

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS CON POTENCIAL BIODEGRADATIVO SOBRE MATERIALES PLÁSTICOS DEL LIXIVIADO DEL RELLENO SANITARIO DE LA CIUDAD DE SANTA FE.

Gaido, Jimena

*Cátedra de Microbiología General, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL.
Directora: María Celia Vaccari.*

Área: Ciencias Biológicas

INTRODUCCIÓN

El relleno sanitario es un método diseñado para la disposición final de los residuos. Éste presenta importantes ventajas con respecto a otras alternativas de tratamiento que se aplican para reducir el volumen de residuos sólidos, como la incineración, que genera una nueva fuente de contaminación por liberación de gases tóxicos al ambiente, o el reciclaje, que presenta limitaciones tanto técnicas como culturales. Sin embargo es importante considerar el manejo adecuado del lixiviado que se genera tras el paso de agua a través de los residuos. Éstos son efluentes líquidos formados por mezclas complejas de materia orgánica e inorgánica y, en ocasiones, metales pesados, y son potencialmente contaminantes de cursos de aguas por lo que deben ser minimizados y adecuadamente tratados.

Los plásticos constituyen una gran proporción de los residuos que se acumulan en la naturaleza, y entre ellos se encuentra, el polipropileno biorientado (BOPP), película plástica que por su bajo costo de fabricación es utilizado para embalaje. La biodegradación microbiana de este tipo de materiales, surge como un método atractivo para reducir el volumen de residuos plásticos (Yoon y col., 2012). Es de esperar que en los lixiviados anteriormente mencionados se encuentren microorganismos biodegradadores, es decir, que hayan desarrollado la capacidad de expresar enzimas que puedan descomponer polímeros complejos en moléculas más simples, lo suficientemente pequeñas para atravesar la membrana semipermeable y poder ser utilizadas como fuente de Carbono y energía (Shah y col., 2008). Este proceso, conocido como biorremediación, contribuiría a la reducción del volumen total de residuos plásticos, mientras que promete ser eficiente y amigable con el medio ambiente (Alonso y col., 2002; Hadad y col., 2005; Kyaw y col., 2012).

OBJETIVOS

- Aislar microorganismos a partir del lixiviado del relleno sanitario
- Estudiar el potencial degradativo de los microorganismos aislados sobre BOPP mediante un método de screening.

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: Universidad Nacional del Litoral

Directora: Dra. María Gabriela de los Milagros Latorre Rapela



METODOLOGÍA

Recolección de las muestras

El muestreo fue llevado a cabo en las lagunas del relleno sanitario de la ciudad de Santa Fe durante el mes de marzo de 2018. Se tomaron muestras a la entrada del pozo del lixiviado crudo (A), a la entrada de la laguna anaerobia (B), entrada de la laguna aerobia (C) y salida de la laguna aerobia (D).

Dichas muestras fueron recolectadas en recipientes estériles y se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento.

Aislamiento de microorganismos por enriquecimiento

Con el objetivo de aislar microorganismos para el posterior estudio de su capacidad degradativa sobre BOPP de las muestras recolectadas, se preparó un medio de enriquecimiento, para lo cual se pesaron porciones de 1 gramo de láminas de BOPP comercial (de 0,5 por 5 cm) y se colocaron en erlenmeyers conteniendo 30 mL de medio de cultivo mínimo de sales suplementado con glucosa al 0,2%, trabajando en condiciones de esterilidad. Cada erlenmeyer fue inoculado con 1 mL de muestra de cada una de las lagunas de tratamiento (A, B, C y D) y se llevó a incubación por 7 días a 35°C. Luego, se realizaron tres subcultivos sucesivos en medio de enriquecimiento conteniendo concentraciones decrecientes de glucosa: 0,1%, 0,05% y por último sin agregado de glucosa, los cuales fueron incubados en las mismas condiciones que el cultivo original. En paralelo, se procesó un erlenmeyer como control negativo, preparado de la misma manera, incubado en idénticas condiciones y sin inocular.

