

# MICROORGANISMOS PARA BIOREMEDIACION

Salazar Fiallo, J.<sup>1</sup>

## RESUMEN

La degradación microbiana constituye el principal proceso de descontaminación natural [1]. Este proceso se puede acelerar y/o mejorar mediante la aplicación de tecnologías de Bioremediación [2]. Para tal efecto es necesario caracterizar la unidad matriz sea suelo o agua afectada en términos de contaminación e identificando los agentes biológicos inherentes al sitio. Esto convertido en una tecnología de tratamiento, implica una serie de operaciones unitarias que alteran la composición de las sustancias contaminantes a través de acciones químicas, físicas y biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material que contamina la matriz. El uso de microorganismos autóctonos aislados en los sitios problema, cultivados, identificados molecularmente, masificados e inoculados, es la más expedita forma de tratamiento y mitigación de un evento contaminante.

**Palabras Clave:** Bioremediación, Microorganismos, Respirometría, Materia Orgánica.

## INTRODUCCIÓN

La Bioremediación, es una técnica muy aplicada en mitigación de eventos de contaminación por hidrocarburos.

En acuicultura se introduce esta técnica con cambios propios de la actividad, es necesario puntualizar que antes de haber construido las piscinas de cultivos acuícolas como infraestructuras, estas eran solo terrenos, unos inundados de maneras intermareales cada seis horas para el caso de las áreas cercanas a los manglares u otros en su condición de suelos agrícolas, nunca antes fueron piscinas de cultivo.

Entonces, creamos un ecosistema artificial y esperamos que funcione de manera similar a un estero o rio, los sembramos con poblaciones de peces y/o camarones a densidades determinadas, los alimentamos para que ellos engorden y logren tamaños comerciales rentables, durante este proceso, la estabilidad físico-química-biológica del lago artificial que hemos creado se altera por las siguientes razones:

- Las tablas de alimentación nunca han sido exactas y hay un excedente de alimento que termina en el fondo del estanque, piscina o lago.
- Los peces y/o camarones que son alimentados para su engorde, generan deyecciones líquidas y sólidas que terminan unas mezclándose de manera coloidal con las aguas y otras en el fondo del estanque, constituyéndose en los nuevos lodos aportados del proceso.
- El suelo del estanque o lago de producción, que está sometido a una inundación permanente durante 90 o 150 días, debería tener por su condición de suelo una capacidad de autodepuración natural.

---

<sup>1</sup> Biólogo, SLA-Ecuador, Arkeaslab S.A., E-mail: jsalazar@arkeaslab.com, tel.: 593 4 2343536- 2335902- 084170105.

- El exceso de alimento de alta proteína, la cantidad de heces solidas y liquidas son mayores en volumen a las poblaciones de microorganismos naturales limpiadores del suelo que deberían de haber, entonces la carga proteica degenerada al igual que las heces, pasan a formar parte de un material orgánico en proceso de reducción, creando zonas gaseosamente anaeróbicas y químicamente sulfurosas, con las consiguientes alteraciones en las interrelaciones suelo-agua y creando niveles de eutrofización en la columna de agua y afectando de manera directa a las poblaciones ahí sembradas, generando eventos y mortalidades que de una u otra manera pueden evitarse, entendiendo estas secuencias.

Mediante colecta de muestras de suelo en un estanque cosechado, se hacen aislados de poblaciones de bacterias benéficas y amigables al ambiente que normalmente se encuentran pero inhibidas debido a predominancia de la masa de material orgánico contaminante evitando de esta manera que ejerzan su efecto depurador.

## METODOLOGÍA

Antes de levantar o aislar bacterias para consolidar consorcios para Bioremediación, es necesario evaluar la respiración metabólica del suelo [3], esta operación nos dará lectura definitiva sobre el accionar de las poblaciones existentes sobre un sustrato determinado (suelo), mientras más alta la tasa metabólica, esto califica como positiva la condición degradadora de las comunidades bacterianas del sitio. Figura 1.

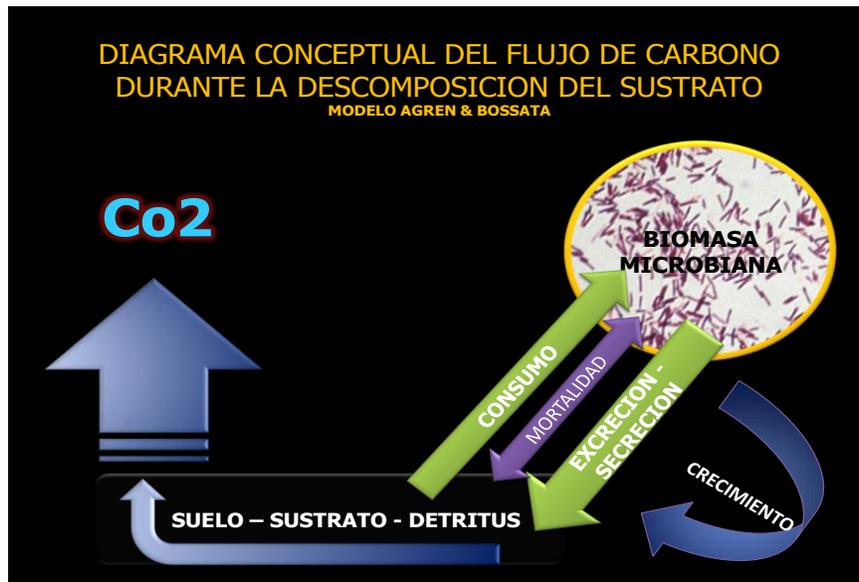


Figura 1

La biomasa bacteriana afecta un sustrato determinado lo consume mediante excreción-secretión enzimática, generando crecimiento y mortalidades entre ellas. Esta afectación genera Co<sub>2</sub> que es medible mediante respirometría.

