

Aislamiento de Pseudomonas del estero El Macho para la remoción de arsénico en agua sintética

Isolation of Pseudomonas from the El Macho estuary for Arsenic Water Treatment

Cristopher Manuel Choez Tobo

Universidad Técnica de Machala

cchoez1@utmachala.edu.ec

ORCID: 0009-0004-5761-6161

Eliana Milagros Tapia-Galarza

Universidad Técnica de Machala

etapia2@tmachala.edu.ec

ORCID: 0009-0007-0391-118

Revista de Biotecnología Vol.1 N°1

Versión electrónica

<https://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/biotecnologia>

RESUMEN

El arsénico es un metaloide presente en el agua y está asociado a la actividad de extracción de metales preciosos como residuo, que puede migrar fácilmente al medio ambiente y representar un riesgo para la salud humana. La exposición prolongada al arsénico en el agua potable y fuentes de agua se ha vinculado con cánceres y enfermedades no cancerosas. Por otro lado, la *Pseudomona aeruginosa* es una bacteria que ha demostrado adaptarse a diferentes condiciones ambientales y puede utilizar una amplia gama de compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía. El estudio se enfoca en la capacidad de una solución de *P. aeruginosa* para eliminar arsénico en soluciones de agua sintética. Los resultados indican que, después de tres días de exposición, este tratamiento logró reducir la concentración de arsénico de 0.1ppm a 0.05ppm lo que sugiere un potencial efectivo para la eliminación de arsénico en aplicaciones prácticas futuras.

Palabras clave: Biorremediación, arsénico, *Pseudomona*, contaminación.

ABSTRACT

Arsenic is a metalloid found in water and is associated with precious metal extraction activities as a residue, which can easily migrate to the environment and pose a risk to human health. Prolonged exposure to arsenic in drinking water and water sources has been linked to cancers and non-cancerous diseases. On the other hand, *Pseudomonas aeruginosa* is a bacterium that has demonstrated its ability to adapt to various environmental conditions and can utilize a wide range of organic compounds as a source of carbon and energy. The study focuses on the capability of a *P. aeruginosa* solution to remove arsenic from synthetic water solutions. The results indicate that, after three days of exposure, this treatment successfully reduced the arsenic concentration from 0.1 ppm to 0.05 ppm, suggesting effective potential for arsenic removal in future practical applications.

Keywords: Bioremediation, arsenic, *Pseudomonas*, contamination.

INTRODUCCIÓN

Arsénico

El arsénico es un metaloide que se encuentra en promedio entre 2 y 5 mg/kg en el suelo y está asociado principalmente con rocas volcánicas y sedimentarias en forma de compuestos inorgánicos, es un elemento altamente tóxico que causa diferentes enfermedades (Salas et al, 2020). Se combina con otros elementos como el oxígeno, el cloro o el azufre para formar compuestos de As inorgánico y orgánico con hidrógeno o carbono. Así, los compuestos de As se pueden clasificar en 3 grupos: inorgánicos, orgánicos y gas arsina. (Magdalena Montalva Redon, 2016).

La distribución y contaminación del arsénico son causadas por procesos naturales y provocados por el hombre, el problema es que migra fácilmente al medio ambiente. (Baird, C. 2018). Las altas concentraciones de arsénico en el agua y el suelo se han convertido en un problema mundial porque la exposición prolongada a este tipo de metal puede causar severos daños a la salud. (Edelweiss Rangel Montoya, 2015).

La disponibilidad de metales pesados en el suelo y a los ecosistemas acuáticos y en relativamente menor medida a la atmósfera en forma de partículas o vapores. Un aumento en su uso en la industria y la agricultura, así como en tecnología e incluso en compuestos para uso doméstico resultó en una mayor exposición humana este elemento. (de la Torre et al, 2021). Actualmente se acepta generalmente que la distribución, movilidad, biodisponibilidad y toxicidad de los elementos químicos no dependen de su concentración total, sino más bien de su forma química. (Juan José Vicente, 2010).

