

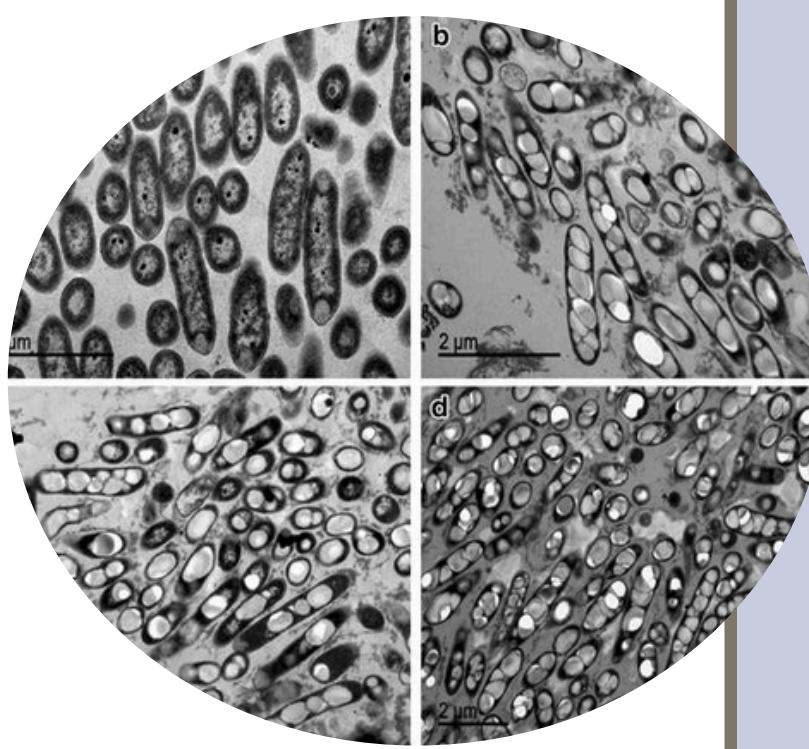
ANÁLISIS DE CULTIVOS BACTERIANOS CON FINES AMBIENTALES

Alumnado: Anabel López, Azahara Titos, Carmen Pérez y Elisa Cantero.
Profesorado UCO: Lara P. Sáez, Gema Rodríguez, Noelia Dorado y Diego Becerra
Coordinadora: Carmen Gutierrez



INTRODUCCIÓN

En este proyecto trabajamos con la bacteria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, que fue aislada por el grupo de investigación BIO-117 de la UCO, de los lodos del río Guadalquivir contaminados por cianuro. La secuencia de su genoma reveló un gran potencial biotecnológico, y para aprovechar al máximo tal potencial es imprescindible conocer su metabolismo, crecimiento y composición genética. Esta investigación se centra en conocer su crecimiento.



OBJETIVOS

Estudiamos el crecimiento del cultivo de la bacteria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, aplicando diversas técnicas:

- 1.- Turbidimetría
- 2.- Método Nessler



1 - TURBIDIMETRÍA

FUNDAMENTO

Con este método medimos la turbidez del cultivo, y para ello medimos la absorbancia a 600nm a lo largo del tiempo, ya que cuanto mayor es el crecimiento bacteriano, mayor es la turbidez y por tanto será la absorbancia.

PROCEDIMIENTO

- 1º.- En un cultivo bacteriano en medio líquido, añadimos cierta cantidad de una disolución de NH_4Cl 5 mM.
- 2º.- Tomamos 0,5 mL de muestra y medimos cada 20 min la absorbancia mediante el espectrofotómetro a 600 nm (A_{600}) para valorar el grado de turbidez.
- 3º.- Con los datos obtenidos se realiza una gráfica t-Abs.

