

EVALUACION DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PLANTAS ACUATICAS (*E. Crassipes*, *Lemna* sp. y *L. Laevigatum*) EN LA REMOCION DE INDICADORES DE CONTAMINACION FECAL EN AGUAS RESIDUALES DOMESTICAS

Valderrama, L. T.,* Campos, C., ** Velandia, S. ** y Zapata, N. **

* *Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana, Carrera 7ª. No. 43-82, Bogotá, Colombia. e-mail: lvalderr@javeriana.edu.co*

** *Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana, Carrera 7ª. No. 43-82, Bogotá, Colombia. e-mail: campos@javeriana.edu.co*

RESUMEN

Se evaluó a escala de laboratorio el efecto de tres tratamientos con macrófitas acuáticas -*Eichhornia crassipes*, *Lemna* sp. y *Limnobium laevigatum*- y de un tratamiento con microalgas en la remoción de indicadores de contaminación fecal (Coliformes fecales, *Escherichia coli* y Colifagos somáticos) en aguas residuales domésticas. Se evaluó la posible relación entre los tratamientos, las variables fisicoquímicas asociadas a cada uno de ellos y la remoción de los indicadores fecales.

Los cuatro tratamientos removieron hasta 99% de Coliformes fecales y *E. coli* en 6 días, y no hubo diferencias significativas entre las macrófitas entre sí ni con las microalgas ($p < 0.05$) en cuanto a la eficiencia de remoción. La correlación entre amonio, fósforo y DQO con la remoción de indicadores bacterianos fue mayor del 50% en todos los tratamientos, pero la remoción no se pudo asociar a ningún tratamiento en particular. *E. crassipes* fue la especie más eficiente en la remoción de fagos (91%, a diferencia de 75% en los otros tratamientos) y esta remoción estuvo asociada a las mismas variables fisicoquímicas anteriores (60-90% de correlación).

Las macrófitas removieron en menor tiempo los indicadores bacterianos y *E. crassipes* fue la más eficiente en la remoción de fagos.

PALABRAS CLAVES

Contaminación fecal, indicadores, macrófitas, microalgas, tratamiento de aguas residuales.

INTRODUCCION

Los sistemas de tratamiento con plantas acuáticas son una alternativa eficiente y económica para el tratamiento de aguas residuales, debido a sus menores costos de construcción, operación y mantenimiento frente a los sistemas convencionales (Alaerts *et al.*, 1996; Haberl, 1999).

Sin embargo, su papel en la remoción de patógenos no es del todo claro. Se han obtenido porcentajes entre el 80 y el 99% de remoción de Coliformes Fecales y *E. coli* en algunos estudios (Gersberg *et al.*, 1989; Khatiwada & Polprasert, 1999; Gerba *et al.*, 1999; Gearheart 1992; Soto *et al.*, 1999; Williams *et al.*, 1995); pero en otros se ha encontrado que la eficiencia de sistemas con macrófitas es menor a la de las lagunas de estabilización convencionales (Dewedar & Bahgat, 1995; Reed *et al.*, 1988; Van der Steen *et al.*, 1998).

La remoción en sistemas con macrófitas se atribuye a procesos de sedimentación, adsorción y remoción de sólidos suspendidos y materia orgánica (Williams *et al.*, 1995). Sin embargo, no es clara la incidencia de las variables fisicoquímicas asociadas a la presencia de las plantas.

Por otra parte, los indicadores virales prácticamente no han sido evaluados en estudios con macrófitas, a pesar de que se consideran más adecuados para determinar la calidad del agua que los bacterianos (Kott *et al.*, 1974; Borrego *et al.*, 1987).

El objetivo del presente estudio fue comparar, a escala de laboratorio, la eficiencia de tres especies de macrófitas y de un sistema con microalgas para la remoción de tres organismos indicadores de

contaminación fecal (Coliformes fecales, *E. coli* y colifagos somáticos), y evaluar una posible relación entre los tratamientos, las variables fisicoquímicas asociadas a los tratamientos y las eficiencias de remoción.

