



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## ESTANDARIZACIÓN DE CONDICIONES DE CULTIVO SÓLIDO PARA *A. niger* USANDO DIFERENTES RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA LA DEGRADACIÓN DE PHE EN SUELOS CONTAMINADOS.

Magali Ruíz, Noé Sánchez, Ángel Absalón, Diana Cortés-Espinosa, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN, Tlaxcala C.P. 90700, [dcortes@ipn.mx](mailto:dcortes@ipn.mx).

*Palabras clave:* Biorremediación, fenantreno (Phe), *Aspergillus niger*

**Introducción.** Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) como el Phe, son encontrados como contaminantes que permanecen adheridos a las partículas de suelo<sup>[1]</sup>. El Phe tiene una estructura de 3 anillos fusionados y se utiliza como compuesto modelo para la degradación de PAHs por microorganismos. La biorremediación es una tecnología alternativa que se base en el uso de microorganismos para la recuperación de sitios contaminados con PAHs y ha tomado importancia por ser ambientalmente amigable. Los microorganismos utilizan a los PAHs como fuente de carbono, degradándolos hasta compuestos inocuos en el ambiente a través de sistemas enzimáticos. Los hongos de pudrición blanca producen enzimas tales como la lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa que mineralizan a los PAHs<sup>[2]</sup>. Sin embargo, se han descrito hongos sin actividad de peroxidasas tales como *Aspergillus niger* con capacidad de degradar Benzo[a]pireno<sup>[3]</sup>. Para acelerar los procesos de degradación, microorganismo exógenos son bioaumentados en el suelo, los cuales son crecidos previamente sobre residuos agroindustriales, que sirven también como texturizante en el sistema de biorremediación favoreciendo la transferencia de O<sub>2</sub> para el crecimiento microbiano<sup>[4]</sup>.

En este trabajo se estudió la estandarización de las condiciones de CS de una cepa de *A. niger* para la degradación de Phe en suelo.

**Metodología.** Se realizó cultivo sólido (CS) en frascos serológicos utilizando como diferentes residuos agroindustriales (rastrajo de maíz, bagazo de caña y paja de trigo). Se inocularon con 2x10<sup>7</sup> esporas/mL de *A. niger* con medio Cove 2X, se incubaron a 30°C por 48h, posteriormente se agregó el suelo contaminado con 600 ppm de Phe y se ajustó la humedad a diferentes porcentajes (60, 70 y 80%). Los viales se airearon cada 24 h y también se midió la producción de CO<sub>2</sub> en los diferentes tratamientos con una trampa de NaOH 1N como una forma indirecta de medir el crecimiento del hongo. Terminada la cinética se extrajo el Phe residual por microondas (método EPA 3546), y se cuantificó por HPLC.

**Resultados.** La cepa de *A. niger* muestra la mayor producción de CO<sub>2</sub> con 70% de humedad en los 3 residuos, siendo mayor en el residuo de maíz (tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de CO<sub>2</sub> acumulado producido por *A. niger* en cultivo sólido con suelo contaminado con 600 ppm de Phe.

Humedad (%)	CO <sub>2</sub> acumulado (%)		
	Maíz	Trigo	Caña
60	95.07	76.06	53.52
70	<b>97.18</b>	<b>94.37</b>	<b>79.58</b>
80	69.01	76.76	69.01

En el bagacillo de caña fue donde menos actividad metabólica se detectó, siendo en la humedad del 60% donde se obtuvo menor crecimiento de *A. niger*.

Se realizaron observaciones microscópicas en cada uno de los tratamientos para observar el crecimiento del hongo en los diferentes residuos.



**Fig. 1.** Crecimiento de *A. niger* en CS durante la cinética de degradación de Phe sobre diferentes residuos. A) caña B) maíz C) trigo.

La mayor actividad metabólica se confirma con las micrografías, ya que en el rastrajo de maíz se observó mayor formación de micelio de *A. niger*. Con la cuantificación del Phe residual se determinará cuál de los 3 residuos es el ideal para el crecimiento del inóculo para su bioaumentación en suelos contaminados para su biorremediación.

**Conclusiones.** El porcentaje de humedad en el CS y el tipo de material lignocelulósico utilizado tienen efecto sobre el crecimiento del hongo.

**Agradecimiento.** Al fondo SEP-CONACyT Ciencia Básica, proyecto CB-2008-01-105643. Al IPN por el apoyo brindado por el proyecto SIP 20110407.

### Bibliografía.

1. Boonchan, S., M. L. Britz, and G. A. Stanley. (2000). *Appl. Environ. Microbiol.* vol (66):1007–1019.
2. Field JA, de Jong ED, Costa GF. (1992). *Appl Environ Microbiol.* vol (58):2219–2226.
3. Wang X, Gong ZQ, Li PJ et al (2008). *Environ Eng Sci.* vol (25):677–684.
4. Lamar, R.T., Schoenike, B., Wymelenberg, A.V., Stewart, P., Dietrich, D.M, Cullen, D., (1995).. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol (61), 2122–2126.