

Tema: Biología
Presentación: Cartel

Análisis microscópico de la biodegradación de plumas de pollo impregnadas con petróleo por un consorcio hidrocarbonoclasta-queratinolítico

Elsa Cervantes-González^{1,3}, Luz I. Rojas-Avelizapa¹, Ramón Cruz-Camarillo¹, Norma G. Rojas-Avelizapa², Jaime García-Mena³.

¹Depto. de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Casco de Sto. Tomas, 11340. México, D.F.

²Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada - IPN. José Siurob 10, 76040 Querétaro, Qro.

³Depto. de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV Unidad Zacatenco, Av. IPN 2508, México D.F. 07360.

Tel.55 50613800 Ext.5328, Fax 50613392.

e-mail: jgmena@cinvestav.mx

Introducción

Las zonas contaminadas con hidrocarburos son muy variadas en cuanto a su localización y nivel de contaminación; algunas veces se encuentran en pantanos o zonas inundables, lo cual dificulta el acceso de maquinaria y equipo de limpieza. Lo anterior ha impulsado el uso de absorbentes en la remoción de hidrocarburos; sin embargo, la utilización de absorbentes sintéticos y el mal manejo al término de su uso han ocasionado una fuente adicional de contaminación, debido a que llegan a ser incinerados o únicamente confinados. Por esta razón, se ha visto la necesidad de impulsar el uso de absorbentes biodegradables y contar con procesos adecuados para su manejo. En este contexto, el uso de plumas de pollo (residuo queratinoso) como absorbente de hidrocarburos resulta un proceso adecuado para el tratamiento de estos sitios contaminados, siempre y cuando la degradación de las plumas se lleve a cabo de forma simultánea. Por tanto es de vital importancia contar con microorganismos con capacidad de utilizar petróleo como fuente de carbono (hidrocarbonoclastas) y con actividad enzimática de queratinasa (queratinolíticos).

Objetivo

El objetivo del presente trabajo fue mostrar mediante microscopía electrónica de barrido la degradación de la pluma de pollo durante el proceso de degradación simultánea de hidrocarburos del petróleo; así como observar las bacterias de un consorcio pre-seleccionado con las capacidades antes mencionadas (Cervantes, *et al.*, resultados no publicados) que se encuentran durante dicho proceso.

Metodología

La cinética de biodegradación de hidrocarburos conteniendo plumas de pollo se realizó en matraces Erlenmeyer de 500 mL conteniendo 125 mL de medio mineral, 6% w/v de plumas de pollo, 64, 800 mg/L de petróleo (equivalente al 40% de la capacidad de retención de la pluma de pollo) y el inóculo del consorcio hidrocarbonoclasta-queratinolítico, la agitación se llevó a cabo a 180 rpm a una temperatura de 28°C. El muestreo del proceso de degradación se realizó cada 7 días durante un total de 21 días, tiempo en el que se lleva a cabo la mayor degradación de los hidrocarburos y del residuo queratinoso. Cada una de las muestras fue procesada para el análisis por microscopía electrónica de barrido, para ello, las muestras se fijaron con glutaraldehído al 2.5% en medio mineral a pH 6.8 durante 1.5 horas a temperatura ambiente seguido de 1.5 h en refrigeración. Posteriormente se lavaron tres veces con medio mineral y se post-fijaron con tetraóxido de osmio al 2% en el mismo medio durante 1 hora a temperatura ambiente, transcurrido ese tiempo las muestras fueron lavadas tres veces con el mismo medio y posteriormente se llevó a cabo la deshidratación etanólica utilizando etanol a diferentes concentraciones de forma creciente. Se realizó un lavado con etanol al 60% durante 10 minutos, un lavado con etanol al 70% durante 10 minutos, un lavado con etanol al 80% durante 10 minutos, un lavado con etanol al 90% durante 10 minutos y finalmente tres lavados con etanol absoluto durante 15 minutos. Posteriormente se secaron las muestras a punto crítico utilizando un secador SAMDRI-780 A (Tousimis Research Corporation) y se sombrearon con oro, utilizando un evaporador de oro Desk II (Denton vacuum). Una vez preparadas las muestras éstas fueron observadas en el microscopio de electrónico de barrido - JSM 35C (JEOL LTD, Tokyo, Japan).

Resultados

Las micrografías correspondientes al tiempo inicial (cero días) muestran que las plumas se encuentran sin degradación alguna y las bacterias que conforman el consorcio sólo se encuentran en el sobrenadante, las cuales

proviene del inoculo adicionado; se resalta también que el consorcio esta constituido en su mayoría por bacilos y en menor proporción por cocos, observándose claramente la diversidad de tamaños en las bacterias que conforman el consorcio. Transcurridos siete días comienza a observarse la degradación de las plumas y algunas bacterias adheridas sobre las plumas, en su mayoría bacilos. A partir de 14 días de incubación es muy notable la invasión sobre la pluma así como la degradación de la misma.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados se puede concluir que la pluma de pollo adicionada como fuente de carbono adicional en el proceso de degradación de hidrocarburos fue degradada mayoritariamente a partir de los 7 días de incubación y sobre ella se adhirieron las bacterias que llevaron a cabo dicha degradación.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado parcialmente por el CINVESTAV Unidad Zacatenco y por el Programa de Institucional de Formación de investigadores (PIFI) de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Se agradece por su ayuda a la Q. F. B. Sirenia González Pozos. Unidad de Microscopia Electrónica CINVESTAV Unidad Zacatenco.

Lista de co-autores:

M. en C. Elsa Cervantes-González. Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. Carpio y Plan de Ayala S/N. Col. Casco de Santo Tomás, 11340. México, D.F. México. Tel/Fax (52) 55 53 41 23 43.

Departamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV Unidad Zacatenco, Av. IPN 2508, Col. San Pedro Zacatenco, 07360 México D.F. México. Tel. (52) 555061-3800 ext 5328. e-mail: elcege@hotmail.com

Dra. Luz I. Rojas-Avelizapa. Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. Carpio y Plan de Ayala S/N. Col. Casco de Santo Tomás, 11340. México, D.F. México. Tel/Fax (52) 555341-2343. e-mail: luziremx@yahoo.com

Dr. Ramon Cruz-Camarillo. Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. Carpio y Plan de Ayala S/N. Col. Casco de Santo Tomás, 11340. México, D.F. México. Tel/Fax (52) 555341-2343. e-mail: cruzcamarillo@hotmail.com

Dra. Norma G. Rojas-Avelizapa. Departamento de Investigación y Posgrado, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-IPN. José Siurob 10 Col Alameda, 76040. Santiago de Querétaro, Querétaro México. Tel. (52) 442212-4111 ext. 216. e-mail: nrojasa@ipn.mx

Dr. Jaime García-Mena. Departamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV Unidad Zacatenco, Av. IPN 2508, Col. San Pedro Zacatenco, 07360 México D.F. México. Tel. (52) 555061-3800 ext 5328. e-mail: jgmena@cinvestav.mx