

Recibido: 15.12.2021 • Aceptado: 07.11.2022

Palabras clave: Biohidrógenos, bioetanol, biocombustibles, koala, microbiota.

Bacterias de koala: una solución sustentable

FRANCISCO FLORES MONTIEL

francisco.flores@ipicyt.edu.mx

INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA A. C.

LUIS MANUEL ROSALES COLUNGA

luis.rosales@uaslp.mx

FACULTAD DE INGENIERÍA, UASLP

ANTONIO DE LEÓN RODRÍGUEZ

aleonr@ipicyt.edu.mx

INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA A. C.

El uso excesivo de los combustibles fósiles durante muchos años y como consecuencia de la creciente demanda energética global, ha causado la emisión de millones de toneladas de gases de efecto invernadero (aproximadamente 20 billones de toneladas de carbono). El petróleo ha sido nuestra materia prima para la producción de gasolinas, diésel, así como plásticos y hasta fertilizantes. Por lo tanto, hasta la fecha seguimos siendo dependientes de esta fuente no renovable de energía. Si continuamos con este ritmo, agotando las reservas y consumiendo combustibles fósiles, alcanzaremos la concentración de bióxido de carbono (CO_2) límite de 500 partes por millón (ppm) para el año 2050. Esto nos colocaría entre la espada y la pared porque provocaría un incremento de 3°C de la temperatura global, significa que la capa de hielo de antártica del oeste se desintegraría, por lo tanto, incrementaría de cuatro a seis metros el nivel del mar; además, se intensificaría la pérdida permanente de los arrecifes, los cuales son ecosistemas acuáticos con alto grado de biodiversidad en el mundo (Klein, 2009). Para contrarrestar estos efectos necesitamos disminuir las emisiones de CO_2 y nuestra dependencia a los combustibles fósiles mediante la búsqueda de fuentes renovables de energía más eficientes y amigables con el medio ambiente.

Durante mucho tiempo se han investigado y utilizado diversas fuentes renovables de energía: solar, eólica, geotérmica y la biomasa vegetal (residuos de origen vegetal) (Sarangi y Nanda, 2020). Una alternativa viable para la producción de energía limpia y con potencial de sustituir el uso de los combustibles fósiles es la producción de biocombustibles por métodos biológicos. Una de ellos es la fermentación oscura o anaerobia, un bioproceso que destaca por ser sencillo y permite utilizar diferentes materias primas para su bioconversión, en el cual se obtienen altos rendimientos de biocombustibles. Este bioproceso se caracteriza por producir biocombustibles a partir de carbohidratos sencillos como cereales, caña de azúcar, a partir de residuos agroindustriales que son producidos durante la siembra de cultivos y también de la biomasa vegetal generada por algas en ríos y lagos.

Estos biocombustibles son: bioetanol, biobutanol, 2,3-bio-butanodiol, biohidrógeno y biometano, así como ácidos orgánicos volátiles que tienen una alta demanda en el sector industrial para la síntesis de polímeros. Una de las principales aplicaciones relevantes del bioetanol es combinarlo

en cierto porcentaje con la gasolina para disminuir las emisiones de CO_2 . Respecto al biohidrógeno, este es considerado el biocombustible del futuro, es un acarreador de energía debido a que su combustión no produce CO_2 y tiene el más alto contenido energético —120 kilojulios por gramo (kJ/g)— por unidad de peso comparándolo con cualquier otro combustible conocido.

¿Cómo se produce biohidrógeno? Es una respuesta natural a la necesidad celular de liberar el exceso de electrones que se encuentran contenidos en los carbohidratos solubles en el medio de cultivo en condiciones anaerobias (en ausencia de oxígeno). En estas condiciones, los microorganismos anaerobios son capaces de producir biohidrógeno por un proceso llamado fermentación. Al realizar fermentaciones con glucosa, uno de los carbohidratos más simples, como fuente de carbono, los microorganismos inoculados realizan la bioconversión de este carbohidrato por la ruta metabólica de la glucólisis. Hasta este punto, existen tres posibles rutas para la producción de biohidrógeno. La primera es realizada por microorganismos anaerobios facultativos, es decir, microorganismos que pueden crecer en ausencia o presencia de oxígeno. La segunda ruta es realizada por microorganismos anaerobios estrictos, los cuales pueden vivir solo en ausencia de oxígeno como el género bacteriano *Clostridium*. En la tercera ruta, la producción de hidrógeno se realiza por medio de una enzima llamada hidrogenasa a partir de la reducción de protones que se generan durante la glucólisis.

