



Estudio Comparativo de la Actividad Desfosforante de Cepas Bacterianas Aisladas de Suelo y Lodos Activados

ERIC HOUBRON,^{1*} ELENA RUSTRIAN,¹ J. PHILIPPE DELGENES² Y RENE MOLETTA¹

Instituto Tecnológico de Orizaba. División Estudios de Posgrado. Av. Tecnológicos No. 852, C. P. 94530. Orizaba, Ver. México.¹ INRA. Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement. Narbonne, Francia.²

*Autor para la correspondencia: Tel. y Fax (272) 5-70-56. E mail houbron@itorizaba.edu.mx

ABSTRACT. Phosphate (PO_4^{3-}) contained in sewage and industrial wastewaters sometimes causes eutrophication in water bodies such as lakes, ponds and inland seas. It has been widely recognized that inorganic orthophosphate can not be removed efficiently from wastewater by the conventional activated sludge process. Bacteria known as the most important phosphorus (P) accumulators supposedly belong to the genus *Acinetobacter*. Some authors, however, reported that bacteria of the *Pseudomonas-Xanthomonas* group are important phosphate removers in activated sludge. In this study, the bacterial strains isolated from agricultural soils and sludge samples of an UCT (University of Cape-Town) dephosphatation lab-scale system were tested in order to determine their ability for PO_4^{3-} removal. All strains were isolated on acetate mineral medium. From a total of 35 isolated bacterial strains, only 13 of them are able to consume acetate in both anaerobic and aerobic conditions. To clarify the carbon source effect (acetic, propionic and butyric acids) on PO_4^{3-} -accumulation parameters, these 13 strains were screened. With all 13 screened strains, dephosphatation parameters such as PO_4^{3-} -uptake rate and carbon source/phosphate ratios were found to be dependent on the nature of the volatile fatty acid (VFA). Best results of P-uptake were obtained when the strains were cultured on acetic or butyric acid. In both cases, 65% of PO_4^{3-} elimination and VFA/ PO_4^{3-} ratios between 4.6 and 19.7 (w/w) were obtained. When propionate was the carbon source utilized, PO_4^{3-} -uptake rates decreased, VFA/ PO_4^{3-} ratios increased (1-341.6 w/w) and a lag period before PO_4^{3-} -uptake was observed.

Key Words: Phosphorus removal, P-uptake, carbon source, volatile fatty acids (VFA), bacterial strains.

RESUMEN. El efecto que la naturaleza de la fuente de carbono (acetato, propionato, butirato) tiene sobre los parámetros de desfosforación es estudiado utilizando cepas bacterianas puras, aisladas de un suelo agrícola y de un reactor UCT (Proceso de la Universidad de Cape-Town, Sudáfrica) para eliminar fósforo. Con el conjunto de cepas probadas, la velocidad de consumo de sustrato y la relación sustrato consumido/ PO_4^{3-} acumulador, son dependientes de la naturaleza del ácido graso volátil (AGV), utilizado como fuente de carbono y energía. Una mayor actividad de acumulación de fosfatos (PO_4^{3-}) es obtenida cuando las cepas son cultivadas en acetato o butirato. Así, tasas de eliminación de fosfatos cercanas al 65% son obtenidas cuando las cepas son cultivadas en presencia de uno de éstos AGV, la relación de consumo es de entre 4.6 y 19.7 (p/p). Con el propionato como fuente de carbono, la tasa de eliminación disminuye y se observa un período de latencia que precede el consumo de los PO_4^{3-} .

Palabras clave: Desfosforación, ácidos grasos volátiles (AGV), fuente de carbono, cepas desfosforantes.

INTRODUCCION

La contaminación por fósforo implica problemas ambientales crecientes, en especial el de la eutroficación de las aguas superficiales. Uno de los métodos que permiten eliminar el fósforo (P) en los efluentes de origen urbano y/o agrícola, consiste en precipitar los fosfatos (PO_4^{3-}) en presencia de sales metálicas. Como alternativa a ese proceso fisicoquímico, es posible usar la vía biológica para atrapar los PO_4^{3-} . Existen bacterias aerobias del Género *Acine-*

tobacter, que tienen la capacidad de acumular en condiciones aerobias, el P en forma de gránulos de polifosfatos (Poli-PO_4^{3-}) tras haber estado sometidas a un estrés anaerobio. Los parámetros de desfosforación son altamente dependientes de las condiciones de cultivo, en particular de la concentración en carbono fácilmente biodegradable como los ácidos grasos volátiles (AGV).

