

BAC GOGH: OBTENCIÓN DE PIGMENTOS DE BACTERIAS AISLADAS DESDE FUENTES HÍDRICAS DE FORMACIÓN NATURAL DE LA SEGUNDA REGIÓN

BAC GOGH: OBTAINING PIGMENTS OF BACTERIA ISOLATED FROM WATER SOURCES OF NATURAL FORMATION AT SEGUNDA REGIÓN OF CHILE

Iratxe Ríos • Antonella Bianchi • Constanza Guerra • Constanza Avalos • Luis Araya • Felipe Aranda
Michell Rojas • Eric Gahona • Marcelo Méndez • Daniela Sandoval • Valeria Huanca

Profesora Guía: Rocío Iribarren

Asesora Científica: Johanna Cortés

Escuela Ecológica Humberto González Echegoyen D-121, Antofagasta, Región de Antofagasta

Resumen

Con el propósito de formar a los estudiantes, entregándoles las herramientas para aprender a crear cadenas de producción más “eco amigables” y, a la vez, entregarle valor socio-cultural-económico, a un ecosistema de nuestra ciudad que está abandonado, se planteó la hipótesis de que las bacterias se aislaron de los ojos de mar de la playa “Rinconada”, presentaron producción de pigmentos coloreados con un alto potencial biotecnológico. Para ello, se realizó una visita a la playa, se nombró cada poza de los ojos de mar y, posteriormente, se tomaron muestras de biomasa coloreadas, en las que se sospechaba la presencia de bacterias. Se llevó al laboratorio, para cultivarlas en medio de enriquecimiento, luego se traspasaron a placas con medio Marino Broth-Agar sólido y se aumentó su biomasa. Finalmente, se rasparon las placas, se colocaron en desecadora y se extrajo los pigmentos con solución Alcohol-Acetona. Se filtró y se ocupó la solución coloreada para pintar un lienzo. Como resultado se comprobó que existía presencia de bacterias y se pudo extraer cuatro pigmentos coloreados. Se concluyó que tiene un valor potencial biotecnológico.

Palabras claves: Bacterias; Pigmentos; Biotecnología.

Abstract

The purpose of the work was to train students, giving them tools to learn how to create more “eco-friendly” production chains and, at the same time, make them aware of the socio-cultural-economic value of an abandoned city’s ecosystem. It was hypothesized that the bacteria isolated from the sea eyes of the beach “Rinconada”, produced colored pigments with a high biotechnological potential. For this, a visit to the beach was made, each pool of the sea eyes was named and, later, samples of colored biomass were taken, in which the presence of bacteria was suspected. The samples were taken to the laboratory for cultivation in enrichment medium, then transferred to plates with Broth-Agar Marine medium to increase their biomass. Finally, the plates were scraped, placed in a desiccator and the pigments extracted with alcohol-acetone solution. It was filtered and the colored solution was used to paint a canvas. As a result, it was found that bacteria were present and four colored pigments could be extracted. It was concluded that these pigments have a potential biotechnological value.

Keywords: Bacteria; Pigments; Biotechnology.

* Este trabajo participó en el Congreso Regional Escolar de la Ciencia y la Tecnología 2018, PAR Explora de CONICYT Antofagasta.



Introducción

Los pigmentos son moléculas coloreadas, que en el caso de microorganismos como las bacterias cromógenas estas suelen presentarse como metabolitos secundarios, los cuales son sintetizados por las mismas bacterias. Estudios aseguran que la producción de dichos metabolitos es un fenómeno común entre bacterias aisladas de ecosistemas naturales, proporcionándole una ventaja competitiva con aquellas bacterias no productoras; es decir, mejora su supervivencia y proliferación (Avendaño-Herrera *et al.*, 2005). Estos pigmentos tienen diferentes tipos de usos como, por ejemplo, en la alimentación de truchas y salmones de criaderos, las ocupan para hacer más atractivo el color de la carne, también son altamente ocupados en cosmética (Veiga-Crespo *et al.*, 2005).

En las fuentes hídricas se encuentra gran cantidad de bacterias acumuladas en tapetes microbianos, los que presentan variedad de colores. Nuestro lugar de investigación son los “ojos de mar” de la “Rinconada”, un lugar muy abandonado y descuidado de Antofagasta, que presenta gran variedad de vida, entre ellas bacterias coloreadas. Por esto mismo, los estudiantes de la Academia de Ciencias Alpacas D-121, se propuso poder darle un valor a este lugar a través de la ciencia, cuando se percataron de lo descuidada que estaba la playa, al realizar una visita el año 2017.

Como metodología, las bacterias coloreadas se extraerán para ser cultivadas, con el fin de obtener sus pigmentos para utilizarlos como pinturas biodegradables.

