

## ESTUDIO DE LABORATORIO SOBRE ALGAS AISLADAS A PARTIR DE AGUAS RESIDUALES URBANAS.

Velasco Díaz, J. L.", Alvarez Cobelas, M.", Colmenarejo Morcillo, J. M.",  
Bustos Aragón, A.\* & Parra Sánchez-Bravo, F."

### ABSTRACT

#### Laboratory studies on algae isolated from urban waste water

Several strains belonging to the genera **Chlorella**, **Scenedesmus** (Chlorophyceae) and **Oscillatoria** (Cyanophyceae) have been isolated from urban waste waters where they live as resting stages their culture, both in secondary treatment effluent of the same waste waters and in artificial media, has allowed us to know some of their autoecological preferences: thermal optima, nutrition, growth rates and so on.

### RESUMEN

Se han aislado diversas cepas de algas residentes como estadios quiescentes en aguas residuales urbanas y que pertenecen a los géneros **Chlorella**, **Scenedesmus** (Chlorophyceae) y **Oscillatoria** (Cyanophyceae). Su cultivo, tanto en medios artificiales, como en el efluente del tratamiento secundario de esa misma agua residual y en condiciones controladas de luz, nos ha permitido conocer algunas de sus preferencias autoecológicas: óptimos térmicos, tasas reproductivas, etc.

### INTRODUCCION

Desde 1979 venimos realizando, en el Centro de Investigaciones del Agua, estudios sobre Taxonomía y Fisiología de algas microscópicas que se desarrollan espontáneamente en las aguas residuales de La Poveda, población de 2.500 habitantes, aproximadamente, cercana a Arganda del Rey, Madrid.

El desarrollo del trabajo ha consistido, en primer lugar, en el aislamiento de las algas a partir del agua residual bruta, o bien, del efluente de su tratamiento secundario con lodos activos en una planta a escala de laboratorio. Posteriormente, dichas algas han sido cultivadas, en discontinuo, en medios sintéticos o en el propio efluente, con el fin de manetener, en este último caso, su buena adaptación a las caractens-

\* Centro de Investigaciones del Agua. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. La Poveda. Arganda del Rey. Madrid.

ticas físico químicas del agua residual. Este aspecto es especialmente interesante teniendo en cuenta que uno de los objetivos perseguidos es la utilización de las microalgas en tratamientos biológicos terciarios.

Los resultados obtenidos hasta el momento en esta última línea de trabajo, han sido objeto de otras publicaciones (VELASCO y col. y ALVAREZ y col., 1983).

Por otra parte, se ha procedido también a la purificación de *Oscillatoria amphibia*, en colaboración con el Centro de Investigaciones Biológicas (C.S.I.C.), aplicándose igual proceso a otras especies en un futuro.

En la presente ponencia, exponemos exclusivamente los resultados obtenidos en los cultivos sintéticos, relativos a la evolución de especies dominantes observadas, tiempos de duplicación, contenidos proteicos, influencia de las temperaturas de cultivo, etc.

## MATERIAL Y METODOS

Para los cultivos sintéticos se utilizaron dos tipos de medios: el Medio A para *Chlorella* de RODRÍGUEZ LÓPEZ (1976) y el Medio D para *Anacystis* de KRATZ & MYERS (1955).

Los cultivos se realizaron en matraces de 1 a 3 litros, con agitación por aire, a temperatura ambiente de laboratorio y con iluminación artificial por tubos fluorescen-

tes Sylvania Lifeline GroLux, F30W / TB / GRO. La intensidad de la luz en la superficie de los cultivos varió entre 6 y 8 K. lux. El Fotoperiodo fue de 15h. luz/9h, oscuridad.

El crecimiento de la biomasa de algas en los cultivos, se determinó mediante medidas de Densidad Óptica a 560 nm., con un espectrofotómetro Hitachi Mod. 101.

Los Tiempos de Duplicación, calculados en la fase de crecimiento exponencial de los cultivos, se determinaron según la metodología propuesta por SOROKIN (1973), basada en las medidas de Densidad Óptica.

La identificación de las microalgas se realizó por microscopía óptica, con un Invertoscopio Zeiss Mod. IM 35.

La determinación de los contenidos proteicos de las distintas algas analizadas, se hizo de acuerdo con el método propuesto por BRKFORD (1976).

Los análisis químicos se realizaron siguiendo la metodología analítica recomendada por Standard Métodos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla I se dan las características químicas principales del agua residual bruta, como una referencia general del ambiente físico químico a partir del cual se han ido desarrollando, en el tiempo, las distintas especies de microalgas.

TABLA 1.—Características químicas principales del agua residual bruta.

