

Idoneidad de la citometría de flujo como herramienta para evaluar la eficacia del tratamiento de depuración de aguas residuales



M. ORRUÑO, A. MUELA, M.L. ALONSO*, D. PÉREZ-PASCUAL, I. ARANA e I. BARCINA
 Dptos. de Inmunología, Microbiología y Parasitología y de *Química Analítica
 Fac. Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco - Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa



e-mail: alicia.muela@ehu.es, maite.orruno@ehu.es, isabel.barcina@ehu.es

Calidad del efluente de una Estación de Aguas Residuales (EDAR)

SI Directiva 91/271/CEE (1) NO se contemplan

Parámetros físico-químicos:
 Automatización
 Inmediatez resultados

Parámetros microbiológicos (crecimiento):
 No automatización
 No inmediatez resultados

¿CITOMETRÍA DE FLUJO? (2)

Automatización
 Inmediatez
 Información bacterias viables no cultivables (3)

Objetivo

El objetivo de este trabajo es ponderar la validez de medidas microbiológicas cuasi inmediatas, vía técnicas citométricas, para valorar la eficacia del tratamiento de depuración; así como estudiar comparativamente la caracterización físico-química y microbiológica del agua residual.

Material y Métodos

Muestreo: Las muestras se recogieron en la EDAR de Crispijana (Vitoria) a lo largo del año, época cálida (21,4°C) y fría (12,1°C), antes de la entrada en el tanque de aireación (Agua decantada, AD) y tras el tratamiento secundario (Agua tratada, AT).

Caracterización microbiológica: Se determinaron las bacterias totales por microscopía (4) (BTM), bacterias totales mediante citometría de flujo (BTC), bacterias viables (5), bacterias heterótrofas (BHT) en agar extracto de levadura a 20 y 36°C (6), *Escherichia coli* (EC) y coliformes (7) y enterococos intestinales (EF) (8).

Caracterización físico-química: Se siguieron las especificaciones recogidas en el Real Decreto 2.116/98, la Directiva 91/271/CEE y el manual Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2006) (9).

Bibliografía

1. Directiva 91/271/CEE, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas
2. Shapiro H (2000) J Microbiol Methods 42: 3-16
3. Xu HS, Roberts N, Singleton FL, Attwell RW, Grimes DJ & Colwell RR (1982) Microb Ecol 8:313-323
4. Hobbie JE, Daley RJ & Jasper S (1977) Appl Environ Microbiol 33: 1225-1228
5. Joux F, Lebaron P & Troussellier M (1997) Appl Environ Microbiol 63:2686-2694
6. ISO 6222:1999
7. ISO 9308-3
8. ISO 7899-1:1998,
9. Real Decreto 2.116/98, de 2 de Octubre de 1.998 (BOE del 20 de octubre de 1.998)
10. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2006) American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation, Washington DC, USA

Agradecimientos

SAIOTEK SA-2005/00190 (Gobierno Vasco), UPV05/121 (UPV-EHU), CTM 2006-09532/TECNO (Ministerio de Ciencia y Tecnología), Marta Casado y Marta Pazos de EDAR Crispijana.

