

CULTIVAREA ALGELOR *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER, *SYNECHOCYSTIS SALINA* WISL., *PHORMIDIUM FOVEOLARUM* (MONT.) GOM. ȘI *TRIBONEMA VIRIDE* PASCH. PE MEDII CU ADAOS DE APE REZIDUALE ORĂȘENEȘTI

Natalia DONȚU

Universitatea de Stat din Moldova

Pentru cultivarea speciilor de alge (*Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride*) au fost utilizate mediile cu adaos de ape reziduale de la Stația de Epurare Biologică, în concentrații de la 1 la 50%. Pentru fiecare specie au fost stabilite concentrațiile optime ale mediilor de cultivare. Cea mai înaltă cantitate de biomasă a fost obținută după 10-15 zile de cultivare. Pentru specia *Chlorella vulgaris* cel mai favorabil s-a dovedit a fi mediul cu adaos de 5% (17,55 g/l), pentru *Synechocystis salina* mediul cu adaos de 20% (16,56 g/l), pentru *Phormidium foveolarum* – mediul cu adaos de 10% (3,36 g/l), iar pentru *Tribonema viride* – mediul cu adaos de 30% (2,10 g/l).

Cuvinte-cheie: alge, ape reziduale, mediu de cultivare, mediu optimal, biomasă.

CULTIVATION OF THE ALGAE *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER, *SYNECHOCYSTIS SALINA* WISL., *PHORMIDIUM FOVEOLARUM* (MONT.) GOM. AND *TRIBONEMA VIRIDE* PASCH IN MEDIA WITH ADDED MUNICIPAL WASTEWATERS

For the cultivation of algae species (*Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, *Phormidium foveolarum* and *Tribonema viride*) were used media with added of wastewater from Biological Wastewater Treatment Plant in the range of 1 to 50%. For each species were set to its optimum cultivation media. The best results were obtained after 10-15 days of cultivation. The highest amount of biomass of the species *Chlorella vulgaris* was at the 5% medium (17.545 g/l), for the species *Synechocystis salina* peak was on average with 20% (16.556 g/l), *Phormidium foveolarum* – medium with added 10% (3.36 g/l), and for the species *Tribonema viride* – the 30% medium (2.1 g/l). Common to all species was the medium with added to 10% of the waste water, but the obtained results vary from case to case.

Keywords: algae, wastewaters, cultivation medium, biomass, optimal medium.

Introducere

Apele reziduale se caracterizează printr-un conținut înalt de elemente biogene, care pot contribui la mărirea productivității algelor, considerent din care ele pot servi în calitate de medii de cultivare [7,9]. Efluenții de apă provenite de la stațiile de epurare conțin o cantitate mare de nutrienți (azot, fosfor ș.a.) și deversarea lor directă în bazinele acvatice poate duce la eutrofizarea acestora [6,8]. Pentru diminuarea nivelului de eutrofizare se poate implementa tratarea „terțiară” cu ajutorul algelor [1,4]. Biomasă algală crescută pe ape reziduale poate să conțină cantități suficiente de principii biologice active și chiar să depășească uneori cantitatea lor din unele plante de cultură [2,5,13].

Speciile de alge se dezvoltă pe diferite concentrații de ape reziduale. De exemplu, speciile cianofite din genurile *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Synechocystis*, *Nostoc*, *Spirulina* ș.a. se dezvoltă în mediile cu adaos de ape reziduale cu concentrațiile de la 5 până la 25% [2]. Clorofitele sunt mai tolerante la ape reziduale, spre deosebire de cianofite. Unele specii din genurile *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Dunaliella*, *Kirchneriella* etc. preferă mediile cu adaos de ape reziduale de la 1 până la 40% [3,11]. Algele macrofite, conform datelor de ultimă oră din literatură, se dezvoltă foarte bine în mediile cu adaos de 10% și 25% ape reziduale, iar limita de toleranță față de adaos de ape reziduale este de 50%. Odată cu creșterea concentrației de ape reziduale este inhibată dezvoltarea algelor și se reduce la minimum capacitatea de asimilare a azotului și fosforului din apă [10].

