

Aislamiento y estudio de una cepa bacteriana productora de polímeros biodegradables del tipo polihidroxialcanoatos (PHAs)

Enrique Martínez^a, Carlos Saavedra^a, Katiushka Arévalo^a, Verónica Almaguer^a, Guadalupe Rojas^a y Elizabeth Alemán^{a*}.

^aInstituto de Biotecnología, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n. Ciudad Universitaria. C.P. 66455. San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

**maria.alemanhr@uanl.edu.mx*

Palabras clave: Polihidroxialcanoatos, *Bacillus*, PCR, FTIR, RMN.

Introducción

Los Polihidroxialcanoatos (PHAs) son polímeros acumulados por diversas bacterias en forma de gránulos intracelulares, estos se generan por un comportamiento de almacenaje ante un estrés ambiental. Se pueden encontrar diversos tipos de PHA dependiendo de su estructura química y tamaño de cadena¹. Los PHA tienen diversas aplicaciones tanto en el área médica, industrial y agrícola². La producción de los PHA, a nivel industrial, es más costosa que la de los plásticos de origen sintético. Por lo anterior, una de las estrategias consiste en aislar nuevas cepas productoras de PHA que empleen diversas fuentes de carbono³. El objetivo del presente trabajo fue aislar una cepa productora de Polihidroxialcanoatos y determinar mediante análisis químico la naturaleza del biopolímero.

Parte experimental

De una muestra de suelo de Ciudad Universitaria, N. L. México, se aislaron colonias típicas del género *Bacillus*. Se extrajo ADN genómico del aislado y se realizó la técnica de PCR para la detección del gen *phaC*. Se resembraron las colonias en agar nutritivo con un exceso de fuente de carbono (glucosa al 0.5 %) y se incubaron a 30° C durante 48, 96 y 168 hrs. Se realizaron tinciones con azul de Nilo y se observaron bajo microscopía de fluorescencia. Posteriormente se desarrollaron cinéticas de crecimiento en caldo nutritivo con glucosa al 0.5 % y extracciones del polímero empleando solventes orgánicos. Los extractos obtenidos se analizaron bajo Espectrometría Infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR) y resonancia magnética nuclear (RMN).

Resultados y Discusión

De la muestra de suelo se aislaron bacilos Gram positivos que forman colonias color crema, planas, con superficie opaca y con bordes irregulares. Se detectó la presencia del gen *phaC* distinguiéndose un fragmento de 270 pb. Se considera que en *Bacillus* este gen produce la PHA

sintasa de clase IV, la cual genera Polihidroxialcanoatos de cadena corta⁴. Las colonias resembradas en agar nutritivo con 0.5 % de glucosa, presentaron mayor fluorescencia a las 48 horas, esto representa una mayor formación del gránulo intracelular de PHA a ese tiempo de vida del microorganismo². Las posteriores cinéticas de crecimiento presentaron mayor generación de biomasa (1.6 g/L) a las 96 hrs contrastando con los rendimientos obtenidos del 42.89 % a esa misma hora. El análisis por FTIR del extracto obtenido presentaron una banda de absorción cercano a los 1730 cm⁻¹ y varias bandas entre las longitudes de onda 1000 y 1450 cm⁻¹, estas características significan los enlaces éster carbonilo presente en extractos de naturaleza PHA⁵. Mientras que los análisis con RMN mostraron que el extracto es de tipo Polihidroxibutirato (PHB), el cual es el tipo de Polihidroxialcanoato más común en microorganismos del género *Bacillus*⁵.

Conclusiones

Se aisló una cepa con características del género *Bacillus* a partir de una muestra de suelo de jardín de Cd. Universitaria en el estado de Nuevo León, México. Las observaciones bajo microscopía de fluorescencia mostraron que la mayor granulación se muestra a un tiempo de incubación de 48 hrs y el mayor porcentaje de rendimiento de PHA se muestra a las 96 hrs durante la fase estacionaria del crecimiento celular de la cepa aislada. Los análisis químicos de FTIR demostraron que el extracto es de naturaleza PHA y la RMN indicó características propias de los PHB (PHAs de cadena corta).

Referencias

1. Tohyama, A.; Patarinska, T.; Shimizuke, K. *Bioch Engineering* **2002**, *9*, 1-17.
2. Verlinder, R.; Hill, D.; Kenward, M.; Radecka, I. *J Microbiol* **2007**, *102*, 1437-1449.
3. Pallos, F.; Robertson, G.; Pavlath, A.; Orts, W. J. *J of Food Chem* **2006**, *54*, 349-352.
4. Mizuno, K.; Ohta, A.; Hyakutake, M.; Tsuge, T. *J of Bacteriol* **2010**, *95*, 1335-1339.
5. Labuzek, S.; Radecka, I. *J Appl Microbiol* **2001**, *90*, 353-357.