

Bacterias productoras de polímeros biodegradables

Autores: Esper Reyes, Ahlem; Mendoza Vidal, Abril y Soria Osuna, Martha

Asesores: Dr. Daniel Segura y Dr. Edmundo Calva.

Institución que representan: Centro Universitario Anglo Mexicano de Morelos, S. C.

Introducción:

La palabra plástico se refiere a ciertos tipos de materiales sintéticos obtenidos a partir de derivados del petróleo. Al incorporarse el plástico a la vida cotidiana, una parte considerable comenzó a acumularse en el ambiente, precisamente por la resistencia de los plásticos a la degradación por microorganismos (biodegradación). En México, el consumo anual de plásticos por habitante en 2005 se estimaba en 49 kilogramos.

La degradación de los plásticos sintéticos es muy lenta, puede tardar 500 años. Además, en buena medida la “degradación” de estos plásticos simplemente genera partículas de plástico más pequeñas que, a pesar de ya no ser evidentes, se acumulan en los ecosistemas.

Por este motivo se ha buscado generar plásticos degradables de tal forma que puedan producirse plásticos que presenten las mismas propiedades pero que tengan un periodo de degradación más corto.

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son polímeros naturales producidos por bacterias. Las bacterias que los producen los utilizan como reserva de nutrientes. Son biodegradables, tienen propiedades físicas semejantes a las de los plásticos derivados del petróleo y son producidos a partir de recursos renovables.

¿Quiénes producen PHA y cómo?

Más de 300 bacterias son capaces de producir PHA. Estas bacterias los producen a partir de sustratos orgánicos y los acumulan en grandes cantidades dentro de la célula bacteriana en forma de gránulos.

Las bacterias productoras los usan como material de reserva que puede ser utilizado posteriormente, bajo condiciones de limitación de nutrientes, para mantener su metabolismo.

Biodegradación de PHA.

Los plásticos naturales, debido a que son producidos por seres vivos mediante reacciones enzimáticas, también son susceptibles de degradación por sistemas biológicos y así como han evolucionado organismos capaces de producirlos, también lo han hecho organismos con capacidad para aprovecharlos degradándolos para obtener energía y nutrientes.

Los PHA son completamente degradables, produciendo en este proceso agua y bióxido de carbono (se puede producir metano bajo ciertas condiciones), sin dejar residuos indeseables.

El polímero es degradado usando primero una enzima llamada depolimerasa, que lo rompe liberando los monómeros (hidroxialcanoatos), que son moléculas que las bacterias pueden asimilar en su metabolismo.

Así como son abundantes en la naturaleza, los organismos capaces de producir PHA, también lo son aquellos capaces de degradarlos. Los grupos de organismos con representantes capaces de “comer” PHA son las bacterias (Gram positivas, Gram negativas, actinobacterias) y los hongos. Estos comedores de PHA pueden obtener energía y nutrientes al degradarlos.

Para esto, utilizan una enzima depolimerasa similar a la que tienen las bacterias que producen PHA, sólo que la degradación del polímero se da fuera de la célula. Así, estos

microorganismos pueden utilizar los PHA que las bacterias productoras liberan al morir, o los que provengan de desechos de artículos producidos con bioplásticos.

Desventajas de los PHA

Aunque los PHA ya están siendo producidos industrialmente, uno de los problemas para el desarrollo de los polímeros biodegradables naturales como sustitutos de los plásticos convencionales, es que los plásticos derivados del petróleo son muy baratos, lo que hace que los procesos de producción de plásticos biodegradables no sean competitivos desde un punto de vista meramente económico.

Actualmente, son varias las industrias que producen estos plásticos utilizando bacterias modificadas genéticamente. Esto habla de que los PHA ya son productos comercialmente viables y eventualmente alcanzarán un uso más amplio.

Es del interés del actual proyecto identificar bacterias productoras de PHA a partir de desechos orgánicos.

Objetivo: Obtener polímeros producidos por bacterias en desechos orgánicos y tierra de caña.

