

# ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

TOMO VI - Núm. 7-8-9-10

Julio a Octubre, 1965

**Director:** PROF. DR. JESÚS CABO TORRES

**Subdirector:** PROF. DR. JOSÉ M.<sup>a</sup> SUÑÉ ARBUSSÁ

**Jefe de Redacción:** DR. JUAN OLIVER VERD

**Redacción y Administración:**

FACULTAD DE FARMACIA, GRANADA-ESPAÑA

IMPRIME: ANEL.—GRANADA.

Dep. Legal: GR. núm. 17-1960

## SUMARIO

	PAG.
<b>Trabajos originales de la Facultad</b>	
Estudio preliminar de solubilización de fosfatos por las bacterias, por A. Ramos y V. Callao. ....	237
Método colorimétrico para determinar el enranciamiento de aceites y grasas sólidas, por J. Oliver y J. M. <sup>a</sup> Suñé ....	243
Influencia de algunos emulgentes en el stress digestivo de las grasas, por P. García de la Puerta ....	259
<b>Trabajos de revisión</b>	
Explicación teórica de la reacción coloreada fundamento de la determinación colorimétrica del enranciamiento de grasas, por J. Oliver	271
<b>Bibliografía</b>	
<b>REVISTAS</b>	
Nueva Revista ....	275
Números recibidos de las revistas con las que se mantienen intercambio.	276
<b>Libros</b>	
Crítica de libros ....	277
Relación de libros recibidos últimamente en esta Revista pendientes de crítica ....	280
Obras registradas en la Biblioteca de la Facultad durante el mes de Julio.	281
<b>Ecos de Facultad</b>	
I. Asamblea Nacional de Farmacéuticos con Oficina de Farmacia :	
Conclusiones ....	283
Impresiones del cronista ....	291
Noticario ....	293
Recortes de prensa ....	295
Entrevistas : Charla con la Doctora más joven de España ....	296
Museo y Biblioteca de Historia de la Farmacia : Donativos ....	297

# TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

CATEDRA DE MICROBIOLOGIA

Prof. Dr. V. Callao

## Estudio preliminar de Solubilización de fosfatos por las bacterias

por

A. Ramos y V. Callao

### INTRODUCCION :

Desde principios del presente siglo, en que se detectaron por primera vez gérmenes capaces de causar la solubilización de fosfatos, SACKETT et al (1908), se han incrementado enormemente los estudios en tal aspecto. GERRETSEN (1948), fue el primero en demostrar la existencia de Bacterias en la rizosfera capaces de producir la solubilización del fosfato dicálcico, introduciendo una técnica en placa.

Posteriormente aquella técnica fue modificada por distintos investigadores GELOBIOWSKA (1956), ROSE (1957), SPERBER (1957), y LOUW (1958), continuando con el procedimiento en placa pues en cierto aspecto era la forma más rápida y sencilla de detectar Bacterias solubilizadoras de fosfatos.

Aquellos procedimientos fueron acompañados por técnicas para determinar la solubilización en medios líquidos ROSE (1957), y LOUW, y WEBLEY (1959).

En el presente trabajo se hace un estudio de las técnicas de aislamiento en placa, y un trabajo previo con seis estirpes solubilizadoras del fosfato dicálcico, cinco aisladas en las

tierras de cultivo de Granada, y una cedida amablemente por los investigadores GREAVES y WEBLEY del Macaulay Institute de Aberdeen.

### METODOS :

Para el aislamiento de las razas solubilizadoras de los fosfatos, utilizamos diferentes medios de cultivo; por una parte usamos el medio de Bunt y Rovira, modificado según las técnicas descritas por LOUW y WEBLEY (1959), adicionado del 1% de fosfato dicálcico; y por otra parte, valiéndonos de los datos descritos por TARDIEUX-ROCHE (1962), empleamos un medio similar al por ellos utilizado pero sólido, adicionando el fosfato dicálcico mezclado con goma arábica. Concretamente las razas objeto de estudio aisladas en Granada, fueron obtenidas por este procedimiento.

