INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIO MAYOR DE ANTIOQUIA

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

Expo-Ambiente De Biotemas y Otros Retos

Encuentro de Estudiantes de Ingeniería Ambiental y Ciencias Afines.

EVALUACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE BIOPELÍCULAS PRESENTES EN REACTORES DE BIODISCOS

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA REMOCIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA EMPLEANDO BIODISCOS EN UN AGUA RESIDUAL SINTÉTICA A ESCALA DE LABORATORIO

INFORME FINAL

María Elena González D

Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia

Grupos de investigación: Biociencias-
Ambiente, Hábitat y Sostenibilidad
Semilleros de Investigación SIFACS y SICA

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

GRUPO INTERDISCIPLINARIO

María Elena González D, Joan Amir Arroyave R, Jesús María López R, Juliet Zapata C, Valentina Palacio C, Alejandro Arango C, Viviana Ramírez Díaz y Mariana Cañas Arboleda

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

Tomado de: http://www.imta.gob.mx

Industrial

Tomado de: http://www.petrolnews.net

Doméstica

Salud

Tomado de: http://www.espanol.rfi.fr

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

INTRODUCCIÓN

Los actuales modelos de consumo y el aumento de la población contribuyen al incremento de la contaminación ambiental.

Estas aguas deben ser tratadas antes de ser vertidas en los cuerpos de agua para disminuir enfermedades infecciosas así como la contaminación ambiental.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

INTRODUCCIÓN

Un riesgo actual: Uso de las aguas residuales para riego facilitando la transmisión de enfermedades causadas por nematodos intestinales, virus y bacterias fecales, contaminando el agua y los alimentos.

Las ETA constituyen el problema de Salud Publica más extendido en el mundo; según el Programa Conjunto OMS/ UNICEF: por lo menos el 11% de la población mundial (783 millones de personas no tienen acceso a agua potable y miles de millones, no reciben servicios de saneamiento).

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

OBJETIVO GENERAL

Evaluar diferentes metodologías para el análisis microbiológico del potencial de formación de biopelícula y los microorganismos responsables de la degradación de materia orgánica en reactores de biodiscos.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la capacidad de formación de biopelicula en los microoganismos presentes en el agua residual con el fin de favorecer la biodegradación de la materia orgánica.

- Estandarizar diferentes metodologías para el análisis microbiológico de biopelículas presentes en reactores de biodiscos.

- Identificar los principales grupos de microorganismos responsables de la formación de biopelícula empleando técnicas microbiológicas.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de aguas residuales tiene como objetivo minimizar el impacto en la salud y el impacto ambiental al verter los contaminantes a los cuerpos de agua receptores.

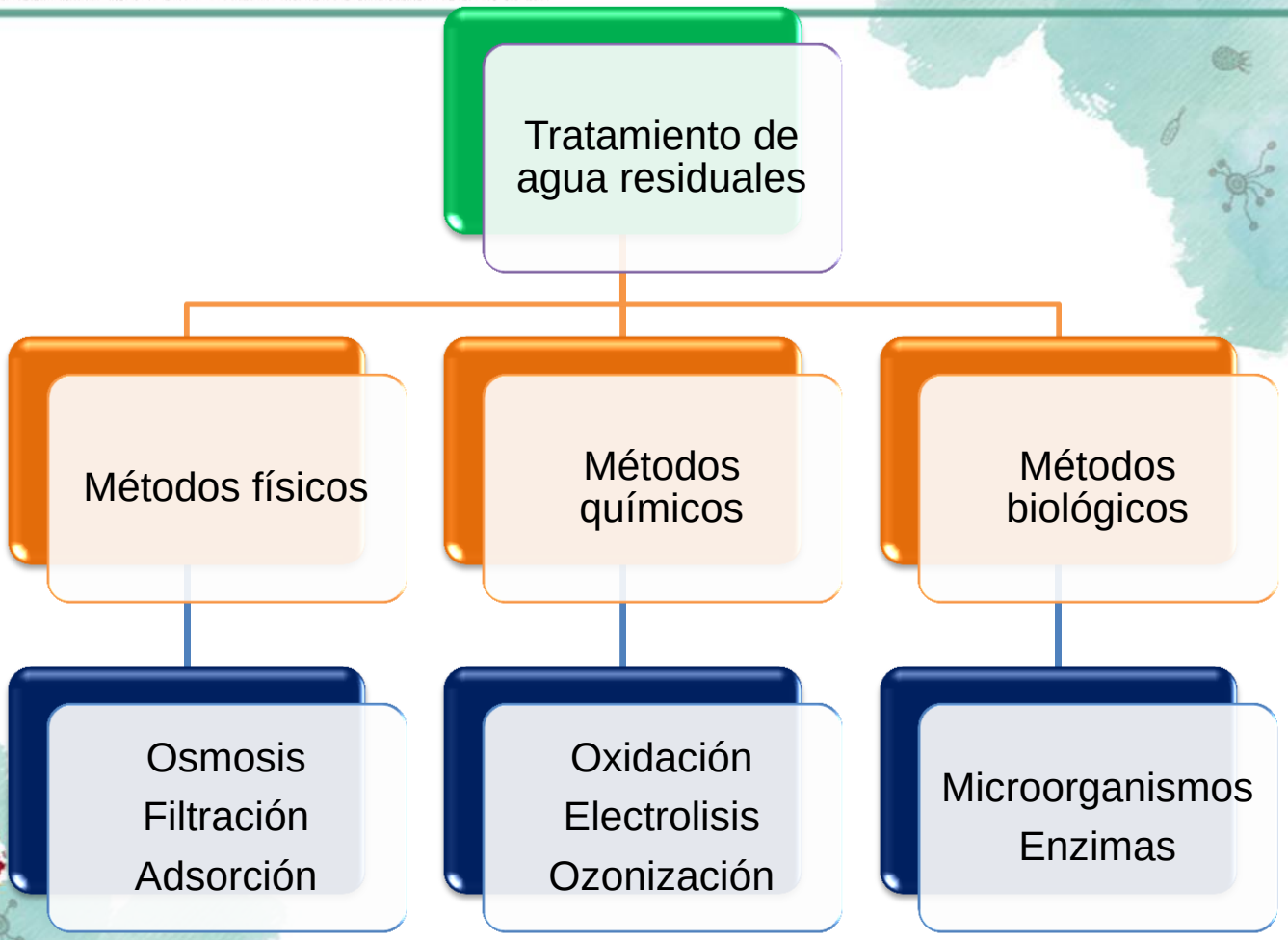
Busca principalmente la reducción de la DBO (demanda biológica de oxígeno), sólidos suspendidos y organismos patógenos; estos contaminantes son removidos por procesos físicos, químicos y biológicos.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de aguas residuales es importante para proteger la salud pública, la economía y el ambiente; se aprovecha la actividad de los microorganismos empleando biodiscos.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral



INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIO MAYOR DE ANTIOQUIA

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

Expo-Ambiente De Biotemas y Otros Retos

Encuentro de Estudiantes de Ingeniería Ambiental y Ciencias Afines.

