

SCREENING DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL) CON CAPACIDAD DE METABOLIZAR XILOSA

Abril Marangón¹

¹ *Departamento de Medio Ambiente. Fac. de Ingeniería y Cs. Hídricas (FICH-UNL).
Estudiante de Lic. en Ciencia y tecnología de los alimentos (FIQ-UNL).
abril.marangon@hotmail.com*

Área: Ciencias Biológicas
Sub-Área: Biotecnología
Grupo: X

Palabras clave: Xilosa, Bacterias Acido lácticas, Fermentación.

INTRODUCCIÓN

Los residuos lignocelulosicos (o de base celulósica) son todos aquellos de origen vegetal, e incluyen rastrojos de cultivos, cascarillas de granos, cascaras de frutos, material que queda de las industrias (por ej., bagazo de cervecería) y residuos madereros.

Las paredes de las células vegetales contienen tres polímeros: a) celulosa (formado por azúcares de seis carbonos, principalmente glucosa); b) hemicelulosa (formado por azúcares de cinco carbonos, principalmente xilosa) y c) lignina (formado por compuestos con anillos). La lignina se separa, mientras que los otros dos polímeros pueden liberar azúcares simples que son susceptibles de ser convertidos en bioetanol mediante fermentación alcohólica mediada por levaduras.

Las levaduras son los microorganismos de elección para la producción de alcohol, por sus excelentes propiedades (alta velocidad de crecimiento y producción, tolerancia a altas concentraciones de azúcares y etanol, etc.). Sin embargo, solo son capaces de fermentar azúcares de seis carbonos. Es por esto que resulta de interés la selección y caracterización de microorganismos con capacidad de metabolizar xilosa, para emplearlos como plataformas accesorias para la valorización de efluentes de base celulósica luego de la fermentación mediada por levaduras. En particular, resulta de interés la producción de ácido L-láctico, el AHA (α -Hidroxi Ácido) más importante desde el punto de vista industrial, debido a la variedad de aplicaciones que tiene, destacándose su empleo en la industria alimenticia, cosmética, química, de plásticos y farmacéutica. En la última década su producción se vio incrementada debido a su empleo en medicina como precursor de polímeros biodegradables y biocompatibles utilizados en prótesis e implantes.

La fermentación mediada por BAL (bacterias ácido lácticas) es un proceso que presenta grandes desafíos para su implementación a escala industrial. Por tal motivo, resulta de especial interés investigar el metabolismo de la xilosa en diferentes especies de BAL y evaluar el impacto de condiciones operacionales sobre el desempeño fermentativo de las BAL.

OBJETIVOS

Identificar y caracterizar metabólicamente cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL) con capacidad de crecer en medios con xilosa como único sustrato carbonado.

1

Proyecto: Producción de compuestos con valor agregado empleando efluentes y subproductos agroindustriales como materia prima renovable (PICT 2016).

Director del proyecto: Dr. Raúl N. Comelli

METODOLOGÍA

Se caracterizaron 81 cepas de BAL disponibles en el cepario del Grupo de Trabajo. Las mismas corresponden a cepas industriales y aislamientos propios de diferentes fuentes ambientales (efluentes, suelo, materiales vegetales, etc.).

Se partió de un inóculo de las distintas cepas en condiciones microbiológicamente estéril. Se lo dejó crecer en medio MRS simil estéril durante 72hs horas a 37 ± 1 °C.

Pasadas las 72hs se separó la biomasa por centrifugación y lavados con solución fisiológica estéril, luego la biomasa se resuspendió dentro de un tubo eppendorf con solución salina estéril.

Los ensayos de fermentación se realizaron tomando un volumen del inóculo resuspendido en solución salina y se sembró en dos 2 tubos de HACH con caldo nutritivo (uno con xilosa como única fuente de carbono en una concentración 5gr/L y otro sin fuente de carbono que sirvió como control) previamente esterilizados.

La concentración de biomasa se estimó por espectrofotometría midiendo la absorbancia a 480nm al tiempo cero y luego de 72hs a 37 ± 1 °C.

