

Producción y purificación de lisozima proveniente de *Bacillus spp.* para su uso como agente antimicrobiano en el tratamiento de aguas contaminadas

Nicole Gálvez- Gal22868@uvg.edu.gt, Sara Velez-Vel22505@uvg.edu.gt, Jimena Mejía- mej22597@uvg.edu.gt, Ana Belén López -lop22340@uvg.edu.gt, Daniela Orozco- oro22175@uvg.edu.gt, Pablo Catú- cat22540@uvg.edu.gt

1 Introducción

- Las lisozimas son enzimas reconocidas por su capacidad para descomponer los polímeros de peptidoglicano presentes en la pared celular bacteriana, lo que las convierte en potenciales agentes antimicrobianos para el tratamiento de aguas contaminadas.

Justificación

- La investigación se centra en evaluar si la lisozima puede inhibir el crecimiento bacteriano en el agua como parte de un proceso sostenible y económicamente viable para tratar las aguas residuales y cuerpos de agua contaminados en Guatemala. Este enfoque busca ofrecer una solución rentable y eficiente para mejorar la calidad del agua, reducir el impacto ambiental y promover la salud pública en el país.

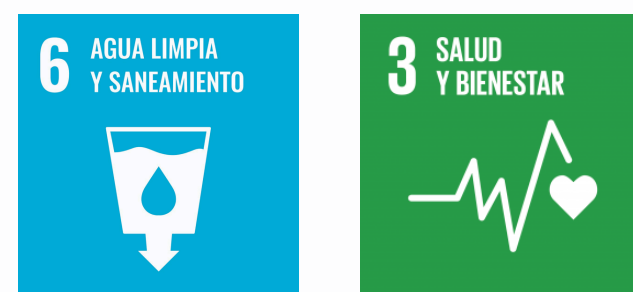
Objetivos

Objetivo General

- Producir y purificar lisozima proveniente de *Bacillus spp.* para utilizarla como agente antimicrobiano en el tratamiento de aguas contaminadas.

Objetivos específicos

- Inducir el crecimiento de la bacteria *Bacillus spp.* para la producción constante y significativa de lisozima utilizando medios de crecimiento líquidos.
- Purificar lisozima proveniente de *Bacillus spp.* por medio de cromatografía en columna.
- Observar, por medio de espectrofotometría UV-Vis, el comportamiento y la eficacia de la lisozima como agente antimicrobiano en la purificación de aguas contaminadas.