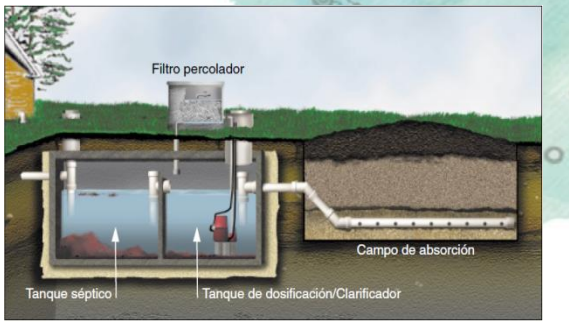
TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

http://www.reocities.com/jdelosri/

Planta convencional

Biodiscos

http://www.google.com.co/imgres?q=biodiscos+tratamiento+de+aguas+residuales&um=1&hl=es&client=firefox-a&rls=org.mozilla:es-ES:official&biw=1024&bih=629&tbm=isch&tbnid=ZaeisX5p1sputM

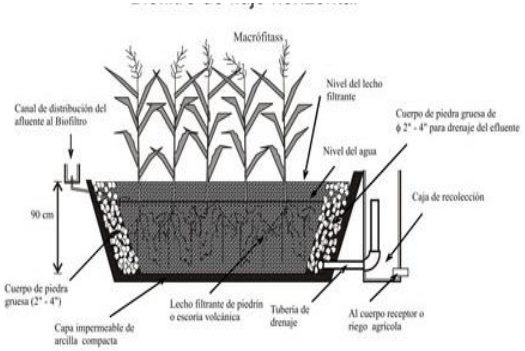


http://www.h-gac.com/community/water/ossf/OSSF-Treatment-Systems_Gravel-less-Pipe-S.pdf

Tanque o pozo séptico

http://ingenieriapro.blogspot.com/2008/05/lagunas-de-oxidacin.html

Laguna de oxidación



Humedales

http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacg/guialcalde/2sas/2-4sas.htm

Niveles de Tratamiento de las Aguas Residuales

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

Expo-Ambiente
De Biotemas y Otros Retos
Encuentro de Estudiantes de Ingeniería Ambiental y Ciencias Afines.

Tratamientos preliminares

Rejillas

Remoción material grueso

Desarenador

Tanque igualación

bombeo

Medidor flujo

Influente

Tratamientos primarios

Sedimentación primaria

Flotación

Coagulación química

Tanques imhoff

Tratamientossecundarios

Lodos activados

Sedimentador secundario

Filtros percoladores

Laguna oxidación

Zanjas de oxidación

Biodiscos

Lodos

Efluente clarificado

Efluente

Tratamientos terciarios

Remoción Nitrógeno

Remoción Fósforo

Relleno sanitario

Fertilizante

Disposición final

Incineración

Deshidratación

Digestión

Concentración

Alcaldía de Medellín
Cuenta con vos

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

PROCESOS BIOLÓGICOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

- Se dividen en procesos aerobios, anaerobios, facultativos, anóxicos, combinados y de lagunaje.

- Procesos aerobios (biodiscos): Sistema de cultivo fijo donde los microorganismos presentes en el agua residual se adhieren a un soporte sólido formando una biopelícula capaz de estabilizar la materia orgánica adherida a ella.

- Se emplea en el tratamiento de aguas residuales industriales y domésticas de cargas medias y bajas.

INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIO MAYOR DE ANTIOQUIA

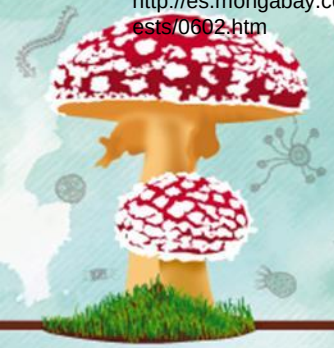
Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

BIOPELÍCULA O BIOFILM

Una comunidad microbiana de células adheridas irreversiblemente a un substrato o interface, o unas con otras, encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas han producido

Tomado de: http://es.mongabay.com/rainforests/0602.htm

Tomado de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=s1138-123x2005000400005&script=sci_arttext



Tomado de:http://www.dicyt.com/viewItem.php?itemId=16116

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

BIOPELÍCULAS INDESEABLES

- **Enfermedades**: Caries dental y enfermedad periodontal, neumonía en pacientes con fibrosis quística, cistitis crónica, endocarditis infecciosa, osteomielitis, prostatitis crónica, sepsis por catéteres, lentes de contacto

- **Ambiental**: Sistemas de conducción de aguas, deterioro de maquinaria y equipos en embalses y estructuras (puentes, fachadas)

- **Industrial:** Alteran la calidad de los alimentos

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

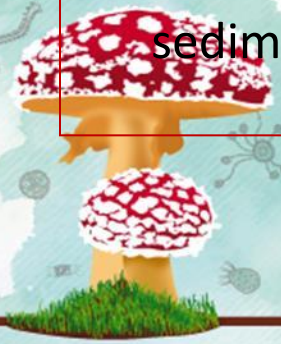
BIOPELÍCULAS Y UTILIDAD AMBIENTAL

Los microorganismos en una biopelícula juegan un papel muy importante en el reciclaje de nutrientes de diversos ambientes y la biodegradación de contaminantes ambientales (materia orgánica) por lo que pueden ser utilizados en el tratamiento biológico de aguas residuales

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

COMPOSICIÓN

- 97% de agua
- Microorganismos: bacterias, hongos, algas y protozoos
- Exopolisacáridos (EPS)
- Polisacáridos, proteínas y ácidos nucléicos (SPE)
- Productos de lisis bacteriana
- Cristales de sales minerales, sedimentos



- Producción de EPS depende:
- Sustrato y factores ambientales
- Superficie hidrofóbica y áspera del material

- Canales: Flujo del líquido (transporte, difusión de nutrientes y oxígeno) y remoción de desechos

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

Formación biofilm (Estructuras específicas y factores biológicos)

