



**EFFECTO DE LA PROPORCION DE METANOGENICOS Y
REDUCTORES DE SULFATO EN LA ACTIVIDAD DE
BIOPELICULAS QUE DEPURAN EFLUENTES PROTEICOS
RICOS EN SULFATO**

Por

Manuel Rubén Alarcón Vivero

Tesis presentada a la escuela de graduados

Universidad de Concepción

Para optar al grado de

MAGISTER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN MICROBIOLOGÍA

Concepción-Chile

2002

RESUMEN

Debido a que las bacterias reductoras de sulfato (BRS) no pueden utilizar sustratos metilados, la utilización de biopelículas enriquecidas con Archaeas metanogénicas metilaminotróficas (APMm) se ha propuesto como estrategia para desplazar competitivamente a las BRS, que son particularmente activos en biopelículas que depuran efluentes ricos en sulfato (ej: Pesqueros). De allí que el estudio de la colonización de soportes por APMm es de relevancia para desarrollar biopelículas metanogénicas en condiciones reductoras de sulfato. Este trabajo está dirigido a conocer el efecto de la proporción de APMm *versus* bacterias reductoras de sulfato acetotróficas (BRSa), sobre la eficiencia degradativa de materia orgánica y la producción de metano de una biopelícula experimental. Para lo cual, se aislaron APMm y BRSa, desde lodos estabilizados en reactores semicontinuos, alimentados con vertidos pesqueros. Mediante análisis de rRNA 16S se verificó la pureza de cada cultivo. En anaerobiosis usando viales ámbar de 50 ml, se prepararon mezclas de APMm y BRSa en las siguientes proporciones de APMm/BRSa: $10^4/10^0$; $10^3/10^0$; $10^2/10^0$; $10^1/10^0$; $10^0/10^0$; $10^0/10^1$; $10^0/10^2$; $10^0/10^3$; $10^0/10^4$, utilizando como fuente de carbono metilamina y acetato (0.6 % p/v final para ambos casos) en un medio de cultivo que emula un efluente pesquero. Se preparó la biopelícula incluyendo cerámica en cada vial (10% del volumen final), e incubando por 10 días a 37° C en agitación constante de 150 rpm. Posteriormente, se extrajo las células suspendidas dejando el sistema experimental solamente con la biopelícula sobre cerámica y medio de cultivo estéril. La proporción real APMm *versus* BRSa en las biopelículas experimentales obtenidas se determinó mediante los recuentos de APMm y BRSa adheridas por la técnica estándar del NMP. Al cabo de 10 días de incubación se determinó, para cada sistema

experimental, la producción de metano y H₂S, mediante cromatografía de gas. La concentración de materia orgánica se evaluó mediante la determinación del carbono orgánico total y la concentración de acetato, mediante cromatografía líquido-gas. Los resultados obtenidos muestran que se obtuvo un consorcio APMm (morfortipos afines a *Methanosarcina* y a *Methanotrix*) y una cepa BRSa (morfortipo afín a *Desulfobacter*), la proporción en la biopelícula de 10⁵ APMm : 10⁰ BRSa presentó la mejor actividad degradativa (cercano al 40% del TOC inicial) y la mejor producción de metano (cercana al 80 % del biogas), sin registrar producción de H₂S como sulfuro disuelto. La biopelícula formada por APMm : BRSa = 10⁶: 1 alcanzó una mayor producción de metano (90% del biogas) y una mayor degradación de materia orgánica (80% TOC inicial), aunque presentó producción de sulfuro disuelto (0.7 ppm). En conclusión se define una relación APMm y BRSa en el rango entre 10³ - 10⁴:10⁰ para la inoculación en la formación de biopelículas como óptimas para una mayor producción de metano, mayor actividad degradativa y menor actividad reductora sulfato en ambientes reductores de sulfato.