Las cepas que habían metabolizado xilosa se identificaban por el enturbiamiento del caldo nutritivo con xilosa y además mediante la lectura en el espectrofotómetro que indicaba un aumento de los valores al tiempo cero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 1** se muestran las 25 cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL) seleccionadas en el *screening* por su capacidad de metabolizar xilosa. Las cepas se encuentran ordenadas en forma ascendente en función de la magnitud de crecimiento evidenciado, medido como la diferencia absoluta entre la absorbancia a tiempo final y a tiempo cero. Todos los ensayos tuvieron el mismo tiempo de duración. Las cepas que no mostraron crecimiento respecto al control (sin xilosa) o que presentaron resultados dudosos, fueron descartadas del *screening* de las 81 cepas de BAL disponibles en el cepario.

Tabla 1: *Screening* de cepas con capacidad de metabolizar xilosa.

CEPA	Característica	DELTA DE ABSORBANCIA
1	Aislada de efluente industrial	0,29
2	Aislada de efluente industrial	0,158
3	Aislada de fermento industrial	0.71
4	Aislada de materia vegetal	0.8
5	Aislada de materia vegetal	0.89
6	Aislada de materia vegetal	1,42
7	Aislada de material vegetal	1,57
8	Aislada de materia vegetal	1,64
9	Aislada de material vegetal	1,83
10	Aislada de materia vegetal	2,48
11	Aislada de materia vegetal	2,53

12	Aislada de materia vegetal	2,54
13	Aislada de materia vegetal	3,14
14	Aislada de materia vegetal	3,24
15	Aislada de materia vegetal	3,32
16	Aislada de efluente industrial	3,32
17	Aislada de materia vegetal	3,61
18	Aislada de material vegetal	3,95
19	Aislada de material vegetal	3,97
20	Aislada de fermento comercial	4,22
21	Aislada de materia vegetal	4,76
22	Aislada de efluente industrial	5,12
23	Aislada de materia vegetal	5,48
24	Aislada de materia vegetal	6,74
25	Aislada de material vegetal	6,78

La diferencia en la capacidad de las BAL seleccionadas en crecer en medios con xilosa sugiere la existencia de diferencias en cuanto al tipo de metabolismo y la capacidad de metabolizar esta pentosa. Al momento de redactar este resumen se están realizando ensayos para identificar el tipo de metabolismo que presentan estas bacterias, es decir, identificar si las BAL seleccionadas presentan metabolismo a) homofermentativo o tipo A; b) heterofermentativo facultativo o tipo B; o c) heterofermentativo estricto o tipo C.

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que de 81 cepas de Bacterias ácido lácticas estudiadas, 25 son capaces de utilizar xilosa como único sustrato carbonado. La profundización del estudio de estas cepas permitirá identificar buenas candidatas para ser empleadas como plataformas para darle valor agregado a desechos lignocelulosicos (o de base celulósica) mediante la producción de ácido láctico, precursor de polímeros biodegradables, a partir de materias primas renovables y de bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA

Akerberg C., Zacchi G., 2000. An economic evaluation of the fermentative production of lactic acid from wheat flour. *Bioresour Technol*, 75, 119–126.

Chao G., Cuiqing M., Ping X., Li Y., Chen J., Lun SY., 2011. Biotechnological routes based on lactic acid production from biomass. *Biotechnology Advances*, 29, 930–939.

Datta R., Henry M., 2006. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies—a review. *J Chem Technol Biotechnol*, 81, 1119–1129.

John RP., Nampoothiri KM., Pandey A., 2007. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 74, 524–534.

Proyecto: “Estudio del metabolismo del glicerol en bacterias ácido lácticas (BAL)”

Director del proyecto: Dr. Raúl N. Comelli

Okano K., Tanaka T., Ogino C., Fukuda H., Kondo A., 2010. Biotechnological production of enantiomeric pure lactic acid from renewable resources: recent achievements, perspectives, and limits. *Appl Microbiol Biotechnol*, 85, 413–423.

Romani A., Yanez R., Garrote G., Alonso JL., 2008. Production of lactic acid from cellulosic biosludges. *Bioresour Technol*, 99, 4247–4254.

Wang L., Zhao B., Liu B., Yang C., Yu B., Li Q., 2010. Efficient production of L-lactic acid from cassava powder by *Lactobacillus rhamnosus*. *Bioresour Technol*, 101, 7895–7901.

Wee YJ. Kim JN., Ryu HW., 2006. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technol Biotechnol*, 44, 163–72.