

## SELECCION DE LOS COMPONENTES DEL MEDIO DE CULTIVO DE *P. putida* PARA DISMINUR LA TESIION SUPERFICIAL DEL MEDIO.

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](mailto:anmartin@mail.cinvestav.mx)

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

**Introducción.** Una de las técnicas novedosas en el campo de la biorremediación es la producción de biosurfactantes por microorganismos (1). *P. putida* es uno de los microorganismos identificados como degradadores de compuestos tóxicos como los hidrocarburos polinucleoarómicos (HPA's) (2). Se ha demostrado que *P. putida* es capaz de producir biosurfactantes. Sin embargo no se ha explotado su potencialidad en presencia de otras fuentes de carbono. Un método indirecto para determinar la presencia de surfactantes es a través de la medida del cambio en tensión superficial (?TS) (1).

El objetivo fue seleccionar los componentes del medio de cultivo de *P. putida* CB-100 que favorezcan la disminución de tensión superficial como medida indirecta de la producción de biosurfactante.

**Metodología.** Se seleccionaron los componentes del medio cultivo, utilizando un diseño experimental Plackett-Burman el cual fue modificado. 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 el volumen del medio. Se determinó biomasa inicial en peso seco (3). Se incubaron durante 5 días de acuerdo a las condiciones de cada experimento usando agitación orbital. Después de este tiempo se obtuvo biomasa final en peso seco. Al medio libre de células y de aceite de maíz residual se le midió tensión superficial final y capacidad de emulsión (3). 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 significativas en ?TS fueron:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , extracto de levadura, temperatura y agitación, seguidas de:  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y el aceite de maíz. Del análisis de mínima diferencia significativa entre los tratamiento se observó que el tratamiento 10 es el mejor en disminución en tensión superficial (34.15 mN/m) no habiendo diferencia significativa entre este y el tratamiento 11, estos valores son semejantes a lo reportados empleando otros microorganismos (1). Los tratamiento 5, 7, 9 y 12 mantuvieron una emulsión de 24 h, con el tratamiento 9 se obtuvo 50% de emulsión, existen reportes con cantidades

similares (1). El análisis de las fracciones del biosurfactante de los medios indicaron la presencia de ramnosa y ácidos grasos de  $\text{C}_{16}$ - $\text{C}_{22}$ . La figura 1 es el cromatograma de la identificación de ramnosa del tratamiento 9.

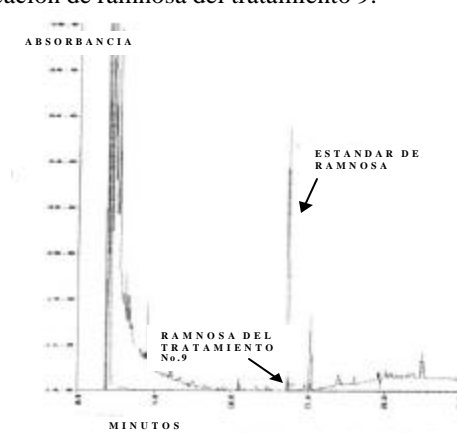


Figura 1. Cromatograma de la identificación de la ramnosa en el tratamiento 9.

**Conclusiones.** A niveles altos de fosfatos ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) pero bajos en glucosa se favorece la disminución en tensión superficial. Se observó que los medios con menor concentración de nitrógeno fueron capaces de mantener una emulsión después de 24 h y se les logró identificar ramnosa. Siendo *P. putida* capaz de producir ramnolípidos bajo estas condiciones de cultivo.

**Agradecimientos.** Al CONACyT por su apoyo económico.

### Bibliografía.

1. Das M, Das S. K., y Mukherjee R. K. (1998) Surface Active Properties of the Culture Filtrates of *Micrococcus* Species Grown on n-Alkanes and Sugar. *Biores. Technol.* 63: 231-235.
2. Samanta S. K., Singh O. V., y Jain R. K. (2002) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Pollution and Bioremediation. *Trends Biotechnol.* 20(6):243-248.
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) Rhamnose Lipids-Biosynthesis, Microbial Production and Application Potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51(1):22-32.