

EFFECTO DE LOS TÓXICOS SOBRE LA COMUNIDAD PROTOZOARÍA

Rodríguez, E. *Asociación Científica Grupo Bioindicación de Sevilla*. gsbs@asociaciongs.com

Introducción

La presencia de tóxicos (sustancias que pueden producir efectos perjudiciales en un organismo) en las estaciones depuradoras de aguas residuales es una situación que podría calificarse como usual y que compromete en numerosas ocasiones el proceso de depuración.

El origen de estos tóxicos suelen ser residuos industriales. Estas industrias pueden tratar sus residuos líquidos de forma independiente (EDARI) o pueden realizar el tratamiento junto con las aguas residuales urbanas, en cuyo caso dispondrán de unos límites tóxicos definidos en las ordenanzas municipales.

Otra manera de entrar tóxicos en una EDAR es a causa de vertidos incontrolados o de tóxicos emergentes.

El compromiso europeo de conseguir “*mantener en estado químicamente satisfactorio las masas de aguas*”, implica controlar de manera efectiva la entrada de tóxicos como los metales pesados (Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb...) y de otros compuestos tóxicos presentes en concentraciones trazas como el clorobenceno, los hidrocarburos aromáticos policíclicos,....

De hecho 40 de las sustancias prioritarias han sido encontradas en aguas residuales (Gasperi *et al.*; 2008).

El daño de un tóxico sobre el microorganismo puede afectar a múltiples alteraciones funcionales como daños en la membrana celular, daños en el ADN, bloqueos enzimáticos, etc., que pueden ser permanentes o no en función del tóxico, de su concentración y de su tiempo de exposición. Por ello la incidencia de la entrada de los distintos tóxicos en la EDAR puede ser variable; desde no afectar al encontrarse en concentraciones muy pequeñas (aunque habría que tener en cuenta los efectos bioacumulativos), generar un deterioro parcial en la capacidad depurativa de la biomasa, o destruir el cultivo en su totalidad. El que ocurra una u otra situación depende de diversos factores, entre los que se cuentan:

- Del tipo de tóxico (Existen metales pesados que son necesarios en bajas concentraciones para el metabolismo celular, mientras que a otros como el mercurio, plutonio o plomo no se les conoce efectos beneficiosos, Majid, 2010), del tiempo de exposición (Choques puntuales son difícilmente asimilables, mientras que entradas graduales permiten la aclimatación del cultivo, llegando incluso a obtenerse cepas con genes resistentes al tóxico en cuestión, Kamika y Momba, 2013), de la forma en que se encuentre (Los distintos estados de oxidación de los metales pesados afectan de distinta manera a la biomasa del fango activo, Majid, 2010) y de la concentración y solubilidad del mismo. En este aspecto la distinta bibliografía refleja conclusiones diversas, que pueden achacarse a esta complejidad de factores. Por ejemplo el Zinc y el Cobre son los más tóxicos y el Manganeseo es el menos tóxico para Collado *et al*, 2002, para Nicolau *et al*, (2005) el Zinc es el metal más tóxico, mientras que para Majid, (2010) el Cromo (VI) y el Zinc son menos tóxicos que el Plomo, Cobre o el Cadmio.
- Los factores ambientales, pH, ... afectan a la actividad bioquímica y enzimática del cultivo, variando la respuesta al tóxico. A mayor temperatura el efecto tóxico es superior para un mismo compuesto (Majid, 2010).
- Del tipo de proceso de depuración. Los procesos granulares pueden resistir puntas de tóxico mayores que los procesos en suspensión de fangos activos, ya que el gránulo puede actuar de agente protector y quelante del tóxico permitiendo una recuperación más

rápida al quedar en su interior bacterias no afectadas. Igualmente en sistemas compuestos (suspensión/biopelícula) hemos podido comprobar como la biopelícula resiste mejor la entrada de determinados tóxicos y actúa posteriormente como reiniciador del cultivo (Carrasco *et al*, 2015).

- La concentración de biomasa (Los tóxicos pueden ser adsorbidos tanto por los sólidos como por los polímeros extracelulares (EPS) excretados por las propias bacterias para su protección; Está constatado las características absorbentes del fango activo gracias a los EPS (Hughes y Gray, 2012). Tras adicionar distintos metales pesados a un fango activo en distintas concentraciones se obtiene un promedio de adsorción del 30 % en los sólidos; Majid, 2010)
- La edad del fango (Fangos muy envejecidos podrían tener una menor capacidad de recuperación que fangos más jóvenes con altas tasas de reproducción, aunque este aspecto variará en función de los MLSS del sistema).
- La disponibilidad de oxígeno (Fangos estresados por trabajar al límite de oxígeno mínimo, responden peor ante la entrada de un tóxico que fangos bien oxigenados). En pruebas realizadas por GBS en fangos con edades de fango de 20 días y de 5 días se comprueba claramente, al hacer un respirograma, el efecto tamponador del cultivo en fangos con altos niveles de actividad:

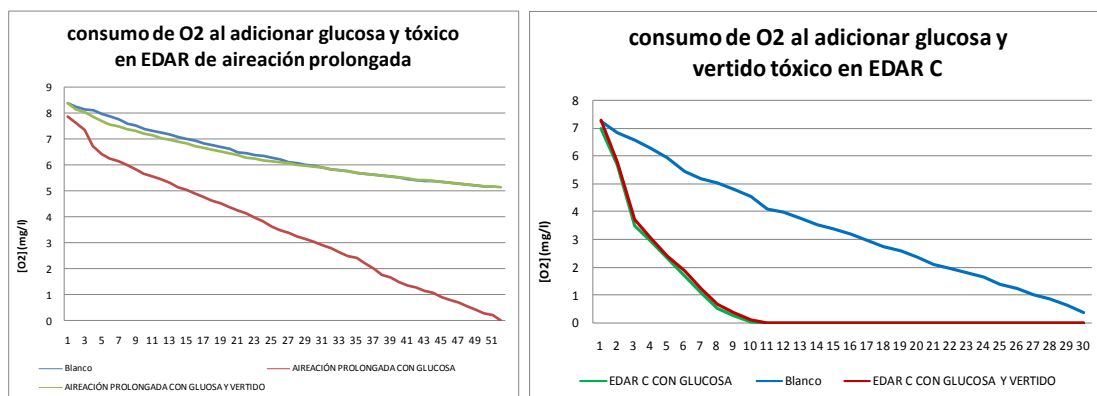


Figura 1: Consumo de oxígeno a lo largo del tiempo por lodos de aireación prolongada y de edad media de fangos alimentados con glucosa y un tóxico.

En la figura 1 puede observarse como en los lodos de aireación prolongada, muy inactivos, el tóxico inhibe el metabolismo de la glucosa añadida, mientras que el fango activo convencional no se ve afectado por el tóxico. Este efecto debe ser matizado por la concentración del tóxico y durabilidad que afectara de distinta forma a fangos en función del nivel de MLSS y de la edad del fango.