Tomado de: http://www.novaaqua.com.ar/index.php?op=biofilm

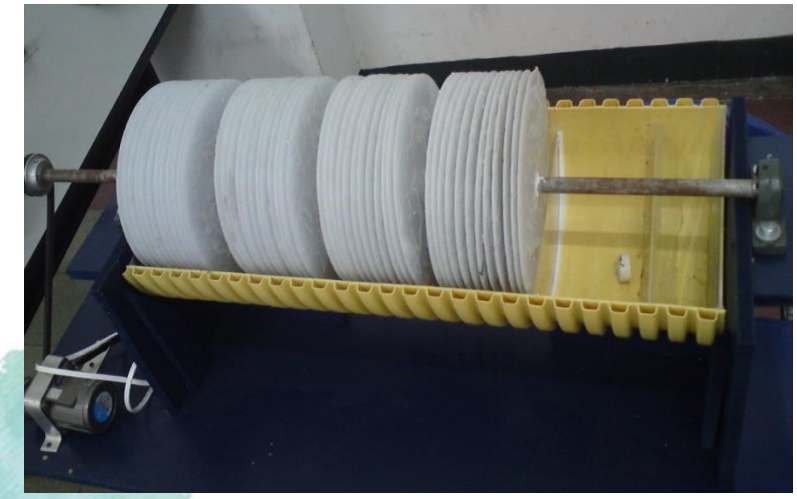
Ciclo vital: 3 etapas e interacciones con el medio

a. Adhesión inicial: fimbrias, flagelos o pilli
b. Crecimiento: formación de microcolonias y producción de EPS
c. Separación o desprendimiento: fuerzas externas o procesos activos

Moléculas señalizadoras (AHL) del quorum sensing

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

DESARROLLO DEL BIOREACTOR



- Porcentaje de área sumergida: 40%
- Diámetro de los discos: 28 cm
- Etapas reactor: 4 etapas (12 discos por etapa)(5,1 m2)
- Velocidad de Rotación: 9 RPM
- Carga orgánica (g DQO/m2/d)
- Carga hidráulica (m3/m2/d)

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

METODOLOGÍA
MONTAJE DEL REACTOR

Cubeta plástica con 4 litros de agua residual doméstica.

Introducir un disco rugoso en acrílico

+

Inyectar oxígeno

Alimentar con leche 2 veces por semana

=

INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIO MAYOR DE ANTIOQUIA

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

TOMA DE MUESTRAS Y SIEMBRA

Tomar muestra con hisopo de algodón estéril

Depositar en erlenmeyer con 50ml de solución salina estéril

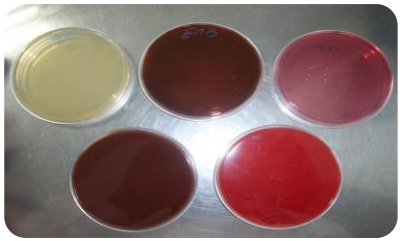
Agitación: 20 minutos a 80 rpm

Realizar diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-9}

Sembrar diluciones en agar LB (Luria Bertani) 100µl, dos cajas por dilución, 4 diluciones por muestra.

Incubar a 37°C por dos días y realizar el recuento UFC.

Proceder al aislamiento de colonias



Sembrar en agar sangre, medios selectivos y diferenciales

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

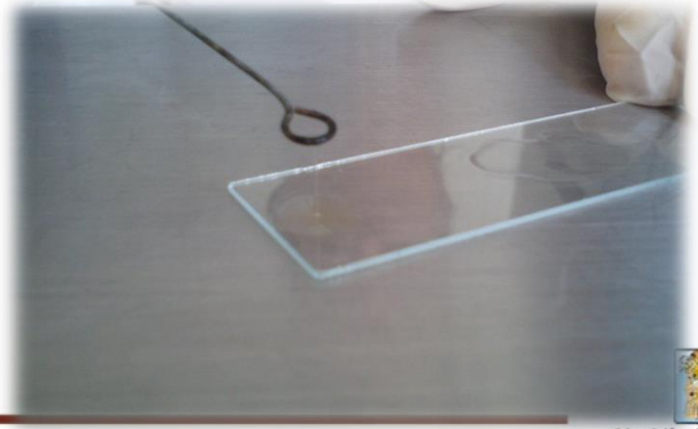
CARACTERIZACIÓN DE LAS COLONIAS

Características macroscópicas y microscópicas de las colonias

Coloración Gram: morfología y agrupación (filancia)

Siembra medios de cultivo selectivos (EMB o Mc Conkey, Mossel, Trypticase de soya y Cetrimide)

Pruebas bioquímicas: TSI, LIA, MR- VP, Úrea, citrato, bilis esculina, caldo nitrato, SIM



Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

OTRAS PRUEBAS

- Medio OF (oxidación- fermentación)
- Crecimiento en atmósfera aerobia y anaerobia
- Oxidasa y catalasa

INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIO MAYOR DE ANTIOQUIA

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

ADHESIÓN A PLACAS DE POLIESTIRENO: CRISTAL VIOLETA Y SAFRANINA

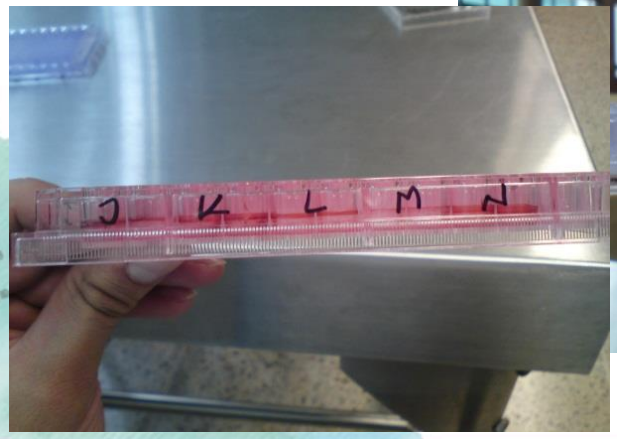
Sembrar colonias en caldo LB, incubar 48 horas a 37°C

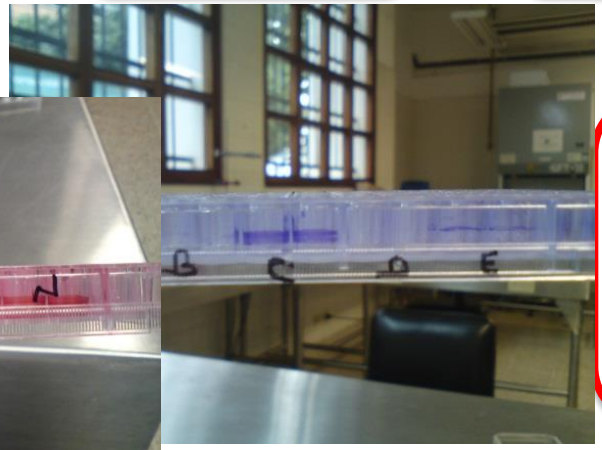
Inocular por duplicado 100µl del cultivo en microplacas de poliestireno e incubar a 37°C durante la noche

Decantar el medio y añadir a cada pozo 125µl de solución de cristal violeta al 0.25% en etanol

Dejar actuar por 5 minutos y enjuagar

Colonias positivas: halo azul violeta y reportar por +++





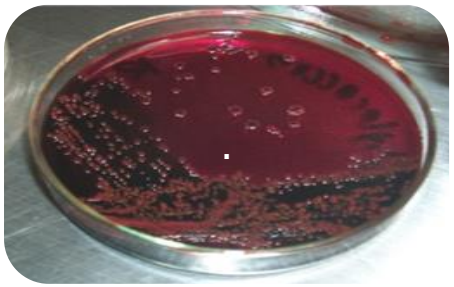
Para la técnica con safranina al 0.5%, se realiza el mismo procedimiento y se deja actuar por 1 minuto

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

CRECIMIENTO EN AGAR ROJO CONGO

Sembrar colonias en agar rojo congo e incubar a 37°C por 48 horas

Prueba positiva: colonias negras, lustrosas



Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

RESULTADOS

- Se evidenció mediante microscopía, observación en fresco y coloraciones una sucesión de microorganismos a medida que madura la biopelícula.

