

COMPARACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL INÓCULO I5-ESPE ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES TEXTILES EN CONDICIONES AEROBIAS, MEDIANTE PRUEBAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS.

MONTERO, R.*, KOCH, A.*, ROMERO, P.*

* Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, Ingeniería en Biotecnología.
Sangolquí, Ecuador

Recibido: 24 de septiembre de 2013.

RESUMEN

Se comparó los microorganismos presentes en el inóculo I5-ESPE antes y después del tratamiento de aguas residuales textiles en condiciones aerobias, pues en investigaciones previas, el inóculo I5 ha demostrado ser eficaz en la disminución de contaminantes propios de la industria textil. Los inóculos antes y después del tratamiento fueron proporcionados por el cepario del laboratorio de Microbiología Ambiental del CEINCI-ESPE. Luego de su activación, se obtuvieron cultivos puros y se determinaron sus características macroscópicas y microscópicas. Después, se identificaron las especies microbianas mediante pruebas bioquímicas y un análisis confirmatorio API®. Las especies encontradas en el inóculo I5-ESPE antes del tratamiento *Staphylococcus xylosum*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida tropicalis*; las especies exclusivas del inóculo I5 después del tratamiento fueron *Enterobacter cloacae* y *Bacillus megaterium*; la especie común encontrada fue *Bacillus subtilis*; además, ningún inóculo presentó especies de hongos filamentosos. En la investigación se constata que existe disimilitud y un bajo índice de especies comunes entre el inóculo I5-ESPE antes y después del tratamiento de aguas residuales textiles.

Palabras claves: biorremediación, contaminante textil, especie microbiana.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional y su tendencia a la modernización han contribuido al progreso de la industria textil (Butani *et al.*, 2013). Hasta finales del 2012, el sector textil e indumentario tuvo una tasa de crecimiento del 7%, dentro del comercio mundial (OMC, 2013).

El desafío de tal industria es mantener el crecimiento económico y a su vez, precautelar el medio ambiente (Bur, 2013). Por ello, surge la necesidad de encontrar soluciones a los problemas ambientales que las empresas textiles ocasionan; una alternativa es la biorremediación de los efluentes generados.

En la búsqueda de un tratamiento biológico a las aguas residuales de empresas textiles, Moncayo (2010) seleccionó un inóculo microbiano denominado I5, capaz de remover los colorantes reactivos textiles: Azul navy 171, rojo 141 y amarillo 84 en un 75.56%, 79.16% y 89.73%, respectivamente.

A partir de ello, el inóculo I5 fue empleado en otras investigaciones: disminución de concentración de fenol en agua sintética (Montenegro, 2010); biorremoción de cromo total y cromo VI a escala de laboratorio (Guevara, 2010); remoción de zinc en agua sintética (García, 2011) y biodegradación de tensoactivos aniónicos (Paladines, 2011). Se construyó una planta piloto para el tratamiento de aguas residuales textiles (Muñoz, 2011) y se probó la efectividad del inóculo en condiciones aerobias (Rivadeneira, 2013).

Pese a que en investigaciones previas el inóculo I5 ha demostrado ser eficaz en la disminución de contaminantes propios de la industria textil, aún no se ha comparado a los microorganismos que conforman el inóculo antes y después del tratamiento de aguas residuales textiles.

Por ello, la presente investigación tuvo por objetivo el comparar los microorganismos presentes en el inóculo I5-ESPE antes y después del tratamiento de aguas residuales textiles en condiciones aerobias, mediante pruebas morfológicas y bioquímicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Activación del inóculo

Los inóculos microbianos utilizados fueron proporcionados por el cepario del

laboratorio de Microbiología Ambiental del CEINCI-ESPE. El inóculo I5 original fue obtenido por Moncayo (2010) y el inóculo I5 luego del tratamiento de aguas residuales textiles en condiciones aerobias, se recolectó de la investigación de Rivadeneira (2013).

Los inóculos fueron activados en el caldo de enriquecimiento aplicado por Jiang, Tay & Tay (2004), mismo que fue modificado en las investigaciones de Moncayo y Ayala (2010) y consta de nueve soluciones madre formadas principalmente de fosfatos y sulfatos.

