



Universidad del Mar

Campus Puerto Escondido

“TITULO DE LA TESIS”

Aislamiento y Evaluación de un Consorcio Bacteriano de Cepas Nativas, Resistente a los metales pesados de las Pilas Alcalinas “AA”

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

Adolfo Calderón Zarza

DIRECTOR: M. en M. Mónica Marcela Galicia Jiménez

GRADO Y NOMBRE DEL DIRECTOR DE TESIS

PUERTO ESCONDIDO, OAXACA, OCTUBRE DEL 2011



UNIVERSIDAD DEL MAR

Puerto Escondido - Puerto Ángel - Huatulco

OAXACA

Puerto Escondido, Oaxaca, a 06 de septiembre del 2011

ASUNTO: Votos aprobatorios

Dr. José Luis Villarruel Ordaz
Jefe de la carrera de Biología
Universidad del Mar, campus Puerto Escondido

Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: **Aislamiento y evaluación de un consorcio bacteriano de cepas nativas, resistente a los metales pesados de las baterías alcalinas "AA"**, realizado por el pasante de Biología **Adolfo Calderón Zarza** con número de matrícula **03080004**, quién cubrió los créditos de la carrera de Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio

Atentamente

M. en M. Mónica Marcela Galicia Jiménez

M. en C. Ana Claudia Sánchez Espinosa

Dra. Margarita Bernabé Pineda

M. en C. Edgar Valencia Rojas

M. en C. Guadalupe Virginia Avilés Hernández

c.c.p M. en C. Gerardo E. Leyte Morales. Vice-rector Académico, Universidad del Mar
c.c.p. Ing. Ruth Cruz Rios. Jefa del Departamento de Servicios Escolares, Universidad del Mar

Ciudad Universitaria, Puerto Escondido, Oax.
01 (984) 58 83365

Ciudad Universitaria, Puerto Ángel, Oax.
01 (958) 58 43057 y Fax 01 (958) 58 43078

Ciudad Universitaria, Huatulco, Oax.
01 (958) 58 72559, 72560 y 72561

DEDICATORIA

A mis padres María del Carmen Zarza Sauco y Adolfo M. Calderón Martínez quienes me han otorgado siempre su apoyo incondicional. Gracias, este trabajo no se hubiera culminado sin ustedes. Los amo muchísimo.

A mis hermanos María del Carmen Calderón Zarza y Miguel Ángel Calderón Zarza. Gracias por estar conmigo siempre en las buenas y en las malas. Siempre estaré orgulloso de tenerlos junto a mí y ser mis amigos incondicionales.

A Regina, por las sonrisas que me regala. ¡Te adoro chamaca!

A Alicia, Marte, Luis Ángel, la Nena y Luis Roberto por ser parte de mi familia. Gracias su apoyo y cariño.

A Francine†. Por haber compartido conmigo esas largas charlas sobre la biología. ¡Gracias amiga!

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Mar, por haberme dado la oportunidad de culminar esta etapa tan importante de mi vida.

Al Dr Modesto Seara Vásquez por acercar la educación a los jóvenes del estado y del país, para que tengan la oportunidad de alcanzar sus objetivos personales y profesionales.

A la Maestra Mónica Galicia Jiménez por la dirección de este trabajo, paciencia y tiempo.

A la Dra. Margarita Bernabé Pineda por sus consejos y contribución para la realización de este documento.

A la Maestra Julieta Karina Cruz Vázquez y al Maestro Gerardo Leyte Morales por haberme tenido la confianza de trabajar en el laboratorio los fines de semana

A Perla. Gracias por todo el apoyo que me diste en los momentos difíciles. Siempre tendrás un lugar muy especial en mi corazón.

A Rebeca, Karina G., Karina R., Wendy, Margarita, Liz, Edgar y muchos más, que nunca me han dejado a pesar de la distancia y que siempre me echaron porras para culminar esta etapa de mi vida. ¡Gracias amigos!

