



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE XILENOS CON *Phlebiopsis flavidoalba*

REPORTE FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL QUE PRESENTA:

Bryan Sait de León Reyes

Como requisito para acreditar la Residencia Profesional de la Licenciatura
en:

INGENIERIA QUÍMICA

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
Diciembre de 2021



Carretera Panamericana Km.1080, C.P. 29050,
Apartado Postal 599, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.
Tel. (961) 615 0461, 615 0138, 615 4808, ext. 303
correo: dep_tgutierrez@tecnm.mx
tuxtla.tecnm.mx





Agradecimientos

A mis padres Emigdio de León Tercero y Linda Connie Reyes Chávez por siempre haberme apoyado en mis decisiones y por siempre haber estado para mí.

A mis abuelos por siempre brindarme su amor y apoyo incondicional, sin ellos esto no hubiera sido posible.

A mis hermanos por ser las mejores personas que la vida pudo darme.

A mis amigos por compartir los mejores momentos a su lado.

A mis tíos por apoyarme y aconsejarme en el transcurso de mi formación universitaria.

Al Ing. Samuel Enciso Sáenz y a la Ing. Lina Dafne Sánchez Corzo por haberme brindado su apoyo en la elaboración de este reporte.

Resumen

El objetivo de este trabajo es medir la capacidad de remoción de xilenos con la cepa *Phlebiopsis Flavidoalba* TecNM-ITTG L20-19, debido al impacto negativo que este posee sobre el ambiente y la salud humana. Algunas como producir irritación de la piel, los ojos, la nariz y la garganta; dificultad para respirar; alteración de la función pulmonar; retardo de la reacción a estímulos visuales; alteraciones de la memoria; malestar estomacal; y posiblemente alteraciones del hígado y los riñones. Por lo que se espera que con esto se logre aplicar para la disminución de xilenos en el aire.





ÍNDICE

Introducción	4
Descripción de la empresa.....	5
Problemas a resolver	6
Objetivos	6
Justificación.....	7
Hipótesis alternativa.....	8
Hipótesis nula.....	8
Marco teórico	8
Procedimiento.....	11
Resultados	13
Conclusiones	14
Fuentes de información	14





Introducción

Uno de los grandes peligros para la salud y el medio ambiente es la contaminación del aire. El uso de hidrocarburos genera productos tóxicos en el aire como el Benceno, Tolueno y Xileno (BTX), estos contaminantes tienen efectos tóxicos y cancerígenos en el ser humano.

Lina Dafne Sánchez Corzo, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología del TecNM campus Tuxtla Gutiérrez, logró la identificación de 18 nuevas cepas de hongos lignocelulolíticos, mediante los cuales buscará analizar su capacidad de remover moléculas contaminantes del aire.

Durante el proceso de recolección de los especímenes para el análisis se obtuvieron muestras de ADN de 20 hongos recolectados en el estado de Chiapas, para extraer la secuencia del genoma se contó con el apoyo del laboratorio MacroGen (Seúl, Korea) y de GenBank (Maryland, E.U.), lográndose la identificación de 18 cepas, de las cuales el 89% son nuevos registros de cepas correspondientes para el estado de Chiapas, de acuerdo con el catálogo de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).

De las 18 cepas obtenidas, la cepa seleccionada para realizar los estudios de remoción de BTX ha sido la cepa "*P. Flavidoalba* TecNM-ITTG L20-19", por cumplir con todos los criterios de selección.

Aunado a ello, las cepas recolectadas en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, representan un patrimonio para el Instituto, conformando un ecosistema a ser protegido dentro de la institución.





El proyecto busca evaluar la posibilidad de crecimiento en los hongos por consumo de los hidrocarburos aromáticos.

Descripción de la empresa

El Tecnológico Nacional de México campus Tuxtla Gutiérrez, es una universidad pública con el objetivo de brindar una educación basada en la “ciencia y tecnología con sentido humano.” Esta universidad se fundó en 1971, por iniciativa estatal para contrarrestar la falta de instituciones de educación superior en Chiapas. y forma parte de la red nacional de 126 Tecnológicos federales de México. Cuenta con un campus y 3 extensiones académicas en el que se ofrecen 9 ingenierías y 3 posgrados del que anualmente egresan un aproximado de 640 alumnos de nivel licenciatura y en promedio 10 alumnos de posgrado, que contribuyen al campo industrial y empresarial con sus conocimientos adquiridos en el campo científico y tecnológico.

