

# Aplicación de bacterias benéficas como modelo experimental para la reducción de sólidos y conductividad en aguas residuales

## Application of beneficial bacteria as model experimental for the reduction of solids and conductivity in wastewater

Gumercindo Pimentel<sup>1</sup>, Roderick Flores<sup>1</sup>, Yennifer Alfaro<sup>1</sup>, Dayana Villarreal<sup>1</sup>,  
Alexis de la Cruz<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Licenciatura en Biología– Centro Regional Universitario de Azuero – Universidad de Panamá,

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología - Centro Regional Universitario de Azuero – Universidad de Panamá

**Resumen** Se adicionó *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens* a agua residual de procedencia urbana para determinar la capacidad de reducción de sólidos suspendidos mediante ensayo de laboratorio en tres tratamientos y tres repeticiones en la unidad de investigación microbiológica del CRU-Azuero en junio de 2017, se encontró que, *P. aeruginosa* disminuyó la concentración de sólidos disueltos de 1,24 g (control) a 0,03g, y la conductividad a 235  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , en mayor proporción que *P. fluorescens* y cultivo mixto, observado a través de los valores obtenidos en los 5 días de tratamiento. De esta manera se estima que *P. aeruginosa* resulta efectiva en la biorremediación de aguas residuales.

**Palabras claves** Agua residual, bacterias benéficas, biorremediación, biorreactor, conductividad.

**Abstract** *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens* were added to urban wastewater to determine the solids reduction capacity suspended by laboratory test in three treatments and three replicates in the microbiological unit of the CRU-Azuero in June 2017, it was found that, *P. aeruginosa* decreased the dissolved solids concentration from 1.24 g (control) to 0.03 g, and the conductivity at 235  $\mu\text{S} / \text{cm}$ , in a higher proportion than *P. fluorescens* and mixed culture, observed through the values obtained in the 5 days of treatment. Thus, *P. aeruginosa* is estimated to be effective in wastewater bio-remediation.

**Keywords** Wastewater, beneficial bacteria, bioremediation, bioreactor, conductivity.

\* Corresponding author: alexisdelac@gmail.com

### 1. Introducción

Actualmente la demanda de agua potable es muy abundante, por lo cual gran cantidad de esta, luego de ser utilizada, es vertida como agua residual de origen doméstico, que son aquellas procedentes de zonas de viviendas y servicios, generadas principalmente por el metabolismo humano y actividades domésticas [3]. Sin embargo, las aguas residuales al ser desechos generados de actividad industrial y de los residuos domésticos, no pueden ser vertidas a los cursos de aguas, corrientes o lagos [1]. De este modo se busca implementar técnicas no contaminantes para evitar el uso de químicos a través de la utilización de bacterias benéficas, debido a que estas poseen capacidades metabólicas las cuales pueden ser utilizadas en el tratamiento de aguas residuales, ya que utilizan como fuente de carbono la materia orgánica en suspensión, por lo tanto, reducirán el nivel de contaminación.

Una vez tratadas, estas aguas pueden ser utilizadas en actividades de ámbito urbano: irrigación de parques públicos, campos de atletismo, áreas residenciales y campos de golf; e industrial: sistemas de refrigeración y en el sector agrícola: irrigación de cultivo [8,9,10], sin embargo, puede ser utilizada también en jardinería, lava-autos, entre otras [7]. Entre algunos de los parámetros que indicarán si está o no contaminado y si se ha reducido la contaminación podemos mencionar: pH y conductividad, las cuales serán las medidas utilizadas como indicador de la calidad de aguas dulces.

Cada cuerpo de agua tiene un rango relativamente constante de conductividad, que una vez conocido, puede ser utilizado como línea de base para comparaciones con otras determinaciones puntuales [16], sin embargo la cuantificación de componentes como: la respiración aerobia y sólidos suspendidos nos permiten comprender la condición necesaria

para definir una estrategia de tratamiento que garantice técnica y económicamente una calidad del agua residual tratada adecuada para su uso posterior y para minimizar el riesgo potencial para la salud pública y el ambiente [12] no obstante, se medirá el oxígeno disuelto, el cual es el oxígeno que está disuelto en el agua y que es esencial para los riachuelos y lagos saludables. El nivel de oxígeno disuelto, puede ser un indicador de cuan contaminada está el agua y si puede ser utilizada para la vida vegetal y animal [11].

Se busca aplicar técnicas de biorremediación microbianas mediante bacterias que sean capaces de reducir o eliminar los contaminantes presentes en aguas residuales, ya que, a lo largo del tiempo estas van afectando al ecosistema a través de la acumulación de sustancias, además, estos pueden llegar en algún momento a aguas subterráneas que son utilizadas para el consumo humano.