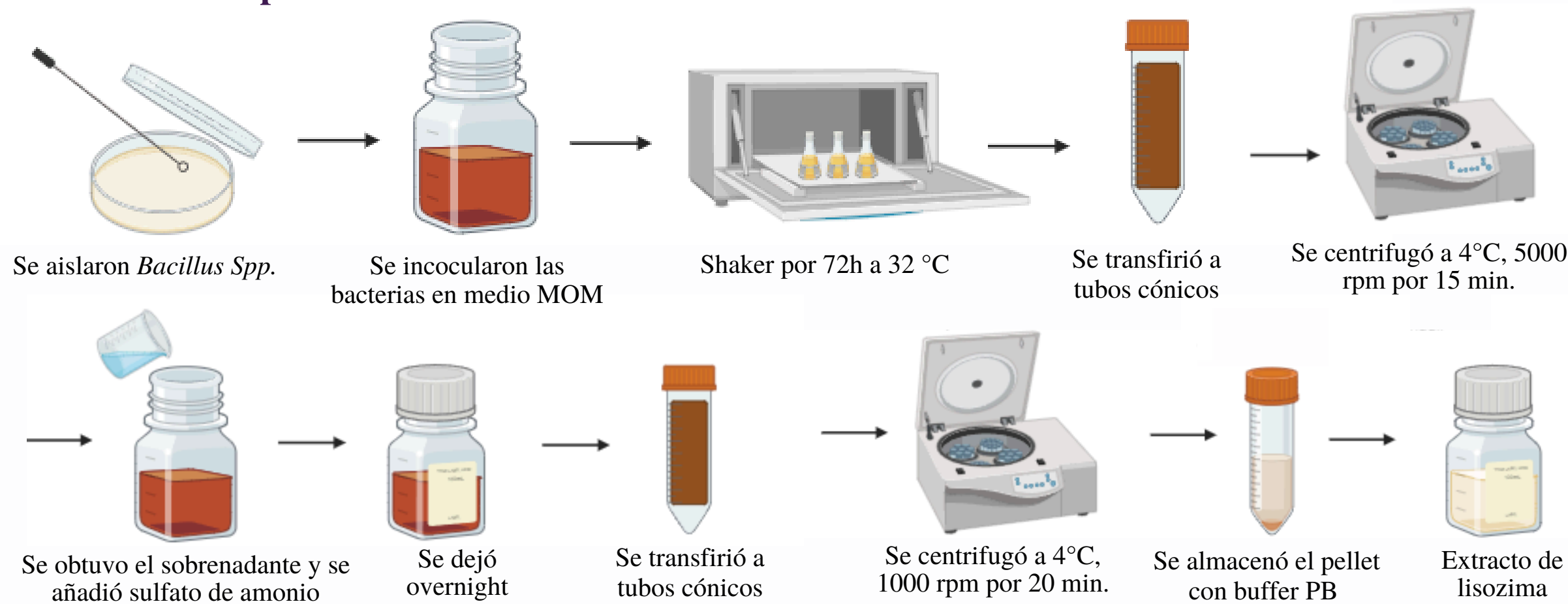


3 Metodología

Extracto de lisozima



Extracto de lisozima purificado