A Luz, Javier, Nanda, Martha, por creer en mí.

Jenny, Miguel, Mario, Betty, Jamais, Mimi, Richard, Dax, David, Lucia, Susy Peña, por compartir ocho años de mi vida con ustedes.

Arturo, Jorge, Nicole, Deanna, Claudia, José Luis, Mariana, Vicka, Benja, Rox. Por compartir conmigo tantos momentos inolvidables y las enseñanzas que cada uno de ustedes me dejaron.

Miguel Reyes Chargoy, Ale, Nancy, Dany, Ale, Ana, Toño y Checo. Por todos los momentos que pasamos juntos.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES	7
2.1. Pilas.....	7
2.2. Clasificación de las pilas	7
2.3. Contenido de metales en las pilas comercializadas en México	8
2.4. METALES PESADOS	10
2.5. INTERACCIONES MICROORGANISMOS-METALES PESADOS	11
2.5.1. Transformaciones de metales pesados mediadas por microorganismos.....	12
2.6. CONSORCIOS BACTERIANOS	14
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. OBJETIVOS	17
5. HIPÓTESIS	18
6. MATERIAL Y MÉTODOS	19
6.1. Área de estudio.....	19
6.2. Aislamiento de las cepas bacterianas	19
6.3. Conservación de las cepas	20
6.4. Extracción y determinación de los metales pesados en las pilas alcalinas	21
6.5. Pruebas de resistencia bacteriana a los metales pesados	21
6.6. Identificación de las cepas bacterianas.....	22
6.7. Diseño de los sistemas experimentales	24
6.8. Determinación en el cambio de la concentración de los metales pesados en los sistemas experimentales	24
7. RESULTADOS Y DISCUSION	27
7.1. Metales pesados de las pilas alcalinas "AA".	27
7.2. Cepas resistentes a metales pesados de las pilas alcalinas "AA".	29
7.3. Cepas bacterianas identificadas	30
7.4. Cambio de la concentración de los metales pesados por el consorcio bacteriano	33
8. CONCLUSIONES.....	48
9. BIBLIOGRAFÍA	49
10. ANEXO	57

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las pilas de acuerdo a su capacidad de re-úso	8
Tabla 2. Metales pesados y componentes de las pilas comercializadas en el mercado formal en México y el porcentaje que cada uno representa	9
Tabla 3. Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de las cepas bacteriana	23
Tabla 4. Metales encontrados en el cátodo y ánodo de las Pilas Alcalinas "AA", así como sus valores de absorbencia	28
Tabla 5. Resultados de las pruebas de resistencia bacteriana a los metales pesados de las pilas alcalinas "AA".	58
Tabla 6. Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Bacillus</i>	59
Tabla 7. Se presentan los resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia</i> y <i>Serratia</i>	60
Tabla 8. Se presentan los resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Marinococcus</i> y <i>Deinococcus</i>	60
Tabla 9. Se muestran los valores de los potenciales para ambos iones a pH de trabajo de 5	38
Tabla 10. Se indican los valores de los potenciales obtenidos para los tres sistemas experimentales para ambos iones a pH de trabajo de 5	39
Tabla 11. Se muestran los valores de intensidad registrados para los picos de las especies de iones analizadas durante la voltamperometría cíclica	44
Tabla 12. Se indica la presencia de manganeso y zinc en la biomasa del sistema experimental 0.25%, así como el estado físico en que se encontraba al momento de realizar el análisis del XPS	45
Tabla 13. Se indica la presencia de manganeso y zinc en la biomasa del sistema experimental 1.25%, así como el estado físico en que se encontraba al momento de realizar el análisis del XPS	45
Tabla 14. Se indica la presencia de manganeso y zinc en la biomasa del sistema experimental 5.00%, así como el estado físico en que se encontraba al momento de realizar el análisis del XPS	45

