



Producción de biosurfactantes de bacterias con potencial para degradar hidrocarburos

Diana V. Navarrete Carriola^a, Gildardo Rivera^a, Domingo Mendez-Alvarez^a, Eyra L. Ortiz-Perez^a, Alma D. Paz-Gonzalez^{a*}

^aLaboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa 88710, México.
apazg@ipn.mx

Palabras clave: Biosurfactantes, Bacteria, Biorremediación, Hidrocarburos.

Introducción

Los biosurfactantes son moléculas producidas por microorganismos, entre ellos las bacterias, los cuales tienen aplicaciones en la biorremediación de suelos contaminados por petróleo, derrames de aceites, plaguicidas, entre otros [1]. Debido al crecimiento poblacional en los últimos años, las actividades antropogénicas han impactado directamente al medio ambiente y la salud humana, en particular los hidrocarburos (HC) por su uso en actividades industriales [2]. Los HC son compuestos orgánicos con más de dos anillos bencénicos fusionados. Además, se ha demostrado que son sustancias nocivas para los organismos vivos por sus propiedades carcinogénicas y mutagénicas. Con base en lo anterior, el objetivo de esta investigación fue identificar cepas bacterianas con capacidad de producir biosurfactantes para degradar HC. Inicialmente se llevó a cabo el aislamiento de bacterias tolerantes a HC provenientes de suelo. Posteriormente, se realizaron pruebas de tolerancia a naftaleno (NAF), fenantreno (FEN), antraquinona (ANT) y aceite de motor (AM) y finalmente, se determinó la producción de biosurfactantes.

Metodología

Identificación de bacterias. Las muestras de suelo fueron colectadas en la laguna “La escondida” de Reynosa, Tamaulipas. Se tomaron 100 g por muestra. Un gramo fue inoculado en Medio Mínimo Salino (MMS) y se incubó a 37 °C por 24 h a 150 rpm. Se obtuvieron cultivos puros en Agar nutritivo (AN). La identificación de aislados fue macroscópica y microscópicamente mediante tinción de Gram. A nivel molecular se realizó la amplificación del ADNr 16S por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) [3].

Tolerancia y degradación de HC por cepas bacterianas. Las cepas bacterianas se probaron individualmente en AN adicionando 1 y 2.5 % FEN, NAF, ANT y AM. Las cepas más tolerantes se sometieron a otra prueba, en medio mínimo Goldman (MMG) teniendo como única fuente de carbono cada HC. La detección de surfactantes se hizo mediante colapso de gota y desplazamiento de aceite, usando como control negativo agua ultrapura y control positivo Tween 80 y SDS (10 %) [4]. Adicionalmente la prueba de hemólisis se realizó en agar sangre a 37 °C por 48 h. Para la producción y extracción de biosurfactantes se siguió la metodología reportada por [5]. La caracterización se realizó por espectroscopia de infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y cromatografía líquida de ultra resolución (UPLC-MS).

Resultados y discusión

Se obtuvieron 30 aislados bacterianos, de los cuales se seleccionaron 5 por tener los mejores resultados en las diferentes pruebas y una mayor tolerancia a concentraciones de 1 y 2.5 % de

FEN, NAF, ANT y AM. Las cepas identificadas fueron *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium*. En la prueba de agar sangre todas las cepas causaron hemólisis. Cabe resaltar que la cepa *Bacillus subtilis* produjo una mayor cantidad de biosurfactantes en presencia de NAF, por lo cual fue utilizada para evaluar su potencial de degradación de NAF. Los resultados muestran que la producción de biosurfactantes por las bacterias está significativamente influenciada por el tipo de sustrato, así como el tipo de cepas microbianas [6]. Los biosurfactantes presuntivos obtenidos de la degradación de NAF fueron evaluados por FTIR al cabo de seis días de ensayo. El espectro obtenido presenta bandas características de grupos químicos funcionales como dos enlaces C=O a 1644 y 1703 cm⁻¹. Las vibraciones de los enlaces C-H del anillo aromático se presentaron en la región de 3100-3000 cm⁻¹. Una comparación del espectro obtenido experimentalmente con una base de datos, indica que el compuesto puede corresponder al ácido orto-ftálico.

Conclusiones

El aislamiento, identificación y análisis de la capacidad de tolerancia de HC permitió obtener distintas cepas con una capacidad potencial de producir biosurfactantes, destacando *Bacillus subtilis* por una mayor producción.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la secretaria de Investigación y Posgrado-IPN SIP-20221078 por brindar el apoyo financiero para el estudio.

Referencias

1. Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 401.
2. Tiwari, B., Manickam, N., Kumari, S., & Tiwari, A. (2016). Biodegradation and dissolution of polyaromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas* sp. *Bioresource technology*, 216, 1102-1105.
3. Alquati, C., Papacchini, M., Riccardi, C., Spicaglia, S., & Bestetti, G. (2005). Diversity of naphthalene-degrading bacteria from a petroleum contaminated soil. *Annals of microbiology*, 55(4), 237.
4. Youssef, N. H., Duncan, K. E., Nagle, D. P., Savage, K. N., Knapp, R. M., & McInerney, M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *Journal of microbiological methods*, 56(3), 339-347.
5. Joy, S., Rahman, P. K., & Sharma, S. (2017). Biosurfactant production and concomitant hydrocarbon degradation potentials of bacteria isolated from extreme and hydrocarbon contaminated environments. *Chemical Engineering Journal*, 317, 232-241.
6. Adetunji, A. I., & Olaniran, A. O. (2021). Production and potential biotechnological applications of microbial surfactants: An overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 669-679.