- Se encontraron resultados positivos por el método del agar Rojo Congo para varios de los microorganismos evaluados; esta técnica se combinó con la adhesión en placa y se identificaron aislados mediante pruebas bioquímicas y micrométodos.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

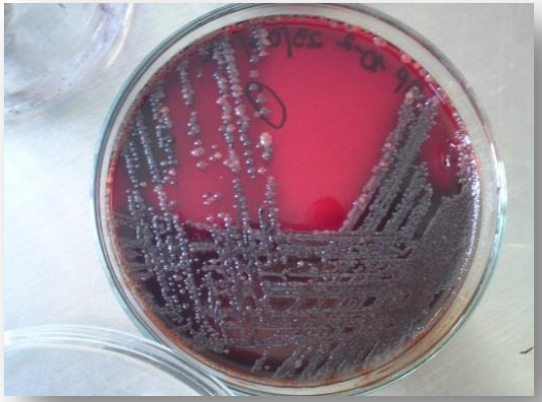
RESULTADOS

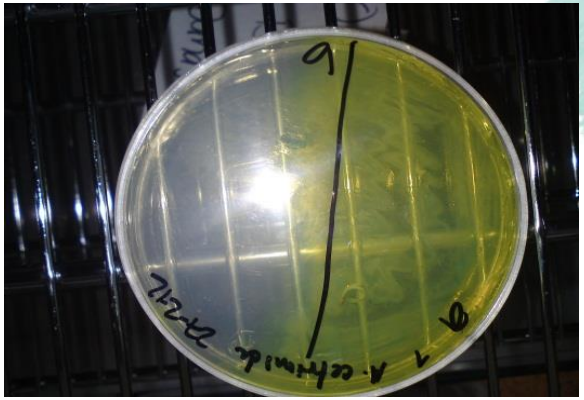
Tabla 1. Microorganismos observados por microscopía

Técnica	Protozoos y algas	Bacterias
Preparación en fresco	*Trichostrongylus*, amebas tecadas: *Archella*, Ciliados: (*Tetrahymena*), nematodos de vida libre, algas, larvas y quistes de protozoos	Bacilos y cocobacilos, bacterias filamentosas
Tinción con Lugol	Larvas y protozoos de vida libre, amebas tecadas y algas	Bacilos y cocobacilos
Coloración de Gram	N/A	Cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos, algunos esporulados, bacilos Gram negativos, cocobacilos Gram negativos

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

RESULTADOS





Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

RESULTADOS

Tabla 2. Microorganismos identificados por métodos combinados.

Microorganismo	Técnica empleada	Referencia
***Bacillus cereus*, *Pseudomonas* sp, *Staphylococcus* coagulasa negativo, *Aeromonas* sp, protozoos de vida libre, algas y bacterias filamentosas**	Combinados	González et al.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se evidenció la capacidad de formación de biopelícula en algunos microorganismos por los métodos evaluados.

Banco de cepas con el fin de emplear microorganismos de interés ambiental en procesos biotecnológicos.

Es necesario mirar el funcionamiento del reactor como un todo teniendo en cuenta variables fisicoquímicas y microbiológicas.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se hace necesario el estudio de la ecología microbiana de biopeliculas para tener conocimiento de lo que sucede al interior del reactor de la mano de parámetros fisicoquímicos (desmitificar caja negra).

Debido a la composición de las aguas residuales y su ecología microbiana, se recomienda estandarizar cada método de acuerdo con las necesidades de cada laboratorio, los recursos disponibles y la experiencia de los investigadores.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

FORMACIÓN

Formación de recurso humano (trabajo de grado o maestría)	No. y nivel 9 Estudiantes: 4 estudiantes de biotecnología, 3 de ingeniería ambiental, 1 de citohistotecnología y 1 estudiante de la Especialización en Microbiología Ambiental

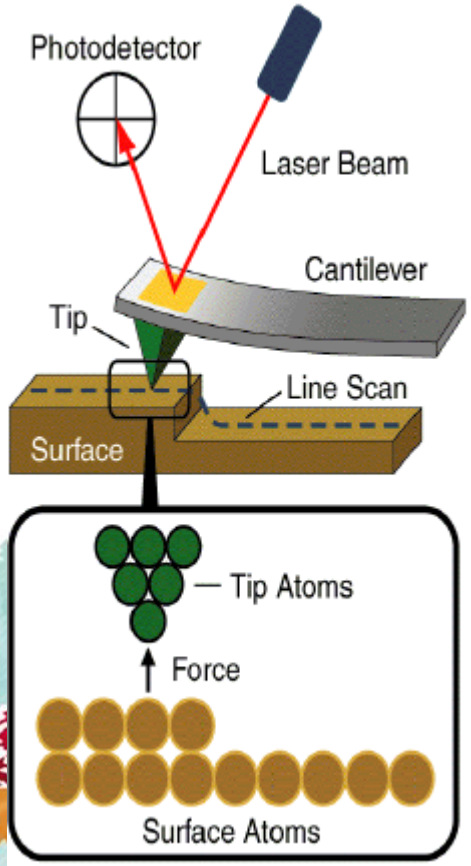
Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