Scopul cercetărilor noastre a fost de a stabili concentrațiile de ape reziduale optime pentru dezvoltarea speciilor *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride* și de a stabili cantitatea maximală de biomasă acumulată de fiecare specie în parte.

Material și metode

Cercetările au fost efectuate în LCS „Algologie” al USM. Ca obiect de cercetare au servit speciile de alge *Synechocystis salina*, *Chlorella vulgaris*, *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride*. Primele trei specii se întâlnesc predominant în bazinele Stației de Epurare Biologică a mun. Chișinău, cu excepția celei din urmă, care preferă bazinele cu apă mai puțin poluată din treptele finale de epurare. Speciile de alge au fost selectate

în culturi algologic pure și cultivate în condiții de laborator pe medii minerale, care prezentau probele-martor, și pe mediile cu adaos de ape reziduale de diferit procentaj. Apa reziduală, utilizată în experimentele propuse, a fost prelevată din colectorul de la ieșirea din Stația de Epurare Biologică. Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic [14].

Rezultate și discuții

Unul dintre scopurile propuse în experiențele de cultivare a fost stabilirea concentrațiilor optime de ape reziduale orășenești. Pentru fiecare specie apa reziduală utilizată la cultivare a fost prelevată separat și în zile diferite, de aceea există mici diferențe în compoziția chimică. Cantitatea ionului NH_4^+ variază de la 52,3 până la 79,7 mg/l în proba de 100%, iar cantitatea ionului nitrat oscilează între 0,5 și 0,66 mg/l. Concentrația ionului de nitrit în toate seriile de experimente este cuprinsă între 0,039 și 0,11 mg/l. Concentrația ionului de fosfat a avut valori cuprinse între 0,12 și 0,83 mg/l.

Culturile algale de *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride* au fost crescute inițial timp de 10 zile pe medii cu adaos de 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 75 și 100% ape reziduale colectate de la ieșirea din Stația de Epurare Biologică. În variantele cu adaos de 75 și 100% ape reziduale nu a supraviețuit nicio specie inoculată, cauza fiind concentrația înaltă de substanțe chimice. În fiecare caz concret ce ține de specie au fost alese câte trei tipuri de medii cu adaos de ape reziduale, pe care fiecare din culturile de alge a obținut valori mari ale cantității de biomasă.

Din datele prezentate în Figura 1 putem constata că pentru cultura de *Chlorella vulgaris* cele mai optimale medii de creștere sunt cele cu adaos de 1, 5 și 10%. Microalga cianofită *Synechocystis salina*, spre deosebire de chlorelă, preferă mediile cu concentrații mai mari de substanțe chimice, și anume: acelea cu 10, 15 și 20% ape reziduale orășenești. Deși este o algă filamentoasă, pentru creșterea și dezvoltarea speciei *Phormidium foveolarum* pot fi utilizate aceleași medii ca și pentru cultura de *Synechocystis salina*. *Tribonema viride* este o specie de talie mai mare și, probabil, de aceea se dezvoltă bine și pe concentrații mai mari de ape reziduale. Cele mai bune rezultate au fost stabilite în variantele cu adaos de 10, 30 și 50% ape reziduale orășenești, unde cantitatea de biomasă a variat de la 1,70 până la 2,00 g/l.

