



TÍTULO DEL TRABAJO

Análisis Microbiológico de las aguas residuales tratadas por un humedal artificial de tipo M.J.E.A.[?] en León.

TÍTULO RESUMIDO

Análisis Microbiológico de las aguas Residuales

NOMBRE DE AUTORES

Patricia Molleda*, Gemma Ansola y Estanislao de Luis

NOMBRE Y DIRECCIÓN DE LAS INSTITUCIONES

* Área de Ecología. Instituto de Medio Ambiente. Facultad de Ciencias Biológicas Ambientales. Universidad de León. Calle la Serna 58- 24007

NÚMERO DE TELÉFONO, FAX Y E-MAIL

Teléfono 987238001, FAX 987291409, Correo Electrónico degpmm@unileon .com.

FIGURAS Y TABLAS

2 tablas y 4 figuras.

Análisis Microbiológico de las aguas residuales tratadas por un humedal artificial de tipo M.J.E.A.[?] en León.

Patricia Molleda*, Gemma Ansola y Estanislao de Luis

Área de Ecología . Instituto de Medio Ambiente. Facultad de Ciencias Biológicas Ambientales. Universidad de León.

RESUMEN

Bustillo de Cea es una localidad situada al sureste de la provincia de León España. En este pueblo se ha implementado un sistema de depuración basado en un Mosaico Jerarquizado de Ecosistemas Artificiales (MJEA)[®], que combina un lagunaje convencional con un humedal artificial. Se tomaron muestras de agua en cuatro lagunas. Durante los periodo de verano y otoño se estudio la presencia y remoción de los microorganismos indicadores de contaminación fecal *E coli*, coliformes totales, *Clostridium* y huevos de helmintos. Se observo reducción de los microorganismos indicadores tales como coliformes totales y *E. coli* en este sistema de depuración y una mayor eliminación del número de microorganismo en el periodo de verano que en el de otoño.

PALABRAS CLAVES: *E.coli*,. Coliformes totales, *Clostridium*, *Trichostrongiloides* .

ABSTRACT

Bustillo de Cea is a locality placed at the south-east of the Leon`s province of Spain. In this town a system of purification has been implemented based on a Hierarchized Mosaic of Ecosystem Artificial (MJEA)[®], that combines a conventional lagoon with an artificial humedal. Water samples were taken in four lagoons. During the period of summer and autumn study the presence and removal of the indicating microorganisms of fecal contamination *and coli*, total coliformes, *Clostridium* and eggs of helmintos. It was observed reduction of the indicating microorganisms such as coliformes totals and *E. coli* in this system of purification and a greater elimination of the number of those microorganism in the period of summer rather than autumn.

KEYWORDS: *E.coli*,. Coliformes totales, *Clostridium*, *Trichostrongiloides* .

1.-INTRODUCCIÓN

Bustillo de Cea es una localidad situada al sureste de la provincia de León España. Es un núcleo de población que alcanza los 400 habitantes en verano, la actividad predominante es la agrícola, con cultivos de cereales como el trigo, centeno, cebada y maíz, y con pequeñas explotaciones ganaderas. En este pueblo se ha construido un sistema de depuración basado en un Mosaico Jerarquizado de Ecosistemas Artificiales (MJEA)[®], que combina un lagunaje convencional con un humedal artificial. Este sistema de tratamiento es experimental a escala real y ha sido puesto en práctica en este pueblo desde hace aproximadamente 4 años.