Cromatografía en columna

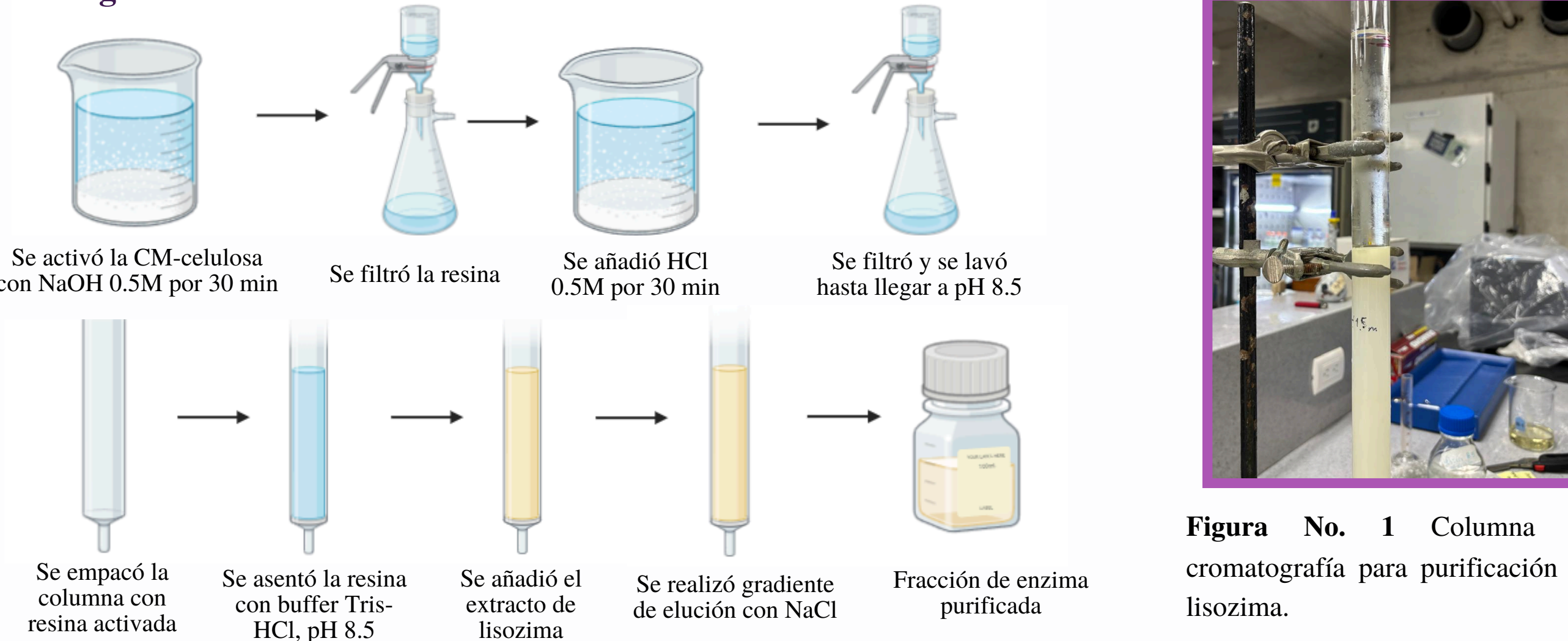
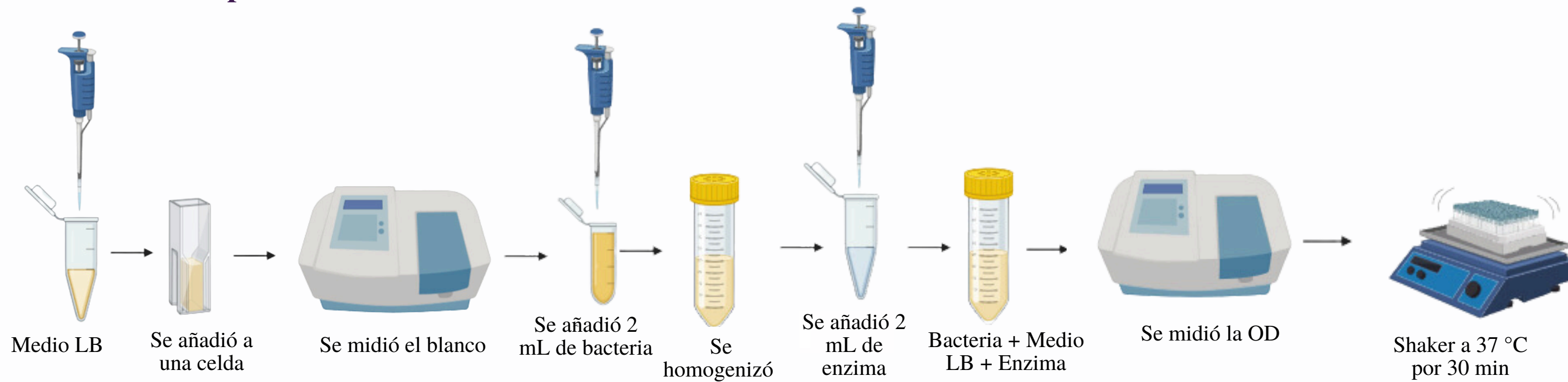