METODOS

Se utilizó el afluente de la primera laguna de estabilización de un sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas cerca de Bogotá, Colombia. Se utilizaron reactores plásticos de 0,15 m profundidad y 0,31 m de diámetro. El volumen efectivo de los reactores fue de aproximadamente 10 litros. Los reactores se alimentaron solamente al inicio de los experimentos y no hubo cosecha de las plantas.

Las tres especies de macrófitas utilizadas –*Eichhornia crassipes*, *Lemna* sp. y *Limnobium laevigatum*- fueron colectadas de humedales situados a 2670 m.s.n.m. y mantenidas en luz natural ($122\text{-}250 \mu\text{E}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^2$) durante dos meses en agua residual doméstica, a temperaturas entre 14 y 16°C. Para el experimento, las macrófitas fueron lavadas con agua corriente y colocadas en densidades suficientes para cubrir la superficie de los reactores: 242 g/m² de *Lemna* sp.; 3100 g/m² de *Eichhornia crassipes* y 513 g/m² de *Limnobium laevigatum*.

Se evaluaron 4 tratamientos, cada uno con tres replicas: los tres primeros correspondieron a cada una de las tres especies de macrófitas; en el cuarto (tratamiento con microalgas) la superficie del agua residual se dejó libre de macrófitas para permitir el crecimiento de la comunidad de microalgas: como control se utilizaron reactores iguales a los de los tratamientos, pero cubiertos con un plástico negro para impedir la penetración de la luz solar y evitar el crecimiento de organismos fotosintéticos.

Diariamente y tres veces por día se tomaron mediciones de temperatura, oxígeno disuelto y pH con el fin de registrar la variación diaria y los valores máximos y mínimos de estas variables. Cada tres días, a una hora fija y durante un periodo de 12 días, se muestrearon los reactores para el análisis de Coliformes fecales, *Escherichia coli* y fagos somáticos. Simultáneamente se efectuaron mediciones de DQO, amonio y fósforo reactivo. Para los análisis de *E. coli* y colifagos somáticos se utilizaron las técnicas ISO 9308-2 e ISO/DIS 10705-2 respectivamente. Para los demás análisis se siguieron técnicas analíticas estandarizadas (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1995).

Para el muestreo se tomaron aproximadamente 0,5 l de agua residual con una jeringa estéril, midiendo con precisión el volumen extraído y evitando perturbar las condiciones de cada reactor. Se registró la profundidad antes y después de cada muestreo con el fin de establecer la corrección por pérdida de volumen de agua en los resultados. Esta corrección se aplicó en las variables de DQO, amonio, y fósforo reactivo. El aspecto general de las plantas se monitoreó regularmente y se extrajeron las partes muertas o lesionadas.

Para el procesamiento de los datos se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de Kruskal-Wallis para los datos con y sin distribución normal, respectivamente. Para establecer diferencias entre tratamientos se utilizaron las pruebas de Tukey y Tukey modificada ($p < 0.05$). Las correlaciones entre variables se llevaron a cabo por medio del análisis de Pearson.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 se muestran los valores de pH en los reactores. El pH osciló entre 6.5 y 8.5 en todos los tratamientos. *Eichhornia crassipes* presentó los valores más bajos y cercanos a la neutralidad (pH final de 7.36) y el tratamiento con microalgas fue el que presentó los mayores valores (hasta 9.44) y las mayores variaciones diurnas. Esto puede explicarse por el efecto de la fotosíntesis dentro

de la columna de agua, que remueve CO₂ y altera el equilibrio buffer ácido carbónico-carbonatos, elevando el pH (Mezrioui *et al.*, 1994; Maynard *et al.*, 1999).