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de una pila alcalina "AA" (Duracell, 2010)	7
Figura 2. Se muestra la ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales domésticas "El Hiikaro"	19
Figura 3. Se muestra la tinción de Gram realizada a las 31 cepas. En a y b se observan bacterias positivas en forma de bacilos, las esporas se distinguen dentro de los microorganismos. En c se observan bacilos negativos y d se distinguen cocos positivos	30
Figura 4. Voltamperograma cíclico del electrolito realizado a un intervalo de potencial de trabajo de -1800 a 1800 mV, empleando un electrodo de pasta de carbono correspondiente al Electrolito HCl:HNO ₃ , a una velocidad de escaneo de 100 mV/s	35
Figura 5. Voltamperograma cíclico correspondiente a la solución de manganeso, realizado a un intervalo de potencial de trabajo de -1800 a 1800 mV, empleando un electrodo de pasta de carbono de la solución de manganeso 1M, pH 5; a una velocidad de escaneo de 100 mV/s	36
Figura 6. Voltamperograma cíclico correspondiente a la solución de zinc, realizado a un intervalo de potencial de trabajo de -1800 a 1800 mV, empleando un electrodo de pasta de carbono de la solución de zinc 1M, pH 5; a una velocidad de escaneo de 100 mV/s	37
Figura 7. Voltamperograma cíclico realizado en un potencial de trabajo de -1800 a 1800 mV, empleando un electrodo de pasta de carbono y pH 5, correspondiente al sistema 0.25%, a una velocidad de escaneo de 100 mV/s	41
Figura 8. Voltamperograma cíclico realizado en un potencial de trabajo de -1800 a 1800 mV, empleando un electrodo de pasta de carbono y pH 5, correspondiente al sistema 0.25%, a una velocidad de escaneo de 100 mV/s	42
Figura 9. Voltamperograma cíclico realizado en un potencial de trabajo de -1800 a 1800 mV, empleando un electrodo de pasta de carbono y pH 5, correspondiente al sistema 0.25%, a una velocidad de escaneo de 100 mV/s	43
Figura 10. Se observan estructuras circulares de distinto tamaño y color en los sistemas experimentales. Su formación tal vez se deba a la interacción bacteria-metal que promueve la producción de biopolímeros que retienen o inmovilizan los metales	47
Figura 11. El zinc se encuentra presente durante las primeras 120 hrs del experimento, mientras el manganeso no aparece registrado en el análisis. Sin embargo, el análisis a las 240 muestra lo contrario, la concentración es suficiente para ser registrada en el espectro y el zinc ha desaparecido, lo cual indica que la interacción con las bacterias fue mayor durante la mitad del experimento	61

- Figura 12. Las figuras 6a y 6b, indican la presencia de ambos metales en ambas. El zinc aumenta su concentración conforme pasan las horas, por el contrario la concentración del manganeso es mayor en la primera muestra y va disminuyendo. Ambos metales no son detectados durante el último análisis 62
- Figura 13. El análisis de las tres muestras de este sistema experimental, muestra la presencia de ambos metales durante el tiempo que duró el estudio. Se observa un aumento en la concentración de ambos metales en la biomasa sedimentada. 63
- Figura 14. Se muestra el trazo de la voltamperometría cíclica correspondiente a una celda de tres electrodos (trabajo, referencia y conteo). El triángulo de t0 a t2 muestra el comportamiento del potencial delantero. En la segunda parte de la gráfica de t2 a t4, se presenta el potencial inverso. Ambos pueden representar picos de oxidación o reducción de acuerdo a la dirección inicial del potencial, ya sea catódico o anódico 64
- Figura 15. Se muestra un voltamperograma cíclico. El pico Epc representa una señal de oxidación y Epa una de reducción, nótese que ambos picos son complementarios y tiene la misma forma 65
- Figura 16. Se muestra una celda con tres electrodos, el de trabajo, el de referencia y el de conteo 66
- Figura 17. Espectrofotómetro Fotelectrónico de Rayos X o XPS 67