

COMPONENTES DEL MEDIO DE CULTIVO DE *P. putida* PARA LA PRODUCCION DE BIOSURFACTANTES EN PRESENCIA DE FENANTRENO.

Martínez Toledo Angeles, Rodríguez Vázquez Refugio, Esparza García Fernando, , González Chávez Ma. del Carmen, Ríos Leal Elvira, Rojas Chávez Cirino. Av. IPN 2508 Col. San. Pedro Zacatenco. C.P. 07360. Méx. D.F.
Fax. 5747-3313. anmartin@mail.cinvestav.mx

Palabras clave *P. putida*, medio de cultivo, tensión superficial, biosurfactante, fenantreno.

Introducción. Los hidrocarburos polinucleoaromáticos (HPA's) son de los contaminantes prioritarios a remover de sitios contaminados, por ser compuestos cancerígenos y mutagénicos (1). Estos compuestos son poco solubles y accesibles para los microorganismos. Para aumentar su solubilidad se han aplicado surfactantes sintéticos, pero estos tienen baja biodegradabilidad. Una alternativa es la aplicación de surfactantes producidos por microorganismos, se sabe que *P. putida* produce biosurfactantes (2) y que además es capaz de biodegradar HPA's. Sin embargo, existe poca información sobre la potencialidad de esta cepa para producir biosurfactantes en presencia de fenantreno.

El objetivo fue seleccionar los componentes del medio de cultivo de *P. putida* CB-100 que favorezcan la producción de biosurfactantes, la disminución de tensión superficial (?TS), la capacidad emulsificadora y la degradación de fenantreno.

Metodología. Los componentes del medio cultivo se seleccionaron con un diseño experimental factorial fraccionado (2⁷⁻⁴) en presencia y ausencia de 200 ppm de fenantreno, y para la optimización del medio, un Box Behnken en presencia de 200 ppm de fenantreno y sin aceite de maíz. A los medios se les midió tensión superficial inicial (3). La cepa se mantuvo en agar de soya tripticaseína (TSA) sólido. Se preparó un preinóculo, del cual se tomó el volumen indicado para ajustar a 100ml de medio. Se determinó la biomasa inicial en peso seco (3). Se incubaron durante 5 días en a las condiciones de cada experimento usando agitación en orbital. Después la incubación se obtuvo biomasa final en peso seco. Al medio libre de células se le midió tensión superficial final, capacidad de emulsión (3) y fenantreno residual (% w/w). Se le realizó la extracción del biosurfactante y a este una hidrólisis ácida para la separación e identificación de las fracciones del biosurfactante (4).

Resultados y discusión. De acuerdo al análisis de varianza, las variables significantivas para el ?TS del diseño factorial fraccionado (FF), en presencia de fenantreno, fueron: extracto de levadura, glucosa y aceite de maíz, las variables que favorecen más la remoción de fenantreno fueron: agitación, cloruro de amonio y la glucosa. Para el ?TS del diseño Box-Behnken (BB) fue el cloruro de amonio. En el diseño FF se obtuvo un medio capaz de mantener una

emulsión del 20% por 24 h, una remoción del 15.7% y una tensión superficial 35.5 mN/m. Con el BB se obtuvo un medio que mantuvo un 20% de emulsión por 24 h, una tensión superficial de 53.8 mN/m, y una remoción de fenantreno del 82.4%. Los ?TS obtenidos son parecidos a los obtenidos cuando se emplean otros microorganismos (3). En la figura se observa la identificación de ramnosa del tratamiento no. 11 del BB con fenantreno.

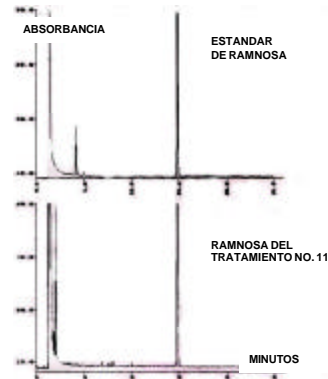


Figura 1. Cromatograma de la identificación de la ramnosa en el tratamiento no. 11 del BB.

Conclusiones. En general el componente del medio para *P. putida* que favorece la producción de biosurfactante es la fuente de nitrógeno en bajas concentraciones, para la remoción se requiere de glucosa en sus bajos niveles. En el BB se logró remover mayor cantidad de fenantreno, además de que en este se observó un aumento en la producción de ramnosa.

Agradecimientos. Al CONACyT por su apoyo económico.

Bibliografía.

1. Samanta S. K., Singh O. V., y Jain R. K. (2002) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Pollution and Bioremediation. *Review. Trends Biotechnol.* 1-6.
2. Borjana K. T., George R., Cristovaa I., and Christovaa N. E. (2002) Biosurfactant Production by a New *Pseudomonas putida* Strain. *Z. Naturforsch.* 57c. :356-360.
3. Cooper D. G., y Goldenberg B. G. (1987) Surface-Active Agents from Two *Bacillus* Species. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(2):224-229.
4. Lang S., y Wullbrandt D. (1999) Rhamnase Lipids-Biosynthesis, Microbial Production and Application Potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51(1):22-32.