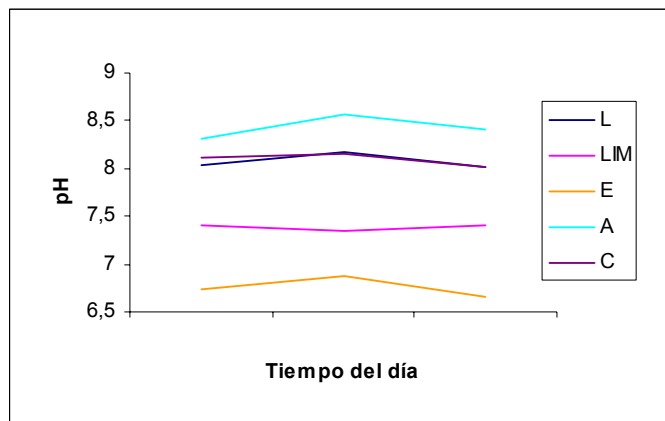


Figura 1. Valores de pH en los reactores (cada valor es el promedio de 27 a 33 mediciones).
L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobium* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C= Control

En la Figura 2 aparecen los valores de temperatura durante el ensayo. Estos valores oscilaron entre 6,93 y 23.9° C. No hubo diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$), pero sí a lo largo del día (hasta 8°C).

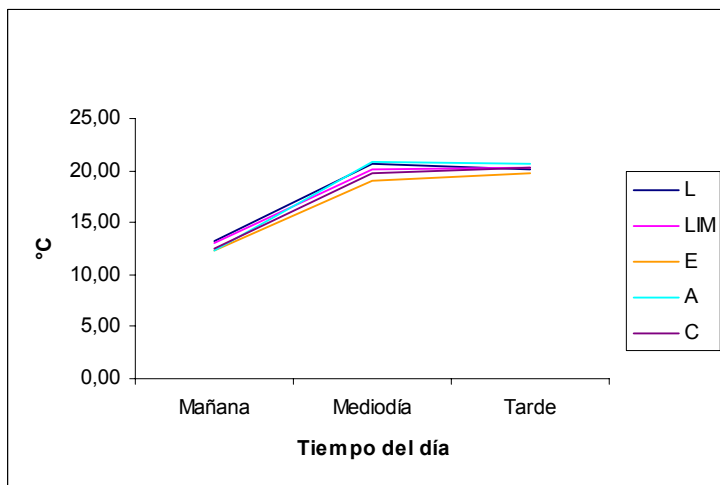


Figura 2. Valores de Temperatura durante el experimento (cada valor es el promedio de 27 a 33 mediciones). L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobium* sp.; A= Microalgas; C= Control

La Figura 3 muestra los valores de oxígeno disuelto obtenidos durante el ensayo. El tratamiento con microalgas presenta las mayores concentraciones de oxígeno (hasta 11.53 mg/l) y las mayores variaciones diurnas. Los tratamientos con plantas y el control presentan concentraciones bajas de oxígeno (entre 0 y 1.8 mg/l). Esto puede explicarse por el efecto de cubierta que tienen tanto las plantas como el plástico, que impide la difusión de aire desde la atmósfera hasta el agua, el crecimiento de microalgas y su efecto de oxigenación por la fotosíntesis (Reed *et al.*, 1988).

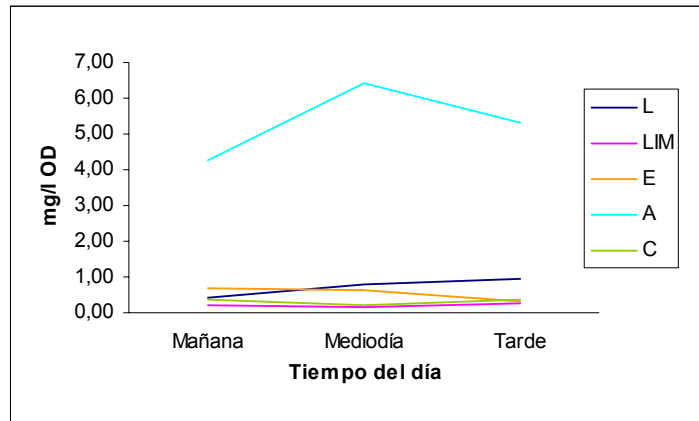


Figura 3. Valores de Oxígeno Disuelto en los reactores. Cada valor es el promedio de 27 a 33 mediciones. L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobiium* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C= Control