Hipótesis

Tomando en cuenta que la producción de pigmento es viable en bacterias marinas y que los “ojos de mar” son ecosistemas en base a fuente marina, nos proponemos la siguiente hipótesis:

Las bacterias aisladas desde los “ojos de mar”, ubicados en la Región de Antofagasta, presentan producción de pigmento con un alto potencial biotecnológicos.

Objetivo General

Obtener pigmentos de bacterias aisladas desde “ojos de mar”, ubicados en la playa “Rinconada” de la Región de Antofagasta.

Objetivos Específicos

- Aislar bacterias pigmentadas desde muestra ambiental, obtenida desde los “ojos de mar” de la playa “Rinconada” de la Región de Antofagasta.
- Cultivar en medio sólido (agar) bacterias pigmentadas aisladas, desde los “ojos de mar” de la playa “Rinconada” de la Región de Antofagasta.
- Extraer pigmento bacteriano, desde los aislados cultivados en medio sólido, utilizando como bacteria



control positivo *Serratia marcescens*, del laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada.

- Utilizar pigmentos bacterianos extraídos, como pintura de uso artístico.

Metodología

Toma de muestra ambiental:

Terreno a los “ojos de mar”, ubicado en las coordenadas (23°27'52.44" S, 70°30'48.82" O). Se realizó salida guiada por diferentes asesores científicos, pertenecientes al laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada (E.M.M.A). Se dividieron los alumnos asistentes en diferentes grupos para abarcar las distintas pozas ubicadas, se obtuvieron muestras ambientales (sedimento y tapete microbiano). Dichas muestras fueron puestas, por medio de una espátula plástica, en tubos cónicos (50 mL) y luego fueron transportadas en frío, para ser almacenadas a 4°C, para posteriores trabajos. La temperatura se midió en terreno, por medio del termómetro Checktemp One Hanna.

Cultivo de bacterias en laboratorios E.M.M.A:

Los estudiantes asistentes, bajo campana de flujo, tomaron una porción de la muestra ambiental obtenida en la salida a terreno y la mezclaron en 5 mL de medio de enriquecimiento líquido, en tubos cónicos de 15 mL, a los cuales se les realizó agitación por vórtex y, posteriormente, fueron dejadas a 20°C por un periodo de una semana.

Cultivo en medio sólido en laboratorio E.M.M.A:

Una vez pasado el tiempo de los cultivos, bajo campana de flujo, tomaron una alícuota de 20 µL de muestra en medio de enriquecimiento líquido y se sembraron en placas Petri con medio Marine Broth/agar sólido (MB) en forma de césped, por medio de asa de vidrio. Posteriormente, las placas son cerradas con parafilm. Los cultivos fueron dejados a 20°C, con luz y por el periodo de una semana.

Aislamiento de bacterias pigmentadas en laboratorio E.M.M.A:

Obtenidos los cultivos anteriores, bajo campana, se tomó con un asa de vidrio una porción de bacteria

pigmentada y se traspasaron a placas de Petri con medio MB/agar sólido en forma de césped, con el objetivo de aislar los colores de las bacterias. Posteriormente, las placas son cerradas con parafilm. Los cultivos fueron dejados a 20°C y con luz por un periodo de una semana. Dicho proceso se realizó cinco veces, para tener una biomasa significativa de las bacterias aisladas y asegurar bacterias de un único pigmento. Además, el procedimiento se replicó para la bacteria *Serratia marcescens* del laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, para ser utilizada como control positivo para los posteriores trabajos.

Extracción de pigmentos bacterianos:

Una vez obtenida la biomasa deseada, estos son raspados desde las placas de Petri con cuidado, sin tomar medio MB/agar, y puestos en un tubo cónico (15 mL) con 10 mL de agua destilada esterilizada. Posteriormente, se realizó una agitación en vórtex, de forma vigorosa por 30 segundos y ultrasonido en sonicador de 40 segundos (Puente, 2007). Una vez realizado este procedimiento, se dispuso el agua con el pigmento bacteriano en una placa de Petri de vidrio para cada pigmento y fueron puestas en una desecadora a 35°C por 36 horas. Pasado el tiempo propuesto, los pigmentos se “raspan” de las placas de Petri y se colocan en un dispensador. Luego, se tomó una porción de los pigmentos y se disolvieron en solvente etanol-acetona. Finalmente se filtraron y las soluciones coloreadas se guardaron en tubos cónicos (15 mL).

Utilización de pigmentos bacterianos como pintura

Los estudiantes pintaron un cuadro a modo de probar el potencial biotecnológico de los pigmentos extraídos.

Resultados y discusión

1) Toma de muestra ambiental

Las pozas encontradas en las coordenadas (23°27'52.44" S, 70°30'48.82" O), que se trabajaron, se denominaron por letras de Sur a Norte. En la Figura N° 1 se muestran las diferentes pozas y su denominación. En la Tabla N° 1 se muestran los equipos de trabajos y las temperaturas tomadas en terreno.