La fuente de carbono más importante para los ecosistemas de desfosforación biológica es el acetato.¹² En condición de anaerobiosis, el acetato es almacenado por bacterias



“polifosfatos” (bacterias poli- PO_4^{3-}). Tras el almacenamiento de acetato, se observa una liberación de PO_4^{3-} por la biomasa.

En aerobiosis, la síntesis de constituyentes celulares y sus necesidades de energía provocan el agotamiento de sus reservas intracelulares de carbono [poly-3hydroxybutirato, (PHB)] y una absorción importante de PO_4^{3-} del medio.⁸ El PO_4^{3-} absorbido es entonces almacenado en forma de gránulos de poli- PO_4^{3-} en el interior de las células.

Los principales modelos propuestos para explicar la eliminación biológica del fósforo (EBPR Enhanced Biological Phosphorus Removal), señalan el papel de los AGV, en especial del acetato, como fuente de carbono preferencial para las bacterias Poly- PO_4^{3-} . Las diferentes experiencias realizadas para verificar estos modelos muestran una variación entre las relaciones acetato consumido/ fósforo liberado.¹ Las diferencias observadas están relacionadas a la utilización de los polisacáridos intracelulares (glicógeno) como sustancias de reserva en vez de los poli- PO_4^{3-} .¹⁶

Este comportamiento se atribuye a la presencia en los lodos de un grupo bacteriano que consume preferentemente glucosa y que han sido denominado “bacterias G”.⁴

Este trabajo tiene por objetivo estudiar el efecto de una fuente exógena de AGV sobre los rendimientos de desfosforación por vía biológica. Así, los espectros de asimilación de los AGV y el efecto de la naturaleza del AGV sobre la actividad de desfosforación han sido establecidos para diferentes bacterias con capacidad desfosforante, aisladas a partir de un suelo agrícola y de lodos de un reactor de desfosforación de tipo UCT (Universidad de Cape-Town, Sudafrica).

Tabla 1. Composición del medio de cultivo mineral-acetato (Groenestijn *et al*; 1987) para el aislamiento

Medio "Acetato"	(g/litro)
Acetato de sodio, $3\text{H}_2\text{O}$	5
NH_4Cl	0.5
KH_2PO_4	0.15
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
FeCl_3	0.01
Agua destilada	

pH 7.0, autoclavarse a 121°C durante 15 min.

MATERIAL Y MÉTODOS

Protocolo de aislamiento y purificación de cepas. Se empelaron muestras de un suelo agrícola ($5 \times 5 \times 5 \text{ cm}$) y un reactor UCT de desfosforación, funcionando en continuo a escala laboratorio, para aislar las cepas bacterianas a estudiar.

A partir de la muestra de suelo (1.0 g de muestra diluida en 9.0 ml de agua estéril) y de un reactor (50.0 ml de lodos sonicados a 120 W), diluciones sucesivas (1×10^{-1} hasta 1×10^{-8}) fueron usadas como inóculo para el medio “acetato”³ sólido en caja de Petri conteniendo acetato de sodio como fuente de carbono 5 g/litro (Tabla 1). Tras la

Tabla 2. Composición de los medios para las cinéticas de desfosforación acetato.

Medio Limitado en Fósforo		Medio de acumulación	
Componente	(g/litro)	Componente	(g/litro)
Acetato de sodio, $3\text{H}_2\text{O}$	7.00	Ácido graso volátil*	0.300
$\text{Na}_2 \text{SO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.10	NaCl	0.012
NH_4Cl	1.00	NH_4Cl	0.011
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.20	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.061
$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	0.04	$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	0.136
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.06	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.044
Trizma base	12.0	Trizma base	12.0
Solución mineral ^o	2.0 ml	Sulfato estreptomycin	0.2

^oVan Groenestijn *et al*, 1987; *Ácido acético, propiónico o butírico
pH 7.0, autoclavarse a 121°C durante 20 min.



incubación en condiciones aerobias por 2 a 5 días, las colonias para las que un crecimiento a dilución 1×10^{-1} fue observado se muestrearon y purificaron. Así, fueron aisladas 24 cepas a partir de un suelo agrícola y 11 cepas a partir de un reactor UCT.

Las cepas que mostraron en la etapa precedente un crecimiento sobre medio "acetato" sólido, fueron enseguida utilizadas para probar su aptitud a usar acetato en condiciones de anaerobiosis para establecer las cinéticas de consumo de PO_4^{3-} .