- La complejidad y estructura de la comunidad biológica sobre la que se realiza el tóxico es básica ya que la sensibilidad de una especie es distinta para los distintos tóxicos. De esta forma comunidades más diversas presentan más resistencia y capacidad adaptativa ante tóxicos. Los fangos activos industriales o mixtos son más tolerantes que los fangos activos exclusivamente urbanos (Hughes y Gray, 2012).

En cualquier caso disponer de una alta diversidad de comunidades en un fango activo va a permitir absorber la posible entrada de un tóxico con menor efecto que comunidades más pobres o envejecidas. Entre las distintas especies encontradas algunas son sensibles, tolerantes o resistentes a tóxico (Madoni, 2011).

Las bacterias más afectadas son siempre las oxidadoras del amonio y posteriormente las heterótrofas (Kamika y Momba, 2013; Yuan *et al*, 2015; Zheng *et al* 2015; Bassin *et al* 2011 y Collado *et al*, 2002), aunque siempre es posible la adaptación del cultivo generando cepas

resistentes al tóxico lo que puede recuperar las distintas rutas metabólicas del fango activo (Kamika y Momba, 2013).

Para Collado *et al.*, (2002) la entrada de un tóxico (siempre que no destruya totalmente la comunidad biológica) genera un deterioro del proceso por un tiempo que puede ser variable según la intensidad del suceso que posteriormente se recuperará para adquirir comportamientos similares a los anteriores al tóxico.

En pruebas realizadas por GBS sobre una EDAR piloto al dosificar un tóxico a concentración fija durante una semana, se comprueba como el cultivo se va adaptando y como puede apreciarse en la figura 2 al cabo de una semana el respirograma es muy similar al original.

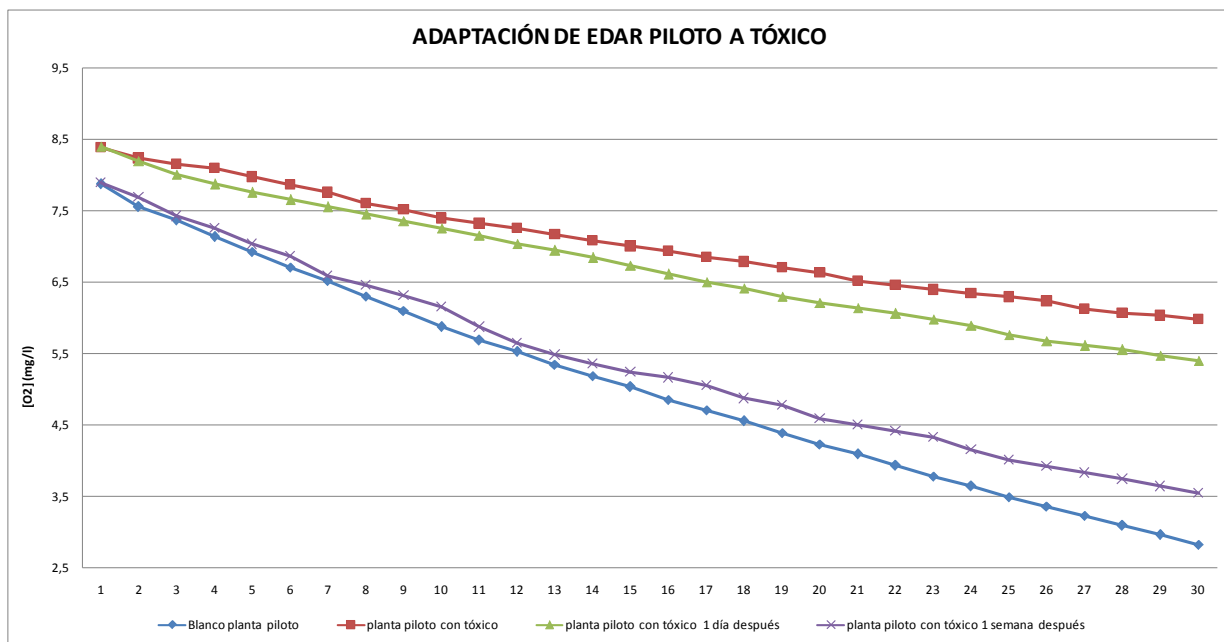


Figura 2: Respirogramas de lodos de una planta piloto alimentado con un tóxico durante una semana a concentración fija.

En las pruebas realizadas por Santos *et al.*, (2015) comprobamos que en dosis del 2 % de residuos sólido provenientes de alcantarillado sobre el caudal de entrada en una EDAR piloto, se detectaban cambios en los protistas y en la estructura flocular. Tras la entrada de este afluente con residuo de alcantarillado se produce el debilitamiento del floculo, lo que permite el crecimiento de ciliados del género *Paramecium* y *Acineria* e igualmente la presencia de este residuo de alcantarillado (probablemente rico en tóxicos por acumulación en los lodos), hace que se reemplacen ciliados del género *Epistylis* por *Opercularia*, que tras una semana vuelven a ser reemplazados por los protistas presentes inicialmente.

La disminución de tamaño de los organismos es también un aspecto usual tras la llegada de un tóxico. Ante entradas de metales pesados Oliveira *et al.*, (2014) detectan un aumento en los EPS y un cambio de tamaño en *Colpoda Steneii*. Por último Kamika y Momba (2013) definen a *Peranema sp.*, *Tachelophyllum sp* y *Aspidisca sp* como altamente resistentes a contaminación industrial.

De los distintos procesos de adaptación (bioabsorción o adsorción pasiva y bioacumulación o absorción activa) es de especial interés la bioacumulación como sistema de bioremediación. Las distintas capacidades de los organismos para retener tóxicos en forma de proteínas inertes (MTS: metalotioneínas) permiten acumular intracelularmente Zin, Cobre, Estroncio, Cadmio, Mercurio, Arsénico, etc. Los ciliados soportan altas concentraciones de metales los cuales son acumulados (Chaudhry, & Shakoori, 2011).

Esta capacidad está presente tanto en bacterias como en protistas. Por lo que pueden ser utilizados para depurar distintos tóxicos industriales recalcitrantes (Rodríguez *et al.*, 2014; Infante, 2012; Infante *et al.*, 2012).

Como ya se ha comentado una entrada puntual de tóxicos puede provocar la total inhibición de la biomasa en cuyo caso se detectará un aumento muy importante en la disponibilidad de oxígeno al no ser consumido por la biomasa. En este caso la regeneración del fango es fundamental para eliminar los restos de un tóxico tan potente. Sin embargo lo usual será encontrar entradas parciales, puntuales o repetitivas que desencadenen distintos procesos de inhibición o biacumulación (aumento gradual del grado de inhibición conforme se acumula el tóxico). La regeneración periódica del mismo, mediante purgas de fangos en exceso es definitoria para conseguir la reactivación del fango y que no degeneren en una biomasa deficiente.