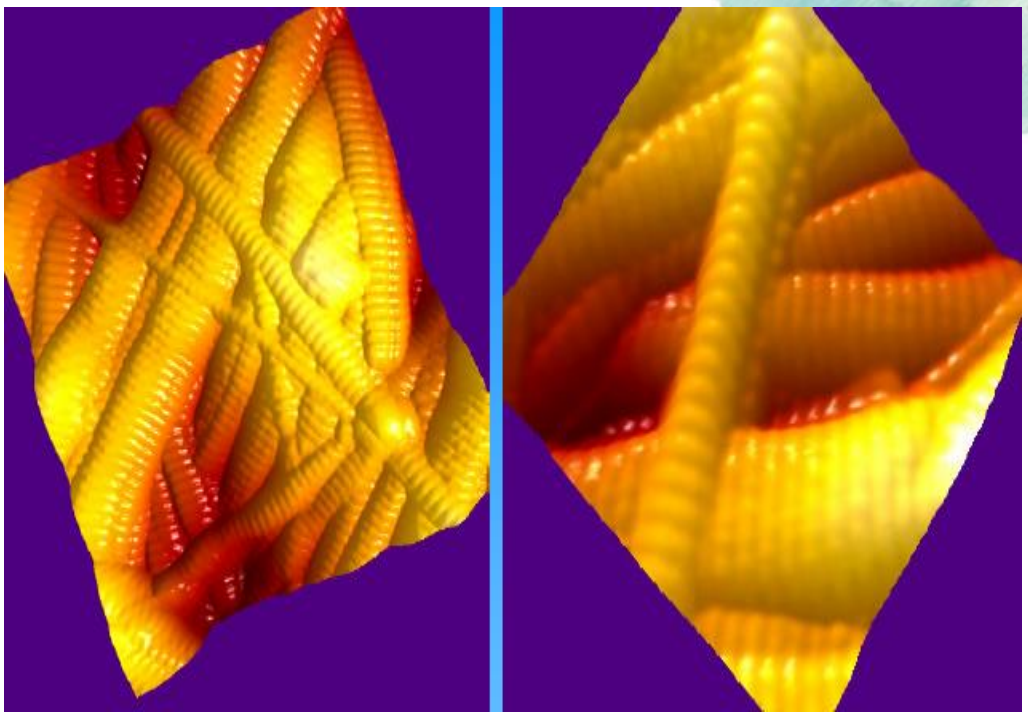
PROYECTOS

- Digestión anaerobia (laboratorio acondicionado)
- Algas
- Biodiscos
- Bacterias lipolíticas
- Humedales

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

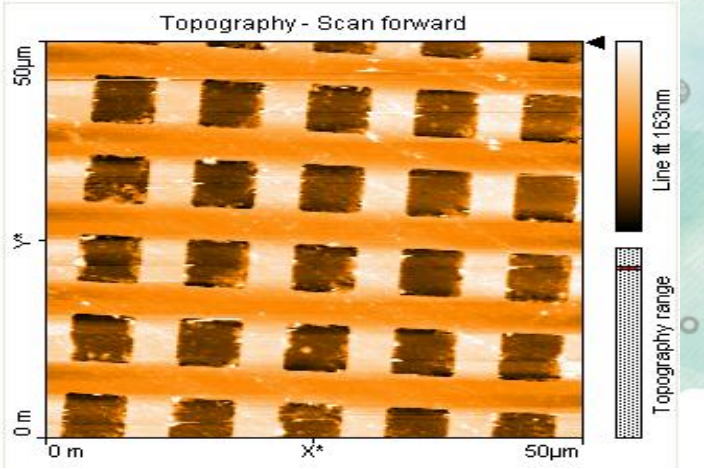
AFM
MICROSCOPÍA DE FUERZA ATÓMICA

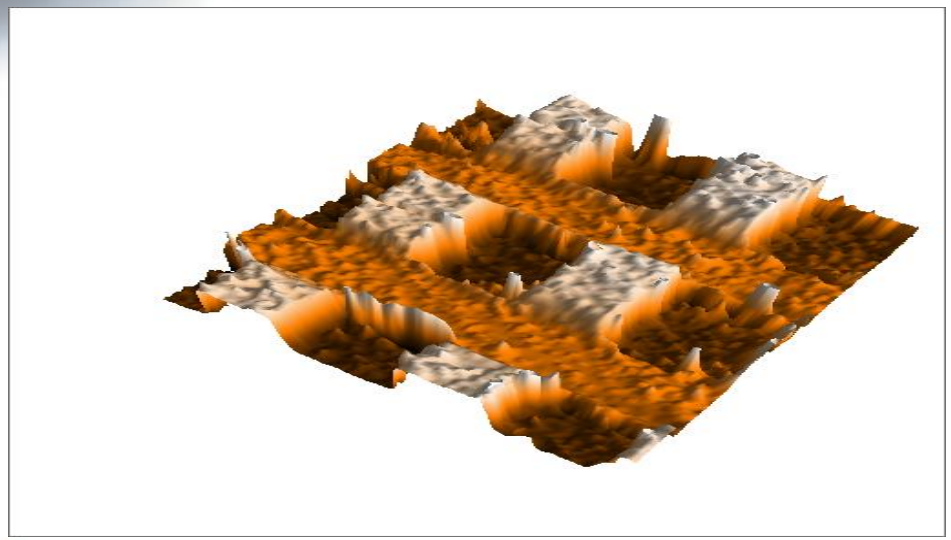




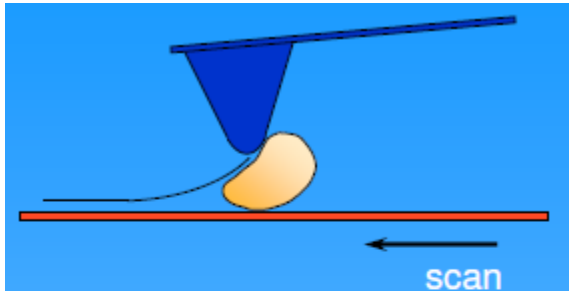
Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

AFM

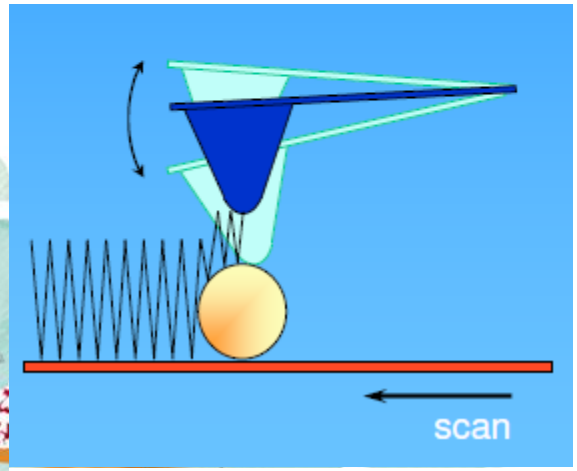




Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral



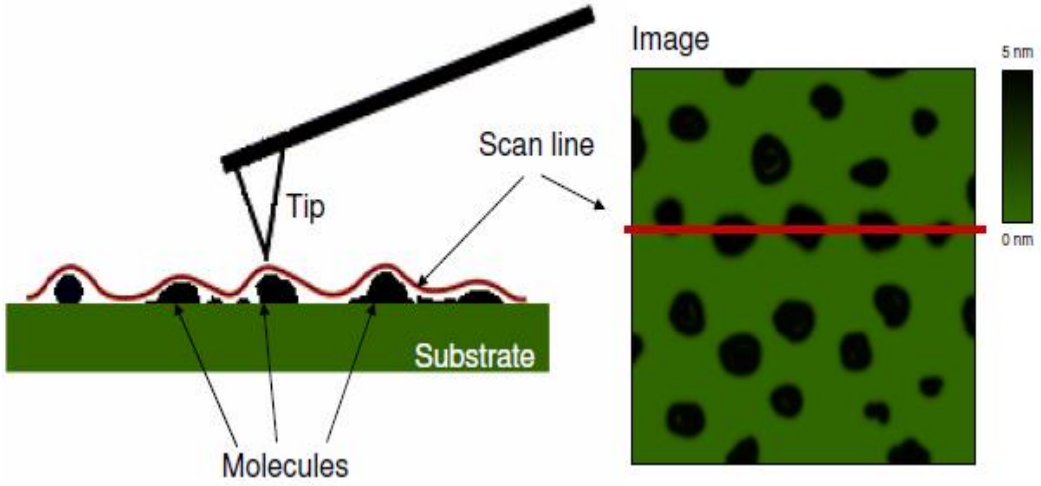
Modo de Contacto



Modo Tapping

Durante el barrido se forma una imagen de la variación de la interacción de la punta con la muestra en función de la posición en la superficie

