

Biofiltros funcionalizados con *M. oleifera* y sistema hidropónico NFT para el tratamiento de aguas residuales

Biofilters functionalized with *M. oleifera* and NFT hydroponic system for wastewater treatment

¹Nury, Infante González, ²Refugio Rodríguez Vázquez, ³Jordi Morató Farreras

¹Center for Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute, Gustavo A, Madero, 07360, Mexico City, Mexico, +525531376018, nury.infante@cinvestav.mx

²Center for Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute, Gustavo A, Madero, 07360, Mexico City, Mexico, +52554183564, rrodrig@cinvestav.mx

³UNESCO Chair on Sustainability and Health and Environmental Microbiology Laboratory, Universitat Politècnica de Catalunya-BarcelonaTech, Edifici Gaia, Pg. Ernest Lluch/Rambla Sant Nebridi, Terrassa, 08222, Spain, +34616287243, jordi.morato@upc.edu.co

Palabras clave: Actividad antibacteriana, biofiltros, funcionalización; semillas de *M. oleifera*, sistema hidropónico

Keywords: Antibacterial activity, biofilters, functionalization, *M. oleifera* seeds, hydroponic system

INTRODUCCIÓN

El sistema chinampero fue catalogado por la UNESCO como ejemplo de biodiversidad endémica, agrícola y de patrimonio natural y cultural de la humanidad de la ciudad de México. Sin embargo, corre el riesgo de desaparecer debido al deterioro de la calidad del agua por el uso excesivo de plaguicidas y microorganismos patógenos (Chávez y col., 2011). Por tal razón, uno de los mayores retos con el saneamiento es el desarrollo e implementación de sistemas naturales, fáciles de usar y de bajo costo como es el uso y la aplicación de los coagulantes naturales y la evaluación del efecto del extracto de semillas de las plantas como una nueva estrategia con el proceso de funcionalización para retener la proteína activa adsorbida en un material poroso y mantener su capacidad antimicrobiana y de clarificación utilizando el extracto de las semillas de *M. oleifera* (*MoSe*) (Huda y col., 2012). Adicionalmente, se han estudiado una gran cantidad de alternativas con biofiltros utilizando materiales como: turba, diferentes tipos de carbón, hojas de té, entre otros compuestos de desechos orgánicos (Gómez, 2006). El corcho es un material que tiene una alta porosidad y capacidad de adsorción, siendo un material con un gran potencial para ser aplicado en la purificación de agua / aguas residuales (Pintor y col., 2012). Así mismo, los mecanismos de eliminación de contaminantes de las aguas residuales municipales en el sistema hidropónico implican combinación de procesos físicos, biológicos y químicos con microorganismos, plantas e interacciones basadas en medios filtrantes (Vinita y col., 2008). Por tal razón, en el presente estudio se evaluó el efecto de un sistema hidropónico NFT con un biofiltro funcionalizado con *MoSe* sobre la inhibición de *E. coli*.

METODOLOGIA

Caracterización del agua e identificación molecular de una cepa presuntiva de *E. coli*

A partir de las muestras de agua recolectadas de los canales de Xochimilco, se cultivó la cepa bacteriana en el medio selectivo EMB, la cepa aislada se identificó en el laboratorio de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del CINVESTAV. Así mismo, se evaluó la composición físico-química y microbiológica del agua residual del canal acordando de acuerdo con los métodos estándar (APHA, 2005).

Funcionalización de los soportes, sistema de biofiltros y sistema de hidroponía NFT

Las pruebas de funcionalización y biofiltración se realizaron de acuerdo a los trabajos de (Francesko y col., 2015; Garcia y col., 2017). Para determinar el efecto de la funcionalización del soporte con el sistema de biofiltración y las propiedades antimicrobianas de *MoSe* sobre *E. coli*. Se realizó la prueba de viabilidad (vqPCR) con tratamiento de propidium monoazide PMA (Nocker y col., 2007), la amplificación y cuantificación del gen *LacZ*, se realizó de acuerdo a lo establecido por Foulds y col. (2002). El sistema hidropónico comprende tres secciones, el primero un contenedor donde se dispone el agua tratada por un sistema de biofiltros donde aísla sólidos disueltos, la segunda sección es un canal cubierto de material PVC con grava, este sistema presenta una longitud de 12 metros en donde se cultivaron plantas de lechuga (*Latucca Sativa*). Finalmente, la sección terciaria se adaptaron los filtros de corcho funcionalizados con *MoSe*. (Vaillant y col., 2003).