En una primera etapa, las cepas se probaron en medio líquido tanto en condiciones de anaerobiosis (incubadas en una cámara anaerobia con atmósfera de CO_2 al 80% + N_2 al 20%) como de aerobiosis en medio "acetato"³ líquido (Tabla 1). Las cepas son precultivadas en tubos de ensaye no agitados, conteniendo 10 ml de medio "acetato" durante 24 h a 30°C. Los cultivos se realizaron en matraces de 100 ml con 50 ml de medio "acetato" (inóculo, 10% (v/v); 30°C; agitación, 170 rpm.

Cinéticas de desfosforación en función de la naturaleza del AGV. Los estudios enfocados a establecer los espectros de asimilación de los AGV fueron realizados siguiéndolos a modo de cinéticas en condiciones de aerobiosis. Estos estudios, se hicieron cultivando en cada uno de los AGV probados (acético, propiónico y butírico), las cepas de las bacterias desfosforantes que mostraron sobre medio "acetato" líquido en condiciones de aerobiosis, las tasas de consumo de AGV y PO_4^{3-} más elevadas. En total nueve cepas fueron seleccionadas: las cepas B3, B4, 22, 24, 32, 33 (aisladas de un suelo agrícola) y las cepas R1, R3 y R5 (aisladas del sistema UCT).

Las células deben precultivarse en condiciones limitadas de aireación y en un medio de cultivo limitado en fósforo. Las células obtenidas del precultivo, se transfieren (para efectuar las cinéticas) a un medio rico en fósforo y bajo condiciones aireadas.

Así, los precultivos se realizaron en matraces Erlenmeyer de 250 ml conteniendo 40 ml de "medio limitado en fósforo",¹⁰ (Tabla 2). Los matraces Erlenmeyer se colocan en agitación (50 rpm) para limitar los aportes en oxígeno y a temperatura de 30°C durante 24 h.

Las células precultivadas tras la centrifugación y lavado con una solución de Tris HCl se transfirieron a matraces Erlenmeyer de 500 ml conteniendo 100 ml de "medio para acumulación de fósforo"¹⁰ (Tabla 2). Estos, se incubaron con agitación de 150 rpm (a fin de aumentar los aportes de oxígeno) y a 30°C durante 2 días.

Métodos analíticos. Se tomaron muestras de 2 ml cada 8 h y se leyó la OD_{540} y posteriormente se centrifugaron en una centrífuga refrigerada Beckman (10,000 x g, 10 min, a 4°C). Se determinaron las concentraciones en acetato y PO_4^{3-} según los protocolos siguientes.

Los AGV: acetato, propionato y butirato, fueron determinados por cromatografía de gases con un aparato Chromapack CP 9000 equipado con un detector de ionización de flama (Colonne Econocap FFAP, Alltech), gas acarrea-

dor: nitrógeno, temperatura del detector: 275°C.

Los PO_4^{3-} fueron determinados por separación y elución de aniones por cromatografía de intercambio de iones con un aparato Dionex DX 100. (pre-columna Ion Pac AG-4A; columna Ion Pac AS4A; eluente 1.8 mM Na_2CO_3 + 1 mM NaHCO_3 q.s.p. 1 litro de agua Milli-Q).

RESULTADOS

Aislamiento y purificación de cepas. La primera parte del estudio consistió en aislar y seleccionar cepas puras de bacterias desfosforantes y posteriormente establecer para las cepas más adecuadas, los espectros de asimilación de los AGV siguientes: acetato, propionato y butirato. Cada AGV fue probado de manera individual de modo que fuese la sola fuente de carbono presente en el medio de cultivo sintético.

Las bacterias desfosforantes son en general, bacterias anaerobias facultativas que tienen capacidad de consumir sustratos carbonados (como el lactato, etanol, y AGV) en condiciones de anaerobiosis estricta. Razón por la que la segunda etapa del protocolo de aislamiento consiste en probar su capacidad de consumir acetato (5 g/litro) en medio sólido y fosfatos PO_4^{3-} (100 mg/litro) en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis. Los resultados obtenidos tras incubación por 3 días son presentados en la tabla 3.

Los resultados indican que de un total de 35 cepas estudiadas solo 13 de ellas tienen la capacidad de consumir acetato como sustrato tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis.