La exposición al arsénico en el agua potable se ha relacionado con cánceres de piel y viscerales, así como con efectos no cancerosos como diabetes, neuropatía periférica y enfermedades cardiovasculares (Barrera et al, 2020). Las personas pueden estar expuestas al arsénico a través de: Inhalación, ingesta de alimentos y bebida de agua, especialmente en algunos lugares donde el agua contiene minerales que contienen arsénico. (Herrera et al, 2014).

Pseudomonas

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria gramnegativa que causa muchas infecciones se asocian principalmente con el entorno hospitalario, el potencial patogénico proviene de su producción, una serie de factores de virulencia, formación de biopelículas y resistencia antibióticos; vive en una variedad de ambientes, incluidos terrestres, acuáticos y animales, humano y relacionados con las plantas. (Zurita, 2018).

Schroeter aisló por primera vez *Pseudomonas aeruginosa* de muestras ambientales en 1872. Dado que las colonias de *P. aeruginosa* están pigmentadas, el nombre de la especie proviene de la palabra (*aeruginosa*), que significa "color cobre oxidado", refleja el característico color azul verdoso de las colonias debido a producción de pigmentos, este bacilo aeróbico gramnegativo es metabólicamente muy versátil, capaz de utilizar más de 80 compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía. Es oxidasa positiva y puede

crecer por encima de los 42°C, aunque las cepas se clasifican como estrictamente aeróbicas, algunas pueden crecer anaeróbicamente desnitrificando o fermentando compuestos como la arginina o el piruvato. (Lidia Ruiz Martínez, 2007).

Según Yosuke Tashiro et al (2013) *P. aeruginosa* causa enfermedades en plantas y animales. Por lo tanto, se sabe que esta bacteria es muy adaptable y tiene diferentes características fenotípicas que le permiten vivir en diferentes condiciones ambientales".

Según Wibowo et al (2020) *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno humano oportunista que causa infecciones agudas y crónicas devastadoras en personas inmunodeprimidas. Su notable persistencia en entornos clínicos se debe a su capacidad para formar biopelículas resistentes a los antibióticos.

En cuanto al tratamiento de este metal pesado, existen estudios globales donde los microorganismos juegan un papel fundamental. Debido a su exposición y a los compuestos derivados de Arsénico hay una presión selectiva para que los microorganismos adquieran diversos sistemas de tolerancia al metal. (Serrato y Cervantes, 2017). Dentro de los estudios de remoción de metales pesados se encontró que la *P. aeruginosa* puede remover en su totalidad y tolerar As en altas concentraciones. (Layza & Polo, 2018).

El objetivo de esta investigación es determinar los niveles de remoción de arsénico en solución acuosa sintética mediante el tratamiento con una solución bacteriana de *Pseudomonas Aeruginosa* a condiciones controladas de laboratorio para establecer un precedente en investigaciones con aplicaciones prácticas a futuro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de Pseudomonas aeruginosa

Se tomó muestras de lodo del estero El Macho, ubicado en la ciudad de Machala, Ecuador. Se usó el lodo como inóculo para cultivar en agar cetrimide como medio de cultivo selectivo. Los inóculos fueron preparados diluyendo un gramo de muestra de lodo en 100 ml de agua destilada y agitados a 100 rpm durante 30 minutos para homogeneizar la solución. Luego de agitar se tomó 1ml de la solución y se diluyó en 9 ml de agua destilada. Se homogenizó la solución de 10ml y se toma 1ml para inocular en una caja Petri preparada con agar cetrimide, se realiza la siembra en 3 cajas Petri en total. Se incubó en una estufa las cajas a 45°C durante 3 días hasta observar un crecimiento bacteriano notable.