Figura No. 1 Columna de cromatografía para purificación de lisozima.

Pruebas con espectrometría UV-VIS



6 Conclusiones

- La lisozima es más efectiva en la inhibición de bacterias gram-positivas que gram-negativas.
- La concentración de lisozima es crucial para reducir bacterias en un medio líquido.
- Un extracto de lisozima de *Bacillus spp.* degrada más polisacáridos de membranas bacterianas que la lisozima purificada.

7 Recomendaciones

- Realizar la purificación en menos de 5 días y usar un condensador con una llave para la circulación de agua fría en la cromatografía.
- Utilizar bolsas de diálisis para eliminar los residuos de sulfato de amonio.
- Probar el extracto de lisozima en agua contaminada con una concentración conocida de microorganismos.
- Realizar pruebas para determinar si la concentración influye en actividad enzimática.

2 Pregunta de investigación e hipótesis

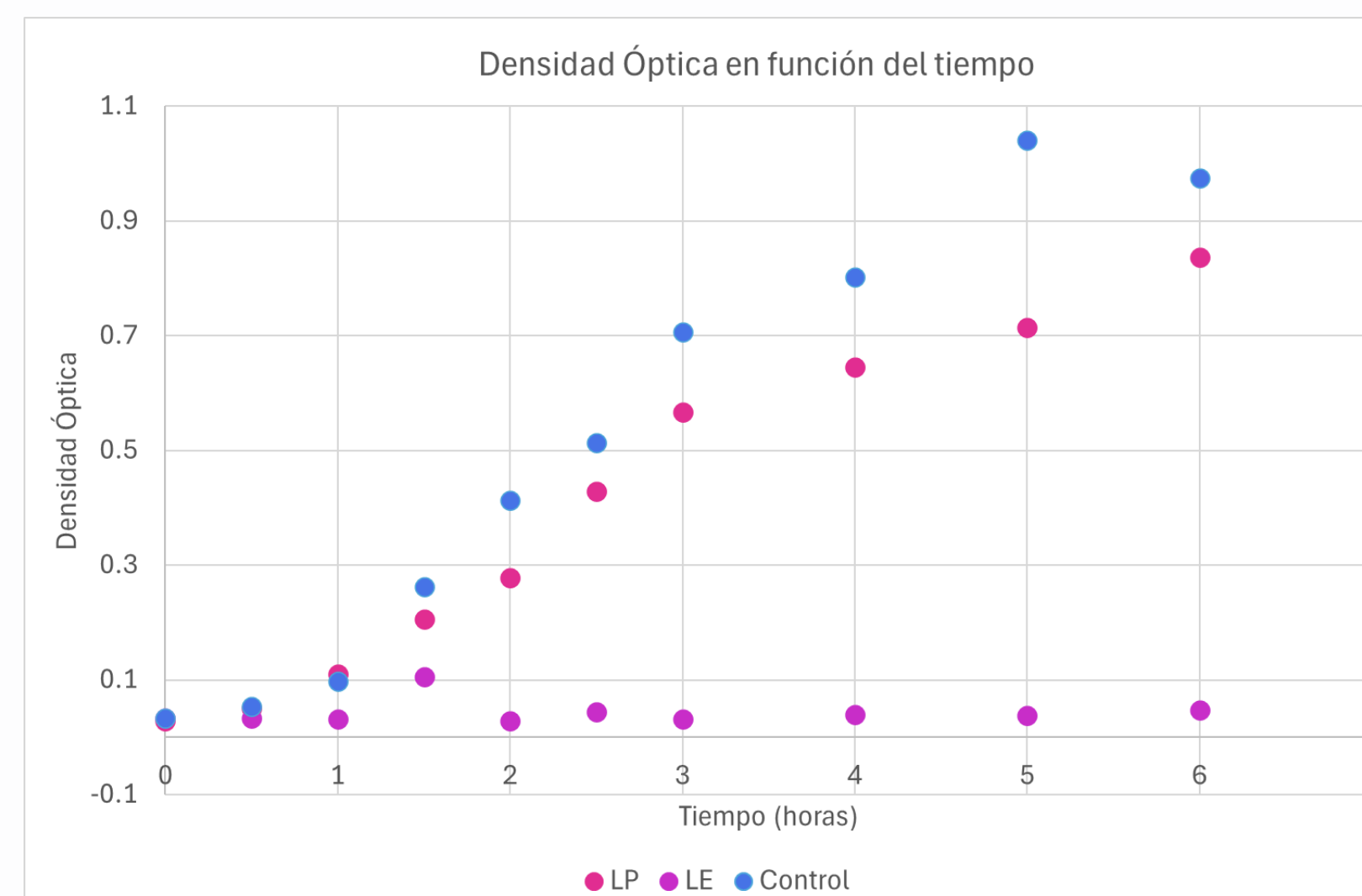
- ¿Cuál es el potencial de la lisozima producida a partir de *Bacillus spp.* para actuar como agente antimicrobiano en aguas contaminadas?

Hipótesis

- La lisozima inhibirá el crecimiento de las bacterias debido a su capacidad para romper los enlaces glicosídicos en las paredes celulares bacterianas.

