

EVALUACIÓN DE MÉTODOS SELECTOS PARA TAMIZAJE DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE BIOSURFACTANTES OBTENIDOS A PARTIR DE MUESTRAS DE SUELO IMPACTADO POR ACEITES VEGETALES RESIDUALES

Eugenia G. Ortiz Lechuga, Renato Andrés Calderón Pesina, Ramón Alberto Batista García, Katiushka Arévalo Niño
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología, San Nicolás de los
Garza, Nuevo León, 66455.

Centro de Dinámica Celular, Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, Morelos, Av. Universidad 1001, Col.
Chamilpa, Cuernavaca, Morelos.

Autor responsable: karevalo01@hotmail.com

Palabras clave: biosurfactante, biorremediación, rodamina.

Introducción. Los biosurfactantes son producidos por una variedad de microbios generalmente secretados extracelularmente durante el crecimiento en sustratos inmiscibles al agua. Con representantes en una amplia gama de géneros bacterianos con ejemplos como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium* y *Candida* (1). Se han utilizado en diversos campos como la biodegradación y el lavado del suelo, por su eficacia como agentes de dispersión y remediación y por sus características respetuosas con el medio ambiente, como su baja toxicidad y su alta biodegradabilidad (2). El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de detección de metodologías reportadas efectivas para la identificación de actividad biosurfactante utilizando sobrenadantes microbianos.

Metodología. Se tomaron muestras de suelo en zonas impactadas por aceites vegetales residuales, las cuales fueron procesadas bajo dilución seriada (1×10^{-1} - 1×10^{-5}). Los microorganismos aislados y caracterizados fueron inoculados agar rodamina B al 0.02% y en agar sangre al 5%. La estimulación de los microorganismos con actividad positiva se realizó en medio mínimo de sales con 1.4g KH_2PO_4 , 2.2g Na_2HPO_4 , 3g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.6g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05g NaCl, 1g extracto de levadura, 0.01g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0.02g $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ adicionado con 2% de aceite de oliva por 72 h. Se tomó una alícuota cada 24 h del cual se recuperó el sobrenadante, el cual fue filtrado mediante membranas de 0.2 μm . Se realizaron pruebas de *drop collapse* y *oil spreading* con muestras de 5 μL de sobrenadante sobre 2 μL aceite de motor 20w-50. Se utilizó SDS al 0.6% y CTAB al 0.06% como controles positivos.

Resultados. Se obtuvieron 64 nuevos aislados microbianos correspondientes a 51 hongos y 13 bacterias. El primer criterio de selección fue la presencia de actividad lipolítica la cual arrojó un total de 28 aislados

positivos mostrando fluorescencia bajo luz UV a 350 nm (Fig. 1).

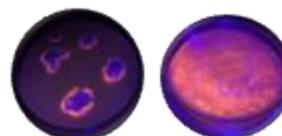


Fig. 1. Microorganismos con actividad lipolítica.

Se seleccionaron 17 aislados en base a intensidad de fluorescencia los cuales fueron evaluados para hidrólisis en agar sangre al 5% así como para evaluar su efecto sobre la tensión superficial, de los cuales se obtuvieron 2 aislados con resultados positivos para los 4 criterios empleados (Tabla 1) comprobando su efecto biosurfactante.

Cepa	Act. Lipolítica	Act. Hemolítica	Tipo de hemólisis	Drop collapse	Oil spreading
C1	-	-	-	-	-
C2	+++	0.5-0.7 cm	β	+	+
C3	+++	0.5-0.6 cm	β	+	+

Tabla 1. Evaluación de actividad biosurfactante

Conclusiones. En base a los resultados obtenidos, pudimos corroborar que los ensayos empleados permitieron relacionar la presencia de actividad hidrolítica y biosurfactante, sin embargo, debido al criterio cualitativo, es recomendable no usarlas de forma individual sino complementaria, dado que la interpretación se realiza en base a criterio de observación.

Agradecimientos. Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP).

Bibliografía.

1. Sekhon KK, Khanna S, Cameotra SS (2012) Biosurfactant Production and Potential Correlation with Esterase Activity. *J Pet Environ Biotechnol* 3:133.
2. Kiran SG, Thomas TA, Selvin J, Sabarathnam B, Lipton AP (2010) Optimization and characterization of a new lipopeptide biosurfactant produced by marine *Brevibacterium aureum* MSA13 in solid state culture. *Bioresour Technol* 101: 2389-2396].