Para detectar rápidamente este tipo de situaciones, que a nivel analítico pueden ser muy laboriosas o no estar disponibles en los laboratorios de control rutinarios de EDAR, podemos contar con los ensayos respirométricos (Según Zheng *et al.*, 2015 las variaciones en el AUR son un excelente indicador para predecir tóxicos) y con la capacidad bioindicadora de los protistas.

Papel de los protistas como bioindicadores

El papel como bioindicador de los protistas es sobradamente conocido y en el Anexo 1 se detallan algunas de estas asociaciones bioindicadoras, pero también pueden ser utilizados como indicadores de tóxicos ya que usualmente presentan más sensibilidad que las bacterias a los tóxicos. De ellos *Paramecium sp.* y *Tetrahymena sp.*, han sido tradicionalmente usados para ensayos de ecotoxicología.

Según Collado *et al.*, (2002) ante un vertido de metales pesados desaparecen en primer lugar los microinvertebrados (rotíferos y nematodos), para después ir desapareciendo los protistas, siendo los flagelados los más resistentes. De hecho, Madoni (2011) los define como buenos indicadores de toxicidad.

Tal como aparece en el anexo 1, ejemplos típicos de toxicidad son los pequeños flagelados. Para toxicidad moderada *Vorticella microstoma*, *Aspidisca cicada*, *Paramecium sp* y en general el género *Opercularia* menos *O. articulata*.

De forma específica Serrano y Arregui (2014) citan a *Euplotes aediculatus* como especialmente resistente al Niquel y *Spirostomon teres* resistente a metales pesados, fenoles y pesticidas.

Tipos de tóxicos

Tal como ya se ha dicho, si por tóxico entendemos cualquier sustancia que afecte el desarrollo parcial o total de los organismos o su inhibición de crecimiento en una EDAR, además de los tóxicos usuales como los metales pesados o los fenoles, deberíamos incluir los procesos de sobrecarga orgánica que destruyen la comunidad biológica establecida para ser sustituida por organismos menos sensibles.

Por ello vamos a clasificar de forma básica los tóxicos más usuales en EDAR, teniendo en cuenta que el cultivo biológico de un fango activo puede verse afectado por numerosos factores no incluidos en esta somera clasificación:

- Alta concentración de materia orgánica o aceites que generan un déficit acusado de oxígeno en el cultivo biológico. Alta concentración de amonio
- Desequilibrios ácido/básicos: pH superior a 8.5 o pH inferior a 6.5
- Alta concentración de metales pesados

- Otros Tóxicos: Detergentes, sales, fenoles, ...

Límites de tolerancia de los protistas ante los tóxicos

Para evaluar los límites de tolerancia de los protistas a los distintos tóxicos seleccionados en el apartado anterior ha de contarse con los ensayos ecotoxicológicos. Sin embargo no se debe olvidar que en cultivos mixtos, como los que aparecen en un fango activo, afectan números aspectos no tenidos en cuenta en el ensayo de toxicidad, por lo que pueden encontrarse datos no concordantes.

Tras una entrada de un tóxico es esperable, en función del grado de incidencia, una reducción más o menos importante de movilidad de los protistas, cambios de tamaño, pérdidas de peristomas en ciliados sésiles o la destrucción celular y/o formación de quistes de resistencia (Figura 3).

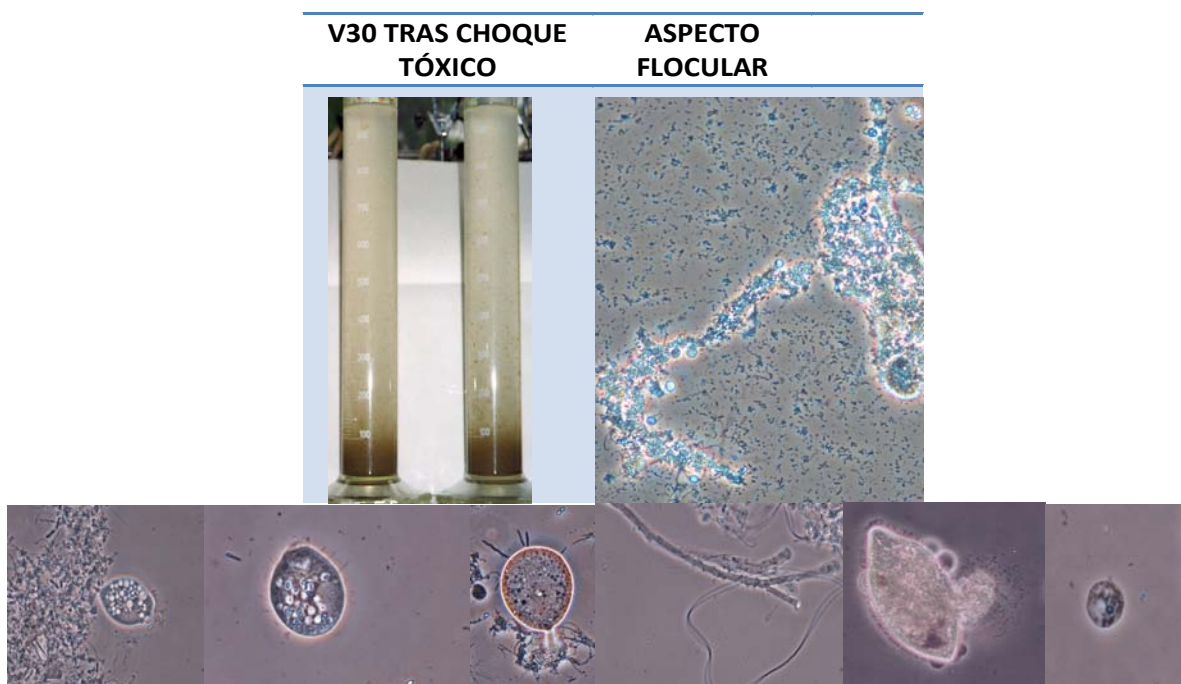


Figura 3: Efectos sobre la V30, flóculo y los protistas tras un vertido tóxico. *In vivo*. Contraste de fases. 100x y 400x.

En cualquier caso un cultivo rico y variado con una edad de fango, concentración de sólidos y nivel de oxígeno adecuados puede asumir y adaptarse a entradas graduales de tóxicos. Igualmente, independientemente de estos aspectos, un tóxico a concentración y duración suficiente puede destruir completamente un cultivo.

1.- TÓXICOS DE CARÁCTER ORGÁNICO.