Para las pruebas cualitativas del poder de disolución frente a diferentes fosfatos, usamos el medio de Bunt y Rovira modificado por WEBLEY et. al (1959), adicionado de los diferentes fosfatos en goma arábica de la forma siguiente: 1 ml de suspensión de fosfato por nueve ml del medio de cultivo (las suspensiones

de fosfatos fueron preparadas a distintas concentraciones, unos al 1% y otros al 2'5%).

Determinación del fosfato soluble liberado en medios líquidos: Para realizar esta técnica usamos el medio descrito por WEBLEY y DUFF (1965), a base de Extracto de levadura 0'2%, y glucosa 4%, pero modificando el compuesto insoluble, nosotros utilizamos fosfato dicálcico al 1%; realizando las experiencias con un control sin inocular. Periódicamente fue-

ron analizados los matraces, usando el método colorimétrico descrito por WILLIAMS y STEWART (1941), previas centrifugaciones a 5.000 revol./min., con posterior análisis del sobrenadante.

## RESULTADOS:

La actuación sobre los fosfatos dió los resultados expuestos en la tabla I, se aprecia en todos los gérmens objeto de estudio un comportamiento

TABLA I. RESULTADOS CUALITATIVOS EN PLACA

N.º del microorganismo	CLASE DE FOSFATO UTILIZADO										
	Fosfato dicálcico	Fluor apatito	Hidroxi-apatito	Variscita	Strengita	Basic slag	Gafsa	Huesos por vapor	Huesos triturados	Roca de Kola	Fosfato del Jordán
1	+	+	±	-	-	+	+	+	-	-	+
2	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
3	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
4	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
5	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
D-11	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+

CLAVE | + : Solubilización del fosfato con formación de halo.  
 A LOS | - : Ausencia de halo  
 SIGNOS | ± : Halo no completamente manifiesto

similar, con ligeras diferencias en el tamaño del halo, que no guardan relación con la cuantitativa del poder disolvente de los fosfatos. Los fosfatos probados fueron: fosfato bicálcico, fluorapatito sintético, hidroxiapatito sintético, Variscita, Strenigita, Basic slag, Gafsa-fosfato, huesos triturados, huesos tratados por el vapor, roca kola, y fosfatos del Jordán.

## RESULTADOS CUANTITATIVOS:

Los datos referentes a los gérmenes empleados, van detallados en la tabla II, en la que juntamente con la cantidad de fósforo solubilizado se incluye la proporción del mismo. El

pH al finalizar las experiencias fué aproximadamente de 2 a 3, para todos los gérmenes objeto de estudio. La determinación del pH se realizó con el fin de observar si la diferente solubilización correspondía a diferencias notables en el pH.

Las gráficas que acompañan al trabajo corresponden a los distintos gérmenes ensayados. En las gráficas correspondientes a las cepas 1 y 4, existió una pequeña anomalía, con un descenso brusco en la cifra de fosfatos solubilizados. Nosotros, indicamos tal hecho pero, considerando factible que tal descenso en la solubilización de los fosfatos no existiera, motivo por el que incluimos un trazo punteado para indicar el posible camino seguido en la solubilización de los fosfatos.

TABLA II. RESULTADOS CUANTITATIVOS DE LA SOLUBILIZACION DEL FOSFATO BICALCICO POR LAS BACTERIAS

Cepa N.º	<i>Fosfato dicálcico</i>									
	2 días		5 días		7 días		9 días		12 días	
	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%
1	510	2'8	72'5	0'41	602	3'31	1.017	5'59	1.065	5'86
2	435	2'39	472	2'59	530	2'81	930	5'12	1.160	6'38
3	825	4'43	637	3'50	—	—	1.417	7'79	2.500	12'5
4	525	2'78	122	0'67	557	3'06	1.157	6'36	2.250	12'37
5	150	0'83	567	3'19	557	3'06	792	4'35	1.400	7'7
D-11	435	2'39	967	4'39	530	2'81	495	2'72	612	3'37

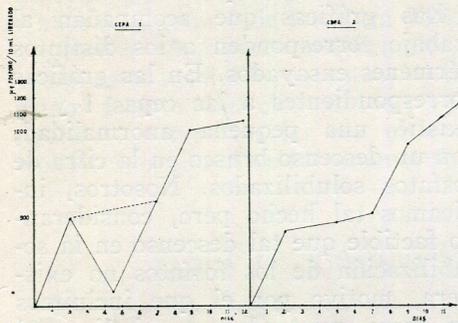
## COMENTARIOS:

