



## IDENTIFICACIÓN PARCIAL DE COMPUESTOS BIOSURFACTANTES PRODUCIDOS POR *Pseudomonas aeruginosa* EN DISTINTAS FASES DE CRECIMIENTO

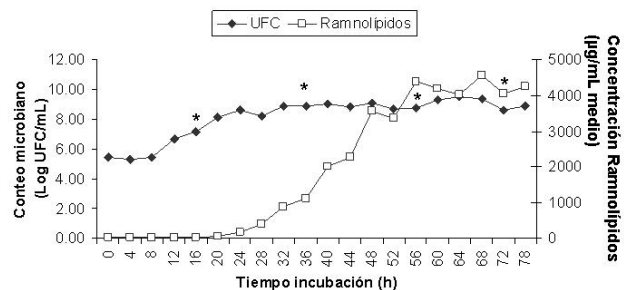
Sabina Viramontes-Ramos, Martha Cristina Portillo Ruiz, José Vinicio Torres-Muñoz, Blanca Estela Rivera-Chavira, María de Lourdes Ballinas-Casarrubias, Gpe. Virginia Nevárez-Moorillón. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Apdo. Postal 1542-C 31170 Chihuahua, Chih. Tel/Fax (614) 4144492, Correo electrónico: vnevare@uach.mx.

**Palabras clave:** *Pseudomonas*; Biosurfactantes, Análisis químico

**Introducción.** La producción de biosurfactantes es una ventaja ecológica para aquellos microorganismos presentes en ambientes contaminados con hidrocarburos, debido a que ayudan a metabolizar sustratos insolubles (1, 2). El tipo, propiedades y cantidad del biosurfactante producido dependen tanto del microorganismo como de la fuente de carbono utilizada (3, 4). En un cultivo dado, se puede encontrar una gran variedad de biosurfactantes, dependiendo de las condiciones y las necesidades del microorganismo (5). Bajo condiciones específicas, cepas de *Pseudomonas aeruginosa* son capaces de producir biosurfactantes del tipo de glicolípidos, que contienen ramnosa, por lo que son llamados ramnolípidos (6, 2). Una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de suelo contaminado con combustóleo fue capaz de producir un biosurfactante de este tipo. El objetivo de este trabajo fue identificar las cadenas laterales producidas a lo largo de la curva de crecimiento del microorganismo.

**Metodología.** La cepa fue crecida en un medio de sales minerales que contenía glucosa (2%) como única fuente de carbono, y se incubó a 28°C y 150 rpm (7). Se monitoreó el crecimiento, consumo de sustrato y producción de biosurfactante cada cuatro horas hasta un tiempo total de 76 h. Se obtuvieron los extractos crudos de biosurfactante (8) para ser evaluados por Cromatografía en Capa Fina, con el fin de determinar los tiempos en los que había diferentes compuestos. Se seleccionaron cuatro tiempos de incubación (16, 36, 56 y 76 h), y se obtuvieron volúmenes de cultivo mayores (600 mL). Los compuestos se separaron por cromatografía y se analizaron por GC-MS para determinar la composición de sus cadenas hidrocarbonadas (9).

**Resultados y discusión.** La curva de crecimiento se caracterizó por un periodo de latencia de 8 horas, seguido de una fase exponencial que alcanzó  $1 \times 10^9$  UFC/mL después de 32 h (Figura 1). El biosurfactante producido fue detectado, por primera vez, a las 16 horas de incubación, y llegó a un máximo después de 56 h (Figura 1). La porción hidrocarbonada de los biosurfactantes fue diferente en cada momento de incubación. A las 16 horas, había sólo compuestos no polares, incluyendo hexadecano; a las 36 y 56 horas, hubo compuestos tanto polares (como el ácido hexadecanoico) como no polares y, después de 72 horas, se encontraron sólo compuestos polares. La mayoría de los compuestos fueron cadenas con 16 ó 18 carbonos.



\* Tiempos de muestreo para análisis de biosurfactantes

Figura 1. Cinética de crecimiento microbiano y producción de ramnolípidos, con asterisco se muestran los tiempos utilizados para análisis del biosurfactante.

**Conclusiones.** La composición del biosurfactante varió de acuerdo a la fase de crecimiento en la que se encontraba el microorganismo y a las condiciones ambientales presentes en el medio, dependiendo de las necesidades del microorganismo.

### Bibliografía

1. Cassidy, D.; Hudak, A. 2001. Microorganism selection and biosurfactant production in a continuously and periodically operated bioslurry reactor. *J Hazardous Materials B84* 84: 253 – 264.
2. Desai, J.; Banat, I. 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol. Molec. Biology Reviews* 61: 47 – 64.
3. Das, M.; Das, S.; Mukherjee, R. 1998. Surface active properties of the culture filtrates of a *Micrococcus* species grown on n – alkanes and sugars. *Bioresource Techn.* 63: 231 – 235.
4. Falatko, D.; Novak, J. 1992. Effects of biologically produced surfactants on the mobility and biodegradation of petroleum hydrocarbons. *Water Environ. Res.* 64:163 – 169.
5. Ron, E.; Rosenberg, E. 2002. Biosurfactants and oil bioremediation. *Current Opinion Biotechnol.* 13: 249 – 252.
6. Maier, R.; Soberón, G. 2000. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 54: 625 – 633.
7. Bodour, A.; Miller – Maier, R. 1998- Application of a modified drop – collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant – producing microorganisms. *J Microbiol. Methods* 32: 273 – 280.
8. Sim, L.; Ward, OP.; Li, Z. 1997. Production and characterization of a biosurfactant isolated from *Pseudomonas aeruginosa* UW – 1. *J Ind. Microbiol. Biotechn.* 19. 232 – 238.
9. Torres, J. 2005. Comunicación personal. Facultad de Ciencias Químicas, UACH. México.