Durante la explotación de una EDAR, podemos encontrar vertidos de carácter fuertemente orgánico o ricos en aceites que al entrar en contacto con el cultivo generen inmediatamente un estrés por oxígeno destruyendo la comunidad presente al sobrepasar la capacidad de asimilación de la misma.

Efecto inmediato de esta situación es la entrada de aceites y grasas que tal como puede verse en la figura 4 engloba al flóculo y genera un estrés por oxígeno inmediato.

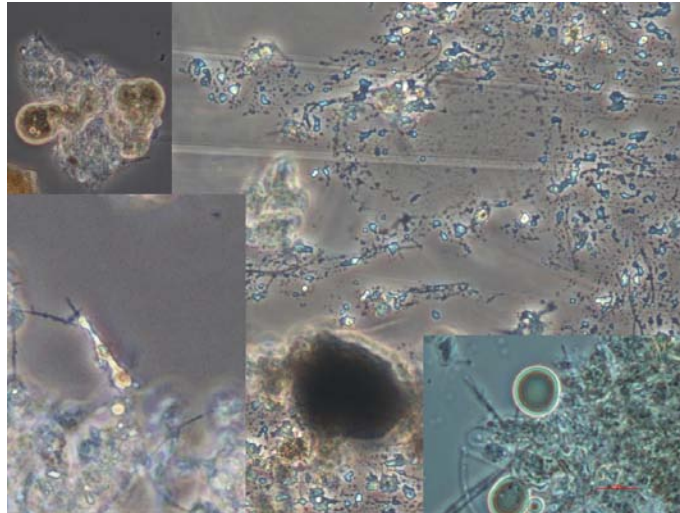


Figura 4: Vertidos de aceites y grasas en un fango activo. In vivo. Contraste fases. 100 y 200x

En esos casos se produciría una involución hacia los primeros estadios de formación del fango que será más o menos acusada en función del nivel vertido.

La figura 5 desarrolla este proceso desde un sistema estable con micrometazoos, suctores, reptantes, ciliados sésiles y amebas desnudas de gran tamaño hacia la desaparición de estos y el desarrollo de ciliados nadadores del tipo *Paramecium sp.*, o *Uronema sp.* o *Ciclydium sp.* hasta la dominancia de pequeños flagelados y amebas de pequeño tamaño. Este proceso si es muy acusado puede finalizar con la desaparición total del cultivo de fango activo quedando solo pequeñas partículas de materia orgánica y bacterias dispersas.

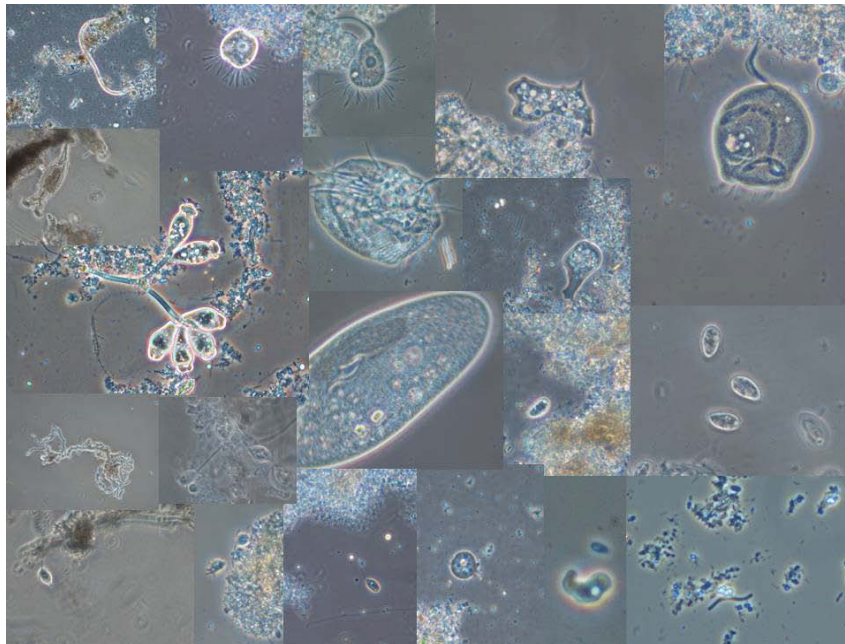


Figura 5: Cambio en la microbiota de un fango activo estable y bien colonizado tras la entrada de una sobrecarga orgánica. In vivo. Contraste de fases. 100 y 400X.

El efecto de este tipo de situaciones equivale a un déficit de oxígeno en el fango activo. Según Madoni (1994) los grupos de protistas predominantes en función de la carga de DBO son:

- 0.3-0.6 kg DBO/kg MLSS: El 80 % de los protistas son ciliados sésiles.
- 0.6-0.9 kg DBO/kg MLSS: Dominan los ciliados nadadores
- >0.9 kg DBO/kg MLSS: Dominan los pequeños flagelados, ciliados nadadores y *Opercularia*.

Un agente especialmente tóxico, que puede tener origen orgánico o no, es el amonio que en dosis superiores a 480 mg/L puede resultar inhibitor del proceso biológico (Revitt *et al*, 2011). Tradicionalmente se ha asociado la presencia de *Coleps hirtus* a bajos niveles de amonio. Sin embargo Klimek *et al*, (2012) comparando *Coleps hirtus* y *Stentor coeruleus* comprobaron que, siendo ambos sensibles al amonio, el primero de ellos era bastante más tolerante, frente a *Stentor* que es bastante más sensible.

2.- DESEQUILIBRIOS ÁCIDO/BÁSICOS

El pH afecta de forma importante a la estructura y permeabilidad de la membrana plasmática y actúa sobre la velocidad enzimática y el transporte de materiales por la misma. Por ello el pH es un parámetro que fuera de los rangos óptimos (5-9) puede llegar a actuar como un tóxico, llegando a destruir las células como se aprecia en la figura 6.

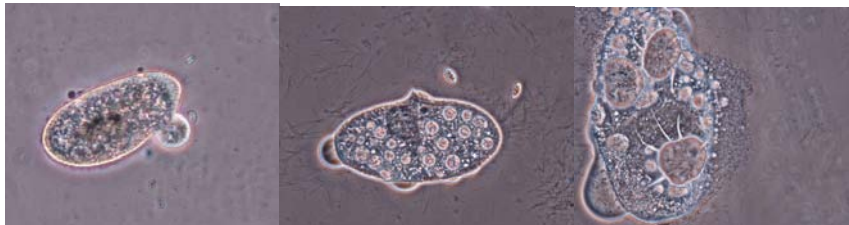


Figura 6: Evolución de la destrucción citoplasmática de un *Paramecium* tras haber sido sometido a un pH de 3.5.

Valores entre 4.5 y 10.5 son pH entre los que se puede conseguir la adaptación de la microfauna. Fuera de estos límites es difícilmente tolerable.

