



## BACTERIAS FIJADORAS DE NITROGENO ATMOSFERICO CRECIDAS EN HIDROCARBUROS PRODUCEN BIOSURFACTANTES

Valeria Sandoval González<sup>1</sup>, Mayola García Rivero<sup>1</sup>, Claudia Castañeda López<sup>1</sup>, Graciano Calva Calva<sup>2</sup>, Josefina Pérez Vargas<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico s/n, Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morelos, Estado de México. CP 55210. <sup>2</sup>Biotecnología Cinvestav, Av. IPN 2508, San Pero Zacatenco, México D. F. Fax 50613313, [gcalva@cinvestav.mx](mailto:gcalva@cinvestav.mx)

*Palabras clave: BFNA, Biorremediación, tensión superficial.*

**Introducción.** La biodisponibilidad de hidrocarburos para la degradación microbiana es muy baja debido a su casi nula solubilidad y alta toxicidad. Por ello, la contaminación ambiental por petróleo crudo es uno de los principales problemas con los que se enfrenta la zona sur de México. En estudios previos para atacar este problema se encontró que algunas bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno atmosférico (BFNA) procedentes de suelos de Tabasco contaminadas con petróleo crudo, removían hidrocarburos del queroseno con producción simultánea de exopolímeros tensoactivos o surfactantes (1,2). Dado que en varios estudios se ha encontrado que ese tipo de compuestos aumenta la biodisponibilidad de hidrocarburos haciéndolos más accesibles a ciertos grupos microbianos nativos del suelo sin incrementar los problemas de contaminación (3,4), en este trabajo se seleccionaron varias de esas cepas BFNA para estudiar su producción de exopolímeros y su potencial de uso en procesos de biorremediación.

El objetivo fue estudiar el perfil de crecimiento y producción de exopolímeros, tanto en cultivos en agitación como bajo condiciones estáticas, determinando las características surfactantes del exopolímero.

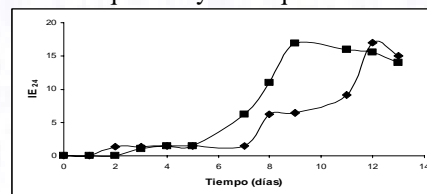
**Metodología.** Las BFNA se cultivaron en medio de Rennie sin sacarosa pero con 5 g/L de queroseno o fenantreno a 120 rpm, 28°C, por 15 días. Para el cultivo estático se conservaron las mismas condiciones pero sin agitación. Se determinó la remoción de hidrocarburos por CG, el crecimiento en base a peso seco y UFC, y la producción de surfactantes mediante el índice de emulsificación ( $IE_{24}$ ) y tensión superficial.

**Resultados y discusión.** Algunas de las BFNA aisladas, etiquetadas de acuerdo al color de sus colonias, mostraron buen potencial para la producción de surfactantes (Cuadro 1). Cuando los cultivos se aclimataron a crecer en queroseno, según el índice de emulsificación<sup>1</sup> ( $IE_{24}$ ), la mayoría mostró una curva de crecimiento típica tanto en agitación como en cultivo estático (Figura 1). Sin embargo, solo 4 de 7 tuvieron la capacidad de producir un exopolímero, siendo el cultivo crema quien a los cinco días presentó el mayor poder emulsificante (Tabla 1). Este fue seleccionado para estudiar la producción usando fenantreno como única fuente de carbono. Los resultados revelaron que, cuando se usó fenantreno como única fuente de carbono, la producción de surfactante en los cultivos agitados se retardó a los 8 días y sólo se presenta si los cultivos se crecen previamente en queroseno (Figura 1).

*Cuadro 1. Índice de Emulsificación para cultivos agitados de BFNA utilizando queroseno como única fuente de carbono*

Cultivo	Crema	Blanca	Salmón	Amarillo
$IE_{24}$	6,85	4,00	3,33	2,66
Tiempo (d)	5	11	11	8

La capacidad emulsificante fue mayor en los cultivos crecidos en fenantreno, quizá debido a que este es un compuesto sólido muy insoluble, lo que puede demandar más emulsificante para mantenerlo "soluble". Esta hipótesis requiere de más estudios pero es soportada por lo observado en los cultivos estáticos, donde el crecimiento y acumulación de surfactante fue aún tardío (12 días), quizá debido a que la solubilización del fenantreno fue más difícil sin agitación. El exopolímero se está caracterizando química y fisicoquímicamente.



*Figura 1. Determinación del  $IE_{24}$  para la BFNA crema utilizando fenantreno como fuente de carbono. ■ Agitación, ◆ Estático.*

**Conclusiones.** Se aislaron cultivos de BFNA con capacidad de producir biosurfactantes cuando crecen en queroseno o fenantreno como única fuente de carbono. Un cultivo color crema presentó remoción del 75% para queroseno, y 17 % para el fenantreno. Los resultados sugieren que esta BFNA es buena alternativa para la producción de biosurfactantes con potencial para usarse en procesos de biorremediación.

**Agradecimientos.** A PROMEP por la beca de maestría para el primer autor.

### Bibliografía

- Pérez V. J., Esparza G. F., Ferrera-Cerrato R., Poggi V. H.M. Rodríguez V. R., Calva C. G. and Rios L. E. (2000). Nitrogen fixing bacteria capable of utilising kerosene hydrocarbons as a sole carbon source. *Water Sci. Technol.* 42 (5,6): 407-410.
- Pérez-Vargas J; H. M. Poggi-Varaldo; G. Calva-Calva; A. Albores; R. Rodríguez-Vázquez; F. Esparza-García; R. Ferrera-Cerrato (2001). Azomonas: A NFB capable of using kerosene as a carbon source. In: "Ex Situ Biological Treatment Technologies 6(6)" (Magar, Victor S. von Fahnstock, F. Michael Leeson, Andrea) Pages 219-226. Battelle Press, USA. ISBN 1-57477-116-7.