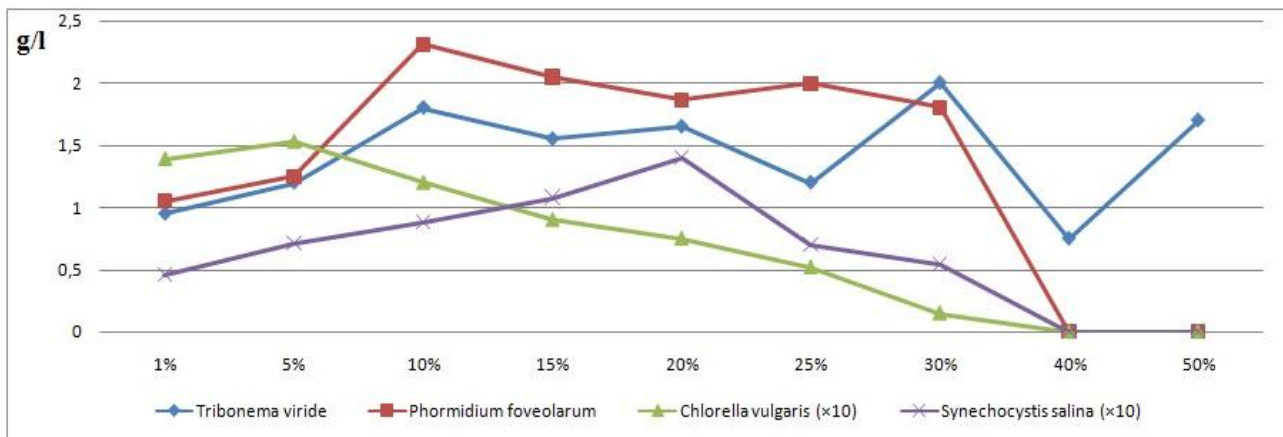


Fig.1. Cantitatea de biomasă (g/l) de *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride* crescute pe medii cu adaos de ape reziduale (pentru speciile *Chlorella vulgaris* și *Synechocystis salina* rezultatele sunt micșorate de 10 ori).

Un alt scop al cercetărilor noastre a fost de a evidenția mediul optimal pe care aceste culturi de alge pot produce cea mai mare cantitate de biomasă algală și perioada optimă de cultivare. Pentru realizarea lui am efectuat experiențe de cultivare timp de 20 zile cu tulpinile de alge sus-menționate.

Pentru specia *Chlorella vulgaris* toate trei medii selectate au fost favorabile pentru dezvoltare. Însă, din datele prezentate în Figura 2, observăm că cea mai mare valoare a cantității de biomasă algală a fost stabilită în mediul cu adaos de 5% ape reziduale ($17,55 \pm 1,72$ g/l) în a 15-a zi de cultivare. Această cantitate de biomasă obținută este de 1,63 ori mai mare decât în proba-martor (mediul mineral Tamia).

În variantele cu 1 și 10% adaos de ape reziduale cantitatea de biomasă a crescut treptat până în a 15-a zi de cultivare și depășește cantitatea de biomasă obținută în urma cultivării pe mediul Tamia.

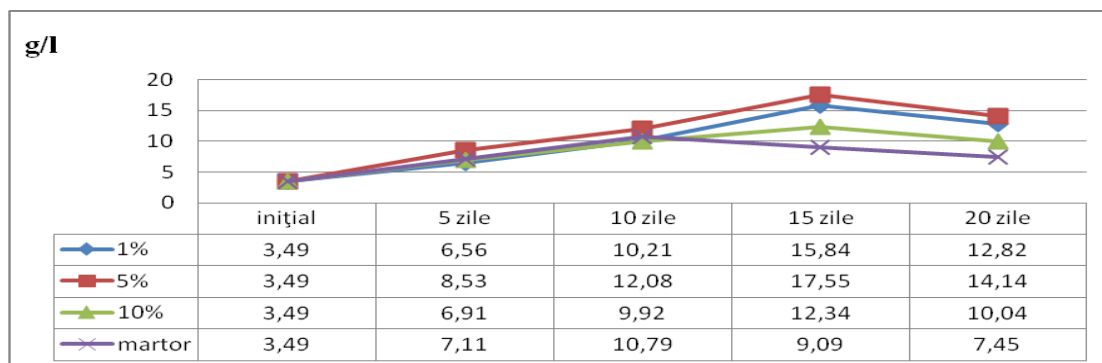


Fig.2. Cantitatea de biomasă (g/l) de *Chlorella vulgaris* crescută pe medii cu adaos de ape reziduale orășenești.