Microorganismos fermentativos, los mejores amigos del planeta Tierra

Hoy en día la producción de biohidrógeno y bioalcoholes utilizando biomasa vegetal como sustrato ha ganado bastante interés, incluso ya existen plantas de producción a gran escala en algunos países. Esta biomasa vegetal contiene un alto contenido de energía almacenada, que se encuentra en los polisacáridos (formados por varias unidades de azúcares simples) como hemicelulosa, celulosa y lignina. Estos polisacáridos son componentes estructurales que le brindan rigidez y soporte a las plantas. En perspectiva, la biomasa vegetal generada por los bosques, así como de los residuos agrícolas que produjo Estados Unidos de América en el año 2012 representan cerca de 500 millones de toneladas de peso seco de biomasa, el uso de este material podría sustituir un 30 por ciento del consumo de petróleo de ese país (Liao, 2016).



Bacterias de koala:

una solución sustentable en la generación de energía



Si seguimos dependiendo de las fuentes no renovables de energía, para el año 2050 alcanzaremos la concentración de bióxido de carbono (CO₂) límite de 500 partes por millón (ppm). Si esto sucede, la temperatura global aumentaría 3 °C, la capa de hielo de la antártida se desintegraría y el nivel del mar incrementaría hasta seis metros más.



Una alternativa viable para la producción de energía limpia es la producción de biocombustibles por métodos biológicos, como la fermentación oscura o anaerobia. Este bioproceso se caracteriza por producir biocombustibles, como el bioetanol y el biohidrógeno.



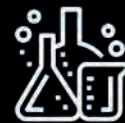
Por ello, necesitamos disminuir las emisiones de CO₂ y nuestra dependencia a los combustibles fósiles. ¿Cómo?, mediante la búsqueda de fuentes renovables de energía más eficientes y amigables con el medio ambiente.



La producción de biohidrógeno y bioalcoholes utilizando biomasa vegetal como sustrato ha ganado bastante interés, ya que esta biomasa vegetal contiene un alto contenido de energía almacenada, que se encuentra en los polisacáridos y se requiere romperlos mediante el uso de ácidos a cierta temperatura para obtener carbohidratos de forma soluble.



Dentro de la microbiota de koala se han encontrado enzimas hemicelulasas que hidrolizan al polisacárido hemicelulosa, enzimas degradadoras de oligosacáridos y xilanasas que hidrolizan al polisacárido xilano. Estos hallazgos indican un alto potencial biotecnológico de la microbiota de koala para la producción de biohidrógeno y bioalcoholes.



Esta es una de las aportaciones que se desarrollan en el Laboratorio de Bioingeniería y Biotecnología Molecular del IPICYT, con el fin de producir biocombustibles y disminuir los GEI y la dependencia a los combustibles fósiles.



Flores, Rosales y de León (2022), *Universitarios Potosinos* 270, pp. 1-5.

Esta biomasa vegetal requiere un pretratamiento físico-químico, es decir, hidrolizar o romper los polisacáridos mediante el uso de ácidos a cierta temperatura para obtener carbohidratos de forma soluble. Este pretratamiento, en conjunto con el enzimático, en el cual la hidrólisis se realiza mediante proteínas llamadas enzimas, generan hidrolizados que garantizan altos contenidos de carbohidratos solubles como: glucosa, xilosa y arabinosa.

Sobre la búsqueda de microorganismos especializados en degradar biomasa vegetal se han reportado los géneros de *Bacillus*, *Stenotrophomonas* y *Pseudomonas*. Estos géneros bacterianos tienen la habilidad de producir enzimas como amilasas, xilanasas y endoglucanasas que degradan los polisacáridos de celulosa, hemicelulosa y lignina. Así como se han realizado bastantes esfuerzos para encontrar géneros bacterianos que puedan hidrolizar más rápido y eficazmente estos polisacáridos, también continúa la búsqueda de géneros bacterianos para la producción de biohidrógeno. Estos microorganismos son aislados de diferentes ambientes como: en fábricas de procesamiento de alimentos, en desechos de alimentos, compostas o del intestino de algunos animales (Ntaikou, 2010).

Se ha reportado que los géneros bacterianos de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Clostridium*, *Bacillus* y *Pseudomonas* tienen la capacidad de producir

biohidrógeno. Un buen ejemplo de esta búsqueda es la realizada por Ocegüera-Contreras (2019), quien caracterizó la microbiota que se encuentra en los compuestos líquidos producidos mediante el proceso de la digestión de materia orgánica (lixiviado) por lombrices (*Eisenia foetida*), gracias a ello encontró géneros bacterianos de *Bacillus* y *Pseudomonas* que producían hasta 1 571.8 mililitros (ml) de biohidrógeno por litro, mediante el uso de melazas de caña de azúcar como sustrato.