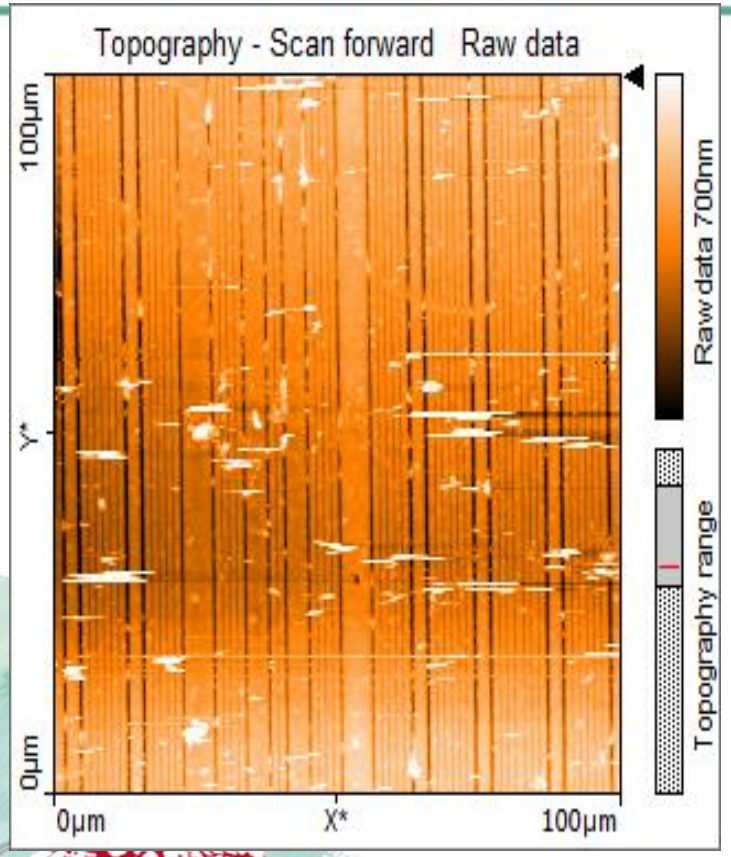
BARRIDO DE UNA LÍNEA

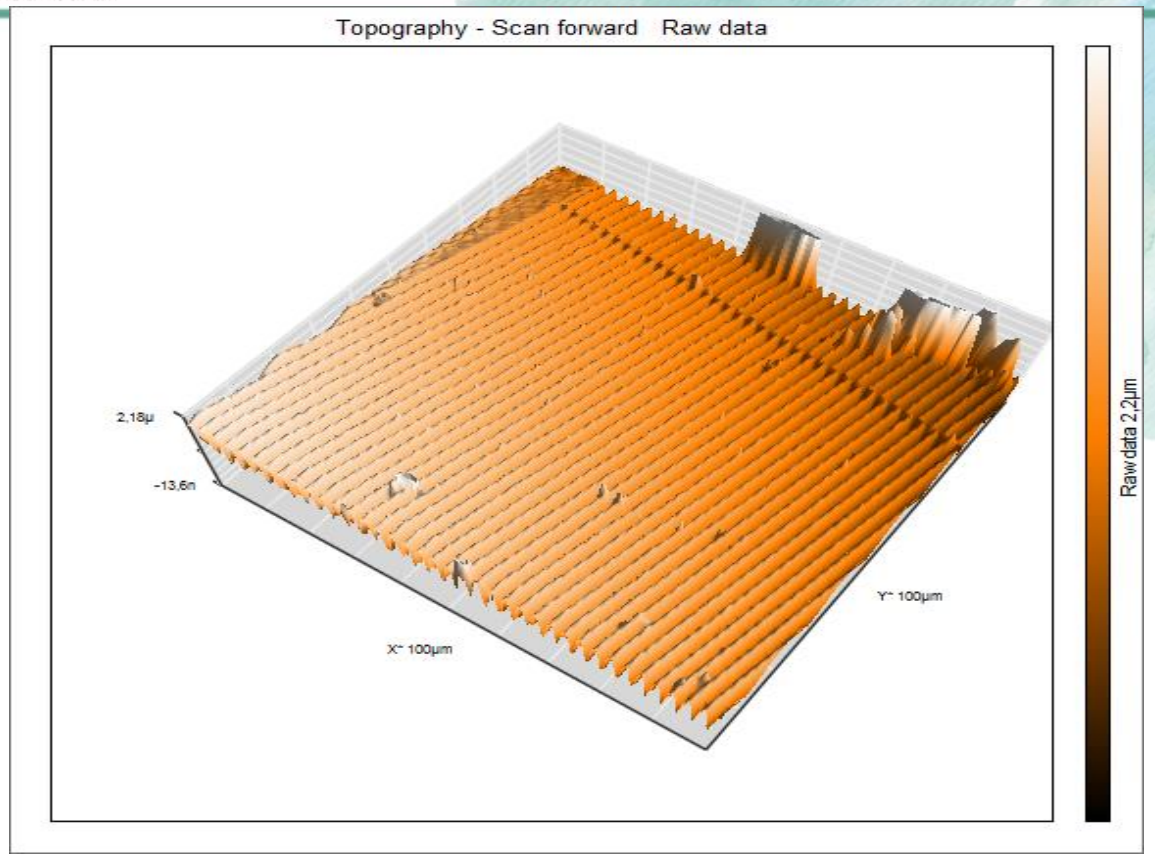


INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA
COLEGIO MAYOR
DE ANTIOQUIA

Expo-Ambiente
De Biotemas y Otros Retos
Encuentro de Estudiantes de Ingeniería Ambiental
y Ciencias Afines.