Los fosfatos consumidos, velocidad promedio de consumo de fosfatos y la relación $\text{AGV}_{\text{consumido}} / \text{PO}_4^{3-}_{\text{consumido}}$, obtenidas con 8 cepas aisladas de un suelo agrícola (A5, B3, B4, 21, 22, 24, 32, 33) así como de 5 cepas aisladas de un reactor UCT (R1, R2, R3, R4, R5) tras 48 h de incubación, son presentadas en la Tabla 4.

A título ilustrativo, las cinéticas de consumo de PO_4^{3-} y acetato relativos a las 2 cepas con que se obtuvieron mejores resultados con cada una de las diferentes fuentes de aislamiento usada se presentan en la Fig. 1. Son consideradas como adecuadas las cepas que presentan una relación $\text{AGV}_{\text{consumido}} / \text{PO}_4^{3-}_{\text{consumido}}$ baja. Es decir, las que muestran un uso más eficiente del AGV consumido para remover PO_4^{3-} .

Cinéticas de desfosforación en función de la naturaleza del AGV. Los resultados de las cinéticas de desfosforación obtenidos en función de la naturaleza del AGV y tras 48 h de incubación, son reagrupados en la Tabla 5.

Los resultados presentados en la tabla 5, nos permiten definir dos grupos en función de la naturaleza del sustrato carbonado. El primer grupo, incluye las cepas R5, R3 y 32, que muestran los mejores rendimientos de desfosforación cuando éstas son cultivadas en acetato (Tabla 5). El segundo grupo, incluye las cepas R5, B4 y 22, exhibe cinéticas de defosforación con mejores rendimientos cuando las ce-



Tabla 3. Crecimiento de cepas aisladas de un suelo agrícola (A) y de cepas aisladas de un sistema UCT (B) sobre medio sólido a base de acetato y de fosfato AER = Aerobiosis ; ANA = Anaerobiosis.

A

Cepa Condición	A1	A2	A3	A4	A5	A6	B1	B2	B3	B4	21	22
AER	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
ANA	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
Cepa	23	24	25	26	27	31	32	33	34	35	36	37
Condición												
AER	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
ANA	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-

B

Cepa Condición	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11
AER	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
ANA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+

Tabla 4. Parámetros de consumo de fosfatos para las cepas puras cultivadas sobre medio acetato líquido en aerobiosis, calculados tras 48 h de cultivo.

Parámetro Cepas	Fosfatos consumidos (mg/litro)	Velocidad promedio de consumo de fosfatos (mg/mg día)	Relación AGVconsumido/PO ₄ ⁻³ consumido (mg/mg)
A5	9.9	18.2	57.4
B3	8.7	17.2	15.8
B4	10.1	20.1	28.3
21	3.2	6.5	15.4
22	7.3	14.6	20.5
24	15.2	26.6	11.3
32	23.2	40.6	21.8
33	13.7	17.4	21.4
R1	24.6	37.0	8.1
R2	16.2	24.4	12.3
R3	30.0	45.0	6.6
R4	13.8	27.7	10.8
R5	31.4	62.8	4.8