Valores

- El Ser Humano
- El Espíritu de Servicio
- El Liderazgo
- El Trabajo en Equipo
- La Calidad
- El Alto Desempeño
- Respeto al Medio Ambiente





Misión

Formar de manera integral profesionistas de excelencia en el campo de la ciencia y la tecnología con actitud emprendedora, respeto al medio ambiente y apego a los valores éticos.

Visión

Ser una Institución de Excelencia en la Educación Superior Tecnológica del Sureste, comprometida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región.

Ubicación: Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050, Apartado Postal: 599 Teléfono: (961)61 5 04 61, (961)61 501 38, (961) 61 5 48 08

Problemas a resolver

Uno de los grandes peligros para la salud y el medio ambiente es la contaminación del aire. El uso de hidrocarburos genera productos tóxicos en el aire como el Benceno, Tolueno y Xileno (BTX), algunos de estos contaminantes tienen efectos tóxicos o cancerígenos en el ser humano. Para ello se probará la capacidad que tenga la cepa *Phlebiopsis flavidoalba* para disminuir las concentraciones de Xileno en el aire. Esto con el objetivo de medir la capacidad de remoción de xilenos.

Objetivos

Objetivo general





- Evaluar la remoción de los hidrocarburos aromáticos (BTX) en el crecimiento de *Phlebiopsis flavidoalba* con soporte en medio líquido.

Objetivos específicos

- Medir la disminución de xilenos diaria.
- Determinar el porcentaje de remoción de xilenos.
- Determinar la velocidad de crecimiento de *Phlebiopsis flavidoalba* con soporte en medio líquido con xilenos.

Justificación

Grifoll et al., (1995) expone que:

Los hidrocarburos aromáticos volátiles: benceno, tolueno, etilbenceno e isómeros del xileno, comúnmente conocidos como BTX, se liberan a la atmósfera, aguas y suelos como productos de procesos químicos e industriales, constituyendo una gran fracción de la mezcla de residuos orgánicos que contaminan el ambiente.

Buscando una solución a ello, Lina Dafne Sánchez Corzo, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología del TecNM campus Tuxtla Gutiérrez, pretende evaluar la capacidad de los hongos lignocelulolíticos para remover moléculas complejas similares a los BTX, para lo cual realizó la identificación de cepas aisladas de hongos colectados en el estado de Chiapas, para remover contaminantes del aire usando un enfoque ecológico y eficaz.

Con el objetivo de evaluar la capacidad de remoción de BTX a través de hongos se logró la identificación de 18 nuevas cepas de hongos lignocelulolíticos, mediante los cuales buscará analizar su capacidad de remover moléculas contaminantes del aire.





Hipótesis alternativa

La cepa *Phlebiopsis Flavidoalba* no degradará los xilenos.

Hipótesis nula

La cepa *Phlebiopsis Flavidoalba* degradará los xilenos debido a las células lignocelulolíticas que esta posee.

Marco teórico

Los hongos tienen características de plantas, bacterias, y animales, pero forman su reino aparte más cercano a los animales que a las plantas; dentro de los ecosistemas terrestres, básicamente son tres los roles ecológicos de los hongos: descomposición, simbiosis mutualista, y parasitismo.

La descomposición de diferentes formas de materia orgánica (madera, animales muertos, hojarasca, entre otros), es uno de los roles más importantes de los hongos, dado que mediante este proceso se da un reciclaje de nutrientes en el ecosistema, algunos provenientes de sustratos de difícil degradación, como la madera. Las hifas de los hongos están adaptadas para absorber eficientemente los nutrientes del entorno, debido a que tienen una gran relación superficie-volumen.

Según M. Hofrichter, K. Schneibner, I. Schneegab, W. Fritzsche, *Enzymatic* (1998) explican que:

Los microorganismos que utilizan estos compuestos aromáticos como fuente de carbono, emplean unas rutas bioquímicas llamadas vías altas o periféricas que se





basan en modificar los diferentes anillos aromáticos en protocatechuate y catechol. Es decir, la gran variedad de compuestos aromáticos que se pueden encontrar, son convertidos a esas dos moléculas. A partir de estas dos moléculas en las que convergen todos los compuestos, ya se puede llevar a cabo el rompimiento del anillo mediante enzimas específicas. El sistema ligninolítico consta de tres grupos enzimáticos principales con lignina peroxidasa, peroxidasa dependiente de manganeso, fenoloxidasas (lacasas, tirosinasas) y enzimas productoras de H₂O₂. Experimentos con enzimas purificadas demostraron que las enzimas ligninolíticas pueden degradar los hidrocarburos aromáticos (p.p 309-404).

