

RESUMEN

En las últimas décadas el hombre ha sintetizado y liberado al ambiente un gran número de compuestos orgánicos tóxicos, mutagénicos o difíciles de degradar. Estas propiedades definen a estos compuestos de origen antropogénico como xenobióticos. La biodegradación de xenobióticos mediante bacterias es una estrategia eficiente tanto para la recuperación de ambientes contaminados como también para el tratamiento de residuos que los contengan. Son básicamente tres los mecanismos que presentan las bacterias para la degradación de estos compuestos: (1) biodegradación como única fuente de energía y de carbono, (2) biodegradación como sustrato secundario, debido a una biodisponibilidad inferior a la requerida para sustentar el crecimiento bacteriano, y (3) biotransformación cometabólica en que la célula bacteriana requiere de otro sustrato para sustentar el crecimiento. En esta tesis se considera como hipótesis la existencia de un nuevo mecanismo, que implica la biodegradación completa de un xenobiótico que no tiene la capacidad para sustentar el crecimiento bacteriano debido a que los niveles de toxicidad del compuesto sobrepasan las capacidades degradativas en el microorganismo.

Como modelo de estudio se utilizó la biodegradación aeróbica de clorofenoles por bacterias aisladas del río Biobío. Se postula que la biodegradación aeróbica de estos xenobióticos, en ambientes acuáticos receptores tanto de clorofenoles como de compuestos orgánicos de fácil metabolización, podría ser llevada a cabo por bacterias que requieren de sustratos de fácil metabolización para sustentar su crecimiento.

Los resultados obtenidos demostraron que la cepa *Sphingopyxis chilensis* S37 y la cepa S32 tipo *Sphingopyxis*, aisladas de un sitio contaminado del río Biobío, pueden crecer y degradar 2,4,6-triclorofenol en un medio salino mineral adicionado con glucosa como fuente de carbono. Los resultados por espectrofotometría, medición de cloruro liberado, GC y GC-MS y HPLC, mostraron la ruptura del anillo aromático del halofenol y la liberación estequiométrica de cloruro, sin la detección de intermediarios metabólicos que indiquen cometabolismo. Utilizando un rango de concentraciones del clorofenol entre 0,025 y 0,2 mM, se encontró que a mayor contenido del halofenol, estas bacterias requieren también de una mayor concentración de glucosa para sobreponerse al efecto tóxico del xenobiótico, pudiendo crecer y degradar este último. Por otro lado, en una condición de ausencia de crecimiento, utilizando suspensiones bacterianas de la cepa *S. chilensis* S37 con una densidad celular de 10^7 UFC ml⁻¹, se demostró que 2,4,6-triclorofenol 0,5 mM provoca una muerte de la bacteria que se evita con una adición equimolar de un sustrato de fácil metabolización como la glucosa.

Adicionalmente, se realizó un análisis de los modelos cinéticos que describen el crecimiento bacteriano y la degradación de compuestos tóxicos, poniéndose especial énfasis en el concepto de la mínima concentración de sustrato que permite el crecimiento bacteriano. Este concepto define la posible existencia de un sustrato secundario debido a una biodisponibilidad de sustrato inferior a la requerida para sustentar el crecimiento. Se propone una nueva ecuación que explica la posible mineralización de 2,4,6-triclorofenol que no sustenta el desarrollo de biomasa a cualquier concentración. Esta ecuación describe

el efecto del incremento de la concentración de un compuesto tóxico, sobre el valor teórico de su concentración mínima que permitiría el desarrollo de la biomasa. Debido a que mayores concentraciones de un sustrato tóxico genera mayores requerimientos energéticos para la célula bacteriana, se demuestra la posibilidad de que cualquier concentración disponible de este compuesto sea siempre menor al valor teórico de su mínima concentración que permitiría el crecimiento bacteriano. Esta propuesta describe un nuevo tipo de sustrato secundario, el cual sólo puede ser mineralizado cuando el metabolismo bacteriano es sustentado con sustratos de fácil metabolización.

Con la detección de bacterias con este tipo de propiedades se puede concluir que en el ambiente existiría un mayor potencial de autodepuración que el considerado hasta ahora. La comprensión y manejo de este potencial permitiría mejorar las estrategias de biorremediación de ambientes contaminados con compuestos tóxicos.