Aislamiento de colonias

Las cepas puras se aislaron del inóculo mixto, a través de diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} (Rodríguez *et al.*, 2006). Se realizaron aislamientos en Agar Nutriente para el crecimiento de microorganismos no fastidiosos, Agar Dextrosa y Papa para potenciar el aislamiento de hongos y levaduras, Agar Man, Rogosa y Sharpe para bacilos grampositivos y Agar Manitol Salado para la distinción de estafilococos (Neogen Corporation, 2013).

Evaluación macroscópica

La descripción macroscópica de las colonias bacterianas aisladas incluyó aspectos como el tamaño, pigmentación, configuración, elevación y borde (Brown, 2001).

Evaluación microscópica

La morfología de los microorganismos aislados se distinguió a través de Tinción Gram, ya que además de diferenciar entre organismos grampositivos y gramnegativos, se identificó si estos eran levaduras o formas bacterianas: coco, bacilo, cocobacilo, vibrio, espirilo o espiroquetas (Murray, Rosenthal & Pfaller, 2009).

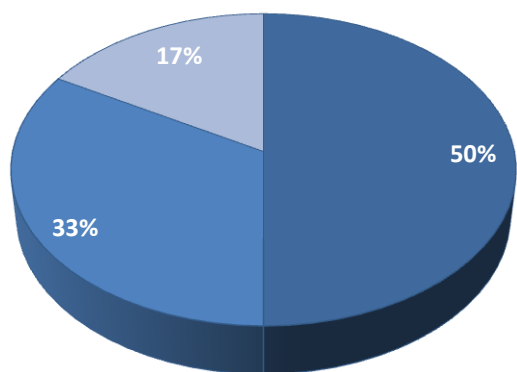
Análisis bioquímico y confirmatorio

La identificación bioquímica de bacterias se realizó siguiendo claves bibliográficas y su confirmación se realizó mediante el Índice Analítico del Perfil API®; para Enterobacteriaceae, API 20E; Bacillus, API 50CHB; Staphylococci, API Staph y levaduras, API 20C AUX (BioMérieux, Francia).

Análisis estadístico

Las gráficas descriptivas de datos se efectuaron en Microsoft Office Excel 2007 y el análisis comparativo se realizó con el software estadístico InfoStat, considerando elementos como tablas de contingencia de Boesch, prueba exacta de Fisher, índice estadístico de Jaccard e índice estadístico de Dice-Sorensen.

RESULTADOS



- Exclusivas A-TART: *Staphylococcus xylosus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*.
- Exclusivas D-TART: *Enterobacter cloacae*, *Bacillus megaterium*.
- Especies comunes: *Bacillus subtilis*

Figura 1: Especies microbianas presentes en el inóculo I5-ESPE antes (A-TART) y después (D-TART) del tratamiento de aguas residuales textiles.

Tablas de contingencia

Frecuencias: FRECUENCIA

Frecuencias absolutas

En columnas: D-TART

A-TART	0	1	Total
0	0	2	2
1	3	1	4
Total	3	3	6

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	3.00	1	0.0833
Chi Cuadrado MV-G2	3.82	1	0.0507
Irwin-Fisher bilateral	-0.75		0.2000
Coef. Conting. Cramer	0.50		
Coef. Conting. Pearson	0.58		
Coefficiente Phi	-0.71		

Cocientes de chance (odds ratio)

Estadístico	Estim	LI 95%	LS 95%
Odds Ratio 1/2	0.00	sd	sd

Figura 2: Tabla de contingencia y comparación estadística de los inóculos I5 antes (A-TART) y después (D-TART) del tratamiento de aguas residuales, mediante la asistencia del programa InfoStat.

Matrices de distancias y similitudes

Jaccard (1-S)

	A-TART	D-TART
A-TART	0.00	
D-TART	0.86	0.00

Dice (1-S)

	A-TART	D-TART
A-TART	0.00	
D-TART	0.75	0.00

Figura 3: Índice de Jaccard e índice de Dice-Sorensen para la comparación del inóculo I5 antes y después del tratamiento de aguas, mediante la asistencia del programa InfoStat.

