

PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS POR *WAUTERSIA EUTROPHA* ATCC 17699 SOBRE SUERO DE LECHE

Edith Mancera, Juan Suárez.

Av. Tecnológico S/N, Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morelos, Estado de México, C. P. 55210, Laboratorio de Biotecnología Ambiental, tel.: 5000 2300, ext. 2227, fax.: 5000 2304, e-mail: juansuarez_34@yahoo.com.mx

Palabras clave: Polihidroxicanoatos, *Wautersia eutropha* ATCC 17699, Suero de leche

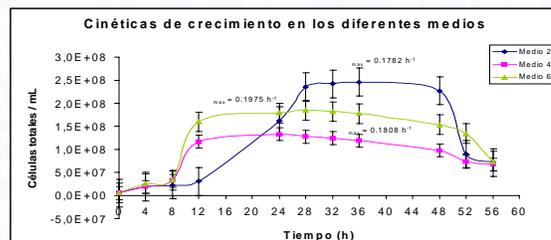
Introducción. Los polihidroxicanoatos (PHAs) son bioplásticos, macromoléculas producidas por muchas especies de bacterias (3). La bacteria *Wautersia eutropha* ATCC 17699 se emplea para la producción de PHAs ya que genera gránulos internos de este material (2, 3).

En esta investigación se realizó el crecimiento de ésta bacteria en medios de cultivo a base de suero de leche para la producción de este tipo de materiales.

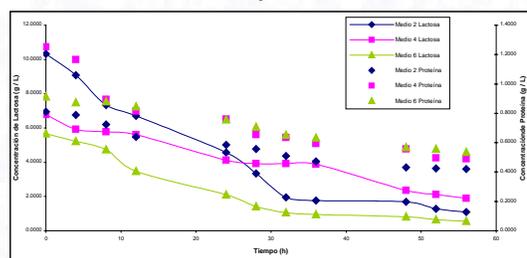
Metodología. Se utilizó la cepa de *Wautersia eutropha* ATCC 17699; manteniéndola activa en caldo nutritivo. La caracterización del suero de leche se realizó, determinando los valores de: pH empleando un potenciómetro, concentración de carbohidratos por la técnica DNS, concentración de proteínas por la método de Bradford y relación C:N mediante el equipo TOC-VCSN Shimadzu Model 700, O.I. Inc., College Station, TX. Las pruebas se realizaron en lote empleando 3 diferentes medios, inoculándolos con 5 % (v/v), incubando en agitador orbital a 30° C y 130 rpm por 48 h, pH 7. Se determinó la cantidad de células totales empleando cámara de Neubauer, y las concentraciones de carbohidratos y proteínas por las técnicas DNS y Bradford, respectivamente. Para garantizar la pureza del cultivo se utilizó microscopía usando tinción de Gram y la acumulación de polímero se verificó por tinción con Azul de Nilo A (1).

Resultados y discusión. Las relaciones iniciales C:N de los medios de cultivo empleados*, van desde 22.6 – 76.9 al iniciar el cultivo por lo que la bacteria se encuentra en estrés metabólico. En la gráfica 1 se muestra la curva de crecimiento de *W. eutropha* en diferentes formulaciones de sustrato, observándose que en los medios 4 y 6 la bacteria muestra una rápida adaptación y alcanza una mayor productividad celular 7.9522×10^9 células / g lactosa y 1.5830×10^9 células / g lactosa, respectivamente y 3.7990×10^9 células / g lactosa en el medio 2; la gráfica 2 muestra el consumo de lactosa y nitrógeno por la bacteria durante todo el periodo de fermentación. La presencia de PHAs intracelulares se verificó cualitativamente, realizando microscopía de fluorescencia, apreciándose una fluorescencia naranja brillante en presencia de gránulos de PHAs.

* Medio 2: Suero hidrolizado con ácido Sulfúrico, Medio 4: Suero filtrado más medio mineral, Medio 6: Suero hidrolizado con ácido clorhídrico más medio mineral.



Gráfica 1. Cinéticas de crecimiento en los diferentes medios de fermentación



Gráfica 2. Cinéticas de consumo de sustratos

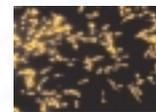


Figura 1. Microscopía de fluorescencia de gránulos intracelulares de PHAs

Conclusiones y perspectivas. De manera preliminar parece ser que el suero de leche es un buen sustrato de cultivo para la producción de PHAs, empleando la bacteria *Wautersia eutropha* ATCC 17699. Los consumo elevado de los sustratos y la alta concentración celular de los medios 4 y 6 hacen que estos se perfilen como los más adecuados para la obtención de PHAs usando lactosuero es su composición; por lo cual se procederá a realizar los ensayos en que se cuantifique la productividad de PHAs empleando dichos medios, modificando las relaciones C:N.

Agradecimientos. Al Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, programa de posgrado de ingeniería química.

Bibliografía.

1. Ostle A.(1982). Nile Blue A as a fluorescent satrain for poly-b-hydroxybutyrate. *Appl. Environ Microbiol.* 44: 238 – 241.
2. Pries A. (1990). Lactose-and galactose-utilizing strains of poly (hydroxyalkanoic acid)-accumulating *Alcaligenes eutrophus* and *Pseudomonas saccharophila* obtained by recombinant DNA technology. *Appl Microbiol Biotechnol.* 33: 410 – 417.
3. Serafim, L. S. (2004). Optimization of Polyhydroxybutyrate Production by Mixed Cultures Submitted to Aerobic Dynamic Feeding Conditions. *Bology and bioengineering*, 2: 145 – 160.