Transcurrido este proceso, se realizó la siembra en superficie de las suspensiones bacterianas provenientes de cada erlenmeyer en placas de Petri conteniendo Agar Nutritivo y se incubaron a 35°C durante 48 horas. Transcurrido este lapso, se tomaron colonias con distintas características macroscópicas y se realizó un aislamiento en placa. Dichos aislamientos fueron clasificados según su afinidad tintorial (coloración de Gram) y morfología.

Desarrollo de un método de “screening” para el estudio de la actividad degradativa de los microorganismos aislados

Con el fin de evaluar el potencial degradativo de los microorganismos aislados por el método explicado previamente, cada aislamiento se sembró en la superficie de placas de Petri conteniendo un medio de cultivo agarizado suplementado con hexadecano y se incubaron a 30°C durante 7 días. Dichas placas se prepararon añadiendo 1 ml de hexadecano (Sigma) en 1 litro del medio mínimo de sales junto con 0,1 g del detergente Tween 80. Luego de lograr la emulsión del medio mediante el uso de un ultra-sonicador (Cole-Parmer®, 280 W, 90 minutos), se agregó el agar (15 gr/litro) al medio de cultivo. Se utilizó como control positivo la cepa B4 aislada en trabajos anteriores.

RESULTADOS

Aislamiento de microorganismos por enriquecimiento

A través de este método se seleccionaron 15 microorganismos cuyas características microscópicas se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Aislamientos de bacterias a partir de muestras del lixiviado. Características microscópicas.

Aislamientos	Gram	Morfología
A1	positivo	bacilo
A2	positivo	bacilo
A3	positivo	bacilo
A4	positivo	coco
B1	positivo	bacilo
B2	positivo	bacilo
B3	positivo	bacilo
B4	negativo	bacilo
B5	negativo	bacilo
B6	negativo	bacilo
C1	positivo	bacilo
C2	positivo	bacilo
C3	negativo	bacilo
D2	negativo	bacilo
D3	positivo	bacilo

Desarrollo de un método de “screening” para el estudio de la actividad degradativa de los microorganismos aislados

Se ensayaron los 15 aislamientos anteriormente mencionados y 6 de ellos (B1, B3, C1, C2, D2 y D3) mostraron la formación de un halo claro alrededor de la colonia, evidenciando la capacidad de los mismos de degradar el hexadecano en moléculas más simples y utilizarlas como fuente de carbono. En la figura 1 se muestran B3, C1 y C2.



Figura 1. Observación del halo claro alrededor de las colonias B3, C1 y C2.

A partir de estos resultados se concluye que en el lixiviado del Relleno Sanitario de la Ciudad de Santa Fe se encuentran presentes microorganismos con potencial degradativo sobre materiales plásticos y que el método aplicado es adecuado para lograr su aislamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, M.S.; Lozano, A.R.; Madregal, S.O.; Vilte, E.D.; Apaza, A.M.y Saravia, J.I.**, 2002. Degradación de poliestireno y polipropileno con microorganismos de vermicompost. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Jujuy. <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/aidis12/plasticos.pdf>
- Hadad, D.; Geresh, S. y Sivan, A.**, 2005. Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *J Appl. Microbiol* 98: 1093-1100.
- Kyaw, B.M.; Champakalakshmi, R.; Sakharkar, M.K.; Lim, C.S. y Sakharkar, K.R.**, 2012. Biodegradation of low density polythene (LDPE) by *Pseudomonas* species. *Indian J Microbiol* 52 (3): 411-419.
- Shah, A.A.; Hasan, F.; Hameed, A. y Ahmed, S**, 2008. Biological degradation of plastic: A comprehensive review. *Biotechnol Adv* 26: 246-265.
- Yoon, M.G.; Jeon, H.J. y Kim, M.N.**, 2012 Biodegradation of Polyethylene by a Soil Bacterium and Alk B Cloned Recombinant Cell. *J Bioremed Biodegrad* 3:1-8.