Estas aguas poseen propiedades las cuales ayudan al mejoramiento de la fertilidad de suelos agrícolas por el aporte de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio y sodio, lo que permite la reducción o eliminación del uso de fertilizantes químicos [20,21]. No obstante, se implementan técnicas de remediación con compuestos químicos, que igual pueden ocasionar daños futuros. Por esto y más aplicamos técnicas de biorremediación con microorganismos (bacterias benéficas) que puedan descomponer las sustancias presentes en dichas aguas.

Así pues, se aplicarán técnicas de tratamiento aerobio con la utilización de bacterias del género *Pseudomona*, las cuales poseen una gran capacidad por sus actividades metabólicas a la hora de tratar aguas residuales y en la eliminación de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, ya que los utilizan como una fuente de alimento [13, 14].

## 2. Metodología

### 2.1 Trabajo de campo

Se colectaron muestras de aguas residuales aproximadamente 8 litros por cada ensayo experimental, con la ayuda de envases con capacidad para 3,75 L. Dichas muestras fueron tomadas de la parte media y superficial del cuerpo de agua que contenía agua residual. Esta presentaba un color gris oscuro y un fuerte olor a putrefacto y la cantidad de materia orgánica e inorgánica que poseía era abundante (figura 1).

### 2.2 Trabajo de Laboratorio

Las muestras previamente colectadas fueron agregadas en balones aforados con capacidad para 6 L, estos se colocaron en baño María, y se llevó a ebullición para eliminar cualquier microorganismo presente en estas aguas y así, a la hora de utilizar microorganismos remediadores sea de notar que estos son los que actuaron sobre la materia y realizaron el trabajo

de biorremediación. Para comprobar la inexistencia de microorganismos en el agua residual esterilizada, se procedió a sembrar en platos con agar Chromocult, el cual nos indica la presencia de coliformes. Para esto se puso a prueba inóculos del agua antes y después de la esterilización (figura 2 y 3).



Figura 1. Colecta de agua residual de origen doméstico, a la cual se le aplicará tratamiento biológico.



Figura 2 y 3. Sembrado de inóculo de agua residual en agar Chromocult, antes (izquierda) y después (derecha) de la esterilización.

#### 2.2.1 Montaje de los sistemas

El agua previamente esterilizada fue colocada en sistemas montados (tanques de biorremediación), los cuales están compuestos por envases de 4 L, bombas de aire para la oxigenación de las bacterias, policiales huecos los cuales estaban conectados con las mangueras de las bombas y sujetos a la tapa para airear en el fondo de los galones. Todos estos equipos fueron esterilizados con ayuda de agua en punto de ebullición, se dejó enfriar un poco y se les agregó a los tanques, los cuales fueron agitados por un determinado tiempo para así asegurar la esterilización de los mismos y de tal manera asegurar la no contaminación de las cepas a utilizar. El equipo estaba formado por una escalera de tanques, en donde el primer escalón lleva los galones con el agua, residual estéril (2 l/galón, por cepa), el segundo escalón lleva el agua destilada (1 l/galón) con el inóculo bacteriano

(10mL/cepa) y el tercero, tanques para la colecta de las muestras a medir procedentes del tanque del escalón 2 (figura 4).



Figura 4. Sistema de biorremediación en forma de escala, en donde caerán a favor de la gravedad el flujo de nutrientes de un escalón a otro.

### 2.2.2 Inoculación de las bacterias

Las cepas utilizadas en esta fase experimental fueron: *P. aeruginosa* y *P. fluorescens* las cuales se aislaron de cultivos puros (cepa madre), se inocularon en caldo Trypticase de soja (200 mL del caldo) para su crecimiento durante 24 horas. Luego de tener montados con anticipación todos los tanques de tratamiento, se procedió a agregar 10 mL de cada cepa en 1000 mL de agua destilada (segundo nivel de galones) previamente esterilizada, los 10 mL fueron agregados con ayuda de micropipetas y cada tanque se rotuló con su respectiva cepa y se dejó un blanco (control), así pues, utilizamos cuatro tanques (control, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* y cepas mixtas).

### 2.2.3 Monitoreo de biorremediación

Luego de agregadas las cepas bacterianas, se dejaron en crecimiento por 48 horas, esto se realizó para que la cepa tuviese una mayor adaptación al medio, ya que, estas fueron pasadas de un medio artificial (con todos los nutrientes esenciales) a uno natural (agua residual).

Cada tanque estaba conectado con mangueras de venoclisis con su respectivo regulador de flujo que permitía el paso de nutrientes (escalón 1 al escalón 2) y este fue regulado a una tasa de dos gotas por minuto de entrada y salida.