RESULTADOS Y DISCUSION

La fase exponencial en la cinética de crecimiento de *E. coli* se presentó a las 3 horas con una concentración de 4.5×10^8 UFC/mL, este valor se utilizó como control para determinar el efecto inhibitorio de *MoSe*. Así mismo, la especie *Escherichia coli* fue identificada con un 99% de similitud y la amplificación del gen *LacZ* fue consistente para la expresión de la enzima (β -D-galactosidasa) con un peso molecular 142 pb reportado en el estudio de Foulds y col. (2002) garantizando la presencia de *E. coli* ATCC 8739 de gran importancia clínica (Figura 1).

En cuanto a la funcionalización utilizando el sistema de biofiltración para la inhibición de *E. coli* se evidenció que la prueba molecular vqPCR fue decisiva para confirmar el efecto de la proteína activa del extracto de la semilla adherido al corcho como se observa en la tabla 1. Adicionalmente, se le atribuyen compuestos fitoquímicos presentes en el corcho que potencializó la inhibición de la bacteria como restos fenólicos y taninos (Francesko y col., 2015).

Finalmente, los resultados de las muestras de agua tratada con el sistema hidropónico favorecieron en la reducción de *E. coli* como se observa en la tabla 2. Estos resultados son consistentes con los estudios realizados por (Ottoson y col., 2005) donde informaron la inhibición de microorganismos patógenos en el sistema radicular por procesos de absorción y adsorción de la planta contribuyendo a la eliminación microbiana en el sistema.

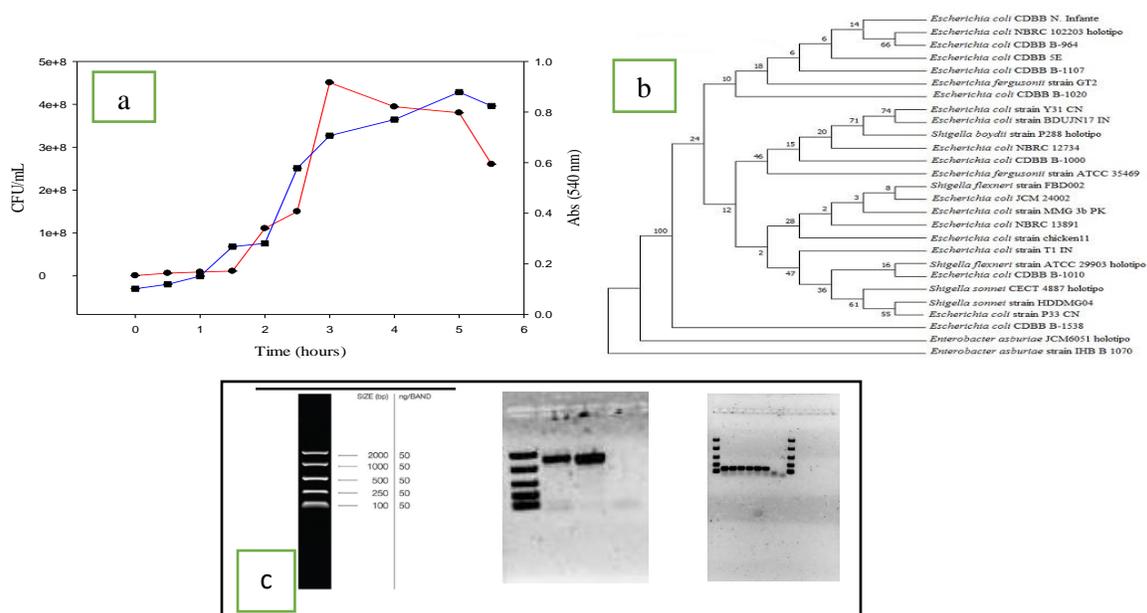


Figura 1. Cinética de crecimiento de una cepa presumible de *E. coli* (a); Dendrograma de similaridad de la secuencia (b); Amplificación del gen 16S ARNr; a. Escala estándar de ADN; Electroforesis del gen 16S ARNr; Electroforesis del gen *LacZ* de *E. coli* ATCC 8739 (c).