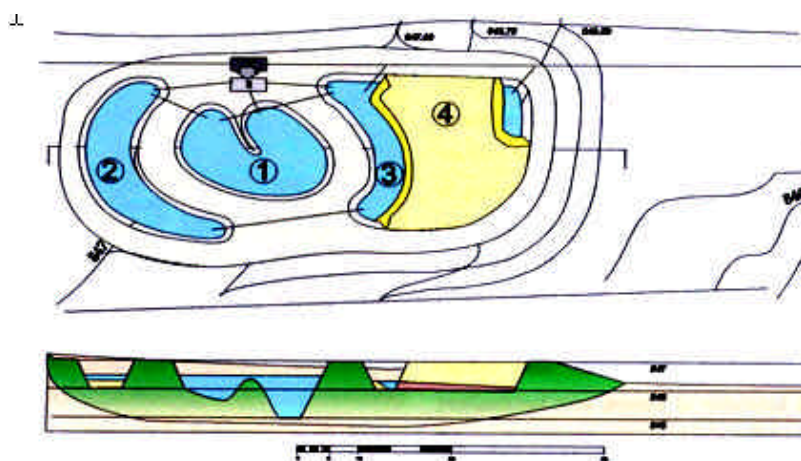


Fig 1.- Depuradora de Bustillo de Cea.

El agua de la población y de las explotaciones ganaderas de Bustillo de Cea entra al primer tanque donde se eliminan los elementos sólidos y el material en suspensión luego pasa a un

segundo compartimiento, aquí se retiene cualquier elemento sólido y partículas más pequeñas por sedimentación, desde aquí el agua pasa a la balsa 1 esta forma una laguna de 2 metros de profundidad que posee un ecosistema acuático con micrófitos de aquí, el agua, pasa a la balsa 2 que contiene una población de *Typha latifolia* con flujo superficial, las cuales contribuyen a la eliminación de la contaminación presente en el agua residual. Tras esta etapa, el agua pasa a la balsa 3, esta balsa esta constituida por plantas del tipo *Iris pseudacorus* con flujo superficial y *Salix atrocinerea*, con flujo subsuperficial, el efluente que sale de esta balsa es un agua ya depurada que se utiliza para riego agrícola (Rubio, R. 2003) .

Se realizó un análisis microbiológico durante el verano y otoño del 2004, analizándose la presencia de algunos microorganismos tales como: *E. coli*, Coliformes Totales, *Clostridium* y enterobacterias además también se analizó la presencia de huevos de helmintos con el fin de determinar la eficacia depuradora de este sistema.

2.-MATERIALES Y METODOS

Se tomaron muestras de agua en cuatro puntos del sistema. El punto 1: entrada al sistema (distribuidor), el punto 2: balsa 1 o balsa de micrófitos, el punto 3: balsa de *Typha latifolia*, y por ultimo el punto 4: el efluente que sale al río. Se tomaron 250 ml de agua de cada uno de los puntos, el análisis microbiológico fue realizado 6 horas después de tomar las muestras de agua. La determinación de *E. coli* y coliformes totales se realizó por filtración de membrana (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 1998) sembrando en medio de cultivo chromocult agar, medio selectivo para la detección simultanea de ambos microorganismos (Framton, E.W, 1998). El *Clostridium* se determinó por shock térmico sembrando en medio de SPS agar (Angelotti, R., 1962), Según api 20E-Biomerieux se identificaron las especies de enterobacteriaceas presentes en las diferentes lagunas. Para la determinación de los huevos de helmintos se tomaron 10 litros de agua residual de cada uno de los puntos de muestreo y se siguió el procedimiento de la organización mundial de la salud 1989, siendo observados en cámara de Mac Master.

3.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los muestreos realizados en verano (5 muestreos) y otoño (4 muestreos) del 2004 se estudió la presencia y eliminación de microorganismos indicadores de contaminación tales como *E. Coli*, coliformes totales, bacterias anaerobias como *Clostridium*, y huevos de helmintos.

En la tabla 1 se observa el número medio de microorganismos determinados durante el periodo de muestreo en verano en los cuatro puntos muestreados, y en la tabla 2, se observa el numero medio de microorganismo determinados en los mismos puntos de muestreo durante el periodo de otoño.

