

KLEBSIELLA OXYTOCA: EL FUTURO DE LA BIORREMEDIACIÓN KLEBSIELLA OXYTOCA: THE FUTURE OF BIORREMEDIATION

Alma Rubí Nava-Centeno¹, Alexander Ronquillo-González¹, Aremi Joselyn Cabrera-Ceja^{1*},
Darío Silva-Bautista¹, Karen Abigail Pérez-Cruz², Carlos Abisai García-González³

¹ Instituto Tecnológico Superior de Poza Rica, Ingeniería en Nanotecnología, Luis Donaldo Colosio s/n,
Ejido Arroyo del Maíz, Poza Rica, C.P. 93230, Veracruz, México.

² BRP Querétaro, Avenida Ferrocarril 202, Santa Rosa Jáuregui, C.P. 76220, Querétaro, México.

³ Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación,
Departamento de Morfología, Especialidad en Hematopatología, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n,
Santo Tomás, Alcaldía Miguel Hidalgo, C.P. 11340, Cd. de México, México

***Email: aremiceja@gmail.com**

ABSTRACT

Klebsiella oxytoca has been reported to cause some urinary infections, however, it has been reported to be a large industrial ethanol producer [1]. Bioremediation is not a new alternative for the degradation of hydrocarbons, since in other studies it has been investigated in depth as, for example, in the treatment of industrial effluents and biogas production [2]. Reviewing the previous studies, we have proposed an alternative bioremediation with this microorganism for its characteristics of origin (northern Veracruz); being able to reduce costs, time, energy, in a faster and safer way without causing harm to any living being or ecosystem [3]. The samples were taken from sludge at a depth no greater than 20cm from a zone contaminated by fats in the city of Tihuatlán in the state of Veracruz, which were deposited in jars and kept in refrigeration until they were processed. Two culture media containing: 8g/l of beef extract, 8g/l of NaCl, 120g/l of bacteriological gelatin, 5g/l of sucrose were used. In the degradability test different concentrations of crude oil were used. Positive quantitative results have been obtained in the rate of degradation of crude oil by means of this microorganism, resulting in the degradation of 80% of crude oil in a week, with a percentage of 5% of crude in the Petri box. Therefore, this represents a viable and innovative option to reduce contamination by crude oil in the north of the state of Veracruz, any area that its biotic and abiotic factors allow. For the identification of the microorganism, molecular tests were carried out and then purified by electrophoresis.

Key words: *bioremediation, contamination, hydrocarbons, Klebsiella oxytoca.*

RESUMEN

La *Klebsiella oxytoca* ha sido reportada como causante de algunas infecciones urinarias, sin embargo, se ha reportado que es una gran productora de etanol a nivel industrial [1]. La biorremediación no es una nueva alternativa para la degradación de hidrocarburos, ya que en otros estudios ha sido investigada a profundidad, por ejemplo, en el tratamiento de efluentes industriales y producción a biogás [2]. Revisando los estudios anteriores, hemos propuesto una alternativa de biorremediación con este microorganismo por sus características de origen (zona norte de Veracruz); siendo capaz de disminuir costos, tiempo, energía, de una manera más rápida y segura sin causarle daño a ningún ser vivo o ecosistema [3]. Las muestras fueron tomadas de lodos, a una profundidad no mayor a los 20 cm de una zona contaminada por grasas en la ciudad de Tihuatlán en el estado de Veracruz, las cuales se depositaron en frascos y fueron conservadas en refrigeración hasta que se procesaron. Se usaron dos medios de cultivo que contenían: 8g/l de extracto de carne de res, 8g/l de NaCl, 120g/l de gelatina bacteriológica, 5g/l de sacarosa. En la prueba de degradabilidad se usaron concentraciones diferentes de petróleo crudo. Se han obtenido resultados cuantitativos positivos en la tasa de degradación de petróleo crudo por medio de este microorganismo dando como resultado la degradación del 80% de crudo de petróleo en una semana teniendo un porcentaje de 5% de crudo en la caja Petri. Por lo tanto, esto representa una opción viable e innovadora para disminuir la contaminación por petróleo crudo en el norte del estado de Veracruz, o en cualquier zona que sus factores bióticos y abióticos lo permitan. Para la identificación del microorganismo se realizaron pruebas moleculares purificándose después por electroforesis.

Palabras clave: *biorremediación, contaminación, hidrocarburos, Klebsiella oxytoca.*

INTRODUCCIÓN

En el norte del estado de Veracruz existen sitios con diferentes niveles de contaminación por hidrocarburos. La exposición a hidrocarburos ocasiona un deterioro en el medio ambiente y salud humana por sus efectos tóxicos y cancerígenos. Al ser derramados estos contaminantes la mayoría de sus componentes alifáticos se pierden por volatilización, mientras que otros persisten en la superficie ocasionando daños en los ecosistemas y especies que lo habitan [3]. Por ello, se debe buscar soluciones apropiadas para las condiciones climatológicas de esta zona del estado de Veracruz. Petróleos Mexicanos (PEMEX) y el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP), han realizado búsquedas de soluciones efectivas en costo y beneficio para recuperar sitios contaminados especialmente en los estados de Veracruz, Tabasco, Chiapas y Campeche [4].