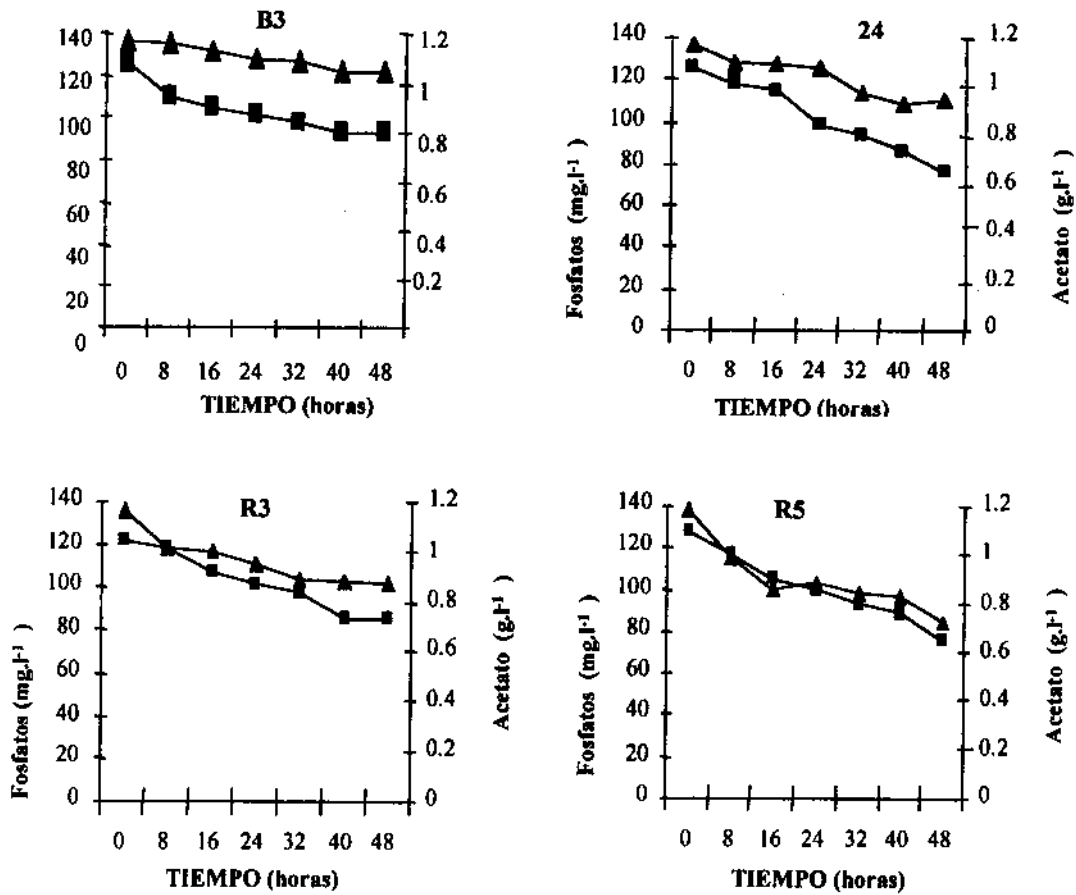


Figura 1. Cinéticas de consumo de fosfatos y acetato por las cepas B3 y 24 aisladas de un suelo agrícola y las cepas R3 y R5 aisladas de un reactor UCT. Fosfato (triángulos); acetato (cuadrados).

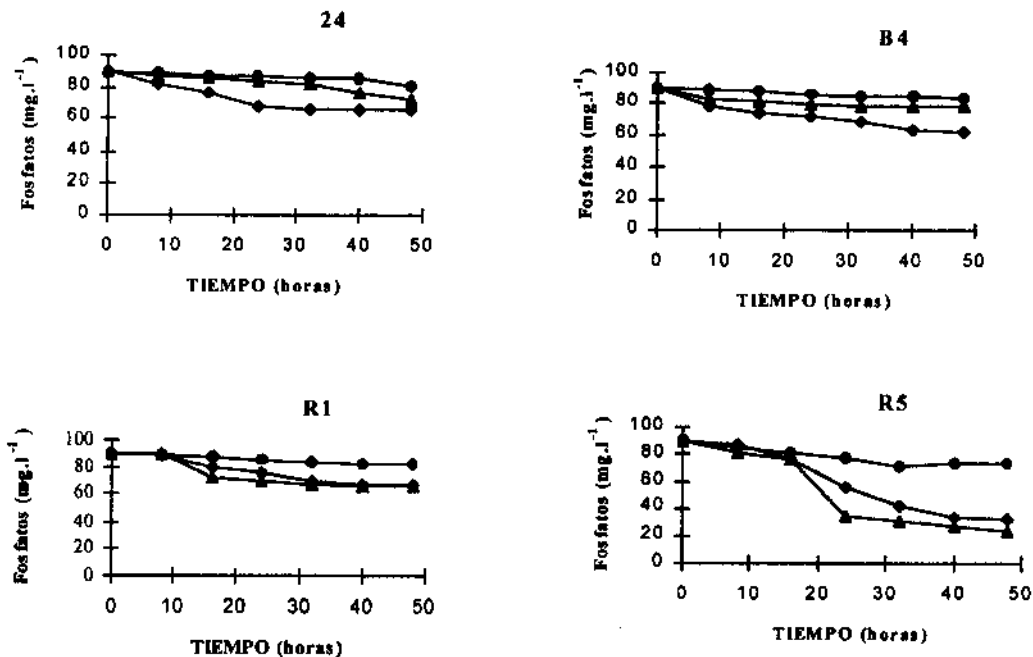


Figura 2. Cinéticas de defosforación en función de la naturaleza del AGV para las cepas 24, B4, R1 y R5. Acetato (triángulos); propionato (círculos); butirato (rombos).