Microbiota de koala especializada

La microbiota es el conjunto de microorganismos vivos (bacterias) que se encuentran en el tracto digestivo de los animales. Estos microorganismos juegan un papel muy importante en la digestión y absorción de nutrientes para el huésped. Una microbiota que no se ha explorado en cuanto a la producción de biohidrógeno y bioalcoholes es la de *Phascolarctos cinereus*, mejor conocido como koala. Se ha reportado que este marsupial se alimenta exclusivamente de hojas de eucalipto, las cuales contienen hasta 12.9 miligramos (mg) por gramo de compuestos fenólicos, los cuales son tóxicos para otros organismos. Además de esta desventaja, esta dieta se considera como no prometedora, dado que posee una baja cantidad de carbohidratos y proteínas; sin embargo, este feliz marsupial herbívoro podría ingerir todo el día esta dieta y lograr satisfacer sus necesidades metabólicas sin ningún problema. Esto suena prometedor, pero ¿cómo lo logra?



Árboles de eucalipto

Es maestro en Ciencias en Biología Molecular por el IPICYT. En la actualidad estudia el Doctorado en Biología Molecular en el mismo instituto, en donde trabaja el tema de producción de biohidrógeno y bioalcoholes por aislados microbianos del tracto digestivo de koala.




La respuesta es la microbiota del koala, se ha reportado que adquiere en los primeros seis meses de crecimiento la microbiota especializada para degradar la biomasa vegetal, lo anterior mediante una actividad coprofágica (es decir, ingerir material fecal) procedente de su madre. Debido a ello, el koala posee géneros bacterianos como: *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacteria* y *Ruminococcus*. Esta microbiota tiene actividades enzimáticas interesantes que le permiten hidrolizar la estructura altamente compacta de hemicelulosa, celulosa y lignina.

Las principales enzimas encontradas dentro de la microbiota de koala son: hemicelulasas que hidrolizan al polisacárido hemicelulosa, enzimas degradadoras de oligosacáridos y xilanasas que hidrolizan al polisacárido xilano (Shiffman, 2017). Estos hallazgos indican un alto potencial biotecnológico de la microbiota de koala para la producción de biohidrógeno y bioalcoholes. Esto debido a su capacidad para degradar biomasa vegetal y la habilidad intrínseca de tolerar altas concentraciones de compuestos fenólicos. A pesar de este hallazgo tan importante, no se ha reportado la implementación de aislados microbianos de koala en la producción de biocombustibles.

¿Qué se está haciendo?

Por lo anterior, el grupo de trabajo del Laboratorio de Bioingeniería y Biotecnología Molecular del IPICYT se concentró en identificar y caracterizar los aislados microbianos de heces de koala, procedentes de la Reserva de Koalas Bert Saunders, Doonside, Australia. Se lograron aislar 13 bacterias que producen alcoholes como subproducto con concentraciones de 2.5 gramos por litro (g/L) de bioetanol, hasta 5 g/L de 2,3-biobutanodiol y ácidos orgánicos como: succínico, fórmico, acético y láctico. También se encontró que estos aislados producen volúmenes que van desde 93 hasta 201 ml de biohidrógeno (Flores-Montiel, 2022 en preparación).

La implementación de estos aislados microbianos de heces de koala es de alto interés biotecnológico, debido a que se podría escalar en la producción de biocombustibles utilizando biomasa vegetal como sustrato. Sin embargo, todavía nos hace falta encontrar las condiciones óptimas para la producción de biocombustibles. Los resultados de este tipo de investigación pretenden brindar soluciones sustentables a los problemas de contaminación generados por el uso de los combustibles fósiles. 

Agradecimientos:

Al doctor Victor E. Balderas Hernández del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., por su apoyo técnico. También al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el financiamiento parcial a través de los proyectos Conacyt-Ciencias Básicas 281700 y por la beca otorgada 932036.

Referencias bibliográficas:

- Klein, A., (2009). Policy forum. *Drugs and Alcohol Today* 9(3), pp. 7-10.
- Liao, J. C., Mi, L., Pontrelli, S. y Luo, S., (2016). Fuelling the future: Microbial engineering for the production of sustainable biofuels. *Nature Reviews Microbiology*. 14(5), pp.288-304.
- Ntaikou, I., Antonopoulou, G. y Lyberatos, G. (2010). Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: A review. *Waste and Biomass Valorization* 1, pp.21-39.
- Oceguera-Contreras, E., Aguilar-Juárez, O., Oseguera-Galindo, D., Macías-Barragán, J., Bolaños-Rosales, R., Mena-Enríquez, M., et al (2019). Biohydrogen production by vermicompost-associated microorganisms using agro industrial wastes as substrate. *International Journal Hydrogen Energy*, 44(20), pp.9856-9865.
- Sarangji, P.K. y Nanda, S., (2020). Biohydrogen Production Through Dark Fermentation *Chemical Engineering Technology*, 43(4), pp.1-13.
- Shiffman, M. E., Soo, R. M., Dennis, P. G., Morrison, M., Tyson, G.W. y Hugenholtz, P., (2017). Gene and genome-centric analyses of koala and wombat fecal microbiomes point to metabolic specialization for Eucalyptus digestion, *PeerJ*, 7:e6534.

