

8 DISCUSIÓN

El tratamiento biológico de aguas residuales complejas requiere del análisis de varios factores que están involucrados como la temperatura, el pH, cantidad y calidad de los contaminantes así como la cantidad y calidad de los microorganismos que se usarán en el tratamiento de éstos.

8.1 TAMAÑO DEL INÓCULO

Los procesos industriales tienen requerimientos elevados del inóculo (del 3 al 10%). Debido a las desventajas que ya se han visto referentes a la fase *lag*. Lincoln (20) propuso que el inóculo debería de ser transferido durante la fase *log* de crecimiento, es decir cuando las células aún presentan una elevada actividad metabólica. Esta característica es muy importante en bacterias esporulantes, ya que las esporas son generadas al final de la fase *log* y provocan un alargamiento de la fase *lag*. Esto coincide con las observaciones que tuvimos durante las resiembras de los ensayos. Es muy importante la edad del cultivo para realizar una resiembra, ya que la cepa o el consorcio no debe de entrar en una fase *lag* en el momento de inoculación. Los consorcios en este trabajo mostraron una fase adecuada de crecimiento durante las primera y segunda semana del tratamiento, después de este tiempo las resiembras perdían eficacia, así como velocidad en iniciar con la eliminación de los compuestos.

Cuando se trabaja con inóculos industriales, hay cinco criterios que se deben cumplir (6):

- ◆ Se debe de encontrar en un estado saludable y activo, para así evitar al máximo la fase *lag*.
- ◆ Se debe tener el volumen necesario.
- ◆ Tiene que tener la forma morfológica correcta.
- ◆ Debe de ser puro.
- ◆ Debe conservar su actividad intrínseca.

El tomar éstos criterios en cuenta, mejora la eficiencia de las cepas involucradas, así como el tiempo general del proceso.

La formulación se basa en los requerimientos nutrimentales del organismo, pero también es muy importante tomar en cuenta el producto que se quiere generar. Es por ésta razón que en ocasiones la formulación para el crecimiento difiere de aquella para la producción, la cual por lo general es más compleja. No obstante, en 1960 Lincoln debatió acerca de este tema afirmando que entre más parecidos sean ambos medios de cultivo, el microorganismo tendrá menos problema para adaptarse y así se disminuirá la fase *lag* y se comenzará antes con la producción. Las bacterias que se utilizaron en éste trabajo se pasaban de un cultivo en placa con un medio rico en nutrientes a las aguas de Kimberly Clark, que en principio representan un medio hostil para la bacteria, por lo que entra en una fase *lag*. Es por eso que los ensayos de degradación en volúmenes de 200 mL tomaban el mismo tiempo que en 1 o 20 L, debido a que en la segunda y tercera fase estamos evitando la fase *lag* al escalar la biomasa cuando el cultivo se encuentra en una fase de crecimiento y con materia orgánica aún suficiente.

8.2 CONSORCIOS BACTERIANOS

Los consorcios bacterianos son capaces de realizar degradaciones con muy buenos resultados en las distintas etapas del tratamiento de aguas de Kimberly Clark y a distintos volúmenes, existiendo la posibilidad de utilizar éstos consorcios en bio-reactores de más de 10 000 litros de capacidad.

Es importante siempre intentar que los consorcios bacterianos estén integrados, al menos, en su mayoría, por organismos nativos, ya que se espera que la microbiota natural del sistema presente ventajas en términos de competitividad para el uso de nutrientes, sobre organismos exógenos, además de que en algunas ocasiones suelen alterar factores intrínsecos como pH, actividad del agua y producción de metabolitos inhibidores (6, 20). En investigaciones previas por Sanjeet Mishra, et al. (14), se demostró que bacterias autóctonas son capaces de biorremediar suelo contaminado por lodos aceitosos. Altas concentraciones de algún

compuesto contaminante suelen inhibir el crecimiento del consorcio, sin embargo, si el sistema es enriquecido previamente y se vuelven a sembrar estos consorcios se suele evitar este problema.

8.3 BACILLUS SP

Con *Bacillus subtilis*, las posibilidades de explotación son muy grandes. *Bacillus subtilis* no es una bacteria patógena, por lo que su manejo no sería complicado y no representaría un riesgo trabajar con ella. Es una bacteria que ha venido utilizándose mucho para manipulaciones genéticas, incluso desplazando a *Escherichia coli*. Este hecho se debe a que a diferencia de *E. coli*, *Bacillus subtilis*, excreta las proteínas al exterior, y su genoma ya pertenece también al grupo de los más estudiados. Este bacilo ha mostrado tener la capacidad de crecer en una gran diversidad de xenobióticos a distintas concentraciones y esto aunado al hecho de que es una bacteria aerobia facultativa y con una gran movilidad, la hace ideal para este tipo de trabajos, en donde los compuestos y sus concentraciones varían de muestra a muestra.

