



ECOFISIOLOGÍA DE UN CONSORCIO DESNITRIFICANTE ALIMENTADO EN CONTINUO CON ACETATO Y TOLUENO

Sergio Martínez H., Eugenia Olguín P., Hugo Ramírez S., Flor de María Cuervo-López y Jorge Gómez H.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Depto. de Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina
CP 09340, México D. F., Fax: 58046407, e-mail: fmcl@xanum.uam.mx.

Palabras clave: tolueno, DGGE, desnitrificación.

Introducción. En el ambiente, a menudo el tolueno está presente junto con fuentes de carbono alternas, las cuales pueden influir en la magnitud y velocidad de eliminación del tolueno, por lo tanto, es de gran interés estudiar el metabolismo de este hidrocarburo en mezcla con otros compuestos orgánicos de fácil metabolismo. Un proceso viable para su tratamiento es la desnitrificación, donde es posible la eliminación simultánea de carbono y nitrógeno. Por otro lado, debido a que la desnitrificación es realizada por microorganismos, el estudio de la estructura de la comunidad microbiana, podrá aportar una mayor comprensión del proceso.

El objetivo de presente trabajo fue evaluar en un reactor en continuo, el efecto del acetato sobre la utilización de tolueno como fuente de energía en un consorcio desnitrificante. Asimismo, evaluar el efecto de este hidrocarburo sobre el posible dinamismo de las poblaciones microbianas involucradas en el proceso.

Metodología. La experimentación se realizó en un reactor UASB y se dividió en dos etapas. En la primera se alimentó un lodo desnitrificante sin contacto previo a hidrocarburos con 100 mg C-acetato/l-d y 71 mg N-NO₃⁻/l-d (relación C/N, 1.4). En la segunda etapa, manteniendo constante la velocidad de carga de carbono (VCC) total, fueron evaluadas diferentes proporciones acetato/tolueno: 100/0, 75/25, 50/50 y 25/75. El C-acetato fue sustituido gradualmente por C-tolueno. El medio mineral, así como los métodos analíticos utilizados se basaron en los reportados por Peña-Calva y col. (1). Se analizaron las poblaciones microbianas en cada proporción acetato/tolueno ensayada. Para esto, mediante un método físico se extrajo el DNA de los lodos y se analizó por la técnica molecular del DGGE (2)

Resultados y discusión. Cuando el lodo desnitrificante fue alimentado con 100 mg C-acetato/l-d, la eficiencia de consumo de acetato (ECA) fue de 97 %, mientras que la de nitrato (ECN) fue de 99 %. Los rendimientos para carbono y nitrógeno fueron superiores a 0.8 (Tabla 1). Como las velocidades de consumo y formación de producto mantuvieron una variación menor que 10 % el proceso se

Tabla 1. Eficiencias de consumo de carbono y nitrógeno y rendimientos de producto.

Acetato/tolueno mg C/l-d	Eficiencia de consumo			Rendimiento de producto	
	Carbono		N-NO ₃ ⁻	HCO ₃ ⁻	N ₂
	acetato	tolueno			
100/0	97± 1.6	-	99 ± 1	0.8	0.82
75/25	95± 5.7	91± 0.1	99± 0.1	0.84	0.76
50/50	93 ±5.3	83± 6.3	92 ± 0.1	0.65	0.68
25/75	91 ±7.5	66 ±10	63 ± 7	0.48	0.63

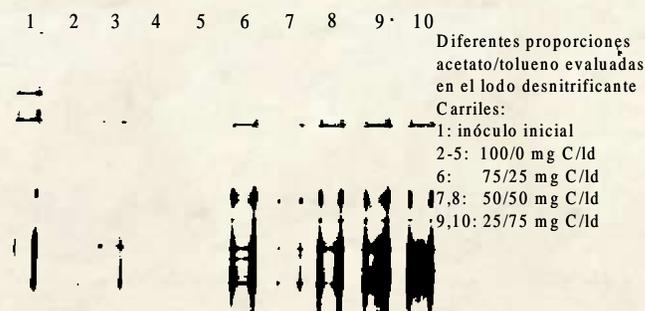


fig. 1. Análisis del DGGE de fragmentos del DNAr 16S obtenidos por PCR de lodos desnitrificantes bajo distintas proporciones acetato/tolueno.

consideró en estado estacionario (EE). Bajo estas condiciones, se ensayaron las diferentes proporciones acetato/tolueno. Cuando se evaluó la proporción de 75/25, las eficiencias de consumo y los rendimientos de producto, fueron muy similares a los encontrados sólo con acetato. Sin embargo, se encontró que conforme disminuyó la proporción de acetato, las eficiencias de consumo de tolueno (ECT) y las ECN, así como también los rendimientos de producto, descendieron gradualmente (Tabla 1). Estos resultados, podrían indicar que el acetato a cierta proporción ejerce un efecto positivo en la mineralización del tolueno. Un efecto coadyuvante, pero con glucosa, fue también observado por Nahar y col. (3), aunque el crecimiento bacteriano fue mayor.

El análisis por DGGE del DNA extraído en los diferentes ensayos, mostró que conforme aumentó la proporción de tolueno en el reactor, hubo cambios en el patrón de bandas, lo cual sugiere cierta presión selectiva de este sustrato sobre las poblaciones microbianas presentes en la comunidad (Figura 1).

Conclusiones. Los resultados encontrados muestran que el acetato bajo cierta proporción, respecto del tolueno, coadyuva en la oxidación de este hidrocarburo durante la desnitrificación. Los resultados encontrados mediante la técnica molecular de DGGE, sugieren cierta presión selectiva por parte del tolueno sobre la comunidad microbiana.

Agradecimientos. NSF-CONACyT 35982-U

Bibliografía 1. Peña-Calva, A., Olmos DA, Viniegra GG, Cuervo-López, FM. and Gómez, J. (2004). Denitrification in Presence of Benceno, Toluene and *m*-Xylene. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 119:195-208.

2. Muyzer, G., de Waal, E. C., and Uitterlinden, A. G.1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16s RNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700

3. Nahar, N., Alauddin, M. and Quilty, B. (2000). Toxic effects of toluene on the growth of activated sludge bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16: 307-311.