



Caracterización fisicoquímica y molecular de microorganismos sulfoxidantes alcalófilos

Olguín-Lora, P., Alcántara-Pérez, S., Muñoz-Colunga, AM, Reyes-Ávila, J y Le Borgne S
Programa de Ingeniería Molecular, Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central
Lázaro Cárdenas 152, C.P. 07730. México, D.F., e-mail: polguin@imp.mx
Palabras clave: Acalófilos, Consorcio, Sulfoxidante.

Introducción. Las capacidades metabólicas de las bacterias sulfoxidantes extremófilas son potencialmente útiles para su explotación en la industria petrolera; debido a que pueden remover compuestos azufrados contenidos tanto en corrientes gaseosas como acuosas bajo condiciones extremas o adversas para la mayoría de los microorganismos. Profundizar en el conocimiento de tales especies permitirá generar alternativas o complementos tecnológicos basados en procesos limpios, eficientes, seguros y de bajo costo. El objetivo de este estudio fue caracterizar fisicoquímica y molecularmente consorcios sulfoxidantes alcalófilos.

Metodología. Considerando que las poblaciones desarrollan estrategias adaptativas para vivir en condiciones alcalinas, entonces las muestras provinieron de suelos alcalinos: Puebla (TH), Xochimilco (X0) y Tlahuac (TL) y fueron enriquecidas con medio mineral (1), adicionado con tiosulfato como fuente de energía. Se determinó la actividad sulfoxidante y el efecto que sobre la misma tiene la presencia de NaCl, fenol, p-cresol, metildietanolamina (MDEA) y la variación de pH. También se determinó la tasa de dilución máxima de cada consorcio en reactores completamente mezclados, así como parámetros cinéticos \max , K_s , $Y_{x/s}$ y productividad (P), de acuerdo al modelo propuesto por Pirt (2). Los consorcios fueron caracterizados molecularmente de acuerdo al análisis RISA.

Resultados y Discusión: Se evaluó la tasa de oxidación de tiosulfato $-q(S_2O_3)$ para los tres consorcios (TH, X0 y T1) de manera separada. El efecto de la concentración de sustrato fue medido en base al modelo cinético de Monod. Con TH, X0 y T1, se obtuvieron valores muy similares de K_s 0.21, 0.23 y 0.22 mM, respectivamente. La tasa máxima de oxidación de 23.6 mg O_2/g proteína-min de tiosulfato se obtuvo para X0. La tasa máxima de oxidación alcanzada para el tiosulfato, es similar a los resultados obtenidos en (3). Los estudios realizados con sulfuro muestran que X0 presentó la mayor tasa de oxidación de sulfuro con 19.0 mg O_2/g proteína-min y la mayor constante de afinidad $K_s=0.3$ mM. La actividad sulfoxidante de TH y T1 fue limitada, incluso en concentraciones bajas de cloruro de sodio (0.5 M). La actividad disminuyó progresivamente hasta concentraciones de cloruro de sodio de 1.2 y 2.6 M, para T1 y TH, respectivamente. Este comportamiento es representativo de consorcios conformados por microorganismos salino-tolerantes moderados (1). La actividad máxima expresada para TH y T1, fue entre pH 9 y 10, y entre 9.5 y 11 para X0. El consorcio TH fue el más resistente tanto para el efecto inhibitor del fenol, como para el p-cresol. La concentración del fenol y del cresol que permitió una inhibición del 50% de la actividad de oxidación del tiosulfato fue de 126 a 309 mM y 66 a 142 mM, respectivamente. La amina MDEA genera una fuerte actividad inhibitora sobre la actividad de oxidación del

tiosulfato. La concentración de MDEA que inhibe en 50% el consumo de oxígeno se encuentra entre valores de 27 a 96 mM, siendo TH el que presentó la mayor resistencia. El comportamiento en quimiostato fue estudiado utilizando el modelo descrito por Pirt (2) para determinar el crecimiento de la biomasa microbiana. La figura 1 muestra el comportamiento del reactor T1 en la oxidación del tiosulfato a diferentes tasas de dilución.

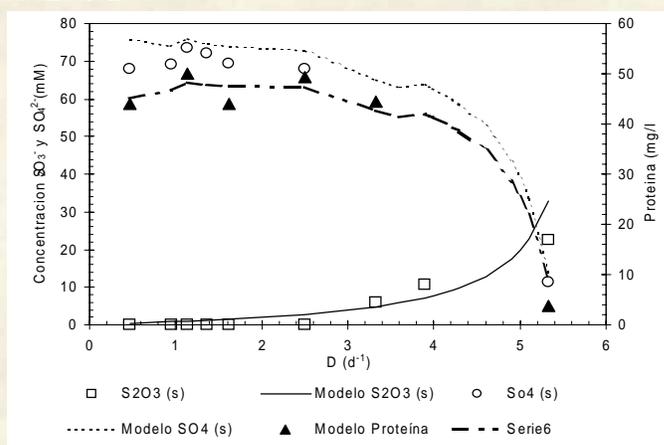


Figura 1. Comportamiento del reactor T1 a diferentes tasas de dilución.

El sistema generó una productividad máxima de 166 mg/l-h con un reactor trabajando a una tasa de dilución de 5.7/h. La concentración máxima de biomasa en el reactor fue de 39.4 mg/l lo que representa una biomasa 3.4 veces más alta que en las condiciones de medición de la actividad oxidativa.

Las poblaciones bacterianas presentes en los 3 consorcios TH, X0 y T1 fueron evaluadas con el método de RISA. En X0 aparecen 2 bandas de 1,250 y 800 pbs aproximadamente lo cual sugiere la presencia de 2 bacterias diferentes. En TH aparece una banda de aproximadamente 900 pbs y 2 bandas muy tenues en 800 y 1,250 pbs por lo que este consorcio contendría 3 bacterias. Finalmente, para T1, se ven 3 bandas de 1,250, 1,200 y 800 pbs aproximadamente lo cual sugiere también la presencia de 3 bacterias en este consorcio.

Conclusiones: Se obtuvieron consorcios sulfoxidantes alcalinos con uso potencial en la industria del petróleo.

Agradecimientos: Proyecto IMP D.00011.

Bibliografía: 1. Sorokin, D. Y., Tourova T.P., Lysenko A. M. and Kuenen J.G. (2001). Microbial Thiocyanate utilization under highly alkaline conditions. *Appl. environ. Microbiol.* 67 (2): 528-538.
2. Pirt, J. S. (1975). Principles of Microbe and Cell Cultivation.
3. Sorokin, D. Y., Banciu, H., Loosdrecht van M. and Kuenen, J. G. (2003). Growth physiology and competitive interaction of obligately chemolithoautotrophic, haloalkaliphilic, sulphur-oxidizing bacteria. *Extremophiles.* 7: 195-203