría numérica de Filamentos	5 (>20 filamentos/por flóculo)
H	2,7 bit
SBI	8. Clase 1 (Fango estable, bien colonizado y excelente actividad biológica. Muy buen funcionamiento)

- Valoración de la calidad y estabilidad del sistema

Nunca debemos olvidar que la información que conseguimos desde nuestra visualización a través del microscopio, pone de manifiesto las conexiones de todo el ecosistema y los índices aplicados muestran distintas parcelas del sistema. Nuestra interpretación debe estar encaminada a encajar estos distintos valores de forma que obtengamos una estructura real del mismo.

La valoración de la calidad y estabilidad del sistema, ha sido abordada por los participantes desde distintos frentes. Para algunos ha pesado mayoritariamente la estructura flocular y el crecimiento de bacterias filamentosas y para otros las poblaciones protozoarias. Es por ello que salvo la calidad previsible del agua de salida que ha sido calificada mayoritariamente como Buena (89 % de los participantes) e incluso como óptima (11 %), debido en gran medida a la baja turbidez del clarificado de la V30, el resto de valoraciones (calidad del sistema y del fango) han presentado una situación intermedia.

La calidad del fango se ha repartido mayoritariamente entre el 61 % calificado como bueno y el 39 % como regular. Igualmente la estabilidad del sistema se ha valorado por un 53 % como bueno y el 47 % como regular.

La comparativa de los índices biológicos aplicados muestra como la población protozoaria se asocia a una calidad biológica buena, con un índice de Shannon en categoría intermedia (Valor entre 2 y 3) y un IF de categoría bueno.

Esta primera aproximación nos lleva a pensar en un sistema de oxidación total, estable, con muy buenos rendimientos de depuración y alta calidad del efluente.

Al valorar de manera más exhaustiva el IF, nos encontramos con un valor de categoría bueno, pero cercano a su límite inferior (categoría regular). La clave, nos viene al separar el estudio de las características macroscópicas y microscópicas.

Lo primero que nos llama la atención es, que tal como vimos anteriormente, las características macroscópicas presentan unas condiciones bastante buenas, salvo los valores obtenidos de IVF, que junto con la categoría asignada de bacterias filamentosas (Valor 5), han hecho pensar a varios participantes en los posibles riesgos de aumento del IVF, si no se controlan las condiciones de aparición del filamento dominante.

Teniendo en cuenta que *Microthrix parvicella*, soporta bien las alternancias de oxigenación y descartando un sistema específico de eliminación



de nutrientes, las condiciones operacionales encaminadas a limitar el crecimiento de este filamento, se han definido como control de los niveles de oxigenación del sistema, encaminados tanto a la estabilidad del nivel medio de ppm de oxígeno, como a aumentos del mismo.

El control de la oxigenación permitirá evitar procesos no controlados de nitrificación, eliminando nitritos en el sistema y limitando el crecimiento de *Microthrix parvicella*.

La tesis de alternancia de oxígeno en el sistema, viene avalada por la aparición de especies de protistas adaptadas a situaciones distintas, tal como se puede comprobar en el Anexo V. Se han identificado especies adaptadas a procesos de nitrificación como *Colpes hirtus* o *Aspidisca lynceus*, frente a otras especies características de buen funcionamiento pero en ausencia de nitrificación (*Pseudovorticella monilata*), e incluso *Vorticellas* asociadas a bajos niveles de oxígeno.

El reparto porcentual de protistas se encuentra dominado por los ciliados sésiles, en concreto del género *Vorticellas*, lo que ha llevado a pensar a algún participante en un proceso reciente de extracción de fangos.

El resto de bacterias filamentosas detectadas, apoyan estas circunstancias, así como presencia de sulfuros y desequilibrio nutricional (Baja biodegradabilidad).

Retomando la segunda componente del IF, las características microscópicas ponen de manifiesto algún tipo de alteración en el proceso de formación flocular. Como ya hemos visto, esta situación viene definida por el alto nivel de filamentos en la muestra, junto con situaciones de estrés nutricional, que afectan a la estructura y densidad del flóculo, que no llegan a dañar a la comunidad protozoaria de forma importante.

Varios participantes han hablado de un proceso envejecido y bastante inactivo, que necesita aumentar su capacidad depurativa, mediante la disminución de MLSS (aumento de la CM), para regenerar el sistema. Esta propuesta se ve refrendada por la proporción de sólidos en suspensión volátiles del licor mixto, con un valor medio del 68%, lo que indica una mineralización alta y por tanto una edad de fangos bastante elevada, alta fracción inerte en el sistema y agostamiento de los nutrientes.

Las condiciones operacionales operantes en el sistema, nos lleva a pensar en un influente, poco biodegradable y alternante en sus cargas, que junto con las condiciones mantenidas en el reactor por una relación alta concentración de MLSS frente a la fracción biodegradable de entrada, hace que se generen situaciones de estrés nutricional (Relación carga entrante biodegradable, respecto a la demanda de la biomasa).

La respuesta del flóculo a este tipo de estrés es generar una estructura más laxa y liberar material de reserva al entorno flocular, para poder disponer de mayor cantidad de nutrientes. Esta observación viene avalada por el nivel de viscosidad detectada en la muestra y la alta concentración de pequeñas amebas en los entornos floculares junto con la abundancia relativa de hongos.

Por lo tanto se define un leve proceso de desestabilización y degradación de la estructura flocular, que actualmente, no es problemático.

Por último, invitamos a los participantes a contrastar algunas de las conclusiones aquí presentadas con los datos recogidos en el estudio respirométrico (Anexo II).

