



EFFECTO DE LA RELACIÓN CARBONO:NITRÓGENO SOBRE CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES PRODUCIDOS POR *Bacillus subtilis*

María de Lourdes Mejía Farfán y Víctor Eric López y López.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del I. P. N. Carretera Estatal Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla, Tepetitla, Tlaxcala, cp 90700. Fax 01 5557296300 ext. 87821, email: vlopezyl@ipn.mx

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, Relación carbono:nitrógeno, biosurfactantes

Introducción. Los biosurfactantes son moléculas anfipáticas de origen microbiano con potenciales aplicaciones comerciales en diversas industrias y en biorremediación de sitios contaminados. Tienen ventajas sobre los surfactantes químicos en ser biodegradables y efectivos a temperaturas y pH extremos y presentan una menor toxicidad¹. El género *Bacillus* ha sido reportado como productor de estos compuestos por fermentación². Sin embargo no han sido utilizados extensivamente por sus costos de producción y de recuperación relativamente altos² por lo que es necesario optimizar los medios de cultivo y las condiciones de operación de fermentación para aumentar los rendimientos en su producción. En este estudio se evaluó el efecto de la relación carbono:nitrógeno (C:N) sobre el crecimiento y producción de biosurfactantes producidos por *Bacillus subtilis*.

Metodología. Se utilizó una cepa de *Bacillus subtilis* la cual fue cultivada en medios basados en el de Kim et al.². Este medio fue modificado para evaluar diferentes relaciones C:N a 5.7, 8, 8.5 y 11.5. Los medios KSBH y KSAH contenían harina de soya mientras que KSBP y KSAP contenían pasta de soya. Adicionalmente los medios contenían: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 gl^{-1} , $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.05 gl^{-1} , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.00135 gl^{-1} , $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.0075 gl^{-1} , $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0058 gl^{-1} , $CoCl_2$ 0.0075 gl^{-1} . Las cuentas celulares (X) se determinaron microscópicamente en cámara de Neubauer, la velocidad específica de crecimiento (μ) se determinó ajustando X a un modelo exponencial $X = X_0 e^{\mu t}$, donde μ es constante y la producción de biosurfactantes se determinó por el método de actividad superficial (AS) según Jain et al.³.

Resultados y Discusión. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en los diferentes medios de cultivo.

Tabla 1. Crecimiento, velocidad específica de crecimiento y producción de biosurfactantes a diferentes relaciones C:N.

Medio de Cultivo	Crecimiento bacilos/ml	μ (h^{-1})	Actividad Superficial (unidades arbitrarias)	Actividad Superficial Específica (bacilos ⁻¹ /AS)	C:N
KS	2.05x10 ⁹	0.37	6	29.3	8
KSC	1.9x10 ⁹	0.52	6	31.6	8.5
KSBH	2.35x10 ⁹	0.91	3	12.8	5.7
KSAH	3.3x10 ⁹	0.64	7	21.2	11.6
KSBP	2.8x10 ⁹	1.06	3	10.7	5.7
KSAP	3.8x10 ⁹	1.06	3	7.9	11.6

La producción de biosurfactantes en función de la relación C:N tiene una tendencia positiva al aumentar la relación C:N. La AS se ve favorecida a C:N de 8, 8.5 y a 11.6 ésta última cuando se utilizó harina de soya en el medio, mientras que a baja relación C:N se determinaron bajas AS a y 11.6, ésta última del medio KSAP el cual contenía pasta de soya, al parecer sustrato no propicio para la producción de biosurfactantes (Figura 1A).

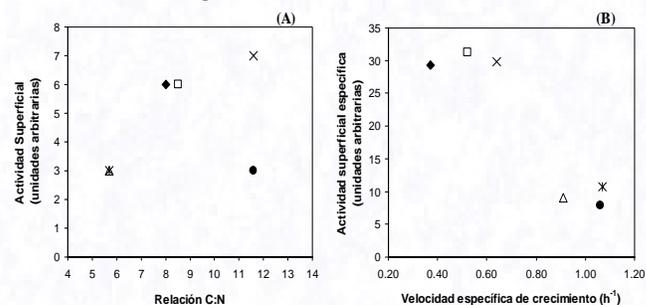


Figura 1. (A) Actividad superficial en función de la relación C:N y (B) actividad superficial específica en función de μ . Los símbolos son: \blacklozenge KS, \square KSC, \triangle KSBH, \times KSAH, $*$ KSBP y \bullet KSAP.

La AS y la AS específica (Tabla 1) nos sugiere que una misma cantidad de bacilos tiene diferente capacidad de producir biosurfactantes dependiendo de los sustratos utilizados. En cuanto a la μ no se observa una correlación directa entre esta y la producción de biosurfactantes, aunque, a altas velocidades de crecimiento la producción de los biosurfactantes disminuye (Figura 1B).

Conclusiones. Estos resultados demuestran que las condiciones de cultivo son muy importantes en la producción de biosurfactantes, en particular la relación C:N y la velocidad de crecimiento del microorganismo.

Agradecimientos. Proyecto SIP-IPN apoyo no. 2006507.

Bibliografía.

- Pruthi V, Cameotra SS (1997) Rapid identification of biosurfactant-producing bacterial strains using a cell surface hydrophobicity technique. *Biotechnology Techniques*, 11: 671-674.
- Kim HS, Yoon BD, Lee CH, Suh HH, Oh HM, Katsuragi T, Tani Y (1997) Production and properties of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus subtilis* C9. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 84: 41-46.
- Jain, D. K.; Collins-Thompson, D. L.; Lee, H.; Trevors, J. T; 1991. A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms. *J. Microbiol. Methods*, 13, 271-279.