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral





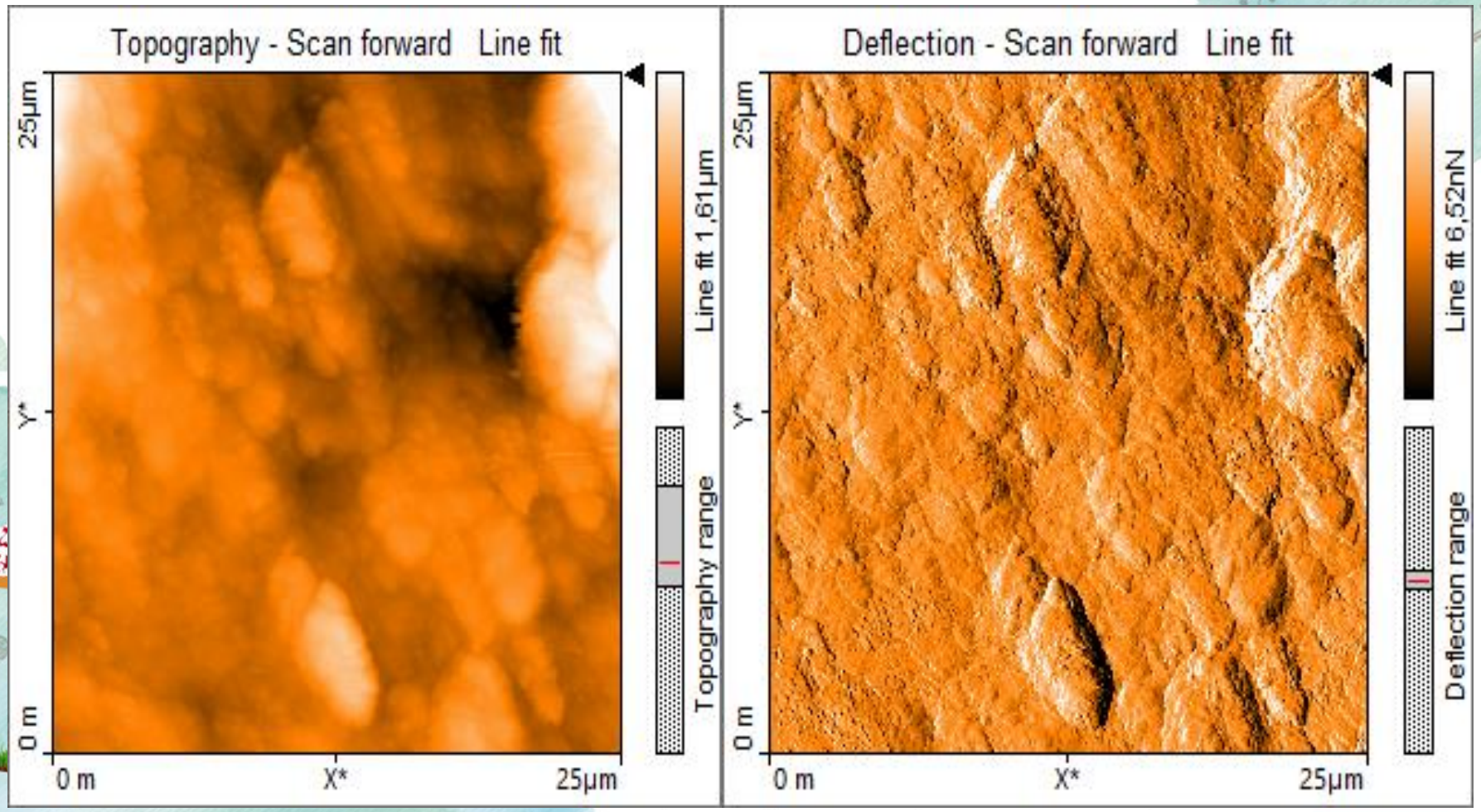
MATERIAL PARA BIODISCO A PARTIR DE MEMORIAS RAM RECICLADAS

INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA
COLEGIO MAYOR
DE ANTIOQUIA

Expo-Ambiente
De Biotemas y Otros Retos
Encuentro de Estudiantes de Ingeniería Ambiental
y Ciencias Afines.

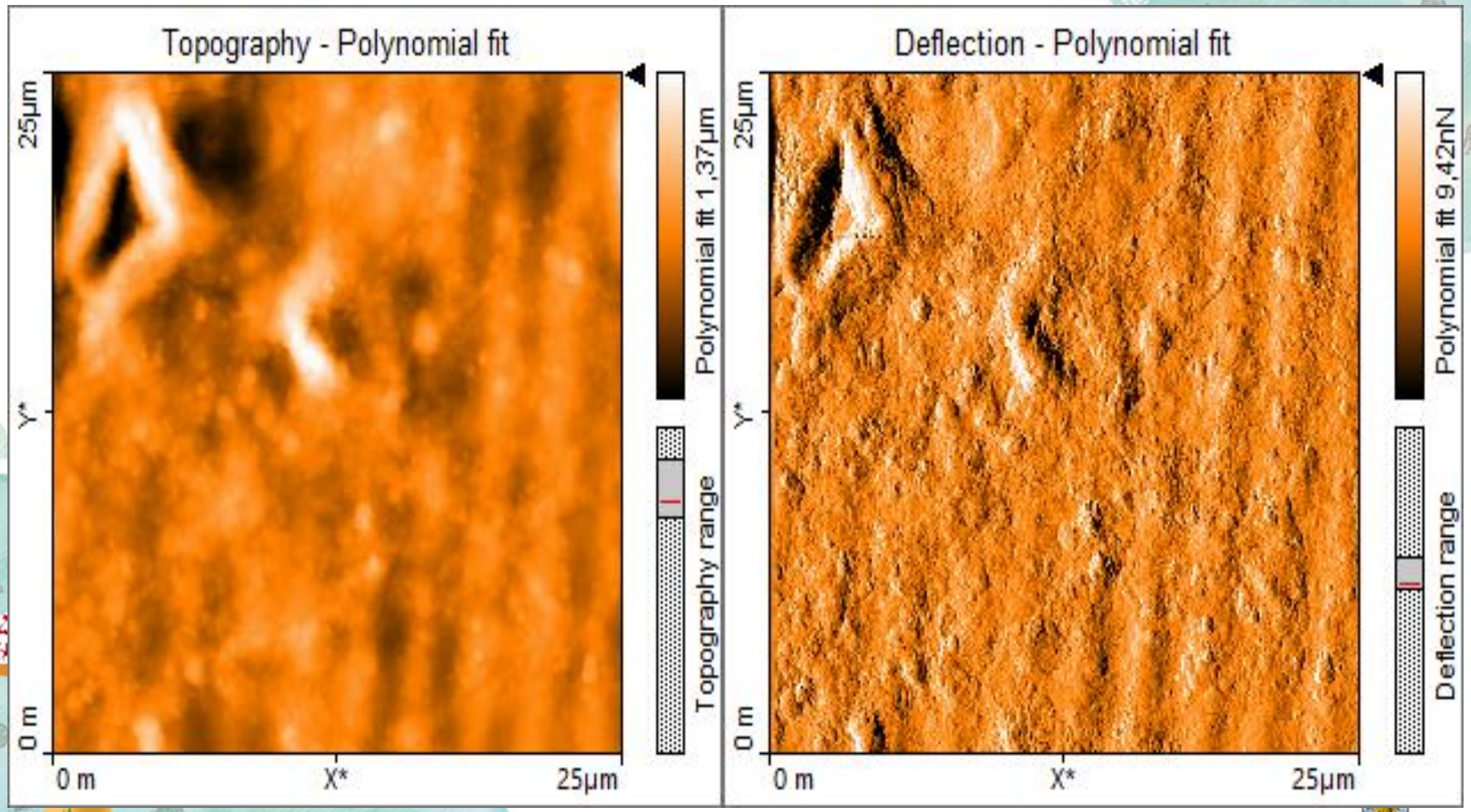
Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