Se observan diferencias en la cantidad de organismos determinados entre los muestreos realizados durante los meses de verano y otoño. El número de organismos que aparecen en los diferentes puntos, sufre una reducción paulatina en función del nivel de tratamiento que sufre el agua, suponiendo una eliminación del 100% para *Clostridium* y un 69.23% para los huevos de helmintos durante los muestreos de verano (tabla 1), reduciéndose estos últimos en un 100% en otoño. (tabla 2).

La reducción de bacterias ha alcanzado el valor de 84,85 % para *E. coli*, y el 99,82 % para C.T.

Los géneros de helmintos encontrados durante los muestreos realizados en verano fueron: *Trichostrongylus*, *Coccidios* y *Trichuris*. Su cantidad fue escasa. *Trichuris* apareció en un número de 1 a 11 huevos por 10 litros de muestra y sólo ha aparecido en la balsa con *Typha*. *Coccidios* ha aparecido en el agua de entrada con 6 huevos por cada 10 litros de muestra, en la laguna de micrófitas con 3 huevos por cada 10 litros y en la balsa con *Typha* un solo huevo por cada 10 litros de muestra. En la muestra recogida en el punto de vertido del sistema al cauce fluvial, no se encontró ningún género de huevos de helmintos.



Fig. 2.- Foto del helminto del grupo de los *Trichostrongylus*

Trichostrongylus se ha encontrado en los cuatro puntos de muestreos aunque en la salida, la cantidad de huevos encontrada fue muy baja (4 huevos por 10 litros de muestra).

Tabla 1.- Número medio de microorganismos encontrados en las diferentes etapas del sistema de depuración durante el verano.

	Entrada	Laguna	Balsa <i>Typha</i>	Salida
<i>E. coli</i> UFC/100ml	2,00E+07	1,33E+07	1,82E+06	3,03E+04
Coliformes Totales UFC/100ml	3,76E+08	5,96E+07	4,52E+06	6,70E+05
<i>Clostridium</i> UFC/100ml	7	0	0	0
Huevos de Helmintos	13	16	15	4

Durante el otoño, la eliminación bacteriana ha alcanzado valores medios de: 99,90% de eliminación de *E. coli*, 99,89% para los C.T. y un 91,67% de eliminación de *Clostridium*.

Los helmintos encontrados durante los muestreos de otoño fueron: *Trichostrongylus* en el agua de entrada al sistema con 6 huevos por cada 10 litros de muestra, en la laguna de micrófitas con 3 huevos por cada 10 litros de muestra, en la balsa con *Typha* (6 huevos por cada 10 litros de muestra) además de 1 huevo de *Trichuris* en la misma cantidad de agua. En la salida no se encontró ningún huevo de helminto.

Tabla 2.- Número medio de microorganismos encontrados en las diferentes etapas del sistema de depuración durante el otoño.

	Entrada	Laguna	Balsa <i>Typha</i>	Salida
<i>E. coli</i> UFC/100ml	6,88E+07	5,40E+06	1,46E+06	7,06E+04
Coliformes Totales UFC/100ml	8,56E+07	3,94E+07	4,05E+06	9,15E+04

<i>Clostridium</i> UFC/100ml	12	2,15	1	1
Huevos de Helmintos	6	3	6	0

En la figura 1 y 2 se observa la evolución de *E. coli* y coliformes totales durante los muestreos de verano y otoño.

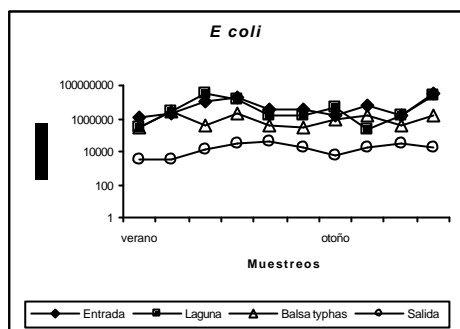


Fig. 3.- Evolución temporal de *E. coli* en la depuradora de Bustillo de Cea

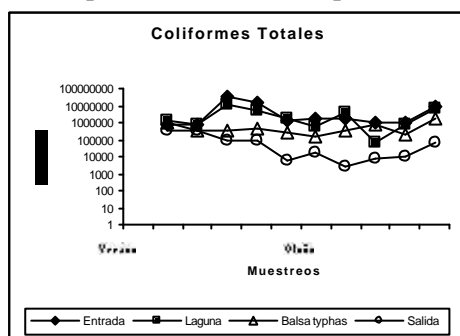


Fig. 4.- Evolución temporal de Coliformes totales en la depuradora de Bustillo de Cea

