



Aclimatación de un lodo nitrificante para la eliminación de 2-clorofenol

Emmanuel Pérez-Alfaro*, Gehovana González-Blanco*, Edgar Sierra-Palacios**, Jaime Marcial-Quino***, David Silva-Luna**** y Ricardo Beristain-Cardoso****

*Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F. **Academia de Biología. Colegio de Ciencias y Humanidades, Universidad Autónoma de la Ciudad de México. ***Cátedras CONACyT: Laboratorio de Bioquímica Genética, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, México. ****Departamento de Recursos de la Tierra, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Edo, México. Email: emmabiotec@hotmail.com, beristain_3@yahoo.com.mx

Palabras clave: Aclimatación, 2-clorofenol, DGGE, nitrificación.

Introducción. El 2-clorofenol (2-CP) es un contaminante recalcitrante que puede estar presente en el agua, aire y suelo. Con el fin de eliminarlo de las aguas residuales varios procesos biológicos se han estudiado. Se ha observado en cultivos en lote que 5 mg/l de 2-CP afectan fuertemente la nitrificación, ya que en un periodo de 30 días, solo 10% de amonio (NH_4^+) es consumido y no se observa consumo de 2-CP⁽¹⁾. En cultivos aerobios aclimatados a una mezcla de compuestos fenólicos se reportó la eliminación de amonio y compuestos fenólicos⁽²⁾. Por lo anterior, sería importante estudiar si el proceso de aclimatación permite la eliminación de 2-CP sin pérdida de la capacidad nitrificante.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del 2-CP sobre un lodo nitrificante no aclimatado (L_{NA}) y otro aclimatado (L_A) a *p*-cresol (4-*p*c). La electroforesis en gel por gradiente de desnaturalización (DGGE) fue empleada para observar las variaciones en la comunidad microbiana.

Metodología. Se utilizó un lodo nitrificante cultivado en un reactor continuo de tanque agitado (R-1) para inocular un segundo reactor (R-2). El R-1 (L_{NA}) se alimentó con N-NH_4^+ , y el R-2 (L_A) con N-NH_4^+ y *p*-cresol. Se realizaron ensayos en lote de 120 horas de cultivo con botellas serológicas de 160 ml, y 100 ml de volumen de trabajo. El pH se ajustó a 7,5, el espacio de cabeza y la fase líquida se airearon con oxígeno puro durante 4 minutos. Las variables de respuesta para evaluar el cultivo fueron: Eficiencia de consumo de amonio ($E_{N-NH_4^+}$), rendimiento de producción de nitrato ($Y_{N-NO_3^-}$), velocidades específicas de consumo de N-NH_4^+ ($q_{N-NH_4^+}$), NO_3^- -N ($q_{N-NO_3^-}$) y 2-CP (q_{2-CP}) y fases de retardo (λ). Por DGGE se corrieron los productos de PCR obtenidos usando los primers Bac-968f y Bac-1401r. De acuerdo a Silva y col.⁽²⁾ se determinó amonio, nitrito, nitrato, carbono orgánico total y proteína microbiana. El 2-CP se cuantificó por HPLC. El pH y oxígeno disuelto se midieron utilizando electrodos selectivos.

Resultados. El lodo del reactor R-1, presentó una $E_{N-NH_4^+}$ del 100%, con $Y_{N-NO_3^-}$ de $0,96 \pm 0,02$. En R-2 el *p*-cresol fue mineralizado y las $E_{N-NH_4^+}$ y E_{4p-c} fueron de $100\% \pm 4,0$ y $95 \pm 5,0\%$, respectivamente, con $Y_{N-NO_3^-}$ $0,95 \pm 0,03$. En los ensayos en lote, el L_{NA} no fue capaz de nitrificar ni consumir 2-CP. En contraste, el L_A mostró consumo de NH_4^+ , producción de NO_3^- , formación transitoria de nitrito y consumo total 2-CP. No se detectó carbono orgánico, lo

que sugirió que el 2-CP se mineralizó. Las $q_{N-NH_4^+}$ y $q_{N-NO_3^-}$ fueron de 18 y 6 veces menores con respecto a los ensayos sin 2-CP (Tabla 1). No obstante, se obtuvieron eficiencias altas de consumo de NH_4^+ y 2-CP.

Tabla 1. Variables de respuesta obtenidas en los ensayos en lote.

Variable de respuesta	Bioensayos			
	Lodo (L_{NA})	Lodo (L_A)	Lodo (L_{NA}) con 2-CP	Lodo (L_A) con 2-CP
$E_{N-NH_4^+}$	100	100	0.0	100
$Y_{N-NO_3^-}$	1.02 ± 0.02	1.02 ± 0.03	0.0	0.92 ± 0.04
λ (h) $N-NH_4^+$	0.0	0.0	---	12.19
λ (h) 2-CP	---	---	---	74.28
$q_{N-NH_4^+}$	193 ± 8.0	106 ± 6.0	---	6.3 ± 1.0
q_{2-CP}	---	---	---	0.36 ± 0.03
$q_{N-NO_3^-}$	94 ± 7.0	67 ± 5.0	---	11 ± 2.0

El análisis de DGGE (Figura 1) muestra siete bandas con alta intensidad en R-1. Esas bandas se atribuyeron a bacterias nitrificantes. En R-2, se identificaron seis bandas con alta intensidad. Tres de ellas (flechas discontinuas) se conservan como en R-1, lo que muestra que la adición de *p*-cresol no afectó estas poblaciones microbianas. Se observaron también nuevas bandas (A-1, A-2 y A-3) que se atribuyeron a la proliferación de bacterias heterótrofas.

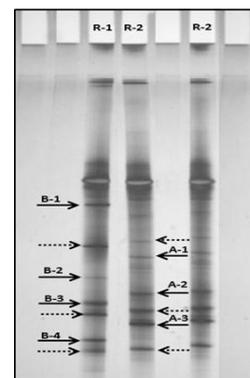


Figura 1. Patrones de bandas obtenidas por DGGE.

Conclusiones. El proceso de aclimatación fue crucial para la eliminación de 2-CP sin pérdida nitrificante. Los cambios en la comunidad fueron esenciales para la eliminación de 2-CP. La DGGE aportó pruebas rápidas sobre la dinámica poblacional. Esta información es relevante para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con nitrógeno y compuestos halogenados.

Agradecimiento. Este proyecto fue apoyado por CONACyT, México (CB-2011-01 164746)

Bibliografía. (1) Martínez-Hernández, S., Texier, A.-C., Cuervo, F. M. & Gomez, J. 2011. Journal of Hazardous Materials 185, 1592–1595. (2) Silva, C. D., Jorge, G. & Beristain-Cardoso, R. 2011. Bioresource Technology 102, 6464–6468.