

Decoloración del colorante azoicos usando cepas aisladas de sitio contaminados

J. Carlos Bautista-Bautista, J. David García-Mendoza, D. Citlalic Hernández-Guzmán, D. Erendira Uribe-Juárez, Fernando Santos-Escobar y J. Félix Gutiérrez-Corona*

Departamento de Biología de la DCNyE de la Universidad de Guanajuato; Guanajuato. Gto, México cabo185@hotmail.com.

* Autor de correspondencia: xilefegu@gmail.com 4737320006 ext 8148 c.p. 36050

Contaminación de agua, suelo y aire (Tratamiento Biológicos).

Palabras clave: colorantes, delectante, decoloración, cepas

Introducción. La industria curtidora y textil ha utilizado ampliamente colorantes azoicos (CA) durante el proceso de teñido. Se ha demostrado que los productos de degradación de los CA pueden ser carcinogénicos en humanos y mutagénicos en microorganismos. En la actualidad, las tecnologías físico-químicas convencionales que se utilizan para eliminar los CA no son rentables, debido a los costos elevados y a que pueden causar contaminación ambiental secundaria. Se ha reportado que microorganismos aislados de sitios contaminados tienen alta capacidad de remover contaminantes, debido a que poseen maquinarias eficientes para detoxificar diferentes compuestos, por lo que dichos organismos son de interés para el desarrollo de procesos biotecnológicos de remoción de contaminantes (Liu y col., 2017). Por todo esto, el objetivo de este proyecto es aislar bacterias de residuos industriales que contienen colorantes sintéticos y realizar su caracterización respecto de la capacidad de degradar colorantes azoicos tipo mono, di y tri azo. Chaves-Elias (2015) aisló varias cepas bacterianas que tienen capacidad de reducir Cr(VI) a Cr(III), observando una mejor reducción del ion cromato por la cepa AM13, que fue identificada como *Bacillus cereus sensu stricto*. Esta especie pertenece al grupo de *Bacillus cereus sensu lato*, descrita como patógena oportunista, debido a que produce varias enterotoxinas, cuya expresión es regulada por la proteína pleiotrópica PlcR.

Materiales y Métodos. A partir de una muestra de agua residual industrial proveniente de una tenería del municipio de León Gto., se aislaron y purificaron varias cepas bacterianas en Agar nutritivo; de estas, fueron seleccionadas aquellas cepas que crecieron y formaron halos de decoloración sobre placas de Agar nutritivo que contenían los colorantes azoicos Rojo de metilo (monoazoico), Black 2B (diazico) y Black 210 (triazico). Estas cepas se nombraron como MLO1 a MLO10. Posteriormente, se realizaron pruebas de decoloración en medio LB líquido, utilizando los mismos colorantes y cultivos a una D.O.600 de 0.5, agregando 200 ppm de Rojo de metilo, 50 ppm de Black 2B o 50 ppm de Black 210, midiendo la D.O.600 a los tiempos 0, 5 y 24 horas. El cálculo de la decoloración fue realizado de acuerdo a lo descrito por Leelakriangsak y col., 2012. Posteriormente, fueron seleccionadas las cepas bacterianas que presentaron mayor porcentaje de decoloración y estas fueron caracterizadas mediante métodos moleculares, bioquímicos y microbiológicos. Estas cepas también se compararon en su capacidad de resistencia al cromo hexavalente [Cr(VI)], otro contaminante ambiental utilizado en diferentes actividades industriales. En estos estudios, a efectos de comparación de la remoción de colorantes en medio complejo LB y de determinar el papel en la capacidad de decoloración de los compuestos del regulador transcripcional PlcR, se incluyó la cepa silvestre *Bacillus cereus* AM13 y su derivada deletada en el gen plcR (AM13ΔplcR) y se obtuvo la complementante en PlcR denominada FS04. Para la obtención de esta última cepa, se transformó la cepa AM13ΔplcR con la construcción pDGamyS::plcR::spcR y las transformantes fueron seleccionadas por su resistencia a Neomicina (35 µg/mL) y Espectinomicina (275 µg/mL). La complementación del gen plcR en las colonias transformantes fue comprobada utilizando

procedimientos bioquímicos (determinación de actividad de lecitinasa) y moleculares (PCR con oligonucleótidos iniciadores específicos)

Resultados. Se aislaron 10 cepas, de las cuales, se observó que las cepas MLO6 y MLO8 crecieron y formaron halos de decoloración en presencia de los 3 colorantes. Además, los ensayos en medio LB líquido, incluyendo a las cepas AM13, AM13ΔplcR y FS04, mostraron que todas las cepas analizadas son capaces de realizar la completa decoloración del rojo de metilo a las 5 h de incubación (figura 1A), sin observar ningún cambio significativo a las 24 h. Por otra parte, al mismo tiempo de incubación, se observó una mayor decoloración, entre el 60 y 80 %, de los compuestos azoicos, Black 2B y Black 210, con las cepas MLO8 y MLO6, y menos del 60 % con las cepas cepas AM13, AM13ΔplcR y FS04. La caracterización bioquímica y molecular de las cepas MLO6 y MLO8, sugieren fuertemente que dichas cepas pertenecen a la especie de *Bacillus cereus sensu stricto*, por lo que están relacionadas filogenéticamente con la cepa AM13. Además, las cepas MLO6 y MLO8, presentaron resistencia a Cr(VI), rasgo que también posee la cepa AM13 y sus derivadas AM13ΔplcR y FS04 (figura 1B)

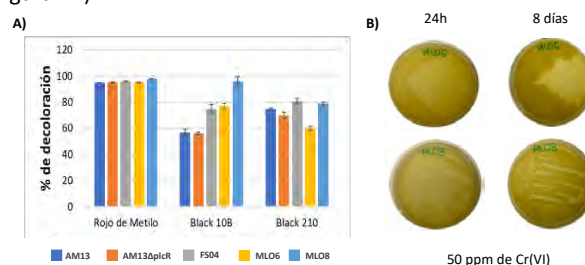


Figura 1. A) Porcentaje de decoloración de los colorantes Rojo de metilo, Black2B y Black 210. 1B) Crecimiento bacteriano en caja de LB en presencia de 50 ppm de Cr(VI).

Conclusiones. Se aislaron varias cepas a partir de una muestra de agua residual industrial de tenería y se demostró que las cepas MLO6 y MLO8 presentan mayor capacidad de decolorar compuestos sintéticos de tipo mono (rojo de metilo), di (Black 2B) y tri (Black 210) azoicos, las cuales, poseen el potencial biotecnológico para la eliminación de colorantes sintéticos empleados en la industria textil o curtidora.

Bibliografía.

- Chang, J. S. and Y. C. Lin, (2000) Fed-Batch Bioreactor Strategies for Microbial Decolorization of Azo Dye using a *Pseudomonas luteola* Strain, *Biotechnol. Prog.*, 16,979
- Chavez- Elias A.F (2015) Caracterización de cepas bacterianas nativas de residuos industriales con alto contenido de metales. Tesis de licenciatura. División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato. México
- Liu, W., Liu, C., Liu, L., You, Y., Jiang, J., Zhou, Z., Dong, Z (2017). Simultaneous decolorization of sulfonated azo dyes and reduction of hexavalent chromium under high salt condition by a newly isolated salt-tolerant strain *Bacillus circulans* BWL1061. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 141:9-16