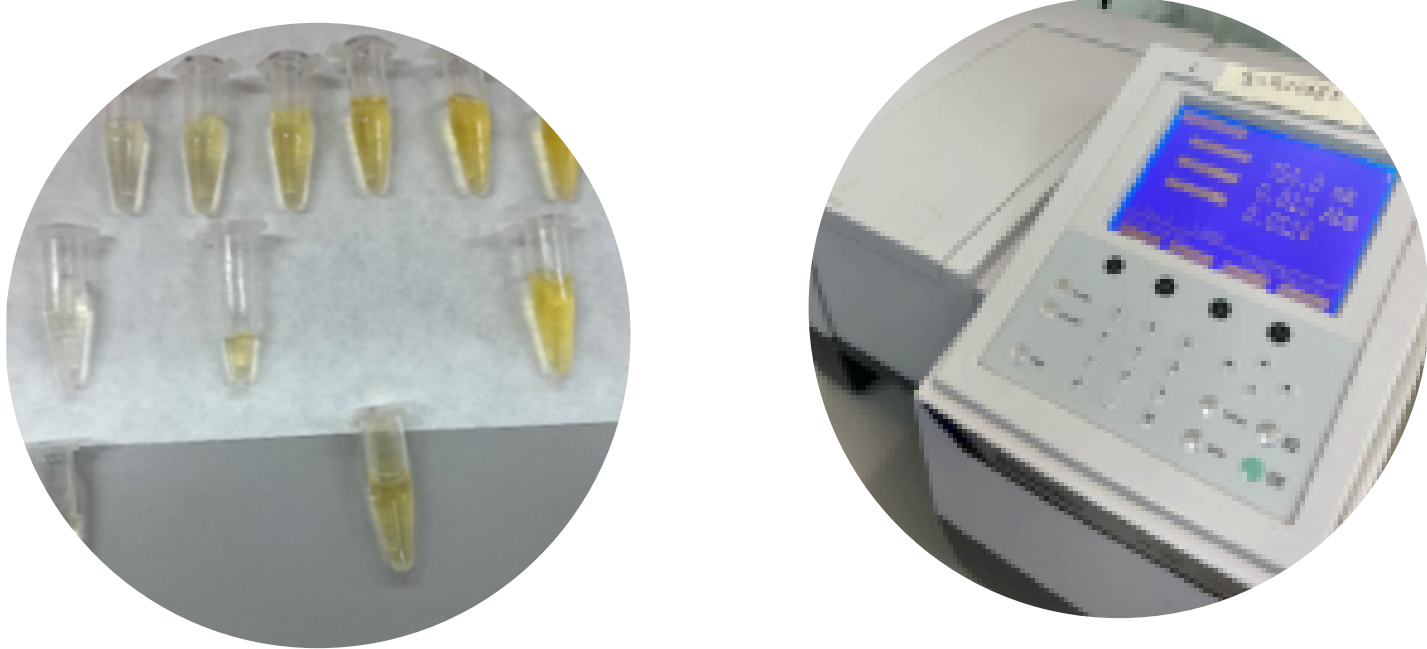
2 - MÉTODO NESSLER

FUNDAMENTO

Con el método Nessler podemos conocer como avanza el crecimiento de un cultivo ya que conforme el cultivo crece consume amonio, y con este método medimos la cantidad de amonio residual que queda en el cultivo. Este método se basa en la reacción coloreada (amarillo/marrón) que adquiere el reactivo de Nessler cuando se combina con el amonio. Se mide la absorbancia en un espectrofotómetro.

PROCEDIMIENTO

- 1º.- Realizar la recta patrón que relaciona la concentración de amonio (eje x) con la absorbancia (eje y).
- 2º.- Añadir reactivo de Nessler a la muestra de cultivo bacteriano.
- 3º.- Medir en el espectrofotómetro la intensidad de color (absorbancia a 410 nm) del cultivo a diferentes tiempos.
- 4º.- Obtener la gráfica correspondiente tiempo-absorbancia.
- 5º.- Por interpolación, usando la recta de calibrado anterior, obtenemos la concentración de amonio que hay en el cultivo.
- 6º.- Observamos los resultados y gráficas obtenidas y sacamos conclusiones.



RESULTADOS Y CONCLUSIONES

