

Desarrollo de un medio de cultivo para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) por *Brevibacterium halotolerans*

A.C. Romero-Torres, B.L. López-González, J.S. Ledezma-Guzmán, J.M. Herrera-Aquino, M.T. Garza-González, J.F. Villarreal-Chiu.

Universidad Autónoma de Nuevo León, UANL, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Universidad s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León. CP 66451, México

Palabras clave: PHA, *B. halotolerans*, suero de leche.

Introducción

Hoy en día los polímeros son los materiales más utilizados por sus diversas aplicaciones, por lo tanto, se espera el incremento de su producción en los próximos años para cumplir la demanda de la población. Lo anterior tiene un grave impacto ambiental puesto que éstos materiales tienen un largo tiempo de degradación y actualmente se están buscando otras alternativas para sustituirlos. El desarrollo de biomateriales como los plásticos biodegradables, reducen los daños ambientales que producen los plásticos producidos a partir de fuentes fósiles. Entre los biomateriales existentes actualmente se encuentran los polihidroxialcanoatos (PHAs), los cuales son completamente producidos y degradados por microorganismos. El presente proyecto permitió implementar las condiciones para que la bacteria *Brevibacterium halotolerans* pudiera producir este bioplástico de manera eficiente y económica.

Parte experimental

Ensayos previos han demostrado la capacidad de *B. halotolerans* para producir PHA. En este proyecto se buscó el medio óptimo para el crecimiento y la producción del bioplástico. El medio seleccionado fue Luria-Bertani (LB) y suero de leche debido a su composición nutrimental y bajo costo.

Se llevó a cabo la lectura de densidad óptica a 620 nm, a distintas absorbancias (0.05 y 1 DO) y temperaturas (28°C y 37°C) para realizar la cinética de crecimiento. Se realizó en medio LB para observar la evolución del crecimiento de la bacteria y simultáneamente se realizó una tinción de rojo Nilo (selectiva para la identificación de PHA) para observar la producción del bioplástico en microscopio de fluorescencia; posteriormente se aplicó la misma metodología en el suero de leche dulce.

Resultados y discusión

Después de haber observado por 48 h que la bacteria en medio LB no alcanzaba la DO de 1 se optó por cambiar el medio de cultivo, seleccionando el medio DSMZ 92 (triptocaseína de soya con extracto de levadura)¹, ya que en 48 h obtuvo una DO de 1. A causa de problemas técnicos en el laboratorio se pudo identificar que la temperatura óptima para el desarrollo de *B. halotolerans* oscila entre los 30 - 34°C¹. En cuanto a la producción de PHA, por micrografías de fluorescencia, se apreció una producción muy limitada del mismo en un lapso de aproximadamente ocho días como se observa en la Figura 1. Dichos resultados se deben a que la concentración de sales y el pH presentes en el medio no son suficientes para crear un estrés

osmótico necesario para que el microorganismo comience a almacenar el bioplástico como fuente de carbono y energía.

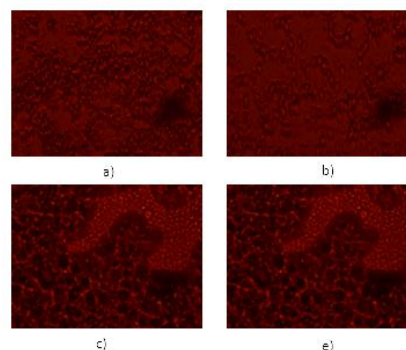


Figura 1. Producción de PHA en suero de leche dulce. a) Micrografía de fluorescencia 0 h DO 1 b) Micrografía de fluorescencia 0 h DO 0.05 c) Micrografía de fluorescencia 192 h DO 1 d) Micrografía de fluorescencia 192 h DO 0.05

Así mismo se midió el pH del suero y se obtuvo una lectura que oscila entre 5-6 lo cual puede ser un factor para que otros microorganismos se desarrollen ya que por medio de micrografías se observó la presencia de microorganismos diferentes a *B. halotolerans*.

Conclusiones

- La temperatura óptima de crecimiento de *B. halotolerans* es de 30° C con agitación a 150 rpm.
- El medio DSMZ 92 demostró tener las condiciones adecuadas para el crecimiento del microorganismo.
- El suero dulce requiere aproximadamente 192 horas para producir PHA.
- El pH del suero dulce favorece el crecimiento de otros microorganismos con los que *B. halotolerans* tiene que competir.
- Se sugiere el empleo de suero de leche ácido como medio selectivo, por sus características fisicoquímicas, para el crecimiento de *B. halotolerans* y producción de PHA

Referencias

1. The Bacterial Diversity Metadatabase. *Brevibacterium halotolerans* Delaporte and Sasson 1967 <http://bacdiv.dsmz.de/index.php?search=Brevibacterium%20halotolerans> (consultado el 20 de julio de 2016).
2. Bosco, F., Chiampo F. Production of polyhydroxyalcanoates (PHAs) using milk whey and dairy wastewater activated sludge. Production of bioplastics using dairy products. *J. Biosci. Bioeng.* 2010, 109, 418 – 421.