### 2.2.4 Mediciones

Se realizó una primera medición la cual provino directamente del agua residual en donde se tomaron cuatro muestras y a cada una se le aplicaron mediciones de pH, conductividad y oxígeno disuelto y de ahí se sacó un valor promedio para cada uno de estos factores; el cual se utilizó para ser comparado con los valores después del tratamiento.

Dichos equipos mencionados son de las marcas HANNA y CRISON. De igual forma se realizaron mediciones al agua destilada y agua potable para ser comparadas con las realizadas después, del tratamiento. De cada tanque de biorremediación con sus respectivas cepas (escalón 3) se tomaron aproximadamente 15 mL, a los cuales le realizamos mediciones (pH, conductividad, y oxígeno disuelto). Este procedimiento fue realizado por cinco días. Para comparar si las cepas utilizadas tienen la capacidad y efectividad a nivel experimental de reducir los contaminantes en aguas residuales (fosfatos, nitratos, entre otros), se realizaron tres repeticiones.

Se incorporaron mediciones de sólidos suspendidos antes y después del tratamiento, para corroborar la efectividad de las cepas utilizadas sobre el agua residual, para esto se tomaron tres muestras de 100 mL cada una, la primera corresponde al agua residual no estéril, la segunda, al agua residual estéril y la tercera, al agua tratada con cada cepa. Estas muestras se llevan a horno para su secado y luego se pesan, no obstante, se conocía el peso del Erlenmeyer a usar para así restar, comparar y observar si hay cambios. Por otro lado, aplicamos técnicas de respiración aeróbica para determinar la producción de CO<sub>2</sub> producida en un día de tratamiento. Esto se hace colocando Ca (OH)<sub>2</sub> en un tubo de ensayo y se deja colgando dentro del biorreactor con condiciones aerobias. Luego, se procede a hacer titulación después de haberle agregado Ba (OH)<sub>2</sub> y fenolftaleína. La titulación se realizó con HCl 0.2N (figura 6 y 7).



Figura 5 y 6. Pruebas de respirometría (izquierda) y sólidos suspendidos (derecha).

## 3. Resultados y discusión

Las lecturas de los parámetros medidos se realizaron en períodos de 24 horas, para comprobar que las cepas utilizadas resultaron positivas para la utilización del material presente como fuente de carbono. La efectividad metabólica de las bacterias en este medio se determinó a través de las mediciones realizadas en las cuales, los niveles de pH y conductividad bajaron y el porcentaje de oxígeno disuelto aumentó comparado con la medición inicial (cuadro 1).

Pimentel (et al): Aplicación de bacterias benéficas como modelo experimental para la reducción de sólidos y conductividad en aguas residuales

Dentro de las cepas, la mayor degradación y biorremediación del material orgánico lo produjo *P. aeruginosa*, que presentó bajos niveles de conductividad (grafica 1) y un incremento de oxígeno disuelto; en segunda instancia la *P. fluorescens*, presentó un aumento menor que *P. aeruginosa*. Sin embargo, al mezclar las cepas los resultados no mostraron mucha degradación, observado a partir de las mediciones realizadas por separado (cuadro 2).

Se realizaron repeticiones para corroborar el papel que ejecutan dichas cepas sobre el agua residual. Al igual que el primer ensayo, estas fueron monitoreadas cada 24 horas después de agregado el inoculo bacteriano, y se tomó en cuenta las mediciones iniciales (48 horas).

Las mediciones, sólidos suspendidos y respiración aeróbica mostraron valores en donde *P. aeruginosa* presentó una degradación de sólidos de 0,03 g después del tratamiento con respecto al control 1,24 g. Sin embargo, antes del tratamiento, las muestras poseían un peso en sólidos suspendidos 1,97 g. Por técnicas de mediciones aerobias, la *P. aeruginosa* dio un aumento de CO<sub>2</sub>, a través de las pruebas realizadas lo cual demuestra la actividad biorremediadora del agua residual con técnicas a nivel de laboratorio.