En la Figura 4 aparecen los resultados de DQO. *E. crassipes* fue significativamente diferente ($p < 0.05$) a partir del día 6, con una remoción del 83%. Esto puede deberse a sus raíces densas y plumosas, que proporcionan más sitios de adhesión para las comunidades bacterianas degradadoras de la materia orgánica, y actúan como filtros de material particulado (Kim *et al.*, 1999).

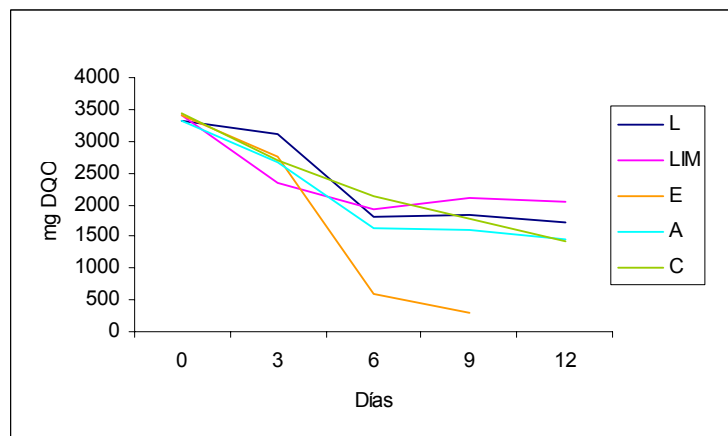


Figura 4. Concentraciones de DQO durante el estudio.
L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobiium* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C= Control

En la Figura 5 se muestran los resultados de nitrógeno amoniacal. En el día 6 *E. crassipes* presentó la mayor remoción de NH_4 (95.6%). Los demás tratamientos obtuvieron remociones entre 39 y 44%, y el control, 5.4%. Esto indica que la remoción de amonio está asociada a la presencia de organismos fotosintéticos en los reactores, y puede deberse a procesos de absorción (Al-Nozaily *et al.*, 2000; Caicedo *et al.*, 2000. y de nitrificación-denitrificación (Körner, 1998).

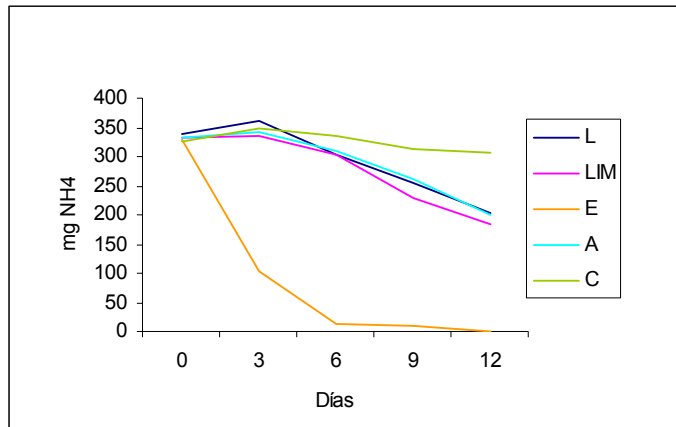


Figura 5. Concentraciones de Amonio durante el estudio.
L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobiium* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C= Control

La Figura 6 muestra los resultados de fósforo reactivo a lo largo del ensayo. El fosfato no presentó una remoción importante en ninguno de los tratamientos ni en el control, a excepción de *E. crassipes* ($p < 0.05$), que removió un 92% en el día 6. *L. laevigatum* mostró el porcentaje de remoción más bajo (4.5%). Esto sugiere que la remoción de fósforo no parece estar asociada a procesos fotosintéticos, sino a procesos físicos de adsorción o sedimentación, y a procesos de asimilación microbiana de los detritos producidos.