B.R.M. Vyas, S. Bakowski, V. Sasek, M. Matucha, dicen que “se ha observado que las enzimas ligninolíticas realizan una oxidación de radicales de un electrón, produciendo radicales catiónicos a partir de contaminantes seguidos de la aparición de quinonas” (p.p 65-70). “Un estudio determinó la degradación de los hidrocarburos policíclicos aromáticos por trece cepas fúngicas lignocelulósicas, y descubrió que el grado de degradación varía según qué enzimas ligninolíticas se usen” (Ortega-Clemente et al., (2009), citado por T.J. Cutright, (1995) (p.p 397-408).

Las enzimas implicadas en la degradación de los HAP son la oxigenasa, la deshidrogenasa y las enzimas ligninolíticas. Las enzimas ligninolíticas fúngicas son lignina peroxidasa, lacasa y manganeso peroxidasa. Son extracelulares y catalizan la formación de radicales por oxidación para desestabilizar enlaces en una molécula. La biodegradación de HAP se ha observado en condiciones aeróbicas y anaeróbicas y la tasa se puede mejorar mediante pretratamiento físico-químico de suelos contaminados.





“La degradación microbiana por hongos lignocelulósicos se ha estudiado intensamente durante los últimos años y debido a la estructura irregular de la lignina” (T. Cajthaml, V. Pacakova, V. Sasek. (2001) p. 404). Haritash y Kaushik, 2009 mencionan que: “estos hongos producen enzimas extracelulares con muy baja especificidad que sirven para la degradación de otros compuestos xenobióticos”.

Recientemente, se han estudiado los hongos del suelo con respecto a su capacidad para degradar los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y producen enzimas ligninolíticas en condiciones microaeróbicas y con muy poco oxígeno [32]. HAP de bajo peso molecular (2-3 anillos) fueron degradados más extensamente por *Aspergillus sp.*, *Trichocladium canadense* y *Fusarium oxysporum*. Para los HAP de alto peso molecular (4 a 7 anillos), la degradación máxima ha sido observado por *T. canadense*, *Aspergillus sp.*, *Verticillium sp.*, y *Achremonium sp.* Tales estudios han encontrado que los hongos tienen una gran capacidad para degradar una amplia gama de HAP en condiciones de bajo contenido de oxígeno.

Según B.W. Bogan, R.T. Lamar. (1995) “las enzimas que intervienen en la degradación de los HAP son la oxigenasa, deshidrogenasa y enzimas lignolíticas. Enzimas lignolíticas fúngicas son lignina peroxidasa, lacasa y manganeso peroxidasa. Son extracelular y catalizan la formación de radicales por oxidación para desestabilizar enlaces en una molécula” (p.p 2631–2635). Lacasa y dependiente de Mn peroxidasa están presentes abundantemente en el compost de hongos usado (SMC), mientras que se informa que la producción de ligninasa es baja y la adición de SMC mejora la tasa de degradación de PAH.





Procedimiento

Metodología

- INOCULACIÓN EN CAMPANA DE FLUJO
- MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE XILENOS CON AYUDA DEL CROMATÓGRAFO
- MEDICIÓN DE MASA DE LAS CEPAS

Descripción

- Se realizó una inoculación de distintas muestras incluyendo el hongo *Phlebiopsis flavidoalba* en cajas de Petri con la debida desinfección, esto para evitar cualquier tipo de contaminación. El corte de la muestra se realiza en el micelio del hongo. Esta se dejará crecer para añadirla a los matraces que se monitorearán.
- Se realizó una medición de la masa de los contenedores con sus respectivos, esto para la futura medición de la masa de las cepas. Se aplicó con la técnica de la NMX-AA-034-SCFI-2015 para la correcta obtención en este caso, del peso constante, posteriormente se aislaron en una bolsa.
- Se prepara el medio en el que se mantendrán las muestras, este para su prolongación es líquido y está formado por una solución amortiguadora de fosfatos, una solución de sales minerales, fuente de nitrógeno y una fuente de carbono, que en este caso será el xileno a una concentración de 250mg/L. Todos los matraces estarán cerrados herméticamente para evitar fugas de vapor de xilenos.
- Serán 23 días de cinética, por lo que se realiza la inoculación de *Phlebiopsis flavidoalba* en los matraces ya con su medio líquido, esferas de vidrio como soporte y 5 gotas de antibacteriano.