Los organismos soportan peor pH ácidos que básicos (Coello *et al.*, 2002).

Durante las pruebas de Carrasco *et al*, (2015) observamos que la disminución de pH (de 7.7 a 3.8) provoca en el fango activo un efecto similar a la disminución de oxígeno. La densidad de organismos tras 18 horas del vertido aumenta, pero disminuye drásticamente la diversidad (de 1.3 a 0.4 bit). Prácticamente el 100 % de los organismos son pequeños flagelados con abundancia de organismos dañados o incluso muertos. Tras la neutralización del vertido el primer ciliado que aparece es *Cyclidium sp* y posteriormente *Vorticella microstoma* y *Epistylis sp*.

En este mismo estudio la adición de carbono soluble en forma de glucosa nos permitió ver la recuperación del sistema ante un estrés tóxico con mayor rapidez, que sin su adición

3.- METALES PESADOS

Tal como se ha mencionado anteriormente, determinados metales pesados son necesarios como compuestos trazas para el metabolismo de los distintos organismos implicados en la depuración de las aguas residuales. Sin embargo a elevadas concentraciones pueden resultar tóxicos. De ellos, según la bibliografía citada en la introducción, el Zinc, Cobre y Cromo se encuentran entre los más tóxicos y el Manganeseo entre los menos.

Dada la diversidad de resultados bibliográficos en este apartado se procede a recopilar los distintos límites recogidos por los diversos autores para algunos de los metales pesados más usuales en aguas residuales.

3.1 CADMIO

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Madoni <i>et al</i> , 1996	LC50: 0.31 mg/L	Mortalidad para protistas
Majid, 2010	LC50: 5.23 mg/L	Reduce el 50 % de las especies de protistas y disminuye su densidad
Revitt <i>et al</i> , 2011	10-100 mg/L	Microorganismos en general

Kamika y Mombo (2013) han evaluado las capacidades de distintos protistas para realizar una bioacumulación activa del cadmio, comprobando que *Peranema sp* es capaz de reducir el nivel de Cadmio en el medio hasta un 42 % para pruebas de concentración entre 19.97 y 31.06 mg/L. En el mismo artículo se cita a Rehman *et al* (2005) donde *Stylonychia mytilus* removió hasta el 91 % del cadmio añadido al cultivo para entradas de cadmio de 10 µg/L.

3.2 COBRE

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Shuttleworth & Unz, 1988	>63 µg/L	Inhibe crecimiento bacterias filamentosas
Madoni <i>et al</i> ., 1996	3 mg/L durante 24 horas	67 % de mortalidad protozoarí
Collado <i>et al</i> , 2002	2 mg/L	Importante inhibición (Se detecta una retención den el lodo de 0.6 mg Cu/kg MLSS
Majid, 2010	6.12 mg/L	Se reduce de 16 a 7 especies y un 89 % la densidad de los protistas en fangos activos.
Revitt <i>et al</i> , 2011	1-3 mg/L	Microorganismos en general
Hugnes & Gray, 2012	30 mg/L	Esta concentración es tolerada por los fangos activos sin que se vea afectada la eliminación de DBO.
Zheng <i>et al</i> , 2015	LC50 a 30': 43.1 mg/l	Para Cu (II)

Estas concentraciones tan dispares pueden ser indicadoras de la adaptabilidad de los distintos organismos al Cobre.

En cualquier caso reducciones bruscas en la densidad y/o diversidad de protistas debe ser vigilado ya que puede ser indicador de la entrada de un tóxico en el sistema.

Dentro de los cambios citados en los protistas de fangos activos ante vertidos de Cobre cabe destacar el cambio de tamaño de *Colpoda stenei* detectable a partir de 0.25 mg Cu/L (Oliveira *et al*, 2014), mientras que existen numerosos casos de tolerancia e incluso biorremediación como *Tetrahymena sp* con una LC50 de 60 mg Cu/L o *Euplotes sp* con una LC50 de 48 mg Cu/L (Chaudhry & Shakouri)

3.3 CROMO

Los estados de oxidación más usuales del Cromo son el trivalente y el hexavalente, siendo este último el más tóxico.

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Majid, 2010	150 mg/l Cr ⁶⁺	Se reduce de 16 a 11 especies y un 55 % la densidad de los protistas en fangos activos.
Majid, 2010	293 mg/l Cr ⁶⁺	Se reduce de 16 a 8 especies y un 90 % la densidad de los protistas en fangos activos.
Revitt <i>et al</i> , 2011	1-10 mg/L para Cr ⁶⁺ hexavalente y 50 para Cr ³⁺	Microorganismos en general
Cheng <i>et al</i> , 2011	5 mg/L Cr ⁶⁺	Inhibe fuertemente la eliminación de N pero no afecta en gran medida a la eliminación de C.
Vaiopoulou & Gikas, 2012	15 mg/L Cr ³⁺	Inhibe el fango activo
Vaiopoulou & Gikas, 2012	160 mg/L Cr ³⁺	Dosis letal en fango activo
Vaiopoulou & Gikas, 2012	>80mg/L Cr ⁶⁺	Tóxico en fango activo
Zheng <i>et al.</i> , 2015	>25 mg/L Cr ⁶⁺	Aumento significativo de los EPS en el fango activo

Dentro de los cambios citados en los protistas de fangos activos ante vertidos de cromo cabe destacar el cambio de tamaño de *Colpoda stenei* al recibir concentraciones de 0.22 mg Cu/L (Oliveira *et al*, 2014),

3.4 NIQUEL

Cambios como el pH o la temperatura pueden afectar a la toxicidad del níquel (Kamika y Momba, 2013)

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Morenilla <i>et al</i> , 2003	7.8 mg Ni/g MLVSS	LC50 bacteriano en fango activo
Revitt <i>et al</i> , 2011	1-2.5 mg/L	Microorganismos en general

Organismos como *Peranema sp* son resistentes tanto al níquel como al cobalto (Kamika y Momba, 2013), mientras que *Spirostomon teres* presenta una LC50 (24 h) de 0.17 mg Ni/L, *Paramecium bursaria* de 0.36 mg Ni/L, siendo *Euplotes patella* especialmente resistente al níquel (Madoni, 2000).

Por último a 0.1 mg Ni/L se produce una reducción del tamaño de *Colpoda stenei* (Oliveira *et al*, 2014).

3.5 PLOMO

Es uno de los metales pesados con tiempo de actuación más cortos (Yuang *et al*, 2015), reduciendo rápidamente a la comunidad protozoaria.