Utilizando Api20 E se ha identificado la enterobacteria *Proteus vulgaris* en todos los puntos de muestreo analizados siendo el punto de salida, el lugar de menos cantidad de la misma.

Se observa una relación positiva entre el aumento de la temperatura y el aumento del número de microorganismos presentes en las muestras. A temperaturas altas aumenta el oxígeno en la rizosfera y las raíces comienzan a exudar y a acumular la materia orgánica aumentando el crecimiento de los microorganismos. (Thurston. J. 2001).

La reducción de los microorganismos indicadores de calidad tales como coliformes totales y *E. coli* en este sistema de depuración, puede ser debido a factores biológicos tales como la depredación de los nematodos y protozoarios, la acción de lisis o ruptura celular de las bacterias causada por los bacteriophagos y por los factores químicos tales como las reacciones de oxidación, absorción y la exposición a las plantas y a las toxinas microbianas. Todos estos factores son mucho más activos durante el verano que durante el otoño.

4.- CONCLUSIONES

La eficiencia de este sistema de depuración para la eliminación de las diferentes bacterias es evidente al observar los resultados obtenidos en los muestreos realizados.

Aunque la temperatura se considera un factor que influye positivamente en el comportamiento y la eliminación de las bacterias, no se ha constatado en este experimento la relación directa entre estos parámetros.

La eliminación de huevos de helmintos ha alcanzado valores del 100% durante el periodo de otoño, no observándose esta eliminación total en verano, posiblemente debido a que la cantidad de huevos de helmintos de llegada al sistema se duplicaba en verano frente a los datos de otoño.

5.-REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

Angelotti, R., Hall, H.E., Foter, M.J., y. Lewis, K.M. (1962). *Quantitation of Clostridium perfringens in Foods. Appl. Microbiol.*,(10)193-199

Beerens, H., Castel, M.M., y Leclerc, H,(1961) *Contribution à l'étude des Milieux au sulphite de sodium pour l'isoelement des Clostridium. Ann. Inst. Pasteur Lille*,(12)183-193

Cortijo, R., (2003) *Eliminación de la contaminación acuática utilizando un Mosaico Jerarquizado de Ecosistemas Acuáticos*. Universidad de León. Facultad de cc. Biológicas y Ambientales. Departamento de Ecología, Genética y Microbiología. Instituto del Medio Ambiente.

Frampton, E., Restaino, L. y Blaszkó, L.(1988).*Evaluation of β glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indol- β -D-glucuronide (X-GLUC) in a 24 hour direct plating method for Escherichia coli. – J. Food Protection, (51); 402-404*

Kilian, M. y. Bulow, P.(1976). *Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. – Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B 84; 245-251*

Paymente, P. And Franco E. (1993) *Clostridium perfringens and somatic coliphagos as indicators of the efficiency of drinking water treatment for virusses and protozoan cysts. Appl. Environ. Microbiol.*.59(8):2418-2424.

Put, H.M.C (1961).*Sulphito-réduction et sulphito-sensibilité des Clostridia: considérations taxonomiques et pratiques. Ann. Inst. Pasteur Lille*,(12)175-181

Thurston, J. Gerba, C. Foster, K. Karpiscak, M. (2001). *Fate of indicator microorganisms, Giardia and Cryptosporidium in subsurface flow constructed wetlands. Wat. Res.* 35(6):1547-1551.