



## Efecto del acetato en la eliminación de tolueno por desnitrificación: cambios en la velocidad de consumo y en la concentración del gen catabólico *bssA*.

Sergio Martínez H<sup>(1)</sup>, Marcio Da Silva<sup>(2)</sup>, Pedro J.J. Alvarez<sup>(2)</sup>, Jorge Gómez H<sup>(1)</sup> y Flor de María Cuervo-López<sup>(1)</sup>.  
(1) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Depto. de Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina CP 09340, México D. F., Fax: 58046447, e-mail: fmcl@xanum.uam.mx. (2) Department of Civil and Environmental Engineering, Rice University, Houston Texas.

*Palabras clave: tolueno, desnitrificación, bssA, PCR-tiempo real.*

**Introducción.** Compuestos tóxicos como el tolueno a menudo están presentes en el ambiente con fuentes de carbono alternas que pueden influir en la magnitud y velocidad de su eliminación, por tanto, es de interés estudiar dicho efecto. En el presente trabajo fue examinado el efecto del acetato como fuente fácilmente oxidable en la eliminación de tolueno por desnitrificación. El análisis se realizó mediante variables de respuestas fisiológicas y por la cuantificación por PCR-tiempo real del gen catabólico del tolueno *bssA* (biomarcador) y el gen bacteria DNAr 16S.

**Metodología.** La experimentación se realizó en botellas serológicas de 60 ml y por duplicado. Como inóculo se usó un lodo desnitrificante estabilizado. Se realizaron 3 ensayos donde se adicionó 15 mg de carbono de tolueno (C-tol), 90 mg de carbono de acetato (C-ace) y en otro se analizó la mezcla 15 mg de C-tol + 90 mg C- ace. En cada ensayo se adicionó nitrato para reducir la materia orgánica presente. El medio mineral, condiciones experimentales, así como los métodos analíticos usados se basaron en los reportados por Peña-Calva y col. (1). Para el análisis molecular, se tomaron muestras al inicio y final de cada ensayo, se extrajo DNA y la cuantificación de los genes *bssA* y DNAr 16S se realizó por PCR-tiempo real de acuerdo a Beller (2).

**Resultados y discusión.** Cuando el lodo desnitrificante fue alimentado con 90 mg C-ace/l, la eficiencia de consumo de acetato (ECA) fue de 99%, mientras que la de nitrato (ECN) fue de 99%. Los rendimientos para carbono y nitrógeno fueron superiores a 0.9 (Tabla 1). Una tendencia similar fue observada en los ensayos con tolueno como única fuente de carbono o junto con 90 mg de C-ace, alcanzando eficiencias de consumo de tolueno de 99%, ECN de 99% y rendimientos mayores que 0.74. En la mezcla se encontró que primero se consumió el acetato y después de una fase de retardo el tolueno. La presencia de acetato afectó positivamente la velocidad específica de consumo de tolueno, ya que esta incrementó 45%, respecto a ensayos con sólo tolueno (Figura 1).

El análisis por PCR-tiempo real (Figura 2) indicó un incremento significativamente mayor del gen catabólico de tolueno *bssA* en ensayos con sólo tolueno respecto a sólo acetato, mientras que la concentración del gen DNAr 16S fue

Tabla 1. Eficiencias de consumo de carbono y nitrógeno y rendimientos de producto.

Tratamiento (mg C/l)	Eficiencias de consumo		Rendimientos		
	Carbono		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N <sub>2</sub>
	Acetato	Tolueno			
Acetato 90	99± 0.5	-	99±1	0.91± 0.02	0.9± 0.01
Tolueno 15	-	99 ±0.7	98±1	0.81± 0.03	0.9± 0.02
Tolueno15 + Acetato 90	98± 2.0	99± 1	99±1	0.74± 0.05	0.8± 0.01

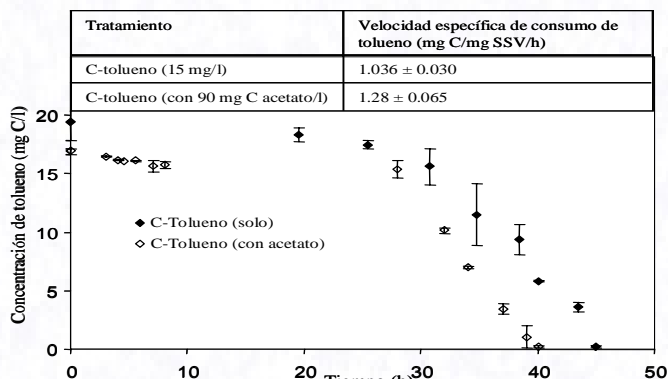


fig. 1. Velocidad específica de consumo de tolueno (solo o en presencia de acetato) bajo condiciones desnitrificantes.

mayor en ensayos con sólo acetato respecto a las alimentadas con sólo tolueno. Así, los resultados sugieren que el tolueno indujo el crecimiento de bacterias consumidoras de tolueno, mientras que el acetato promovió un mayor crecimiento de bacterias heterotróficas.

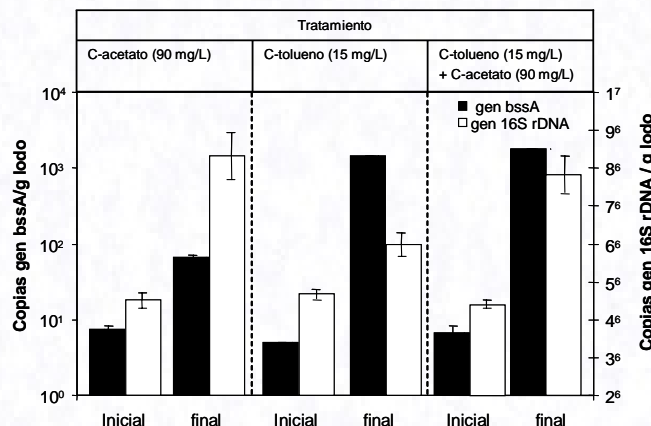


fig.2. Cuantificación por PCR-tiempo real del gen catabólico de tolueno *bssA* y el gen DNAr 16S de muestras de lodos desnitrificantes alimentado con tolueno o tolueno más acetato.

**Conclusiones.** Los resultados mostraron que en presencia de acetato la velocidad de consumo de tolueno incrementó 45%. El análisis por PCR-tiempo real mostró que el tolueno indujo predominantemente el crecimiento de bacterias consumidoras de dicho substrato. El acetato promovió un mayor crecimiento de bacterias que el tolueno, lo que contribuyó a una mayor velocidad de consumo de este hidrocarburo.

**Agradecimientos.** CONACyT 400200-5-35982-U

### Bibliografía.

- Peña-Calva, A., Olmos DA, Viniestra GG, Cuervo-López, FM. and Gómez, J. 2004. Denitrification in Presence of Benceno, Toluene and *m*-Xylene. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 119:195-208.
- Beller, H. R., S. R. Kane, T. C. Legler, and P. J. J. Alvarez. 2002. A real-time polymerase chain reaction method for monitoring anaerobic, hydrocarbon-degrading bacteria based on a catabolic gene. *Environ. Sci. Technol.* 36:3977-3984.