La tabla I nos indica la similar actividad de los gérmenes del suelo en relación con el poder disolvente en los fosfatos, en realidad la única diferencia existió con la cepa número 1, que tuvo cierto poder de disolución sobre el fosfato de fluorapatito

sintético, dato éste que tiene interés, pues los demás gérmenes no produjeron tal solubilización. Ello se explica por la existencia del fluor, que en cierto aspecto inhibe la solubilización de los fosfatos. Por esta razón destaca aún más el hecho de que precisamente la raza número 1 solubilizadora del fluor-apatito sintético,

tenga una acción dudosa sobre el hidroxiapatito sintético, y sea una de las razas cuantitativamente menos activas sobre el fosfato dicálcico, (ta-

Mayor soluble liberado del Fosfato dicálcico



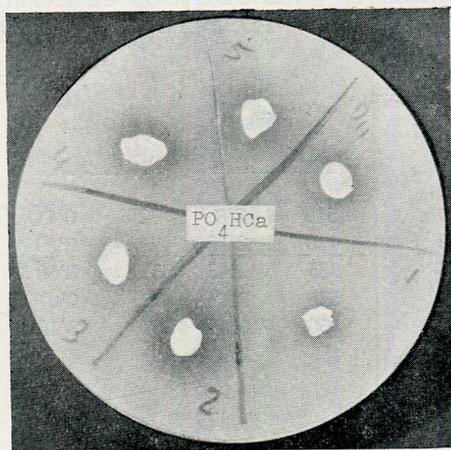
bla II) cuando cabría pensar exactamente lo contrario.

La no solubilización del triturado de huesos, y por el contrario la disolución de los huesos tratados por el vapor es fácilmente explicable si consideramos que al realizar tal operación el calor ha alterado en cierto modo (tal vez por hidrólisis) los compuestos fosforados allí existentes, lo que puede facilitar la acción posterior de los microorganismos.

Es de destacar la no existencia de solubilización en fosfatos naturales, que se encuentran de ordinario en el suelo, tales como la Strengita, Variscita y Roca Kola; pues precisamente desde el punto de vista de su aplicación práctica sería lo más interesante ya que por su composición química —fosfatos de aluminio e hierro— constituyen la principal reserva de fosfatos en la naturaleza, y de conseguir su solubilización se habría dado un paso muy importante para su aplicación como fertilizantes Bacterianos. Parece ser, de acuerdo con WEBLEY (1965), que el motivo

principal de esta no solubilización es debida a una quelación de esos iones metálicos con el ácido 2-ceto-glucónico (principal ácido producido por las Bacterias solubilizadoras de los fosfatos).

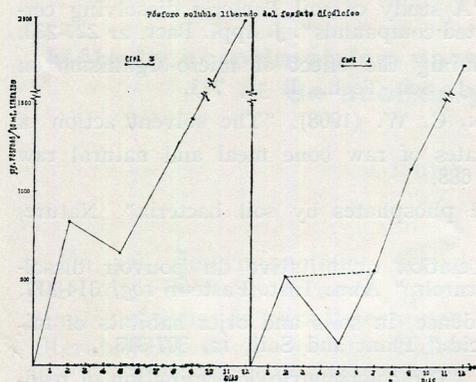
La tabla II, prueba comparativamente el diferente comportamiento cuantitativo, hecho que sirve de demostración evidente de que del tamaño de los halos apenas guarda relación (aunque admitamos que ésta exista) con los resultados de solubilización cuantitativa. Así en la fotografía que acompaña al trabajo se aprecia como raza más solubilizadora a la núm. 4, y quizás la núm. 2 en segundo lugar, siendo realmente difícil tal apreciación, pues los tamaños de los halos correspondientes a las D-11, 5, y 3 son similares; pues bien, en el estudio cuantitativo la



principal raza solubilizadora fue la núm. 3, seguida de la núm. 4, y la 5, mientras que la núm. 2, la núm. 1 y la D-11, fueron las menos activas.