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Majid, 2010	6.98 mg Pb/L	Solo se ve afectado <i>Acineria uncinata</i> , si bien se reducen los efectivos poblacionales en un 65 % entre los protistas
Revitt <i>et al</i> , 2011	0.1-5 mg/L	Microorganismos en general

Según Kamika y Momba uno de los protistas que mejor soporta el plomo es *Peranema sp* llegando a soportar concentraciones de hasta 1000 mg Pb/L

3.6 ZINC

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Coello <i>et al</i> , 2002	0.6-1.2 mg Zn/L	No se detecta daño importante aunque desaparecen algunas especies de protistas
Coello <i>et al</i> , 2002	3 mg Zn/L	Toxicidad. Se observa una retención en flóculo de 2 mg Zn/kg MLSS
Morenilla <i>et al</i> , 2003	LC50: 2 mg Zn/ g MLVSS	Afectación bacteriana
Majid, 2010	81 mg Zn/L	Se reduce la diversidad de 16-9 especies y la densidad en un 80 % entre los protistas del fango activo
Majid, 2010	145 mg Zn/L	Solo dos especies de protistas sobreviven a esta dosis.
Revitt <i>et al</i> , 2011	0.08-15 mg Zn/L	Microorganismos en general

3.7 VANADIO

Elemento esencial que se usa como aceptor de electrones por algunos organismos y como factor en la nitrificación. Presenta diversos estados de oxidación, siendo el más tóxico el Vn^{5+} .

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Revitt <i>et al</i> , 2011	1-3 mg/L	Microorganismos en general
Kamima y Momba, 2013	110-230 mg/L Vn^{5+}	Afectación bacteriana
Kamima y Momba, 2013	60-100 mg/L Vn^{5+}	Afectación protozoaria, siendo <i>Paramecium pútrida</i> el más tolerante (230 mg/L Vn^{5+}) y <i>Aspidisca cicada</i> la más sensible (60 mg/L Vn^{5+})

4.- OTROS TÓXICOS: Detergentes, sales, fenoles, cloro.

En este apartado se recogen experiencias con otros tipos de tóxicos como son los detergentes, las sales y los fenoles.

4.1 DETERGENTES

La entrada de detergentes afecta a la respiración de los organismos presentes en el fango activo, generando una inhibición incompetitiva con distintos grados de bloqueo molecular y desnaturalización de la membrana que en algunos casos puede llegar a ser irreversible.

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Coello <i>et al</i> , 1998	<50 ppm LAS	Recuperación del fango activo en 5 días.
Coello <i>et al</i> , 1998	100 ppm LAS	Letal para el fango activo. Periodo de recuperación de 18-20 días.
Esteban y Tellez, 1992	>10 ppm	Afectan disminuyendo abundancia y diversidad de protistas

Si el vertido de detergentes no excede los 50 mg/L la entrada del mismo produce una activación metabólica en el fango activo para después disminuir la OUR, una vez que el detergente ha actuado. Tras varios días, se produce la recuperación del cultivo por adaptación (Coello et al., 1998). Las especies más resistentes a los vertidos de detergentes son *Opercularia microdiscum*, *Dexiostoma campylum* y *Tetrahymena termophyla*, reduciendo todas ellas su tamaño celular (Esteban y Tellez, 1992)

4.2: FENOLES

Los fenoles no son tóxicos usuales en EDAR urbanas. Sin embargo EDARI del sector petroquímico han conseguido cepas, especialmente resistentes a este tóxico incluyendo capacidad nitrificante gracias a la aclimatación paulatina del cultivo partiendo de un fango activo urbano.

Para Papadimitrioua *et al.*, (2013) *Holophrya sp* es el protista más sensible a este compuesto.

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Papadimitrioua <i>et al.</i> , 2013	<40 mg/L	<i>Blepharisma sp</i>
Papadimitrioua <i>et al.</i> , 2013	< 1 mg/l	<i>Carchesium sp</i> y <i>Epistylis sp</i>

En evaluaciones microbiológicas realizadas por Infante *et al.*, (2012) sobre una EDARI de procesado de crudo con concentraciones de amonio (80-100 mg/L), fenoles (0.5-8 mg/L) e hidrocarburos (3-20 mg/L) se detectaron en los rangos más bajos de la EDARI para estos contaminantes protistas como *Epistylis entzii*, *Podophrya sp.* y *Aspidisca cicada*. Por el contrario en niveles altos proliferaban pequeños flagelados y *Uronema sp* (Figura 7).

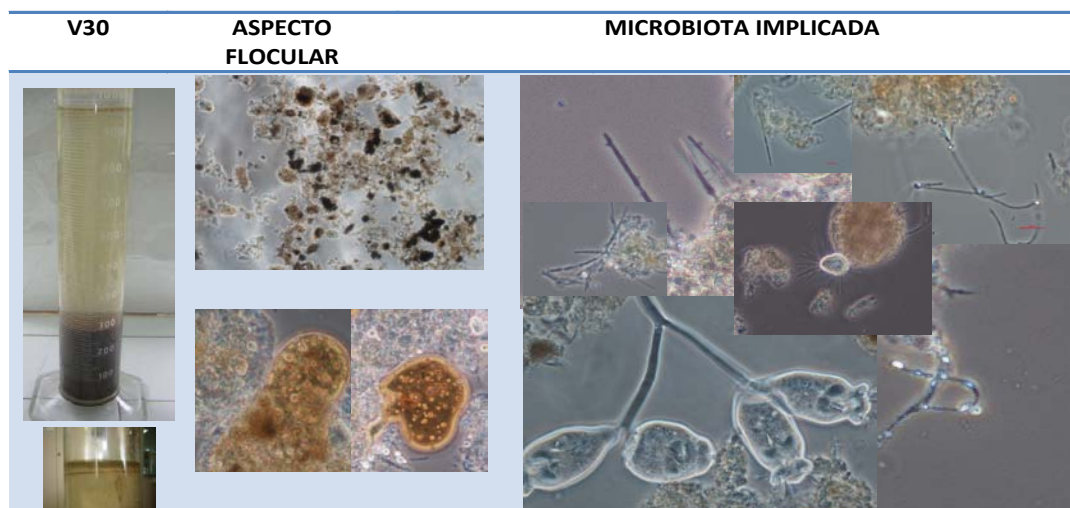


Figura 7: Caracterización biológica de una EDARI de procesado de crudos con altos niveles de fenoles.

4.3 SALES

La presencia de cloruros pueden tener origen en la empresa farmacéutica, química, industria del petróleo, cárnicas, queserías,... o por infiltraciones.

AUTOR	CONCENTRACIÓN	OTRAS OBSERVACIONES
Salvado, 2001	Incrementos de 3 a 10 mg Cl ⁻ /L	Afectación directa de la microbiota.
Bassin <i>et al</i> , 2011	>20 mg Cl ⁻ /L	Es posible la aclimatación de <i>Nitrosomas</i> .