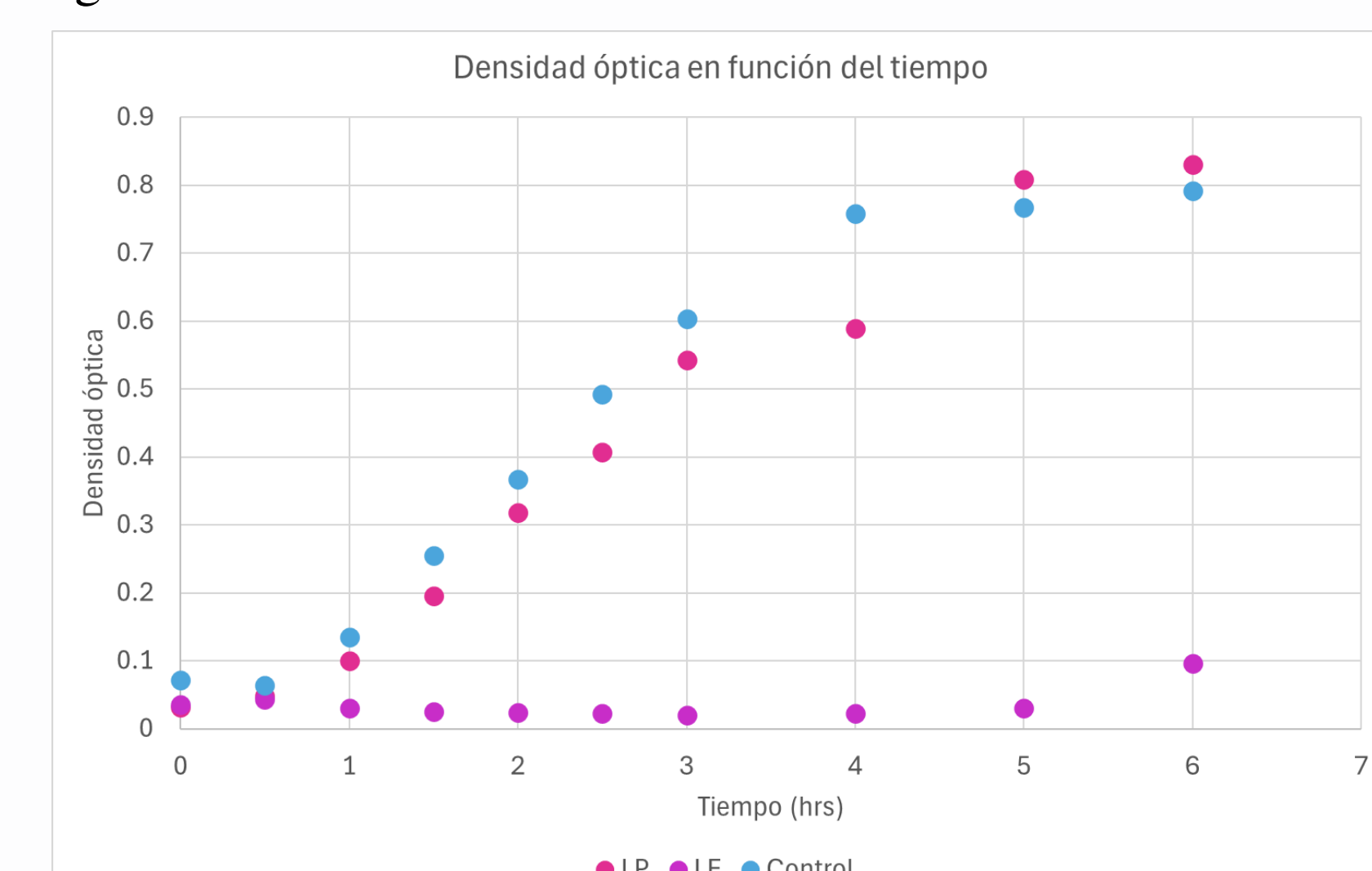
4 Resultados

Figura No.2 Curva de crecimiento de *Micrococcus spp.* en medio LB.