6. CONSIDERACIONES PARA LOS PRÓXIMOS EJERCICIOS INTERLABORATORIOS

Una vez más, queremos agradecer la participación a todos los laboratorios que han intervenido en este primer ejercicio del circuito 2009. Especialmente, agradecer el esfuerzo a los que se han incorporado por primera vez y han tenido que invertir mayor esfuerzo para poder familiarizarse con las hojas de trabajo. A los participantes de ediciones anteriores, queremos felicitarles por el progreso conseguido.

En cualquier caso, si existe dificultad alguna en la determinación de alguno de los parámetros solicitados, los analistas deberán ponerse en contacto con nosotros para resolverla.

Con relación a las hojas de trabajo, agradecemos los mensajes recibidos indicando la utilidad de las mismas y la facilidad de los cálculos. Rogamos sean utilizadas por todos los participantes

Todas las observaciones al respecto, se incluirán en la versión de 2010, por lo que instamos a enviarnos comentarios al respecto.

Insistir en la necesidad de incluir todas las observaciones que consideren oportunas en las hojas de resultados, sobre cada apartado de la muestra.

La nueva técnica de conteo de filamentos presenta muy buenos resultados y no necesita ningún equipo adicional, por lo que solicitamos la realización del conteo de m/mL mediante esta técnica.

Recordar a todos los participantes que deben revisar los valores asignados en el IF, según las categorías de filamentos y los índices de decantabilidad obtenidos.

Como en ejercicios anteriores, queremos manifestar nuestro interés hacia todas las objeciones, desacuerdos u observaciones, que pudieran surgir en torno al presente informe, pues todas ellas serán tenidas en cuenta, así como felicitar a todos los participantes, por los buenos resultados obtenidos.

Saludos cordiales,

Grupo Bioindicación Sevilla



7. AGRADECIMIENTOS

A D. Juan Antonio Díaz, de la empresa IZASA, por su imprescindible asesoramiento técnico en microscopía óptica y su disponibilidad en todo momento.

A D. Emilio Serrano y D. Josep Xavier Sensada, de la empresa Surcis S.L., por el estudio respirométrico realizado y por el interés mostrado durante todo momento en el desarrollo del mismo.

A D^a Susana Serrano, Lucía Arregui, Raquel Liébana y Blanca Pérez-Uz, por la interesante información aportada sobre las especies de protistas presentes en la muestra.

A D. Humbert Salvado, por su inestimable colaboración e interesantes aportaciones sobre la estructura ecológica de la muestra.

A D. José Luís Alonso, por brindarse a dedicarnos su tiempo realizando los ensayos de viabilidad celular.

Nuestro agradecimiento al personal del laboratorio de la estación depuradora en la cual se tomó la muestra de fango activo que ha sido estudiada en este ejercicio, así como al personal de la EDAR industrial que aportó muestra, por su amable colaboración en todo momento.

Al personal de la EDAR Ranilla y EDAR Copero, por su ayuda al desarrollo de los ejercicios interlaboratorios. A nuestros colaboradores, socios de honor y empresas patrocinadoras, por el apoyo imprescindible prestado a GBS.

A todos los participantes, especialmente aquellos que se incorporan al circuito, por el esfuerzo realizado y por los comentarios y observaciones añadidos en el parte de resultados.

Por último insistir en nuestro agradecimiento a todo el elenco de colaboraciones, representado con especialistas de reputado prestigio que nos han brindado su tiempo y conocimientos para enriquecer este informe.

8 .BIBLIOGRAFÍA

- Curds, C. R. y Cockburn, A. (1970). Protozoa in biological sewage-treatment processes. I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated sludge plants. *Water Res.* 4, 225-236.
- Eikelboom, D. (2006). Identification and Control of Filamentous Microorganisms in Industrial Wastewater Treatment Plants. *Multi-Media Training CD*. IWA Publishing. ISBN: 1843390965.
- Eikelboom, D. H. (1975). Filamentous organisms observed in activated sludge. *Water Res.* 9, 365-388.
- Foissner, W. y Berger, H. (1996). A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater Biology* 35, 375-482.
- Grupo Biondicación Sevilla y A. Zornoza (2004-2005). Coleccionable de fichas sobre Microbiología del Fango Activo. *Tecnología del Agua* Octubre 2004-Enero 2005.
- Jenkins, D., Richard, M. G. y Daigger, G. T. (1993). Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming. WRC, Pretoria y USEPA, Cincinnati.
- Jenkins, D., Richard, M. G. y Daigger, G. T. (2004). *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming*. Lewis Publishers.
- Jiménez, C., Fernández, N., de la Horra, J. M., Rodríguez, E., Isac, L., Salas, D. y Gómez, E. (2001). Sistema rápido de estimación de los rendimientos en depuración de una E.D.A.R. en función de las características macroscópicas y microscópicas del fango activado. *Tecnología del Agua* 216, 40-44.
- 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 Res.* 28, 1, 67-75.
- Madoni, P. (1996). The Sludge Biotic Index for the Evaluation of the activated-sludge plant performance: the allocation of the ciliate *Acinertia uncinata* to its correct functional group. *Acta Protozoologica* 35, 209-214.
- Pagnota, R. y Tommasi, M. (1979). Applicazione di parametri biologici allo Studio del fenómeno del bulking. *Inquinamento* 21, 27-32.
- Tandoi, V., Jenkins, D. y Wanner, J. (2006). Activated sludge separation problems. Theory, Control Measures, Practical Experience. IWA Specialist

Group on Activated Sludge Population Dynamics. Scientific and Technical Report No. 16. IWA, London.

■ Warren, A. (1986). A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichida). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool)*. 50, 1, 1-57.

■ Wilén, B-M. y Balmér, P. (1999). The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.* 33, 391-400.



Grupo Bioindicación Sevilla
Agente del Conocimiento
Acreditado de Andalucía