

BIOPROSPECCIÓN DE CEPAS DE MICROALGAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO EN EL LIXIVIADO PROVENIENTE DEL RELLENO SANITARIO DE LA CIUDAD DE SANTA FE

Clebot, Aldana

Laboratorio de Fermentaciones. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

Director/a: Márquez, Vanina.

Área: Ciencias Biológicas

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son un grupo de organismos diversos, que pueden crecer en condiciones auto, mixo o heterotróficas, pudiendo aprovechar algunos efluentes como fuentes de nutrientes para su proliferación (Abdelaziz y col., 2014; Bohutskyi y col., 2015). Además, algunas microalgas son capaces de acumular aceites aptos para la elaboración de biodiesel (Barbosa y Wijffels, 2013). La factibilidad de un proceso de producción de biodiesel empleando microalgas, depende entre otros factores, del empleo de cepas oleaginosas capaces de proliferar en las condiciones climáticas prevalentes (Rodolfi y col., 2009). Para esto, una alternativa es la búsqueda de cepas locales, capaces de desarrollarse en efluentes y con pocas exigencias. En el presente trabajo llevamos a cabo esta búsqueda en el lixiviado producido en el relleno sanitario, como efluente del tratamiento de los residuos sólidos urbanos de Santa Fe, y en las lagunas donde dicho lixiviado es depurado, previo a su disposición final.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es determinar la presencia e identidad de microalgas de interés tecnológico en las lagunas de tratamiento de lixiviado producido en el relleno sanitario de la ciudad de Santa Fe. También se plantea como objetivo seleccionar aquellas cepas de microalgas oleaginosas con potencial para la producción de biodiesel.

Título del proyecto: "Caracterización microbiológica del lixiviado y lagunas de tratamiento del relleno sanitario de la ciudad de Santa Fe. Estudio de microorganismos de interés biotecnológico"

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: UNL

Director/a: Latorre Rapela, María Gabriela

METODOLOGÍA

Se tomaron muestras del lixiviado producido y las lagunas donde este recibe tratamiento, en la planta de residuos sólidos urbanos de la Ciudad de Santa Fe, en dos estaciones del año. Para realizar los aislamientos, las muestras se sembraron en superficie en el medio BG-11 sólido y se establecieron las siguientes condiciones de incubación: temperatura de 23°C, con iluminación artificial ($10 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) y fotoperiodo (16:8 h, L: O), siguiendo los lineamientos descritos por Andersen y Kawachi (2005). Las colonias de microalgas detectadas, fueron subcultivadas hasta lograr cultivos axénicos. Los aislamientos fueron identificados por dos metodologías: i) una clásica, analizando sus características microscópicas y ii) una molecular, para la cual se extrajo el ADN genómico, utilizando un kit comercial y posteriormente empleando el ADN obtenido como templado en reacciones de PCR usando oligonucleótidos estándares para la amplificación de regiones específicas del gen que codifica para el ARN ribosomal (Poitelon y col., 2009). Las secuencias de los productos de PCR fueron cotejadas con las depositadas en bases de datos, empleando BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). La capacidad de acumulación de aceite en las microalgas aisladas fue analizada empleando el colorante Rojo Nilo y microscopía de epifluorescencia, de acuerdo a lo descrito por Chen y col. (2009).

RESULTADOS/CONCLUSIONES

Se obtuvieron 43 aislamientos de microalgas. Los mismos provenían de las muestras tomadas de lagunas de tratamiento aeróbico y anaeróbico. Hasta el momento, no se obtuvieron aislamientos a partir del lixiviado crudo, esto podría ocurrir debido a la presencia de compuestos que en ciertos niveles pueden inhibir el desarrollo de varios microorganismos (Lin y col., 2007). En cambio, en las lagunas de tratamiento los niveles de los distintos compuestos serían diferentes como resultado del propio proceso de depuración. Las microalgas aisladas fueron analizadas por microscopía para aproximar su filiación taxonómica, identificándose fundamentalmente microalgas del género *Chlorella* (**Fig. 1**). Esto fue corroborado por la metodología molecular, luego de ajustar y estandarizar las condiciones para su ejecución (**Fig. 2**).

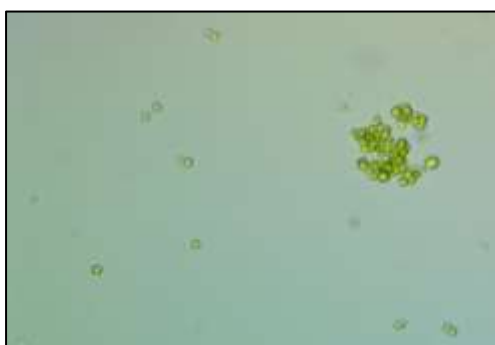


Figura 1: Microfotografía de microalgas perteneciente a un aislamiento obtenido del lixiviado tratado.