DISCUSIÓN

Las especies pertenecientes al inóculo I5 antes del tratamiento de aguas residuales son *Staphylococcus xylosus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida tropicalis*; las especies exclusivas del inóculo I5 después del

tratamiento de aguas residuales textiles en condiciones aerobias son *Enterobacter cloacae* y *B. megaterium*. Finalmente, la especie común encontrada antes y después del tratamiento es *Bacillus subtilis* (tabla 1).

Las especies caracterizadas con el análisis bioquímico y confirmadas con pruebas API® corresponden a microorganismos reconocidos dentro del tratamiento de aguas residuales. Así, *Bacillus subtilis* figura en reportes de los años 70, como una de las primeras especies aisladas capaces de degradar colorantes en aguas residuales textiles (Butani *et al.*, 2013).

La tabla 2 y 3 de resultados expone que la diferencia observada entre los inóculos I5 A-TART y D-TART es estadísticamente significativa (Fisher bilateral = -0.75, $p > 0.05$). El test exacto de Fisher se empleó como único estadístico de prueba debido a que en la tabla de contingencia se obtuvieron valores menores a cinco en más de un 20%, razón por la cual, el estadístico Pearson y el cociente de máxima verosimilitud (MV-G2) no fueron aplicables (Rosner, 2010).

Los inóculos I5 A-TART e I5 D-TART presentan un bajo índice de especies comunes y además, manifiestan disimilitud entre las entidades de estudio.

La diferencia entre el inóculo I5 antes y después del tratamiento de aguas residuales textiles en condiciones aerobias, se debe al cambio al que fue sometido el inóculo, pues el proceso de tratamiento del aguas conllevó diferentes valores de pH, temperatura, oxígeno, nutrientes, además del número de microorganismos y su diversidad.

Snellinx *et al.* (2003) señalan que solo algunas especies microbianas son capaces de resistir un cambio prolongado.

Por ello, los microorganismos del inóculo I5 A-TART son viables para el inicio del tratamiento, pero en el proceso, las nuevas condiciones resultan adversas para su crecimiento. Por el contrario, el surgimiento de nuevos microorganismos en el inóculo I5 D-TART se debe a que las condiciones iniciales no eran las ideales para su crecimiento, pero se potenciaron con las nuevas condiciones del proceso. La especie común, *B. subtilis*, fue aquella que se adaptó al cambio.

Aunque existe un cambio significativo antes y después del tratamiento, no se debe restar relevancia al inóculo inicial pues fue el encargado de brindar una primera respuesta a las variaciones del efluente, emprender la biorremoción y facilitar sustratos para la adaptación de otros microorganismos. Con respecto a las especies bacterianas encontradas en el inóculo I5 después del tratamiento de aguas residuales, se considera el estudio de Bahía (2009) donde se expresa que la biomasa se genera espontáneamente en la operación del reactor debido a concentraciones reducidas de microorganismos existentes en el agua residual; de igual manera, Velázquez (2005) expone que los lodos activados tienen bacterias que pueden generarse en tiempos extremadamente lentos y que aún empleando un medio no selectivo para su aislamiento, no se presentan como significantes en un consorcio hasta que se potencien las condiciones físico-químicas para su crecimiento.

CONCLUSIÓN

El inóculo I5 antes del tratamiento de aguas residuales textiles es diferente al inóculo I5 después del tratamiento en condiciones aerobias, manifestándose una proporción de 14% de especies comunes y una disimilitud del 75% entre los consorcios.

RECOMENDACIONES

Con el afán de conocer la subespecie y las enzimas involucradas en la biorremoción de colorantes reactivos azo en la especie adaptada al tratamiento de aguas residuales textiles, se recomienda analizar por técnicas de biología molecular a la especie *Bacillus subtilis* encontrada en el inóculo I5 A-TART y D-TART.

También, se propone trabajar con un reactor aerobio y uno anaerobio consecutivos y a la par, dar seguimiento microbiológico del inóculo I5 durante el proceso de tratamiento de agua textil.

AGRADECIMIENTO

El trabajo se llevó a cabo gracias a la dirección de Alma Koch, MC. y codirección del Ing. Pedro Romero Sáker. Se agradece también la participación de la Lic. Jéssica Maisincho, encargada del Laboratorio de Microbiología (Sangolquí - Ecuador) y a las promotoras del proyecto, Ing. Irina Moncayo e Ing. Diana Ayala.

