



## 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 ( $\text{NH}_4^+$ ) es consumido y no se observa consumo de 2-CP<sup>(1)</sup>. En cultivos aerobios aclimatados a una mezcla de compuestos fenólicos se reportó la eliminación de amonio y compuestos fenólicos<sup>(2)</sup>. 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  $\text{N-NH}_4^+$ , y el R-2 ( $L_A$ ) con  $\text{N-NH}_4^+$  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  $\text{N-NH}_4^+$  ( $q_{N-NH_4^+}$ ),  $\text{NO}_3^-$ -N ( $q_{N-NO_3^-}$ ) y 2-CP ( $q_{2-CP}$ ) y fases de retardo ( $\lambda$ ). Por DGGE se corrieron los productos de PCR obtenidos usando los primers Bac-968f y Bac-1401r. De acuerdo a Silva y col.<sup>(2)</sup> 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.

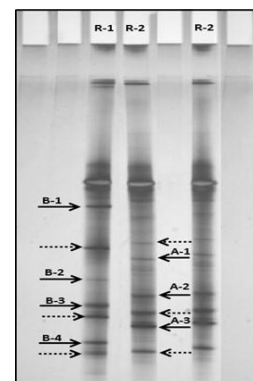
**Resultados.** El lodo del reactor R-1, presentó una  $E_{N-NH_4^+}$  del 100%, con  $Y_{N-NO_3^-}$  de  $0,96 \pm 0,02$ . En R-2 el *p*-cresol fue mineralizado y las  $E_{N-NH_4^+}$  y  $E_{4p-c}$  fueron de  $100\% \pm 4,0$  y  $95 \pm 5,0\%$ , respectivamente, con  $Y_{N-NO_3^-}$   $0,95 \pm 0,03$ . 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  $\text{NH}_4^+$ , producción de  $\text{NO}_3^-$ , 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  $\text{NH}_4^+$  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
$Y_{N-NO_3^-}$	$1.02 \pm 0.02$	$1.02 \pm 0.03$	0.0	$0.92 \pm 0.04$
$\lambda$ (h) $N-NH_4^+$	0.0	0.0	---	12.19
$\lambda$ (h) 2-CP	---	---	---	74.28
$q_{N-NH_4^+}$	$193 \pm 8.0$	$106 \pm 6.0$	---	$6.3 \pm 1.0$
$q_{2-CP}$	---	---	---	$0.36 \pm 0.03$
$q_{N-NO_3^-}$	$94 \pm 7.0$	$67 \pm 5.0$	---	$11 \pm 2.0$

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.