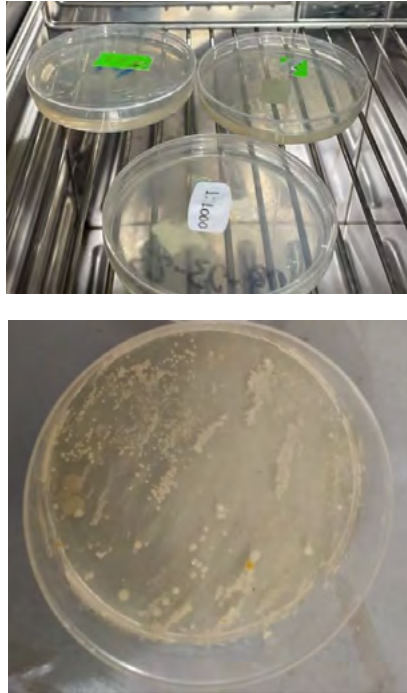


Figura 1 Aislamiento e incubación de Pseudomonas Aeruginosa

Incubación en caldo enriquecido

Se preparó el caldo enriquecido en un matraz esterilizado de 500 ml y se mezcla 2g de polvo de caldo de gallina con 200 ml de agua destilada. Se lleva a ebullición al caldo durante 5 minutos y se vierten en recipientes estériles de vidrio de 15 ml.

Luego, con un ansa se realizó la siembra en el caldo enriquecido de las cajas con agar selectivo, se realiza un raspado superficial en un ambiente estéril y se siembra en el medio líquido. Los recipientes que contienen el caldo enriquecido y el inóculo se conservó a 45 °C durante 3 días.

Mezcla con arsénico

A partir de una solución patrón de 10 ppm de As se prepara una solución de 0.2 ppm de As con agua destilada.

Después se toman 15 ml de la solución de As a 0.2 ppm y se mezcla con 15 ml del cultivo enriquecido en recipientes estériles. Se toma en cuenta que al diluir 15 ml de la solución 0.2 ppm de As con 15 ml de caldo enriquecido la concentración de arsénico baja a la mitad teniendo una concentración inicial nueva de 0.1 ppm.

Se incuba la mezcla en la estufa a 45 grados Celsius durante 3 días.

Determinación de arsénico

Se utilizó un test de arsénico MQuant® siguiendo las especificaciones y procedimiento recomendado por el fabricante.



Figura 2 Test de arsénico MQuant®

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Se diluyó la muestra inicial de As 0.2 ppm a una concentración de 0.1 ppm y se midió con el test de As, corroborándose que efectivamente se encontraba a esa concentración mediante la colorimetría del test. Mientras que, al medir los niveles de arsénico del agua con el tratamiento de pseudomonas se obtuvo una lectura de 0.05 ppm.

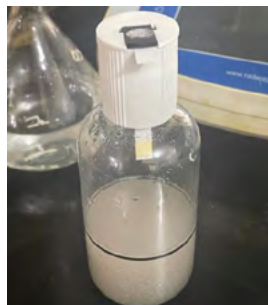


Figura 3 Determinación de arsénico en muestra usando el test de arsénico



Figura 4 Resultados del test de arsénico del patrón inicial y el agua tratada respectivamente.

Teniendo en cuenta que la concentración total de As en el agua antes del tratamiento fue de 0.1 ppm y que la concentración final de As después del tratamiento fue de 0.05 ppm se puede inferir que el tratamiento tiene una efectividad del 50% de reducción de As después de 72 horas de acción de las pseudomonas.

$$\%Remoción = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \cdot 100\%$$

$$\%Remoción = \frac{0.1ppm - 0.05ppm}{0.05ppm} \cdot 100\%$$

$$\%Remoción = 50\%$$

Es importante saber también que existe un error de medición implícito en la medición de arsénico, sin embargo, no es tomado en cuenta debido a la falta de esta información proporcionada por el fabricante del test de arsénico.