La cultivarea algei *Synechocystis salina* cu biomasa inițială de $2,86 \pm 0,66$ g/l, cea mai înaltă productivitate a fost obținută, ca și în cazul precedent, la a 15-a zi, doar că în mediile cu concentrația de 20% ape reziduale – $16,56 \pm 3,70$ g/l (Fig.3). Cele mai mici valori au fost constatate la cea de a 5-a zi de cultivare în varianta cu adaos de 15% ape reziduale – $4,76 \pm 0,68$ g/l biomasă algală.

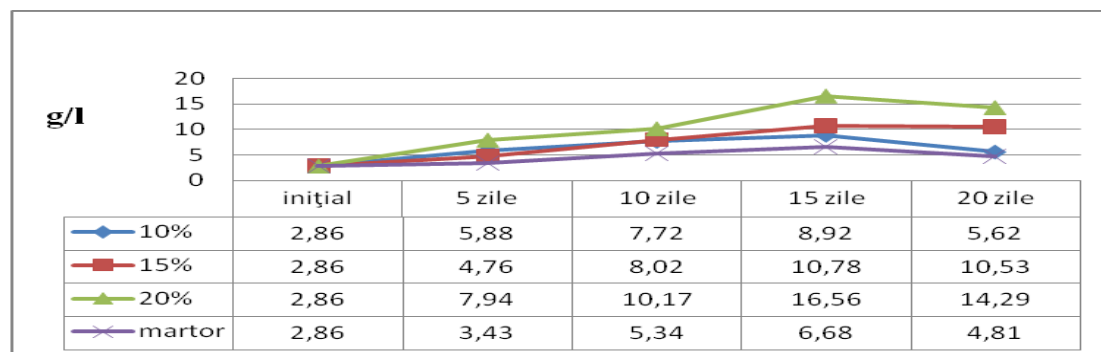


Fig.3. Cantitatea de biomasă (g/l) de *Synechocystis salina* crescută pe medii cu adaos de ape reziduale orășenești.

În proba-martor pe mediul Bristol cantitățile de biomasă au fost mai mici, spre deosebire de probele cu adaos de ape reziduale. Cantitatea maximă de biomasă este acumulată la a 15-a zi, fiind estimată la $6,68 \pm 2,52$ g/l.

Specia *Phormidium foveolarum* a fost cultivată pe medii asemănătoare cu cele pe care a fost cultivată specia *Synechocystis salina*, însă rezultatele obținute diferă. Datele prezentate în Figura 4 atestă o oscilare a cantității de biomasă algală acumulate în urma cultivării speciei *Phormidium foveolarum* pe aceste tipuri de medii nutritive cu adaos de ape reziduale. Cele mai mari cantități de biomasă algală au fost obținute tot la a 15-a zi de cultivare, însă după 20 de zile cantitatea de biomasă scade. Cantitatea maximală de biomasă a fost stabilită în mediul nutritiv cu adaos de 10% ape reziduale – $3,36 \pm 0,035$ g/l, ceea ce este cu 40% mai mult față de cantitatea maximală obținută pe mediul nutritiv chimic Gromov 6 ($2,00 \pm 0,048$ g/l). Cele mai mici cantități de biomasă au fost stabilite în primele zile de cultivare, datorită perioadei de adaptare la aceste condiții.