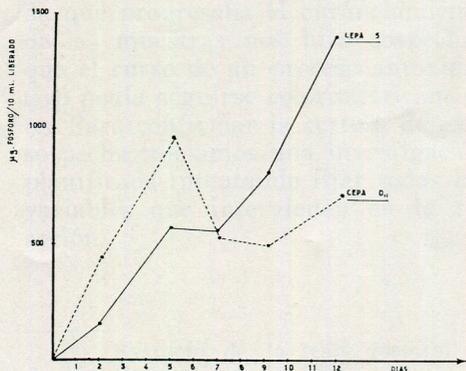
Comparativamente hemos considerado el estudio de las cepas 5 y D-11,

pues en ambas se aprecian dos tendencias diferentes, la D-11, parece que ha estabilizado su poder de disolución de fosfatos, mientras que la 5 a partir del séptimo día incrementa el poder de disolución (la explicación de este hecho será objeto de otro tra-



bajo), hecho similar al de otras cepas como la 3 y la 4, aunque concretamente en éstas no se aprecie ese incremento al séptimo día, sino que la solubilización siga en constante aumento.

Si estudiamos la proporción de fósforo liberada por las bacterias, nos encontramos con resultados quizás



buenos, pero excesivamente pequeños para su aplicación práctica si consideramos los siguientes hechos: en primer lugar se ha realizado el estudio de la solubilización en medio de cultivo y no directamente sobre el suelo; en segundo lugar se ha operado con un solo tipo de germen, sin considerar las posibles interferencias o fenómenos antagónicos normalmente existentes por los gérmenes del suelo en los medios de cultivo; si los actuales resultados se pudieran mantener en estas condiciones, podríamos pensar en la aplicación de los mencionados gérmenes para el incremento de las cosechas.

## RESUMEN

Se estudian separadamente la acción solubilizadora sobre los fosfatos por 6 cepas microbianas diferentes, bajo dos principales aspectos: el de solubilización cualitativa de diferentes fosfatos comerciales (naturales y sintéticos) y el de la solubilización cuantitativa del fosfato dicálcico en medios líquidos.

## SUMMARY

A study of 6 different strains dissolving phosphate is made under two principal aspects: the qualitative action over some mineral phosphates, and the quantitative action over dicalcium phosphate, in liquid medium.

*Acknowledgement:* We want to thank Dr. Webley D. M. and Greaves M. by their advices and technical assistance.

## BIBLIOGRAFIA

- GELOBIOWSKA, J. (1965). "A method of investigation of the microbial population playing a part in the transformation of phosphorus compounds in soil" *Acta Microbiol. Pol.* 5, 125.
- GERRETSEN, F. C. (1948). "The influence of microorganisms on the phosphate uptake by the plant". *Plant & Soil*, 1, 51.
- LOUW, H. A. (1958). Tesis doctoral.
- LOUW, H. A. and WEBLEY, D. M. (1959). "A study of soil Bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds". *J. appl. Bact.* 22 227-233.
- ROSE, R. E. (1957). "Techniques for determining the effect of micro-organisms on insoluble inorganic phosphates". *N. Z. J. Sci. Tech.*, B 38, 773.
- SACKETT, W. C., PATTEN, A. J., and BROWN, C. W. (1908). "The solvent action of soil bacteria upon the insoluble phosphates of raw bone meal and natural raw rock phosphate." *Zbl. Bekt. abt.* 2, 28, 688.
- SPERBER, J. I. (1957). "Solution of mineral phosphates by soil bacteria". *Nature, Lond.*, 180, (4.593). 994.
- TARDIEUX-ROCHE, A. (1962). "Essai d'appréciation quantitative du pouvoir dissolvant des Bactéries sur les phosphates naturels." *Ann. Inst. Pasteur* 103, 314-317.
- WEBLEY, D. M. and DUFF, (1965). "The incidence, in soils and other habitats of microorganisms producing 2-ketogluconic acid." *Plant and Soil*, 12, 307-313.
- WILLIAMS, E. G., and STEWART, A. B. (1941). "The colorimetric determination of readily soluble phosphate in soils". *J. Soc. Chem. Ind., Lond.*, 60, 291.