A pesar de todas las ventajas de *Bacillus subtilis* observadas a lo largo de este trabajo, fue evidente el mejor funcionamiento de la bacteria, con el propósito de eliminación de xenobióticos, dentro de un consorcio, por lo que se debe seguir buscando otros consorcios que la incluyan, en donde la competencia sea menor, para que las demás bacterias sobrevivan al igual que *Bacillus subtilis*, más resiembras y en caso de ser necesario, subsistan si se presentan tiempos de degradación más prolongados. Siembras cruzadas mostraron que no hay una inhibición importante de una bacteria a otra, sin embargo, debido a que el crecimiento de *Bacillus subtilis* suele ser más prominente, suele aumentar en proporción frente a las demás bacterias que conforman el consorcio.

8.4 EXPLOTACIÓN INDUSTRIAL DE LAS CEPAS AISLADAS

Como se mencionó anteriormente, *Bacillus subtilis* es la que parece tener mayor potencial de explotación debido a su buena adaptabilidad y a su baja patogenicidad. En el caso de las

Enterobacterias es distinto, ya que están asociadas a muchos cuadros diarreicos. *Plesiomonas shigelloides* perteneciente a la familia Vibrionaceae, por ejemplo, ha sido asociada con bactericemia, meningitis, hepatopatía alcohólica y la enfermedad de Hodgkin. Por otro lado también es necesario considerar que se pueden modificar por ingeniería genética las cepas potencialmente patógenas en inocuas pero conservando su capacidad para eliminar los compuestos xenobióticos.

8.5 ELIMINACIÓN DE XENOBIÓTICOS

Los resultados de este trabajo mostraron que el consumo de fenoles y compuestos clorados inicia hasta que los ácidos orgánicos han sido prácticamente eliminados. Esto tiene ventajas y desventajas, la desventaja es que si se desean disminuir los tiempos de residencia, es necesario separar durante el tratamiento del agua, los compuestos antes mencionados. Por eso un tratamiento primario sería recomendable antes de realizar un tratamiento como el que se muestra a lo largo de este trabajo. El tratamiento primario permitiría la eliminación de mucha materia orgánica que hace que la eliminación de xenobióticos sea más tardada. También es recomendable que el inóculo proceda de un escalamiento, ya que de lo contrario es muy probable que los microorganismos tardarían más en salir de la fase *lag*, al existir mayoritariamente, compuestos difíciles de degradar. Por otro lado la ventaja es que existiendo estos compuestos al utilizarlos, aumenta la biomasa y posteriormente eliminan más rápido los contaminantes.

8.6 REPRODUCIBILIDAD

Los ensayos de degradación no fueron muy reproducibles, pero esto se debió principalmente a que el contenido de las aguas varió mucho en cada recolección, además de que fue muy difícil mantenerlas estables a pesar de esterilizarlas poco después de cada recolección. En las 3 ocasiones que se recolectaron muestras, se realizaron tratamientos de agua distintos por parte de la empresa, por lo que los resultados parecen no ser semejantes. Los datos más confiables,

así como los más trascendentes para este trabajo son los de la última recolección. En general los resultados de DQO, así como de DBO nos permiten observar que el tratamiento de anaerobio que se realiza en la planta de tratamiento de Kimberliy Clark es bastante efectivo, no obstante en la última recolección únicamente se tomó agua sin haber tenido tratamiento biológico, ya que esta agua estaba destinada para los ensayos de degradación finales. A pesar de esto se pudo ver con claridad: cual consorcio funcionaba mejor y bajo que circunstancias. Así, los primeros dos consorcios fueron los que mostraron mejores propiedades y el primero básicamente por contener a la cepa de *Bacillus subtilis* como ya se mencionó anteriormente.

Otros trabajos han mostrado que este tipo de tratamientos tienen un gran potencial, por ejemplo, Folsom et al (12), en 1990 lograron aislar una cepa de *Pseudomonas cepacia G4*, capaz de degradar fenoles, así como otros compuestos xenobióticos. Por otro lado se encontró que *Ralstonia sp.* es capaz de mineralizar el 2,6-Diclorofenol inactivándolo (21). Roslev et al, demostraron la posible degradación de ciertos ftalatos con carbón activado. Por medio de éstas técnicas también se han eliminado esta clase de compuestos de ríos en Rusia, tal es el caso del río Yenisei y de la reserva Krasnoyarks (9). La lista de éstos ejemplos continua y es un aliciente para proseguir con éste tipo de tratamientos.