Tabla 5. Parámetros de desfosforación de cepas bacterianas aisladas de un suelo agrícola (B3, B4, 22, 24, 32, 33) y de un sistema UCT (R1, R3, R5) cultivadas en acetato, propionato o butirato, obtenidos tras 48 h de cultivo.

Cepas	Fuente de Carbono					
	Acetato		Propionato		Butirato	
	PO ₄ ⁻³ consumido (mg/litro)	AGV (mg) PO ₄ ⁻³ (mg)	PO ₄ ⁻³ consumido (mg/litro)	AGV (mg) PO ₄ ⁻³ (mg)	PO ₄ ⁻³ consumido (mg/litro)	AGV (mg) PO ₄ ⁻³ (mg)
B3	14.2	18.3	9.2	20.6	12.0	16.6
B4	19.2	11.7	6.4	30.0	36.0	8.3
22	16.4	13.7	8.7	24.8	34.0	8.8
24	24.3	11.5	8.6	17.7	18.0	12.5
32	28.4	10.0	6.0	22.5	12.2	14.7
33	14.2	19.7	9.8	25.5	12.2	14.7
R1	24.3	12.3	7.2	41.6	23.2	12.9
R3	32.1	9.34	9.4	15.9	25.5	11.0
R5	56.8	5.28	16.0	13.1	56.0	4.6

pas son cultivadas en butirato (Tabla 5). Para el grupo de nueve cepas probadas, los rendimientos de defosforación más bajos se obtienen cuando la fuente carbono usada es el propionato (Tabla 5).

Con el propionato, no se observa consumo de PO₄⁻³ durante las primeras horas de cultivo, sin importar de qué cepa se trate. Este fenómeno se observa también, pero sólo en algunas de las cepas estudiadas, cuando el butirato es la fuente de carbono. Así, el efecto de la naturaleza del sustrato sobre los rendimientos de defosforación varía según la cepa estudiada. A título ilustrativo, la Fig. 2 presenta las cinéticas de desfosforación de las cepas denominadas 24, B4, R1, y R5, durante 48 h de cultivo.

DISCUSION

Aislamiento y purificación de cepas. El porcentaje de cepas capaces de consumir acetato en anaerobiosis y aerobiosis es más elevado sobre el lote de cepas aisladas del reactor UCT (45%) en comparación con el lote de cepas aisladas a partir de un suelo agrícola (33 %). Esto puede explicarse por la presión de selección impuesta por las condiciones de funcionamiento propias del sistema UCT (utilización de un medio rico en acetato y fosfato y alternancia, por recirculación de los lodos, de condiciones anaerobia-aerobia).

De acuerdo con las cinéticas de desfosforación, las 13 cepas probadas (Tabla 4), pueden distribuirse en 3 grupos. En el primer grupo (por ej. cepas B3 y 22), se observa un consumo mínimo de acetato y PO₄⁻³. En el segundo grupo (por ej. cepa 24; Fig. 1), se observa un consumo significativo de la fuente de carbono y PO₄⁻³ tras un período de latencia. En el tercer grupo (por ej. cepas, R1, R3 y R5), se observa un consumo significativo de acetato y PO₄⁻³ sin un período de latencia.

Los resultados presentados en la tabla 4 muestran que

las cepas bacterianas aisladas que presentan capacidad de consumir PO₄⁻³ en cantidades superiores a sus necesidades metabólicas son numerosas. Representan el 75% de las cepas aisladas de un suelo agrícola y el 64% de aquellas aisladas a partir del sistema UCT que crecieron bajo las condiciones aquí establecidas. Este resultado es comparable al obtenido por otros autores,³ usando lodos activados de una planta de tratamiento en que el 80% de las bacterias aisladas mostraron capacidad para acumular PO₄⁻³. Son consideradas como adecuadas, las cepas que presentaron una relación AGV_{consumido}/PO₄⁻³ consumido baja. De entre las cepas aisladas de suelo agrícola, sólo dos cepas (B3 y 24) pueden considerarse como hiperacumuladoras de fosfatos, mostrando las más bajas relaciones AGV/PO₄⁻³ de éste grupo, del orden de 11 a 16 mg AGV/mg PO₄⁻³ (Tabla 4). Mientras que, las cepas aisladas del sistema UCT exhiben relaciones AGV/PO₄⁻³, comprendidas entre 5 y 12.3 mg AGV/mg PO₄⁻³, es decir mejores que las logradas con cepas provenientes de suelo agrícola. Esto se explica porque las cepas aisladas del UCT, habían ya sufrido un período de adaptación-selección por las condiciones propias de operación de dicho sistema desfosforante.

