

Oxidación Microbiana del Glicerol por Microorganismos Termotolerantes Aislados de Noreste de México

Leonel I. Blanco^a, Edgar A. Blanco^{a*}, Rubén Rodríguez^a.

^aUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Universidad s/n, San Nicolás de las Garza, N.L., México, C.P. 66451. Laboratorio de Biotecnología.

*allan_blanco@yahoo.com.mx

Introducción

Un incremento en la producción mundial del biodiesel dio como resultado un aumento considerable en la cantidad de subproductos derivados de este proceso (1), tal es el caso del glicerol, el cual puede ser transformado a compuestos de mayor valor agregado mediante procesos químicos y biológicos (2). Actualmente se necesitan microorganismos con capacidad oxidar de manera eficiente una amplia gama de sustratos mediante numerosas enzimas deshidrogenasas y oxidoreductasas de manera dirigida hacia los grupos hidroxilos secundarios del glicerol para la obtención de dihidroxiacetona (DHA) como compuesto principal (3).

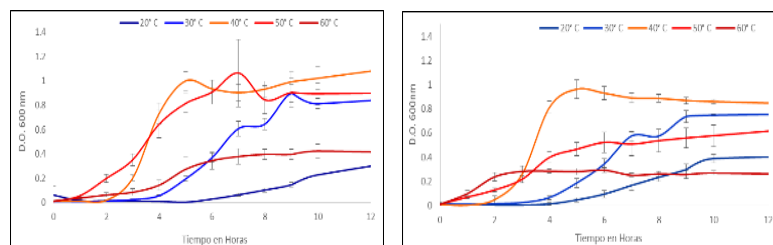
Parte Experimental

Se aislaron dos cepas a partir de muestras de aguas termales de Espinazo, en el municipio de Mina N.L. Estas cepas se aislaron de acuerdo a su capacidad de resistir altas temperaturas. Además, se realizó su identificación molecular por la comparación de la fracción 16 S del rDNA y se determinó la temperatura óptima de crecimiento de ambas cepas. Se realizó la precipitación con etanol absoluto por 16 horas del producto de fermentación con glicerol. Posteriormente se llevó a cabo la aplicación del método Brady con el reactivo 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNFH) para determinar la presencia de un producto cetónico derivado del glicerol (4). De esta reacción se obtiene un derivado denominado piruvaldehído-bis-2,4-dinitrofenilhidrazona que reacciona con las cetonas presentes en el sobrenadante. Para la confirmación del compuesto cetónico, se realizó un análisis por FT-IR del producto precipitado y comparación con un estándar de DHA. Para la cuantificación de la cetona producto de la oxidación del glicerol contenida en el sobrenadante después de 72 horas de fermentación se utilizó el método modificado de cuantificación por espectrofotometría ultravioleta-visible con un reactivo cromogénico (RCG) compuesto de 0.6g de difenilamina, 54ml de ácido acético y 0.6 ml de ácido sulfúrico el cual determina la presencia de la DHA (5).

Resultados y Discusión

Después del aislamiento, se identificó que ambas cepas pertenecen al género *Bacillus licheniformis* y se determinó mediante las cinéticas que la temperatura óptima de crecimiento fue de 60°C para ambas cepas y fueron identificadas como: ESP 01 A y ESP 01 F. La identificación química de un compuesto cetónico de bajo peso molecular se determinó por la formación de un precipitado naranja en suspensión al añadir el reactivo de Brady en las muestras de fermentación. Este precipitado color naranja, solo se obtuvo en las muestras de fermentación donde se encontraban presentes el microorganismo termotolerante y el

glicerol simultáneamente. Posteriormente se confirmó la presencia de la DHA por FT-IR al observar la aparición de un pico localizado en el rango entre 1600 y 1720 representando el grupo C=O, que hace referencia a la presencia un compuesto



cetónico (6). La máxima producción de DHA por el microorganismo se obtuvo a las 60 horas de fermentación.

Figura 2. Curvas de crecimiento de las cepas ESP 01 A Y ESP 01 F a diferentes temperaturas.

Conclusiones

Las bacterias aisladas mostraron capacidad de oxidar el glicerol en DHA a temperaturas de 50°C. Con el análisis molecular del 16S rDNA, estas cepas fueron identificadas como bacterias del género *Bacillus licheniformis*. La identificación realizada mediante espectrofotometría infrarroja permitió mostrar la presencia de la DHA presente en las muestras resultado de la bioconversión de los microorganismos termotolerantes aislados de aguas termales. Por lo que con los métodos de cuantificación por espectrofotometría ultravioleta-visible y el reactivo cromogénico fue posible determinar la producción de la DHA mostrando valores de un 52 % de bioconversión a las 60 horas de fermentación. Este es el primer reporte de un microorganismo con estas características que tenga la capacidad de oxidar el glicerol para producir DHA.

Referencias

- (1) Habe, H., Shimada, Y., Yakushi, T., Hattori, H., Ano, Y., Fukuoka, T., Sakaki, K., Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(24), 7760–7766.
- (2) Habe, H., Fukuoka, T., Kitamoto, D., & Sakaki, K., Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 81(6), 1033–1039.
- (3) Demirjian, D. C., Morís-Varas, F., & Cassidy, C. S., Current Opinion in Chemical Biology, 2001, 5(2), 144–151.
- (4) Words, K. (1995). High-Performance Liquid Chromatography of dihydroxyacetone as its bis-2,4-dinitrophenylhydrazone Derivative, 61–65.
- (5) Chen, J., Chen, J., & Zhou, C., Journal of Chromatographic Science, 2008, 46(10), 912–916.
- (6) Yaylayan, V., Harty-Majors, S., & A. Ismail, A., Carbohydrate Research, 1999, 318(1-4), 20–25.