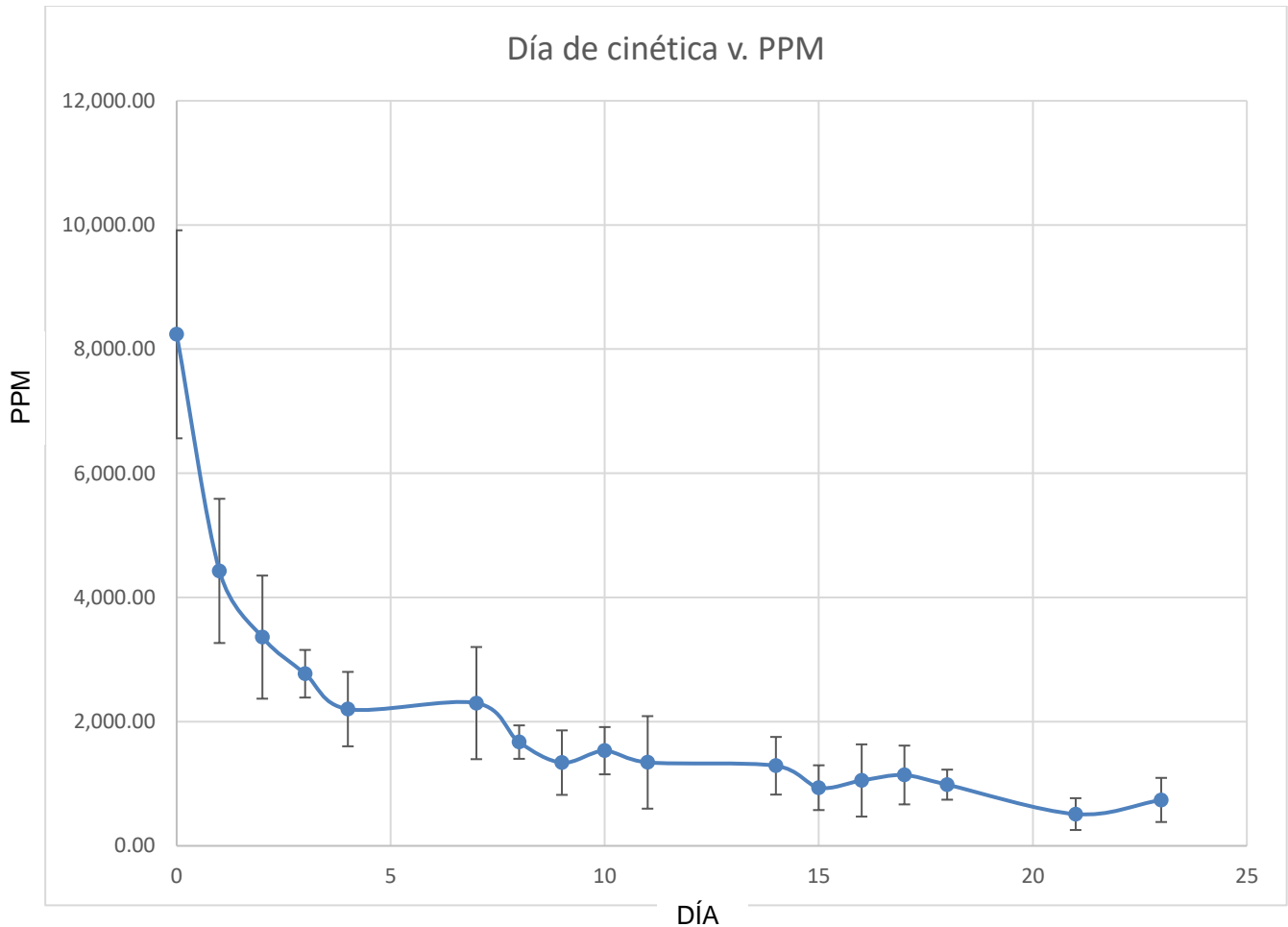


- Se realizan las mediciones de concentración en el espacio de cabeza del matraz por triplicado, en un cromatógrafo de gases con detector FID, con la columna Agilent DB-VRX con nitrógeno como gas de arrastre. Se miden periódicamente de manera aleatoria.
- Cada que un matraz pasa por su debida medición en cromatógrafo pasa a su filtración para la obtención de su masa con la técnica de la NMX-AA-034-SCFI-2015, tomando en cuenta que la temperatura en horno no sobrepase los 70°C debido al contenido de la muestra en las cajas.
- Debido a que el contenido de xileno en el espacio de cabeza es de interés, se requirió hacer pruebas con sustancias estándares, esto aporta a la facilidad de reconocimiento de las sustancias que se reconocen desde un principio, así como la identificación de posibles nuevos compuestos.





Resultados



En la gráfica de concentración con respecto al tiempo podemos ver que efectivamente se presenta una disminución en la concentración de xilenos en ppm dentro de los 23 días de cinética medidos diariamente.



Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050,
Apartado Postal 599, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.
Tel. (961) 615 0461, 615 0138, 615 4808, ext. 303
correo: dep_tgutierrez@tecnm.mx
tuxtla.tecnm.mx





Conclusiones

- La concentración de xilenos disminuyó respecto al tiempo medido diariamente.
- Phlebiopsis flavidoalba fue capaz de remover hasta 91% de xilenos en 23 días de cinética.
- La remoción de xilenos no fue completa dentro de los 23 días de cinética.

Fuentes de información

Arenghi, F. L., Pinti, M., Galli, E., & Barbieri, P. (1999). Identification of the *Pseudomonas stutzeri* OX1 toluene-o-xylene monooxygenase regulatory gene (*touR*) and of its cognate promoter. *Applied and environmental microbiology*, 65(9), 4057–4063. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.4057-4063.1999>

B.R.M. Vyas, S. Bakowski, V. Sasek, M. Matucha, Degradation of anthracene by selected white rot fungi, *FEMS Microbiol. Ecol.* 14 (1994) 65–70