Gracias a todas las personas involucradas en la elaboración de la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

Bahía, B. (2009). Microbiología de las aguas residuales. Argentina: Universidad Tecnológica Nacional.

BioMérieux. (2009). API. Recuperado el 8 de Julio de 2013, de <http://www.biomerieux-usa.com/>

Brown, A. (2001). Benson's Microbiological Applications. Auburn: Mc Graw Hill.

Bur, A. (2013). Marketing sustentable. Utilización del marketing sustentable en la industria textil y de la indumentaria. En T. Domenech, & S. González, Centro de Estudios en Diseño y Comunicación (págs. 133-142). Buenos Aires: Universidad de Palermo.

Butani, N., Jobanputra, J., Bhatiya, P. & Patel, R. (2013). Recent biological technologies for textile effluent treatment. International Research Journal of Biological Sciences, 2 (6), 77-82.

García, D. (2011). Evaluación de la capacidad de biorremoción de zinc en agua sintética de dos consorcios microbianos nativos, a escala de laboratorio. Tesis. Sangolquí: Escuela Politécnica Del Ejército.

Guevara, D. (2010). Biorremoción de cromo (cromo total y cromo VI) en agua sintética por dos inóculos bacterianos nativos compuestos, a escala de laboratorio. Tesis. Sangolquí: Escuela Politécnica Del Ejército.

Jiang, H., Tay, J. & Tay, S. (2004). Changes in structure, activity and metabolism of aerobic granules as a microbial response to high phenol loading. Applied Microbiology & Biotechnology, 602-608.

Moncayo, I. (2010). Remoción de los colorantes textiles reactivos rojo 141, amarillo 84 y azul navy 171 eliminados en el agua residual, utilizando un inóculo compuesto seleccionado, bajo condiciones anaerobias a nivel de laboratorio. Tesis. Sangolquí: Escuela Politécnica Del Ejército.

Montenegro, J. (2010). Evaluación de la disminución de concentración de fenol en agua sintética por medio de dos consorcios bacterianos nativos, aerobio y anaerobio facultativo, a nivel de laboratorio, para su aplicación futura en la biorremediación de efluentes textiles. Tesis. Sangolquí: Escuela Politécnica Del Ejército.

Muñoz, D. (2011). Diseño e implementación de una planta piloto para remoción de DQO de aguas residuales de la industria textil, utilizando el inóculo microbiano nativo I5. Sangolquí: ESPE.

Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2009). Microbiología médica. Barcelona-España: Elsevier.

Neogen Corporation. (2013). Acumedia dehydrated culture media. Recuperado el 8 de Julio de 2013, de http://www.neogen.com/Acumedia/Product_List.asp

Organización Mundial del Comercio - OMC. (10 de abril de 2013). El comercio mundial en 2012 y perspectivas para 2013. Ginebra.

Paladines, C. (2011). Evaluación de la capacidad de degradación microbiana de tensioactivos aniónicos a partir de dos consorcios microbianos removedores de colorantes reactivos, a nivel de laboratorio. Tesis. Sangolquí: Escuela Politécnica Del Ejército.

Rivadeneira, C. (Abril de 2013). Evaluación del comportamiento y estabilización aerobia del inóculo microbiano I5-microbiología ESPE en un reactor tipo flujo pistón de alimentación continua para el tratamiento a escala piloto de agua residual textil. Tesis. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército.

Rodríguez, Z., Boucourt, R., Rodríguez, J., Albelo, N., Núñez, O. &

Herrera, F. (2006). Aislamiento y selección de microorganismos con capacidad de degradar el almidón. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 40(3): 349-354.

Rosner, B. (2010). Fundamentals of biostatistics. Boston: Brooks/Cole.

Snellinx, Z., Taghavi, S., Vangronsveld, J. & Van Der Lelie, D. (2003). Microbial consortia that degrade 2,4-DNT by interspecies metabolism: Isolation and characterization. Biodegradation, 14(1):19-29.

Velázquez, J. (Septiembre de 2005). Determinación de la comunidad microbiana en biorreactores mediante técnicas de biología molecular. México: Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.