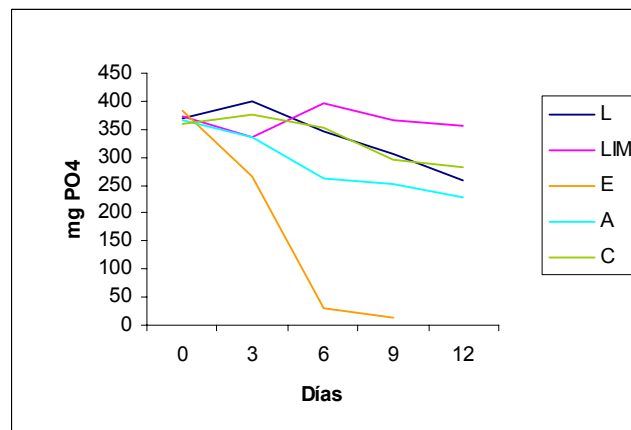


Figura 6. Concentraciones de Fósforo Reactivo durante el estudio. L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobiium* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C= Control

El comportamiento de los tres indicadores de contaminación fecal aparece en las Figuras 7 a 9. Las mediciones en *E. crassipes* sólo se pudieron hacer hasta el día 6 debido a la disminución del volumen de agua por evapotranspiración.

El tiempo de retención aumenta la eficiencia de remoción en todos los tratamientos, lo cual coincide con lo reportado en la literatura (García & Becares, 1997; Schreijer *et al.*, 1997; Van der Steen *et al.*, 1999; Barret *et al.*, 2001). Sin embargo, en el día 6, los tratamientos alcanzaron en promedio 99% de remoción de Coliformes fecales y *E. coli*; en ese mismo tiempo la remoción en el control fue significativamente inferior ($p < 0.05$). Contrario a lo que se esperaba, el tratamiento con microalgas no presentó una eficiencia superior a la de los tratamientos con plantas acuáticas.

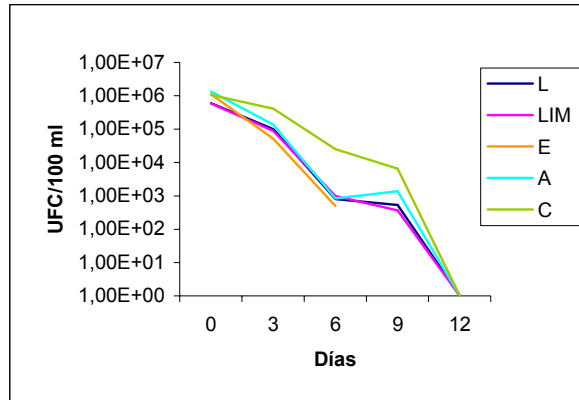


Figura 7. Concentraciones de Coliformes Fecales durante el estudio. L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobia* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C=Control

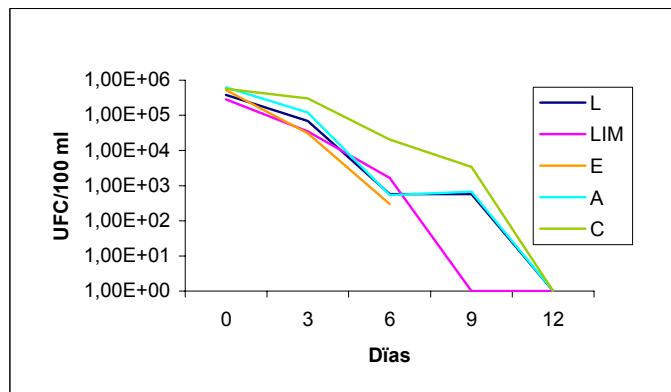


Figura 8. Concentraciones de *E. coli* durante el estudio. L=*Lemna* sp.; LIM=*Limnobia* sp.; E=*Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C=Control

