



CAPACIDAD DESNITRIFICANTE DE UN CONSORCIO MICROBIANO UTILIZANDO BTX COMO DONADORES DE ELECTRONES.

Armando Peña-Calva, Flor de María Cuervo-López y Jorge Gómez*

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Avenida San Rafael Atláxco No186, Vicentina 09340 México, DF. Tel.-Fax: 58044712, e-mail: dani@xanum.uam.mx

Palabras clave: BTX, desnitrificación, extracto celular.

Introducción: El benceno, tolueno y xilenos (BTX), se encuentran comúnmente en la gasolina, por su solubilidad y toxicidad representan un peligro para la salud. El tolueno y los xilenos pueden ser consumidos bajo condiciones desnitrificantes, siendo el benceno el más recalcitrante. El propósito de este trabajo es estudiar en cultivo en lote, la capacidad desnitrificante de un consorcio microbiano (CM), utilizando a los BTX como donadores de electrones (e^-).

Metodología. La metodología consistió en 2 etapas: Una primera en la que se estudió la capacidad desnitrificante del CM utilizando a los BTX como donadores de e^- , NO_3^- como aceptor de e^- y una relación C/N de 0.8. Se utilizó el desarrollo metodológico y el medio de cultivo propuesto por Peña-Calva y col. (2004). Posteriormente, el CM fue sometido a una lisis celular con nitrógeno líquido, se centrifugó (27000 g, 20 min, 4°C) y el sobrenadante obtenido fue definido como extracto celular (EC). Se verificó que el EC presentara actividad enzimática para oxidar hidrocarburos con el método propuesto por Zazueta y col. (2003). Luego se estudió la capacidad desnitrificante del EC con BTX y NO_3^- . En la segunda etapa, del CM se aislaron algunos microorganismos desnitrificantes (MOD), se seleccionaron las colonias según su morfología, se propagaron y se les midió su capacidad desnitrificante utilizando acetato como donador de e^- . Después, cada colonia fue sometida a la lisis y centrifugación descritas anteriormente, el sobrenadante obtenido fue definido como extracto celular desnitrificante (ECD). Se verificó que el ECD presentara actividad enzimática para oxidar hidrocarburos y se estudió su capacidad desnitrificante con BTX y NO_3^- . Se midió NO_3^- , NO_2^- (electroforesis capilar), N_2O , N_2 y BTX (cromatografía de gases), carbono orgánico e inorgánico (TOC) y proteína (Lowry) y se calcularon la eficiencia de consumo (E %, $\text{mg substrato consumido}/\text{mg substrato alimentado}$), el rendimiento en la formación de producto ($Y_{P/S}$, $\text{mg producto}/\text{mg substrato consumido}$) y la actividad enzimática específica ($U/\text{mg Proteína}$).

Resultados y Discusión. En la primera etapa con el CM, el tolueno y nitrato se consumieron totalmente. El tolueno fue mineralizado y el nitrato reducido a N_2 como lo indican los rendimientos Y_{HCO_3} y Y_{N_2} (Tabla 1). Aunque el *m*-xileno presentó eficiencias de consumo (E_X) de 53%, el *m*-xileno consumido fue mayoritariamente mineralizado y el NO_3^- reducido a N_2 , como lo muestran los Y_{HCO_3} y Y_{N_2} (Tabla 1). El benceno no fue consumido, posiblemente por incapacidad metabólica del CM o por deficiencia en su transporte. Se encontró que a diferencia del CM, el EC sí presentó actividad enzimática para oxidar al benceno. Asimismo, se

encontró que los BTX fueron consumidos y mineralizados, y que el NO_3^- fue reducido a N_2 (Tabla 1). Estos resultados sugieren que el CM tiene la capacidad metabólica para oxidar al benceno y que en él se presentan deficiencias en el transporte de este compuesto. En la etapa 2, se aislaron 4 colonias anamorfológicamente distintas. Tres con bacilos Gram - y la otra con cocos y diplococos Gram +. Todos los MOD presentaron actividad desnitrificante utilizando acetato como donador de e^- . Los resultados con el ECD mostraron actividad enzimática sólo con tolueno y *m*-xileno, pero no con benceno. Los ensayos con el ECD, BTX y NO_3^- corroboraron lo anterior, puesto que sólo el tolueno y *m*-xileno fueron consumidos y mineralizados, mientras que el nitrato fue reducido a N_2 (Tabla 1.) En estos ensayos no se presentó consumo de benceno. Los resultados indican que los MOD tienen las enzimas para oxidar al tolueno y *m*-xileno, pero no para el benceno y que el fenómeno parece estar asociado a la presencia de microorganismos específicos.

Tabla 1. Variables de respuesta del proceso desnitrificante.

	Eficiencia (%)	Rendimiento ($Y_{P/S}$)	
		HCO_3^-	N_2
Consortio microbiano			
Tolueno	100	0.80	0.96
<i>m</i> -xileno	53	0.85	0.94
Benceno	0	0	0
Extracto celular (EC)			
Tolueno	90	0.91	0.94
<i>m</i> -xileno	78	0.89	0.92
Benceno	78	0.88	0.93
Extracto enzimático desnitrificante (ECD)			
Tolueno	82	0.90	0.94
<i>m</i> -xileno	86	0.89	0.92
benceno	0	0	0

Conclusiones. En condiciones desnitrificantes el CM consume y mineraliza al tolueno y *m*-xileno, pero no al benceno. Sin embargo, los resultados con el EC indican que el CM sí contiene las enzimas responsables de oxidar al benceno. Aunque los MOD aislados presentaron actividad desnitrificante con acetato y los ECD presentaron la capacidad enzimática para oxidar al tolueno y *m*-xileno, no fue posible consumir ni oxidar al benceno.

Agradecimientos. NFS-CONACyT 35982-U

Bibliografía

- Zazueta-Sandoval, R, Zazueta, V.N., Silva, J. H. y Cabrera, O.R. (2003) Applied Biochem and Biotechn, **108**:1-3, 725-736
Peña-Calva, A, Curvo-Lopez, F.M., Olmos-dichara, A Gómez, J. (2004). Applied Biochem and Biotechn, **119**:3,195-208.