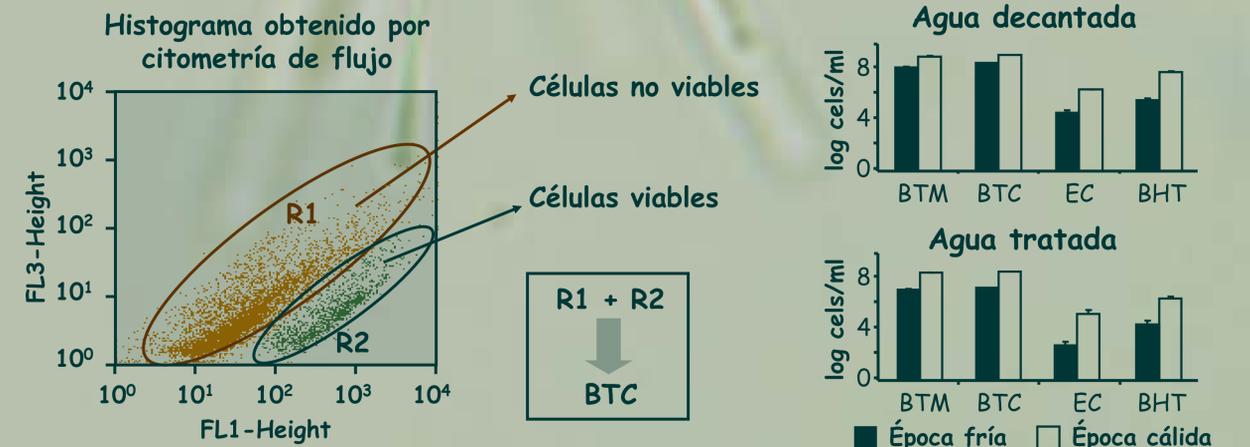
Resultados y Discusión

Las diferencias en los parámetros físico-químicos atribuibles al tratamiento del agua residual realizado en la planta son también observables en los recuentos microbiológicos. Así, las eficacias determinadas a partir de cada uno de los parámetros cuantificados, tanto físico-químicos como microbiológicos, no muestran diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p < 0.05$).

Parámetro	Época fría			Época cálida		
	AD	AT	Eficacia	AD	AT	Eficacia
DBO (mg/l)	92,27	12,18	87,58	155,00	5,25	96,85
DQO (mg/l)	189,42	49,67	72,71	231,75	42,63	81,00
Sólidos en suspensión (mg/l)	66,10	11,30	82,23	65,63	11,00	83,22
Sólidos sedimentables (ml/l)	0,48	2,75	-	0,28	0,11	77,64
Sol. no sedimentables (ml/l)	46,80	3,00	70,29	54,50	ND	-
Nitrógeno total (mg/l)	29,88	4,90	82,34	36,29	6,29	82,29
NH ₄ ⁺ (mg/l)	25,34	4,12	83,12	31,15	13,11	68,44
NO ₃ (mg/l)	2,48	40,63	-	ND	11,74	-
BTM/ml	5,43 · 10 ⁷	2,91 · 10 ⁶	93,73	9,79 · 10 ⁸	1,82 · 10 ⁸	81,29
BTC/ml	7,92 · 10 ⁷	3,91 · 10 ⁶	93,67	1,41 · 10 ⁹	2,43 · 10 ⁸	83,10
% viables	28,12	14,99	-	52,05	52,58	-
EC/100ml	2,23 · 10 ⁶	4,14 · 10 ⁶	96,85	2,50 · 10 ⁸	1,40 · 10 ⁷	94,28
EF/100ml	7,83 · 10 ⁵	1,6 · 10 ⁴	96,58	5,83 · 10 ⁷	3,12 · 10 ⁶	94,88
BHT 37°C/ml	2,23 · 10 ⁶	2,81 · 10 ⁴	98,50	6,23 · 10 ⁷	2,08 · 10 ⁶	92,07
BHT 20°C/ml	3,81 · 10 ⁶	3,85 · 10 ⁴	99,04	5,69 · 10 ⁷	6,53 · 10 ⁶	83,11

La monitorización del proceso mediante citometría de flujo es factible ya que **no se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las enumeraciones realizadas por microscopía y citometría**. La citometría de flujo permite una enumeración rápida y sencilla de células activas.

La comparación de los resultados obtenidos empleando técnicas basadas en la cultivabilidad y técnicas que no requieren el crecimiento muestra la importancia de las poblaciones **no cultivables** en las aguas residuales, tanto antes como después del tratamiento biológico y especialmente en la época cálida.



Conclusiones

- ✓ La eficacia de funcionamiento de las EDARs puede ser valorada indistintamente mediante análisis de parámetros microbiológicos o físico-químicos.
- ✓ La citometría de flujo se perfila claramente como una herramienta útil, fidedigna, rápida y de manejo sencillo para el recuento de la población bacteriana del agua residual en las EDARs.