Figura N° 1. (A) Fotografía satelital del lugar de estudio (B y C) toma de muestra y parámetros en las diferentes pozas.

Tabla N° 1. Datos de las pozas

Grupo Recolector	Poza	Temperatura
Constanza A., Constanza G.	A	18°C
Vicente y Marcelo	B	18°C
Felipe y Michel	C	18°C
Daniela y Paloma	D	18°C

Cabe destacar que de la biomasa extraída se observaban colores como verde y negro, pero estas no se lograron cultivar en el cultivo de enriquecimiento. Esto pudo deberse a que eran microalgas u otro tipo de sustrato no compatible con el medio de enriquecimiento que ocupamos.

2) Aislamiento de bacterias pigmentadas

Se lograron obtener cuatro aislados pigmentados (dos tipos de color anaranjado, amarillo y blanco), provenientes de los cultivos en enriquecimientos, desde las muestras ambientales. También se cultivó la bacteria tipo *Serratia marcescens*, a modo de control positiva

presentando un pigmento de color rojo (Figura N° 2). Cabe destacar que dentro de la investigación no está el objetivo de caracterizar estas bacterias obtenidas, pero lo está en las proyecciones. En el caso de la *Serratia marcescens*, su color rojizo es por el pigmento prodigiosina (Tapia y Martínez, 2017). Se podría suponer que los colores naranjos podrían ser carotenoides, el cual es un pigmento muy común en frutas y verduras de colores cálidos (rojo-naranja-amarillo). Lo más importante de estos pigmentos es que se producen por adaptación al medio ambiente extremo (Tapia y Martínez, 2017), como lo es en las zonas desérticas de Antofagasta.



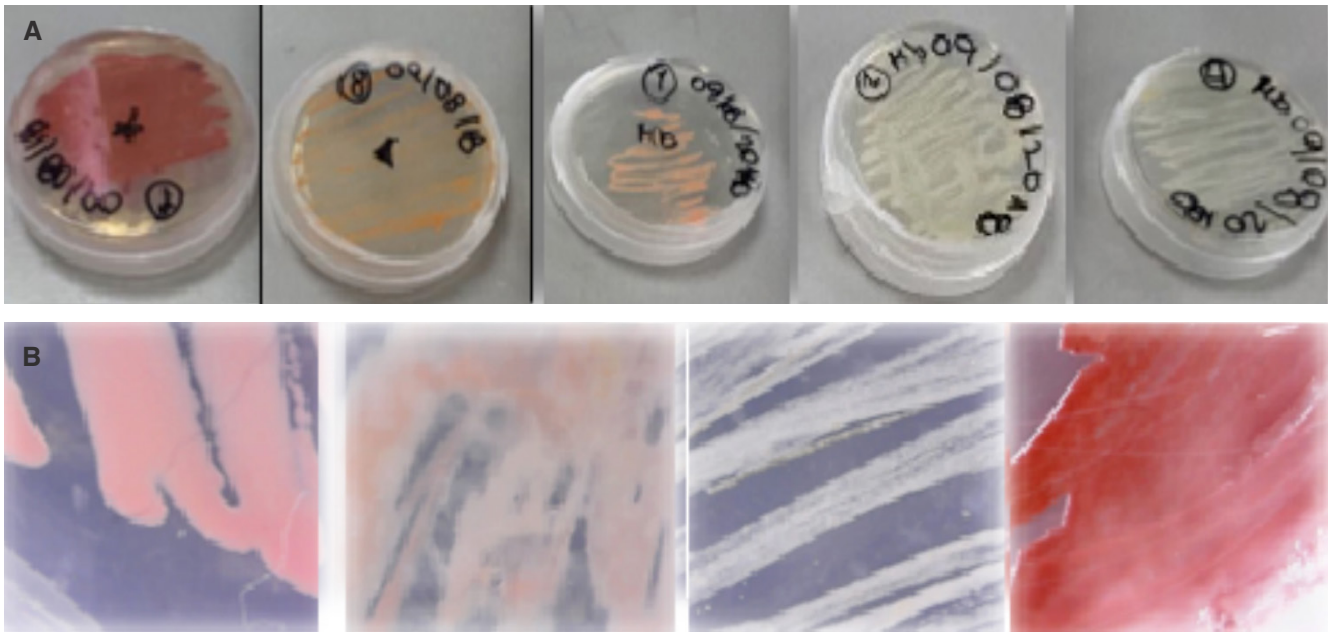


Figura N° 2. A) aislados bacterianos pigmentados de izquierda a derecha: *Serratia marcescens*, colonia de color naranja, segunda colonia de color naranja-crema, colonia de color amarillo y colonia de color blanco, obtenidos desde muestra ambiental. B) Fotografía por medio de lupa electrónica, tomada por alumnos de algunos aislados bacterianos pigmentados, de izquierda a derecha: colonia pigmentada naranja, segunda colonia pigmentada naranja-crema, colonia pigmentada amarillo y *Serratia marcescens*.