Cinéticas de defosforación en función de la naturaleza del AGV. El efecto que la naturaleza del sustrato ejerce sobre los parámetros de defosforación parece variar según la cepa estudiada. Con el butirato, no se observa un período de latencia pero sí un largo período en que el consumo de PO₄⁻³ es muy limitado pero constante. Las cantidades totales de PO₄⁻³ eliminadas son diferentes para cada fuente de carbono empleada, la mayor de ellas (56.8 mg PO₄⁻³) fue obtenida con el acetato y la menor (6 mg PO₄⁻³) al cultivar a las bacterias usando propionato.

Tasas de eliminación de fosfatos de entre el 10 y 60% fueron obtenidas en éste trabajo en tanto que otros autores⁵ reportan tasas de defosforación de entre el 70 y 80%, en 40 h de cultivo, con diferentes cepas de *Acinetobacter calcoaceticus* con butirato como fuente de carbono. Los valo-



res por ellos obtenidos, son menores cuando se usan como fuentes de carbono ácido láctico ó acético.⁵

Con un sistema de reactores en serie, Tadwalka y Tsu,¹¹ probaron diferentes fuentes de carbono para estimular la desfosforación y obtuvieron las tasa de consumo de PO_4^{3-} siguientes: 86% de PO_4^{3-} consumido con 60 mg/litro de ácido acético; 73% con 30 mg/litro de acetato de sodio y 96% usando 50 mg/litro de ácido butírico. Nuestros mejores resultados fueron obtenidos con la cepa denominada R5 y fueron: 63% de PO_4^{3-} consumido con 300 mg/litro de ácido acético, 62% de PO_4^{3-} consumido con 300 mg/litro de ácido butírico y 18% de PO_4^{3-} consumido con 300 mg/litro de ácido propiónico.

El conjunto de resultados, completan y profundizan los obtenidos por otros investigadores^{13,14,15} según los cuales, los parámetros de desfosforación son afectados por la composición del efluente, en particular la concentración de sustrato orgánico fácilmente metabolizable. Finalmente, Ekama *et al.*⁷ demostraron que una eliminación eficaz de PO_4^{3-} puede obtenerse si la concentración del efluente en carbono fácilmente biodegradable es superior a 50 mg de DQO/litro.

Este estudio permite evidenciar que un buen número de las cepas bacterianas aisladas de ecosistemas naturales tienen capacidad de desfosforación en presencia de una fuente de carbono, en particular de AGV. Una diferencia importante a nivel de los rendimientos de consumo de los AGV y PO_4^{3-} es observada, solo el 10% de las cepas aisladas a partir de un suelo agrícola y de un lodo de origen urbano, tienen capacidad de acumular PO_4^{3-} con una relación AGV/ PO_4^{3-} ventajosa. Los trabajos realizados para aislar cepas puras desfosforantes permitieron seleccionar cepas con actividades importantes de desfosforación como la cepa R5 aislada de un sistema UCT desarrollado a nivel laboratorio.

Los trabajos aquí presentados, al igual que lo reportado en algunos trabajos previos,^{9,7} muestran que las tasas de eliminación de PO_4^{3-} por vía biológica pueden incrementarse tras un aporte de carbono fácilmente biodegradable. En éste contexto, los trabajos efectuados tanto por Gerber *et al.*⁹ como por Toerien *et al.*¹⁷ hacen referencia al uso de acetato o etanol como fuente exógena de carbono y se realizaron usando lodos desfosforantes (cultivo mixto a diferencia de nuestro estudio que se hizo con cultivos puros). Los resultados aquí obtenidos muestran que la capacidad de desfosforación de una cepa bacteriana en particular, en términos de velocidad y rendimiento, son dependientes de la naturaleza del AGV usado como fuente de carbono.

Empleando butirato, los rendimientos de desfosforación son comparables a los obtenidos con acetato. Los resultados presentados muestran que los valores de PO_4^{3-} consumido son mayores cuando las bacterias utilizan acetato o butirato como fuente de carbono.