Esta técnica consiste en la colocación de pequeños recipientes con Hidróxido de sodio 0.01N a ras de suelo y cubiertos por un vaso de precipitación, cuyo borde queda enterrado en el suelo [3].

Esa pequeña área cubierta por el vaso de precipitación generara  $\text{CO}_2$  que será captado por el hidróxido de sodio 0.01N, durante 24 horas.

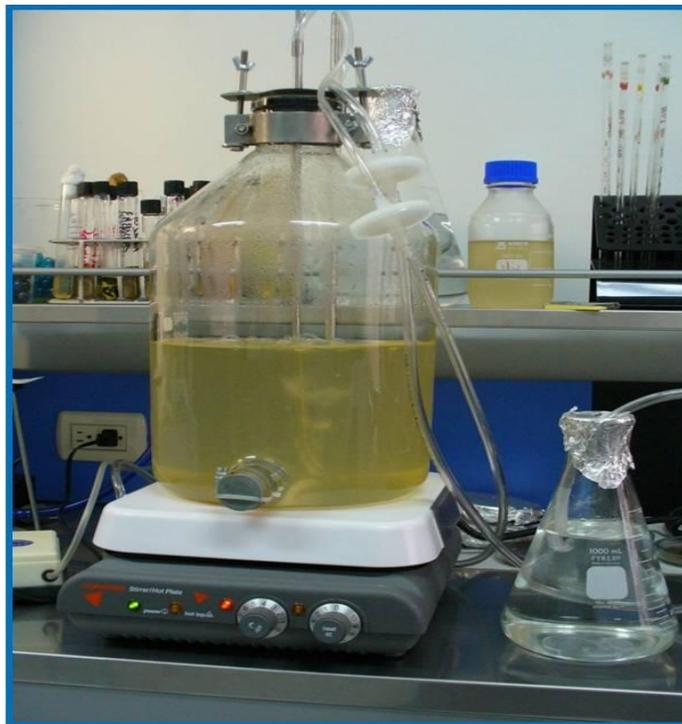
Posteriormente será tritado con acido clorhídrico 0.01N y fenolftaleína, la lectura indicara la generación de  $\text{CO}_2$  durante 24 hora y en una área determinada.

Una vez obtenida esta información se hacen las evaluaciones propias, tales como, medición del  $\text{CO}_2$  generado, se procede a hacer las diluciones seriadas para los aislados de las cepas bacterianas de mayor significancia de las áreas muestreada sobre agares universales y posteriormente en agares selectivos.

Se toma una muestra para preservación en congelación sea nitrógeno liquido o congelador en viales Cryobank que son micro perlas porosas embebidas en glicol como preservante protector de células.

Aisladas individualmente las cepas de trabajo que conformaran el consorcio, se envían una muestra de cada una para la identificación molecular (secuenciación), nos permitirá saber con que tipo de cepa de bacteria estamos trabajando.

Los consiguientes escalados desde tubo, probetas de 500 mL, de 1000 mL, de 2000 mL y de aquí al bioreactor de 20 litros (figura 2)



**Figura 2[4]**

Es un frasco Shott de 20 litros (bioreactor) armado con 2 filtros millipor de  $0.22 \mu$  de entrada y salida, colocado sobre un agitador / calentador, el bioreactor tiene en su interior una capsula magnética de 5 cm de largo que provoca el vortex del medio de cultivo aireado con una bomba de acuario durante 24 a 48 horas que dure el proceso de

masificación del consorcio bacteriano y adicionando calor a una temperatura controlada de 33°C.

## **RESULTADOS**

Este último proceso de escalado llamado también fermentación tiene como resultado final, una biomasa bacteriana mixta a manera de consorcio con una densidad poblacional ajustada a la escala de Macfarland en el Tubo #5 de  $1 \times 10^9$  células por mililitro.

Consortio listo para envasar y aplicar cumple con las expectativas básicas de una herramienta biológica para Bioremediación, biotransformar elementos y metabolitos tóxicos, en elementos no nocivos y estables, y mineralizar la materia orgánica quedando solo material celular de desecho, agua y CO<sub>2</sub>.

Se hace urgente y necesario comenzar a trabajar con cepas propias de sitios a remediar, cepas nacionales agrupadas en consorcios que para este tipo de operación debe de estar conformados por bacterias nitrificantes y bacterias heterótrofas.

## **REFERENCIAS**

1. (Prince 1993)
2. (Alexander 1999)
3. (Viale & Infante 1997)
4. (P.Ramos, J.Obregon, J.Aponte, M.Wiederman, 1985)