Tabla 1. Evaluación cuantitativa del gen *Lac Z* tratada con y sin PMA (vPCR), los resultados de la qPCR se expresan como copias/mL

Tratamiento	Tiempo 0	Tiempo 6	% vqPCR
CCP	1.26E+07	8.83E+05	7.03
CSP	4.68E+08	4.52E+07	-
R1CP	4.16E+06	1.03E+03	0.024
R1SP	1.48E+07	1.78E+03	-
R2CP	3.45E+06	1.80E+02	0.005
R2SP	1.58E+07	6.25E+03	-

Tabla 2. Medición de parámetros fisicoquímicos después de 3 meses de funcionamiento del sistema.

Muestra	pH	ORP	OD (%)	OD (mg/L)	CE ($\frac{\mu S}{cm}$)	SDT ($\frac{mg}{L}$)	<i>E. coli</i> ufc/mL
Agua canal	7.79	266.9	13.3	0.85	1115	567	2.5×10^1
Biofiltro	7.66	268.8	44.6	3.01	1191	570	1×10^1
Grava	9.11	166.3	42,2	2.87	2708	1354	3×10^1
Corcho	7.28	152	22.3	1.86	1832	916	$< 10^1$
Corcho F	7.6	149	26.75	1.87	1972	986	$< 10^1$

*Corcho F: Corcho funcionalizado

CONCLUSIONES

La funcionalización del extracto de las semillas de *M. oleífera* en corcho aumentó el potencial de actividad antimicrobiana y redujo eficazmente el crecimiento de *E. coli* con un porcentaje >99.99%. Así mismo, se evidenció que el sistema hidropónico NFT logró disminuir microorganismos patógenos como *E. coli* y parámetros fisicoquímicos como sólidos disueltos, pH y oxígeno disuelto. Adicionalmente, mejoró la clarificación del agua lo que indica la eficiencia del sistema con un alto potencial en el tratamiento de aguas residuales.

BIBLIOGRAFIA

APHA (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington, 1265p.

Chávez, B.; Luna, M.; Dendooven, L. (2011); *Removal of methyl parathion from a Chinampa agricultural soil of Xochimilco México: a laboratory study*. Eur J Soil Biol.: 47, 264-269.

Foulds, I.; Guy, R.; Kappor, A.; Xiao, C.; Krull, U.; Horguen, P. (2002); *Application of Quantitative Real-Time PCR With Dual-Labeled Hydrolysis Probes to Microbial Water Quality Monitoring*. J Biomol Tech.: 13, 272-276.

Francesko, A.; Blandón, L.; Vazquez, M. (2015); *Enzymatic Functionalization of Cork Surface with Antimicrobial Hybrid Biopolymer/Silver Nanoparticles*. ACS Appl Mater Interfaces.: 7(18), 9792-9799.

García, P.; Petkova, P.; Margalef, R.; Vives, M.; Aguilar, L.; Gallegos, A.; Tzanov, T. (2017). *Hybrid Chitosan-Silver Nanoparticles Enzymatically Embedded on Cork Filter Material for Water Disinfection*. Ind & Eng Chem Res. 56(13).

Gómez, S. (2006); *Estudio y diseño de biofiltro a partir de materia orgánica para el tratamiento de agua*. Centro de investigación en materiales avanzados S.C.: 141p.

Huda, A.; Kristin, J.J.; McCullough, L.R.; Velegol, D.; Velegol, S.B. (2012); *Antimicrobial Sand via Adsorption of Cationic Moringa oleifera Protein*. Langmuir: 28(4), 2262-2268. DOI: 10.1021/la2038262.

Nocker, A.; Fernandez, P.S.; Burr, M.D.; Camper, A.K. (2007); *Use of propidium monoazide for live/dead distinction in microbial ecology*. Appl Environ Microbiol.: 73, 5111-5117.

Ottoson, J.; Norstrom, A.; Dalhammar, G. (2005); *Removal of micro-organisms in small scale hydroponics wastewater treatment system*. Lett Appl Microbiol.: 40, 443-447.

Pintor, A.M.A.; Ferreira, C.I.A.; Pereira, J.C.; Correia, P.; Silva, S.P.; Vilar, V.J.P.; Botelho, C.M.S.; Boaventura, R. (2012); *Use of cork powder and granules for the adsorption of pollutants: a review*. Water Res.: 46, 3152-3166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.048>.

Vaillant, N.; Monnet, F.; Sallanon, H.; Coudret, A.; Hitmi, A. (2003); *Treatment of domestic wastewater by a hydroponic NFT system*. Chemosphere.: 50, 121-129.

Vinita, V.; Singh, U.; Billore, S. (2008); *Proceedings of the 12th International World Lake Conference. Efficiency of Root Zone Technology for Treatment of Domestic Wastewater*.