RESULTADOS



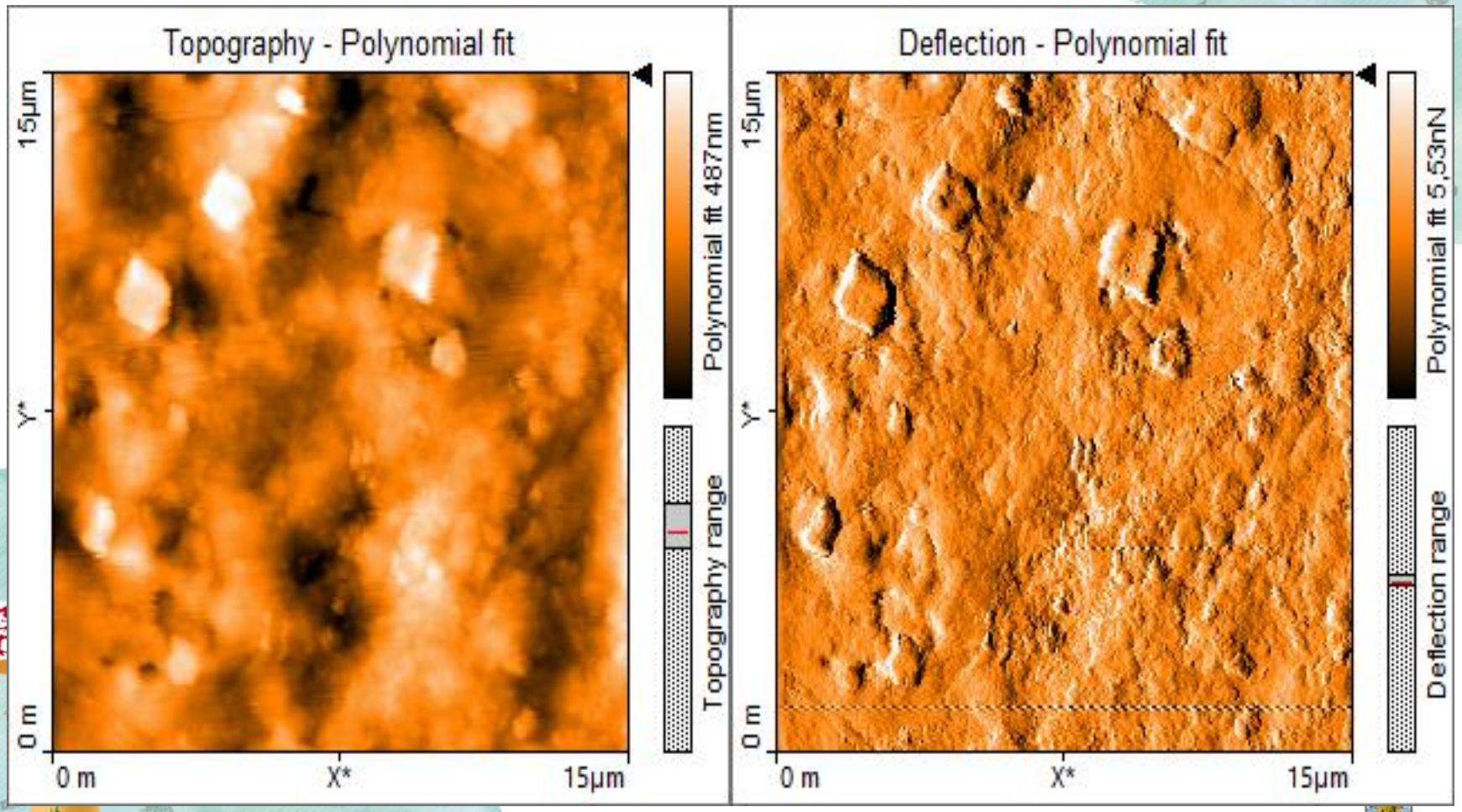
Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Pub

040613



Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Pub

040613



Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

AGRADECIMIENTOS

SENA | Red Tecnoparque Colombia
Nodo Medellín

Los autores agradecen al Tecnoparque Sena. Medellín por toda su colaboración en la capacitación, facilitación del equipo AFM, y de las instalaciones .

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

BIBLIOGRAFÍA

Arroyave R., J. A., Garcés G., L. F. y Cruz C., A. F. Comparación de tecnologías de oxidación (TAO´s) para la degradación del pesticida Mertect. NOVA – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. ISSN 1794 – 2470. Vol. 9 No. 15 (Enero – Junio) 2011. 35 – 40 pag.

González D., M.E., Arroyave R., J. A., Mejía T., J. Arias G., S.P., Osorio B., J.M. y Restrepo M., G.J. Degradación del colorante Rojo Punzó por medio de lodos anaerobios. NOVA – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. ISSN 1794 – 2470. Vol. 8 No. 14 (Julio – Diciembre) 2010. 229 – 236 pag.

Mariana, N. S., Salman, S. A., Neela, V. y Zamberi, S. Evaluation of modified Congo red agar for detection of biofilm produced by clinical isolates of methicillin–resistance Staphylococcus aureus. African Journal of Microbiology Research (2009). Vol. 3(6) pp. 330-338

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

BIBLIOGRAFÍA

Meng-Ying, L.I. *et al*. Evaluation of Biological Characteristics of Bacteria Contributing to Biofilm Formation. Pedosphere (2009)19(5): 554–561

Progresos sobre el agua potable y saneamiento. Programa Conjunto OMS/UNICEF para el Monitoreo del Abastecimiento de Agua y Saneamiento. Informe 2012.

Guía para la atención de brotes de eta (enfermedades transmitidas por alimentos) Bogotá D.C. Versión octubre 06 de 2011.

Medellín
un hogar para la vida

MUCHAS GRACIAS

"La solución a todos los problemas está en la educación". **Dalai Lama**

maria1.gonzalez@colmayor.edu.co

Alcaldía de Medellín

Edición en Linea. ISSN 2463-1922 Volumen 2 - No 2-2016 Publicación Semestral

Fuente: cambioclimaticoucv.blogspot.com

Gracias por su atención