Los Coliformes fecales y *E. coli* están correlacionados ($R > 0.6$) con amonio, fósforo, y DQO, e inversamente correlacionados con la temperatura ($R > 0.8$), pero no con pH ni oxígeno disuelto ($R < 0.4$). Williams *et al.* (1995) y Van der Steen *et al.* (1999) encuentran también correlaciones entre la remoción de los microorganismos y la de materia orgánica. Sin embargo, en nuestro estudio no hay evidencia de que esta correlación esté asociada con un tratamiento en particular, ya que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a remoción de indicadores ($p < 0.05$).

Los colifagos somáticos (Figura 9) fueron más resistentes al efecto de los tratamientos. En este caso, *Eichhornia crassipes* es el tratamiento más eficiente (>99% en el día 6) y el único que presenta diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos evaluados y al control ($p < 0.05$). La correlación entre amonio, fósforo reactivo y DQO es alta (entre 60 y 90%) y *Eichhornia crassipes* presenta diferencias significativas frente a estas mismas variables; con el pH la correlación es del 10%, y con el oxígeno es de 27%.

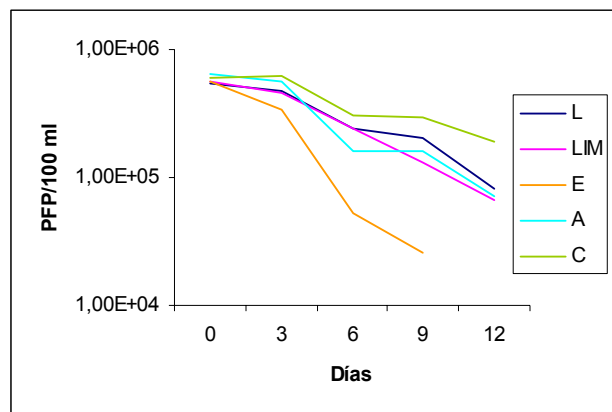


Figura 9. Concentraciones de colifagos somáticos durante el estudio. L=*Lemna* sp.; LIM= *Limnobium* sp.; E= *Eichhornia* sp.; A= Microalgas; C= Control

Esto sugiere que la remoción de colifagos está asociada principalmente a la de materia orgánica y nutrientes (Davis -Colley *et al.*, 1999; Sinton *et al.*, 1999), y a procesos de sedimentación (Maynard *et al.*, 1999; Karpiscak *et al.*, 1999), y que la mayor masa radicular de *E. crassipes* puede estar asociada a estos procesos; Kansime & Van Bruggen (2001) encontraron concentraciones de colifagos somáticos de 1.8×10^4 NMP/g peso fresco en raíces en *Miscanthidium* sp.

Los resultados obtenidos con *E. crassipes* resultan de interés, ya que esta especie prácticamente no ha sido evaluada con respecto a su eficiencia en la remoción de indicadores virales. Fujioka *et al.* (1999) reportan una reducción de fagos rRNA en un sistema de tratamiento con *E. crassipes*, pero las concentraciones iniciales eran de 0-9.4 PFP/100 ml. Aunque no es estrictamente comparable, ya que se trata de diferentes organismos, es de destacar que las concentraciones virales al inicio en nuestro estudio fueron del orden de 10^4 PFP/100 ml.

CONCLUSIONES

La presencia de macrófitas en el sistema acelera el proceso de remoción de coliformes fecales y *E. coli*, y los tratamientos con plantas son igualmente eficientes entre sí y en relación con las microalgas. Esto sugiere que, aunque los procesos de remoción son diferentes en cada tratamiento, resultan equivalentes. En las condiciones del estudio no es posible determinar cuáles son las variables fisicoquímicas relevantes en la remoción de estos dos indicadores.