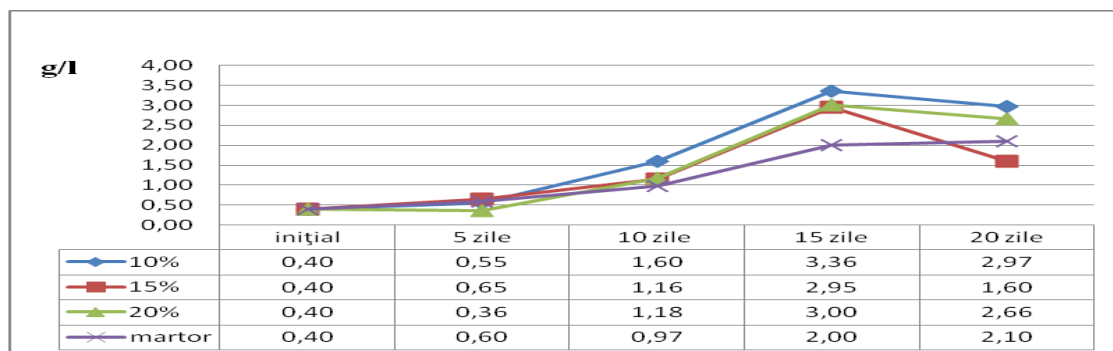


Fig.4. Cantitatea de biomasă (g/l) de *Phormidium foveolarum* crescută pe medii cu adaos de ape reziduale orășenești.

În variantele cu adaos de 15 și 20% ape reziduale variația cantității de biomasă nu a fost radicală. Valorile ei au crescut treptat până la a 15-a zi de cultivare și au depășit evident cantitatea de biomasă obținută de pe proba-martor.

Asemănător ca și la specia *Phormidium foveolarum*, pe mediul cu adaos de 10% ape reziduale s-au obținut rezultate înalte la cultivarea speciei *Tribonema viride* (Fig.5). Analizând cantitatea de biomasă acumulată în perioada de cultivare, putem constata că, spre deosebire de celelalte specii implementate în experiențele de cultivare, cea mai mare cantitate a fost depistată la a 10-a zi în lotul cu 30% ape reziduale ($2,10 \pm 0,03$ g/l).

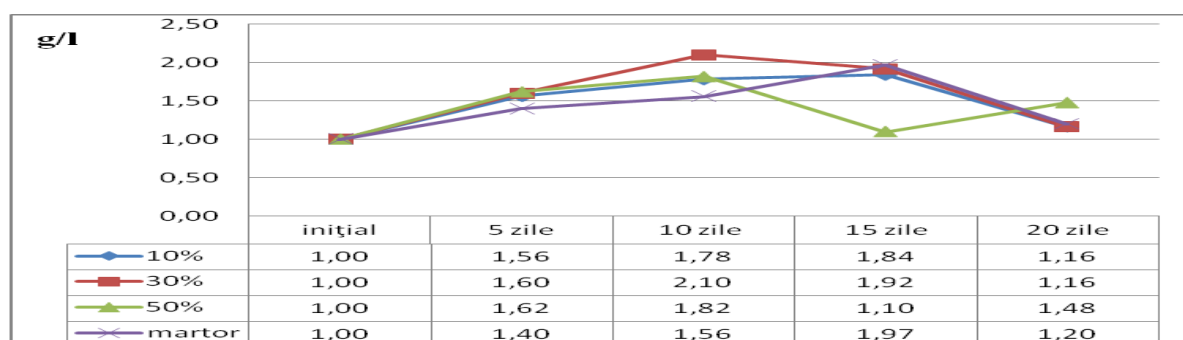


Fig.5. Cantitatea de biomasă (g/l) de *Tribonema viride* crescută pe medii cu adaos de ape reziduale orășenești.

În lotul cu 50% ape reziduale rezultatele obținute au fost mai slabe, în unele cazuri chiar și față de proba-martor (mediul chimic Tamia), fapt ce se datorează dezvoltării intense a multor specii de clorofite pe lângă cultura inoculată.

Deși comun pentru cele patru specii algale a fost mediul de cultivare cu 10% adaos de ape reziduale și perioada optimă de 10-15 zile, rezultatele au fost diferite: pentru specia *Chlorella vulgaris* cantitatea de biomasă a crescut cu 71,68% față de cantitatea inoculată; în cazul speciei *Synechocystis salina* – cu 67,91%. Rezultat maximal a fost obținut la cultivarea speciei *Phormidium foveolarum* (88,10%), iar rezultat minimal – la cultivarea speciei *Tribonema viride* (45,65%).