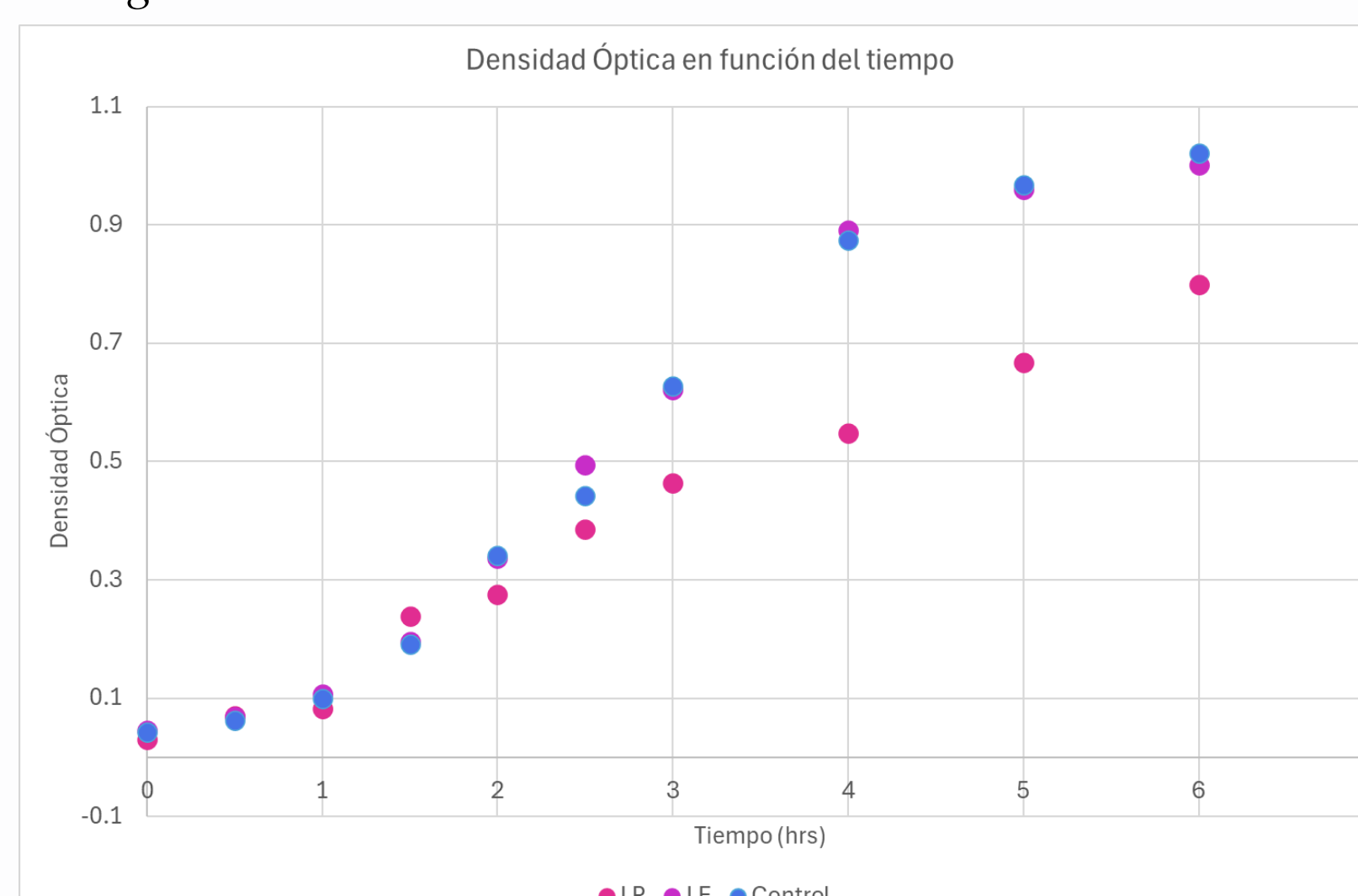
El gráfico anterior presenta la relación de la densidad óptica en función del tiempo (hrs) de la actividad enzimática de la lisozima en *Micrococcus spp.* Siendo LP la lisozima purificada, LE el extracto de enzima y el control que consistió en bacterias sin ningún tratamiento. Todos en medio LB.

Figura No. 3 Curva de crecimiento de *Micrococcus spp.* en agua con medio LB.