B.W. Bogan, R.T. Lamar, One-electron oxidation in the degradation of creosote polycyclic aromatic hydrocarbons by *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (1995) 2631–2635.

David S. Hage (2018). 1 - Chromatography, Principles and Applications of Clinical Mass Spectrometry, Elsevier, Pages 1-32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816063-3.00001-3>

Enciclopedia de Ejemplos (2019). "Células Procariontas y Eucariotas". Recuperado de: <https://www.ejemplos.co/10-ejemplos-de-celulas-procariontas-y-eucariotas/>

Enciclopedia de Ejemplos (2019). "Simbiosis". Recuperado de: <https://www.ejemplos.co/15-ejemplos-de-simbiosis/>





Haritash, A. K., & Kaushik, C. P. (2009). *Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review*. *Journal of hazardous materials*, 169(1-3), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>

Lagunes-Fortiz, E., & Zavaleta-Mejía, E.. (2016). *Función de la lignina en la interacción planta-nematodos endoparásitos sedentarios*. *Revista mexicana de fitopatología*, 34(1), 43-63. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1506-7>

Marín, C. (2018). *Fundamental concepts in ecology of soil fungi: a pedagogic and outreach proposal*. *Bol. Micol.*, 33(1), 32–56. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2018.33.1.1168>

Mariana Gelambi. (6 de octubre de 2018). *Hongos filamentosos: estructuras, ciclo de vida y nutrición*. *Lifeder*. Recuperado de <https://www.lifeder.com/hongos-filamentosos-estructuras-ciclo-de-vida-y-nutricion/>

M. Hofrichter, K. Schneibner, I. Schneegab, W. Fritzche, *Enzymatic combustion of aromatic and aliphatic compounds by manganese peroxidase from Nematoloma frowardii*, *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (1998) 399–404.

T. Cajthaml, V. Pacakova, V. Sasek, *Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons*, *Chem. Listy.* 95 (2001) 404.

T.J. Cutright, *Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation and kinetics using Cunninghamella echinulata var. elegans*, *Int. Biodet. Biodeg.* 35 (4) (1995) 397–408.