Estos AGV pueden ser producidos por un proceso de acidogénesis y ser los AGV más abundantes en función de la carga y tiempo de residencia hidráulicos aplicados en

dicho proceso.^{2,6}

Usando cepas bacterianas adecuadas, se mostró que una mejor actividad de desfosforación es obtenida cuando se usa acetato como fuente de carbono. Este resultado refuerza el interés de acoplar procesos como el de la desfosforación con otros como el de acidogénesis que representa la fuente de aprovisionamiento de materia carbonada heterogénea y fácilmente metabolizable.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con la participación de la Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME, Francia) el Conseil Régional du Languedoc-Roussillon, Francia y el CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México).

REFERENCIAS

1. Beccari, M., A. C. Di Pinto, R. Ramadori y V Tandoi. 1985. Enhanced biological phosphorus removal in single sludge system. *En: Proceedings of International Conference on Management Strategies for Phosphorus in the Environment*. Selver, England. 386-393.
2. Breure, A. M. y J. G. van Andel. 1984. Hydrolysis and acidogenic fermentation of a protein gelatin in an anaerobic continous culture. *Appl. Microbiol. Biotech.* 20:40-45.
3. Beacham, A. M., R. J. Seviour y K. C. Lindrea. 1992. Polyphosphate accumulating abilities of *Acinetobacter* isolates from a biological nutrient removal pilot plant. *Water Res.* 26:121-122.
4. Cech, J. S. y P. Hartman. 1990. Glucose induced breakdown of enhanced biological phosphorus removal. *Environ. Technol.* 11:651-656.
5. Deinema, M. H., L. H. A. Habets, J. Scholten, E. Turkstra y H. A. A. M. Webers. 1980. The accumulation of polyphosphate in *Acinetobacter spp.* *FEMS Microbiol. Lett.* 9:275-279.
6. Dinopoulou, G., T. Rudd y J. N. Lester J.N. 1988. Anaerobic acidogenesis of a complex wastewater: 1. The influence of operational parameters on reactor performance. *Biotechnol. Bioengng.* 31:958-968.
7. Ekama, G. A., G. V. R. Marais, y I. P. Siebritz. 1984. Biological excess phosphorus removal. *En: Theory, Design and Operation of Nutrient Removal Activated Sludge Processes*, Water Research Commission, Pretoria, South Africa. 7-1 a 7-32.
8. Florentz, M., P. Harteman y J. T'Seyen. 1987. Métabolisme du phosphore dans la cellule bactérienne. *En: Sur l'épuration et le traitement des effluents (eau, air)*. 3 : Phosphore. G. Martin (Coord). *Technique et Documentation Lavoisier*. France. 22-3241.
9. Gerber, A., E. S. Mostert, C. T. Winter y R. H. De



- Villiers. 1987. Interactions between phosphate, nitrate, and organic substrates in biological nutrient removal processes. *Water Sci. Technol.* 19:183-194.
10. Groenestijn, J. W. M. H van Deinema y A. J. B. Zehnder. 1987. ATP production from polyphosphates by *Acinetobacter* strain 210A. *Arch. Microbiol.* 148:14-19.
 11. Jones, P. H., A. D. Tadwalka y C. L. Hsu. 1987. Enhanced uptake of phosphorus by activated sludge-Effect of substrate addition. *Water Res.* 21:301-308.
 12. Marais, G. R., R. E. Loewenthal y I. P. Siebritz. 1983. Observations supporting phosphate removal by biological excess uptake. A review. *Water Sci. Technol.* 15:15-41.
 13. Nicholls, H. A., D. W. Osborn, y A. R. Pitman. 1987. Improvement to the stability of the biological phosphate removal process at the Johannesburg Northern Works. *En: Advances in Water Pollution Control : Biological Phosphate Removal from Wastewaters* (R. Ramadori, Ed.). Pergamon Press, Oxford. 261-272.
 14. Oldham, W. K. 1985. Full-scale optimization of biological phosphorus removal at Kelowna, Canada, *Water Sci. Technol.* 17:243-257.
 15. Pitman, A. R., B. C. Trim y V. L. Dalsen. 1988. Operating experience with biological nutrient removal at the Johannesburg Bushkoppie Works, *Water Sci. Technol.* 20:51-62.
 16. Satoh, H., T. Mino y T. Matsuo. 1992. Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes. *Wat. Sci. Tech.* 26:933-942.
 17. Toerien, D. F., A. Gerber, L. H. Lötter y T. E. Cloete. 1990. Enhanced Biological Phosphorus Removal in activated Sludge System. *Adv. Microbiol. Ecol.* 2:173-230.