Los colifagos somáticos son más resistentes a los tratamientos estudiados que los indicadores bacterianos. Esto confirma que es necesario evaluar distintos indicadores simultáneamente para determinar la eficiencia del tratamiento.

La mayor eficiencia de *E. crassipes* en la remoción de colifagos somáticos indica que es una especie promisoría en los procesos de desinfección de aguas residuales. La eficiencia de *L. laevigatum* en la remoción de indicadores bacterianos sugiere que es una especie potencialmente utilizable para el tratamiento terciario de aguas residuales domésticas.

REFERENCIAS

- Alaerts, G.; Rahman, M. and Kelderman, P. (1996). *Performance analysis of a full-scale duckweed covered sewage lagoon*. *Wat. Res.*, **30**(4), 843-852.
- Al-Nozaily, F.; Alaerts, G. and Veenstra, S. (2000). Performance of duckweed-covered sewage Lagoons-II. Nitrogen and Phosphorus Balance and Plant Productivity. *Wat. Res.*, **34**(10), 2734-2741.
- Barret, E.; Sobsey, M.; House, C. & White, D. (2001). Microbial indicator removal in onsite constructed wetlands for wastewater treatment in the southeastern U.S. *Wat. Sci. Tech.*, **44**(11-12), 177-182.
- Borrego, J.; Moriñigo, D.; De Vicente, A.; Córmax, R. & Romero, O. (1987). Coliphages as indicators of faecal pollution in water. Its relationship with indicator and pathogenic microorganisms, *Wat. Res.*, **21**, 1473-1480.
- Caicedo, J.; Van der Steen, P.; Arce, O. & Gijzen, H. (2000). Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). *Wat. Res.*, **34**(15), 3829-2835.
- Davis-Colley, R.; Donnison, A.; Speed, D.; Ross, C. & Nagels, J. (1999). Inactivation of fecal indicator microorganisms in waste stabilization ponds: interactions of environmental factors with sunlight. *Wat. Res.*, **33**(5), 1220-1230.
- Dewedar, A. & Bahgat, M. (1995). Fate of fecal coliform bacteria in a wastewater retention reservoir containing *Lemna gibba* L. *Wat. Sci. Tech.*, **29**(11), 2598-2600.
- Fujioka, R.; Bonilla, A. & Rijal, G. (1999). The microbial quality of a wetland reclamation facility used to produce an effluent for unrestricted non-potable reuse. *Wat. Sci. Tech.*, **40**(4-5), 369-374.
- Garcia, M. & Becares, E. (1997). Bacterial removal in three pilot-scale wastewater Treatment Systems for Rural Areas. *Wat. Sci. Tech.*, **35**(11-12), 197-200.
- Gearheart, R. (1992). Use of constructed wetlands to treat domestic wastewater, City of Arcata, California. *Wat. Sci. Tech.* **26**(7-8), 1625-1637.
- Gerba, C.P.; Thurston, J.; Falabi, J.; Watt, P. & Karpiscak, M. (1999). Optimisation of artificial wetland design for removal of indicator microorganisms and pathogenic protozoa. *Wat. Sci. Tech.*, **40**(4-5), 363-368.
- Gersberg, R. M. (1989). Pathogen removal in constructed wetlands. In: constructed wetlands for wastewater treatment. Municipal, industrial and agricultural. Hammer, D. (Ed). Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, pp. 541-547.
- Haberl, R. (1999). Constructed wetlands: a chance to solve wastewater problems in developing countries. *Wat. Sci. Tech.*, **40**(3), 11-17.
- Kansiime, F. & Van Bruggen, J. (2001). Distribution and retention of fecal coliformes in the Nakivubo Wetland, Uganda. *Wat. Sci. Tech.*, **44**(11-12), 199-206.
- Karpiscak, M.; Freitas, R.; Yerba, C.; Sanchez, L. & Shamir, E. (1999). Management of a dairy waste in the Sonora Desert using constructed wetland technology. *Wat. Sci. Tech.*, **40**(3), 57-65.
- Khatiwa, N. R. & Polprasert, C. (1999). Kinetics of fecal coliform removal in constructed wetlands. *Wat. Sci. Tech.*, **40**(3), 109-116.
- Kim, Y.; Kim, W-J.; Chung, P.W. & Pipes W. (1999). Control and separation of algae particles from WSP effluent by using floating aquatic plant root mats. 4th International Specialist Conference WSP: Technology & Environment. Marrakesh. 20th-23rd April, 1999.
- Körner, S.; Lyatuu, G. & Vermaat, E. (1998). The influence of *Lemna gibba* L. on the degradation of organic material in duckweed domestic wastewater. *Wat. Res.*, **32**(19), 3092-3098.
- Kott, Y.; Roze, N.; Sperber, S. and Betzer, N. (1974). Bacteriophages as viral pollution indicators. *Wat. Res.*, **8**, 165-171.
- Maynard, H.; Ouki, S. & Williams, S.C. (1999). Tertiary lagoons: a review of removal mechanisms and performance. *Wat. Sci. Tech.*, **33**(1), 1-13.