3) Obtención de pigmentos bacterianos

Se lograron obtener 5 pigmentos bacterianos incluyendo el de *Serratia marcescens* la cual se ocupó como control positivo para la extracción de pigmentos y posteriores (Figura N° 3).

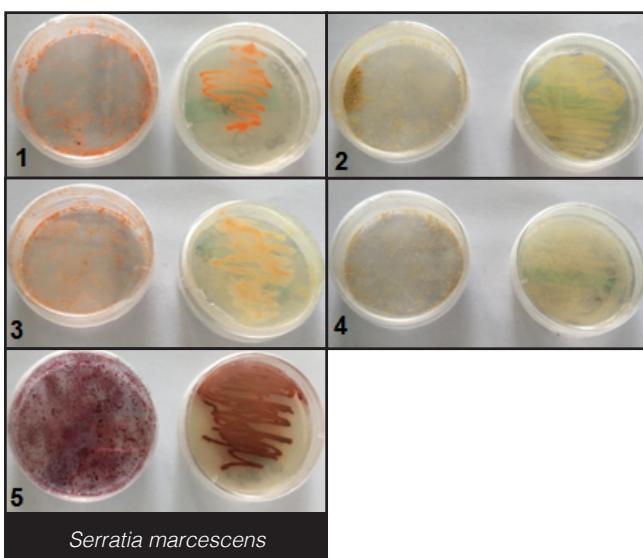


Figura N° 3. Imágenes de los pigmentos obtenidos con sus respectivos aislados (1: Pigmento Naranja; 2: pigmento amarillo; 3: pigmento naranja-crema; 4: pigmento blanco; 5: pigmento *Serratia marcescens*).

4) Uso de las pinturas en un lienzo artístico

Se pudo pintar solo con solución de la *Serratia marcescens*, ya que era la única que se podía percibir, los otros colores eran muy claros, casi imperceptibles en el papel. Una solución a esto, sería aumentar la biomasa ocupada para extraer los pigmentos, mejorar a un solvente más compatible con los pigmentos o concentrar nuestras soluciones pigmentadas. Otro problema que se presentó es la evaporación del solvente en un corto periodo, y posterior caída de los pigmentos desde la tela, por lo cual, dentro de las proyecciones, está buscando una solución que actúe como pegamento, lo que podría ser ocupar un barniz o aerosol tipo esmalte.



Figura N° 4. Uso de las pinturas en un lienzo artístico.



Conclusiones

Las formaciones naturales de pozas, denominadas “ojos de mar”, son un ecosistema proclive para la proliferación de bacterias productoras de biocolorantes.

Es posible la extracción de pigmentos naturales con potencial biotecnológico desde bacterias.

La producción de tintes naturales es compatible con las exigencias y concientización con el ambiente de las nuevas industrias emergentes.

La Región de Antofagasta posee una gran variedad de ecosistemas con microbiota con potencial económico.

La obtención de pigmentos naturales por medio de bacteria es un procedimiento viable en laboratorio.

A pesar de poder obtener los colorantes, la gran mayoría de ellos no se percibían en el lienzo o duraban un día y se caía la pintura.

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren y abren posibilidades a nuevas y más exigentes investigaciones, para demostrar el potencial económico en otras industrias, por parte de los pigmentos obtenidos.

Dentro de las proyecciones está el poder clasificar las bacterias, como Gram⁺ o Gram⁻; determinar propiedades físico químicas, como salinidad y pH del agua de las pozas de los “ojos de mar”; poder extraer más colores; y encontrar la forma de que la pintura no se caiga del lienzo.

Bibliografía

Avendaño-Herrera R, Lody M, Riquelme CE. 2005. Producción de sustancias inhibitorias entre bacterias de biopelículas en substratos marinos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 40: 117-125.

Puente P. 2007. Caracterización química y determinación de la actividad antimicrobiana de pigmentos obtenidos desde cepas del género *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Flexibacter* y *Micrococcus*. Tesis, Universidad Austral de Chile.

Veiga-Crespo P, Rosa-dos-Santos F, Villa T, Blasco L, Poza M. 2005. Influence of culture conditions of *Gordonia jacobaea* MV-26 on canthaxanthin production. *International Microbiology* 8: 55-58.

Tapia C, Martínez M. 2017. Actividad antitumoral de pigmentos y metabolitos secundarios sintetizados por bacterias antárticas y patagónicas. Tesis, Universidad de Concepción.