En Bassin *et al*, (2011) se describe cómo se consigue aclimatar un cultivo de fango activos desde 0 a 13 mg NaCl/L a lo largo de 6 meses, siendo el efecto más patente el aumento de densidad del flóculo. Tras esta aclimatación la microbiota responde favorablemente a un choque de 20 mg NaCl/L.

La adición progresiva de los cloruros genera la proliferación de *Opercularia sp* y amebas enquistadas, junto con un proceso de desfloculación; este proceso permite el desarrollo de *Paramecium sp* y *Acineria sp* que aprovechando el nivel de bacterias levemente adheridas al flóculo aumentan su población. (Portillo y Moral, 2014).

Efectivamente, la adición progresiva de cloruros permite la aclimatación bacteriana, incluidas las bacterias nitrificantes, sin embargo puede llegar a eliminar todos los protistas y micrometazoos. En seguimientos realizados por GBS en una EDARI del sector farmacéutico con proceso de nitrificación-desnitrificación, se consiguió una aclimatación de un fango activo de EDAR urbana aumentando gradualmente la concentración de cloruros. Estos se mueven en un rango que va de 1500 ppm hasta 6000 ppm.

Tal como puede apreciarse la figura 8, la diversidad de protistas es siempre muy escasa. Si bien la depuración es correcta se mantiene una gran concentración de MLSS en el sistema, ya que hay un alto grado de inactividad en el fango activado.

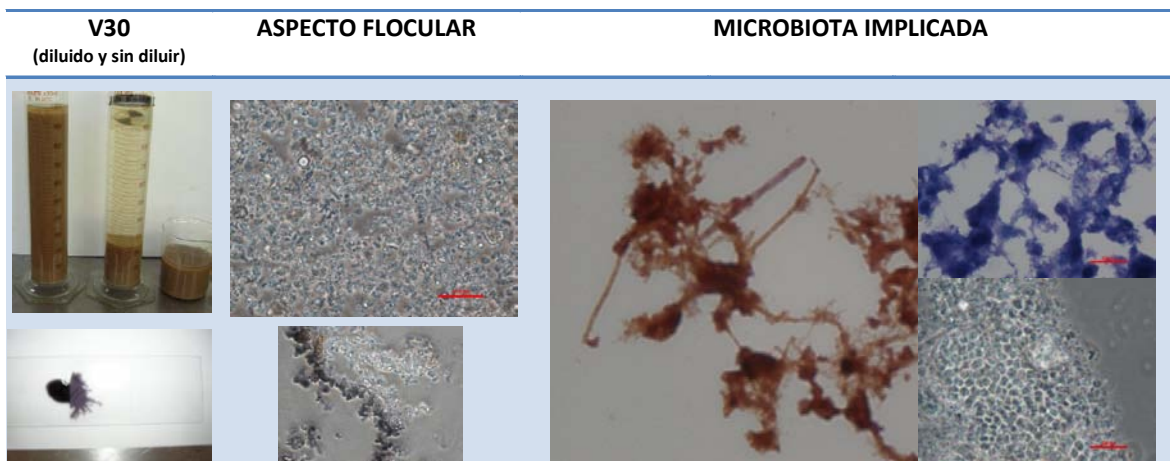


Figura 8: Caracterización biológica de una EDARI de farmacéutica con altos niveles de cloruros.

5.- CONCLUSIONES

En el devenir diario de una EDAR, es en muchos casos difícil evaluar un vertido y compararlo con el efecto de otro suceso similar o no ya que depende de diversos factores como: duración del vertido, probabilidad de repetición, tipo de vertido, nivel de incidencia y daños sobre el efluente. En función del tipo de vertido se podrían tener en cuenta las siguientes actuaciones generales:

ORIGEN	PROBLEMÁTICA	ACTUACIONES
TÓXICOS ÁCIDOS O BÁSICOS. ácidos (pH inferior a 6.5) básicos (pH superior a 8.5)	Destrucción del cultivo en función del pH y duración	Para casos más graves sería necesario plantearse la neutralización del pH antes de decantación primaria y control exhaustivo de la microbiología para comprobar si existen daños en la microbiota, en cuyo caso se aumentará la consigna de oxígeno para aumentar la actividad microbiana.
TÓXICOS INORGÁNICOS TIPOS ARENAS O LIMOS	Los daños detectados podrían ser principalmente colmatación y corrosión Posible efecto de filtrado de la materia orgánica que pudiera hacer este tóxico en decantación primaria	Las medidas encaminadas a controlar estos tóxicos van desde la puesta en marcha de todos los canales desarenadores hasta el aumento de purga en decantación primaria para evitar concentraciones muy elevadas en fangos primarios. Disminuir los MLSS en el reactor y reducir la aireación para ajustarla lo máximo posible a la carga afluente.
TÓXICOS ORGÁNICOS	Deficit de depuración por sobrecarga orgánica Deficit o disminución de la transferencia de oxígeno en el reactor aeróbico	Aumento de los MLSS en el reactor biológico y aumento de la aireación para ajustarla lo máximo posible a la carga afluente. Para el caso concreto de las grasas aumentar al máximo el funcionamiento de desengrasado
TÓXICOS INTERNOS	El efecto floculante/coagulante de estas sustancias podría actuar reduciendo la carga orgánica al reactor aerobio por reacción en la decantación primaria.	Aumento de purga en decantación primaria para evitar concentraciones muy elevadas en fangos primarios. Disminuir los MLSS en el reactor y reducir la aireación para ajustarla lo máximo posible a la carga afluente.
ORIGEN	PROBLEMÁTICA	ACTUACIONES
TÓXICOS QUÍMICOS	Destrucción del cultivo en función del tóxico y duración; Ante tóxicos consecutivos puede producirse toxicidad bioacumulativa	Una vez entrado el tóxico químico es necesario regenerar el fango retirando mayor cantidad de fangos flotados para evitar procesos de toxicidad bioacumulativa. Plantearse proceso F-Q en pretratamiento para intentar retirar antes de decantación primaria la mayor parte del tóxico. Control exhaustivo de la microbiología para comprobar que no existen daños en la microbiota, en cuyo caso se aumentará la consigna de oxígeno para aumentar la actividad microbiana. Revisar concentración MLSS.

Bibliografía

- Bassin, J.P., Kleerebezem, R., Muyzer, G., Soares, A., van Loosdrecht, M. & Dezotti, M. (2011). Effect of different sal adaptation strategies on the microbial diversity activity and

settling of nitrifying sludge in sequencing batch reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 9 Julio 2011. DOI 10.1007/s00253-011-3428-7.