- Mezrioui, N.; Oudra, B.; Oufdou, K.; Hassani, L.; Loudiki, M. & Darley, J. (1994). Effect of microalgae frowning on wastewater batch culture on *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* survival. *Wat. Sci. Tech.*, **30**(8), 295-302.
- Reed, S.C.; Middlebrooks, E.J. & Criters, R. (1988). *Natural systems for waste management and treatment*. 1st. Edn. Ed Mc Graw Hill Inc.
- Shreijer, M.; Kampf, R.; Toet, S. & Verhoeven, J. (1997). The use of constructed wetlands to upgrade treated sewage effluents before discharge to natural surface water in Texel Island, the Netherlands-pilot study. *Wat. Sci. Tech.*, **35**(5), 231-237.
- Sinton, L.; Finlay, R. & Lynch, P. (1999). Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage polluted seawater. *Appl. Env. Microbiol.* **65**(8), 3695-3613.
- Sousa, J.; Van Haandel, A. & Guimaraes, A. (2001). Post-treatment of anaerobic effluents in constructed wetland systems. *Wat. Sci. Tech.*, **44**(4), 213-219.
- Standard Methods for the Examination of water and wastewater. (1995). 19th Edn, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington Dc, Usa.
- Van der Steen, P.; Brenner, A. & Oron, G. (1998). An integrated duckweed and algae pond system for nitrogen removal and renovation. *Wat. Sci. Tech.*, **38**(1), 335-343.
- Van der Steen, P.; Brenner, A.; Shabtai, Y. & Oron, G. (1999). The effect of environmental conditions on faecal Coliform decay in post-treatment of UASB reactor effluent. 4th International Specialist Conference WSP: Technology & Environment. Marrakesh. 20th-23rd April, 1999.
- International Standard Organization. ISO. (2000). *Water Quality: Detection and Enumeration of Bacteriophages*. Part 2: Enumeration of Somatic Coliphages. 10705-2. Geneva. Switzerland.
- International Standard Organization. ISO. (2000). *Water Quality: Detection and Enumeration of Coliform Organisms, thermotolerant Coliform Organisms and Presumptive Escherichia Coli, Part 1*. 9308-2. Geneva. Switzerland.
- Williams, J.; Bahgat, M.; May, E.; Ford, M. & Bullet, J. (1995). Mineralisation and pathogen removal in gravel bed hydroponic. Constructed wetlands for wastewater treatment. *Wat. Sci. Tech.*, **32**(3), 49-58.