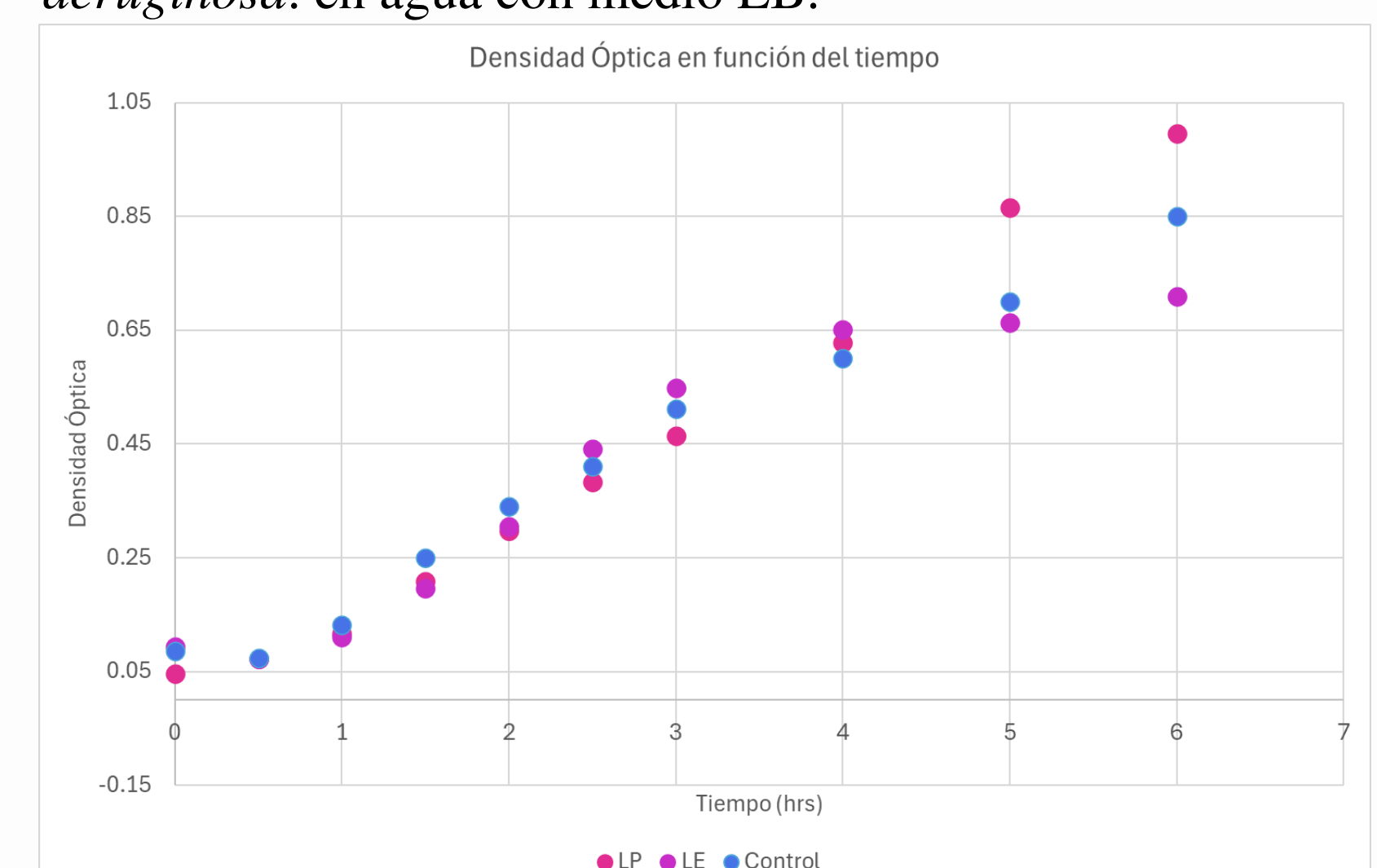
El gráfico anterior presenta la relación de la densidad óptica en función del tiempo (hrs) de la actividad enzimática de la lisozima en *Micrococcus spp.* Siendo LP la lisozima purificada, LE el extracto de enzima y el control que consistió en bacterias sin ningún tratamiento. Todos en medio LB con agua.

Figura No.4 Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en medio LB.



El gráfico anterior presenta la relación de la densidad óptica en función del tiempo (hrs) de la actividad enzimática de la lisozima en *Pseudomonas aeruginosa*. Siendo LP la lisozima purificada, LE el extracto de enzima y el control que consistió en bacterias sin ningún tratamiento. Todos en medio LB.

Figura No.5 Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en agua con medio LB.



El gráfico anterior presenta la relación de la densidad óptica en función del tiempo (hrs) de la actividad enzimática de la lisozima en *Pseudomonas aeruginosa*. Siendo LP la lisozima purificada, LE el extracto de enzima y el control que consistió en bacterias sin ningún tratamiento. Todos en medio LB.

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición de lisozima para las bacterias seleccionadas

Tipo de Muestra	<i>Micrococcus spp.</i> en medio LB	<i>Micrococcus spp.</i> en agua con medio LB	<i>P. aeruginosa</i> en medio LB	<i>P. aeruginosa</i> en agua con medio LB
Inhibición extracto enzimático (%)	96.6	87.8	0.0	16.6
Inhibición enzima purificada (%)	14.2	0.0	20.2	0.0

El cuadro anterior presenta los porcentajes de inhibición de diferentes muestras bacterianas mediante el uso del extracto enzimático y la enzima lisozima purificada. Las bacterias evaluadas incluyen *Micrococcus spp.* y *Pseudomonas aeruginosa*, tanto en medio LB como en agua con medio LB.

5 Discusión

- Efecto de la lisozima en el crecimiento de *Micrococcus spp.* en comparación con *P. aeruginosa*.
- Inhibición de crecimiento de *Micrococcus spp.* en medio de cultivo y en agua.
- Inhibición del extracto enzimático en comparación con la enzima purificada.
- Estrategia de inmovilización de enzimas a escala industrial para biorremediar grandes cuerpos de agua en sitios donde se haya detectado alta concentración bacteriana en Guatemala.

8 Agradecimientos

Agradecemos a Dra. Krisztina Rios, MSc. Augusto Franco, Lic. Ángel Ramírez y a MSc. Christa Contreras por su invaluable apoyo y orientación durante la fase experimental de esta investigación.

9 Bibliografía

