



## CELULASAS DE *BACILLUS* AISLADAS DEL COMPOSTAJE DE RESIDUOS DE CAFÉ

Hermila Yadira Siu-Rodas, María de los Angeles Calixto-Romo. El Colegio de la Frontera Sur. Biotecnología Ambiental. Tapachula, Chiapas, 30700. hsiu@ecosur.edu.mx

*Palabras clave: celulasas, bacterias, residuos de café.*

**Introducción.** La aplicación de celulasas en la industria alimentaria, papelería y textil, está contribuyendo de manera efectiva, tanto que cada día aumenta su demanda en el mercado (1). Además, un nuevo campo del uso de estas enzimas es en la producción de bioenergéticos a partir de residuos lignocelulósicos (2), este reto conlleva a la búsqueda de celulasas más robustas y eficientes en la hidrólisis de sustratos más complejos tales como los residuos agroindustriales. En la región del Soconusco, Chiapas dada la alta producción de café son generados grandes cantidades de residuos tales como la pulpa y el cascabillo. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue la búsqueda de celulasas bacterianas en el compostaje de residuos de café.

**Metodología.** Se tomaron muestras de pilas de compostaje de residuos de café donde se encontraron altas temperaturas (57 - 61°C) y pH de 5.50 - 9.36, posteriormente se aislaron bacterias celulolíticas y se seleccionaron las cepas que presentaron mayor actividad enzimática, determinada mediante la técnica de azúcares reductores (DNS) (3), así como por su capacidad de formar halos de hidrólisis en medios de cultivo con carboximetilcelulosa (CMC) (4). Las bacterias fueron identificadas por la región 16s rDNA. Los extractos proteicos se analizaron en geles SDS-PAGE al 12% y CMC 0.1%, teñidos con azul de Coomassie y por zimogramas teñidos con rojo congo al 0.5%. La actividad de los extractos crudos enzimáticos se determinó empleando como sustrato CMC y celulosa cristalina (CC) a pH de 4.8, 5.8, 7.4 y 9.5 a 37 y 60°C durante 30 min.

**Resultados.** Se aislaron 24 cepas bacterianas en medios de cultivo Mandels con CC y CMC, ocho presentaron actividad enzimática celulolítica, y tres de estas ocho presentaron halos de hidrólisis (cepas N, M y AI2) con diámetros de 18, 15 y 20 mm, respectivamente. Según la región 16s rDNA, AI2 presentó un 99% de identidad con *Bacillus sp*, M 100% con *Bacillus subtilis* y N el 98% con *Bacillus tequilensis*. En la figura 1 se muestra el perfil de proteínas producidas por las tres cepas, así como el zimograma después de la incubación con el buffer de citratos pH 4.8 a 25°C donde se observaron un mínimo de tres bandas con actividad celulolítica para cada cepa. Por otra parte, en la figura 2 se observa que la mayor actividad enzimática (500U/mL) la presentó la cepa AI2 en el sustrato CMC a 60°C y pH de 7.4. Los extractos proteicos de las tres cepas presentaron actividad con CC, sin embargo, fue menor a la obtenida con CMC.

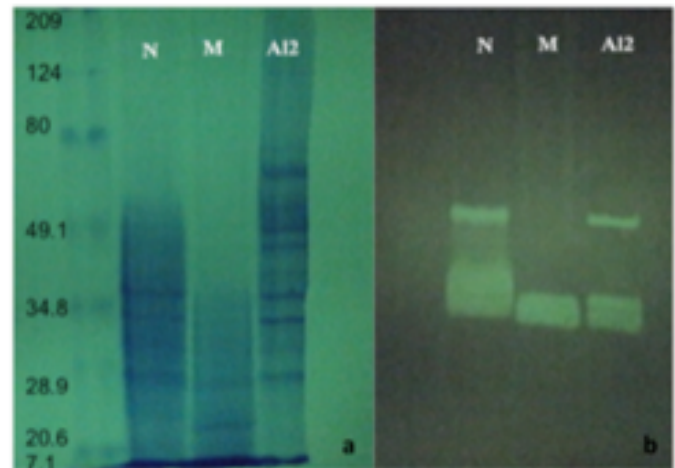


Fig. 1. Perfil proteínico de las cepas N, M y AI2. a) SDS-PAGE teñido con azul de Coomassie, b) zimograma con CMC al 0.1% teñido con rojo congo al 0.5%.

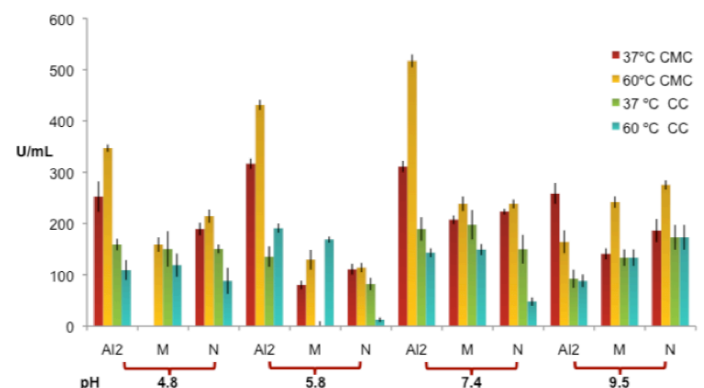


Fig. 2. Actividad enzimática (U/mL) de los extractos proteicos de las cepas AI2, M y N.

**Conclusiones.** Los extractos proteicos de las tres cepas identificadas como *Bacillus* tuvieron mayor actividad enzimática con el sustrato CMC por lo que podrían ser endocelulasas.

**Agradecimientos.** Al CONACyT por la beca doctoral otorgada a HYSR. Y al financiamiento del proyecto CB2012/180501 otorgado por el fondo Ciencia Básica SEP/CONACyT, dirigido por MACR mcalixto@ecosur.mx.

### Bibliografía.

- 1 Bhat, M.K. (2000). *Biotechnology Advances* 18 (2000) 355-383.
- 2 Martínez, A. C., Balcázar, L. E., Dantán, G. E., Folch, M. J. L. (2008). *Rev Latinoam Microbiol.* 50(3 y 4), 119-131.
- 3 Miller, G.L. (1959). *Anal Chem.* 31: 426-428.
- 4 Ariffin H., Abdullah N., Umikalsom M., Shirai Y., Hassan M. (2006). *IJET.* 3 (1): 47-53.