Mientras que otros estudios muestran una capacidad de remoción de As del 60% (Pellizari et al., 2015) después de largos tiempos de aplicación, mientras que el actual estudio muestra un tiempo de aplicación de 3 días y muestra resultados cercanos al obtenido por los autores anteriormente citados. Esto puede deberse a que la carga bacteriana inoculada dentro del agua sintética fue alta en relación a la cantidad de arsénico que se utilizó como inicio de experimentación que fue de 0.1 ppm.

CONCLUSIÓN

El tratamiento de una solución acuosa de arsénico con una solución bacteriana de Pseudomonas aeruginosa es posible y muestra una reducción en la concentración del metal pesado en condiciones controladas de temperatura y tiempo de acción.

El potencial oxidativo del tratamiento con Pseudomonas de arsénico en agua es grande y ha demostrado tener una eficiencia de al menos el 50% de remoción de As durante tres días de tratamiento demostrando la posibilidad de dar paso a la experimentación local en muestras de agua de cuerpos hídricos con altas concentraciones de arsénico y poder estudiar métodos de biorremediación con Pseudomonas Aeruginosa aplicables a escala real.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Airam, E., Montoya, R., Montañez Hernández, L. E., Luévanos Escareño, M. P., & Balagurusamy, N. (2015). Impact of Arsenic on the Environment and its Microbial Transformation. *Terra Latinoam*.
- Baird, C. (2018). Química ambiental. Reverté. pp556.
- Barrera-Prieto, Y., Espino-Valdés, M. S., & Herrera-Peraza, E. (2020). Presencia de arsénico en la sección norte del acuífero Meoqui-Delicias del estado de Chihuahua, México: Arsenic presence in North section of Meoqui-Delicias aquifer of State of Chihuahua, Mexico. *TECNOCENCIA Chihuahua*, 3(1), 8-18. <https://doi.org/10.54167/tch.v3i1.739>
- De la Torre-Munilla, P., Vicente-Vicente, L., Prieto, M., Casanova, A. G., & Morales, A. I. (2021). Neurotoxicidad por exposición a metales pesados: evidencias y cuestiones por resolver. *Revista de Toxicología*, 38.
- HERRERA, M. T. A., & MARTIN, I. (2014). Arsénico en agua: Presencia, cuantificación analítica y mitigación.
- Layza, C., & Polo, K. (2018). Capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del Río El Toro - Huamachuco. *Universidad César Vallejo*.
- Montalva Redon, M. (2016). Enfermedad de Bowen tras 45 años de exposición a arsénico en Antofagasta: comparación con una población no expuesta de la Región Metropolitana (Doctoral dissertation).
- Pellizzari EE, Marinich LG, Flores SA & Giménez CM (2015) Degradación de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* para biorremediación de agua. Estudio preliminar. *Av. Cienc. Ing.* 6:1-5.
- Ruiz-Martinez, L. (2007). *Pseudomonas aeruginosa*: aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. *Universidad de Barcelona, Tesis doct.*
- Salas-Mercado, D., Hermoza-Gutiérrez, M., & Salas-Ávila, D. (2020). Distribution of heavy metals and metalloids in surface waters and on sediments of the crucero river, Perú. *Revista Boliviana de Química*, 37(4). <https://doi.org/10.34098/2078-3949.37.4.1>
- Serrato, N., & Cervantes, C. (2017). Diversidad de genes de resistencia a arsénico en procariotas. *Ciencia Nicolaita*, 70.
- Tashiro, Y., Yawata, Y., Toyofuku, M., Uchiyama, H., & Nomura, N. (2013). Interspecies interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and other microorganisms. In *Microbes and Environments* (Vol. 28, Issue 1). <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12167>
- Thi, M. T. T., Wibowo, D., & Rehm, B. H. A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 22). <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
- Vicente Martorell, J. J. (2010). Biodisponibilidad de metales pesados en dos ecosistemas acuáticos de la costa suratlántica andaluza afectados por contaminación difusa. <http://hdl.handle.net/10498/15776>
- Zurita Ruiz, G. P. (2018). Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de "caesalpinia spinosa" sobre *pseudomonas aeruginosa*.