PARAMETROS (mg/l)	N° de datos	Máximo	Mínimo	Media
Conductividad ( $\mu\text{mhos cm}^{-1}$ )	40	6.944	1.408	2.253
Dureza Total 'F'	12	69,2	47,6	52,5
Oxig. disuelto	9	5,1	3,2	4,6
Sulfatos	11	425	340	368
Carbonatos	11	23	0	2,6
Bicarbonatos	11	524	354	479
Sílice	11	47	18	35,3
Calcio	10	189	123	162,7
Magnesio	13	53	0,3	31,7
Sodio	11	410	150	222,1
Potasio	11	41	17,2	26,2
Residuo seco 110°C	10	2.110	1,197	1,457
D.B.O. 5 a 20°C	16	470	31	195,6
N. kjeldahl	17	103	34,3	72,6
N.NH <sub>4</sub>	51	150	6,5	43,4
N.NO <sub>2</sub>	13	1,4	0	0,4
N.NO <sub>3</sub>	16	5,8	0,3	1,5
P. Total soluble	13	38,5	2,3	12,8
P.PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	14	26	2	8

En la Tabla II ayarece la comyosición media de macronutrientes principales, en el efluente del tratamiento secundario.

TABLA II.—Macronutrientes principales en el efluente del Tratameinto Secundario por lodos activos.

Parámetro (mg/l)	N.º de datos	Mínimo	Máximo	Media
P.PO <sub>4</sub> .....	15	6,3	16,5	8,0
N.NH <sub>4</sub> .....	15	0,0	51,0	7,8
N.NO <sub>2</sub> .....	15	0,0	33,0	4,5
N.NO <sub>3</sub> .....	15	5,0	82,0	24,0

De las especies mencionadas anteriormente, citamos a continuación las que han sido observadas por nosotros con una mayor frecuencia, no considerando aquí las que lo han hecho de una manera esporádica.

#### BACILLARIOPHYCEAE

*Nitzschia palea* (KG.)W. SM.  
*Nitzschia kutzingiana* HILSE.

#### CHLOROPHYCEAE

*Scenedesmus quadricauda* CHOD.  
*Scenedesmus dimorphus* (TURP.) KUTZ.  
*Scenedesmus acutus* MEYEN.  
*Chlorella succarophila* (KUGER) MIGULA.  
*Chlorella vulgaris* BEIJERINCK

#### CYANOPHYCEAE

*Oscillatoria amphibia* C. A. AGARDH.

Las especies que hemos citado, son un avance de nuestras observaciones en el tipo de agua residual concreto estudiado e irá siendo ampliado en un futuro.

En la Tabla III, figura la evolución temporal de distintas especies de microalgas, desarrollada en dos cultivos sintéticos, cuyos inóculos procedían de las algas que crecieron espontáneamente en el agua residual.

TABLA 111.—Evolución temporal de dos cultivos sintéticos de algas procedentes de aguas residuales urbanas.

		FEB. 83		ABR. 83		JUN. 83		JUL. 83
MEDIO 1	—	<i>Chlorella</i> sp	—	<i>Scenedesmus acutus</i>	—	<i>Synechocystis pevalekii</i>	—	<i>S. pevalekii</i> <i>Chl. vulgans</i>
Tiempo de duplicación				T = 3,6 d.				T = 1,7 d.
MEDIO 2	—	<i>Oscillatoria amphibia</i>	—	<i>Scenedesmus ovaltemus</i>	—	<i>S. ovaltemus</i> <i>Chl. vulgans</i>	—	<i>Chl. vulgans</i> <i>S. ovaltemus</i>
Tiempo de duplicación				T = 2 d.				T = 1,8 d.

Las diferencias mas importantes de los medios sintéticos, respecto del agua residual tratada, se refieren, obviamente, a su composición físico química y se pueden concretar en los siguientes puntos.

- Nitrógeno nítrico como Única fuente de nitrógeno. En el efluente, además de las formas de nitrógeno que aparecen en la Tabla II, existen otras formas de nitrógeno orgánico soluble procedentes de la degradación de las proteínas existentes en la materia orgánica de todas las aguas residuales urbanas.

gánica de todas las aguas residuales urbanas.

- La Única fuente de carbono es la procedente del CO<sub>2</sub> atmosférico introducido en los cultivos por la aireación. Por el contrario, el agua residual tiene una media de 479 mg/l de bicarbonatos, procedentes tanto del terreno calizo existente en la zona, como del CO<sub>2</sub> aportado por la descomposición aeróbica de la materia orgánica.

- La relación N/P, varía de 0.89 y 0,77 respectivamente, en los medios 1 y 2, a 3, en el efluente, considerando sólo el N. nítrico, o 4,5 si consideramos también las otras formas de N. inorgánico de la Tabla II.
- Otra característica diferencial, es la dureza elevada del agua del efluente: 50 °F de Dureza Total.