Concluzii

1. Pentru cultivarea speciilor *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride* pot fi utilizate mediile cu adaos de ape reziduale în intervalul 1-50%, iar perioada de 10-15 zile este optimă pentru cultivarea acestor specii.
2. În urma cultivării speciei *Chlorella vulgaris* cele mai bune rezultate au fost obținute în mediul cu 5% adaos de ape reziduale (17,55 g/l), iar pentru specia *Synechocystis salina* cantitatea maximală de 16,56 g/l a fost stabilită în mediul cu adaos de 20%. La cultivarea speciilor filamentoase *Phormidium foveolarum* și *Tribonema viride* cele mai bune rezultate au fost obținute în probele cu mediul de 10% și, respectiv, de 30% ape reziduale.
3. Comun pentru toate speciile a fost mediul cu adaos de 10% ape reziduale, însă rezultatele obținute diferă de la caz la caz. Cele mai bune rezultate au fost stabilite la cultivarea speciei *Phormidium foveolarum*, iar cantitatea minimă a fost constatată în variantele cu inoculat de *Tribonema viride*.

Bibliografie:

1. CONG-FA, Y., ZHONG-YANG, D., KE-CHANG, Zh. Growth of *Chlorella pyrenoidosa* in wastewater from Cassava ethanol fermentation. In: *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, no.24, p.2919-2925.
2. GLUCK, S. Producing fuels and chemicals from algae and the intersection of the water industry. In: *Water Environment Federation proceeding of the Water Environment Federation WEFTEC*, 2009, p.7916-7922.
3. GONZALEZ, C., MARCINIAK, J., VILLAVARDE, S., GARCIA-ENCINA, P. and MUÑOZ, R. Microalgae – based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters. In: *Applied microbiology and biotechnology*, 2008, vol.80, p.891-898.
4. GONZÁLEZ, L.E., CAÑIZAREZ, R. and BAENA, S. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. In: *Journal Bioresource Technology*, 1997, no.60, p.259-262.

5. MULBRY, W., KONDRAD, H., BUYER, J. Treatment of dairy and swine manure effluents using freshwater algae: fatty acid content and composition of algal biomass at different manure loading rates. In: *Journal of Applied Phycology*, 2007, no.109, p.18-924.
6. PARK, J., CRAGGS, R., SHILTON, A. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. In: *Bioresource Technology*, 2011, no.102, p.35-42.
7. QUN, W., ZHIQUAN, H, GENBAO, L, BO, X., HAO, S., MEIPING, T. Removing nitrogen and phosphorus from simulated wastewater using algae biofilm technique. In: *Environ. Sci. Engin.*, 2008, no.2(4), p.4467-451.
8. SRIRAM, S., SEENIVASAN, R. Microalgae Cultivation in Wastewater for Nutrient Removal. In: *J. Algal Biomass Utiln*, 2012, no.3 (2), p.9-13.
9. ȘALARU, V.M., ȘALARU, V.V. Utilizarea apelor reziduale de la complexele zootehnice în scopul obținerii biomasei furajere. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe ale naturii”*, 2008, nr.1, p.47-55.
10. TROFIM, A. *Evaluarea stării ecologice a râului Cogâlnic și elaborarea metodelor de epurare a apei / Autorefer. tezei de doct. în biol.* Chișinău, 2013. 30 p.
11. VALSAMMA, J., AMMINI, J. Algae in the assessment of industrial wastewater holdings ponds. In: *Journal Water, Air and Soil Pollution*, 2001, no.132, p.251-261.
12. ДЁГЕ, А. *Альгофлора сточных вод живодноводческих комплексов и ее значение в процессах биологической очистки / Дисс. канд. биол. наук.* Кишинев, 1983. 280 с.
13. МАКАРОВА, Е.И., ОТУРИНА, И.П., СИДЯКИН, А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей – обитателей водных экосистем. В: *Экосистемы, их оптимизация и охрана*, 2009, вып. 20, с.120-133.
14. СИРЕНКО, Л.А., САКЕВИЧ, А.И., ОСИПОВ, Л.Ф. *Методы физиолого–биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике.* Киев: Наукова думка, 1975. 248 с.

Prezentat la 04.10.2013