Planteamiento del problema: ¿Encontraremos cepas mexicanas que produzcan una gran cantidad de polímero (PHA)?

Hipótesis: Si las bacterias productoras de este polímero son fáciles de encontrar en el suelo, entonces, las encontraremos en los desechos orgánicos y tierra.

Metodología:

- 1 Se tomaron cuatro muestras de tierra.
- 2 De cada muestra se tomaron 0.5 gr. y se suspendieron en 10 ml de sulfato de magnesio ($Mg\ So_4$) que es una solución isotónica.
- 3 Se prepararon dos litros de agar nutritivo el cual fue colocado después en cajas de Petri.
- 4 De cada disolución se hicieron dos cajas de agar.
- 5 Se pusieron a incubar durante toda una noche a $30^{\circ}C$.
- 6 De las colonias que se obtuvieron se aislaron cada una en agar nutritivo.
- 7 Se enriqueció el medio de cultivo de las bacterias y éstas se sembraron en cajas de Petri con hidrolizado de bagazo de caña.
- 8 De todas las colonias que obtuvimos las pusimos en sudán negro para ver cuales se teñían.
- 9 Se observarán al microscopio las bacterias que lograron producir el polímero.

Para obtener las bacterias se tomaron 2 muestras diferentes de tierra de caña y una de composta orgánica, de donde se ocuparon 0.5 gr. de cada una. Cada muestra fue suspendida en 10 ml de sulfato de magnesio ($Mg\ So_4$) que es una solución isotónica.

De cada muestra se hicieron 3 diluciones hasta la 10^{-10} . Se hicieron dos litros de agar nutritivo el cual se puso después en cajas de Petri. De cada disolución se hicieron dos cajas de agar en las que se sembraron 50 microlitros de cada dilución.

En total se obtuvieron 4 cajas de Petri.

Se dispersó la disolución sobre toda la superficie del agar con perlas de cristal. Se pusieron a incubar durante toda una noche a $30^{\circ}C$. Al día siguiente se pusieron a refrigerar para que no siguieran creciendo y mantenerlas vivas.

Después ya con varias colonias crecidas en las cajas Petri, se tomaron de cada una de las cajas, muestras de cada una de las colonias para aislarlas y hacerlas crecer para tener

una colección de bacterias. De las dos muestras de caña de azúcar se obtuvieron 100 colonias de bacterias. Y de la muestra de composta se obtuvieron 30.

Las bacterias se crecerán en hidrolizado de bagazo de caña, de donde obtendrán los nutrientes necesarios para alimentarse y crecer. Se observarán al microscopio las bacterias que hayan logrado crecer en el hidrolizado y se identificarán las productoras de PHA. Para identificarlo se utilizará el reactivo Sudán 5, el cual teñirá a los polímeros.

Este proyecto tiene como propósito proponer una solución alternativa al problema del costo elevado para cultivar bacterias. La caña es uno de los productos industriales más comunes en Morelos y esto puede contribuir a lograr bajar el costo de producción de estos polímeros.

Resultados:

- 9 De cada muestra se obtuvieron 100 colonias de bacterias.
- 10 Las bacterias que fueron crecidas en hidrolizado de bagazo de caña, tuvieron un mayor crecimiento en comparación con el agar nutritivo.
- 11 De las colonias teñidas con sudán negro, obtuvimos tres colonias candidatas de ser productoras de este polímero.

Los resultados obtenidos hasta la fecha consisten en 4 cajas Petri con varias colonias de bacterias que aún no han sido identificadas, dos cajas Petri con el resembrado de las mismas colonias de la tierra de caña en donde se encuentran 200 colonias en total y una caja con 30 colonias aisladas de la tierra de composta. Éstas serán utilizadas más adelante para su estudio en el hidrolizado e identificaremos con un colorante específico llamado Sudán negro B o Sudán 5 las productoras de PHA.

Conclusiones:

Serán establecidas una vez que se termine la fase experimental.

Bibliografía:

SEGURA, ESPÍN, NOGUEZ, *Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables*, Biotecnología V14, México 2007.