**Tabla 1.** Datos obtenidos de la colecta de agua residual, en la cual muestra valores elevados de conductividad, pero el bajo porcentaje de oxígeno

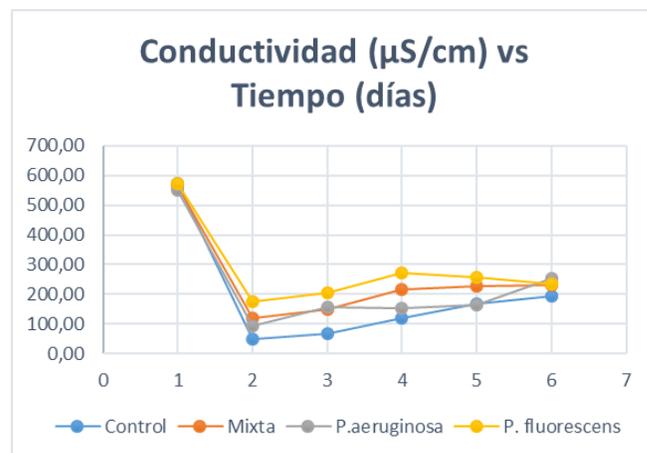
Agua residual antes del tratamiento	pH	Conductividad (µS/cm)	% Sat O <sub>2</sub>
Cepa mixta	7.13	748	33
<i>P. fluorescens</i>	7.12	758	26
<i>P. aeruginosa</i>	7.14	800	33
<b>Control</b>	7.13	759	26
<b>Promedio</b>	7.13	766.2	29.5

**Tabla 2.** Resultados obtenidos a partir de la repetición realizada en donde se muestra que *P. aeruginosa* pudo atacar y utilizar con mayor eficacia los compuestos presentes en las aguas residuales estudiadas

Agua residual después del tratamiento	pH	Conductividad (µS/cm)	% Sat O <sub>2</sub>
Cepa mixta	7.52	385	59
<i>P. fluorescens</i>	7.58	284	60
<i>P. aeruginosa</i>	7.36	235	65
<b>Control</b>	<b>7.47</b>	<b>219</b>	<b>55</b>

Luego del tratamiento con bacterias biorremediadores, se pudo notar la gran capacidad que presentan estos microorganismos, ya que, a nivel de laboratorio logran incrementar el bajo porcentaje de oxígeno, punto

característico de estas aguas residuales, sin embargo, hay que tomar en cuenta la entrada de aire a través de bombas. Ya que, estas cepas poseen un metabolismo aeróbico, y además que, si se efectúa a través de procesos anaerobios se liberan muchos gases tóxicos como el metano, sin embargo, con procesos aerobios como los realizados se recrea el medio ambiente de estas bacterias y se evita así la liberación de gases tóxicos.



**Gráfica 1.** Se muestran los resultados obtenidos de la conductividad en las diversas mediciones realizadas en la fase 1 a lo largo de los cinco días de tratamiento.

Un punto crucial es la demanda de oxígeno por las bacterias, ya que, al conectar bombas aumentan la cantidad de este gas en el medio y puede afectar las mediciones.

Los valores obtenidos son muy importantes para determinar el comportamiento de cepas como *P. aeruginosa* y *P. fluorescens* frente a aguas residuales, sin embargo, la cantidad de inoculo utilizada varió, ya que, le agregamos 10 ml del inoculo bacteriano por litro de agua destilada. No obstante, [3,23] deben ser utilizados 50 mL del inoculo bacteriano en 450 ml del medio, sin embargo, preferimos realizarlos con menor cantidad de bacterias y mayor de medio, ya que, el método mencionado es para organismos anaerobios y al realizar el ensayo con esta cantidad, no se aprecia la curva de crecimiento y los valores no son comparables.

#### 4. Conclusión

De las bacterias benéficas aplicadas, la *P. aeruginosa* fue eficiente provocando una mayor reducción de los parámetros medidos, los cuales son indicadores de la calidad del agua, ya que, el valor inicial de la conductividad del agua residual a tratar era de 800 µS/cm y el final fue de 235 µS/cm. En cuanto a la reducción de sólidos fue casi total, el peso inicial era de 1,24 g y el peso final fue de 0,03g.

## RECONOCIMIENTO

Damos gracias a Dios por mantenernos con salud, por darnos fortalezas para salir adelante y sobre todo debilidades, ya que, son las que en realidad nos enseñan a mirar el mundo con ojos de científicos creyentes en él.

Al Dr. Alexis De La Cruz por asesorarnos en este proyecto tan importante como lo es el tema de agua residual, ya que amplía es la demanda de agua potable.

A todos los que formamos parte de este grupo de trabajo que día a día hemos luchado por aprender y formar un mundo nuevo.

Al profesor Ítalo Goty por su apoyo y conocimientos aportados sobre datos estadísticos.