- Carrasco C., Rodríguez, E. y Moral, A. (2015) Estudio de viabilidad con distintos materiales para su función como medios de soporte en el tratamiento biológico y aerobio de las aguas residuales. *Bioasia*. Nº 4. Marzo 2015.
- Chaudhry, R & Shakoori, AR. (2011). Characterization of copper resistant ciliates: Potential candidates for consortia of organisms used in bioremediation of wastewater. *African Journal of Biot.* Vol 10, No 45.
- Cheng, L., Li, X., Jiang, R., Wang, C. & Yin, H-b. (2011) Effects of Cr(VI) on the performance and kinetics of the activated sludge process. *Bioresource Technology*. Volume 102, Issue 2, January 2011.
- Coello M.D., Sales, D., y Quiroga, J.M.; (1998) Influencia del tensioactivo anionico (LAS) sobre la actividad de la microbiota de los lodos activos · *Ing, del Agua*. VOL. 5 · Nº 4 Diciembre 1998.
- Coello M.D., Sales, D., y Quiroga, J.M.; (2002) Efectos tóxicos de los metales sobre la actividad microbiana del sistema de lodos activos. *Ingeniería del Agua* · VOL. 9 · Nº 3 Septiembre 2002.
- Esteban, G. & Tellez, C. (1992). The influence of detergents on the development of ciliate communities in activated sludge. *Water, Air and Soli Poll.* Nº 61.
- Gasperia, J., Garnaudb, S., Rocherc, V. & Moillerona, R. (2008). Priority pollutants in wastewater and combined sewer overflow. *Science of the total environment*. 407 263-272.
- Hughes, T & Gray, N. F. (2012). Acute and Chronic Toxicity of Acid Mine Drainage to the Activated Sludge Process. *Mine Water and the Environment*. March 2012, Volume 31, Issue 1.
- Infante, P. (2012). Optimización del rendimiento depurativo de una planta de tratamiento biológico de efluentes de la industria química. VIII Jornadas de Transferencia de Tecnología sobre Microbiología del Fango Activo (Sesión on line). ISBN: 978-84-695-8114-8.
- Kamika, I & Momba, M. (2013) Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater. *BMC Microbiology* 2013, 13:28.
- Klimek, B., Fyda, J., Pajdak-Stós, A., Kocerba, V.m Fialkowska, E. & Sobezyk, M. (2012). Toxicity of ammonia nitrogen to ciliates protozoa *Stentor Coeruleus* and *Coleps hirtus* isolated from activated sludge of wastewater treatment plants. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 89. DOI 10.1007/s00128-012-0816-3.
- Madoni P. 1994. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Wat. Res.* 28 (1): 67-75.

- Madoni, P. (2011). Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview. *Italian Journal of Zoology*. Volume 78, Issue 1.
- Madoni, P., Davoli, D. Gorvi, G & Vescosi, L. (1996). Toxic effect of heavy metal on the activated sludge protozoan community. *Wat. Res.* 30 (1).
- Majid, S. (2010). Experimental studies on effect of Heavy Metals presence in Industrial Wastewater on Biological Treatment. *International Journal of Environmental Sciences*.
- Morenilla, J.J., Bernacer, I., Santos, J.M. y Martínez, M.A. (2003). Estudio respirométrico de la inhibición en el proceso de lodos activados por la presencia de metales pesados y cianuros. *Tecnología del agua*. Nº 234. Marzo 2003
- Nicolau, A., Martins, MJ. Mota, M. y Lima, N (2005). Effect of copper in the protistan community of activated sludge. *Chemosphere* 58.
- Oliveira, G., Pires, J. A., Cardoso da Silva, I., da Costa, D., Domingos da Silva, I. & Araujo, M. *Lat. Am. J. Aquat. Influence of copper on Euplotes sp. and associated bacterial population. Lat. Am. J. Aquat. Res., 42(2): 381-385, 2014. DOI: 10.3856.*
- P. Infante, E. Rodríguez, A. Moral, A. Tijero y M. D. Hernández. Microbiologic study in paper industries water treatment plants. (Comunicación oral). *Paradigms for the pulp and paper Industry in the XXI Century: Opportunities for a Sustainable Future. ANQUE 2012. Sevilla. 24-27 de Junio de 2012.*
- Papadimitriou, C.A., Petridis, D., Zouboulis, A. I., Samaras, P., Yiangoud, M., & Sakellariopoulou, G. P. (2013). Protozoans as indicators of sequential batch processes for phenol treatment; an autoecological approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 98, 1 December 2013.
- Portillo, M. J. y Moral, A. (2014). Influencia de la salinidad en la microbiota de una planta piloto. *Biosaia*. nº3 (abril de 2014).
- Rehman A, Ashraf S, Qazi JI, & Shakoori AR (2005) Uptake of lead by a ciliate, *Stylonychia mytilus*, isolated from industrial effluents: Potential use in bioremediation of wastewater. *Bull Environ Contam Toxicol*, 75.
- Revitt, J. Eriksson, E., & Donner, E. (2011). The implications of household greywater treatment and reuse for municipal wastewater flows and micropollutant loads. *Water Res.* Vol 45.
- Rodríguez, E., Fernández E., e Infante P. (2014) Casos prácticos de procesos de bulking viscoso. X Jornadas de Transferencia de Tecnología sobre Microbiología del Fango Activo. (EXPOSICIÓN Y/O POSTER título de la misma). ISBN: 978-84-697-1426-3. DEPÓSITO LEGAL: SE 1854-2014. Editorial: GBS.
- Salvadó H., Mas, M., Menéndez, S, & Gracia, P. (2001). Effects of shock of salt on protozoan communities of activated sludge. *Acta Protozool.* 01/2001; 40(3).
- Santos, L., Rodríguez, E. y Moral, A. (2015). Efecto del tóxico de lodos de limpieza de alcantarillado en una EDAR piloto. *Biosaia*. Nº 4. Marzo 2015.

- Serrano, S. y Arregui, L. (2014). Evolución de los parámetros biológicos indicadores en el control de las depuradoras de aguas residuales con sistemas de fango activo. Jornadas de Transferencia de Tecnología sobre Microbiología del Fango Activo. ISBN: 978-84-697-1426-3. DEPÓSITO LEGAL: SE 1854-2014. Editorial: GBS.
- Shuttleworth, K.L. & Unz, R. f. (1988). Growth of filamentous bacteria in presence of heavy metals. *Wat. Sci. Technol.* 20.
- Vaiopoulou, E. & Gikas, P. (2012). Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: A review. *Wat. Res.* Volume 46, Issue 3, 1 March 2012
- Yuan, L., Zhi, W., Liu, Y., Karyala, S., Vikesland, P. J., Chen, X., & Zhang, H. Lead (2015) Toxicity to the Performance, Viability, And Community Composition of Activated Sludge Microorganisms. *Environ. Sci. Technol.*, 49 (2).
- Zheng, X-y., Wang, M-y Chen, W., Ni, M., Chen, Y., & Cao, S-l. (2015) Effect of Cr(VI) on the microbial activity of aerobic granular sludge. *Desalination and Water Treatment*. DOI:10.1080/19443994.2015.1016457