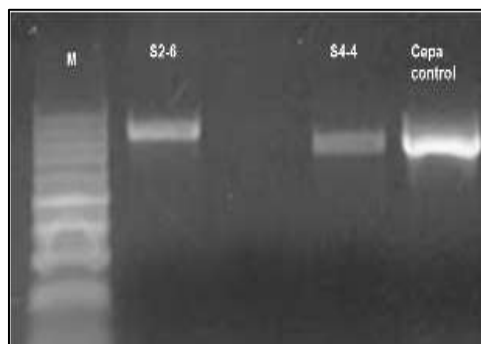


Figura 2: Electroforesis en gel de agarosa de productos de amplificación de las ITS por PCR para identificación molecular de las cepas aisladas.

Algunas de las cepas presentaron alta identidad (>95%) con especies como *C. vulgaris* entre otras. De acuerdo a la bibliografía, las microalgas de este género son promisorias como productoras de aceite unicelular, materia prima para la producción de biodiesel (Barbosa y Wijffels, 2013). Mediante la tinción fluorescente específica pudo establecerse que las microalgas aisladas pueden acumular aceites durante la fase estacionaria de cultivo (**Fig. 3**). Mayor precisión sobre el potencial de estas cepas podrá obtenerse a partir del análisis cualitativo de los aceites acumulados, una tarea que se está desarrollando actualmente

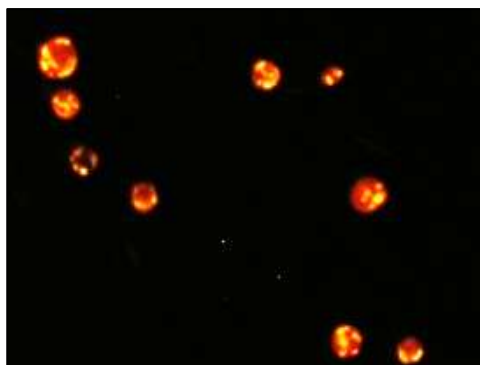


Figura 3: Microfotografía de epifluorescencia de acúmulos de aceites teñidos en color amarillo el interior de las células de *Chlorella* aisladas de muestras de una de las lagunas de tratamiento del lixiviado.

En conclusión, fue posible aislar e identificar microalgas a partir de muestras procedentes de un efluente urbano. Estas serían microalgas capaces de crecer en las condiciones climáticas prevalentes en nuestra región, con pocas exigencias para su desarrollo y potencial para la producción de aceite unicelular, por lo que sus propiedades tecnológicas aún continúan siendo evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Abdelaziz, A.; Leite, G.; Belhaj, M. y Hallenbeck, P.,** 2014. Screening microalgae native to Quebec for wastewater treatment and biodiesel production. *Bioresource Technology*, 157, 140–148.
- Andersen, R.; Kawachi, M.,** 2005. Traditional microalgae isolation techniques. En: *Algal culturing techniques*, 83-100.
- Barbosa, M.; Wijffels, R.,** 2013. Biofuels from microalgae. En: *Handbook of Microalgal Culture. Applied Phycology and Biotechnology* (Eds.: Richmond, A.; Hu, Q.) John Wiley & Sons, Ltd. Sussex, Reino Unido, 566-578.
- Bohutskyi, P.; Liu, K.; Khaled Nasr, L.; Byers, N.; Rosenberg, J.; Oyler, G.; Betenbaugh, M.; Bouwer, E.,** 2015. Bioprospecting of microalgae for integrated biomass production and phytoremediation of unsterilized wastewater and anaerobic -digestion centrate. *Applied Microbiology Biotechnology*, 99, 6139–6154.
- Chen, W., Zhang, C., Song, L., Sommerfeld, M., Hu, Q.,** 2009. A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *Journal of Microbiological Methods*, 77, 41–7.
- Lin, L.; Chan, G.; Jiang, B.; Lan, C.,** 2007. Use of ammoniacal nitrogen tolerant microalgae in landfill leachate treatment. *Waste Management*, 27, 1376–1382.
- Poitelon, J.; Joyeux, M.; Welté, B.; Duguet, J.; Peplies, J.; DuBow, M.,** 2009. Identification and phylogeny of eukaryotic 18S rDNA phylotypes detected in chlorinated finished drinking water samples from three Parisian surface water treatment plants. *Applied Microbiology*, 49, 589-595.
- Rodolfi, L.; Chini Zittelli, G.; Bassi, N.; Padovani, G.; Biondi, N.; Bonini, G.; Tredici, M.,** 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology Bioengineering*, 102, 100-112.