En función de todas estas características diferenciales y teniendo en cuenta la variabilidad de temperaturas en los cultivos, podemos explicar los cambios cualitativos observados en la sucesión de especies de los medios sintéticos (Tabla III), respecto a la que tiene lugar normalmente en las aguas residuales. A este respecto, destaca la presencia de la Cianobacteria *Synechocystis pevalekii* y de la Cloroficea *Scenedesmus ovalternus*, en los medios 1 y 2 respectivamente, en los que llegan a adquirir una dominancia prácticamente absoluta, no habiéndose observado su presencia, hasta el momento, en las aguas residuales.

Por el contrario, la Cianobacteria *Oscillatoria amphibia*, especie que se desarrolla abundantemente en el efluente del agua residual y claramente termófila, ALVAREZ COBELAS y col. (1983), desaparece paulatinamente del Medio 2 en que fue inoculada en Febrero de 1983, sin duda afectada por las temperaturas relativamente bajas existentes en aquel mes.

En la Tabla III, también se incluyen algunos datos típicos de la cinética de crecimiento de las especies dominantes en ambos medios sintéticos, pudiendo observarse una tendencia a la disminución de los Tiempos de Duplicación (T), en correspondencia al aumento de la temperatura ambiente.

A continuación, ofrecemos el resultado de los análisis de contenidos proteicos efectuados con tres de las especies dominantes en los cultivos:

ESPECIE	% de proteínas
<i>Oscillatoria amphibia</i> .....	52,5
<i>Synechocystis pevalekii</i> .....	49,5
<i>Scenedesmus ovalternus</i> .....	27,0

Los datos anteriores, indican claramente la mayor abundancia de contenido proteico en las dos especies de Cianobacterias.

## CONCLUSIONES

Los cultivos en medios sintéticos de algas procedentes de aguas residuales urbanas, se revelan como un sistema idóneo para realizar estudios de sucesión de especies de microalgas, inducidos fundamentalmente por los cambios térmicos habidos en dichos cultivos, dada su constancia en la composición físico química y en las condiciones de iluminación.

Se observa un mayor contenido proteico en las especies de Cianobacterias que en las Cloroficeas estudiadas.

Los Tiempos de Duplicación disminuyen paralelamente al aumento de la temperatura de los cultivos.

La elevación de temperatura favorece a las Cianoficeas, que tienen óptimos térmicos más altos.

Se hace preciso un seguimiento más frecuente si se desea explicar mejor la dinámica de la sustitución específica en las comunidades de algas aisladas a partir de aguas residuales urbanas.

## AGRADECIMIENTOS

A los compañeros del Centro de Investigaciones del Agua Angel Rubio, Victoriano Alario y Marina Rodríguez, por la realización de los análisis químicos.

Al Dr. Maximiano Rodríguez y a sus colaboradores Mana Luisa Muñoz y Mercedes Sánchez, por la determinación de los contenidos proteicos de las microalgas desarrolladas en los cultivos sintéticos.

A la Dr. Fernández del Campo por la realización de los trabajos de purificación de *Oscillatoria amphibia*.

## BIBLIOGRAFIA

- ALVAREZ, M. y Col. (1983). Impacto ambiental de los vertidos de aguas residuales urbanas 11.-Dinámica temporal de las algas del tratamiento terciario a escala de laboratorio. *Bol. Soc. Port. Hist. Nat.* (en prensa).

- ALVAREZ, M. y Col. (1983). Contribución al estudio autoecológico de *Oscillatoria amphibia* Ag. (Cyanophyceae). V Simposio de Botánica Cnptogámica. Murcia. En prensa.
- BRAKFORD (1976). *Annalitical Biochemistry*, 73: 248-254.
- KRATZ & MYERS (1955). Media D for *Anacystis*. *Am Jour. of Bot.* 42: 281-287.
- RODRÍGUEZ, M. (1964). Medio A para *Chlorella*. *Bol R. S. Esp. Hist. Nat.* (Biología) 63: 49.
- SOROKIN, C. (1973). *Handbook of Phycological Methods*. Edited by Janet R. Stein. Cambndge University Press. pp 331-338.
- VELASCO, J. L. y Col. (1982). Aspectos ecológicos y económicos de la depuración de aguas residuales urbanas. I Congreso Nacional de Protección de la Naturaleza y del Medio Humano. Madnd. En prensa.
- VELASCO, J. L. y Col. (1983). Impacto ambiental de los vertidos de aguas residuales urbanas. I.- Depuración integral con recuperación de nutnentes mediante Tratamiento Terciario Fotosintético con microalgas. *Bol. Soc. Port. Hist. Nat.* (en prensa).