La biorremediación es una de las técnicas que ha sido propuesta para la descontaminación de desechos de hidrocarburos y remediación de zonas contaminadas, esto es debido a que está resultando la opción más prometedora y de muy bajo costo para darle fin a este tipo de estragos en los ecosistemas [3]. La

biorremediación es un proceso de descontaminación en el que intervienen reacciones bioquímicas por microorganismos inoculados en zonas contaminadas, convirtiendo sustancias tóxicas en menos tóxicas o no dañinas [3]. La selección de una tecnología biorremediadora está limitada por múltiples factores, como, por ejemplo, el tipo de microorganismo presentes en el medio, las condiciones del sitio contaminado (temperatura, oxígeno, energía, humedad, etc.), la concentración y la toxicidad de los contaminantes presentes [5]. Algunos microorganismos como las bacterias, tienen la capacidad de utilizar hidrocarburos como su fuente de carbono y son las mejores opciones para degradar una posible contaminación en el sitio donde habitan. La biodegradación natural por parte de bacterias nativas puede ser estimulada por el agregado de fertilizantes y oxígeno [6]. Por estas razones, en este proyecto se hizo una búsqueda de uno o varios microorganismos de la zona norte de Veracruz para su aplicación en la degradación de contaminantes de petróleo.

METABOLISMO DE *K. OXYTOCA* EN GLICEROL

Las bacterias del género *Klebsiella* están ampliamente distribuidos en la naturaleza, tanto en el suelo y agua, aunque son también parte de la regularidad de la flora del tracto intestinal de los seres humanos, la fermentación de glicerol por

experimentación fueron obtenidos de diferentes lugares tales como el "RANCHO EL FARO" localizado en una localidad del municipio de Tihuatlán, y en los municipios de Coatzintla y Poza Rica de Hidalgo.

Los resultados obtenidos en la prueba de degradabilidad mostraron que, solo en los medios de cultivo en los cuales se usaron inóculos provenientes de la muestra tomada en el "RANCHO EL FARO" se producían actividades bioquímicas degradativas, aun teniendo diferentes porcentajes de hidrocarburos, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Degradación del hidrocarburo a diferentes porcentajes.

Medio de cultivo	% de hidrocarburo	Degradación del hidrocarburo(%)
Agar nutritivo	5	100
Agar nutritivo	10	100
Agar nutritivo	15	100

Se logró saber que la bacteria degradaba el hidrocarburo debido a que en el medio de cultivo existía un cambio de coloración de oscuro a blanco, esto era la principal característica para saber si se había realizado un proceso biodegradativo que se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Las actividades degradativas de la bacteria producen la disminución del crudo cambiando la coloración del medio.



Figura 3. Klebsiella Oxytoca en el microscopio óptico a 100x.

Una vez que se ha demostrado que esta bacteria degrada el hidrocarburo se realizó la caracterización de este microorganismo (Figura 3). Esta caracterización fue realizada en el Instituto de biotecnología de la UNAM. Los resultados de la identificación fueron positivos tratándose, efectivamente, de la Klebsiella oxytoca. La K. oxytoca es una bacteria redonda Gram negativa y ha

demostrado promisoro producción industrial de combustible etanol.

CONCLUSIONES

El uso de la biorremediación con microorganismos nativos es una alternativa para reducir la contaminación por hidrocarburos y recuperar las zonas dañadas. La *Klebsiella oxytoca* representa una opción más de microorganismo para su uso en biorremediación, este microorganismo puede sobrevivir bajo condiciones de contaminación de 5%, 10% y 15% en la presencia de crudo.

Por lo tanto, los resultados que se obtuvieron arrojaron que representa una alternativa positiva para la biorremediación. Esta bacteria presenta grandes ventajas tanto en vías económicas y de producción, ya que no tiene grandes exigencias en la obtención y reproducción de esta.

REFERENCIAS

[1] Garzón B, José; Emos, Elkin; Rivas, Romelia, Prevalencia de betalactamasas de espectro, Editorial Chest, 2001.

[2] Ahumada Arias, Melba Patricia; Gómez Ibarra, Rayza Karla, Tesis, pp. 45-50, 2009.

[3] Riojas H, Torres L, Moncada I, Balderas J, Gortares P, Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, Revista Química Viva, Vol. (9). pp. 120-145, 2010.

[4] De Celis R., Feria-Velasco A., Efecto de la contaminación ambiental por hidrocarburos sobre la respuesta inmune, En Inmunidad y Ambiente, Zaitseva G., Orozco A., Peregrina J., Editores., Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara: Guadalajara, México, pp. 218, 2004.

[5] Agencia Imagen del Golfo, Rebollon, A., Millones de Lts de Crudo por Derrames en Veracruz, Mayo 19, 2016,
<http://Imagendelgolfo.Com.Mx/Resumen.Php?Id=4070282014>. Consultado: Feb 25, 2019.

[6] Crónica de Xalapa, Díaz, M., Abril 01, 2016, Veracruz Segundo Lugar de Derrames de Hidrocarburos. El Reflejo De Su Gente, Mayo, 2016, <http://Cronicadexalapa.Com/>. Consultado: Feb 25, 2019.

[7] MM Zhu, PD representante de la ley, DC Cameron, Mejorar la producción de 1,3-propanodiol a partir de glicerol en una ingeniería metabólicamente *Escherichia coli* mediante la reducción de la acumulación de sn glicerol-3-fosfato, *Biotechnol. Prog.* 18, pp. 694 – 699, 2002.

[8] F. Barbirato, JP Grivet, P. Soucaille, A. Bories, 3-hidroxi-propanaldehído, una metabolito inhibidor de la fermentación de glicerol a 1,3-propanodiol por las especies de enterobacterias, *Appl. Reinar. Microbiol.* 62 pp. 1448 – 1451, 1996.