



IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS ALCALÓFILAS DE *Bacillus megaterium* AISLADAS DEL NEJAYOTE.

Mónica Sánchez-González, Ana Gabriela Valladares, Allan Blanco, Javier Gallardo, Adelfo Escalante*, Clarita Olvera* y Martha Suárez. Facultad de Ciencias Químicas, UANL, Ave. Pedro de Alba, s/n, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66400, Tel. (81) 83 29 40 00 ext 6226, email

monicasanchez04@yahoo.com.

* Departamento de Ingeniería Celular y Biotatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM,. Av. Universidad 2001. Col. Chamila, Cuernavaca Morelos, CP 62210.

Palabras clave: Bacillus megaterium, alcalófilos, nejayote

Introducción. Los microorganismos alcalófilos tienen la propiedad de crecer de manera óptima a valores de pH superiores a 9.¹ Los microorganismos alcalófilos pueden ser aislados de muestras de suelo; sin embargo, es más fácil aislarlos de ambientes alcalinos. En las últimas décadas el estudio de estos microorganismos ha cobrado importancia debido a la necesidad industrial de utilizar enzimas resistentes a medios alcalinos y al interés científico de determinar los mecanismos de adaptación a condiciones extremas de crecimiento.¹

El nejayote es el líquido de cocción del maíz, obtenido durante el proceso de nixtamalización. Este líquido alcalino es rico en materia orgánica en suspensión y solución, lo que permite el fácil desarrollo de microorganismos. A pesar de que sean aislado diversos microorganismos del nejayote, hasta el momento no se ha reportado la presencia de alcalófilos.² Con el fin de encontrar nuevas enzimas de interés industrial, el presente trabajo tiene como objetivo aislar, identificar y caracterizar microorganismos alcalófilos del nejayote.

Metodología. Los microorganismos fueron aislados de nejayote de origen industrial con pH de 9. Esta muestra fue sembrada en medio de cultivo compuesto por nejayote (obtenido en el laboratorio, pH 11) y agar bacteriológico. Las colonias obtenidas fueron purificadas y posteriormente crecidas en un caldo de harina de maíz integral y extracto de levadura, alcalinizado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (pH 11).

Los microorganismos fueron identificados al determinar la secuencia del ADNr 16S y utilizando métodos microbiológicos convencionales. La presencia de feruloil esterases se determinó de acuerdo al método reportado en la literatura.³

Resultados y discusión. El nejayote contiene compuestos de importancia industrial como es el ácido ferúlico. En un intento por aislar este antioxidante, se encontró que era modificado con el tiempo de almacenamiento. Por lo anterior se decidió determinar las causas que originaban estos cambios en el nejayote. Se determinó de esta manera la presencia de microorganismos con capacidad de crecer en ambientes alcalinos. Estos microorganismos, bacilos gram positivos con espora central elíptica que no distiende el esporangio, fueron identificados por su morfología, características fisiológicas y a través de la secuencia del ADNr 16S como diferentes cepas de *Bacillus megaterium*. Algunas de estas cepas presentaron 99% de homología con *Bacillus megaterium* AC46b1 aislado de aguas subterráneas enriquecidas con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.⁴ Los

microorganismos producen grandes cantidades de amilasas y proteasas. Algunas cepas producen pequeñas cantidades de xilanasas y celulasas. Las cepas MS2 y MS4, además presentaron capacidad para metabolizar ésteres de ácido ferúlico, específicamente metil ferulato. Este resultado fue confirmado al incubar las células y el sobrenadante de fermentación en presencia de este sustrato, en ambas fracciones se observó el consumo de metil ferulato. Todas las actividades enzimáticas presentaron actividad significativa a pH alcalino. Estos microorganismos son productores de importantes herramientas biocatalíticas pues son pocas las enzimas alcalinas presentes en el mercadeo. Se está estudiando en este momento los mecanismos de degradación de metil ferulato pues hasta el momento no hay reportes en la literatura acerca de feruloil esterases alcalinas.

Conclusiones. En el nejayote se encontraron microorganismos alcalófilos identificados como *Bacillus megaterium*, productores de enzimas con capacidad de catalizar reacciones a pH alcalino.

Agradecimientos. Se agradece al Dr. Jorge Martínez por sus enriquecedores comentarios a este trabajo. Se agradece el apoyo económico de PROMEP 103,5/055/3242 y PAICYT CN 1370-06.

Bibliografía.

1. Horikoshi, K. 1999. Definition of alkaliphilic microorganisms. *Alkaliphiles*. Horikoshi, K. Harwood academic publishers y Kodansha, LTD. Holanda-Japón. 1-3.
2. Sefa-Dedej, S, Cornelius, B, Amoa-Awua, W, Sakyi-Dawson, E, Ohene Afoakwa, E. 2004. The microflora of fermented nixtamalized corn. *Int. J. Food Microbiol.* 96:97-102.
3. Donaghy, J, Kelly, PF, McKay, AM. 1998. Detection of ferulic acid esterase production by *Bacillus* spp. and latobacilli. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 50:257-260.
4. Tiago, I, Chung, AP, Veríssimo, A. 2004. Bacterial diversity in a nonsaline alkaline environment: Heterotrophic aerobic populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(12):7378-7387.