## REFERENCIAS

- [1] Otiniano García, M., Tuesta Collantes, L., Robles Castillo, H., & Luján Velázquez, M. Y. (2007). Biorremediación de Cromo VI de Aguas Residuales de Curtiembres por *Pseudomonas* Sp y su Efecto Sobre El Ciclo Celular De *Allium Cepa*.
- [2] Ronald Ferrera-Cerrato, N.-A.-V.-V. (2006). Procesos De Biorremediación de Suelo y Agua Contaminados por Hidrocarburos del Petróleo y Otros Compuestos Orgánicos.
- [3] Sandra Crombet Grillet, A. A. (2016). Evaluación del tratamiento anaerobio de las aguas residuales de una comunidad universitaria. revista Colombiana de Biotecnología, 49-56.
- [4] Ortiz M, Raully R.G, Serra L, Uche J. (2017). Life cycle assessment of water treatment technologies: wastewater and water-reuse in a small town. Desasimilation, 240 (1-3)121-131.
- [5] Cubana, N. (2012). Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. *Especificaciones., NC,27*.
- [6] Crombet, S., Pérez, N., Ábalos, A., & Rodríguez, S. (2013). Caracterización de las aguas residuales de la comunidad Antonio Maceo de la Universidad de Oriente. Cubana de Química, 25(2), 134-142.
- [7] Chao, C. (2005). Análisis del aprovechamiento de agua residual tratada como agua de reuso para riego de áreas verdes en las instalaciones hoteleras. *Informe técnico. Inmobiliaria ALMEST. p. 20*.
- [8] Gutiérrez, J. 2003. Controversias disciplinares e compromisos pendientes na pesquisa contemporânea em educação ambiental. Revista de Educação Pública 12 (22): 83-106.
- [9] OMS. 1989. "Directrices Sanitarias Sobre El Uso de Aguas Residuales en Agricultura y Acuicultura." Serie de informes técnicos 778  
<http://orton.catie.ac.cr/cgibin/wxis.exe/?IsisScript=AGRINER.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000101>.
- [10] Metcalf y Eddy. 1995. Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización. McGraw-Hill/Interamericana de España S.A. 1485 pp.
- [11] Peña, Evelyn, Pulla Profesor, and Ing José Chang. 2007. "CALIDAD DE AGUA TRABAJO DE INVESTIGACION OXIGENO DISUELTO (OD) ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL ING. EN AUDITORIA Y CONTROL DE GESTIÓN ANTECEDENTES."
- [12] Silva, Jorge, Patricia Torres, and Carlos Madera. 2008. "Reuso de Aguas Residuales Domésticas En Agricultura. Una Revisión Domestic Wastewater Reuse in Agriculture . A Review." *Agronomía Colombiana* 26(1): 347-59.  
<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/artic le/vie w/13521/14204>.
- [13] Ruiz Martínez, L. (2007). "Pseudomonas aeruginosa": Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. Universitat de Barcelona.
- [14] Robert, F. y S. Israel. 1994. Response of bacterial populations to petroleum hydrocarbon contamination in tropical soils. Presentación en el 94th Am. Soc. Microbiol.
- [15] Hernández H. (2008). Evaluación de tecnologías de tratamientos descentralizados de aguas residuales domesticas para comunidades periurbanas empleando criterios de sostenibilidad. Diplomado en gestión ambiental. Instituto de Geografía Tropical. La Habana. Cuba. P. 58.
- [16] 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington. 1265 pp.
- [17] Eliet Veliz Lorenzo, J. G. (2007). Reúso de aguas residuales domésticas para riego agrícola. Valoración crítica. Revista CENIC. Ciencias Biológica.
- [18] Duran U. (2010). Estudio fisiológico y poblacional de un proceso microbiológico Metanogénicas con oxígeno para la eliminación de acetato de vinilo. Tesis en opción al grado de Doctor en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. México. P. 97
- [19] Van Haandel A, Kato M.T, Cavalcanti P, Florencio L. (2016). Anaerobic reactor design concepts for the treatment of domestic wastewater. *Environmental Science and Bio/Technology*, 5 (1), 21-38.
- [20] Mara, D. y S. Cairncross. 1990. Directrices para el uso sin riesgos de aguas residuales y excretas en agricultura y acuicultura. Medidas de protección de la Salud Pública. Organización Mundial de la Salud (OMS). 213 pp.
- [21] Moscoso, J. 1993. Reuso de las aguas residuales en Perú. Taller regional para América sobre aspectos de salud, agricultura y medio ambiente. México.
- [22] Goyenola, Guillermo; Acevedo, Sandra; Machado, Irene; Mazzeo, Néstor. 2009. "Diagnóstico Del Estado Ambiental de Los Sistemas Acuáticos Superficiales Del Departamento de Canelones." Plan Estratégico Departamental de Calidad de Agua (PEDCA). FCIEN-UR, IMC, ACID 1(1): 33.
- [23] Visser, A. (1995). The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater (Doctoral dissertation, Visser).